

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA**

**ȘCOALA DOCTORALĂ**

# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**IMPLICAREA BACTERIEI HELICOBACTER  
PYLORI ÎN PATOLOGIA GASTRO-DUODENALĂ.  
STUDIU CLINIC ȘI HISTOLOGIC**

## ***REZUMAT***

**CONDUcăTOR ȘTIINȚIFIC,  
Prof. Univ. Dr. LAURENȚIU MOGOANTĂ**

**STUDENT – DOCTORAND,  
LAVINIA (NEFERU) OLAR**

**CRAIOVA**

## INTRODUCERE

*Helicobacter pylori* (HP) este cel mai important agent patogen, responsabil pentru majoritatea bolilor gastrice. Descoperit în urmă cu circa 35 de ani (1983) de către Marshall și Warren, această bacterie a devenit cea mai studiată, deoarece multiple studii au arătat că infecția cu *H. pylori* este o condiție prealabilă pentru ulcere gastrice și duodenale (Rozen P, 2004, Zhang C, Yamada N, Wu YL, et al, 2005; Kao CY, Sheu BS, Wu JJ, 2016). În anul 1994, *H. pylori* a fost recunoscut ca fiind cancerigen bine definit de către Agenția Internațională pentru Cercetare în domeniul Cancerului. *H. pylori* este responsabil pentru 5,5% din cazurile de cancer gastric la nivel mondial (Wroblewski LE, Peek RM, Wilson KT, 2010; Al Sayed A, Anand PS, Kamath KP et al, 2014).

Prevalența globală a infecției cu *Helicobacter pylori* este strâns corelată cu condițiile socio-economice. Date clinico-statistice arată că HP infectează aproximativ 50% din populația lumii (Malnick SD, Melzer E, et al, 2014). Prevalența infecției cu *H. pylori* este foarte variabilă în diferite țări; de exemplu, o prevalență ridicată se observă în țările din America Latină (75-83%), în contrast cu o prevalență scăzută în Japonia (39,6%) și SUA (17,1%) (Calvet X, Ramírez Lázaro MJ et al, 2013). Prevalența printre adulții de vârstă mijlocie este de peste 80% în multe țări în curs de dezvoltare, în comparație cu 20-50% în țările dezvoltate.

Infecția se dobândește prin ingestia orală a bacteriei și se transmite intrafamiliar în principal în prima copilărie (Ernst PB, Gold BD, 2000). Se pare că, în țările industrializate, transmiterea directă de la om la om prin salivă, fecale, este dominantă (Everhart JE, 2000; Uemura N, Okamoto S, et al, 2001; García A, Salas-Jara MJ, et al, 2014).

HP determină o inflamație continuă a mucoasei gastrice la toate persoanele infectate (Malnick SD, Melzer E, Attali M et al, 2014). Cu toate acestea, marea majoritate a populației infectate nu va dezvolta simptome legate de infecția cu *H. pylori*. Acest răspuns inflamator constă inițial în recrutarea neutrofilelor, urmate de limfocitele T și B, plasmocite și macrofage, cu alterarea stratului epitelial.

Evoluția clinică a infecției cu *Helicobacter pylori* este foarte variabilă și este influențată atât de factori microbieni cât și de factori care țin de gazdă. Pacienții cu gastrită predominant antrală, cea mai comună formă de gastrită cu *Helicobacter pylori*, sunt predispuși la ulcere duodenale, în timp ce pacienții cu gastrită a corpului

gastric și atrofie multifocală sunt mai predispuși la ulcere gastrice, atrofie gastrică, metaplazie intestinală și, în final, carcinom gastric.

Infecția cu *H. pylori* a fost, de asemenea, legată de anemie cu deficit de fier, deficiențe de vitamina B12 și purpură trombocitopenică imună (Kaptan K, Beyan C, Ural AU et al, 2000; DuBois S, Kearney DJ, 2005; Papagiannakis P, Michalopoulos C et al, 2013).

## **CAPITOLUL I. HISTOFIZIOLOGIA STOMACULUI**

Stomacul, porțiunea cea mai dilatată a tubului digestiv, este situat în cavitatea abdominală, imediat sub diafragm, în etajul abdominal superior, proiectându-se la nivelul epigastrului și hipocondrului stâng. Zona în care este așezat stomacul poartă numele de loja gastrică și ocupă cea mai mare parte din regiunea subfrenică stângă. El comunică cu celelalte organe ale tubului digestiv fiind interpus între esofag și intestinul subțire, limita de separație de esofag fiind orificiul cardia, iar limita de separație de intestin fiind orificiul piloric. La indivizii normostenici, în ortostatism, stomacul gol are forma literei „J”, măsurând aproximativ 18 cm lungime și 7 cm lățime. Atunci când stomacul este plin, lungimea sa poate crește până la 25 cm, iar lățimea până la 12 cm. Capacitatea maximă a stomacului la indivizii normoponderali este evaluată între 1 și 1,5 litri. Peretele gastric este format din patru tunici concentrice, suprapuse și anume: tunica mucoasă, submucoasă, musculară și seroasă.

**Mucoasa gastrică**, tunica cea mai importantă a stomacului, tapetează peretele gastric. Ea continuă mucoasa esofagiană și se continuă cu mucoasa duodenală. La nivelul cardiei epiteliul esofagian de tip malpighian fără keratinizare este substituit brusc de epiteliul gastric, care este un epiteliu simplu cilindric. Celelalte elemente structurale ale peretelui esofagian se continuă la nivelul stomacului cu structuri similare, cu excepția adventiceii care este înlocuită de seroasa peritoneală. Epiteliul gastric este un epiteliu cilindric simplu, monomorf. El acoperă întreaga suprafață a mucoasei gastrice, inclusiv criptele gastrice. Corionul mucoasei gastrice este un țesut conjunctiv lax, bogat în vase sanguine și numeroase celule aparținând sistemului imun (limfocite, plasmocite, rare macrofage și mastocite).

**Submucoasa** este constituită din țesut conjunctiv lax, bogat în celule conjunctive (limfocite, plasmocite, mastocite, polimorfonucleare eozinofile), substanță fundamentală, fibre de collagen și elastice, vase sanguine și limfatice.

**Musculara** este formată din fibre musculare netede dispuse în trei straturi: un strat extern, longitudinal, care continuă stratul extern al muscularei esofagiene; un strat mijlociu, circular, foarte dezvoltat în regiunea pilorică unde formează și sfincterul piloric; un strat intern oblic mai dezvoltat în porțiunea verticală a stomacului. Printre fasciculele de fibre musculare se găsește puțin țesut conjunctiv, vase de sânge și plexul nervos Auerbach.

**Seroasa** peritoneală acoperă stomacul și participă la fixarea lui de organele din cavitatea abdominală (ficat, colon, diafragm).

Stomacul îndeplinește mai multe funcții în procesul de digestie al alimentelor: mecanică, secretorie și de absorbție. Sucul gastric, secreția exocrină a mucoasei gastrice, conține apă, mucus, acid clorhidric, pepsinogen, labferment, factorul intrinsec al lui Castle (o glicoproteină secretată de celulele parietale, indispensabilă absorbției vitaminei B12), etc. Secreția endocrină este reprezentată de serotonină și gastrină.

Hormonii gastrici reglează mai multe funcții fiziologice importante ale stomacului, inclusiv secreția și motilitatea. Producția anormală a unora dintre acești hormoni este asociată cu dezvoltarea diferitelor boli gastrice. Cu toate acestea, mai mulți hormoni (gastrină, somatostatina și grelina) și peptide de reglementare sunt produse chiar de celulele din stomac.

Unul dintre cei mai importanți hormoni secretați de stomac este grelina. Grelina este un hormon peptidic special produs de celulele P/D1 situate în stomac atunci când stomacul este gol și de celulele epsilon din pancreas și stimulează apetitul. Este foarte interesant că grelina acționează pe aceeași receptori din neuronii hipotalamici pe care acționează și leptina, cunoscută ca hormon anorexigen. Stomacul produce, de asemenea, cantități mici de leptină, hormon anorexigen, deși principala sursă de leptină este țesutul adipos.

Un alt hormon principal produs de stomac este gastrina, care continuă să fie și actualmente investigat și implicat de gastroenterologi în vederea asocierii sale cu diferite boli gastro-intestinale.

## **CAPITOLUL II. HELICOBACTER PYLORI – ASPECTE MICROBIOLOGICE**

*Helicobacter pylori* este primul cancerigen bacterian recunoscut oficial. Infecția cu *H. pylori* reprezintă un factor cheie în etiologia a diverse boli gastro-intestinale, ce

variază de la gastrită cronică activă, fără simptome clinice până la ulcer gastro-duodenal, adenocarcinom gastric și limfom al țesutului limfoid asociat mucoasei.

Membri ai genului *Helicobacter* sunt organisme microaerofile și în multe cazuri sunt catalazo- și oxidazo-pozitivi, multe fiind, de asemenea ureazo-pozitivi. Speciile de *Helicobacter* gastric s-au adaptat la mediul inospitalier ce se găsește la nivelul mucoasei gastrice, considerându-se la ora actuală că stomacul tuturor mamiferelor poate fi colonizat de membri ai genului *Helicobacter*. Toate speciile cunoscute de *Helicobacter* gastric sunt ureazo-pozitive și au o motilitate ridicată cu ajutorul flagelilor. Ureaza le crește supraviețuirea pe termen scurt în mediul puternic acid al lumenului gastric, motilitatea ușurându-le mișcarea rapidă către mediul cu pH mai apropiat de neutru al mucoasei gastrice.

*H. pylori* este o bacterie Gram-negativă, măsurând de la 2 la 4 μm lungime și 0,5 la 1 μm în lățime. Deși de obicei în formă de spirală, bacteria poate apărea ca o tijă, în timp ce formele cocoide apar după cultivarea îndelungată in vitro sau ca urmare a tratamentului cu antibiotice. Bacteria are 2 până la 6 flageli necapsulați unipolari, de aproximativ 3 μm lungime, care-i conferă motilitate și-i permit circulația rapidă în soluțiile vâscoase, cum ar fi stratul mucos ce căptușește epiteliul gastric.

*H. pylori* este un microorganism pretențios ce necesită medii complexe de creștere. De multe ori aceste medii sunt suplimentate cu sânge sau ser. În medii de cultură, *H. pylori* formează colonii mici (1 mm), translucide.

*H. pylori* este o bacterie microaerofilă care nu tolerează concentrații crescute de oxigen, dar necesită cel puțin 2% O<sub>2</sub>.

Compoziția generală a învelișului celular al *H. pylori* este similară cu cea a altor bacterii Gram-negative. El constă dintr-o membrană interioară (citoplasmică), periplasmă cu peptidoglicani și o membrană exterioară. Membrana exterioară este formată din fosfolipidele membranare și lipopolizaharide. Membrana externă a *H. pylori* conține glucozide colesteroalice, fapt foarte rar întâlnit la bacterii. În genomul *H. pylori* sunt codificate o gamă largă de proteine de membrană exterioară.

Dimensiunea celor două genoame *H. pylori* descoperite este de aproximativ 1,7 Mbp, cu un conținut de C+G de la 35 la 40%. Genomul include 1491, respectiv 1587 de gene. Multe tulpini poartă una sau mai multe plasmide criptice, care nu par să poarte gene de rezistență la antibiotice sau gene de virulență.

Răspunsurile rapide la schimbările stresante ale condițiilor de mediu sunt adesea mediate prin modificări de transcriere a seturilor de gene care codifică unii

factori implicați în relațiile cu acești factori stresanți. Astfel de exemple sunt expresia genelor de apărare contra stresului oxidativ, ca răspuns la stresul oxidativ. În multe bacterii, astfel de sisteme ce răspund la stres sunt adesea codificate de gene organizate într-un operon, și transcrierea este reglementată de către una sau două proteine reglatoare.

### **CAPITOLUL III. ASPECTE CLINICE ALE AFECȚIUNILOR ASOCIATE H. PYLORI**

**Gastrita acută și cronică.** Colonizarea cu *H. pylori* duce aproape întotdeauna la infiltrația cu neutrofile și mononucleare a mucoasei gastrice atât antral cât și la nivelul corpului. *H. pylori*, în special, colonizează antrum-ul gastric, unde sunt prezente doar câteva celule parietale secretoare de acid clorhidric. Subiecții la care secreția de acid este afectată, prin orice mecanism, au o distribuție bacteriană mai echilibrată între antrum și corp.

**Ulcerul peptic.** Ulcerul gastric sau duodenal (denumit ulcer peptic) este definit ca defect ale mucoasei cu un diametru de cel puțin 0,5 cm, ce pătrunde prin musculara mucoasei. Atât ulcerele gastrice cât și cele duodenale sunt puternic legate de *H. pylori*. În rapoartele inițiale din întreaga lume, în primul deceniu după descoperirea *H. pylori*, aproximativ 95% din ulcerele duodenale și 85% din cele gastrice au avut loc în prezența infecției cu *H. pylori*. Mai multe studii de cohortă estimează că riscul de boală ulceroasă la subiecții *H. pylori*-pozitivi este de 3 până la 10 ori mai mare decât la subiecți *H. pylori*-negativi. Dezvoltarea ulcerului în prezența *H. pylori* este influențată de o varietate de factori ce țin de gazdă și de bacterie. Ulcerul apare în cea mai mare parte în locuri unde inflamația mucoasei este cea mai severă.

**Dispepsia non-ulceroasă** este definită ca prezența simptomelor de disconfort gastrointestinal superior fără anormalități structurale identificabile în timpul diagnosticării, incluzând în particular endoscopia gastrointestinală superioară. Simptomele de dispepsie pot avea caracter de reflux gastro-esofagian, cu arsuri epigastrice și regurgitații; pot apărea ca simptome de alterare a motilității, cu sațietate precoce și greață; alte simptome pot fi asemănătoare ulcerului (durere și vomă). 30% până la 60% din pacienții cu dispepsie funcțională prezintă infecție cu *H. pylori*.

**Gastrita atrofică, metaplazia intestinală și cancerul gastric.** Inflamația cronică indusă de *H. pylori* poate duce la pierderea arhitecturii mucoasei gastrice

normale, cu distrugerea glandelor gastrice și înlocuirea prin fibroză a epiteliului de tip intestinal. Acest proces de atrofie gastrică și metaplazie intestinală are loc la aproximativ jumătate din pacienții colonizați H. pylori, preponderent la pacienții cu inflamație mai severă. Pe baza unor studii multicentrice s-a estimat că colonizarea H. pylori crește de aproximativ 10 ori riscul de cancer gastric.

#### **CAPITOLUL IV. IMPORTANȚA CERCETĂRII. OBIECTIVE PROPUSE**

Pentru mai bine de un secol, patologia gastrică a fost explicată prin dezechilibrul dintre factorii agresivi și cei de protecție ai mucoasei gastrice. După anii 1980, când doi medici australieni Marshall și Warren au descoperit bacteria Helicobacter pylori și au făcut legătura dintre infecția cu Helicobacter pylori (H. pylori) și patologia gastrică, mecanismele fiziopatologice ale principalelor afecțiuni gastrice au suferit modificări semnificative. Din acel moment, cele mai multe dovezi au sprijinit ideea că infecția cu H. pylori este o condiție prealabilă pentru gastrite, ulcere gastrice și duodenale și chiar cancerul gastric. Evaluarea infecției cu H. pylori constituie în multe clinici universitare, centre de cercetare, spitale, cabinete de gastroenterologie, o preocupare constantă ținând cont de numărul mare de bolnavi cu simptome gastro-duodenale și de numărul crescut de pacienți infectați cu H. pylori. Cercetarea noastră se înscrie în preocupările actuale în domeniul patologiei gastro-duodenale.

Obiectivele propuse:

- evaluarea prin studii clinico-statistice retrospective a patologiei gastro-duodenale și a infecției cu H. pylori;
- evaluarea unor factori de risc privind patologia gastro-duodenală;
- evaluarea modificărilor histopatologice gastrice la pacienții H. pylori - pozitivi.

#### **CAPITOLUL V. STUDIUL CLINICO-STATISTIC AL PATOLOGIEI GASTRO-DUODENALE ÎN SPITALUL JUDEȚEAN DE URGENȚĂ TÂRGU JIU**

Studiul a cuprins un lot de 5793 de pacienți internați în secțiile de Boli Interne și Chirurgie ale Spitalului Județean de Urgență din Târgu Jiu în perioada 01.01.2008 - 31.12.2012. Analiza clinico-statistică a grupului a urmărit: sexul și vârsta pacienților, mediul social (urban, rural), leziunile gastrice, prezența unor leziuni tumorale precum și tipul histopatologic al leziunii. Culegerea datelor clinice și paraclinice s-a realizat din foile de observație, sistemul informatic Hipocrate, protocoalele operatorii,

buletinele de analize de laborator și registrele de anatomie patologică. Pentru evidențierea unor aspecte clinice importante, aceste date au fost prelucrate în Excel și transpuse în grafice pentru a realiza imagini mai sugestive asupra acestor leziuni.

În studiul nostru evaluarea patologiei gastro-duodenale a arătat că aceasta este relativ uniform distribuită pe sexe și mediul social. Totuși, sexul masculin a fost mai mult afectat decât sexul feminin, iar patologia gastrică a fost mai dominantă în mediul rural decât în mediul urban.

Ulcerul gastric a fost prezent la un total de 458 de pacienți internați în cei 5 ani de studiu. La această afecțiune s-a remarcat o reducere semnificativă a cazurilor pe perioada studiată. Dacă în anul 2008 au fost spitalizate 117 cazuri, în anul 2012 au fost doar 51 de cazuri.

Numărul de pacienți cu ulcer duodenal a fost de circa 3 ori mai mare decât cei cu ulcer gastric, înregistrându-se un număr de 1360 de pacienți. Și la această patologie s-a înregistrat un trend descrescător. Astfel, în 2008 au fost spitalizați un număr de 457 de pacienți, iar în 2012 numai 151.

În ceea ce privește gastritele, în cei 5 ani de studiu, numărul acestora a fost de 2566 de cazuri. Repartiția pe ani a variat de la 340 la 721 de cazuri.

Tumorile gastrice, în cea mai mare parte adenocarcinoame, au totalizat un număr de 750 de cazuri. Tendința acestora a variat foarte puțin de la un an la altul, valorile încadrându-se în intervalul 134-166 cazuri anual.

## **CAPITOLUL VI. EVALUAREA INFECȚIEI CU H. PYLORI ÎN PATOLOGIA GASTRODUODENALĂ**

Studiul a cuprins un lot de 1525 de pacienți care s-au adresat în perioada 2010-2014 Centrului Medical Renașterea din Craiova pentru diverse acuze de tract digestiv superior. În acest centru medical pacienții au fost examinați clinic și endoscopic. Determinarea infecției cu H. pylori s-a făcut direct prin testul ureazei și indirect prin testarea anticorpilor anti-Helicobacter pylori din serul sanguin.

Din totalul de 1525 de pacienți, 1089 (71,41%) au fost din mediul urban, iar 436 (28,59%) au fost din mediul rural. Prezența unui număr mai mare din mediul urban poate fi datorată accesului mai facil al pacienților din mediul urban la serviciile medicale, statusului socio-profesional și financiar, precum și unei educații medicale superioare a celor din mediul urban.



Din lotul luat în studiu, un număr de 971 (63,67%) au fost infectați cu H. pylori, iar restul de 554 (36,33%) nu au fost infectați. Datele noastre confirmă faptul că persoanele infectate cu H. pylori în România depășesc 60%.

Evaluând asocierea infecției cu H. pylori cu patologia eso-gastrică s-a constatat că diferența dintre pacienții din mediul rural și urban nu a fost semnificativă. Astfel, în mediul urban au fost depistați H. pylori+ un procent de 62,63% din pacienți în timp ce în mediul rural au fost H. pylori+ 63,65%. Această diferență nesemnificativă arată că în ansamblu infecția cu H. pylori este răspândită uniform atât în mediul rural cât și în cel urban.

Vârsta persoanelor cu patologii esogastrice a variat de la 16 la 87 de ani. Cei mai afectați de această patologie au fost cei din decada de vârstă 50-59 de ani. Infecția cu H. pylori la lotul luat în studiu a avut aproximativ aceeași incidență la decadele de vârstă 30-39 de ani, 40-49 de ani și respectiv 50-59 de ani. Acest aspect denotă o infecție relativ intensă cu H. pylori sub vârsta de 30 de ani.

## **CAPITOLUL VII. ASPECTE HISTOPATOLOGICE ALE LEZIUNILOR GASTRICE LA PACIENȚII H. PYLORI +**

Studiul histopatologic s-a efectuat pe un număr de 79 de piese de biopsie gastrică recoltate endoscopic și 43 de fragmente de stomac recoltate de la unii pacienți infectați cu H. pylori, care au necesitat intervenție chirurgicală, fie pentru ulcer gastro-duodenal, fie pentru tumori gastrice. Materialul biologic a fost fixat în formol 10% și prelucrat în tehnica histopatologică clasică a includerii la parafină. Colorațiile histopatologice clasice ne-au permis să evidențiem prezența unor leziuni importante la nivelul peretelui gastric, provenind de la gastrite cronice cu metaplazie intestinală incompletă sau completă, gastrită atrofică, gastrită hemoragică, ulcer gastric cronic și chiar leziuni maligne gastrice (adeocarcinoame slab, moderat și bine diferențiate, carcinoame mucipare, limfoame gastrice).

### **Bibliografie selectivă**

1. Bartfeld S, Bayram T, van de Wetering M, et al. In vitro expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection. *Gastroenterology*. 2015; 148:126–36.
2. Bodger K, Ahmed S, Pazmany L, et al. Altered gastric corpus expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in human and murine *Helicobacter* infection. *J Clin Pathol*. 2008; 61:72–8.

3. Burger KS, Berner LA. A functional neuroimaging review of obesity, appetitive hormones and ingestive behavior. *Physiology & Behavior*. 2014;136: 121–7.
4. Burkitt MD, Varro A, Pritchard DM. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors. *World J Gastroenterol*. 2009; 15:1–16.
5. Dimaline R, Varro A. Novel roles of gastrin. *J Physiol*. 2014; 592:2951–8.
6. Dockray GJ, Varro A, Dimaline R, et al. The gastrins: their production and biological activities. *Ann Rev Physiol*. 2001; 63:119–39.
7. Farré R, Tack J. Food and symptom generation in functional gastrointestinal disorders: physiological aspects. *Am J Gastroenterol*. 2013; 108:698–706.
8. Fox JG, Rogers AB, Ihrig M, et al. *Helicobacter pylori*-associated gastric cancer in INS-GAS mice is gender specific. *Cancer Res*. 2003; 63:942–50.
9. Goo T, Akiba Y, Kaunitz JD. Mechanisms of intragastric pH sensing. *Curr Gastroenterol Rep*. 2010; 12:465–70.
10. Hayakawa Y, Jin G, Wang H, et al. CCK2R identifies and regulates gastric antral stem cell states and carcinogenesis. *Gut*. 2015; 64:544–53.
11. Janssen P, Pottel H, Vos R, et al. Endogenously released opioids mediate meal-induced gastric relaxation via peripheral mu-opioid receptors. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011; 33:607–14.
12. Janssen P, Vanden Berghe P, Verschueren S, et al. Review article: the role of gastric motility in the control of food intake. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011; 33:880–94.
13. Janssen P, Verschueren S, Giao Ly H, et al. Intragastric pressure during food intake: a physiological and minimally invasive method to assess gastric accommodation. *Neurogastroenterol Motil*. 2011; 23:316–22. e153–4.
14. Janssen P, Verschueren S, Tack J. Intragastric pressure as a determinant of food intake. *Neurogastroenterol Motil*. 2012; 24:612–e268.
15. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev*. 2007; 8:21–34. .
16. Lofgren JL, Whary MT, Ge Z, et al. Lack of commensal flora in *Helicobacter pylori*-infected INS-GAS mice reduces gastritis and delays intraepithelial neoplasia. *Gastroenterology*. 2011; 140:210–20..
17. McNicholl AG, Forne M, Barrio J, et al. Accuracy of GastroPanel for the diagnosis of atrophic gastritis. *European J Gastroenterol Hepatol*. 2014; 26:941–8. Erratum in: *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2015;27:113..
18. Norsett KG, Steele I, Duval C, et al. Gastrin stimulates expression of plasminogen activator inhibitor-1 in gastric epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011; 301:G446–53.
19. Papathanasopoulos A, Rotondo A, Janssen P, et al. Effect of acute peppermint oil administration on gastric sensorimotor function and nutrient tolerance in health. *Neurogastroenterol Motil*. 2013; 25:e263–71.
20. Patterson M, Bloom SR, Gardiner JV. Ghrelin and appetite control in humans--potential application in the treatment of obesity. *Peptides*. 2011; 32:2290–4. .

21. Perello M, Scott MM, Sakata I, Lee CE, Chuang JC, Osborne-Lawrence S, Rovinsky SA, Elmquist JK, Zigman JM. Functional implications of limited leptin receptor and ghrelin receptor coexpression in the brain. *The Journal of Comparative Neurology*. 2012, 520 (2): 281–94.
22. Powley TL, Phillips RJ. Gastric satiation is volumetric, intestinal satiation is nutritive. *Physiol Behav*. 2004; 82:69–74.