

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TOR VERGATA**

**FACOLTA' MEDICINA E CHIRURGIA**

**Dipartimento di Neuroscienze**

**Cattedra di Nutrizione Umana**

**TESI DI DOTTORATO DI RICERCA in Fisiologia dei Distretti Corporei**

**ASPETTI CLINICI E DIAGNOSTICI DELLA  
VALUTAZIONE NUTRIZIONALE NELLA MALATTIA  
CELIACA**

Relatore:

**Chiar.mo Prof. Antonino DE LORENZO**

Correlatore:

**Chiar.mo Prof Antonio GASBARRINI**

Dottorando:

**Luca SANTARELLI**

**Anno Accademico 2006-2007**

# **INDICE**

## **PARTE PRIMA**

IL MALASSORBIMENTO	<b>4</b>
LA SINDROME DA MALASSORBIMENTO	<b>12</b>
LA MALATTIA CELIACA	<b>19</b>

## **PARTE SECONDA**

MALATTIA CELIACA E STATO NUTRIZIONALE	<b>27</b>
---------------------------------------	-----------

## **PARTE TERZA**

PARTE SPERIMENTALE	<b>47</b>
--------------------	-----------

<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>53</b>
---------------------	-----------

# **PARTE PRIMA**

## IL MALASSORBIMENTO

### *Definizione di malassorbimento*

Si definisce *malassorbimento* il *difettoso attraversamento della mucosa intestinale da parte dei prodotti della normale digestione*.

La normale lunghezza dell'intestino tenue varia da circa 3 a 7,2 m nella donna e da 4,8 a 7,8 m nell'uomo e, sebbene particolari funzioni siano specifiche dei vari distretti, l'organo è provvisto di una notevole capacità di compenso. La sua superficie interna è pari a  $3.3 \text{ m}^2$ , ma la presenza di *pliche conniventi*, *villi* e *microvilli* moltiplica progressivamente l'area assorbente di 3, 10 e 20 volte fino a circa  $200 \text{ m}^2$ . Questa straordinaria estensione serve a spiegare la dissociazione che, sul piano clinico, sempre più frequentemente rileviamo tra malassorbimento, sindrome da malassorbimento ed enteropatia. In altre parole, l'*enteropatia*, definita come un processo morboso caratterizzato da evidenti

alterazioni morfologiche dell'intestino tenue, è accompagnata e resa clinicamente manifesta dalla *sindrome da malassorbimento*, definita come quel complesso di sintomi conseguenti al fenomeno chimico-fisico del *malassorbimento*, solo qualora l'estensione del processo morboso sia tale da superare le capacità di compenso dell'organo (1).

### ***Barriera intestinale***

L'epitelio dell'intestino tenue è costituito da uno strato continuo di enterociti tra cui sono presenti anche cellule caliciformi (“goblet cells”), cellule endocrine e cellule immunitarie.

Gli enterociti sono cellule altamente specializzate che svolgono un ruolo fondamentale nei processi digestivi, di assorbimento e di secrezione. Il versante luminale della membrana enterocitaria è più ricco in colesterolo e glicolipidi rispetto al versante baso-laterale degli enterociti stessi ed alla membrana cellulare della maggior parte delle cellule dei mammiferi (2, 3).

Tale versante è caratterizzato dalla presenza di *microvilli* che espandono fino a 600 volte la superficie intestinale e, assieme ad un mantello glicoproteico, detto glicocalice, così strettamente adeso da essere considerato parte integrante (4), costituisce il cosiddetto orletto a spazzola (“brush border”) della mucosa dell'intestino tenue. Quest'ultimo contiene 22 enzimi digestivi (tra cui disaccaridasi e peptidasi) (5) ed almeno 19 diversi sistemi recettoriali e di trasporto per molti prodotti finali della digestione

quali aminoacidi, acidi grassi, carboidrati e vitamine (6). Nel citoplasma il reticolo endoplasmico liscio svolge una primaria funzione di sintesi proteica *ex novo*, di rimaneggiamento biochimico e di trasporto dei nutrienti assorbiti ai capillari o ai linfatici. La digestione e l'attraversamento delle cellule epiteliali richiede che i nutrienti entrino in contatto con l'orletto a spazzola enterocitario. Affinchè si realizzi tale contatto è importante non solo l'estensione della superficie assorbente ma anche il mescolamento intraluminale. Infatti, il fluido adiacente ad una superficie non è mai perfettamente mescolato, nonostante il vigoroso mescolamento intraluminale. L'assorbimento intestinale dei soluti, quindi, richiede il passaggio attraverso due resistenze in serie: lo stato fluido non mescolato, detto "unstirred layer" e la cellula epiteliale; la somma di queste due resistenze determina la velocità di assorbimento di un soluto.

Per la natura lipidica della membrana gli ioni possono entrare ed uscire dalle cellule solo attraverso pompe energia-dipendenti, sistemi carrier di cotrasporto contro gradiente di concentrazione non

energia-dipendenti e canali ionici regolati da ormoni e/o neurotrasmettitori (7).

Al processo di assorbimento è strettamente legato quello della secrezione, utile per la solubilizzazione dei nutrienti e per fornire ioni necessari ai sistemi di cotrasporto; inoltre la secrezione di acqua può avere un ruolo protettivo nell'allontanamento di agenti nocivi (8).

Per quanto concerne la cinetica cellulare è bene ricordare che gli enterociti (replicanti e non differenziati) nascono nelle cripte di Lieberkuhn, ove hanno prevalente funzione secretoria; durante la loro differenziazione, specializzandosi in cellule assorbitive, risalgono la parte intermedia fino all'apice del villo, da cui vengono estruse al termine della loro missione biologica. Si ritiene che 4-6 cripte riforniscano lo stesso villo (9). La vita media di un enterocita è molto breve (3-4 giorni) per cui una grande quantità di cellule (circa 100-200 g/die) viene persa nel lume intestinale anche se fenomeni di fagocitosi possono consentire un parziale recupero del prezioso materiale (10). Esiste nelle cripte un certo numero di



cellule staminali non replicanti, depositarie del programma replicativo e differenziativo, che vanno incontro a divisione solo in caso di distruzione del patrimonio replicativo delle cripte.

Il numero delle cellule intestinali rimane costante in virtù della coordinata azione di meccanismi regolatori che vedono coinvolti fattori di crescita (transforming growth factors, insuline like growth factor I e II, epidermal growth factor), integrine, matrice extracellulare, ormoni (GH, ormoni tiroidei, corticosteroidi, enteroglucagone), fattori intraluminari (nutrienti, secrezioni biliari e pancreatiche, batteri intestinali) (11). Il rapido turn-over cellulare costituisce un importante meccanismo di protezione. Gli enterociti, infatti, sono in grado di riparare eventuali danni mucosi superficiali attraverso un processo di restituzione, cioè mediante la riepitelizzazione della membrana basale, la migrazione degli enterociti e la ricostruzione dell'integrità della barriera epiteliale con formazione di giunzioni intercellulari. Tale processo sarebbe mediato direttamente dal sistema integrine-matrice extracellulare (12).

Tra gli enterociti sono presenti anche altri tipi cellulari come le "goblet cells", i fibroblasti, oltre a cellule immunitarie ed endocrine.

Le goblet cells producono muco (circa 3 l/die di mucina) che funge da meccanismo non specifico di difesa (13-15). Lo strato di muco crea un ottimo ambiente per la crescita e l'attecchimento di batteri anaerobi obbligati, prevenendo la colonizzazione da parte di potenziali patogeni (16). E' stato evidenziato, infatti, che alterazioni del muco possono condurre ad un "overgrowth" batterico e ad adesione al "epithelial layer" di batteri potenzialmente patogeni (17).

I fibroblasti sono dotati di attività contrattile e contribuiscono alla salda unione tra gli enterociti ed al mantenimento dell'integrità del villo (18). Le prostaglandine da essi prodotte influenzerebbero la funzione secretoria dell'epitelio (19).

Nel fondo delle cripte duodenali (solo in questa sede dell'intestino non mesenteriale) sono presenti le cellule di Paneth,

probabilmente coinvolte nella specifica funzione assorbente di alcuni minerali (es. Zinco) (20).

## **LA SINDROME DA MALASSORBIMENTO**

I segni ed i sintomi che caratterizzano la sindrome da malassorbimento possono essere grossolanamente suddivisi in due gruppi: 1) quelli conseguenti alle modificazioni del contenuto luminale, secondari cioè alla persistenza dei nutrienti all'interno del lume (diarrea, steatorrea, meteorismo, dolore addominale); 2) quelli conseguenti alla mancata utilizzazione tissutale dei nutrienti, responsabili delle manifestazioni carenziali della sindrome (pallore, astenia, dimagrimento, ritardo o arresto dell'accrescimento staturponderale, iperfagia, edemi, distrofia delle mucose, della cute e degli annessi, amenorrea, diminuzione della libido, tetania, dolori ossei, manifestazioni emorragiche e neuropatiche, emeralopia, infezioni ricorrenti).

La Tab.1 elenca schematicamente i sintomi ed i segni che più frequentemente caratterizzano la sindrome da malassorbimento ed i

rispettivi meccanismi semeiogenetici. La simultanea presenza di più sintomi rappresenti quasi un'eccezione e non la regola (1, 21).

**Tab.1 Segni e sintomi di malassorbimento**

<u>Segni e Sintomi</u>	<u>Meccanismi</u>
Diarrea	Osmotico e/o secretorio
Stearorrea	Malassorbimento lipidi
Meteorismo	Fermentazione batterica carboidrati malassorbiti
Dolore addominale	Fermentazione batterica, stenosi organiche, ischemia intestinale
Pallore	Malassorbimento Fe, folati, B <sub>12</sub>
Astenia	Malassorbimento macro-(proteine, lipidi) e micro-nutrienti (Fe, folati, B <sub>12</sub> , K)
Dimagrimento	Malassorbimento nutrienti
Ritardo/arresto accrescimento	Malassorbimento nutrienti
Iperfagia	Fenomeno di adattamento
Edemi	Malassorbimento proteine o protidodispersione
Distrofia cute, mucose, annessi	Malassorbimento Fe, folati, vitamine (A, complesso B)
Amenorrea e diminuzione libido	Malassorbimento proteine
Tetania	Malassorbimento Ca e Mg
Dolori ossei	Malassorbimento Ca e vitamina D
Manifestazioni emorragiche	Malassorbimento vitamina K e C
Manifestazioni neuropatiche	Malassorbimento polivitaminico (vitamina B <sub>12</sub> )
Emeralopia	Malassorbimento vitamina A
Infezioni ricorrenti	Malnutrizione severa

### *Classificazione delle sindromi da malassorbimento*

Poichè l'assorbimento è per sua stessa natura un processo multifasico che presuppone il buon funzionamento di numerosi organi e strutture e poichè molte malattie del tenue inducono malassorbimento attraverso molteplici meccanismi patogenetici, si capisce come qualsiasi tentativo di inquadramento nosografico delle sindromi da malassorbimento sia difficilmente esente da critiche. In passato, i criteri più usati da parte degli autori italiani sono stati di ordine patogenetico/istopatologico, mentre criteri di ordine fisiopatologico sono stati preferiti dagli autori anglosassoni.

La Tab.2 riporta una nostra classificazione basata su criteri che potremmo definire clinici (22).

**Tab.2 Classificazione delle sindromi da malassorbimento**

<p><b><i>Alterazioni funzionali</i></b></p> <p>Deficit di enzimi del “brush border”            Deficit di sali biliari            Sprue tropicale</p> <p><b><i>Alterazioni mucose</i></b></p> <p>Malattia celiaca            Sprue tropicale            Dermatite erpetiforme            Digiunoileite ulcerativa            Morbo di Wipple            Abetalipoproteinemia            Enterite eosinofila            Linfangectasia            Mastocitosi sistemica            Acrodermatite enteropatica</p> <p><b><i>Alterazioni parietali</i></b></p> <p>Linfomi ed altre neoplasie            Morbo di Crohn            Resezione e by-pass intestinale            Enterite da raggi</p>	<p><b><i>Agenti biologici</i></b></p> <p>Sindrome da contaminazione batterica            Morbo di Wipple            Parassitosi            Tubercolosi intestinale            Enteriti virali            Infezioni opportunistiche</p> <p><b><i>Alterazioni circolatorie</i></b></p> <p>Ischemia mesenterica            Scompenso congestizio            Pericardite costrittiva            Ipertensione portale            Ostruzioni linfatiche secondarie</p> <p><b><i>Meccanismi multifattoriali</i></b></p> <p>“Ageing”            Farmaci            Malattie del collagene            Malattie endocrine</p>
---	---

### ***Strumenti diagnostici di malassorbimento***

Tra i principali test più indicativi per la valutazione del malassorbimento grave possiamo distinguere *test di approccio*, atti a valutare la presenza o meno di malassorbimento e *test definitivi*, atti ad individuare la affezione causa di malassorbimento (23).

I *test di approccio* comprendono un primo sottogruppo di *esami ematochimici* (esame emocromocitometrico, protidemia, sideremia, transferrinemia, tempo di protrombina, elettrolitemia, ecc.), indicativi, tuttavia, di uno stato di malnutrizione, quindi non necessariamente legato a malassorbimento. Specifici di malassorbimento sono invece i *test dinamici*, basati sulla valutazione e quantizzazione, nei vari escreti e nell'aria espirata, di cataboliti di sostanze note, generalmente grassi o zuccheri, somministrate oralmente. Il *dosaggio dei grassi fecali* è un test considerato positivo quando, in seguito ad una dieta contenente 100g/die di lipidi, l'escrezione dei grassi nelle 24 ore, calcolata per 3-5 giorni, è superiore a 7 grammi (steatorrea). Il *test da carico di xilosio* valuta i livelli urinari ed ematici dopo somministrazione



orale di questo zucchero inerte. La presenza di bassi livelli urinari od ematici di xilosio sono indicativi di malassorbimento (24). Il *breath test al lattosio* può essere utilizzato sia per evidenziare un deficit primitivo o secondario di lattasi. Se tale zucchero, somministrato per osi, non viene assorbito nel tenue per mancanza di lattasi, giunge nel colon, dove viene fermentato dalla flora batterica ivi presente, con produzione di H<sub>2</sub> (25). Alti picchi di H<sub>2</sub> nell'aria espirata sono indicativi di malassorbimento di lattosio. Il *breath test al sorbitolo* sfrutta lo stesso principio di quello al lattosio ed è stato suggerito come test utile all'identificazione di pazienti con malattia celiaca non trattata i quali, nella quasi totalità e a differenza dei soggetti normali, malassorbono 5 g di sorbitolo in soluzione acquosa (26). Il *test di Schilling* fornisce informazioni sull'assorbimento di vit B<sub>12</sub> valutando i livelli di radioattività urinaria dopo somministrazione orale di vitamina B<sub>12</sub>-Co<sup>58</sup>, vitamina B<sub>12</sub> non radioattiva e fattore intrinseco. Va ricordato che dai risultati riportati in letteratura, la sensibilità di questi test nei confronti dell'atrofia della mucosa intestinale, che è la principale

causa di alterazione funzionale del tenue, non supera il 75%, e che informazioni attendibili circa l'entità, la sede ed il tipo di malassorbimento, scaturiscono solo dalla comparazione critica dei risultati ottenuti mediante la contemporanea effettuazione di più test (1, 22).

Il principale dei *test definitivi* è la *biopsia intestinale, perendoscopica o meno, con prelievi multipli* che rappresenta la metodica fondamentale per la diagnosi di quelle enteropatie caratterizzate da evidenti alterazioni di mucosa (27, 28).

L'esame radiologico dell'intestino tenue (*clisma del tenue*) rappresenta la metodica più importante per il riconoscimento di lesioni parietali, quali stenosi, ulcerazioni, fistole e diverticoli.

Pertanto, anche se in taluni casi è spesso necessaria la conferma istologica, la radiologia è provvista di un'apprezzabile sensibilità diagnostica nei confronti del m. di Crohn, del linfoma e di altre neoplasie dell'intestino anche se non possiede valore nel caso di patologie che coinvolgano esclusivamente la mucosa.

L'*ecografia con doppler* è in grado, in mani esperte, di rilevare alterazioni dello spessore delle anse intestinali e dei flussi ematici intraparietali (29, 30). L'*angiografia* è in grado di porre diagnosi in caso di condizioni di malassorbimento conseguente ad ostruzione vascolare. La *TC* e la *RMN* assumono particolare importanza nello studio delle masse addominali e dei loro rapporti con le strutture limitrofe. L'*esame batteriologico e parassitologico delle feci* è indispensabile per evidenziare patologie infettive e parassitarie (elmintiasi, giardiasi, Ostruzioni linfatiche secondarie ecc.).

Il *sondaggio batteriologico del succo intestinale* è l'esame più idoneo per la diagnosi di contaminazione batterica dell'intestino tenue. Tuttavia, l'invasività e gli elevatissimi costi legati all'analisi microbiologica ne hanno reso improponibile l'uso routinario preferendo test meno invasivi e dispendiosi, anche se meno sensibili e specifici, come il *breath test al lattulosio* (31).

## LA MALATTIA CELIACA

La *malattia celiaca* è un'enteropatia caratterizzata da lesioni dell'intestino tenue provocate, in individui geneticamente predisposti, dall'ingestione di glutine. E' un esempio di malattia monoeziologica e l'agente tossico per la mucosa intestinale è il glutine, complesso di proteine presenti nella farina di frumento (glutenine, albumine, globuline e gliadine), orzo, segale ed avena.

Le gliadine, in particolare, sono responsabili della tossicità di questo tipo di farina e possono essere distinte in quattro frazioni: alfa (a cui spetta la tossicità maggiore), beta, gamma e delta.

L'incidenza della malattia è molto variabile: particolarmente elevata in alcuni paesi dell'Europa (fino a 1:100 nati vivi in Irlanda del Nord) ed in America Settentrionale mentre è molto bassa in Africa ed in Asia. La malattia colpisce entrambi i sessi con una prevalenza di quello femminile (F:M = 2.5:1). L'età media di comparsa è intorno ai 35 anni anche se può esordire sia in età

pediatrica sia geriatrica. La tendenza della malattia celiaca a presentarsi in più di un componente della stessa famiglia ha sottolineato l'importanza di fattori genetici (1, 22).

Il tratto maggiormente interessato è il digiuno prossimale.

Dal punto di vista anatomopatologico la mucosa dell'intestino tenue presenta caratteristiche modificazioni: *macroscopicamente* si possono osservare: un'appiattimento delle pliche di Kerckring, un aspetto "a mosaico" o un aspetto di "nodularità" della mucosa intestinale; *microscopicamente* sono presenti: una variabile riduzione in altezza dei villi intestinali (tozzi e a larga base di impianto) che possono scomparire del tutto ("mucosa piatta"), un allungamento delle cripte di Lieberkuhn (ipertrofia ed iperplasia) ed un aumento del rapporto linfociti intraepiteliali/enterociti (32, 33).

Poco chiari sono i meccanismi attraverso i quali il glutine esercita l'azione lesiva sulla mucosa intestinale. Diverse sono le ipotesi proposte anche se quella immunologica è la più accreditata in quanto suffragata dall'evidente associazione della malattia

celiaca con altre patologie ad eziopatogenesi immunologica, dal miglioramento delle lesioni intestinali con terapia steroidea, dall'associazione con alcuni antigeni HLA e da peculiari modificazioni istopatologiche (aumentato rapporto tra linfociti intraepiteliali ed enterociti; aumento delle plasmacellule secernenti IgG, IgA ed IgM) e sierologiche (alterazioni delle IgA e IgM, presenza di anticorpi antigliadina, antireticolina, antiendomio, antitransglutaminasi). E' possibile che anche l'immunità di tipo cellulo-mediata, ed, in particolare, una disfunzione glutine-specifica dei linfociti T-suppressor, possa svolgere un importante ruolo eziopatogenetico nella genesi di questa malattia.

La sindrome da malassorbimento globale, dalla quale la malattia celiaca, nella sua *forma classica*, è tipicamente caratterizzata, non è sempre presente. Sempre più numerosi sono i casi con presentazione atipica della malattia stessa, senza, cioè, una sintomatologia gastrointestinale ma con una sintomatologia di tipo extraintestinale (*forma subclinica*). Tuttavia, i sintomi più frequenti sono la diarrea, il calo ponderale, l'astenia, il meteorismo, i dolori

addominali, l'anoressia, il vomito e la dispepsia. I principali sintomi non gastrointestinali, invece, sono rappresentati dal ritardo dell'accrescimento, dalla febbre, dalle neuropatie periferiche, dai disturbi dello sviluppo e della funzione gonadica, dalle crisi tetaniche, dai dolori ossei con possibili fratture patologiche (per osteomalacia), dalla stomatite aftosa ricorrente, dalle dermopatie quali dermatite erpetiforme e pioderma gangrenoso (che costituiscono in realtà una patologia di associazione), dalla ipoplasia dello smalto dentario e dall'epilessia.

Tra i segni obiettivi si possono osservare distrofie cutaneo-annessiali, atrofie muscolari, edemi periferici, glossite atrofica, ippocratismo digitale, sclere blu (carenza di Fe e Ca), ipertricosi lanuginosa.

Laboratoristicamente si possono rilevare anemia ipocromica e/o megaloblastica, ipocalcemia, ipopotassiemia, ipoalbuminemia, iposideremia (34).

La diagnosi di malattia celiaca si basa su *due biopsie intestinali* effettuate nel corso di una EGDScopia: la *prima* condotta

in dieta libera. Essa deve mostrare atrofia dei villi; la *seconda*, eseguita dopo 6-10 mesi di dieta priva di glutine. Essa deve dimostrare la ricrescita dei villi stessi.

L'utilizzazione di test non invasivi di enteropatia specifici per la malattia celiaca (anticorpi antigliadina, antireticolina, antiendomiso, antitransglutaminasi) può aiutare nel decidere quali pazienti sottoporre a biopsia intestinale.

La malattia celiaca ha una storia naturale generalmente favorevole ma talvolta possono verificarsi severe complicanze. Tra queste: la *sprue refrattaria* che è caratterizzata dalla perdita della risposta alla dieta aglutinata e che in realtà è più frequentemente attribuibile ad una dieta non rigorosa; la comparsa di *linfomi* (di origine T-linfocitaria); l'insorgenza di *adenocarcinomi*; la comparsa di una *digiuno-ileite ulcerativa*; con prognosi generalmente infausta; l'*atrofia splenica*, con conseguente predisposizione ad infezioni e complicanze tromboemboliche.



Il trattamento della malattia celiaca consiste nella rigorosa ed indefinita *eliminazione del glutine* dalla dieta, oltre alla terapia di supporto se e quando necessaria (22).

## **PARTE SECONDA**

## MALATTIA CELIACA E STATO NUTRIZIONALE

La malattia celiaca, come già detto, determina una sindrome da malassorbimento, e di conseguenza, un'alterazione della composizione corporea, e della spesa energetica.

Ovviamente, dobbiamo ricordare che il celiaco è un individuo “malnutrito”, se si tratta di celiachia classica, perché il danno cellulare non permette l'assorbimento dei vari costituenti.

Sono stati condotti diversi studi, in questi ultimi anni, che hanno dimostrato che il soggetto celiaco ha alterazioni della massa magra, della massa grassa , dei fluidi corporei e del consumo calorico.

Per lo studio dei vari compartimenti vengono utilizzate diverse metodiche, che comprendono le misure antropometriche classiche (peso, altezza, body mass index, ecc), gli esami ematochimici (esame emocromocitometrico, protidemia, sideremia, transferrinemia, tempo di protrombina, elettrolitemia, ecc.) e le più

complesse metodiche strumentali (impedenziometria, calorimetria, Dexa, ect), che ovviamente non sono presenti in tutti i centri.

Tali metodiche permettono di identificare quali sono le alterazioni a livello dei vari compartimenti.

La Dexa si basa sul principio dell' attenuazione differenziale di un fascio di raggi X a due livelli energetici al passaggio attraverso i tessuti. Questa attenuazione è registrabile e correlata alla composizione corporea del soggetto esaminato.

L'apparecchio utilizza un fascio coinciso di raggi X con assenza di dispersione nell'ambiente.

La dose di radiazione per singolo esame è minima (1 mRem). Vi è quindi assenza di rischi sia per il paziente che per l'operatore ed è possibile ripetere l'esame a breve distanza di tempo.

Il suo attuale utilizzo è soprattutto nel campo della determinazione della densità ossea (patologia osteoporotica ) ma ha una altissima precisione anche nella valutazione dello stato nutrizionale dell'atleta.

La DEXA permette di effettuare: 1) una valutazione in peso e in percentuale della massa magra e della massa grassa nei differenti distretti corporei. E' pertanto possibile determinare le zone di accumulo di grasso e quantificare il loro peso in grammi, 2) una valutazione selettiva nei diversi distretti corporei dello stato di mineralizzazione ossea.

L'unico svantaggio è l'alto costo della strumentazione e i tempi di esecuzione (20'-30').

Quando una sorgente di raggi X o fotoni è posizionata da un lato di un oggetto, l'intensità del raggio dal lato opposto è correlato al suo spessore, densità, composizione chimica.

Il fenomeno dell'attenuazione dipende dall'energia del raggio incidente a bassa energia ed è regolato da due principi:

effetto fotoelettrico: i fotoni collidono con gli elettroni della materia e cedono tutta la loro energia e cessano di esistere

effetto Compton: i fotoni si scontrano con gli elettroni del materiale assorbente e cedono parte della loro energia.

L'attenuazione dell'E del fotone dipende inoltre dalla:

Energia iniziale del fotone

Massa/unità del materiale assorbente

Coefficiente di attenuazione di massa dell'assorbente

Ne risulta che dall'interazione fotone-materia si ha un' attenuazione dell'energia che non è lineare, ed è pertanto descritta da un'equazione esponenziale.

La DEXA utilizza un modello a 3 compartimenti, il peso corporeo viene considerato come la somma di massa ossea + massa magra + massa del tessuto magro soffice (lean soft tissue mass).

dove:  $\text{Lean soft mass} = \text{MASSA CORPOREA TOTALE} - \text{MASSA OSSEA}$ .

La BIA (Bioimpedenziometria) è un esame di tipo bioelettrico per l'analisi quantitativa e qualitativa della composizione corporea. La misurazione della resistenza e della reattanza che incontra una debole corrente che attraversa il corpo umano ci consente di stabilire, grazie a delle opportune formule, la composizione corporea e valutare lo stato nutrizionale.



E' ormai accettato da tutti che non è più sufficiente definire il sovrappeso o l'obesità usando solo delle formule. E' INDISPENSABILE CONOSCERE la composizione corporea perchè il peso esprime la massa corporea, l'insieme cioè della massa grassa, dei muscoli, delle ossa e dell'acqua. Pensare quindi che la variazione di peso riscontrato sulla bilancia corrisponda solo alla nostra massa adiposa è sicuramente sbagliato.

Le variazioni del peso infatti possono verificarsi sia per il comparto fluido ( l'acqua totale e la sua distribuzione dentro e fuori le cellule ) e sia per il comparto solido ( grasso o muscoli ). Un organismo che funziona bene ha una buona idratazione, una massa muscolare ben rappresentata e un tessuto adiposo entro una percentuale compresa tra il 15 e il 25%. L'acqua extracellulare deve essere intorno al 45 e l'intracellulare al 55%.

Questi sono dei valori indicativi in quanto il sesso e l'età

determinano delle variazioni significative.

La massa cellulare, l'angolo di fase, il rapporto sodio potassio sono dei parametri che servono allo specialista in nutrizione per potere prescrivere un piano nutrizionale adeguato alle esigenze individuali.

La calorimetria misura il dispendio energetico a riposo REE (Resting Energy Expenditure) ovvero la quantità di calorie necessarie per lo svolgimento delle funzioni vitali.

È indispensabile conoscere tale valore per impostare un piano dietetico mirato alle esigenze nutrizionali individuali.

La maggior parte delle persone in sovrappeso può perdere peso con una dieta pari al Metabolismo misurato.

Il Metabolismo basale può essere misurato attraverso la calorimetria diretta (camera calorimetrica) oppure tramite quella indiretta (calorimetro). Il termine calorimetria significa letteralmente misura del calore come effetto di reazioni biochimiche che avvengono all'interno dell'organismo.



La calorimetria diretta permette di valutare la spesa energetica a partire dalla misurazione della dispersione di calore di un soggetto posto all'interno di una stanza adeguatamente attrezzata. Purtroppo gli alti costi ne limitano notevolmente l'impiego che è generalmente confinato alla convalida di altre metodiche.

La calorimetria indiretta è la metodica che consente di valutare la spesa energetica attraverso la misurazione delle variazioni di concentrazione di ossigeno e anidride carbonica nei gas respiratori e di calcolare inoltre l'ossidazione dei substrati

Il primo calorimetro diretto, ovvero la camera calorimetrica, (una camera isolata termicamente dove il soggetto è libero di muoversi), fu costruito dai professori Atwater (chimico) e Rosa (fisico) nel 1890.

Nei primi del '900 furono costruite apparecchiature a misura indiretta tramite cioè la misurazione dei gas respiratori che venivano raccolti in sacche (famosa quella di Douglas utilizzato anche oggi) o l' utilizzo di spirometria a cui erano collegati

analizzatori dei gas respiratori; apparecchiature complesse che venivano per lo più utilizzate a scopo di ricerca.

Con la più recente tecnologia nel campo dei microprocessori è oggi possibile estendere l'utilizzo dal campo della ricerca al campo clinico.

Apparecchiature di più semplice utilizzo e maggiore precisione consentono di misurare il dispendio energetico con un esame che impegna il soggetto per circa 20 minuti.

Pertanto lo studio dei compartimenti corporei e del dispendio energetico, possono permettere sia la diagnosi di malassorbimento sia possono, cosa molto più importante, valutare le diverse carenze del soggetto.

Nell'individuo con malattia celiaca possono monitorare il miglioramento della condizione dopo la diagnosi e la conseguente terapia e anche la compliance alla dieta.

Quindi il paziente con malattia celiaca deve essere valutato e sottoposto a controlli dal momento della diagnosi in poi e probabilmente non solo ai classici controlli ematochimici (anticorpi,

emocromo, elettroliti, sideremia, ecc) ed endoscopici, questi ultimi atti alla valutazione anche istologica del danno, ma anche a valutazioni nutrizionali seriate.

L'utilizzo delle metodiche sopraelencate, nel paziente celiaco è abbastanza recente, i primi studi risalgono al 1984 circa, con risultati contrastanti.

Uno dei primi studi di una certa rilevanza è del 1996, Rude et al.(35) hanno valutato la presenza di carenza di magnesio in una popolazione di soggetti con enteropatia da glutine.

Tale carenza è stata associata alla presenza o meno di osteoporosi, condizione clinica frequente nel celiaco, considerando che l'ipomagnesemia potesse avere un ruolo nel determinare osteoporosi.

In questo studio sono stati arruolati 23 pazienti con biopsia positiva per malattia celiaca, in tutti i pazienti è stato inoltre valutata la carenza di magnesio attraverso esami ematochimici (mg nel siero, globuli rossi e linfociti liberi da  $Mg^{2+}$  e linfociti Mg,

PTH, 25-idrossivitamina D, 1,25-diidrossivitamina D, osteocalcina).

Solamente 14 soggetti hanno completato il periodo di follow-up di 3 mesi, 8 pazienti hanno mostrato un carenza di magnesio, in questi ultimi è stata valutata la densità ossea a livello lombare e prossimale del femore (MOC), e poi messi in terapia con magnesio per 2 anni.

In conclusione questo studio dimostra che l'ipomagnesemia determinata dalla malattia è potenzialmente correggibile con un supplemento di magnesio e tale supplemento aumenta la densità ossea (MOC), quindi la carenza del minerale può essere un fattore che contribuisce alla presenza di osteoporosi nel paziente con malattia celiaca nota.

In particolare, lo studio conclude che sembra essere importante una supplementazione di minerali (magnesio) alla GFD.

Altro studio nel 1997, Scotta et al. (36), hanno valutato la densità ossea e la composizione corporea nel giovane con malattia celiaca.

Scopo dello studio era quello di valutare se la composizione corporea nel paziente celiaco era influenzata dall'età della diagnosi o dalla durata della GFD.

Sono stati arruolati 66 pazienti con malattia celiaca e 76 controlli sani, studiati con dual energy x-ray absorption (DEXA).

Sono stati comparati i celiaci a soggetti sani ed inoltre sono stati comparati celiaci con differente età alla diagnosi e con differente durata della dieta.

Non sono state rilevate differenze significative nella composizione corporea. La massa grassa ed il body mass index (BMI) e la densità minerale ossea è significativamente più bassa nei pazienti con diagnosi più tardiva rispetto a quelli con diagnosi più precoce e in pazienti con 1 anno di GFD mostrano una mineralizzazione ossea significativamente più bassa rispetto ai pazienti in dieta da 2 anni.

Lo studio dimostra che solo una diagnosi precoce e una stretta dieta priva di glutine, determinano una normale mineralizzazione nel paziente celiaco.

In un altro studio del 1997 Capristo et al. (37) hanno valutato la composizione corporea, le abitudini dietetiche, il dispendio energetico e il substrato ossidativi nel paziente con malattia celiaca classica, poiché il paziente celiaco ha un malassorbimento di nutrienti, uno stato nutrizionale alterato, ma non è noto quale substrato energetico viene utilizzato in questo tipo di soggetti.

Sono stati quindi arruolati 16 pazienti celiaci non trattati e 18 pazienti in GFD.

La composizione corporea è stata valutata con lo studio antropometrico e l'impedenziometria, il dispendio energetico è stato misurato con la calorimetria indiretta, inoltre è stato assegnato al paziente un diario per riportare il tipo di cibi assunti e le quantità.

I pazienti celiaci presentano un peso ridotto, ma non una riduzione di massa magra rispetto ai volontari sani, matched per età, sesso. Il basal metabolic rate normalizzato per la massa magra (BMR/FFM) è alto sia nei celiaci che nei controlli.

I pazienti non trattati mostrano un significativo aumento del quoziente respiratorio non-proteico sia rispetto ai pazienti in GFD

( $p > 0.01$ ) che rispetto ai controlli sani ( $p > 0.05$ ), un aumento della percentuale di introito di carboidrati, una buona correlazione sia con i lipidi fecali che con l'ossidazione di carboidrati.

Entrambi i gruppi presentano una massa grassa bassa e una massa magra normale come il gruppo di controllo.

Nei non trattati è presente una preferenza per l'ossidazione dei carboidrati con un malassorbimento di lipidi ed un'elevata assunzione di carboidrati.

De Lorenzo et al. (38) in uno studio del 1999 hanno valutato giovani con malattia celiaca dopo 1 anno di dieta, poiché la valutazione della composizione corporea è di primaria importanza nel management del soggetto celiaco.

Scopo dello studio è di valutare la composizione corporea dei giovani celiaci con la dEXA e con la bioimpedenziometria e di valutare se l'impedenza può essere un metodo valido ed alternativo per studiare lo stato nutrizionale in questi pazienti.

È stata valutata la composizione corporea in 43 adolescenti con malattia celiaca in GFD da 1 anno ed in 30 soggetti sani.

La massa ossea, magra e grassa sono state valutate con la Dexa, inoltre la massa magra e grassa sono state studiate con la bioimpedenziometria.

Tutte le misure antropometriche sono state valutate in accordo alle procedure standard.

Tutti i pazienti hanno mostrato un basso peso, bassa altezza, una ridotta densità ossea e un body mass index basso rispetto ai controlli sani.

In contrasto, i parametri antropometrici predittivi per il compartimento grasso non differiscono nei 2 gruppi.

Non sono presenti significative differenze tra i pazienti a dieta stretta e i pazienti parzialmente complianti.

Confrontando le misurazioni ottenute con la dual-energy x-ray absorption e la impedenza bioelettrica si è potuto evincere che quest'ultima ha un'elevata accuratezza per la stima della massa magra, ed una limitata accuratezza per la massa grassa.



Nonostante questo, la bioimpedenziometria è più facilmente realizzabile e da comunque informazioni sull'idratazione dei tessuti e sui valori e cambiamenti della massa magra.

In conclusione negli adolescenti con malattia celiaca a dieta da 1 anno tutti compartimenti sono affetti ad eccezione della massa grassa.

La bioimpedenziometria può essere proposta come valutazione ruotinaria nei soggetti con malattia celiaca.

Un altro studio del 2000 condotto da Barera et al. (39) sempre su giovani celiaci, ha valutato la composizione corporea in bambini con malattia celiaca al momento della diagnosi e dopo dieta aglutinata.

In questo studio è stata utilizzata la Dexa per valutare la composizione corporea in 29 pazienti al momento della diagnosi di malattia celiaca e 20 di questi sono stati sottoposti di nuovo a Dexa ad un anno di dieta, inoltre è stata valutata la composizione corporea di 23 soggetti con età media di 21 anni in GFD da circa 10

anni. Questi pazienti sono confrontati ad una popolazione di controllo sana, con stessa età e sesso.

SI è visto che i pazienti non trattati avevano un peso inferiore rispetto ai controlli.

La massa grassa e il contenuto minerale erano significativamente più basso rispetto ai controlli sani, anche la massa magra degli arti era più bassa.

Dopo 1 anno di GFD, non erano presenti significative differenze nella composizione corporea nei 2 gruppi.

Inoltre i valori della composizione corporea dei soggetti in dieta da molti anni era comparabile a quella dei soggetti sani.

In conclusione ci sono anomalie rimarcabili nella composizione corporea nei bambini celiaci al momento della diagnosi, ma lo studio suggerisce che, un appropriato trattamento dietetico riesce a far tornare velocemente alla normalità i valori della composizione corporea e i benefici della privazione del glutine sono persistenti.

Poiché questi risultati sono difficili da raggiungere se la malattia celiaca è diagnosticata in età adulta è necessario diagnosticare in età pediatrica la patologia.

Bardella et al. (40) in uno studio del 2000, visto che i dati sugli effetti della GFD da lungo tempo sono discordanti, hanno valutato lo stato nutrizionale di pazienti adulti con malattia celiaca in GFD da lungo tempo in remissione clinica, biochimica ed istologica di malattia.

Sono stati arruolati 71 pazienti (51 donne e 20 uomini con età media di 21 anni) e 142 soggetti sani di controllo matched per età e sesso.

Altezza, peso, BMI, massa magra e grassa e contenuto minerale osseo (valutati con Dexa) sono stati misurati; il 3-d questionario dietetico è stato somministrato, il dispendio energetico totale giornaliero e l'introito di grassi, carboidrati e proteine sono stati calcolati.

Peso, altezza e BMI dei maschi celiaci ed il peso ed il BMI delle femmine celiache sono significativamente più basse rispetto ai controlli sani.

La massa magra, grassa sia di maschi che femmine è significativamente differente rispetto ai controlli; inoltre, il contenuto minerale osseo è significativamente più basso nelle donne celiache.

L'introito energetico totale è basso sia nei celiaci che nei controlli, e la dieta dei celiaci è sbilanciata, con elevata percentuale di energia proveniente dai grassi e una bassa percentuale di energia proveniente dai carboidrati.

In conclusione pazienti con malattia celiaca benché in dieta e con remissione di malattia mostrano differenze nella composizione corporea e nell'introito dietetico rispetto ai controlli.

Uno stretto follow-up e consigli dietetici in termini di scelta e composizione di cibo sembrano necessari per prevenire la malnutrizione.

Capristo et al. (42) hanno cercato di valutare i cambiamenti della composizione corporea e del metabolismo energetico in un gruppo di pazienti celiaci prima e dopo GFD.

La composizione corporea (con antropometria e diluizione isotopica), resting metabolic rate (RMR) e l'ossidazione dei substrati (calorimetria indiretta), sono stati valutati in 39 celiaci ed in 63 soggetti sani matched per peso ed età.

I celiaci sono stati valutati al momento della diagnosi e dopo 1 anno di dieta.

Prima del trattamento i celiaci presentano un basso peso corporeo e un'elevata ossidazione dei carboidrati rispetto ai controlli. L'ossidazione dei carboidrati è correlata, nei celiaci non trattati, ad un'elevata perdita fecale di lipidi.

Dopo la dieta la percentuale di grasso corporeo è alta rispetto ai controlli e l'introito lipidico tende ad essere più alto rispetto a prima del trattamento.

Questo studio longitudinale ha mostrato che GFD aumenta in maniera significativa le riserve corporee di grassi. I soggetti non

trattati utilizzano come substrato energetico i carboidrati, come conseguenza del fatto che c'è un malassorbimento di lipidi e un elevato introito di carboidrati, e che l'utilizzazione dei lipidi come substrato aumenta con il miglioramento del danno della mucosa intestinale.

## **PARTE TERZA**

## PARTE SPERIMENTALE

### Strumenti e metodi

#### Pazienti

Abbiamo studiato 48 adolescenti (gruppo 1A) di tredici anni con malattia celiaca diagnosticata secondo la ESPGHAN Committee on Nutrition che seguivano una dieta priva di glutine (GFD) da 10 mesi e 30 ragazzi sani (gruppo 2A) come gruppo di controllo. Undici dei 48 pazienti celiaci (gruppo 1B) sono stati richiamati 4 anni dopo e confrontati con un gruppo di controllo (gruppo 2B) analogo per sesso ed età. Per ogni soggetto abbiamo valutato peso, altezza, FM, FFM, BMC e BMD.

La compliance alla GFD è stata valutata con la determinazione degli anticorpi anti-endomisio (EMA).



In totale, 22 dei 48 ragazzi del gruppo 1A e 5 degli 11 ragazzi del gruppo 1B con malattia celiaca non avevano seguito completamente la dieta.

Tutti i soggetti in studio non hanno assunto integratori di vitamine o minerali.

Inoltre abbiamo valutato i valori di sideremia in tutti i gruppi, vista l'importanza dei valori ematici del ferro in questi pazienti.

### **Dexa**

FM,FFM,BMC e BMD sono stati determinati con uno scanner total-body (Lunar DPX, Madison, WI, USA ) dotato di una software pediatrico (versione 3.5e) usando un fascio collimato di radiazioni a doppia energia con energie effettive di 40 e 70 keV.

Le scansioni sono state eseguite con i pazienti in posizione supina.

Il corpo di ogni paziente è stato esaminato partendo dalla testa e muovendosi in direzione rettilinea lungo il corpo fino ai piedi. La durata dell'esame è stata di 15 minuti e la dose di esposizione alle radiazioni è stata inferiore agli 8 mSv.

I valori di FM,FFM,BMC e BMD sono stati ottenuti usando un software specifico per l'età dei pazienti.

### **Anticorpi anti-endomisio (EMA)**

Le IgA anti-endomisio sono state determinate con un metodo di immunofluorescenza indiretta su sezioni esofagee di scimmia (Eurospital,Trieste,Italia).

### **Analisi statistiche**

Le analisi statistiche sono state eseguite con lo Student's *t* test.

## **Risultati**

Come mostrato nella tabella 1, in tutti i pazienti con malattia celiaca del gruppo 1A, peso, FFM, BMC e BMD sono statisticamente inferiori rispetto ai soggetti del gruppo 2A ( $p < 0.001$ ). Nel gruppo 1B di pazienti con malattia celiaca, peso e FFM sono ancora inferiori ( $p < 0.005$ ), mentre gli altri parametri hanno valori paragonabili a quelli del gruppo di controllo 2B. In particolare, i pazienti che non avevano seguito la dieta completamente non mostravano differenze significative rispetto agli altri adolescenti che avevano seguito rigorosamente la GFD.

I valori di sideremia sono statisticamente inferiori nel gruppo 1A rispetto al gruppo 2A ( $p < 0.005$ ), nel gruppo 1B invece i valori di sideremia sono nella norma in tutti i pazienti e non ci sono differenze statisticamente significative rispetto al gruppo 2B.

Tab 1

	Gruppo 1A	Gruppo 2A	Gruppo 1B	Gruppo 2B
Numero	48 (15/33)	30 (23/7)	11 (2/9)	11 (2/9)
Età anni	14.5 $\pm$ 2.8	14.9 $\pm$ 1.9	18.1 $\pm$ 1.8	18.1 $\pm$ 1.9
Peso Kg	50.5 $\pm$ 11.8	63.5 $\pm$ 11.8	55.3 $\pm$ 10.8	69.5 $\pm$ 13.8
Altezza cm	156.5 $\pm$ 10	168.5 $\pm$ 11	159.4 $\pm$ 7.5	162.5 $\pm$ 6.5
FM g	15643 $\pm$ 6969	12896 $\pm$ 8769	17843 $\pm$ 6969	25643 $\pm$ 13969
FFM g	35543 $\pm$ 8469	46253 $\pm$ 12469	34843 $\pm$ 6869	41463 $\pm$ 6939
BMC g	2119 $\pm$ 529	2809 $\pm$ 669	2919 $\pm$ 1429	2549 $\pm$ 259
BMD g/cm <sup>2</sup>	1.06 $\pm$ 0.106	1.176 $\pm$ 0.126	1.131 $\pm$ 0.087	1.129 $\pm$ 0.08
Ferro mcg/dl	41 $\pm$ 7	95 $\pm$ 19	96 $\pm$ 10	108 $\pm$ 20

## **Discussione**

Benché i segni e i sintomi della malattia celiaca scompaiano seguendo la GFD, non è ancora ben stabilito se sia possibile ottenere un completo ripristino della composizione corporea, in particolare dell'osso. Molti autori consigliano una diagnosi precoce e l'inizio

della dieta immediatamente, in base alle ipotesi secondo le quali più precoce è la dieta migliore è la mineralizzazione.

Abbiamo studiato un gruppo di adolescenti con malattia celiaca che già seguivano la GFD (gruppo 1A) e abbiamo rivalutato 11 di loro 4 anni dopo (gruppo 1B) usando la DEXA, un metodo altamente accurato e preciso che comporta una minima esposizione alle radiazioni ed ha una breve durata.

Circa la metà dei pazienti dei due gruppi non hanno seguito rigorosamente la dieta, come frequentemente accade negli adolescenti. Tuttavia, nel secondo gruppo, abbiamo osservato un miglioramento di alcuni parametri (peso, FM, BMC, BMD) che potrebbe essere dovuto alla lunga durata della dieta e alla crescita adolescenziale, generalmente ritardata negli adolescenti con malattia celiaca.

I nostri risultati sono in accordo con altri studi compiuti su pazienti pediatrici, nei quali è stata riportata un completo ripristino della composizione corporea, mentre negli adulti alcuni parametri, in particolare quelli ossei, non si sono normalizzati in seguito alla

GFD. Pertanto l'adolescenza rappresenta un periodo durante il quale alcuni parametri della composizione corporea possono ancora essere recuperati dopo un lungo periodo di GFD al contrario di ciò che avviene con una GFD di breve durata.

Occasionali infrazioni alimentari non sembrano essere molto importanti per il compartimento osseo, benché esse abbiano una forte influenza sull'induzione di anticorpi endocrini e su disfunzioni organiche.

## **Bibliografia**

1. Gasbarrini G, Corazza GR, Pretolani S. Malattie dell'intestino tenue. In Teodori U. Trattato di Medicina Interna, Roma; SEU, 1987; 1811
2. Douglas AP, Kerley R, Isselbacher KJ. Preparation and characterization of the lateral and basal plasma membranes of the rat intestinal epithelial cell. *Biochem J*, 1972; 128: 1329
3. Glickman RM, Bouhours JF. Characterization, distribution and biosynthesis of the major ganglioside of rat intestinal mucosa. *Biochim Biophys Acta*, 1976; 424: 17-25
4. Ito S. The enteric surface coat on cat intestinal microvilli. *J Cell Biol*, 1965; 27: 475

5. Holmes R, Lobley RW. Intestinal brush border revisited. *GUT*, 1989; 30:1667-1678
  
6. Crane RK, Miller D, Bihler I. The restrictions on the possible mechanisms of intestinal transport of sugars. In *Membrane Transport and Metabolism*. A. Kleinzeller, A. Kotyk (eds). London, Academic Press, 1961, pp 434-450
  
7. Gasbarrini G, Corazza GR. Il malassorbimento e sindromi cliniche ad esso correlate. Ed Pozzi. Relazione al 93° Congresso della Società Italiana di Medicina Interna, Firenze, 1992
  
8. Gasbarrini G, Montalto M, Corazza GR, Gasbarrini A, Arienti A, Gentiloni N, Todde A, Tinozzi S. Insufficienza intestinale organica: definizione, metodologia, diagnostica. *Settimana Chirurgica Italiana*. Archivio e Atti della Società Italiana di Chirurgia, Roma, 1996; 4: 344-56



9. Potten CS. Clonogenic, stem and carcinogen-target cells in small intestine. In Basic science in gastroenterology: disease of the gut. Ed Polak JM et al, Glaxo Group, Ware, 3-26, 1986
10. Iwanaga T, Han H, Adachi K, Fujita T. A novel mechanism for disposing of effete epithelial cells in the small intestine. Gastroenterology 1993; 105: 1089-97
11. D'Agostino L. Meccanismi di controllo della cinetica enterocitaria. In Morfologia dell'intestino tenue. Ed. Compositori, 1995: 11-22
12. Feil W, Wenzel E, Vattaj P. Repair of rabbit duodenal mucosa after acid injury in vivo and in vitro. Gastroenterology 1987; 92: 1973-86
13. Lake AM, Bloch KL, Sinclair KJ, Walker WA. Anaphylactic release of intestinal mucus. Immunology, 1980; 39:173-178

14. McKay DM, Halton DW, McCaigue MD, Johnston CF, Fairweather I, Shaw C. Hymenolepis diminuta: Intestinal goblet cell response to infection in male C57 mice. Exp Parasitol, 1990; 71:9-20
15. Miller HRP, Nawa Y, Parish CR. Intestinal goblet cell differentiation in Nippostrongylus-infected rats after transfer of fractionated thoracic duct lymphocytes. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1979; 59:281-285
16. Rozee KR, Cooper D, Lam K, Costerton JW. Microbial flora of the mouse ileum mucus layer and epithelial cell surface. Appl Environ Microbiol, 1982; 43: 1451
17. Banwell JG, Howard R, Cooper D, Costerton JW. Intestinal microbialflora after feeding phytohemagglutinin lectins

(Phaseolus vulgaris) to rats. Appl Environ Microbiol, 1985; 50:  
68

18. Moore R, Carlson S, Madara JL. Villus contraction aids repair  
of intestinal epithelium after injury. Am J Physiol, 1989;  
257:G274-283

19. Berschneider HM, Powell DW. Fibroblasts modulate intestinal  
secretory responses to inflammatory mediators. J Clin Invest,  
1992; 89:484-489

20. Gasbarrini G, Montalto M, Manna R, Bonvicini F, Gasbarrini  
A, Baldini L, Latteri M, De Santis A, Anti M, Corazza GR.  
Aggressione e protezione del tenue. Corso Congressuale AIGO,  
Napoli, 1996: Protezione e aggressione della mucosa  
gastrointestinale: 69-80

21. Wright TL, Heyworth MF. Maldigestion and malabsorption. In: Sleisenger MH, Fordtran JS. *Gastrointestinal Disease*, Philadelphia; Saunders, 1989; 263
  
22. Gasbarrini G, Corazza GR. Il malassorbimento e sindromi cliniche ad esso correlate. Ed Pozzi. *Relazione al 93° Congresso della Società Italiana di Medicina Interna*, Firenze, 1992
  
23. Gasbarrini G, Corazza GR, Frazzoni M. Critical evaluation of malabsorption tests. In: Dobrilla G. et al: *Problems and controversies in gastroenterology*, New York; Raven Press, 1986: 123
  
24. Haeney MR, Culank LS, Montgomery RD, Sammons HG. Evaluation of xilose absorption as measure in blood and urine: a one-hour blood xylose screening test in malabsorption. *Gastroenterology* 1978; 75: 393-400

25. Solomons NW. The use of H<sub>2</sub> breath-analysis test in gastrointestinal diagnosis. *Curr Concepts Gastroenterol* 1983; 8: 30-34.
26. Corazza GR, Strocchi A, Rossi R, Sirola D, Gasbarrini G. Sorbitol malabsorption in normal volunteers and in patients with coeliac disease. *Gut* 1988; 29: 44-8
27. Trier JS. Diagnostic value of peroral biopsy of the proximal small intestine. *N Engl J Med* 1971; 285: 1470-1473
28. Corazza GR, Bonvicini F, Frazzoni M, Gatto M, Gasbarrini G. Observer variation in assessment of jejunal biopsy specimens. A comparison between subjective criteria and morphometric measurement. *Gastroenterology* 1982; 83: 1217-1322
29. Arienti V, Califano C, Brusco G, Boriani L, Biagi F, Sama MG, Sottili S, Domanico A, Corazza GR, Gasbarrini G. Doppler

ultrasonographic evaluation of splanchnic blood flow in coeliac disease. *Gut* 1996

30. Romano TJ, Dobbins JW. Evaluation of the patient with suspected malabsorption. *Gastroenterol Clin North Amer* 1989; 18: 467-83

31. Rhodes JM, Middleton P, Jewell DP. The lactulose hydrogen test as a diagnostic test for small bowel bacterial overgrowth. *Scand J Gastroenterol* 1979; 14: 333-336

32. Brocchi E, Corazza GR, Caletti G, Treggiari EA, Barbara L, Gasbarrini G. Endoscopic demonstration of loss of duodenal folds in the diagnosis of coeliac disease. *N Engl J Med* 1988; 319: 741

33. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for

pathologists. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999; 11: 1185-94

34. Bottaro G, Cataldo F, Rotolo N, Spina M, Corazza GR, The clinical pattern of subclinical/silent celiac diseases: an analysis on 1026 consecutive cases. Am J Gastroenterol 1999; 94 (3): 692-6
35. Rude RK, Olerich M, Magnesium deficiency: possible role in osteoporosis associated with gluten-sensitive enteropathy. Osteoporos Int 1996; 6 (6): 453-61
36. Scotta MS, Salvatore S, Salvatoni A, De Amici M, Ghiringhelli D, Brogini M, Nespoli L, Bone mineralization and body composition in young patients with celiac disease. Am j Gastroenterol 1997; 92 (8): 1331-4
37. Capristo E, Mingrone G, Addolorato G, Greco AV, Corazza GR, Gasbarrini G, Differences in metabolic variables between

adult coeliac patients on a gluten-free diet. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32 (12): 1222-9

38. De Lorenzo A, Di Campli C, Andreoli A, Sasso GF, Bonamico M, Gasbarrini A, Assesment of body composition by bioelectrical impedance in adolescent patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 1999; 94 (10):2951-5

39. Barera G, Mora S, Brambilla P, Ricotti A, Menni L, Beccio S, Bianchi C, Body composition in children with celiac disease and the effects of a gluten-free diet: a prospective case-control study. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 71-5

40. Bardella MT, Fredella C, Prampolini L, Molteni N, Giunta AM, Bianchi PA, Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 937-9



41. Capristo E, Addolorato G, Mingrone G, De Gaetano A, Greco AV, Tataranni PA, Gasbarrini G, Changes in body composition, substrate oxidation, and resting metabolic rate in adult celiac disease patients after a 1-y gluten-free diet treatment. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 76-81