



UNIVERSITA' DI PISA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

*Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia*

Tesi di Laurea

**Ruolo del tempo di contatto del bolo e dei valori di impedenza  
basale nella distinzione di differenti sottocategorie di pazienti con  
malattia da reflusso gastroesofageo non erosiva**

**Relatori**

**Candidato**

Olga Smorchkova

*Chiar.<sup>mo</sup> Prof. Santino Marchi*

*Dr. Nicola de Bortoli*

<b>INTRODUZIONE .....</b>	<b>1</b>
<b>MALATTIA DA REFLUSSO GASTROESOFAGEO .....</b>	<b>2</b>
DEFINIZIONE .....	2
<i>Sindromi esofagee</i> .....	4
<i>Sindromi extraesofagee</i> .....	5
EPIDEMIOLOGIA .....	5
<i>Studi basati su questionari</i> .....	6
<i>Studi basati su reperti endoscopici</i> .....	9
FISIOPATOLOGIA .....	10
FATTORI DI RISCHIO .....	16
PRESENTAZIONE CLINICA .....	17
DIAGNOSI.....	19
<i>Endoscopia</i> .....	19
<i>Rx esofago a doppio contrasto</i> .....	21
<i>pH-metria esofagea delle 24 ore</i> .....	21
<i>pH-Impedenziometria esofagea delle 24 ore</i> .....	24
<i>Test all'inibitore di pompa protonica</i> .....	27
<i>Bilimetria esofagea delle 24 ore</i> .....	27
<i>Manometria esofagea</i> .....	27
<i>Test per H. Pylori</i> .....	28
<b>MALATTIA DA REFLUSSO NON EROSIVA .....</b>	<b>29</b>
<b>STUDIO.....</b>	<b>37</b>
BACKGROUND.....	37
SCOPO DELLO STUDIO.....	37

METODI .....	37
<i>Soggetti</i> .....	37
<i>Manometria Esofagea</i> .....	38
<i>pH-Impedenziometria Multicanale delle 24 ore</i> .....	38
<i>Suddivisione in Sottogruppi</i> .....	40
<i>Analisi Statistica</i> .....	40
RISULTATI.....	40
DISCUSSIONE .....	42
CONCLUSIONI .....	45
<b>ABBREVIAZIONI .....</b>	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>47</b>

## **Introduzione**

La malattia da reflusso gastroesofageo è una condizione ad elevata prevalenza e incidenza, che si sviluppa quando il reflusso di contenuto gastrico in esofago causa sintomi fastidiosi e/o complicanze. L'introduzione della pH-impedenziometria ha avuto un importante ruolo nella comprensione dei meccanismi alla base di tale patologia e, in modo particolare, del concetto di malattia da reflusso gastroesofageo non erosiva. Questa tecnica, che combina pH-metria esofagea e impedenziometria, consente di differenziare i reflussi in relazione alle caratteristiche chimiche (acidi e non acidi) e fisiche (solidi, liquidi, gassosi). Inoltre, il calcolo dell'impedenza basale e del tempo di contatto del bolo, due ulteriori parametri ottenibili con tale metodica e oggetto del presente studio di tesi, potrebbero consentire una più precisa distinzione di differenti sottocategorie di pazienti e, conseguentemente, la definizione di strategie terapeutiche più mirate e maggiormente centrate sul paziente.

# Malattia da Reflusso Gastroesofageo

## Definizione

Il termine “malattia da reflusso” è stato proposto nel 1966 da Rossetti e, per molto tempo, è stato utilizzato per identificare l’esofagite peptica e il complesso dei sintomi ad essa associati. L’assenza di “gold standard” diagnostici ha creato non poche difficoltà nella formulazione di una definizione soddisfacente. La prima definizione, elaborata secondo criteri evidence-based, è stata presentata al workshop di Genval nel 1997. La malattia da reflusso gastroesofageo (Gastro-Esophageal Reflux Disease - GERD) venne definita come “presenza di lesioni della mucosa esofagea o di sintomi tali da peggiorare la qualità di vita del paziente”.<sup>1</sup> In tale contesto, il passaggio in esofago di contenuto gastrico veniva considerato fisiologico e presente anche in soggetti sani, ma, in situazioni specifiche per quantità o qualità di materiale refluito, tale da creare una condizione patologica, in grado di compromettere la qualità della vita del soggetto.

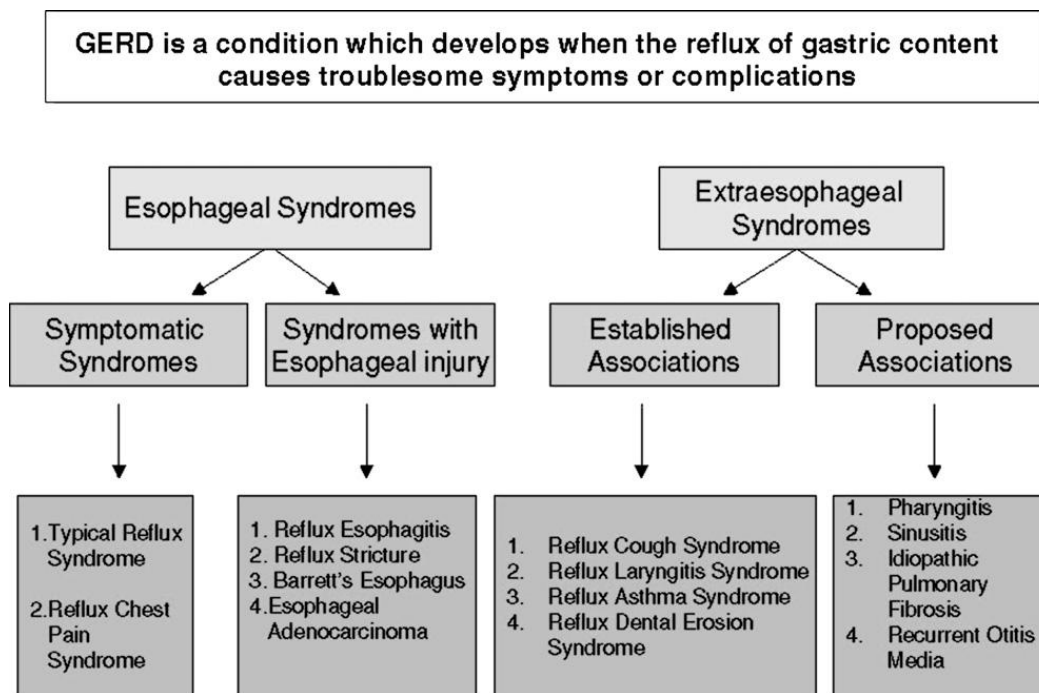
Negli ultimi anni, a causa della crescente incidenza e dell’impatto sulla qualità di vita, la GERD è divenuta oggetto di grande attenzione. Nel 2006, il Working Team di Montreal ha definito la GERD come “una condizione clinica che si sviluppa quando il reflusso di contenuto gastrico in esofago determina sintomi fastidiosi e/o complicanze”.<sup>2</sup> Tale definizione è stata universalmente accettata ed introdotta nella linee guida sulla GERD della American Gastroenterological Association. Su questa definizione è inoltre basata la guida dedicata alla GERD dell’Agenzia Europea per il Farmaco. In tal modo, inoltre, la GERD viene identificata come patologia diagnosticabile clinicamente senza necessità assoluta di indagini aggiuntive a fini diagnostici, consentendo quindi di evitare spesso esami costosi e non necessari. Questo approccio centrato sul paziente comprende l’utilizzo di semplici domande per l’identificazione dei sintomi da reflusso e del loro impatto sulla qualità di vita. La piroisi e il rigurgito sono i sintomi caratteristici della GERD e la loro presenza è in alcuni casi sufficiente

per porre diagnosi di malattia.<sup>3</sup> La definizione di Montreal include inoltre i pazienti asintomatici affetti da esofago di Barrett.

In generale, i soggetti con GERD sono stati distinti in due gruppi sulla base del quadro endoscopico. Il primo gruppo con lesioni della mucosa esofagea (erosive esophagitis ed esofago di Barrett), il secondo gruppo senza lesioni mucose (Endoscopy Negative Reflux Disease o Non Erosive Reflux Disease – NERD).

Tradizionalmente la storia naturale della GERD prevedeva il passaggio da NERD a GERD complicata (stenosi, esofago di Barrett o adenocarcinoma);<sup>4</sup> tuttavia, dati più recenti indicano che la maggioranza dei pazienti con NERD rimanga tale per tutta la vita.<sup>5,6</sup> Questo nuovo paradigma sottolinea come il corredo genetico di ogni persona, esposta a fattori ambientali simili, possa determinare fenotipi diversi di presentazione della GERD.<sup>7</sup>

La definizione e classificazione di Montreal del 2006 distingue le varie forme cliniche in due grandi gruppi: sindromi esofagee e sindromi extra-esofagee. Le prime sono ulteriormente suddivise in sindromi con e senza danno della mucosa, mentre le seconde in forme per cui l'associazione con la GERD è sufficientemente provata e forme in cui tale associazione è al momento solo ipotetica (Figura 1).



*Fig. 1. The Montreal definition and classification of GERD*

## Sindromi esofagee

Si distinguono due forme sindromiche esofagee:

1. **Sindrome tipica da reflusso** caratterizzata dalla presenza di piroisi e/o rigurgito, sintomi detti tipici. Si possono inoltre associare dolore epigastrico o disturbi del sonno. Questa sindrome può essere diagnosticata su base sintomatologica.
2. **Sindrome da reflusso con dolore toracico**. Il reflusso gastroesofageo può provocare episodi di dolore toracico simil-anginoso in assenza di rigurgito e dolore cardiaco.

Le sindromi con danno mucosale esofageo rappresentano circa il 30-35% dei casi. Queste includono l'esofagite, la stenosi esofagea, l'esofago di Barrett e l'adenocarcinoma dell'esofago. Il rilievo di esofagite può essere utile come criterio obiettivo ai fini diagnostici. Inoltre il processo di guarigione rappresenta un indicatore dell'esito terapeutico.

Il working team di Montreal ha introdotto un termine intermedio per definire il sospetto endoscopico di esofago di Barrett: Endoscopically Suspected Esophageal Metaplasia (ESEM). L'ESEM descrive un quadro endoscopico compatibile con l'esofago di Barrett che deve in ogni caso essere confermato istologicamente. L'esofago di Barrett è una condizione nella

quale l'epitelio squamoso esofageo viene sostituito da epitelio cilindrico di tipo intestinale (contente mucina - goblet cells).<sup>8</sup> L'adenocarcinoma dell'esofago ne è considerato una complicanza a lungo termine.<sup>9</sup> L'esofago di Barrett, in relazione all'alto rischio di evoluzione neoplastica, era già stato proposto come complicanza a sé stante della GERD, durante la IX United European Gastroenterology Week (Amsterdam, 2001).<sup>11</sup>

### **Sindromi extraesofagee**

Dal Montreal Consensus Group è stata riconosciuta una relazione tra GERD e tosse cronica, laringite cronica e asma. Queste patologie sono di natura multifattoriale ma è stato stabilito il ruolo del reflusso quale fattore aggravante.<sup>10</sup>

### **Epidemiologia**

La GERD è una condizione ad elevata prevalenza e incidenza. I risultati di studi epidemiologici hanno mostrato un aumento del peso relativo della GERD, negli ultimi 30 anni, tra i soggetti affetti da disturbi del tratto digestivo superiore. In relazione a ciò, alla VI *United European Gastroenterology Week* (Birmingham, 1997) fu presentato uno slogan: "Il XX secolo è il secolo dell'ulcera peptica, il XXI secolo il secolo della malattia da reflusso gastroesofageo".

La GERD raggiunge percentuali considerevoli nei Paesi industrializzati e va acquisendo un rapido e significativo incremento anche nei Paesi in via di sviluppo.<sup>12</sup>

L'aumento del numero dei casi di GERD può essere spiegato sia dal maggior numero di casi identificati (diffusione dell'endoscopia e facilità di accesso alle cure) sia da un effettivo aumento dell'incidenza della patologia come conseguenza della modernità: stili di vita e norme dietetico comportamentali errate, condizioni di stress che derivano dall'organizzazione sociale, dalle condizioni lavorative ed in generale dal ritmo di vita incalzante che ogni persona deve sostenere.<sup>13</sup>



I dati della letteratura confermano le difficoltà incontrate nel tentativo di descrivere il profilo epidemiologico dei disturbi riferibili alla GERD. Gli studi osservazionali, infatti, sono prevalentemente di due tipi. Da un lato, ricerche condotte su popolazioni non selezionate, solitamente tramite questionari postali autocompilati, interviste telefoniche o faccia a faccia, che esplorano la frequenza dei disturbi soggettivi tipici della GERD: numero di episodi di pirosi e/o rigurgito denunciati dagli intervistati nelle ultime settimane. Dall'altro, studi volti a definire la prevalenza/incidenza delle diagnosi di esofagite nelle casistiche dei centri di endoscopia. Questi ultimi dimostrano una costante regressione della malattia ulcerosa gastrica o duodenale e un parallelo incremento delle lesioni distali esofagee. L'incidenza di esofagite è stimata a circa 5 nuovi casi/anno ogni 1000 soggetti. In particolare, dal 1981 al 1994 le diagnosi di esofagite erosiva sono passate dal 2,3% all'8,6% della casistica dei centri endoscopici nazionali.<sup>14</sup> I limiti di tali studi sono evidenti: i primi tralasciano le forme di GERD caratterizzate da sintomi atipici, la cui diagnosi è spesso il risultato di iter diagnostici complessi; i secondi non comprendono le forme di GERD non erosive (NERD).

### **Studi basati su questionari**

I dati riportati in letteratura variano in relazione alle regioni geografiche, ai protocolli di studio e ai metodi statistici utilizzati. Entrando più nel dettaglio, nel 2005 da J. Dent e coll. è stato pubblicato un articolo basato sulla revisione sistematica di 15 studi epidemiologici sulla GERD. Da sottolineare la difficoltà degli autori per l'assenza di una definizione della malattia universalmente accettata. La GERD, in tale revisione, è stata definita sulla base della presenza di pirosi e/o rigurgito almeno una volta a settimana. La pirosi è risultata essere un sintomo affidabile con sensibilità del 30-76% e specificità del 62-96%.<sup>16</sup> Sono stati inclusi anche tutti i casi di esofagite da reflusso. Da queste ricerche è emersa una stima della prevalenza della sintomatologia di GERD variabile dal 10-20% nella popolazione occidentale a meno del 5% nei paesi dell'estremo oriente. L'incidenza di GERD negli Stati Uniti ed in Gran Bretagna è stata stimata intorno a 10000 soggetti ogni anno.<sup>17</sup> In uno studio condotto sulla popolazione

adulta degli Stati Uniti è stato osservato che circa il 13% dei soggetti ha fatto uso di antiacidi a causa di pirosi o rigurgito due o più volte a settimana ed il 30% almeno una volta al mese.<sup>18</sup>

La revisione di J. Dent e coll. (2005) presentava tuttavia numerosi limiti: la maggior parte dei 15 studi analizzati è stata condotta in Europa e negli Stati Uniti, solo tre in Asia e nessuno in altre parti del mondo; nessuno studio comprendeva soggetti di età inferiore ai 17 anni, escludendo quindi la popolazione pediatrica; la quantità di studi non era sufficiente. Per tali motivi, è stata effettuata una nuova revisione basata su studi epidemiologici effettuati nel periodo 2004-2011; in tal caso la diagnosi di GERD era definita come presenza di pirosi e/o rigurgito, di qualsiasi entità, almeno una volta a settimana. La prevalenza della GERD nel Nord America è risultata del 18,1-27,8%, in Sud America del 23%, in Europa dell'8,8-25,9% con tendenza ad una riduzione dal nord al sud. I dati pubblicati sulla situazione della GERD in Asia Orientale confermano la prevalenza più bassa al mondo in questa regione, con valori di circa il 2.5-7.8% (Figura2). La prevalenza della GERD in Asia oggi è in forte incremento, verosimilmente in relazione ai cambiamenti nell'alimentazione e nello stile di vita. L'11,6% degli australiani intervistati per mezzo di questionari postali ha riferito di avere i principali sintomi di GERD settimanalmente.<sup>20</sup>

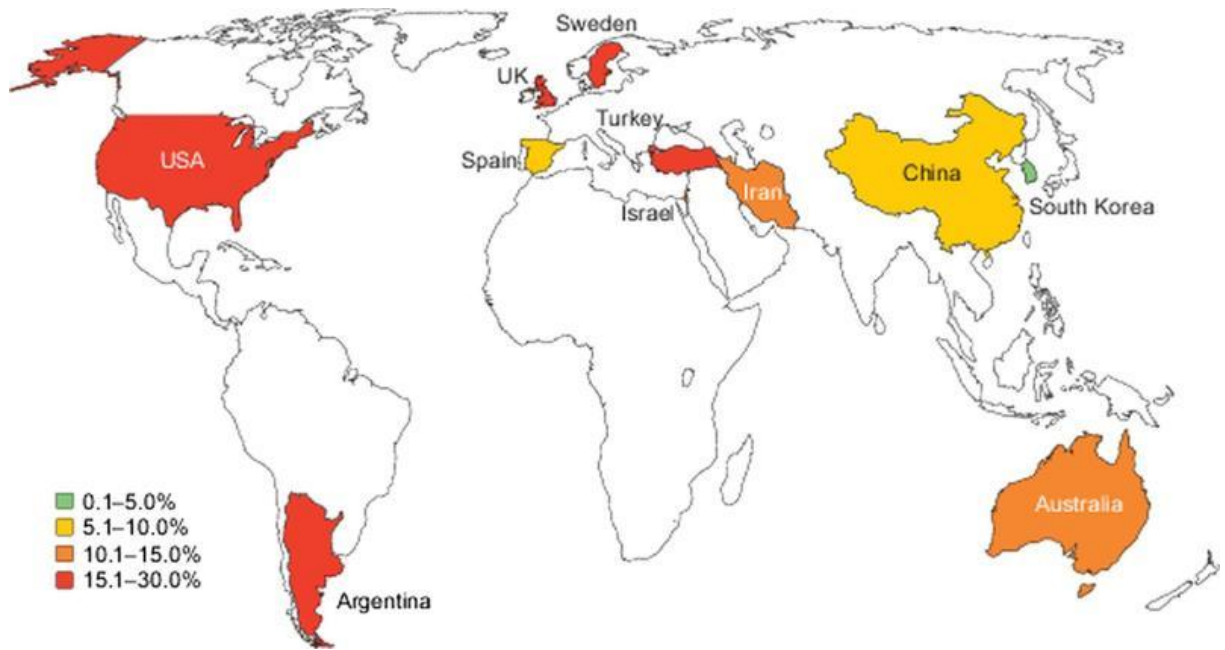


Figura 2. Distribuzione globale della MRGE (prevalenza di pirosi e rigurgito con frequenza di almeno una volta alla settimana nei diversi paesi)

Il numero degli studi epidemiologici sulla GERD svolti in Africa è limitato ed i risultati ottenuti discordanti. In uno studio è stata rilevata una bassa prevalenza, messa dall'autore in relazione con un verosimile effetto protettivo di *H. pilory*.<sup>21</sup> Un altro studio più recente, condotto in Nigeria su una popolazione di studenti di medicina, ha invece rilevato una prevalenza del 26,3%.<sup>22</sup>

Negli Stati Uniti la prevalenza della GERD è più alta tra i latino-americani che tra i caucasici. Gli americani asiatici hanno mostrato una prevalenza dei sintomi più alta che nei soggetti asiatici.<sup>23</sup>

Studi condotti sulla popolazione adulta in Russia mostrano una prevalenza della pirosi del 10-15% e, tra i soggetti sottoposti ad endoscopia digestiva, una prevalenza di esofagite, sintomatica o meno, di circa il 12-16%.<sup>24</sup>

I dati epidemiologici relativi alla prevalenza e incidenza di sintomi e lesioni da GERD in Italia sono frammentari in quanto derivanti da studi condotti su popolazioni o aree

geografiche limitate mediante questionari standardizzati. I risultati disponibili indicano una prevalenza di pirosi e rigurgito di circa il 9%.<sup>25</sup>

### **Studi basati su reperti endoscopici**

L'esofagite da GERD è riscontrabile nei Paesi industrializzati nel 50-75% dei soggetti adulti sintomatici e fin nel 40% degli asintomatici che vengono sottoposti ad endoscopia digestiva, con un incremento da tre a quattro volte negli ultimi vent'anni.<sup>26</sup>

In Italia l'esofagite da GERD è presente in ragione dell'8,5% se si considerano nel computo soltanto i soggetti sottoposti ad endoscopia per sintomi digestivi tipici, con uno 0,8% di esofago di Barrett accertato istologicamente. A tal riguardo rivestono particolare interesse i risultati di uno studio condotto presso i medici italiani di medicina generale, sebbene la corretta valutazione della prevalenza nella popolazione si sia resa difficile per l'eterogeneità dei quadri clinici. Nella maggior parte dei casi, infatti, la GERD si è manifestata con sintomi tipici facilmente riconoscibili, ma anche con sintomi atipici, più o meno intensi, seppur con una frequenza valutata attorno al 25-30%. Questa varietà clinica minoritaria può essere responsabile di una sottostima del suo reale tasso di incidenza. Tale studio ha evidenziato che, mediamente, ogni anno 1,5-2 milioni di italiani adulti lamentano pirosi retrosternale, rigurgito o entrambi i sintomi attribuibili alla GERD.<sup>27</sup> Uno studio condotto dai medici di medicina generale in un'area geografica della provincia di Brescia ha rilevato un'incidenza di GERD di 5,95 nuovi casi l'anno ogni 1000 assistiti nel periodo 2000-2004.<sup>15</sup> Un altro studio, condotto dal Gruppo Italiano per lo Studio della Motilità dell'Apparato Digerente su un vasto campione di popolazione sottoposta ad endoscopia digestiva superiore, ha rilevato una prevalenza di esofagite dell'8,6%, maggiore di quella osservata per l'ulcera duodenale (8,5%) e gastrica (3,5%).<sup>28</sup>

L'incidenza di adenocarcinoma esofageo è aumentata di almeno sei volte durante l'ultima decade nel mondo occidentale. In assenza di una diagnosi precoce, la sopravvivenza dopo 5 anni, con invasione locale o metastasi, è del 20%. In genere, l'adenocarcinoma si sviluppa a

partire dall'esofago di Barrett e nei pazienti con tale patologia l'incidenza di tale tumore è fino a 30 volte più elevata.<sup>29</sup>

La GERD rappresenta un problema crescente nella popolazione pediatrica. Uno studio condotto nel Regno Unito ha rilevato una incidenza di 0,84 nuovi casi ogni 1000 pazienti con picco massimo per età inferiore ad un anno e superiore ai 16 anni.<sup>30</sup>

Un'associazione con il reflusso acido può sussistere nel 50% dei pazienti con dolore toracico non cardiaco, nel 78% dei pazienti con tosse cronica e nel 40-60% dei pazienti adulti con asma bronchiale (50-60% degli asmatici in età pediatrica).<sup>31</sup> Si stima che tra il 4 e il 10% dei pazienti che si sottopongono a visita otorinolaringoiatrica presenti condizioni morbose correlabili a GERD.

## **Fisiopatologia**

La patogenesi della GERD è multifattoriale. In modo simile a quanto accade per la patogenesi dell'ulcera peptica, anche nella GERD vi sono meccanismi il cui equilibrio è simile a quello di una bilancia. Da un lato vi sono i meccanismi difensivi esofagei: la resistenza della mucosa esofagea, il tono dello sfintere esofageo inferiore (Lower Esophageal Sphincter - LES), la clearance esofagea, l'attività peristaltica esofagea e gastrica, il controllo della secrezione di acido gastrico. Dall'altra parte vi sono i fattori aggressivi: i rilasciamenti transitori dello sfintere esofageo inferiore (Transient Lower Esophageal Sphincter Relaxations TLESR), che determinano la risalita di agenti lesivi la mucosa (acido cloridrico, pepsina e sali biliari), l'ipersecrezione acida gastrica ed alcuni farmaci ed alimenti. In caso di prevalenza dei fenomeni lesivi si assiste alla comparsa di alterazioni micro e/o macroscopiche della mucosa esofagea.

Il prerequisito per lo sviluppo della GERD è la risalita dei succhi gastrici dallo stomaco all'esofago. Normalmente questo fenomeno è impedito a livello della giunzione gastroesofagea dalla cosiddetta barriera antireflusso, una zona anatomicamente complessa la cui integrità funzionale dipende dalla pressione intrinseca del LES, dalla compressione del

LES da parte del diaframma, dalla posizione intra-addominale del LES, dall'integrità del legamento freno-esofageo e dal mantenimento dell'angolo di His.<sup>32</sup>

La struttura complessa di questa unità funzionale lascia ipotizzare tre possibili meccanismi alla base del reflusso gastroesofageo:

- Rilasciamenti transitori dello sfintere esofageo inferiore (TLESRs)
- Ipotonicità dello sfintere esofageo inferiore
- Disfunzioni anatomiche della giunzione esofago-gastrica, tra cui l'ernia iatale

In ogni caso il fattore di maggiore importanza patogenetica è rappresentato dai TLESRs. Il reflusso è una situazione fisiologica, prevalentemente determinata dal TLESR, non conseguente alla deglutizione e della durata maggiore di 10 secondi. Nei pazienti con GERD, i TLESRs si verificano più spesso, hanno una durata maggiore e soprattutto si associano più frequentemente al reflusso acido. Il meccanismo di contrazione del LES non è ancora stato chiarito. Studi recenti hanno mostrato che uno dei principali neuromediatori coinvolti nel LES è l'ossido nitrico presente in quantità eccessiva nei pazienti con GERD.<sup>33</sup>

Le cause di un aumentato numero di TLESRs possono essere diverse; tra queste l'alterazione dell'attività peristaltica esofagea (sclerodermia, ernia iatale che rendono ottuso l'angolo di His), la distensione dello stomaco indotta dal gas e dal cibo, il meteorismo, l'ulcera peptica gastrica o duodenale e la duodenostasi.

Qualsiasi tipo di ernia iatale può dare origine ai classici sintomi del reflusso; quella che più frequentemente si riscontra è l'ernia iatale da scivolamento. In caso di presenza dell'ernia iatale il LES può migrare in senso prossimale nel torace con alterazione della regione ad alta pressione.<sup>34</sup>

Il LES è un segmento di 3-4 cm costituito da muscolatura liscia tonicamente contratta. La pressione a riposo del LES varia da 10 a 45 mmHg in relazione alla pressione intra-gastrica. Esiste una correlazione tra l'ipotonia del LES ed il numero dei reflussi gastroesofagei. Diversi fattori contribuiscono alla realizzazione della zona ad alta pressione ed il primo tra questi è la

muscolatura intrinseca dell'esofago. Queste fibre differiscono dalle altre presenti in esofago per uno stato di contrazione tonica; normalmente si rilasciano appena comincia la deglutizione per poi ritornare allo stato originario. Il secondo è rappresentato dalle fibre arciformi del cardias. Queste fibre sono alla stessa profondità anatomica delle fibrocellule muscolari circolari dell'esofago, ma orientate in direzione differente; decorrono diagonalmente dalla giunzione fundo-cardiale alla piccola curva. Il terzo è il diaframma; l'esofago, nel punto di passaggio toraco-addominale è circondato dai pilastri diaframmatici. Durante l'inspirazione, il diametro anteroposteriore dello iato è ridotto, comprimendo l'esofago ed aumentando la pressione a livello del LES. Questo concetto è particolarmente importante per l'interpretazione delle tracce manometriche esofagee.<sup>34</sup> La pressione del LES è influenzata da fattori nervosi (sistema parasimpatico), ormonali (glucagone, somatostatina, gastrina, VIP, colecistochinina), da alcuni cibi (cioccolato, tè, alcool, menta, agrumi), farmaci (metoclopramide, calcio antagonisti, nitrati), eventi fisiologici (pasti, gravidanza – aumento pressione addominale, alta estrogenemia e progesteronemia) e dal fumo (nicotina).<sup>32</sup>

Non all'ultimo posto tra le cause di GERD si trovano le caratteristiche chimiche del refluito. L'esposizione prolungata della mucosa esofagea all'acido gastrico contribuisce alla severità dell'esofagite.<sup>35</sup> Attualmente sempre maggiore attenzione viene inoltre rivolta ai reflussi debolmente acidi e debolmente alcalini (reflussi non acidi).

La difesa esofagea include anche la clearance esofagea dell'acido e la resistenza della mucosa. Il periodo di tempo in cui l'esofago rimane a pH minore di 4, a seguito di un episodio di reflusso, viene chiamato "tempo di clearance acida". Questo comincia con l'allontanamento dei fluidi refluiti attraverso la peristalsi e termina con la neutralizzazione degli acidi residui attraverso la saliva deglutita.<sup>36</sup> Vi sono due varianti di alterazione della clearance esofagea: chimica e meccanica. Dal momento che la salivazione diminuisce durante il sonno, la clearance acida, negli episodi di reflusso che si verificano in questo arco di tempo, sarebbe teoricamente compromessa; si pensa comunque che durante il sonno la clearance acida sia

facilitata dalla secrezione di bicarbonato da parte delle ghiandole della sottomucosa esofagea.<sup>37</sup> L'alterazione di questi processi determina una variante chimica del disordine della clearance esofagea.

Lo svuotamento esofageo nei pazienti con GERD può essere compromesso o da una disfunzione della peristalsi secondaria (soprattutto nelle ore notturne) o dalle disfunzioni peristaltiche causate dalla mancata contrazione muscolare o da contrazioni ipotensive (ampiezza < 30 mmHg). Questi casi rappresentano esempi di disordine meccanico della clearance esofagea. Gli episodi di reflusso che si verificano durante la notte sono maggiormente pericolosi e lesivi sia perché avvengono quando la posizione corporea non consente l'effetto di clearing legato alla gravità (allontanamento passivo del refluito) sia perché manca la stimolazione cosciente che attiva la deglutizione di saliva e la peristalsi dell'esofago.<sup>25</sup>

La funzione della saliva nella GERD non si limita alla sola neutralizzazione dei residui acidi in esofago attraverso il contenuto in bicarbonato; infatti è ormai noto che la saliva contiene numerosi fattori di crescita, tra cui l'Epitelial Growth Factor (EGF), che possono contribuire alla riparazione della mucosa dalle ulcerazioni causate dall'esposizione all'acido. E' stato osservato su modelli animali che l'EGF fornisce citoprotezione contro irritanti, promuove la guarigione delle ulcere duodenali e diminuisce la permeabilità della mucosa esofagea agli ioni idrogeno.<sup>38</sup>

Pur non essendo state individuate differenze significative nella funzionalità delle ghiandole salivari tra pazienti con GERD e soggetti sani, è stato osservato che i fumatori, nei quali la secrezione salivare è ridotta, hanno una clearance più bassa del 50% e un contenuto salivare basico (con potere tamponante) pari al 60% di quello dei non fumatori.<sup>39</sup>

La resistenza tissutale esofagea è data dall'integrazione di 3 componenti di seguito descritte.



### ***Componente pre-epiteliale***

Nello stomaco e nel duodeno la difesa pre-epiteliale all'insulto acido è costituita da uno strato di muco ed uno strato di acqua ricca di ioni bicarbonato. Nel lume esofageo le difese pre-epiteliali sono meno efficienti che nello stomaco e riescono a proteggere la mucosa esofagea solo a  $\text{pH} > 2$ . Questo potrebbe essere dovuto al fatto che nel lume esofageo non esiste uno strato di muco in grado di intrappolare ioni bicarbonato, l'epitelio è ricoperto solamente da un sottile strato di saliva mista a mucina secreta dalle ghiandole salivari e dalla sottomucosa.<sup>40</sup>

### ***Componente epiteliale***

L'epitelio esofageo è di tipo squamoso pluristratificato non cheratinizzato. I circa 30 strati di cellule che lo compongono sono funzionalmente suddivisibili in tre zone: strato corneo, spinoso e germinativo. Lo strato corneo è costituito da 5-10 strati di cellule pavimentose in degenerazione e formano una barriera di protezione ad insulti sia meccanici che chimici.<sup>41</sup> Lo strato spinoso è costituito da circa 20 strati di cellule mature metabolicamente attive e responsabili del trasporto di sodio dal lume al sangue. Queste cellule migrano verso gli strati più esterni per andare a sostituire quelle dello strato corneo. Lo strato germinativo è costituito da 1 o 2 strati di cellule cubiche incolonnate, attaccate alla membrana basale attraverso emidesmosomi e capaci di effettuare mitosi. La rigenerazione fisiologica dell'epitelio è un ciclo che si svolge normalmente in 5-8 giorni. In presenza di una necrosi, le cellule germinative possono riparare il danno in due modi. Il primo è la migrazione di cellule sane adiacenti la lesione stessa; questo avviene sotto stimolo di fattori di crescita quali l'EGF, l'Insulin-like Growth Factor (IGF-1) e l'Hepatocytes Growth Factor (HGF); si verifica in breve tempo non richiedendo neosintesi di acidi nucleici e di proteine, ma può provvedere alla sostituzione delle sole cellule profonde prossime alla membrana basale perché inibito ai pH superficiali compresi tra 3.0 e 6.5.<sup>40</sup>

Il secondo meccanismo, la replicazione cellulare, è quello maggiormente attivo nella GERD, in cui l'insulto acido-peptico è ripetuto e prolungato. Essa viene promossa dall'EGF

contenuto nella saliva, che deterge il lume esofageo e può, quindi, addentrarsi nelle zone lese venendo a contatto con i recettori specifici. Il processo è in grado di iniziare in soli 30 minuti ma richiede poi un tempo prolungato (2-4 giorni) e l'assenza di agenti lesivi per la completa riparazione delle aree epiteliali necrotiche. La proliferazione dell'epitelio esofageo è aumentata nella GERD, in particolare nella NERD, segno di un aumentato turn-over cellulare, espressione del tentativo di riparazione del danno.<sup>42</sup> La componente difensiva “strutturale” dell'epitelio esofageo impedisce la penetrazione della pepsina attraverso gli strati che la compongono; è costituita dalle membrane cellulari, dalle tight junction e dalla matrice glicoproteica interposta. Sulla membrana cellulare apicale sono presenti canali cationici non selettivi pH-dipendenti che, a pH luminale  $<2$ , sono inibiti impedendo quindi ogni scambio ionico.<sup>41</sup> Le tight junctions sono ponti proteici intercellulari collegati a tonofilamenti intracellulari. Le principali componenti proteiche di queste giunzioni sono l'occludina, l'ecaderina e la claudina. La presenza delle tight junction è in grado di limitare il passaggio di acido tra gli spazi intercellulari. In condizioni fisiologiche la loro carica negativa tende a renderle selettive per i cationi, quindi anche per gli ioni  $H^+$ ; tuttavia, quando il pH luminale si abbassa, diventano selettive per gli anioni limitando così la diffusione di ioni  $H^+$ .<sup>40</sup> La componente “funzionale” della resistenza epiteliale entra in gioco quando la rottura delle tight junctions espone la membrana basolaterale ad elevate concentrazioni di ioni idrogeno ed ha lo scopo di ristabilire il pH fisiologico a livello della mucosa e di rigenerare il tessuto danneggiato. Le componenti tissutali in grado di tamponare gli ioni  $H^+$  sono proteine, fosfati e ioni bicarbonato. Quando la capacità tamponante citosolica diventa insufficiente la neutralizzazione degli ioni idrogeno avviene attraverso il loro trasporto negli spazi intercellulari tramite la pompa  $Na^+/H^+$ , la captazione di bicarbonato mediata dalla pompa  $Cl^-/HCO_3^-$ ; la diminuzione di pH a livello degli spazi intercellulari viene a sua volta tamponata dagli ioni bicarbonato provenienti dal circolo sanguigno.<sup>40</sup>

## ***Post-Epiteliale***

L'afflusso sanguigno garantisce all'epitelio esofageo l'apporto di ossigeno, nutrienti e la rimozione di sostanze tossiche. Importante, in presenza di alte concentrazioni di ioni idrogeno, è l'apporto di  $\text{HCO}_3^-$  dal letto vascolare attraverso un processo dinamico, mediato da vari fattori quali istamina, ossido nitrico (NO) e calcitonin gene related peptide (CGRP), che consente un aumento dell'afflusso sanguigno parallelamente ad una elevazione dell'acidità luminale.

Un ruolo non ancora chiaro è rappresentato dal cosiddetto “acid pocket”, una piccola area gastrica prossima al cardias fortemente acida, che si crea nel periodo postprandiale e che potrebbe rappresentare un importante fattore responsabile del reflusso acido nel periodo postprandiale.<sup>43</sup> Circa il 40-50% degli adulti presenta un ritardo nello svuotamento gastrico che determina una elevata pressione intragastrica e stimola la secrezione acida spiegando in parte un aumento dell'esposizione della porzione esofagea distale all'acido e alla pepsina.

## **Fattori di rischio**

Molteplici fattori (fisiologici, ambientali e genetici) giocano un ruolo nella patogenesi della malattia da reflusso gastroesofageo. Recenti studi hanno dimostrato un'associazione tra fattori genetici e GERD, e la conseguente sequenza esofago di Barrett - adenocarcinoma esofageo.<sup>44</sup> I dati disponibili suggeriscono inoltre come età elevata e sesso maschile siano associati con una maggiore incidenza di esofagite erosiva.<sup>45</sup> La prevalenza dell'esofago di Barrett aumenta per età superiore ai 50 anni, soprattutto nei maschi caucasici.<sup>46</sup> Relativamente ai fattori di rischio modificabili, alcuni studi hanno messo in rilievo come le modificazioni dello stile di vita possano modificare l'incidenza della GERD.

I soggetti in sovrappeso e obesi hanno più probabilità di sviluppare la GERD rispetto a quelli con un indice di massa corporea nella norma.<sup>47</sup> Inoltre, lo studio ProGERD ha dimostrato che la gravità dell'esofagite aumenta con l'aumentare del BMI.<sup>48</sup> Il consumo

elevato di alcol, caffè, bevande gassate ed il fumo di sigaretta sembrano incidere sullo sviluppo di questa patologia.<sup>49,50</sup>

La GERD è facilmente riscontrabile in pazienti con altre malattie del tratto digestivo e non solo. In particolare, in pazienti con sindrome dell'intestino irritabile, ulcera peptica,<sup>51</sup> malattie del tessuto connettivo (sclerodermia) e broncopneumopatia cronica ostruttiva il rischio di GERD è elevato.<sup>52,53</sup>

## **Presentazione Clinica**

La GERD presenta un ampio spettro di manifestazioni cliniche, potendo determinare sintomi esofagei ed extraesofagei.

Non sempre la presenza dei sintomi è associata all'evidenza endoscopica di esofagite. I sintomi esofagei possono essere distinti in tipici e atipici. Quelli esofagei tipici, particolarmente frequenti, sono la pirosi (bruciore retrosternale che sale verso l'alto a partire dall'epigastrio, spesso post-prandiale) e il rigurgito (risalita di materiale gastrico, acido o alimentare, fino al faringe). I sintomi esofagei atipici sono la disfagia (difficoltà della deglutizione), l'odinofagia (dolore all'atto deglutitorio) ed il dolore toracico simil anginoso, che può anche indurre a sospettare, erroneamente, un infarto del miocardio (Tabella1).

I sintomi esofagei tipici sono utili ai fini della diagnosi, tuttavia non hanno una elevata sensibilità. Uno studio ha rilevato, per la pirosi ed il rigurgito, una sensibilità del 30-76% ed una specificità del 62-96%.<sup>16</sup> La disfagia è storicamente un sintomo d'allarme e rappresenta un'indicazione all'endoscopia anche per escludere possibili complicanze della GERD.

I sintomi atipici extraesofagei possono essere distinti in:

- orofaringei (tosse cronica, scialorrea, raucedine, erosioni dentali)
- laringei (laringite cronica, disfonia)
- bronco-polmonari (asma , polmonite ab ingestis)
- sinusiti

Riguardo la correlazione tra GERD e sintomi respiratori, sono stati ipotizzati due possibili meccanismi. Il primo è rappresentato dal diretto contatto dell'acido con le vie aeree superiori; uno studio ha dimostrato una diminuzione del pH intratracheale, durante le ore notturne, per microaspirazione del refluito, con contemporanea riduzione del picco di flusso espiratorio.<sup>54</sup> Il secondo è un riflesso vago-vagale evocato dall'acidificazione della porzione distale dell'esofago con conseguente broncocostrizione.<sup>55</sup>

La mucosa laringea è cento volte più sensibile all'acido rispetto a quella esofagea, inoltre non possiede meccanismi di difesa per la clearance dell'acido.<sup>56</sup> Il danno si verifica pertanto anche dopo un breve tempo di esposizione e già ad un pH di 5.

Per quanto riguarda l'asma, gli elementi clinici che fanno sospettare una correlazione con la GERD sono l'insorgenza notturna, l'esordio in età adulta e la refrattarietà dei sintomi alla terapia tradizionale.

Importante è inoltre la correlazione dei sintomi con il pasto, la posizione corporea e il sonno. Esistono vari questionari standardizzati volti a migliorare sia l'interpretazione che la quantificazione dei sintomi (Reflux Disease Questionnaire, GERD Impact Scale).

**Tabella 1. Prevalenza di Sintomi e Segni Atipici di MRGE**

<b>Sintomi</b>	<b>%</b>
Dolore toracico non cardiaco	50
Raucedine cronica	78
Asma	82
Laringite cronica	60
Globo faringeo	25-30
Tosse cronica	10-25

*Jaspersen D et al Aliment Pharmacol Ther 2003 Jun 15;17(12):1515-20*  
*Malagelada JR.; Aliment Pharmacol Ther. 2004 Feb;19 Suppl 1:43-8.*  
*Richter JE; Aliment Pharmacol Ther. 2005 Aug;22 Suppl 1:70-80*

## Diagnosi

Un corretto approccio diagnostico al paziente con sospetta GERD si basa su anamnesi accurata, esame obiettivo ed indagini strumentali laddove necessario. In presenza di sintomi esofagei tipici, una volta esclusi sintomi e/o segni d'allarme, la GERD può essere diagnosticata solo su base clinica, senza necessità di esami strumentali. Importante è la correlazione dei sintomi con il pasto, con la posizione corporea e con il sonno. Come ausilio, possono inoltre essere utilizzati i questionari standardizzati.<sup>57</sup>

I segni d'allarme comprendono il vomito, il sanguinamento del tratto digestivo, le masse addominali, il calo ponderale, la disfagia progressiva e l'anoressia, in modo particolare in soggetti di età superiore ai 50 anni.

## Endoscopia

Nel 1946 Allison ha introdotto il termine "esofagite da reflusso", riferendosi alla presenza di lesioni della mucosa esofagea conseguenti alla risalita di contenuto acido gastrico in esofago. Per molti anni, l'esofagite ha rappresentato l'unica testimonianza della GERD. L'endoscopia è un'indagine con elevata specificità ma sensibilità moderata, in ragione del fatto che circa il 60% dei pazienti con GERD presentano la forma NERD. L'esofagogastroduodenoscopia permette di identificare l'esofagite da reflusso e stabilirne la gravità. Di seguito vengono riportate le principali classificazioni dell'esofagite.

### *Classificazione di Savary-Miller*

**Tabella 2. Classificazione di Savary-Miller dell'esofagite<sup>58</sup>**

<b>Grado</b>	<b>Lesioni</b>
<b>0</b>	Mucosa normale
<b>I</b>	Presenza di erosioni di forma ovoidale o lineare non confluenti, singole o multiple su una plica longitudinale
<b>II</b>	Erosioni situate su più pliche longitudinali, ma non circonferenziali
<b>III</b>	Erosioni confluenti ad estensione circonferenziale
<b>IV-V</b>	Presenza di complicanze come stenosi, ulcere o esofago di Barrett

## *Sistema MUSE*

Il sistema “MUSE” è stato proposta nel 1992. Il nome rappresenta un acronimo composto dalle iniziali delle seguenti parole: metaplasia, ulcer, stricture, erosion.<sup>6</sup>

**Tabella 3. MUSE System**

Degree	Metaplasia	Ulcer	Stricture	Erosions
<b>0 – Absent</b>	M0 – Absent	U0 – Absent	S0 – Absent	E0 - Erosions
<b>1 – Mild</b>	M1 – One fold	U1 – Junctional	S1 - >9 mm	E1 – One fold
<b>2 – Moderate</b>	M2 - > Two folds	U2 – Barrett’s ulcer	S2 - <9 mm	E2 - > Two folds
<b>3 - Severe</b>	M3 - Circumferenzial	U3 - Combined	S3 – Stricture and short esophagus	E3 - Circumferential

## *Classificazione di Los Angeles*

Proposta nel 1996, prevede 4 gradi, indicati con le lettere da A a D. Questa classificazione tiene in considerazione l'estensione, il numero e la lunghezza delle lesioni mucose. A differenza dei precedenti, non indaga la profondità della lesione, ma si focalizza sull'alterazione dell'integrità mucosa, considerando qualsiasi forma.

**Tabella 4. Classificazione di Los Angeles dell'esofagite<sup>59</sup>**

Grado	Lesioni
<b>A</b>	lesioni di lunghezza sino a 5 mm senza continuità all'estremità di due pliche mucose
<b>B</b>	lesioni di lunghezza superiore ai 5 mm senza continuità all'estremità di due pliche mucose
<b>C</b>	lesioni di estensione sino al 75% della circonferenza esofagea, si estende lungo due o più pliche
<b>D</b>	lesioni di estensione maggiore del 75% della circonferenza esofagea

Oltre a diagnosticare l'esofagite erosiva, l'endoscopia permette di porre il sospetto di esofago di Barrett, di identificare lesioni esofagee dovute ad altre cause e di trattare possibili complicanze della GERD come stenosi e sanguinamento. Le indicazioni per l'endoscopia riguardano pazienti con alto rischio di complicanze e refrattari alla terapia con farmaci antisecretivi. E' ragionevole eseguire l'endoscopia come screening in certi gruppi ad alto rischio di esofago di Barrett, in particolare maschi bianchi in sovrappeso di età superiore ai 50

anni con storia di GERD di lunga durata.<sup>61</sup> L'esecuzione di un campionamento biptico e successiva valutazione istologica consente inoltre di valutare il grado di attività della GERD oltre che una diagnosi differenziale con esofagiti di altra natura. L'esame istologico, in assenza di esofagite macroscopica, è limitato all'identificazione dell'esofagite eosinofila che presenta sintomi simili alla GERD e non risponde a terapia con inibitori di pompa protonica (Proton Pump Inibitor - PPI). Nuove tecniche endoscopiche, come l'endoscopia ad alta risoluzione, la cromoendoscopia e la endomicroscopia confocale, stanno dando risultati promettenti, in modo particolare nella NERD.

### **Rx esofago a doppio contrasto**

Ha una scarsa sensibilità e specificità ed espone il paziente ad una elevata dose di radiazioni. In caso di GERD lo studio radiografico delle prime vie digerenti può essere di ausilio nel diagnosticare ernia iatale e stenosi oltre che per valutare l'apertura del LES e la peristalsi esofagea. Le attuali linee guida non raccomandano lo studio radiografico dell'esofago nella diagnosi della GERD.

Va sottolineato che la maggior parte dei pazienti che si rivolge al gastroenterologo presenta sintomi da reflusso persistenti.<sup>62</sup> La gestione di tali pazienti, soprattutto dopo fallimento del test con PPI, richiede degli ulteriori accertamenti.

### **pH-metria esofagea delle 24 ore**

È l'esame più sensibile e specifico e rappresenta il "gold-standard" per la diagnosi di reflusso gastroesofageo patologico. Grazie alla pH-metria è possibile valutare il grado ed il tempo di esposizione dell'esofago al reflusso acido, il tempo di clearance dell'acido e la relazione tra i sintomi ed il pasto. La pH-metria permette inoltre di stabilire la tipologia di trattamento più idonea (farmacologico o chirurgico).

Le indicazioni alla pH-metria esofagea sono le seguenti:

- valutazione del paziente con sintomi, in modo particolare atipici, ed EGDS negativa;



- valutazione preoperatoria del paziente con GERD
- valutazione del paziente refrattario alla terapia antisecretiva.<sup>25</sup>

La pH-Metria può essere eseguita con dispositivi che possono presentare differenze in merito alle seguenti caratteristiche: tipo di elettrodo per il pH, posizione dell'elettrodo, presenza di catetere transnasale e presenza o meno di un elettrodo incorporato per la misurazione dell'impedenzometria.

Per il monitoraggio del pH uno o più elettrodi pH-metrici vengono incorporati in un catetere flessibile collegato ad un registratore. Un elettrodo funziona con un potenziale costante, l'altro elettrodo funziona come misuratore sensibile ai cambiamenti della concentrazione degli ioni idrogeno. Gli elettrodi trasmettono la differenza di potenziale al registratore e a tale livello viene derivato il valore del pH. Gli elettrodi di riferimento possono essere interni o esterni. L'elettrodo di tipo interno è quello preferibile perché è incorporato nello stesso catetere dell'elettrodo misuratore. L'elettrodo esterno è invece maggiormente soggetto all'influenza di altri fattori quali l'umidità della pelle e la presenza di lesioni cutanee. I cateteri in vetro sono più precisi e rispondono più rapidamente ai cambiamenti del pH; per tale motivo il loro uso è preferito in ambito scientifico e per le indagini *in vitro*. I cateteri in antimonio hanno minore sensibilità rispetto a quelli in vetro, ma costano meno, hanno dimensioni ridotte e, da un punto di vista clinico, danno risultati sovrapponibili a quelli ottenuti con i cateteri in vetro.

Prima di iniziare l'esame occorre procedere alla calibrazione del sistema. Questa consiste nell'immersione della sonda pH-metrica in soluzioni a pH noto affinché il registratore possa acquisire la differenza di potenziale prodotta ad un valore di pH noto. Per la pH-metria esofagea possono essere utilizzate soluzioni con pH 4 e 7; in caso di pH-metria gastrica è invece opportuno impiegare soluzioni a pH 1 e 7.

Uno dei maggiori problemi è il corretto posizionamento dell'elettrodo pH-metrico; secondo la metodica standard, l'elettrodo deve essere posto a 5 cm in posizione prossimale rispetto al

limite superiore del LES. Tale distanza dovrebbe consentire di evitare la dislocazione del catetere nello stomaco durante la deglutizione, gli atti respiratori e i TLESRs. Al fine del posizionamento possono essere utilizzate diverse metodiche, più o meno affidabili: esame radiografico, pull-through pH-metrico, manometria esofagea, “LES finder” (un sistema di individuazione del LES), endoscopia. L’uso della manometria esofagea sembra la tecnica più attendibile in tal senso.<sup>63</sup>

Da qualche anno è disponibile anche la pH-Metria wireless, effettuata mediante una capsula telemetrica applicata alla mucosa dell’esofago distale. La capsula contiene un catetere in antimonio e un catetere di riferimento, oltre ad una batteria e un trasmettitore. I segnali vengono trasmessi dalla capsula ad un registratore applicato alla cintura del paziente. Un vantaggio significativo del sistema wireless è l’assenza del catetere che migliora notevolmente la tolleranza della procedura. Inoltre consente di prolungare la durata dell’indagine fino a 96 ore, migliorando la sensibilità del Symptom Index (SI).<sup>64</sup> Gli svantaggi della metodica wireless sono dati dalla necessità di eseguire un’endoscopia per il posizionamento del sistema è l’alto costo della capsula.

Il “gold standard” per la durata della pH-metria esofagea è di 24 ore. Lo studio limitato alle sole 3 ore post-prandiali, per quanto più comodo per il paziente, ha una sensibilità variabile dal 54 all’88%.<sup>65</sup>

Per ottenere un risultato ottimale, è importante svolgere l’indagine in condizioni il più possibile simili a quelle della quotidianità del paziente. Per tale motivo, al paziente viene consigliato di non modificare la dieta e lo stile di vita nel giorno dell’indagine. Nell’analisi del tracciato, i periodi di assunzione del pasto vengono esclusi in quanto il cibo e le bevande con pH inferiore a 4.0 possono mimare i reflussi.<sup>66</sup>

La pH-metria esofagea, con catetere e non, ha sensibilità e specificità elevate nei pazienti con esofagite erosiva (fino al 100%); tuttavia la sensibilità è più bassa nei pazienti con NERD, nei quali le indagini funzionali, data la negatività dell’esame endoscopico, sono di grande

importanza.<sup>67</sup> La pH-metria è infatti negativa in più del 50% dei pazienti con NERD. In tali casi, la pH-impedenzometria (Multichannel Intraluminal Impedance-pH Monitoring – MII-pH) aumenta la sensibilità diagnostica dal 71% al 90%.<sup>68</sup>

### **pH-Impedenziometria esofagea delle 24 ore**

L'aumento del numero di pazienti con sintomi persistenti ha messo in rilievo la scarsa sensibilità diagnostica della pH-metria. Silny, fu il primo a descrivere, nel 1991, l'impedenzometria, metodica che permette di misurare le variazioni dell'impedenza elettrica nel lume esofageo durante il passaggio di un bolo.

L'impedenza basale è determinata dal diametro del segmento, dalla conduttività della mucosa esofagea e dalla quantità di ioni nel tessuto. Quando l'esofago è vuoto l'impedenza è elevata. Il passaggio di un bolo liquido, con alta conduttività, comporta una riduzione dell'impedenza mentre, il passaggio di un bolo gassoso a bassa conduttività comporta un suo incremento. Misurando l'impedenza a diversi livelli nell'esofago si può determinare, inoltre, la direzione anterograda o retrograda del moto del bolo.

Il sistema per la pH-impedenzometria esofagea è composto da un catetere flessibile con un elettrodo per misurare il pH e da 6 o più anelli per la misura dell'impedenza a diversi livelli.<sup>69</sup> L'impedenziometria intraluminale supera i limiti della pH-Metria, poiché individua gli episodi di reflusso sulla base delle variazioni di impedenza nei diversi segmenti esofagei.<sup>70</sup> E' possibile anche valutare l'estensione prossimale del reflusso, parametro di particolare importanza nel caso di pazienti con sintomi extra-esofagei. L'impiego combinato di MII e pHmetria permette di distinguere i reflussi acidi dai non acidi e consente inoltre di individuare episodi di reflusso acido di durata inferiore ai 5 secondi; inoltre, con l'impedenziometria è possibile distinguere la natura fisica del materiale refluito, che può essere liquido, gassoso o misto ed il tempo di clearance. Il reflusso viene quindi classificato come acido se il pH è < 4, debolmente acido se il pH è tra 4 e 7 o alcalino se il pH è > 7. Come cut-off del è stato scelto il valore di 4 poiché l'attività della pepsina scende rapidamente in presenza di valori superiori

ed i sintomi tipici da reflusso vengono riscontrati più spesso in soggetti con valori inferiori a questo.<sup>71</sup>

I dati, dopo essere stati registrati, vengono scaricati e analizzati tramite un apposito software. Dato che la lettura automatizzata non è attendibile, portando ad una sovrastima degli episodi di reflusso, viene sempre effettuata la lettura ed interpretazione del tracciato da parte di un medico specializzato.

La prima definizione dei parametri da valutare in un tracciato pH-metrico è stata effettuata da Johnson e DeMeester, e prevede 6 indici:

- percentuale totale di tempo a pH<4;
- tempo in percentuale in cui l'esofago è stato esposto all'acido cloridrico (indice di reflusso);
- percentuale di tempo a pH<4 in posizione eretta o supina;
- numero totale dei reflussi acidi;
- numero di reflussi di durata superiore ai 5 minuti (reflussi lunghi);
- durata dell'episodio più lungo;

Attualmente vi è un consenso condiviso nel ritenere la percentuale totale di tempo a pH<4 (Acid Exposure Time – AET) il parametro più utile, anche singolarmente, nel distinguere reflusso patologico e fisiologico.<sup>72</sup>

Relativamente ai parametri impedenziometrici, la durata del singolo episodio di reflusso (Bolus Contact Time - BCT) è determinata dal tempo necessario al ritorno dell'impedenza al 50% del valore iniziale. La durata del BCT rispecchia il grado di severità della GERD.<sup>73</sup> Si definisce reflusso gassoso l'aumento di impedenza di 3000 in due canali consecutivi con un picco superiore a 7000 Ohm in un punto.

A condurre il paziente dal medico sono i sintomi di GERD. Il punto cruciale è determinare la correlazione tra sintomi e reflusso, soprattutto nei pazienti con AET nella norma. Il sintomo è considerato associato ad un episodio di reflusso se viene segnalato a distanza non più di 2

minuti dal reflusso. I reflussi correlati con i sintomi vengono misurati attraverso tre indici principali:

- Symptom Index (SI): numero di sintomi associati al reflusso/numero totale dei sintomi nelle 24 ore per 100. Un valore > 50% viene considerato positivo.
- Symptom Association Probability (SAP): probabilità che i sintomi siano correlati al reflusso; viene calcolato attraverso una tabella di contingenza 2x2 che considera, per segmenti consecutivi di 2 minuti, la presenza e l'assenza di reflussi e di sintomi. Risulta positivo se >95%.
- Symptom Sensitivity Index (SSI): numero di sintomi associati al reflusso/numero totale degli episodi di reflusso per 100. Un valore >10% viene considerato positivo.

Un indice può essere clinicamente considerato utile se in grado di predire i risultati di una eventuale terapia. Alcuni studi hanno dimostrato che alterati parametri di pH-metria esofagea delle 24 ore corrispondono ad un'elevata probabilità di successo della fundoplicatio.<sup>74,75</sup> Risultati simili sono stati ottenuti per il SAP ed il SI. I pazienti con SI e SAP negativi hanno i sintomi persistenti dopo la fundoplicatio e rispondano meno all'aumento del dosaggio dei PPI.<sup>76</sup>

Ricapitolando, la 24h pH-MII consente di ottenere le seguenti informazioni:

- numero di reflussi gastro-esofagei
- natura fisica dei reflussi
- estensione prossimale del reflusso
- associazione tra episodi di reflusso e sintomi

La pH-impedenziometria esofagea permette inoltre di stabilire il trattamento (farmacologico o chirurgico) più opportuno per poi valutare periodicamente l'efficacia della terapia intrapresa.

### **Test all'inibitore di pompa protonica**

In caso di sintomi tipici di GERD è possibile eseguire un test farmacologico empirico con PPI. In genere un dosaggio medio di PPI permette di ottenere dopo pochi giorni una risposta

positiva sulla sintomatologia.<sup>77</sup> La sensibilità di tale test è del 75-92%, la specificità del 55-90%. In caso di test positivo non ci sono indicazioni all'esecuzione di ulteriori indagini ad eccezione dei casi in cui il paziente rifiuti di continuare il trattamento a causa dei costi o di eventuali effetti collaterali della terapia. Questi pazienti potranno essere candidati al trattamento chirurgico.<sup>78</sup>

### **Bilimetria esofagea delle 24 ore**

La bilimetria esofagea delle 24 ore è un test basato sulla misurazione endoluminale, per via spettrofotometrica, della bilirubina presente in esofago o stomaco. E' utile a scopo di ricerca per diagnosticare un reflusso duodeno-gastro-esofageo. Tale metodica richiede l'esecuzione di una dieta "bianca", cioè priva di alimenti che possano influenzare la rilevazione spettrofotometrica. Alcuni dati suggeriscono che l'acido gastrico ed il contenuto duodenale possano agire sinergicamente nel determinare un'alterazione della mucosa esofagea.<sup>79</sup>

### **Manometria esofagea**

Consente di studiare il tono pressorio del LES e la peristalsi esofagea. Tuttavia, l'ipotono del LES e le alterazioni della peristalsi esofagea non sono specifiche per la diagnosi di GERD. La manometria è utile per il posizionamento del catetere transnasale ai fini della pH-Metria o pH-Impedenziometria. È inoltre un esame utile nei pazienti candidati alla chirurgia al fine di escludere alterazioni della motilità esofagea (acalasia, sclerodermia)<sup>80</sup> e nei pazienti con NERD non responsiva a trattamento con PPI per la ricerca di altre eventuali alterazioni esofagee.<sup>81</sup>

### **Test per H. Pylori**

Non è indicato per la diagnosi di GERD. Vi sono dati controversi sulla correlazione tra infezione da H. pylori e GERD e sull'impatto dell'eradicazione sulla storia naturale della GERD. Uno studio ha sottolineato l'importanza dell'eradicazione in pazienti che assumono

PPI a lungo termine,<sup>82</sup> in quanto ad alto rischio di gastrite atrofica. Tuttavia, tali dati non sono sufficienti per consigliare il test diagnostico e l'eradicazione di H. pylori a tutti i pazienti che assumano PPI a lungo termine. Le linee guida americane per la diagnosi ed il trattamento della malattia da reflusso gastroesofageo non consigliano tale approccio.<sup>83</sup>

## Malattia da Reflusso Non Erosiva

La maggior parte dei pazienti con GERD presenta forme non erosive (NERD).<sup>84</sup> In accordo con la definizione del Montreal workgroup, la NERD è una condizione con sintomi tipici da reflusso gastroesofageo (pirosi e rigurgito) in assenza di lesioni all'indagine endoscopica.<sup>85</sup> Vi sono due aspetti fondamentali che definiscono la NERD: l'assenza di segni macroscopici di esofagite all'endoscopia e la presenza di un'associazione tra sintomi e reflussi acidi o debolmente acidi.<sup>86</sup> Vi sono dati che dimostrano come più del 50% dei pazienti con sintomi di GERD non presenti lesioni esofagee.<sup>87</sup> Studi recenti hanno rilevato come la NERD rappresenti circa il 75% delle forme di GERD.<sup>88</sup> Tuttavia, non è possibile escludere che parte di tali pazienti sia stata considerata tale per una guarigione della mucosa esofagea dopo assunzione di PPI.

Dopo la pubblicazione dei risultati del Workshop di Genval, i pazienti con NERD sono stati distinti in tre gruppi, sulla base di risultati della pH-metria delle 24 ore:

- Pazienti con alterazione dell'AET
- Pazienti con AET nei limiti ma correlazione tra sintomi e reflussi, condizione definita esofago ipersensibile (Hypersensitive Esophagus - HE)
- Pazienti con sintomi tipici da reflusso, pH-metria nella norma e assenza di correlazione tra sintomi ed episodi di reflusso. Questi pazienti, sulla base della risposta alla terapia con PPI, sono stati suddivisi in due ulteriori sottogruppi (responsivi e non responsivi). Il caso dei non responsivi, in accordo con i criteri di Roma III, è stato classificato come pirosi funzionale.<sup>89</sup>

Nella comprensione del concetto di NERD ha avuto un importante ruolo l'introduzione della pH-impedenziometria. Questa tecnica, che combina pH-metria esofagea e impedenziometria consente, infatti, di differenziare i reflussi (acidi e non acidi) e di determinare il livello di migrazione prossimale del reflusso. Uno studio ha dimostrato che solo il 45% dei pazienti con



NERD presenta un AET aumentato.<sup>90</sup> I pazienti con AET nei limiti e assenza di correlazione tra sintomi e reflussi, presentano la condizione di esofago ipersensibile, al reflusso acido o non acido.<sup>91</sup> Solo i pazienti con la piroisi funzionale deve essere considerato come affetto da patologia differente dalla GERD.

<b>Erosive reflux disease (ERD):</b> patients with mucosal breaks at endoscopy
<b>Non-erosive reflux disease or true NERD:</b> patients with typical reflux symptoms, negative upper endoscopy and abnormal esophageal acid exposure at impedance-pH monitoring
<b>Acid hypersensitive esophagus:</b> patients with negative upper endoscopy, normal esophageal acid exposure and positive symptom association to acid reflux (SI>50%, SAP>95%) at impedance-pH monitoring
<b>Non-Acid hypersensitive esophagus:</b> patients with negative upper endoscopy, normal esophageal acid exposure and positive symptom association to non-acid reflux (SI>50%, SAP>95%) at impedance-pH monitoring
<b>Functional heartburn:</b> patients with negative upper endoscopy, normal esophageal acid exposure, negative symptom association to any type of reflux (SI<50%, SAP<95%) at impedance-pH monitoring and non-response to PPIs

*SI, Symptom index; SAP, symptom association probability*

Figura 3. Gastro-esophageal reflux subgroups.

La tecnica pH-impedenziometrica combinata con il SAP ha permesso di studiare la natura chimica del reflusso e la correlazione tra sintomi ed episodi di reflusso portando ad una classificazione più corretta dei pazienti con NERD (che va oltre i cosiddetti criteri di Roma III) e ad una riduzione della percentuale della popolazione con piroisi funzionale. Sulla base di recenti evidenze anche i pazienti con SAP negativo, normale esposizione esofagea all'acido e buona risposta alla terapia con PPI dovrebbero essere considerati appartenenti al gruppo NERD.<sup>86</sup>

Il criterio della risposta alla terapia con PPI è abbastanza empirico e può essere legato all'effetto del placebo e alla riparazione delle lesioni microscopiche non evidenziate dall'endoscopia ma considerate uno degli elementi chiave della NERD.<sup>92</sup> Nonostante le controversie sull'accuratezza del PPI test, esso è considerato il primo passo nella diagnostica differenziale per tutti i pazienti con pirosi e rigurgito.

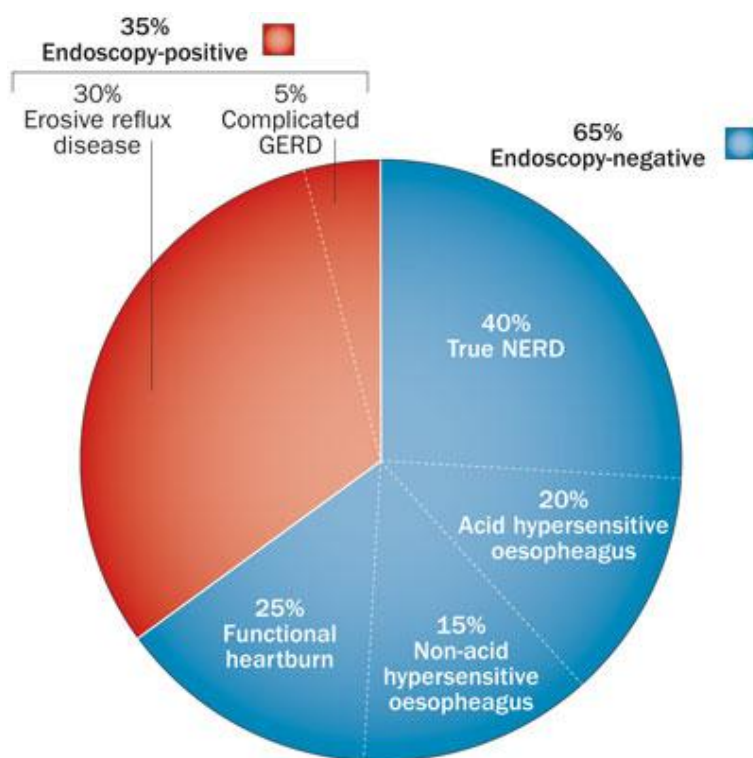


Figura 4. Endoscopic and impedance-pH testing categorization of patients with GERD.

Il problema della distinzione tra NERD e pirosi funzionale assume particolare rilievo in caso di risposta insoddisfacente o parziale alla terapia antisecretoria. In questo gruppo di pazienti, la pH-impedenziometria è indispensabile per formulare una diagnosi corretta e, di conseguenza, definire il trattamento più appropriato.

Per capire meglio la differenza, in modo particolare riguardo l'approccio terapeutico, tra GERD con esofagite, NERD e pirosi funzionale è importante conoscere i processi patofisiologici che portano allo sviluppo di queste condizioni. Molti studi hanno confermato

che le alterazioni fisiopatologiche in pazienti con NERD sono più lievi rispetto a quelle osservate in pazienti con esofagite erosiva o esofago di Barrett, ma presenti rispetto ai soggetti sani.<sup>93</sup> Nonostante il trattamento della GERD sia basato sulla terapia con farmaci antisecretori, non esiste una differenza significativa nella produzione di acido a livello intragastrico nelle 24 ore tra pazienti con GERD e soggetti sani.<sup>94</sup>

Alcuni studi hanno dimostrato che l'AET in pazienti con NERD è minore rispetto a quanto osservato in pazienti con GERD. L'AET, nei pazienti con NERD, ha valori significativamente più bassi nel periodo notturno; inoltre la motilità esofagea è solo minimamente alterata rispetto ai soggetti sani.<sup>95</sup>

Esistono diverse teorie sulla genesi dei sintomi nella NERD. Nei pazienti con NERD la frequenza e l'intensità della pirosi sono simili rispetto a quanto osservato nei pazienti con GERD erosiva. Alcuni ricercatori hanno ipotizzato che tale fenomeno possa essere legato alla presenza di lesioni ultrastrutturali non visibili endoscopicamente.<sup>96</sup> Lungo tutto il tratto gastrointestinale le terminazioni nervose intrinseche ed estrinseche si trovano nella lamina propria e non penetrano nell'epitelio, poiché quest'ultimo le protegge dall'azione lesiva del contenuto luminale. E' chiaro che l'alterazione dell'epitelio permette agli ioni  $H^+$  l'accesso diretto a queste terminazioni, ma non è il caso della NERD. Nel duodeno, in risposta all'acidificazione della mucosa, si verifica una diffusione di  $CO_2$ , idratazione in  $H^+$  e  $HCO_3^-$ , acidificazione intracellulare e uscita di  $H^+$  tramite il canale  $Na^+/H^+$ .<sup>97</sup> L'esofago presenta un epitelio relativamente spesso (20-30 strati di cellule squamose non cheratinizzate), quindi un tale meccanismo, per quanto teoricamente possa produrre la sensazione di bruciore, è poco probabile. La teoria più verosimile riguarda la presenza di un'alterazione dell'integrità della barriera mucosale a livello microscopico.

A sostegno di questa ipotesi sono stati svolti diversi studi biotici dell'esofago, focalizzati sulla presenza di un allargamento degli spazi intercellulari e di lesioni che potrebbero consentire all'acido di raggiungere i recettori chemiosensibili ed attivarli: la cosiddetta

“abnormal tissue resistance”. Nell’esofago gli elementi principali della barriera epiteliale sono le membrane apicali, le giunzioni composte e lo strato corneo. Normalmente questo meccanismo protegge la mucosa esofagea dalla penetrazione del contenuto del reflusso. L’alterazione delle giunzioni porta alla riduzione della differenza di potenziale e della resistenza elettrica transmurale, all’aumento della permeabilità paracellulare ad acqua, acido, elettroliti. In conseguenza all’aumento dei sali e dell’acqua nella regione delle giunzioni avviene l’allargamento degli spazi intercellulari. E’ stato dimostrato, attraverso microscopia elettronica, che i pazienti sintomatici, con GERD erosiva e non, presentano una dilatazione degli spazi intercellulari tre volte maggiore rispetto ai controlli sani. I campioni biotici, prelevati endoscopicamente in pazienti con NERD, al microscopio ottico mostrano la presenza di un’alterazione della barriera mucosa nell’80% dei casi.<sup>98</sup> La microscopia elettronica sembra essere più specifica per la ricerca delle lesioni ultrastrutturali nei pazienti con NERD. La “teoria di penetrazione” suppone che agenti nocivi (componenti del reflusso) attivino più facilmente i nocicettori a causa dell’aumento della distanza tra le cellule epiteliali esofagee. Il tipo chimico del reflusso può essere sia acido che debolmente acido, producendo la sintomatologia caratteristica della GERD.

Alcuni ricercatori hanno dimostrato, su modelli animali, la presenza di neuroni ricettivi negli spazi intercellulari. Il livello di pH al quale è stata verificata l’attivazione dei recettori è di 5,2-6,9.<sup>99</sup> Su campioni biotici prelevati in pazienti con esofagite erosiva e NERD, è stato riscontrato un aumento della proteina TRPV1. Tale proteina è un recettore che dopo l’attivazione trasmette i segnali dolorosi al sistema nervoso centrale tramite nervi spinali o vagali. Le proteine TRPV1 sono recettori acido-dipendenti, rispondono anche a modesti cambiamenti di pH (pH 6-7) ed inoltre, nel materiale istologico ottenuto da soggetti con NERD è stato osservato un incremento dell’RNA codificante tale proteina.

Un’altra teoria sullo sviluppo dei sintomi nella NERD si basa sul riscontro, in tali pazienti, di contrazioni esofagee prolungate durante ultrasonografia endoscopica. Quest’ultima

metodica, eseguita in pazienti con piroisi, pH-metria patologica e assenza di risposta a terapia con PPI ha consentito di individuare un aumento dello spessore della parete esofagea. È stata inoltre riscontrata una correlazione tra contrazioni prolungate, piroisi e reflusso acido. Altri studi hanno anche dimostrato la presenza di una forte correlazione tra contrazioni prolungate e dolore toracico, in pazienti con sintomi atipici.<sup>100</sup> Sembra quindi plausibile l'ipotesi che la compressione e l'ischemia neuronale possano determinare una sensazione di bruciore a livello toracico.

Un ulteriore progresso ottenuto nella comprensione della patogenesi della NERD deriva dai risultati di uno studio presentato nel corso della Digestive Disease Week 2010. Nei pazienti con piroisi funzionale l'incidenza di episodi di reflusso prossimale risulta simile a quella dei volontari sani, mentre nei pazienti con ipersensibilità la migrazione prossimale del reflusso ha una frequenza simile a quella osservata nei soggetti SAP-positivi con alterata esposizione esofagea all'acido. Inoltre, relativamente alle caratteristiche chimiche del refluito, è stato osservato come i pazienti con ipersensibilità esofagea abbiano una maggiore incidenza di reflussi non acidi rispetto agli altri sottogruppi. A differenza dei pazienti con esofagite da reflusso, quelli con NERD risultano altamente sensibili ai reflussi di breve durata, i quali si verificano con un'incidenza significativamente più elevata.<sup>101</sup> La massima esposizione acida prossimale e la massima percezione sono state osservate nei pazienti con NERD e un profilo di pH normale. Studi con pH-impedenziometria hanno confermato l'ipotesi secondo la quale la valutazione della distribuzione del refluito e la sua percezione nell'intero esofago permettono di identificare i pazienti con reflusso che potrebbero beneficiare del trattamento di soppressione acida.<sup>102</sup>

La zona di transizione, punto in cui la muscolatura striata dell'esofago superiore si modifica in muscolatura liscia, essendo più distensibile, favorisce l'accumulo del materiale refluito, che può causare la comparsa dei sintomi.<sup>103</sup> L'esofago prossimale è più sensibile dell'esofago distale e lo è sia per il reflusso acido sia per quello debolmente acido. Si ritiene

che l'ipersensibilità dell'esofago prossimale possa essere riconducibile sia alla sensibilizzazione periferica di chemiocettori e/o meccanicettori esofagei - diretta (per l'esposizione al reflusso) e indiretta (mediata da molecole pro-infiammatorie associate all'esofagite macro o microscopica) - sia alla sensibilizzazione centrale (iperalgia meccanica secondaria dell'esofago prossimale non esposto ad HCl a seguito di perfusione acida dell'esofago distale).<sup>104</sup> Il quadro clinico dell'ipersensibilità dell'esofago prossimale si presenta come allodinia e iperalgesia. Per iperalgesia si intende la percezione di dolore molto intenso in risposta a stimoli dolorosi lievi; per allodinia, la percezione di dolore in risposta a stimoli che normalmente non sono dolorosi.<sup>105</sup>

Nell'esofago, l'iperalgia secondaria (viscero-viscerale - esofago prossimale e viscero somatica - parete toracica) è stata scoperta in studi su volontari sani sottoposti ad infusione di acido in esofago.<sup>106</sup> L'iperalgia secondaria si riduce dopo la somministrazione di antagonisti del recettore tipo 1 della prostaglandina E2 e viene bloccata da antagonisti dei recettori di ketamina ed NMDA. Questo suggerisce che la sensibilizzazione centrale non sia soltanto un meccanismo importante per lo sviluppo dell'iperalgia secondaria ma anche che il processo di trasmissione si svolga tramite vie glutammatergiche.<sup>107</sup>

Uno studio svolto negli Stati Uniti nel 1988 ha documentato che il 64% dei soggetti con pirosi riferisce un peggioramento dei sintomi in seguito dello stress.<sup>108</sup> Tuttavia, degli episodi di reflusso percepiti, solo il 20% si associa a reflussi acidi riscontrati durante la pH-metria esofagea delle 24h. Questo suggerisce che anche gli stimoli minori possono essere interpretati dai pazienti come maggiori. Fass e coll. hanno dimostrato che lo stress acuto aumenta la sensibilità all'esposizione acida sia nella NERD che nell'esofagite erosiva.<sup>109</sup> Le tecniche di rilassamento riducono invece la sintomatologia da reflusso.

Queste osservazioni portano alla conclusione che la sensibilità al reflusso possa essere modificata tramite un'azione sulla catena cervello-apparato digerente.

Come già detto, l'alterazione delle giunzioni intercellulari da parte dell'acido determina l'aumento della permeabilità paracellulare. Di recente, uno studio condotto su modelli animali ha riscontrato che lo stress aumenta la permeabilità esofagea anche in assenza di esposizione ad acido e pepsina.<sup>111</sup>

L'ipersensibilità dell'esofago, nella NERD, rappresenta una condizione, non un meccanismo. L'ipersensibilità all'acido suggerisce la presenza di una "primary neuronal dysfunction", cioè di alterazioni neuronali, a livello centrale o periferico, responsabili della percezione degli stimoli.

# **Studio**

## **Background**

Nella malattia da reflusso gastro-esofageo (Gastroesophageal Reflux Disease - GERD), le anomalie della clearance del bolo esofageo sottolineano l'importanza di un'alterata funzione esofagea. Attualmente non sono disponibili dati relativi al ruolo del tempo di contatto del bolo (Bolus Contact Time - BCT) in pazienti con GERD non erosiva (Non Erosive Reflux Disease - NERD).

## **Scopo dello Studio**

Scopo di tale studio è stato il confronto del BCT e dei livelli di impedenza basale (Baseline Impedance - BI) in pazienti con sintomi da reflusso tipici e caratteristiche fisiopatologiche tipiche della NERD, suddivisi in tre gruppi sulla base dei valori del tempo di esposizione acida (Acid Exposure Time - AET) e del numero degli episodi di reflusso rilevati con pH-Impedenziometria delle 24 ore (24-h impedance-pH Monitoring – MII-pH). Tali risultati sono inoltre stati confrontati con un gruppo di pazienti con sintomi da reflusso tipici e MII-pH negativa.

## **Metodi**

### **Soggetti**

Nel periodo 2013-2014, sono stati arruolati 117 pazienti consecutivi con pirosi e/o rigurgito ed esofago-gastro-duodenoscopia negativa. Tutti i pazienti, previa sospensione da almeno 20-30 giorni di eventuale terapia con inibitori di pompa protonica, sono stati sottoposti a manometria esofagea e MII-pH.

Per ogni paziente sono state raccolte le seguenti informazioni: caratteristiche demografiche (età, sesso, BMI); sintomatologia; AET; numero degli episodi di reflusso



identificati mediante MII; BI a livello del canale 3, valutata durante il riposo notturno in tre differenti momenti; BCT rilevato ai canali 3 e 5 per ogni episodio di reflusso indentificato con la MII.

### **Manometria Esofagea**

La manometria esofagea è stata utilizzata al fine di determinare la distanza del bordo superiore del LES dalle narici e per escludere la presenza di anomalie della peristalsi. L'esame è stato eseguito con sondino del diametro di 4.5 mm ed 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 stati valutati mediante 10 deglutizioni di un bolo di 5 cc di acqua. L'ampiezza e la durata delle onde sono state valutate rispettivamente a 5, 10, 15, 20 cm dal LES. Le pressioni massima e media del LES sono state misurate mediante la tecnica del “pull-through”.

### **pH-Impedenziometria Multicanale delle 24 ore**

La pH-impedenziometria multicanale delle 24 ore è stata effettuata mediante catetere in polivinile (Sandhill Scientific Inc. - Highland Ranch – CO). La misura dell'impedenza è stata eseguita mediante elettrodi adiacenti e accoppiati, 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 (sensori di MII 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 analogo a quella utilizzata per la registrazione dei dati di normalità,<sup>112</sup> senza utilizzo di alcol e caffè per ridurre la variabilità. 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 ha eseguito l'esame ha segnalato la presenza di sintomi sull'apposito diario e sul data logger i sintomi presenti durante la giornata. Ogni tracciato di MII-pH è stato analizzato manualmente, utilizzando 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 uno spike gassoso all'interno della caduta di impedenza in 2 canali successivi), reflusso gassoso (presenza di spike positivo dell'impedenza in tutti i canali con andamento retrogrado). Sono stati definiti prossimali i reflussi che raggiungevano gli elettrodi posti a 15 cm dal LES.

La correlazione fra sintomi e reflussi è stata definita sulla base della presenza dell'evento sintomatico all'interno di una finestra di 2 minuti rispetto all'evento reflusso registrato. Tutti gli eventi sintomatici sono stati analizzati per tipo e considerati positivi se tale associazione era superiore al 95%.

### ***Calcolo dell'Impedenza Basale***

I livelli basali di impedenza sono stati calcolati mediante l'utilizzo del segnale derivante dal canale posto a 3 cm dal LES (z3) durante il periodo di riposo notturno. Il valore basale di impedenza deriva dal flusso di corrente elettrica che I sensori di impedenza registrano quando l'esofago torna nella condizione di cavità virtuale e favorisce il contatto della mucosa con gli elettrodi stessi. È stato scelto il periodo di riposo notturno in quanto meno influenzato dalla presenza di atti deglutitori. È stato quindi calcolato il BI mediante tre campionamenti, della durata di 10 minuti ciascuno, fatti rispettivamente alle ore 1:00, 2:00 e 3:00 durante il riposo notturno. Ogni campionamento è stato fatto considerando un periodo di tempo in cui il valore di impedenza risultava sufficientemente stabile, escludendo occasionali eventi di deglutizione o di reflusso. Il tipo di campionamento descritto è stato selezionato a seguito di un precedente

lavoro che ha dimostrato un'elevata concordanza (ICC = 0,99; CV = 3,8%) quest'ultimo ed il calcolo di un più lungo periodo di analisi (6 ore), eseguito sempre durante le ore notturne.<sup>113</sup>

### ***Calcolo del Tempo di Contatto del Bolo***

Il tempo di contatto del bolo (BCT) è stato calcolato manualmente analizzando il tempo intercorso tra il momento di inizio della caduta del valore di impedenza (>50%), indicativa dell'evento reflusso, ed il momento di ritorno dell'impedenza al suo valore basale. La raccolta dei dati è stata eseguita a livello dei canali posti rispettivamente a 3 e 5 cm dal LES per ogni evento di reflusso. Per ciascun paziente è stato pertanto calcolato il valore medio e la deviazione standard del BCT.

### **Suddivisione in Sottogruppi**

I pazienti sono stati suddivisi in tre sottogruppi come segue: AET+/MII+ (alterati valori sia di AET che del numero di reflussi); AET+/MII- (alterato AET e normale numero di reflussi); AET-/MII+ (AET normale e alterato numero di reflussi). I pazienti con AET e numero di reflussi nei limiti della norma (AET-/MII-) sono stati selezionati come controlli.

### **Analisi Statistica**

Le variabili continue sono espresse come media  $\pm$  DS. Le differenze tra gruppi sono state valutate mediante analisi della varianza (ANOVA). Un livello di  $p < 0,05$  è stato considerato statisticamente significativo.

### **Risultati**

I pazienti AET+/MII+ hanno mostrato valori medi più elevati di AET, BI e BCT rispetto a tutti gli altri gruppi ( $p < 0,001$ ). Il numero dei reflussi è risultato più elevato nei soggetti AET+/MII+ e AET-/MII+ rispetto ai soggetti AET+/MII- e AET-/MII- (rispettivamente  $79 \pm 26,7$  e  $70,2 \pm 15,6$  vs  $36,3 \pm 9,1$  e  $24,3 \pm 9,6$ ;  $p = 0,001$ ). Il valore di BI (a 3 cm) ha mostrato

una progressiva riduzione dai pazienti con AET+/MII+, AET+/MII-, AET-/MII+ fino a quelli con AET-/MII- (1144,5±422,1 vs 1580,5±861,5 vs 1723,3±434,4 vs 3652,5±888,4; p<0,001).

Il valore di BCT medio (3 e 5 cm) è risultato più elevato nei pazienti con AET+/MII- e con AET-/MII+ rispetto a quelli con AET-/MII- sia a 3 cm (29,7±4,4 vs 23,6±11 vs 14,5±2,3; p<0,001) che a 5 cm (25±4,5 vs 19,1±11,2 vs 11±2,7; p<0,001).

**Tabella 5. Parametri MII-pH nei differenti sottogruppi di pazienti**

	AET+/MII+ (31)	AET+/MII- (28)	AET-/MII+ (34)	AET-/MII- (24)	P value
<b>M:F</b>	18:13	11:17	18:16	6:18	0,03
<b>Età media (ds)</b>	56,1±12	54,5±11,5	45,3±14,7	48,8±11,5	0,64
<b>Reflussi Prossimali (ds)</b>	42,6±26,7	14,3±8	29,7±12	9,3±4,8	0,001
<b>BI 3 cm (ds)</b>	1144,5±422,1	1580,5±861,5	1723,3±434,4	3652,5±888,4	0,001
<b>BCT 3 cm (ds)</b>	46,5±18,3	29,7±4,4	23,6±11	14,5±2,3	0,001
<b>BCT 5 cm (ds)</b>	38,8±15,3	25±4,5	19,1±11,2	11±2,7	0,001

*AET – Acid Exposure Time; BCT – Bolus Contact Time; BI - Basal Impedance; MII – Impedence Monitoring.*

## Discussione

Questo lavoro, realizzato in occasione di questa tesi di laurea, è il primo lavoro scientifico che valuta l'impatto del tempo di clearance del bolo (BCT) nella malattia da reflusso gastroesofageo.

Nella pratica clinica il BCT è un parametro che è stato per anni scarsamente considerato in quanto apparentemente non sembrava legato in alcun modo alla durata o alla quantità dei reflussi nei pazienti con GERD. I primi studi risalenti agli anni 1995-2000 avevano cercato una correlazione fra il parametro BCT e il numero di reflussi o l'AET o la presenza di sintomi senza evidenziare alcuna associazione.<sup>114,115</sup>

Il BCT è un parametro che viene calcolato automaticamente durante la fase di lettura (autoscan) del tracciato di pH-MII delle 24-h come valore medio complessivo. Il parametro riportato non ha mai attirato la nostra attenzione in quanto dopo primi confronti fra pazienti con AET maggiore o minore di 4.2% non si sono osservate differenze.<sup>116</sup>

Questo dato ci ha portato a fare delle considerazioni e delle osservazioni specifiche che ci hanno permesso di capire che il numero espresso dall'analisi automatica altro non era che la media di tutti i valori di tempo di contatto del bolo per tutti canali per tutti i reflussi registrati. Per meglio comprendere si potrebbe fare un'esempio pratico ovvero come due reflussi differenti sarebbero in grado di dare lo stesso valore:

- EVENTO A: z3=30s; z5=20s; z7=10s. BCT totale 20 sec.
- EVENTO B: z3=50s; z5=37s; z7=20s; z9=8s; z15=4s; z17=1. BCT totale 20 sec.

Nonostante i due eventi abbiano un valore di BCT sovrapponibile hanno differenti tempi di contatto del bolo a livello distale e nella zona compresa fra 3 e 7 cm dalla giunzione esofago-gastrica peraltro sede dove viene calcolato il tempo di esposizione all'acido nelle 24 ore.

Il nostro lavoro si è basato sul calcolo manuale, eseguito per ciascun singolo canale, del valore di BCT in modo da aumentare l'attendibilità della risposta ed esprimere un valore

effettivo del tempo di contatto del bolo. Il calcolo dei tempi di BCT è stato eseguito per tutti i canali, ma sottoposto ad analisi statistica solo per i valori ottenuti dai canali posti a 3 e 5 cm dalla giunzione esofago-gastrica (z3 e z5). Il calcolo del BCT non ha lo scopo di aggiungere un nuovo parametro alla definizione di GERD ma potrebbe risultare un elemento determinante per differenziare pazienti affetti da GERD. Il nostro lavoro ha infatti dimostrato che all'interno del gruppo di pazienti con endoscopia negativa ma presenza di esame di MII-pH alterato è possibile distinguere tre differenti sottogruppi i quali presentano dei valori di BCT differenti. Il gruppo con AET+/MII+ ha presentato un valore di BCT medio di 46,5 sec; il gruppo con AET+/MII- un valore di 29,7 ed infine il gruppo con AET-/MII+ un valore di 23,6 quando l'analisi veniva eseguita al canale z3. Questi valori sembrano mostrare una correlazione diretta con i valori di AET e con il valore di baseline impedance.

Negli ultimi anni il valore di BCT era stato calcolato non tanto per lo studio della GERD ma messo in relazione alla capacità di clearing dell'esofago studiato durante l'esame di manometria ad alta risoluzione.

Recentemente Ribolsi et al. hanno dimostrato che tempi di transito più rallentato del bolo durante la deglutizione sono predittivi di GERD.<sup>117</sup>

Un lavoro del gruppo di Berna e Zurigo presentato da Tutuian et al. ha dimostrato che i pazienti con disfagia secondaria a GERD presentavano valori di BCT più elevate rispetto ai pazienti non-GERD.

La parte innovativa del nostro lavoro deriva dal fatto che probabilmente la differenziazione dei gruppi di pazienti con GERD mediante l'utilizzo del BCT potrebbe avere dei risvolti clinici importanti. Dall'analisi della risposta alla terapia con PPI eseguita in un lavoro parallelo al presente ha dimostrato che i pazienti con il BCT più basso rispondono peggio alla terapia con inibitori di pompa protonica (IPP) nonostante siano pazienti affetti da GERD. Questo dato deriva probabilmente dal fatto che per questi pazienti la presenza di un numero di reflussi alterato risulta superiore al tempo di esposizione acida delle 24 ore. Sulla

base di questi dati possiamo speculare che i pazienti affetti GERD con AET+/MII+ e BCT più elevato potranno giovare sia di una terapia con IPP che di una terapia chirurgica; i pazienti con AET+/MII- e BCT intermedio potranno essere gestiti anche solo mediante l'utilizzo di terapia con IPP ed infine il gruppo con AET-/MII+ e BCT più basso potrebbero rispondere in modo adeguato alla terapia chirurgica in quanto presentano un numero elevato di reflussi con un'esposizione acida inferiore.

Al momento sono in corso studi fra il gruppo del Prof Marchi e la Northwest University per dimostrare la presenza di differenti meccanismi nella genesi del reflusso gastroesofageo che prenderà in considerazione la presenza di un meccanismo di "secondary rumination" come potenziale trigger nella genesi di reflussi debolmente acidi. Questo meccanismo giustificerebbe l'esistenza di un gruppo di pazienti con AET nei limiti e numero di reflussi aumentato.

In futuro sarà sicuramente oggetto di un lavoro prospettico randomizzato controllato il confronto dei risultati derivanti da una chirurgia "LARS tailored" versus "terapia con IPP" in pazienti con BCT più basso per osservare eventuali differenze nell'outcome a breve e lungo termine.

## **Conclusioni**

Il lavoro di questa tesi ha dimostrato come sia il valore di BI che il BCT (a 3 e 5 cm) potrebbero aiutare nella distinzione di differenti sottocategorie di pazienti con NERD e di conseguenza aumentare la capacità di distinguere pazienti con sfaccettature differenti di una stessa malattia. Futuri studi permetteranno di rendere il trattamento per queste sottocategorie di pazienti ancora più “patient centered” con la possibilità di un miglior outcome a lungo termine.



## **Abbreviazioni**

AET - Acid Exposure Time

BCT - Bolus Contact Time

BMI - Body Mass Index

EGDS – Esophago-gastro-duodenoscopy

EGF - Epidermal Growth Factor

ESEM - Endoscopically Suspected Esophageal Metaplasia

GERD - Gastroesophageal Reflux Disease

HGF - Hepatocytes Growth Factor

IGF - 1 Insulin-like Growth Factor

LES - Lower Esophageal Sphincter

MII-ph - 24-h impedance-pH Monitoring

NERD – Non Erosive Reflux Disease

NMDA - N-Methyl-D-Aspartate

PPI – Proton Pump Inhibitor

SAP - Symptom Association Probability

SI - Symptom index

TLESR - Transient Lower Esophageal Sphincter Relaxation

TRPV1 - Transient Receptor Potential cation channel subfamily V member 1

VIP - Vasoactive Intestinal Peptide

## **Bibliografia**

1. Dent J. et al. An evidence-based appraisal of reflux disease management – the Genval Workshop Report. *Gut* 1998;44(2):1-16.
2. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. Globale Konsensusgruppe. The Montreal definition classification gastroesophageal reflux disease a global evidence-based consensus paper. *Z Gastroenterol* 2007 Nov;45(11):1125–40.
3. Vakil N., van Zanten SV, Kahrilas P, et al. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *American Journal of Gastroenterology*. 2006;101(8):1900–1943.
4. Pace F, Santalucia F., Natural history of gastro-oesophageal reflux disease without esophagitis. *Gut* 1991;32:845-848.
5. Fass R., Ofman J. Gastroesophageal reflux disease-should we adopt a new conceptual framework? *Am.J.Gastroenterol*. 2002;97:1901-1909.
6. Fullard M., Kang J.Y., Neild P., Poullis A. Sistematic review: does gastroesophageal reflux disease progress? *Aliment.Pharmacol.Ther*.2006;24:33-45.
7. Agrawal A., Castell D. GERD is chronic but not progressive. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2006;40(5):374–375.
8. Vakil N. Disease definition, clinical manifestations, epidemiology and natural history of GERD. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 2010;24:759-764.
9. De Jonge PJ at al. Risk of malignant progression in patients with Barrett’s oesophagus: a Dutch nationwide cohort study. *Gut* 2010;59(8):1030–1036.
10. Pace F, Bazzoli F, Fiocca R, Di Mario F, Savarino V, Vigneri S, et al. The Italian validation of the Montreal Global definition and classification of gastroesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21(4):394–408.

11. Fass R., Shapiro M., Dekel R. Sevell J. Systematic review: proton-pump inhibitor failure in gastro-oesophageal reflux disease – where next? *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:79-94.
12. El-Serag HB. Time trends of gastroesophageal reflux disease: a systematic review. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2007;5(1):17–26.
13. Lewis JV. Editorial: gastroesophageal reflux disease and obesity. *Southern Medical Journal*. 2009;102(10):995–996.
14. Baldi F, et al. La malattia da reflusso gastroesofageo ed il medico di medicina generale. Progetto ICE-BERG. *Recenti Prog Med* 2004; 95:15-20
15. Belleri G., Comini L., Ramponi P., Tabaglio E. Revisione tra pari della malattia da reflusso gastro-esofageo in Medicina Generale: parametri epidemiologici e gestione diagnostico-terapeutica. *Recenti Progressi in Medicina*. 2006;97(2):74-78.
16. Moayyedi P , Talley NJ , Fennerty MB et al. Can the clinical history distinguish between organic and functional dyspepsia? *JAMA* 2006 ;295:1566 – 1576
17. Dent J. et al. Epidemiology of gastro-eosophageal reflux disease: a systematic review. *Gut*. 2005;54:710-717.
18. Frank L, Kleinman L. Upper gastrointestinal symptoms in North America: prevalence and relationship to healthcare utilization and quality of life. *Dig Dis Sci*. 2000;45(4):809-18.
19. Isolauri J, Laippala P. Prevalence of symptoms suggestive of gastroesophageal reflux disease in an adult population. *Ann Med*. 1995;27(1):67-70.
20. Eslick GD, Talley NJ. Gastroesophageal reflux disease (GERD): risk factors, and impact on quality of life-a POPULATION-based study. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43:111–17.
21. Segal I. The gastro-oesophageal reflux disease complex in sub-Saharan Africa. *European Journal of Cancer Prevention*. 2001;10(3):209–212.

22. Nwokediuko SC. Gastroesophageal reflux disease, a population-based study. *Gastroenterology Research*. 2009;2:152–156
23. Yuen E, Romney M, Toner RW, Cobb NM, Katz PO, Spodik M, et al. Prevalence, knowledge and care patterns for gastroesophageal reflux disease in United States minority populations. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;32:645-654
24. Ivashkin V. Truhmanob A. *Malattie dell'esofago*, Mosca, Triada-X, 2000, p.179
25. *Manuale di Gastroenterologia Unigastro*. Editrice Gastroenterologica Italiana. Edizione 2010-2012. P141-154
26. Tytgat GN. The value of esophageal histology in the diagnosis of gastroesophageal reflux disease in patients with heartburn and normal endoscopy. *Curr Gastroenterol Rep*. 2008;10(3):231-234.
27. Capizzi D, Capizzi FD. *La malattia da reflusso gastroesofageo e l'ernia iatale*. Torino, Edizioni Medico-Scientifiche, 2009, p.120.
28. Ferraris R, Bonelli L, Conio M, et al. Incidence of Barrett's adenocarcinoma in an Italian population: an endoscopic surveillance programme. Gruppo operativo per lo studio delle precancerosi esofagee. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997;9:881-885.
29. Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren A, Nyren O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999;340(11):825-831.
30. Ruigomez A, Wallander AM, Lundborg P, Johansson S, Garcia Rodriguez L. Gastroesophageal reflux disease in children and adults in primary care. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:139–46.
31. Joel J. Heidelbaugh et al. Atypical Presentations of Gastroesophageal Reflux Disease *Am Fam Physician*. 2008;78(4):483-488.
32. Nicholas E. Diamant Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease *GI Motility* online. Pubblicato 16.05.2006.

33. Zhang Y, Paterson WG. Nitric oxide contracts longitudinal smooth muscle of opossum esophagus via excitation-contraction coupling. *J Physiol* 2001;536:133–140.
34. Sabiston Trattato di chirurgia. Le base biologiche della moderna pratica chirurgica. Curato da Townsend C.M. Antonio Delfino Editore.2002.p.755-769.
35. Stein HJ, Barlow AP, DeMeester TR, Hinder RA. Complications of gastroesophageal reflux disease. Role of the lower esophageal sphincter, esophageal acid and acid/alkaline exposure, and duodenogastric reflux. *Ann Surg* 1992;216:35–43.
36. Helm et al. Effect of esophageal emptying and saliva on clearance of acid from esophagus. *N Eng J med* 1984; 310:284-288.
37. Myers RL, Orlando RC. In vivo bicarbonate secretion by human esophagus. *Gastroenterology* 1992; 103:1174-1178
38. Konturek SJ, Radecki T., Brzozowski R., Piastucki I, Dembniski A, Gastric cytoprotection by epidermal growth factor, role of endogenous prostaglandins and DNA synthesis. *Gastroenterology* 1981; 81:438-443.
39. Kahrilas PJ, Gupta RR. The effect of cigarette smoking on salivation and esophageal acid clearance. *J Lab Clin Med* 1989; 114:431-438.
40. Orlando RC, Reflux esophagitis. In: Yamada T, Alpers DH, Laine L., Owyang C., Powell DW, eds. *Textbook of Gastroenterology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999; 1235-1263.
41. Elias PM, McNutt NS, Friend DS. ; Membrane alterations during codification of mammalian squamous epithelia: a freeze fracture, tracer and thin section study. *Anat Rec* 1977; 189:577.
42. Calabrese C, Trere D, Fabbri A, et al. Endoscopic appearance of GERD: putative role of cell proliferation. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 713-19
43. Khrilas P.J. et. al. The Acid Pocket: A Target for Treatment in Reflux Disease? *Al Am J Gastroenterol* 2013; 108:1058–1064

44. Mohammed I, Cherkas LF, Riley SA, et al. Genetic influences in gastroesophageal reflux disease: a twin study. *Gut* 2003;52:1085–1089.
45. Rosaida MS, Goh KL. Gastro-oesophageal reflux disease, reflux oesophagitis and non-erosive reflux disease in a multiracial Asian population: a prospective, endoscopy based study. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2004;16(5):495–501.
46. Rubenstein JH , Scheiman JM , Sadeghi S et al. Esophageal adenocarcinoma incidence in individuals with gastroesophageal reflux: synthesis and estimates from population studies . *Am J Gastroenterol* 2011;106:254–260 .
47. Locke GR III, Talley NJ, Fett SL, et al. Risk factors associated with symptoms of gastroesophageal reflux. *Am J Med* 1999;106:642–649.
48. Labenz J, Jaspersen D, Kulig M et al. Risk factors for erosive esophagitis: a multivariate analysis based on the ProGERD study initiative .*Am J Gastroenterol* 2004;99:1652–1656
49. Buttar NS, Falk GW. Pathogenesis of gastroesophageal reflux and Barrett esophagus. *Mayo Clinic Proceedings*. 2001;76(2):226–234.
50. Nwokediuko SC, Ijoma U, Obienu O, Agunyenwa C. Gastroesophageal reflux disease: a clinical and endoscopic study of Nigerian patients. *The Internet Journal of Gastroenterology*. 2009;8, article 2.
51. Ruigomez A, Wallander MA, Johansson S, et al. Natural history of gastroesophageal reflux disease diagnosed in UK general practice. *Aliment. Pharmacol Ther* 2004;20:751–760.
52. Ruigómez A, Wallander MA, Johansson S, Rodríguez LAG. Irritable bowel syndrome and gastroesophageal reflux disease in primary care: is there a link? *Digestive Diseases and Sciences*. 2009;54(5):1079–1086.
53. Patti MG, Gasper WJ, Fisichella PM, Nipomnick I, Palazzo F. Gastroesophageal reflux disease and connective tissue disorders: pathophysiology and implications for treatment. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2008;12(11):1900–1906

54. Schan CA et al. Gastroesophageal reflux-induced bronchoconstriction. An intraesophageal acid infusion study using state-of-the-art technology. *Chest*.1994;160(3):731-737.
55. Stein MR. Possible mechanisms of influence of esophageal acid on airway hyperresponsiveness. *Am J Med* 2003; 115(3A):55-59 .
56. Axford SE, Sharp N, Ross PE, et al. Cell biology of laryngeal epithelial defenses in health and disease: preliminary studies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110: 1099-1108
57. Carlsson R, Dent J, Bolling-Sternevald E, et al. The usefulness of a structured questionnaire in the assessment of symptomatic gastroesophageal reflux disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1998;33(10):1023–1029.
58. Miller MG. L'oesophage. Manuel et Atlas d'endoscopie. Solothurn Switzerland: Verlag Gassmann. 1977
59. Classen M, Tytgat G., *Gastroenterological Endoscopy*, Thieme, 2010
60. Armstrong D., Monnier P., Nicolet M., Blum A.L., Savary M. .Endoscopic assessment of oesophagitis. *Gullet* 1991;1:63-67.
61. Becher A , Dent J . Systematic review: ageing and gastro-oesophageal reflux disease symptoms, oesophageal function and reflux oesophagitis . *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:442–54.
62. Yutuian RJ. Update in the Diagnosis of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastrointestin Liver Dis* September 2006;15(3):243-247
63. Klauser AG , Schindlbeck NE, Muller-Lissner SA Esophageal 24-h pH monitoring: is prior manometry necessary for correct positioning of the electrode? *Am J Gastroenterol* 1990;85:1463-1467
64. Prakash C, Clouse RE Value of extended recording time with wireless pH monitoring in evaluating gastroesophageal reflux disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:329-334
65. Dhiman RK Sarawast VA, Naik SR Ambulatory esophageal pH monitoring: technique interpretations, and clinical indications. *Dig Dis Sci* 2002;47:241-250.

66. Agrawal A, Tutuian R, Hila A, et al. Ingestion of acidic foods mimics gastroesophageal reflux during pH monitoring. *Dig Dis Sci* 2005;50:1916-20
67. Hirano I, Richter JE . ACG practice guidelines: esophageal refl ux testing. *Am J Gastroenterol* 2007;102:668–85.
68. Sifrim D, Castell D , Dent J et al. Gastro-oesophageal refl ux monitoring: review and consensus report on detection and defi nitions of acid, non-acid, and gas reflux . *Gut* 2004;53:1024–1031 .
69. Pandolfino JE, Vela MF. Esophageal-reflux monitoring. *Gastrointestinal Endoscopy* 2009 April; 69(4):917-930
70. Boudewijn F. Kessing, André J. P. M. Smout, and Albert J. Bredenoord Clinical Applications of Esophageal Impedance Monitoring and High-Resolution Manometry. *Curr Gastroenterol Rep.* Jun 2012; 14(3):197–205.
71. Pohl D, Tutuian R, *Best Practice and Research Clinical Gastroenterol* 2009;23:299-311.
72. Kahrillas PJ, Quigley EM Clinical esophageal pH recording:a technical review for practice guidline development. *Gastroenterology* 1996;110:1982-96.
73. Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG, et al Hiatal ernia and acid reflux frequency predict presence and lenghth of Barrett’s esophagus. *Dig Dis Sci* 2002;47:256-64.
74. Campos GM, Peters JH, DeMeester TR, et al Multivariate analysis for factors predicting outcome after laparoscopic Nissen fundoplication. *J Gastrointest Surg* 1999;3:292-300.
75. Khajanchee YC, Hong D, Hansen PD, et al. Outcomes of antireflux surgery in patients with normal preoperative 24-hour pH rest results. *Am J Surg* 2004;187:599-603
76. Mainie I, Tutuian R, Shay S, et al Acid end non-acis reflux in patients with persistent symptoms despite acid suppressive therapy: a multicentre study using combined ambulatory impedance-ph monitoring. *Gut* 2006;55:1398-402.



77. Katz Ph.O. , Lauren B. Gerson and Marcelo F. Vela Corrigendum: Guidelines for the Diagnosis and Management of Gastroesophageal Refl ux Disease. *J Gastroenterol* 2013; 108:308 – 328.
78. Vaezi MF Reflux monitoring: on or off therapy? *Am J Gastroenterol* 2011;106:183-185.
79. Vaezi MF Richter JE. Role of acid and duodenogastroesophageal reflux in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1996;111:11192-9.
80. Waring JP, Hunter JG, Oddsdottir M, Wo J, Katz E. The preoperative evaluation of patients considered for laparoscopic antireflux surgery. *American Journal of Gastroenterology*. 1995;90(1):35–38.
81. Nwokediuko S.Ch. Current Trends in the Management of Gastroesophageal Reflux Disease: A Review. *Gastroenterol*. 2012; 2012: 391631.
82. Kuipers EJ , Lundell L , Klinkenberg-Knol EC et al. Atrophic gastritis and Helicobacter pylori infection in patients with refl ux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication . *N Engl J Med* 1996;334:1018–22.
83. Malfertheiner P., Megraud F, O ' Morain C et al. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report . *Gut* 2007;56:772–81.
84. Modin I.M et al Diagnosis and management of non –erosive reflux disease- The Vevey NERD Consensus Group. *Digestion* 2009;80;74-88.
85. 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. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1900-1920.
86. Savarino E, Zentilin P, Savarino V. NERD: an umbrella term including heterogeneous subpopulations. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:371-380.
87. Tefera L, Fein M, Ritter MP, et al. Can the combination of symptoms and endoscopy confirm the presence of gastro- esophageal reflux disease? *Am Surg* 1997;63:933-936.

88. Zagari RM, Fuccio L, Wallander MA, et al. Gastro-oesophageal reflux symptoms, oesophagitis and Barretts oesophagus in the general population: the Loiano-Monghidoro study. *Gut* 2008;57:1354-1359.
89. Drossman Rome D., III . *The Functional Gastrointestinal Disorders*. 3rd edition. McLean, Va, USA: Degnon Associates; 2006.
90. Fass R, Naliboff B, Higa L, et al. Differential effect of long-term esophageal acid exposure on mechano-sensitivity and chemo-sensitivity in humans. *Gastroenterology* 1998;115:1363-1373.
91. Savarino E et al The role of non-acid reflux in NERD: lessons learned from impedance pH monitoring in 150 patients off therapy. *Am. J. Gastroenterol.*2008;103:2685-2693.
92. Calabrese C et al. Reversibility of GERD ultrastructural alterations and relief of symptoms after omeprazole treatment. *Am J Gastroenterol.* 2005;100(3):537-42.
93. Herschowitz T., Fass R. Nonerosive reflux disease (NERD) An update. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2010;16:8-21.
94. Zentilin P. Et al, Circadian pattern of intragastric acidity in patients with non-erosive reflux disease (NERD). *Aliment, Pharmacol. Ther.* 2003; 17:353-359.
95. Frazzoni M., Manno M., De Micheli E., Savarino V. Pathophysiological characteristics of the various forms of gastro-oesophageal reflux disease. Spectrum disease ir distinct phenotypic presentations? *Dig. Liver Dis* 2006;38:643-648.
96. Dent J. Microscopic esophageal mucosal injury in non erosive reflux disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*2007;64:1-8.
97. Akiba Y, Ghayouri S, Takeuchi T, et al. Carbonic anhydrases and mucosal vanilloid receptors help mediate the hyperemic response to luminal CO<sub>2</sub> in rat duodenum. *Gastroenterology* 2006;131:142–52.
98. Barlow W.J., Orlando R.C. The pathogenesis of heartburn in nonerosive reflux disease: A unifying hypothesis. *Gastroenterology* 2005;128:771-778

99. Steen, K.H. and Reeh, P.W. Sustained graded pain and hyperalgesia from harmless experimental tissue acidosis in humans. *Neurosci Lett.* 1993; 154: 113–116.
100. Balaban, D.H., Yamamoto, Y., Liu, J., Pehlivanov, N., Wisniewski, R., DeSilvey, D., and Mittal, R.K. Sustained esophageal contraction (A marker of esophageal chest pain identified by intraluminal ultrasonography). *Gastroenterology.* 1999;116:29–37.
101. Cicala M, Emerenziani S, Caviglia R, et al. Intra-oesophageal distribution and perception of acid reflux in patients with non-erosive gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 605-13.
102. Zerbib F, Duriez A, Roman S, et al. Determinants of gastro-oesophageal reflux perception in patients with persistent symptoms despite proton pump inhibitors. *Gut* 2008;57:156-60.
103. Karamanolis G, Stevens W, Vos R, et al. Oesophageal tone and sensation in the transition zone between proximal striated and distal smooth muscle oesophagus. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 291-297.
104. Savarino V. La sensibilità dell'esofago prossimale: un protagonista inatteso nella MRGE. Il confine tra organico e funzionale nelle malattie digestive. 2010;9:3-6.
105. Giacchino M. , Savarino V, Savarino V. Distinction between patients with non-erosive reflux disease and functional heartburn *Ann Gastroenterol* 2013; 26 (4): 283-289.
106. Sarkar S, Aziz Q, Woolf CJ, et al. Contribution of central sensitisation to the development of non-cardiac chest pain. *Lancet* 2000;356:1154–9.
107. Knowles C.H., Aziz Q. Visceral hypersensitivity in nonerosive reflux disease. *Gut* 2008;57:674–683.
108. The Gallup Organization. A gallup survey on heartburn across America. Princeton, NJ: The Gallup Organization, 1988.
109. Fass R, Malagon I, Naliboff BD, et al. Effect of psychologically induced stress on symptom perception and autonomic nervous system response of patients (PTS) with

- erosive oesophagitis (EE) and non-erosive reflux disease (NERD). *Gastroenterology* 2000;118:637.
110. McDonald-Haile J, Bradley LA, Bailey MA, et al. Relaxation training reduces symptom reports and acid exposure in patients with gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1994;107:61–69.
  111. Chakraborty TK, Ogilvie AL, Heading RC, et al. Abnormal cardiovascular reflexes in patients with gastro-oesophageal reflux. *Gut* 1989;30:46–49.
  112. Zentilin P, Iiritano E, Dulbecco P, Bilardi C, Savarino E, De Conca S, et al. Normal values of 24-h ambulatory intraluminal impedance combined with pH-metry in subjects eating a Mediterranean diet. *Dig Liver Dis.* 2006 Apr;38(4):226-32.
  113. Martinucci I, de Bortoli N, Savarino E, Piaggi P, et al. Esophageal baseline impedance levels in patients with pathophysiological characteristics of functional heartburn. *Neurogastroenterol Motil.* 2014 Apr;26(4):546-55.
  114. Iwakiri K, Hayashi Y, Kotoyori M, Tanaka Y, Kawami N, Sano H, Takubo K, Sakamoto C, Holloway RH. Defective triggering of secondary peristalsis in patients with non-erosive reflux disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007 Dec;22(12):2208-11.
  115. Tutuian R1, Vela MF, Shay SS, Castell DO. Multichannel intraluminal impedance in esophageal function testing and gastroesophageal reflux monitoring. *J Clin Gastroenterol.* 2003 Sep;37(3):206-15.
  116. Pilic D1, Hankel S, Koerner-Rettberg C, Hamelmann E, Schmidt-Choudhury A. The role of baseline impedance as a marker of mucosal integrity in children with gastro esophageal reflux disease. *Scand J Gastroenterol.* 2013 Jul;48(7):785-93.
  117. Castell DO, Mainie I, Tutuian R. Non-acid gastroesophageal reflux: documenting its relationship to symptoms using multichannel intraluminal impedance (MII). *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2005;116:321-33; discussion 333-4.