

Trabajo Original

Morphometry of the small intestine mucosa in children with malabsorption syndrome.

Dra. María de Fátima Rodríguez Orizondo¹, Dra. Marisabel García Gutiérrez², Dr. Rodolfo Valdés Landaburo³, Lic. Omar Hernández Trimiño⁴

Especialista de 1^{er} grado en Histología. Profesor Asistente. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Faustino Pérez Hernández Sancti Spíritus. Cuba.¹

Especialista de 1^{er} grado en Histología y de 2^{do} grado en Medicina Natural y Tradicional. Máster en Medicina Natural y Tradicional. Profesora Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba²

Especialista de 1^{er} grado en Gastroenterología. Máster en Atención Integral al niño. Profesor Auxiliar. Hospital Pediátrico Universitario José Luis Miranda Villa Clara, Cuba³

Licenciado en Matemática. Máster en Educación Superior. Máster en Educación Avanzada. Profesor Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba⁴

RESUMEN

Fundamento: El estudio morfométrico de la mucosa del intestino delgado en los niños con síndrome de malabsorción resulta una herramienta útil para la mejor caracterización del daño mucoso de este órgano.

Objetivo: Determinar valores morfológicos microscópicos de la mucosa del intestino delgado en 13 niños con diagnóstico de síndrome de malabsorción. **Metodología:** Se realizó un estudio descriptivo en 13 biopsias obtenidas en el departamento de anatomía patológica del Hospital Universitario "José Luis Miranda" de Villa Clara, entre enero de 1999 y septiembre de 2007. Se asumieron como variables altura y diámetro de las vellosidades intestinales, profundidad de las criptas de Lieberkühn, y celularidad total de la lámina propia, utilizando mediciones lineales directas. **Resultados:** Los datos derivados del estudio demostraron con resultados estadísticamente significativos que el valor promedio de la altura de la vellosidad fue de 0,241333 milímetros (mm), el del diámetro de la vellosidad fue de 0,182154 mm, el de la profundidad de la cripta fue de 0,161487 mm y el de la celularidad de la lámina propia fue de 125,00 células por campo. **Conclusiones:** Con relación a los hallazgos en la mucosa normal, las vellosidades intestinales tenían valores medios de altura menor, mientras que el diámetro de estas fue mayor, las criptas de Lieberkühn presentaron valores medios de profundidad dentro de los límites normales y la celularidad total de la lámina propia presentó valores medios altos.

SUMMARY

Introduction: The morphometric study of the small intestine mucosa in children with malabsorption syndrome is a useful tool for a better characterization of its mucosal damage. **Objective:** To determine values of the microscopic morphology of the small intestine mucosa in 13 children diagnosed with malabsorption syndrome. **Methodology:** A descriptive study was performed in 13 biopsies obtained from the Pathology Department of the José Luis Miranda University Hospital of Villa Clara, between January of 1999 and September of 2007. The variables assumed included villi's height and diameter, depth of Lieberkühn's crypts, and total cellularity of lamina propria, using direct linear measurements. **Results:** Data derived from the study showed with statistically significant results that the average value of villi's height was 0.241333 millimeters (mm), villi's diameter was 0.182154 mm, crypt's depth was 0.161487 mm and cellularity of lamina propria was 125.00 cells per field. **Conclusions:** On regard to the findings in normal mucosa, villous height values were lower, while their diameter was higher, Lieberkühn's crypts had average depth values within normal limits and total cellularity of lamina propria showed higher average values.

MeSH: MALABSORPTION SYNDROMES /diagnosis; INTESTINAL MUCOSA, MUCOUS MEMBRANE /anatomy & histology

Keywords: Intestinal malabsorption syndrome, morphometry, cellularity of small intestine mucosa

INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años, con el desarrollo científico técnico, la morfología cualitativa se ha visto enriquecida por métodos cuantitativos, que se basan en la realización de mediciones que permiten conocer de manera directa o indirecta las dimensiones de los objetos y se han descrito diversos métodos para realizarlo: mediciones lineales, digitales, semidigitales y estereológicas.

Las investigaciones de la estructura microscópica de la mucosa en el síndrome de malabsorción (SMA) han sido abordadas predominantemente mediante métodos descriptivos de carácter esencialmente cualitativos¹; aún cuando es conocido que la cuantificación de determinadas estructuras es una herramienta que brinda información adicional sobre la forma y el estado en que se encuentran los elementos en estudio, sus relaciones con los que lo rodean y permite la mejor comprensión de diversos procesos patológicos².

Actualmente en el Reino Unido y Turquía se complementa la valoración histopatológica de la arquitectura de la mucosa intestinal con el uso de técnicas morfométricas^{3,4}. En Holguín y Camagüey también se han realizado estudios que dedican especial atención a la morfología de la mucosa intestinal en este síndrome^{5,6}. No obstante, los avances reportados en la literatura científica internacional, referente al tema, no abundan en Cuba los estudios basados en la cuantificación de la estructura de la mucosa en estos pacientes, desconociéndose así los indicadores histomorfométricos de la mucosa del intestino delgado en niños con SMA, por lo que el objetivo de la investigación es determinar valores morfológicos microscópicos de la mucosa del intestino delgado en niños con síndrome de malabsorción en la provincia de Villa Clara.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo transversal en un grupo de niños con diagnóstico de síndrome de malabsorción a los cuales se les realizó biopsias de la parte proximal del intestino delgado, que fueron procesadas en el departamento de anatomía patológica del Hospital Universitario José Luis Miranda de Villa Clara en el período de enero/1999 a septiembre/2007.

La población estuvo conformada por 49 niños de ambos sexos con diagnóstico de síndrome de malabsorción.

El número de sujetos de la población estuvo determinado por los siguientes criterios:

Criterios de inclusión

- Menores de 19 años.
- Pacientes a los que se les realizó biopsia de la mucosa de la parte proximal del intestino delgado.

Criterios de exclusión

- Mayores de 19 años.
- Pacientes con una infección intestinal reconocible.

Se hizo un muestreo no probabilístico intencional, teniendo en consideración que las láminas histológicas tuvieran una buena calidad de la imagen para examen microscópico, para una muestra resultante de 13.

Los bloques de parafina obtenidos fueron enviados al laboratorio de histopatología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Ciencias Médicas Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz, donde fueron cortados en un micrótopo vertical que permitió obtener cortes seriados de grosor uniforme; luego, fueron colocados cada uno en láminas histológicas y coloreados por la técnica de tinción de hematoxilina/eosina, apropiada para la realización de las observaciones morfométricas⁷:

La evaluación cuantitativa de la muestra se basó en la realización de técnicas morfométricas indirectas, los valores expresados para cada caso fueron la media aritmética de 15 mediciones o conteos.

Las variables fueron:

- La altura de la vellosidad intestinal.
- El diámetro de la vellosidad intestinal.
- La profundidad de la cripta.
- La celularidad total de la lámina propia.

Las láminas histológicas fueron observadas con un microscopio fotónico Olympus BHB de investigaciones biológicas, con luz propia. Para las observaciones en las vellosidades intestinales y en las criptas se utilizó un ocular de 10 x milimetrado y objetivos de 10 x; posteriormente, se aplicó la escala de conversión con ocular milimetrado correspondiente (Anexo 1). Para el conteo celular se utilizó un ocular de 10 x y objetivo de 100 x de inmersión en aceite, y se logró una amplificación de 1000 micrómetros cuadrados por campo óptico.

En cada lámina histológica se midieron 15 vellosidades intestinales y 15 criptas de Lieberkühn las cuales fueron escogidas al azar teniendo en cuenta que las vellosidades estuvieran completas y en continuidad con la mucosa, y que las criptas presentaran la luz bien definida, lo que permitió determinar, en cada una de ellas las variables morfométrica planteadas para las mismas. Se realizaron 90 mediciones por lámina, para un número final de 11701.

Para el conteo de las células se utilizó una cuadrícula con 10 divisiones por lado (retículo de 100 cuadros), que se acopló entre el ocular y el objetivo. Al calibrar la cuadrícula con la cámara de Newbaver, se encontró que con el ocular de 10 x y el objetivo de 100 x, el área de tejido estudiada por campo fue de $0,01 \text{ mm}^2$.

La celularidad total fue expresada en número de células por campos ópticos ($0,01 \text{ mm}^2$); fueron contadas todas las células que se encontraban dentro del cuadrado: se excluyeron las que contactaban con dos lados adyacentes de dicho cuadrado (aún cuando se encontraban dentro del mismo), y se incluyeron las que contactaban con los dos lados restantes (aún cuando se encontraban fuera del cuadrado).

Los campos ópticos para realizar los conteos fueron escogidos al azar; se varió la situación de la cuadrícula sobre la mucosa del intestino delgado, de acuerdo con el objetivo a estudiar, tanto en el área de las criptas como en la de las vellosidades, se tuvo cuidado de excluir las células epiteliales de las vellosidades, de las criptas o ambas. Se realizaron 15 observaciones (conteos) en cada lámina histológica, para un total de 195 observaciones.

Métodos estadísticos utilizados

A partir de la obtención de los datos y la organización de los mismos, se utilizaron los métodos descriptivos y las pruebas inferenciales que posibilitaron un acercamiento adecuado al propósito de este trabajo; por ello, fue necesario el empleo de medidas de tendencia central, como la media y la mediana, a las cuales fue preciso apoyar con medidas de dispersión, como la varianza, la desviación típica y el coeficiente de variación, así como las medidas de posición relativa, que en el campo biomédico se obtienen a través de los percentiles, pero que para este caso, dado el valor numérico de la muestra, fue preciso evaluar a partir de los cuartiles, reflejados en el SPSS como los percentiles 25, 50 y 75, respectivamente.

También se emplearon las pruebas para la normalidad de una distribución de Kolmogorov – Smirnov y de Shapiro – Wilk, por su aplicabilidad, las pruebas empleadas tomaron en consideración un intervalo de confianza del 90% y se efectuaron a partir del paquete estadístico SPSS en su versión 11.0, para garantizar la precisión de los resultados que se ofrecen; esto se corresponde con el tamaño de la muestra estudiada y de los objetivos enmarcados en este estudio^{8,9}.

RESULTADOS

Las variables altura de la vellosidad, diámetro de la vellosidad y profundidad de la cripta se distribuyen normalmente según las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk Tabla1 (Anexo 2), por lo que es posible asumir una valoración estimada para la media de esta población, la cual se toma con una confianza del 90% dada la magnitud de la muestra observada. La aplicación de la prueba de normalidad según el SPSS exige tomar como hipótesis de trabajo que la alternativa sea la normalidad de la variable, o sea: si $p > 0,05$, se considera que esta condición se cumple.

Tabla 1: Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para las variables altura de la vellosidad, diámetro de la vellosidad y profundidad de la cripta en el SMA.

Variables	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadísticos	gl	p ^a	Estadístico	gl	p
Altura de la vellosidad	0,151	13	0,200*	0,950	13	0,596
Diámetro de la vellosidad	0,208	13	0,138	0,872	13	0,056
Profundidad de la cripta	0,118	13	0,200	0,955	13	0,680

*. Límite inferior de la significación verdadera ^a .Corrección de la significación de Lilliefors

Fuente: Mediciones indirectas realizadas por la autora.

La caracterización estadística de la altura de la vellosidad en el SMA se aprecia en la Tabla 2 (Anexo 3). El valor promedio de la altura de la vellosidad fue de 0,241333 milímetros (mm) con un intervalo de confianza para la media del 90%, con límite inferior de 0,214031 mm y límite superior de 0,268635 mm; la mediana fue de 0,252667 mm, la varianza de 0,003 +mm y la desviación típica de 0,0552315 mm.

Tabla 2: Caracterización estadística de la altura de la vellosidad en el SMA. Hospital Pediátrico "José Luis Miranda", Santa Clara, Villa Clara. 1999-2007

Variable	Descriptivos	Estadísticos
Altura de la vellosidad	Media	
	Intervalo de confianza para la media al 90%	0,241333
	LI	0,214031
	LS	0,268635
	Mediana	0,252667
	Varianza	0,003
	Desv. Tip.	0,0552315

Leyenda: LI: Límite inferior LS: Límite superior

Fuente: Mediciones indirectas realizadas por la autora.

La caracterización estadística del diámetro de la vellosidad en el SMA se ilustra en la Tabla 3 (Anexo 4). El valor promedio del diámetro de la vellosidad fue de 0,182154 mm con un intervalo de confianza para la media del 90%, con límite inferior de 0,148278 mm y límite superior de 0,176029 mm; la mediana fue de 0,150000 mm, la varianza de 0,001 mm y la desviación típica de 0,0280702 mm.

Tabla 3: Caracterización estadística del diámetro de la vellosidad en el SMA. Hospital Pediátrico "José Luis Miranda", Santa Clara, Villa Clara. 1999-2007

Variable	Descriptivos	Estadísticos
Diámetro de la vellosidad	Media	0,162154
	Intervalo de confianza para la media al 90%	
	LI	0,148278
	LS	0,176029
	Mediana	0,150000
	Varianza	0,001
	Desv. Tip.	0,0280702

Leyenda: LI: Límite inferior LS: Límite superior

Fuente: Mediciones indirectas realizadas por la autora.

Las características morfométricas de la variable profundidad de la cripta en el SMA se observan en la Tabla 4 (Anexo 5). El valor promedio de la profundidad de la cripta fue de 0,161487 mm, con un intervalo de confianza para la media del 90%, límite inferior de 0,145344 mm y límite superior de 0,177630 mm; la mediana fue de 0,162667 mm, la varianza de 0,001 mm y la desviación típica de 0,0326566 mm.

Tabla 4: Caracterización estadística de la profundidad de la cripta en el SMA. Hospital Pediátrico "José Luis Miranda", Santa Clara, Villa Clara. 1999-2007

Variable	Descriptivos	Estadísticos
Profundidad de la cripta	Media	0,161487
	Intervalo de confianza para la media al 90%	
	LI	0,145344
	LS	0,177630
	Mediana	0,162667
	Varianza	0,001
	Desv. Tip.	0,0326566

Leyenda: LI: Límite inferior LS: Límite superior

Fuente: Mediciones indirectas realizadas por la autora.

Los resultados que indican que la celularidad total de la lámina propia se distribuye normalmente según las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk se muestran en la Tabla 5 (Anexo 6), por tales razones, es admisible estimar valores paramétricos de la media, la mediana y la varianza, donde se manifiesta la confianza al 90% debido a la misma situación planteada, referente al número de individuos en la muestra.

Tabla 5: Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para la variable celularidad total de la lámina propia en el SMA.

Variable	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadísticos	gl	p ^a	Estadístico	gl	p
Celularidad total de la lámina propia	0,153	13	0,200*	0,935	13	0,392

*. Límite inferior de la significación verdadera ^a. Corrección de la significación de Lilliefors

Fuente: Mediciones indirectas realizadas por la autora.

Las características desde el punto de vista estadístico de la celularidad total de la lámina propia en el SMA aparecen en la Tabla 6 (Anexo 7). El valor promedio fue de 125,00 células por campo, con un intervalo de confianza para la media del 90%, límite inferior de 108,00 células por campo y límite superior de 141,00 células por campo; la mediana fue de 117,00 células por campo, y la desviación típica de 32,000 células por campo.

Tabla 6: Caracterización estadística de la celularidad total de la lámina propia en el SMA. Hospital Pediátrico José Luis Miranda, Santa Clara. Villa Clara. 1999-2007

Variable	Descriptivos	Estadísticos
Celularidad total de la lámina propia	Media	125,00
	Intervalo de confianza para la media al 90%	
	LI	108,00
	LS	141,00
	Mediana	117,00
	Varianza	108,00
	Desv. Tip.	32,000

Legenda: LI: Límite inferior LS: Límite superior

Fuente: Mediciones indirectas realizadas por la autora.

DISCUSIÓN

La altura de las vellosidades intestinales dentro de límites histológicos normales es de 0,5-1 mm, aunque se considera normal una altura de hasta 1,5 mm^{10, 11}. La disminución de esta altura en la presente investigación se debe a que en la mayoría de las entidades que cursan con malabsorción hay pérdida o atrofia de las vellosidades intestinales¹².

Investigadores del Instituto de Ciencias Médicas Sanjay Gandhi de la India realizaron un estudio sobre los diferentes grados de atrofia de las vellosidades en niños con enfermedad celíaca y mostraron los siguientes resultados: atrofia subtotal en el 72 % de las biopsias y atrofia parcial en el 28 % de los mismos, para un 100% de los pacientes con atrofia de las vellosidades¹³.

En otro estudio se observó atrofia severa de las vellosidades en el 76 % de los niños diagnosticados con enfermedad celíaca, en este propio estudio se hace mención a investigaciones internacionales que han comunicado un predominio de atrofia severa de las vellosidades intestinales mediante técnicas histopatológicas, como la biopsia yeyunal, empleadas en el diagnóstico de la enfermedad celíaca⁶.

Los datos que se obtuvieron en investigación hecha en Holguín muestran la atrofia de la mucosa del intestino con ausencia o disminución de la altura de las vellosidades intestinales como una de las principales alteraciones histopatológicas⁴.

Similares resultados refleja esta serie que muestra una disminución significativa de la altura de las vellosidades, lo que se corresponde con lo referido en la literatura sobre los exámenes cualitativos de la mucosa del intestino delgado en el SMA¹⁴. De estos resultados se infiere la posibilidad de utilizar la altura de la vellosidad como parámetro morfométrico importante en el diagnóstico del SMA.

El diámetro de las vellosidades intestinales en estado normal es de 0,1 mm¹⁵; algunos investigadores mencionan que las vellosidades cuando disminuyen de tamaño, se ensanchan y dan lugar a un aumento de su diámetro¹⁶. Es de interés resaltar que los resultados de este estudio son similares a estas observaciones cualitativas, con el aporte cognitivo y tangible de datos morfométricos relativos al aumento del diámetro de la vellosidad en el SMA.

En el SMA se produce un daño de la mucosa con alteración de los mecanismos de reparación que pueden provocar aplanamiento de las vellosidades e hipertrofia de las criptas¹⁴, sin embargo en este estudio se obtuvo como resultado que la profundidad de las criptas se encuentra dentro de los límites normales lo que coincide con una investigación de las biopsias yeyunales con microscopio acoplado a una computadora, realizada en un centro de investigaciones clínicas del Reino Unido donde se encontró que la profundidad de las criptas era mayor de 250 micrómetros⁴.

Cuando la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta son aproximadamente iguales es signo de un daño menor o mediano, sin embargo se reconoce que es posible encontrar atrofia de las vellosidades sin una marcada hiperplasia de las criptas e incluso criptas de tamaño normal¹⁷.

Datos recientes muestran que entre los niños indios en quienes se ha confirmado el diagnóstico de enfermedad celíaca, la clásica presentación de la mucosa del intestino delgado con criptas hiperplásicas estuvo presente solo en un tercio de los niños, mientras que una proporción similar tenía igual profundidad de las criptas que altura de la vellosidad¹⁸.

La celularidad de la lámina propia presenta valores medios altos probablemente por el hecho de que en la mayoría de las entidades que cursan con malabsorción hay trastorno inmunológico de base y sobrecrecimiento bacteriano local, el cual es capaz de desencadenar una respuesta inflamatoria frente a los productos liberados por las bacterias¹⁹.

La celularidad de la lámina propia en la enfermedad celíaca también fue estudiada usando un microscopio acoplado a una computadora y aportaron resultados indicativos de un aumento de su volumen de 2,3 veces por encima de los pacientes del grupo control, con un incremento del número de neutrófilos en veinte veces, y de los plasmocitos en dos veces²⁰, nuestros resultados coinciden con lo hallado por estos investigadores.

En los artículos consultados no se encontró ningún análisis morfométrico en relación con el diámetro de la cripta de Lieberkühn en el SMA; por otra parte entre los datos o información que debe incluir un informe de biopsia del intestino delgado no se menciona este parámetro²¹; sin embargo como las glándulas de Lieberkühn se ven afectadas en estos cuadros, se sugiere que el diámetro total de la cripta sea un parámetro obligado en la descripción anatomopatológica de los cambios estructurales que presenta la mucosa del intestino delgado en estos niños.

CONCLUSIONES

En el síndrome de malabsorción la altura de las vellosidades intestinales tuvo valores medios menores que los referidos para la mucosa del intestino delgado, dentro de límites histológicos normales, mientras que para el diámetro, estos valores fueron mayores.

En las criptas de Lieberkühn, los valores medios de profundidad se encontraron dentro de límites normales.

En la lámina propia de la mucosa el número de células presentó valores medios altos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cueto Rúa E, Nanfito G. Enfermedad celíaca: rápida sospecha, diagnóstico oportuno y casi un modo de ser. Disponible en: <http://www.intramed.net/UserFiles/Files/Malabsorcion.pdf>
2. Sanz Pupo NJ, Ríos Hidalgo N, Seguí Sánchez M, Díaz Rojas PA, Fernández Sarabia PA.. La digitalización de imágenes aplicadas a la anatomía patológica: experiencias en la provincia Holguín. Cuba. Rev Cubana Invest. 2006;25(4). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol25_4_06/ibi01406.htm
3. Arican C, Zihni C, Fakir M, Alkanat M, Aydoqdu S. Morphometric analysis of small-bowel mucosa in Turkish children with celiac disease and relationship with the clinical presentation and laboratory findings. Dig Dis Sci. 2007 Sep;52(9):2133-9. Available from: <http://www.springerlink.com/content/e718742462355kn1/>

4. Slavin G, Sowter LH, Robertson K, McDermonnt S, Paton K. Measurement in jejunal biopsies by computer-aided microscopy. *J Clin Pathol.* 1980 Mar;33(3):254-61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1146049/?tool=pubmed>
5. Ríos Hidalgo N, Seguí Sánchez M, Millán Batista R, Soler Franco J, Vinardel Lorenzo J, Ricardo Feria E. Caracterización morfológica de la biopsia yeyunal. Disponible en: <http://www.conganat.org/7congreso/PDF/451.pdf>
6. Mena Cantero A, Rosquete Menéndez R, Shimbo Yuniór MT, Rodríguez Saloya E. Enfermedad celíaca en edades pediátricas: importancia de su diagnóstico eficaz. *Rev Científ Estud Cienc Méd.* 2006 Abr;224. Disponible en: <http://www.16deabril.sld.cu/rev/224/articulo4.html>
7. Ramírez Escoto M. Sistema digestivo II: tubo digestivo. En: Departamento de biología celular y tisular. La práctica histológica. 2da ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2003. p. 124-9.
8. Bayame Veá HD, Oliva Pérez M, Horsford Sains R, Coutin Marie G, Díaz Llanes G, Hernández Meléndez E, et al. Metodología de la investigación en atención primaria de salud. La Habana: Félix Varela; 2004.
9. Astrarín Rodríguez ME. Análisis estadístico. La Habana: Félix Varela; 2001.
10. Geneser F. Aparato digestivo. En: Histología. 2a ed. Bogotá: Editorial Médica Panamericana; 1997. p. 380-456.
11. Fawcett DW. Intestinos. En: Bloom Fawcett tratado de histología. 12a ed. Nueva York: McGraw-Hill Interamericana; 2002. p. 675-707.
12. García S, Sicilia B, Gomollón García F. Síndrome de malabsorción intestinal. *Medicine.* 2000;8(4):157-67. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es/revistas/medicine-62/sindrome-malabsorcion-intestinal-11385-actualizaciones-enfermedades-aparato-digestivo-2000>
13. Yachha SK, Srivastava A, Mohindra S, Krishnani N, Aggarwal R, Saxena A. Effect of a gluten-free diet on growth and small-bowel histology in children with celiac disease in India. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007 Aug;22(8):1300-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17565588>
14. García García AL, Díaz Martínez J, Pérez Callejas N, Couce Herrera VI, Delgado Quintero MI. Diarrea persistente: revisión bibliográfica. *Rev Medi Ciego.* 2006;12(1). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol12_01_06/revisiones/r4_v12_0106.html
15. Labigne A, Sansonetti P. Análisis de las compilobacterias. *Rev Invest Eur.* 2005 May;45. Disponible en: http://ec.europa.eu/research/rtdinfo/45/article_2498_es.html
16. Semrad LE, Chang EB. Síndromes de malabsorción. En: Goldman L, Bennett JC. Cecil tratado de medicina interna vol.1. 21a ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2002. p. 786-96.
17. Murch SH, Phillips AD. Intestinal biopsy. En: Diagnosis of gastrointestinal disease. Oxford: Isis Medical Media; 2000. p. 413-22.
18. Bhatnagar S, Tandon N. Diagnosis of celiac disease. *Indian J Pediatr.* 2006 Aug;73(8):703-9. Available from: <http://preview.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term>
19. Pacho Saavedra JA, Piñol Jiménez FN. Lesiones bucales relacionadas con las enfermedades digestivas. *Rev Cubana Estomatol.* 2006 Jul-Sep;43(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75072006000300008&script=sci_arttext
20. Dhesi I, Marsh MN, Kelly C, Crowe P. Morphometric analysis of a small intestinal mucosa II: determination of lamina propria volumes, plasma cell and neutrophil populations within control and celiac disease mucosae. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1984;403(2):173-80. Available from: <http://preview.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term>
21. Serra S, Jani PA. An approach to duodenal biopsies. *J Clin Pathol.* 2006 Nov;59(11):1133-50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1860495/?tool=pubmed>