



Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής-Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-Διατροφή»

Μεταπτυχιακή Διατριβή
της **Ευδοκίας Βαλσαμίδου**



**Βιοδείκτες οξειδωτικού στρες σε ασθενείς με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη
Νοσήματα του Εντέρου μετά από διατροφική παρέμβαση**

Αθήνα, 2018

Επιβέπουσα Καθηγήτρια

Ανδριάννα Καλιώρα, Επίκουρη Καθηγήτρια

Τριμελής Επιτροπή

Ανδριάννα Καλιώρα, Επίκουρη Καθηγήτρια

Αντωνία Χίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Νικόλαος Καλογερόπουλος, Καθηγητής

Δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας και Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως την επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου κα. Ανδριάννα Καλιώρα, για τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή της στην εκπόνηση αυτής της εργασίας. Τις θερμότερες ευχαριστίες μου θα ήθελα να δώσω και στις διδακτορικές φοιτήτριες κα. Ευσταθία Παπαδά και κα. Χαραλαμπία Αμερικάνου για την πολύτιμη συμβολή τους. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου για την παροχή των σκευασμάτων, Μαστίχας Χίου και εικονικού φαρμάκου αλλά και για την διασφάλιση της τυφλής διαδικασίας.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	9
ΜΕΡΟΣ Α'	11
[Θεωρητικό μέρος]	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η ΜΑΣΤΙΧΑ ΧΙΟΥ	12
1.1 Το μαστιχόδενδρο	12
1.2 Η παραδοσιακή καλλιέργεια	14
1.2.1 Προκαταρκτικές εργασίες	14
1.2.2 Χωμάτισμα	14
1.2.3 Πρώτο κέντημα	15
1.2.4 Πρώτη συλλογή	15
1.2.5 Δεύτερο κέντημα	16
1.2.6 Δεύτερο τελικό μάζεμα	16
1.3 Η μαστίχα	16
1.3.1 Ιστορικά	17
1.3.2 Διακρίσεις	17
1.3.3 Σύσταση	18
1.4 Ιδιότητες και οφέλη	18
1.4.1 Αντιβακτηριδιακές ιδιότητες	19
1.4.2 Αντιφλεγμονώδης και αντιοξειδωτική δράση	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΙΔΙΟΠΑΘΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ (ΙΦΝΕ)	23
2.1 Γενικά για τις ΙΦΝΕ	23
2.1.1 Ορισμός	24
2.1.2 Επιδημιολογία	24
2.1.3 Συμπτωματολογία	25
2.1.4 Διάγνωση, καθορισμός βαρύτητας και παρακολούθηση της πορείας των ΙΦΝΕ	25
2.2 Παθογένεια των ΙΦΝΕ	28
2.2.1 Οξειδωτικό στρες και Βιοδείκτες	28
2.2.2 Περιβαλλοντική πρόκληση	32
2.2.3 Εντερικός μικροβιόκοσμος	34
2.2.4 Ανοσολογικοί παράγοντες	35
2.2.5 Κληρονομική προδιάθεση	38
2.3 Διαχείριση των ΙΦΝΕ	40

2.3.1 Φαρμακευτική αγωγή	40
2.3.2 Διαιτητική διαχείριση.....	42
ΜΕΡΟΣ Β'	47
[Πειραματικό μέρος]	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	48
3.1 Σκοπός μελέτης	48
3.2 Στάδια μελέτης	48
3.2.1 Στρατολόγηση ασθενών	48
3.2.2 Σχεδιασμός μελέτης	49
3.2.3 Στάδιο παρέμβασης	51
3.3 Εργαστηριακές αναλύσεις.....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	53
4.1 Ποσοτικός προσδιορισμός οξειδωμένης LDL (oxLDL ELISA)	53
4.1.1 Αρχή μεθόδου	53
4.1.2 Αντιδραστήρια – Όργανα	54
4.1.3 Πειραματική πορεία.....	54
4.2 Οξείδωση ορού (total serum oxidizability)	55
4.2.1 Αρχή μεθόδου	55
4.2.2 Αντιδραστήρια – Όργανα	56
4.2.3 Πειραματική πορεία.....	56
4.3 Μέτρηση ουρικού οξέος στον ορό (uricase/PAP)	56
4.3.1 Αρχή μεθόδου	56
4.3.2 Αντιδραστήρια – Όργανα	57
4.3.3 Πειραματική πορεία.....	57
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	65
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	79

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο γαστροεντερικός βλεννογόνος εκτίθεται διαρκώς σε αντιγόνα τόσο τροφίμων όσο και βακτηρίων από το ιδιαιτέρως πλούσιο και διαφοροποιημένο υπάρχων μικροβίωμα. Παρόλα αυτά, ο αυλός του εντέρου μπορεί να αποτελεί και πύλη εισόδου για παθογόνους μικροοργανισμούς. Διαταραχή της ευαίσθητης ισορροπίας που διατηρεί το εντερικό ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να οδηγήσει σε παρεκκλίνουσες φλεγμονώδεις απαντήσεις, οδηγώντας σε χρόνιες παθήσεις όπως τα ιδιοπαθή φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου (ΙΦΝΕ). Οι δύο κατηγορίες που συνιστούν τα ΙΦΝΕ είναι η νόσος του Crohn (vC) και η ελκώδης κολίτιδα (ΕΚ) και έχουν αλληλεπικαλυπτόμενα και διακριτά κλινικά και παθολογικά χαρακτηριστικά. Τα ΙΦΝΕ χαρακτηρίζονται από εναλλαγή μεταξύ των φάσεων της κλινικής έξαρσης και ύφεσης και έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για εντερικούς καρκίνους. Η αιτιολογία της νόσου παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστη, παρόλα αυτά πλειάδα δεδομένων υποδεικνύουν ότι οι μοριακοί μηχανισμοί του οξειδωτικού στρες (ΟΣ) σχετίζονται με την γενετική προδιάθεση και την ανοσολογική απόκριση του βλεννογόνου και συμβάλουν στην ανάπτυξη των ΙΦΝΕ μέσω ποικίλων μοριακών μηχανισμών. Ο πολύπλευρος χαρακτήρας της νόσου, όμως, δεν αυξάνει μόνο την πολυπλοκότητα της παθογένειας αλλά προσφέρει και μεγάλο εύρος στις παρεμβάσεις για βελτίωση του αποτελέσματος σε αυτούς τους ασθενείς. Στόχος της θεραπευτικής διαχείρισης στα ΙΦΝΕ είναι η επίτευξη και διατήρηση της ύφεσης καθώς και η πρόληψη εξέλιξης της ασθένειας ενώ αποτελεί μία ακριβή και περίπλοκη διαδικασία με τους ασθενείς συνήθως να απαιτούν διεπιστημονική φροντίδα, βιολογικές θεραπείες, νοσηλεία και χειρουργεία. Η αυξημένη συχνότητα υποτροπών, η εμφάνιση σοβαρών παρενεργειών και οι δυσκολίες στη συμμόρφωση των ασθενών με τη συμβατική αγωγή, έχουν οδηγήσει στη μελέτη φυσικών προϊόντων με αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Η μαστίχα της Χίου είναι η φυσική, αρωματική ρητινώδης έκκριση του μαστιχόδενδρου (*Pistacia Lentiscus* var. *Chia*). Στη μοναδική αυτή ρητίνη απαντάται μια εξαιρετική ποικιλία από θεραπευτικά και αρωματικά συστατικά όπως φυσικό πολυμερές, τερπενικά οξέα, φυτοστερόλες, πολυφαινολικά μόρια προσδίδοντάς της *in vivo* και *in vitro* αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές/καρδιοπροστατευτικές, χημειοπροστατευτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η διερεύνηση της επίδρασης ημερήσιας πρόσληψης 2.8g συμπληρώματος Μαστίχας Χίου (MX), έναντι εικονικού φαρμάκου, στην κλινική πορεία της vC και της ΕΚ, σε 46 ενήλικες ασθενείς με ενεργή νόσο για τρεις μήνες. Όλοι οι ασθενείς διατηρούσαν τη συμβατική τους φαρμακευτική αγωγή κατά τη διάρκεια της μελέτης. Η κλινική πορεία αξιολογήθηκε με βάση δείκτες ΟΣ σε δείγμα αίματος. Πιο συγκεκριμένα, μετρήθηκαν η οξείδωση του ορού (total serum lag time), η οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας

(oxLDL) και το ουρικό οξύ (uric acid) ενώ υπολογίστηκαν και οι λόγοι oxLDL/HDL και oxLDL/LDL.

Δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας που λάμβανε εικονικό φάρμακο και της ομάδας που λάμβανε MX στο σύνολο των ασθενών με ΙΦΝΕ, αναφορικά με το φύλο, την ηλικία, την οικογενειακή κατάσταση, την εκπαίδευση, το κάπνισμα, το BMI, την ηλικία των πρώτων συμπτωμάτων, την ηλικία της διάγνωσης και την διάρκεια της ασθένειας. Εξαίρεση αποτελεί το σύνολο των ασθενών με νC όπου και παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.04$) μεταξύ των δύο ομάδων αναφορικά με την ηλικία. Η ολική οξειδωσιμότητα του ορού (total serum lagtime) και το ουρικό οξύ (uric acid) δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά. Αντίθετα, ο δείκτης της oxLDL καθώς και οι προερχόμενοι από αυτόν λόγοι εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Πιο συγκεκριμένα, και οι τρεις δείκτες (oxLDL, oxLDL/HDL, oxLDL/LDL) μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα που λάμβανε MX ($p^1=0.031$, $p^1=0.020$, $p^1=0.005$ αντίστοιχα). Ο βαθμός μεταβολής των δεικτών oxLDL/HDL και oxLDL/LDL μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της παρέμβασης διέφερε στατιστικά σημαντικά ($p^2=0.044$, $p^2=0.015$ αντίστοιχα). Και τέλος η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στην αρχή της παρέμβασης για τους δείκτες oxLDL και oxLDL/HDL ήταν στατιστικά σημαντική ($p^3=0.022$, $p^3=0.028$ αντίστοιχα).

Συμπερασματικά, καθώς οι λόγοι της oxLDL/HDL και της oxLDL/LDL έχουν συσχετιστεί με την αθηροσκλήρωση από τη μία, και από την άλλη οι ασθενείς με ΙΦΝΕ έχουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, η μείωσή τους μέσω της ημερήσιας πρόσληψη MX, της φυσικής αυτής ρητίνης που χαρακτηρίζεται από αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, αποτελεί εύρημα ιδιαίτερης σημασίας. Ωστόσο, το αποτελέσματα αυτό είναι πρώιμο και μέρος μιας μεγαλύτερης κλινικής δοκιμής χορήγησης του φυσικού συμπληρώματος MX σε ασθενείς με ΙΦΝΕ, η οποία αναμένεται να καταλήξει σε ασφαλέστερα συμπεράσματα.

ABSTRACT

The gastrointestinal mucosa is constantly exposed to antigens from food and bacteria, coming from the particularly rich and differentiated existing microbe. However, the bowel can also be an entry gate for pathogenic microorganisms. Disturbance of the delicate balance of the intestinal immune system can lead to deviant inflammatory responses, leading to chronic conditions such as idiopathic inflammatory bowel diseases (IBD). The two categories that constitute IBD are crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) and have overlapping and distinct clinical and pathological characteristics. IBD are characterized by alternation between phases of clinical exacerbation and recession and have been associated with an increased risk for intestinal cancers. The etiology of the disease remains largely unknown; however, a large number of data suggest that molecular mechanisms of oxidative stress (OS) are related to the genetic predisposition and mucosal immune response and contribute to the development of IBD through a variety of molecular mechanisms. The multifaceted nature of the disease does not only increase the complexity of the pathogenesis but also offers a wide range of interventions to improve the outcome in these patients. The goal of the therapeutic management in IBD is to achieve and maintain recession as well as to prevent disease progression while being an expensive and complicated process with patients usually requiring interdisciplinary care, biological treatments, hospitalization and surgery. The increased incidence of recurrences, the occurrence of serious side effects and the difficulties in conforming patients to conventional treatment have led to the study of natural products with antioxidant and anti-inflammatory effects. Chios Mastic gum is the natural, aromatic resinous secretion of the mastic tree (*Pistacia Lentiscus* var. *Chia*). A unique variety of therapeutic and aromatic ingredients such as natural polymer, terpenic acids, phytosterols and polyphenolic molecules are responsible for the *in vitro* and *in vitro* anti-inflammatory, antioxidant / cardioprotective, chemoprotective and antimicrobial properties that are found in this resin.

The aim of the present study was to investigate the effect of a daily intake of 2.8g of Chios Mastic gum versus placebo in the clinical course of CD and UC in 46 adult patients with active disease for three months. All patients maintained their conventional medication during the study. The clinical course was evaluated through biomarkers of OS in blood samples; total serum lag time, oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and uric acid were measured, and also the ratios of oxLDL/HDL and oxLDL/LDL were calculated.

There were no significant differences between the placebo and the verum group in terms of gender, age, marital status, education, smoking, BMI, age of the first symptoms, the age of diagnosis and the duration of the illness. However, there was a significant difference ($p = 0.04$) between the two groups with CD regarding the age. Total serum lag time and uric acid did not show any

significant differences. On the contrary, the markers of oxLDL, oxLDL/HDL and oxLDL/LDL were significantly reduced before and after intervention in the verum group ($p_1 = 0.031$, $p_1 = 0.020$, $p_1 = 0.005$, respectively). Moreover, the degree of change of the oxLDL/HDL and oxLDL/LDL indices between the two groups at the end of the intervention was also significant ($p_2 = 0.044$, $p_2 = 0.015$, respectively). Finally, the difference between the two groups at the beginning of the intervention for the oxLDL and oxLDL/HDL markers was significant ($p_3 = 0.022$, $p_3 = 0.028$, respectively).

In conclusion, as the ratios of oxLDL/HDL and oxLDL/LDL have been associated with atherosclerosis and patients with IBD have an increased cardiovascular risk, their decrease through the daily intake of Chios Mastic gum, this natural resin characterized by antioxidant and anti-inflammatory properties, is a finding of particular importance. Nevertheless, inclusion and analysis of a greater number of patients are needed to come to saver conclusions.

ΜΕΡΟΣ Α΄

[Θεωρητικό μέρος]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η ΜΑΣΤΙΧΑ ΧΙΟΥ

1.1 Το μαστιχόδενδρο

Το μαστιχόδενδρο ή σχίνος – επιστημονικά *Pistacia Lentiscus* var. *Chia* (οικογένεια *Anacardaceae*), είναι θάμνος αειθαλής ύψους 2-3 μέτρων. Η αργή ανάπτυξή του ολοκληρώνεται μετά από 40-50 χρόνια φτάνοντας μέχρι και τα 5 μέτρα στα ηλικιωμένα φυτά (www.gummastic.com). Έχει φύλλα σκληρά με ελλειπτικό σχήμα και μικρό μέγεθος, κόκκινα λουλούδια σε βότρες και κοκκινόμαυρους καρπούς (www.sodisbrands.com).

Ζει πάνω από 100 χρόνια και η παραγωγή της μαστίχας δεν είναι δυνατή παρά μόνο μετά τον πέμπτο ή έκτο χρόνο φύτευσης του ενώ η απόδοσή του φτάνει στο μέγιστο μετά τον δέκατο πέμπτο χρόνο και πέφτει σημαντικά μετά από 70 χρόνια. Η μέση ετήσια απόδοση ανά δένδρο είναι 150-180 γραμμάρια μαστίχας ενώ υπάρχουν και σπάνιες περιπτώσεις δένδρων που παράγουν μέχρι και δύο κιλά αλλά και δένδρα που βγάζουν μόνο 10 γραμμάρια. Καλλιεργούνται κυρίως οι αρσενικοί, επειδή είναι πιο παραγωγικοί. Στην αποδοτικότητα σημαντικό ρόλο παίζουν οι καλλιεργητικές φροντίδες και το έδαφος.

Ο σχίνος είναι φυτό ανθεκτικό και έχει ελάχιστες απαιτήσεις, γι' αυτό ευδοκimeί σε άγονα, πετρώδη και φτωχά εδάφη. Οι εδαφικές απαιτήσεις του δέντρου σε υγρασία δεν είναι μεγάλες, και με το εκτεταμένο επιφανειακό ριζικό του σύστημα εκμεταλλεύεται πλήρως τις μικρής διάρκειας βροχές καθώς και την ελάχιστη πρωινή υγρασία. Η επιφάνεια του κορμού του έχει ακανόνιστες πλάκες, σαν ρυτίδες, όπως το πεύκο. Σε εδάφη με μεγάλη υγρασία δυσχεραίνεται η ανάπτυξή του, επειδή εμποδίζεται ο αερισμός των ριζών του. Αντιθέτως, είναι ευάλωτο στο ψύχος, σε περιπτώσεις παγετών (φαινόμενο σπάνιο στη νότια Χίο) οπότε τα μαστιχόδενδρα καίγονται αφού η παγωνιά σκάει τις φλέβες του κορμού τους. Επιπλέον, η κακότεχνη εκμετάλλευσή του μπορεί να στερέψει την πολύτιμη ρητίνη από τον εξωτερικό φλοιό του. Νέες φυτείες προέρχονται από κλαδιά παλιών δένδρων (μοσχεύματα) και οι παλιές ανανεώνονται με καταβολάδες ή παραφυάδες. Κόβουν μόσχευμα από φυτό αποδεδειγμένα καλό και το τοποθετούν στο χώμα, αφήνοντας έξω μόνο μερικά φύλλα στην κορυφή. Αν τα μοσχεύματα «πιάσουν», μετά δεν χρειάζονται πλέον ιδιαίτερες καλλιεργητικές φροντίδες (www.gummastic.gr).

Το αξιοπρόσεκτο είναι, ότι ενώ σχίνοι υπάρχουν σε όλο το νησί, η παραγωγή της μαστίχας γίνεται μόνο στο νότιο τμήμα της Χίου, όπου το κλίμα είναι ιδιαίτερα θερμό και ξηρό. Κάθε προσπάθεια να επεκταθεί η καλλιέργεια πέρα από αυτό το όριο απέτυχε.

Το γεγονός ότι το μαστιχόδενδρο δεν αναπτύσσεται επιτυχώς πουθενά αλλού στην ηπειρωτική ή νησιωτική Ελλάδα, ακόμη και στις γειτονικές ακτές της Ανατολής δημιουργεί έκπληξη. Αναφέρονται μόνο κάποιες αποτυχημένες προσπάθειες (Heldreich 1862) να μεταφερθεί η

καλλιέργεια του μαστιχόδεντρου στην Αττική και σε άλλα νησιά του Αιγαίου. Κάποια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στην Αμοργό και την Αντίπαρο όμως και σ' αυτές τις περιοχές οι προσπάθειες απέτυχαν και εγκαταλείφθηκαν. Άλλες προσπάθειες που αναφέρονται από τον Pernot (1856) για να μεταφερθεί το μαστιχόδενδρο στη Ρόδο και τη Λέσβο απέτυχαν παρομοίως.

Η «μοναδικότητα» αυτή πιθανόν να οφείλεται σε τρεις παράγοντες:

- ❖ Ο πρώτος είναι το ιδιαίτερο μικροκλίμα της περιοχής. Η Χίος έχει μακρόστενο σχήμα, με ψηλά, δασωμένα βουνά στο βόρειο τμήμα, που συγκρατούν την υγρασία και εξασθενούν τους βοριάδες. Έτσι, το νότιο, λοφώδες κομμάτι αποκτά ένα ιδιαίτερο κλίμα, ήπιο το χειμώνα και πολύ ξηρό το καλοκαίρι. Συμβαίνει συχνά να βρέχει σε όλο το νησί, εκτός από εκεί. Τα ξηρά, ζεστά καλοκαίρια των Μαστιχοχωρίων επιτρέπουν στη μαστίχα να στεγνώσει. Αν η μαστίχα βραχεί πριν «ωριμάσει», καταστρέφεται.
- ❖ Ο δεύτερος είναι ο ευγονισμός. Από τα αρχαία χρόνια οι καλλιεργητές των σχίνων της Χίου εντόπιζαν τα δένδρα που απέδιδαν περισσότερη και καλύτερη ρητίνη. Τα εκμεταλλεύονταν και τα πολλαπλασίαζαν, ώστε να δημιουργούν νέες φυτείες σχίνων με τα χαρακτηριστικά των μητρικών. Με το πέρασμα των αιώνων, ο μεθοδικός αυτός ευγονισμός δημιούργησε ένα νέο είδος σχίνου, υπερπαραγωγικού σε μαστίχα. Η σύγχρονη βοτανολογία το έχει αναγνωρίσει ως ξεχωριστή ποικιλία, με το όνομα *Pistacia lentiscus* var. *Chia* (μαστιχόδενδρο).
- ❖ Ο τρίτος είναι η καλή διαχείριση της ήδη από τους αρχαίους Χίους, που συστηματοποίησαν την καλλιέργεια των σχίνων, τυποποίησαν το προϊόν και το επέβαλαν στην αγορά.



Εικόνα 1: Το μαστιχόδενδρο, *Pistacia lentiscus* var. *Chia*

1.2 Η παραδοσιακή καλλιέργεια

1.2.1 Προκαταρκτικές εργασίες

Το Δεκέμβριο ξεκινά η λίπανση των σχίνων που συμπληρώνει τη φυσική λίπανση από τα ξερά φύλλα του ίδιου του δέντρου. Στα μέσα του Γενάρη και κατά τη διάρκεια όλου του Φλεβάρη κλαδεύονται τα χαμηλά κλαδιά ώστε ο θάμνος να πάρει συγκεκριμένο σχήμα και να σχηματιστούν δίοδοι για τη διέλευση του αέρα και του φωτός που θα επιτρέψουν στη συνέχεια το στέγνωμα της ρητίνης. Το κλάδεμα διευκολύνει και τις εργασίες που θα ακολουθήσουν δηλαδή «το τραπέζι», το κέντημα και το μάζεμα. Τον Μάρτιο και Απρίλιο γίνεται το σκάψιμο του εδάφους για την ανανέωση του και την απομάκρυνση τυχόν ζιζανίων. Η διαδικασία της αρχικής περιποίησης των μαστιχόδενδρων ολοκληρώνεται την Άνοιξη.

Πριν από το κέντημα και τη συλλογή της μαστίχας, το έδαφος γύρω από το βλαστό θα πρέπει να ελευθερωθεί από τα άλλα φυτά. Έτσι, από τα μέσα Ιουνίου μέχρι τις αρχές Ιουλίου γίνεται το καθάρισμα και ακολουθεί η ισοπέδωση του εδάφους, ώστε οι σταγόνες μαστίχας που τυχόν θα πέσουν στο έδαφος να είναι εύκολο να συλλεχθούν. Η εργασία του καθαρίσματος γίνεται σε «κυκλική» περιοχή (κατασκευή τραπεζιών). Το έδαφος καθαρίζεται από τα χόρτα, τις πέτρες, τους βώλους και τα ξύλα με ένα ειδικό εργαλείο την «άμια» (στα αρχαία «άμη» από το ομηρικό ρήμα αμάω: θερίζω, κόπτω, συλλέγω), φτυάρια και μυστριά. Ακολουθεί το σκούπισμα του ξυσμένου εδάφους με κοινή σκούπα ή με αυτοσχέδια, κατασκευασμένη από κλαδιά αστυφίδας ή από εχινόποδια (www.gummastic.gr).

1.2.2 Χωμάτισμα



Εικόνα 2: Χωμάτισμα εδάφους με ασπρόχωμα

Στη συνέχεια το έδαφος καλύπτεται με ασπρόχωμα καλά κοσκινισμένο, που στρώνεται και πιέζεται στο έδαφος για να δημιουργηθεί λεία επιφάνεια. Οι σταγόνες της μαστίχας πάνω στο ασπρόχωμα αποκτούν λαμπρότητα, στερεοποιούνται και μαζεύονται ευκολότερα. Το ασπρόχωμα αποτελούμενο από ανθρακικό ασβέστιο (CaCO_3) είναι αδρανές υλικό και δεν επηρεάζει τις φυσικές και χημικές ιδιότητες της αλλά ούτε και την καθαρότητα της. Γενικά, όσο πιο σχολαστικά γίνει το «τραπέζι», τόσο καθαρότερη θα είναι η μαστίχα που θα μαζευτεί.

1.2.3 Πρώτο κέντημα



Εικόνα 3: Κέντημα του κορμού του μαστιχόδενδρου

Το κέντημα, όπως λένε το χάραγμα των σχίνων, είναι η πιο σημαντική φάση στη διαδικασία παραγωγής της μαστίχας. Ξεκινάει τον Ιούλιο και συνεχίζεται μέχρι τον Αύγουστο.

Με ένα μικρό αιχμηρό και αυλακωτό στην άκρη σιδερένιο εργαλείο, «το κεντητήρι», χαράζουν τον κορμό και τα μεγάλα κλαδιά του δέντρου, αρχίζοντας από χαμηλά στον κορμό και συνεχίζοντας προς τα κλαδιά. Οι τομές έχουν μήκος 10-15 χιλιοστά και βάθος 4-5 χιλιοστά. Ο αριθμός των τομών είναι ανάλογος με το μέγεθος και την ηλικία του δέντρου, αρχίζει από 10 με 20 και φθάνει στις 100 κεντιές σε όλη την περίοδο του κεντήματος. Το κέντημα γίνεται δύο φορές την εβδομάδα και διαρκεί 5 με 6 εβδομάδες. Οι κάθετες τομές

προτιμώνται γιατί επουλώνονται ευκολότερα. Το κέντημα γίνεται νωρίς το πρωί. Η μαστίχα, το ρετσίνι του σχίνου, βγαίνει από το φλοιό, όχι από την «ψίχα» του δένδρου. Γι' αυτό οι τομές πρέπει να γίνονται προσεκτικά, ώστε να μην πληγώνεται άσκοπα το δέντρο.

1.2.4 Πρώτη συλλογή



Εικόνα 4: Συλλογή μαστίχας με τα χέρια

Η πρώτη συλλογή γίνεται μετά τις 15 Αυγούστου. Η μαστίχα αρχίζει να στερεοποιείται σε 15-20 μέρες μετά από το κέντημα, ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες. Όταν η μαστίχα σταθεροποιηθεί αρχίζει το μάζεμα, τις πρώτες πρωινές ώρες, με ένα ειδικό εργαλείο που λέγεται «τιμητήρι». Πρώτα συλλέγεται η χοντρή μαστίχα, «η πίτα» όπως ονομάζεται, από το «τραπέζι» και με το ίδιο εργαλείο συλλέγεται και η μαστίχα που έχει πήξει στον κορμό του δέντρου, τα λεγόμενα «δάκρυα», και αυτή που κρέμεται από τα κλαδιά (φλισκάρια). Η υπόλοιπη μαστίχα μαζεύεται με «σκούπες» ή με τα χέρια.

1.2.5 Δεύτερο κέντημα

Μετά το πρώτο κέντημα (ρήνιασμα) ακολουθεί και ένας δεύτερος κύκλος χαράγματος για 5-6 εβδομάδες όπου ακολουθούνται οι ίδιες εργασίες με αυτές του πρώτου κεντήματος. Η διαδικασία αυτή κρατά μέχρι την τελευταία συλλογή του φθινοπώρου. Κάθε δέντρο πρέπει να κεντηθεί περίπου 10 με 12 φορές.

1.2.6 Δεύτερο τελικό μάζεμα

Το δεύτερο μάζεμα γίνεται μετά τις 15 Σεπτεμβρίου οπότε και συλλέγονται όλα τα δάκρυα από τον κορμό του μαστιχόδενδρου και από το έδαφος. Κατά το δεύτερο μάζεμα συλλέγονται από το «τραπέζι» οι χοντρές σταγόνες μαστίχας και την υπόλοιπη μαστίχα την σκουπίζουν και την βάζουν σε τσουβάλια. Τελευταίες μαζεύουν τις σταγόνες που έχουν μείνει στα κλαδιά και τον κορμό του δένδρου. Η συγκομιδή μεταφέρεται στη συνέχεια σε δροσερές αποθήκες ώστε να μην τη ζεστάνει ο ήλιος και τη λιώσει. Το δεύτερο μάζεμα γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε να συλλεχθούν ακόμα και τα πιο μικρά κομμάτια μαστίχας. Χαρακτηριστικό εξάλλου είναι ότι σκουπίζουν το έδαφος (www.gummastic.gr).

1.3 Η μαστίχα

Η μαστίχα της Χίου είναι η ρητινώδης έκκριση του μαστιχόδενδρου (*Pistacia Lentiscus* var. *Chia*). Πρόκειται για φυσική, αρωματική ρητίνη που εκκρίνεται από τον κορμό και τα μεγάλα κλαδιά του μαστιχόδενδρου, μέσω επιφανειακών τομών που προκαλούνται με αιχμηρά εργαλεία. Η μαστίχα εμφανίζεται σαν δάκρυ στα χαραγμένα σημεία και ρέει κατά σταγόνες στο χώμα. Κατά την έκκρισή της έχει τη μορφή κολλώδους και διαυγούς υγρού και στερεοποιείται σε ακανόνιστα σχήματα μετά την πάροδο 15-20 ημερών, υπό την επίδραση των καιρικών συνθηκών που επικρατούν στην περιοχή κατά την καλοκαιρινή περίοδο - έντονη ξηρασία και ηλιοφάνεια. Η μορφή της, αφού στερεοποιηθεί, είναι κρυσταλλική και η αρχική της γεύση είναι μάλλον πικρή, για να φύγει σταδιακά, αφήνοντας ένα ιδιαίτερο άρωμα που της προσδίδει μοναδικότητα. Το στερεοποιημένο προϊόν συλλέγεται, διαχωρίζεται σε κατηγορίες ανάλογα με το μέγεθος του κόκκου και στη συνέχεια καθαρίζεται από τους μαστιχοπαραγωγούς.

Ο βαθμός σκληρότητας της μαστίχας εξαρτάται από τη θερμοκρασία της ατμόσφαιρας, το χρόνο έκθεσής της στην φύση, καθώς και το μέγεθος που έχει. Όταν η ροή της μαστίχας είναι συνεχής, το δάκρυ είναι μεγάλο και σχετικά μαλακό, ενώ η μη συνεχής ροή, αποδίδει μικρό δάκρυ μεγαλύτερης σκληρότητας. Το χρώμα της ρητίνης είναι αρχικά διαυγές - υποκίτρινο. Με το πέρασμα του χρόνου

και την έκθεση στο φως χάνει το χρώμα αυτό και σε 12 με 18 μήνες γίνεται κιτρινωπή λόγω της οξειδωσης.

1.3.1 Ιστορικά

Η μαστίχα της Χίου (MX) αναγνωρίστηκε από τα αρχαία χρόνια, τόσο για το ιδιαίτερο άρωμα της, όσο και για τις θεραπευτικές της ιδιότητες. Έχει καταγραφεί ως η πρώτη φυσική τσίκλα του αρχαίου κόσμου, που χρησιμοποιούνταν για τον καθαρισμό των δοντιών και τη φρεσκάδα της αναπνοής. Οι παλαιότερες αναφορές στην μαστίχα τοποθετούνται στον Ηρόδοτο τον 5^ο αιώνα π.Χ. ο οποίος αναφέρει ειδικά πως οι Έλληνες μασούσαν το αποξηραμένο ρητινώδες υγρό που παράγεται από τον φλοιό του μαστιχόδενδρου ενώ χρησιμοποιούνταν τόσο από τους αρχαίους Αιγύπτιους για την ταρίχευση των νεκρών όσο και από τους Ρωμαίους. Αναφορές σχετικά με τη μαστίχα αλλά και τις ευεργετικές ιδιότητές της γίνονται και στα κείμενα του Θεόφραστου, Γαληνού, Διοσκουρίδη και Ιπποκράτη (www.sodisbrands.com).

Την χρησιμοποιούσαν ακόμη στην κοσμετολογία για καθαρισμό του προσώπου και του σώματος. Συμμετείχε ως δραστικό συστατικό σε μια σειρά από φαρμακευτικές συνταγές και γιατροσόφια, που έχουν κατά καιρούς καταγραφεί στις διεθνείς φαρμακοποιίες. Έχει επίσης καταγραφεί στη διάρκεια των αιώνων, λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων της στην υγεία του ανθρώπου και η συμβολή της στην ανακούφιση από διάφορες ασθένειες. Η συνεισφορά εξάλλου της χιώτικης μαστίχας στην πρόληψη και θεραπεία ασθενειών του πεπτικού συστήματος ήταν αναγνωρισμένη από τα αρχαία χρόνια.

Η MX έχει παίξει σημαντικό ρόλο στην οικονομία της Χίου κατά την διάρκεια πολλών περιόδων της Ελληνικής ιστορίας. Έτσι τα προϊόντα που προέρχονται από τη MX θεωρούνται εθνικής σημαντικότητας και αποτελούν στόχους για την ανακάλυψη καινοτόμων φαρμακευτικών παραγόντων για την θεραπεία πολλών και διαφορετικών ασθενειών των ανθρώπων και των ζώων.

1.3.2 Διακρίσεις

Η MX από το 1997, έχει χαρακτηριστεί ως προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π.), βάσει του υπ' αριθμ. 123/1997 Κανονισμού (L0224/24-1-97) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και έχει καταχωρηθεί στον σχετικό Κοινοτικό Κατάλογο των Προϊόντων Π.Ο.Π.

Πρόσφατα μάλιστα αναγνωρίστηκε επίσημα ως φυσικό φάρμακο. Στη συνεδρίαση της Επιτροπής για τα Φυτικά Φαρμακευτικά Προϊόντα (HPMC) του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων (EMA), που πραγματοποιήθηκε στο Λονδίνο έγινε αποδεκτή στην κατηγορία των παραδοσιακών φαρμάκων φυτικής προέλευσης, η φαρμακευτική «μονογραφία» της Μαστίχας Χίου, με δύο θεραπευτικές ενδείξεις:

- ❖ Δυσπεπτικά προβλήματα

❖ Δερματικές φλεγμονές και επούλωση δερματικών πληγών

Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας έγκρισης, η Μαστίχα Χίου αναγνωρίζεται ως φαρμακευτικό προϊόν εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης καθώς και σε χώρες εκτός αυτής που ακολουθούν τις ευρωπαϊκές φαρμακευτικές «μονογραφίες». Αποτέλεσμα της καταχώρησης είναι η δυνατότητα κυκλοφορίας σκευασμάτων μαστίχας σε όλη την Ευρώπη ακολουθώντας κανόνες υγείας εγκεκριμένους από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) (www.sodisbrands.com).

1.3.3 Σύσταση

Η ακριβής σύσταση της MX δεν είναι ακόμη γνωστή. Στη μοναδική αυτή ρητίνη απαντάται μια εξαιρετική ποικιλία από θεραπευτικά και αρωματικά συστατικά όπως φυσικό πολυμερές, τερπενικά οξέα, φυτοστερόλες, πολυφαινόλικά μόρια και ένας μεγάλος αριθμός από άλλα δραστικά συστατικά, μερικά από τα οποία απαντώνται στην φύση για πρώτη φορά. Ο μοναδικός αυτός συνδυασμός των 80 και πλέον συστατικών είναι η αιτία του μεγάλου ερευνητικού ενδιαφέροντος που έχει προσελκύσει η MX σε παγκόσμιο επίπεδο.

Η MX είναι αδιάλυτη στο νερό αλλά μερικώς διαλυτή σε διάφορους οργανικούς διαλύτες, συμπεριλαμβανομένων της μεθανόλης, του διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO), της ακετόνης και του χλωροφόρμιου. Η ανάλυση της, καθώς και του ελαίου της, στα επιμέρους συστατικά τους είναι δυνατή μέσω υγρής ή αέριας χρωματογραφίας ενώ η ταυτοποίησή τους μέσω πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance, NMR), φασματομετρίας μάζας (Mass Spectrometry, MS) καθώς και σύγκρισης με τη βιβλιογραφία (Paraschos και συν., 2007).

Πιο συγκεκριμένα, τα κύρια κλάσματα της MX είναι το αδιάλυτο φυσικό πολυμερές (25%), που περιορίζει τη βιοδιαθεσιμότητα των περιεχόμενων ενεργών συστατικών, και ένα τριτερπενικό κλάσμα (67%) το οποίο κατηγοριοποιείται περαιτέρω στο όξινο, το οποίο φαίνεται να κατέχει τη μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δραστηριότητα, (39%) και στο ουδέτερο κλάσμα (28%) (Assimopoulou και συν., 2005, Paraschos και συν., 2007). Τα κύρια διαλυτά στην αιθανόλη συστατικά της MX, που καθορίστηκαν μέσω της μεθόδου αέριας χρωματογραφίας-φασματοφωτομετρίας μαζών (GS-MC), σε μελέτη των Koutsoudaki και συν., 2005 είναι τα α-πινένιο (40%), β-πινένιο (1.5%), β-μυρσίνιο (9%), λιμονένιο (1.0%) και το β-καρυοφυλλένιο (5%).

1.4 Ιδιότητες και οφέλη

Η φυσική MX διαθέτει μοναδικές ευεργετικές και θεραπευτικές ιδιότητες, επιβεβαιώνοντας με αυτό τον τρόπο τα όσα ιστορικά έχουν καταγραφεί.

Συγκεκριμένα, έχει τεκμηριωθεί επιστημονικά η ευεργετική δράση της μαστίχας κατά των παθήσεων του πεπτικού συστήματος, η συμβολή της στη στοματική υγιεινή, η σημαντική

αντιμικροβιακή και αντιφλεγμονώδης δράση της και το γεγονός ότι αποτελεί φυσικό αντιοξειδωτικό. Παράλληλα, η MX συμβάλει στην επούλωση τραυμάτων και στην ανάπλαση της επιδερμίδας ενώ νεότερα επιστημονικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι μπορεί να διαθέτει και σημαντικές μεταβολικές δράσεις κυρίως υπολιπιδαιμικές και αντιδιαβητικές, οι οποίες αποτελούν ήδη αντικείμενο περεταίρω έρευνας. Σειρά μελετών έχει αποδώσει στη MX και αντικαρκινική δράση.

1.4.1 Αντιβακτηριδιακές ιδιότητες

Η MX και το έλαιό της επιδρούν σε βακτήρια τα οποία αποτελούν τους αιτιολογικούς παράγοντες πλειάδας ασθενειών μεταξύ αυτών και το έλκος. Η ευεργετική δράση της (MX) συνίσταται στο γεγονός ότι εξολοθρεύει το ελικοβακτήριο του πυλωρού, το οποίο αντιπροσωπεύει τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα των παθήσεων της γαστρίτιδας, του γαστρικού και του δωδεκαδακτυλικού έλκους και μπορεί να προκαλέσει γαστρικό καρκίνο και λέμφωμα συσχετιζόμενο με το βλεννογόνο του λεμφικού ιστού των β-κυττάρων (Aebischer και συν., 2010).

Στην δεκαετία του '80, αναφέρθηκε πρώτη φορά ότι η MX ήταν ένας πιθανός παράγοντας για τη θεραπεία του έλκους δωδεκαδάκτυλου στους ανθρώπους. Μια διπλά τυφλή κλινική δοκιμή, των Al-Habbal και συν., 1984 διεκπερεύθηκε σε 38 ασθενείς συμπτωματικούς και με ενδοσκοπικά αποδεδειγμένο έλκος δωδεκαδάκτυλου με σκοπό την διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της MX. Οι εθελοντές χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες: σε αυτούς που λάμβαναν MX (1g ημερησίως, 20 ασθενείς) και σε αυτούς που κατανάλωναν εικονικό φάρμακο (λακτόζη, 1g ημερησίως, 18 ασθενείς) με χορήγηση δια του στόματος για διάστημα 2 εβδομάδων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην ομάδα που κατανάλωνε MX υπήρξε ανακούφιση των συμπτωμάτων σε 16 (80%) ασθενείς που λάμβαναν MX και σε 9 (50%) που λάμβαναν εικονικό φάρμακο ενώ η ενδοσκοπική εξέταση επιβεβαίωσε θεραπεία σε 14 (70%) ασθενείς με λήψη MX και σε 4 (22%) με λήψη εικονικού φαρμάκου. Οι διαφορές μεταξύ των δύο παρεμβάσεων ήταν στατιστικά σημαντικές με την έρευνα να καταλήγει στο ότι η MX ήταν καλά αποδεκτή και δεν προκάλεσε παρενέργειες.

Σχεδόν 15 χρόνια μετά, μελέτη των Huwez και συν., 1998 επιβεβαίωσε ότι ακόμη και 1 g MX ημερησίως για δύο εβδομάδες μπορεί να θεραπεύσει πεπτικά έλκη. Έρευνα του 2001 των Marone και συν., συμφώνησε με αυτά τα αποτελέσματα κατά την αξιολόγηση της αντιβακτηριδιακής δραστηριότητας της MX έναντι του *H.pylori*. Η επιρροή της MX στη μορφολογία του *H.pylori* προσδιορίστηκε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. Η MX φάνηκε ότι επάγει προεξοχές, μορφολογικές ανωμαλίες και κυτταρική διάσπαση στα κύτταρα του *H.pylori*, υποδεικνύοντας ότι παρουσιάζει δραστηριότητα ενάντια στο συγκεκριμένο βακτήριο.

Το 2007 οι Paraschos και συν., απομόνωσαν το συνολικό εκχύλισμα της μαστίχας χωρίς τα πολυμερή (total mastic extract without polymer, TMEWP) με σκοπό την αύξηση της διαλυτότητας

και την ενίσχυση της *in vivo* δραστικότητας και έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα και τα καθαρά κύρια συστατικά της MX ήταν ενεργά κατά του *H.pylori* (6). Μετά από χρωματογραφικό διαχωρισμό, αποδόθηκαν στο όξινο κλάσμα τα κύρια τριτερπενικά οξέα, ενώ στο ουδέτερο κλάσμα αποδόθηκαν αρκετές τριτερπενικές αλκοόλες και αλδεΐδες. Τα εκχυλίσματα της MX και τα απομονωμένα καθαρά τριτερπενικά οξέα ελέγχθηκαν για την *in vitro* δραστικότητά τους έναντι 11 κλινικών στελεχών του *H.pylori*. Το όξινο κλάσμα χαρακτηρίστηκε ως το πιο ενεργό εκχύλισμα και το πιο ενεργό καθαρό συστατικό του συγκεκριμένου κλάσματος ήταν το ισομαστιχαδιενονικό.

Επιπρόσθετα, έρευνα των Dabos και συν., 2010 για την επίδραση της MX στην εξάλειψη του *H.pylori* σε ασθενείς θετικούς για το *H.pylori*, επιβεβαιωμένο μέσω της δοκιμής UBT, μελέτησε διαφορετικές δόσεις MX σε συνδυασμό με φαρμακευτική αγωγή. Για το σκοπό αυτόν, 52 ασθενείς χωρίστηκαν τυχαία σε 4 ομάδες και έλαβαν θεραπεία με χαμηλή δόση MX (ομάδα Α), υψηλή δόση MX (ομάδα Β), παντοπραζόλη και χαμηλή δόση MX (ομάδα Γ) και παντοπραζόλη, αμοξυκιλλίνη και κλαριθρομυκίνη (ομάδα Δ) για 10 μέρες. Εξάλειψη του *H.pylori* εμφάνισαν 4/13 ασθενείς της Α ομάδας, 5/13 της ομάδας Β ενώ εξάλειψη δεν παρατηρήθηκε σε κανέναν ασθενή της ομάδας Γ και 10/13 ασθενείς της ομάδας Δ είχαν αρνητικό τεστ UBT. Τα αποτελέσματα αυτά δηλώνουν ότι η MX έχει *in vivo* βακτηριοκτόνο δράση έναντι του βακτηρίου *H.pylori*.

Μια πρόσφατη αναφορά πρότεινε ως πιθανό μηχανισμό για αυτή τη δράση της MX την επίδραση των πρωτεϊνών αραβινογαλακτάνης της MX στην μείωση της επαγόμενης από το *H.pylori* φλεγμονής, μέσω αναστολής της ενεργοποίησης των ουδετερόφιλων *in vitro* (Choli-Papadopoulou και συν., 2011).

Υπάρχει πληθώρα στοιχείων και για τις αντιβακτηριδιακές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου MX. Ενδεικτικά, μελέτη του 2014 των Miyamoto και συν., έλεγξε την δραστικότητα 10 βασικών συστατικών του ελαίου μαστίχας έναντι του *H.pylori* και φάνηκε ότι η α-τερπινεόλη και η μεθυλοισοευγενόλη είχαν τη μεγαλύτερη δραστικότητα κατά 4 διαφορετικών στελεχών του *H.pylori* συλλεγμένα από ασθενείς με γαστρίτιδα, γαστρικό έλκος και γαστρικό καρκίνο.

Όσον αφορά τη δράση της MX σε άλλα βακτήρια έρευνα των Koutsoudaki και συν., 2005, που μελετά την αντιβακτηριδιακή δραστικότητα 12 συστατικών του ελαίου της μαστίχας μέσω της μεθόδου διάχυσης δίσκου, επιβεβαίωσε την βακτηριακή δράση του μαστιχέλαιου σε παθογόνα βακτήρια όπως *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* και *Bacillus subtilis*, ενώ φάνηκε ότι η δράση αυτή εκδηλώνεται λόγω της συνεργιστικής δράσης των συστατικών του.

Από την άλλη, πρόσφατη μελέτη των Koychev και συν., 2017 διερεύνησε τη διαχείριση στοματικών και περιοδοντικών παθογόνων με διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλίσματος μαστίχας, 3% υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και χλωρεξιδίνης (CHX). Το εκχύλισμα μαστίχας οδήγησε σε στατιστικά σημαντική αύξηση της αναστολής των εξεταζόμενων παθογόνων σε σύγκριση με το

H₂O₂ και επιπρόσθετα είχε θετικά αποτελέσματα στην βιωσιμότητα των κυττάρων, καθιστώντας το πιθανό εναλλακτικό αντιβακτηριδιακό παράγοντα στην πρόληψη των περιοδοντικών παθήσεων.

Έχει δειχθεί, επίσης, ότι η MX έχει ευεργετική επίδραση στη μείωση της βακτηριακής αύξησης στο σάλιο, της δημιουργίας πλάκας στα δόντια (Takahashi και συν., 2003) καθώς και της δυσοσμίας του στόματος (Sterer 2006).

1.4.2 Αντιφλεγμονώδης και αντιοξειδωτική δράση

Ασθενείς με παθήσεις όπως είναι η κυστική ίνωση, το άσθμα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, η ψωρίαση και η νόσος του Crohn (vC) παρουσιάζουν χρόνια φλεγμονή και διαταραχή της ισορροπίας οξειδωτικών/αντιοξειδωτικών παραγόντων.

Έρευνα, η οποία διερεύνησε την αντιφλεγμονώδη δράση της MX, πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με εγκατεστημένη vC ήπιας προς μέτριας ενεργότητας και σε υγιείς οι οποίοι αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου. Η παρέμβαση περιλάμβανε ημερήσια λήψη 2.2 g MX για ένα μήνα. Στους ασθενείς που λάμβαναν MX σημειώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στους δείκτες φλεγμονής IL-6 και CRP (Kaliora και συν., 2007a). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε επίδραση της MX στα απομονωμένα από τους ασθενείς περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα αίματος (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC) με αποτέλεσμα μείωση της έκκρισης του παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (Tumor Necrosis Factor-α, TNF-α) και σημαντική αύξηση της απελευθέρωσης του ανασταλτικού παράγοντα μετανάστευσης μακροφάγων (Macrophage Migration Inhibitory Factor, MIF), υποδεικνύοντας ότι η τυχαία μετανάστευση και χημειοταξία των μονοκυττάρων/μακροφάγων αναστάλθηκε (Kaliora και συν., 2007b).

Μελέτη των Triantafyllou και συν., 2011 έδειξε ότι η MX ανέστειλε την πρωτεϊνική κινάση C (Protein Kinase C, PKC) εξομαλύνοντας την παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) από τις NADPH οξειδάσες ενώ την ίδια χρονιά οι Giochari και συν., 2011 μελέτησαν την επίδραση της χορήγησης δια στόματος 4 διαφορετικών δόσεων σκόνης MX σε ποντίκια με επαγόμενη από σουλφονικό οξύ κολλίτιδα. Παρατηρήθηκε ιστολογική βελτίωση της κολλίτιδας (p≤0.01) και σημαντικές μειώσεις σε δείκτες φλεγμονής του παχέος εντέρου μετά από 3 μέρες θεραπεία. Καθημερινή χορήγηση 100 mg σκόνης MX/kg σωματικού βάρους μείωσε όλες τις φλεγμονώδεις κυτοκίνες (p≤0.5), ενώ 50 mg σκόνης MX/kg σωματικού βάρους και η κορτιζόνη μείωσαν μόνο το διακυτταρικό συνδετικό μόριο (Intracellular Adhesion Molecule 1, ICAM-1) (p≤0.5 και p≤0.1 αντίστοιχα). Οπότε διαφαίνεται συμπερασματικά, ο πιθανός ρυθμιστικός ρόλος της MX στην οξειδωτική/αντιοξειδωτική ισορροπία και στην ανοσολογική λειτουργία.

1.4.2.1 Αντιαθηρογόνος δράση

Η MX έχει συνδεθεί με την καρδιαγγειακή προστασία, κυρίως μέσω της αύξησης της ικανότητας του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος και της προστατευτικής δράσης των συστατικών της (φαινολικά μόρια, τριτερπενικές ενώσεις, φυτοστερόλες) έναντι της οξείδωσης της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL), η οποία συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στην αθηρογένεση.

Έρευνα του 2003 των Andrikopoulos και συν., η οποία εξέτασε *in vitro* την προστατευτική δράση φυσικών ρητινών και κόμεων-γομών ενάντια στον περιορισμό οξείδωσης της ανθρώπινης LDL, έδειξε ότι η MX ήταν το πιο αποτελεσματικό φυσικό προϊόν φτάνοντας σε ποσοστό προστασίας μέχρι και 99.9%. Ενδείξεις που συνηγορούν υπέρ της αντιοξειδωτικής/αντιαθηρογόνου δράσης της MX είχε και μελέτη των Dedoussis και συν., 2004, η οποία διερεύνησε την επίδραση του ολικού πολικού εκχυλίσματος στην επιβίωση των απομονωμένων περιφερικών μονοπύρηνων κυττάρων του αίματος όταν εκτέθηκαν σε οξειδωμένη LDL. Φάνηκε ότι το εκχύλισμα της MX περιόρισε σημαντικά την επαγόμενη από την oxLDL κυτταροτοξικότητα στα συγκεκριμένα κύτταρα.

Η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο και η επακόλουθη μετανάστευση των κυττάρων στο τοίχωμα του αγγείου αποτελούν πρώιμα σημάδια της αθηρογένεσης και αυτή η διαδικασία απαιτεί την έκφραση των ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης. Σε αυτό το πλαίσιο, έρευνα των Loizou και συν., 2009 μελέτησε *in vitro* την επίδραση του ουδέτερου εκχυλίσματος της MX και της τυρουκαλόλης στην έκφραση των μορίων προσκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1), στην προσκόλληση των μονοκυττάρων (U937 κύτταρα) σε διεγερμένα από τον TNF-α ανθρώπινα αορτικά ενδοθηλιακά κύτταρα (Human Aortic Endothelial Cells, HAEC) καθώς και της φωσφορυλίωσης του NfκB. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το ουδέτερο εκχύλισμα και η τυρουκαλόλη αφενός ανέστειλαν σημαντικά την έκφραση των VCAM-1 και ICAM-1 και την πρόσδεση των U937 κυττάρων σε διεγερμένα από τον TNF-α HAEC κύτταρα και αφετέρου περιόρισαν τη φωσφορυλίωση του NfκB.

Δεδομένων, λοιπόν των αναφορών για τις καρδιοπροστατευτικές και ηπατοπροστατευτικές δράσεις της MX οι Georgiadis και συν., 2014 μελέτησαν την επίδραση ακατέργαστης MX σε μεταβολικές παραμέτρους σε ποντίκια με επαγόμενο από στρεπτοζοτοκίνη διαβήτη. Τα επίπεδα των λιπιδίων και της γλυκόζης ορού μετρήθηκαν στην αρχή της μελέτης, στις 4 και στις 8 εβδομάδες (τέλος πειράματος). Στις 4 εβδομάδες, η χορήγηση MX οδήγησε στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης και τριγλυκεριδίων ορού και στις δύο ομάδες (χαμηλή πρόσληψη μαστίχας, LdM, 20 mg/kg ΣΒ-υψηλή πρόσληψη μαστίχας, HdM, 500 mg/kg ΣΒ), ενώ τα επίπεδα του ΣΒ βάρους μειώθηκαν στην HdM ομάδα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Στο τέλος του πειράματος, η LdM ομάδα παρουσίασε σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης, χοληστερόλης, LDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων

ορού και βελτιωμένα επίπεδα HDL-χοληστερόλη συγκρινόμενα με την ομάδα ελέγχου. Η ηπατική στεάτωση μερικώς αναστράφηκε στις δύο ομάδες. Ακόμα και χορήγηση χαμηλής δόσης MX φάνηκε να βελτιώνει τις διαταραχές σε γλυκόζη και λιπίδια σε διαβητικά ποντίκια ενώ μείωσε και την ηπατική καταστροφή.

Πιο πρόσφατα, οι Kartalis και συν., 2015 πραγματοποίησαν μια προοπτική, τυχαιοποιημένη, πιλοτική δοκιμή (CHIOS-MASTIHA) με σκοπό την εκτίμηση της επίδρασης της MX στη χοληστερόλη και στην γλυκόζη νηστείας σε υγιείς εθελοντές. Μετά από παρέμβαση 8 εβδομάδων η ομάδα που λάμβανε 1 g ακατέργαστης MX παρουσίασε σημαντικές μειώσεις στην ολική χοληστερόλη και στη γλυκόζη νηστείας με πιο εμφανή αποτελέσματα σε υπέρβαρους και παχύσαρκους. Αντίθετα, οι ομάδες που λάμβαναν μαστίχα χωρίς πολυμερή και σκόνη μαστίχας δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα.

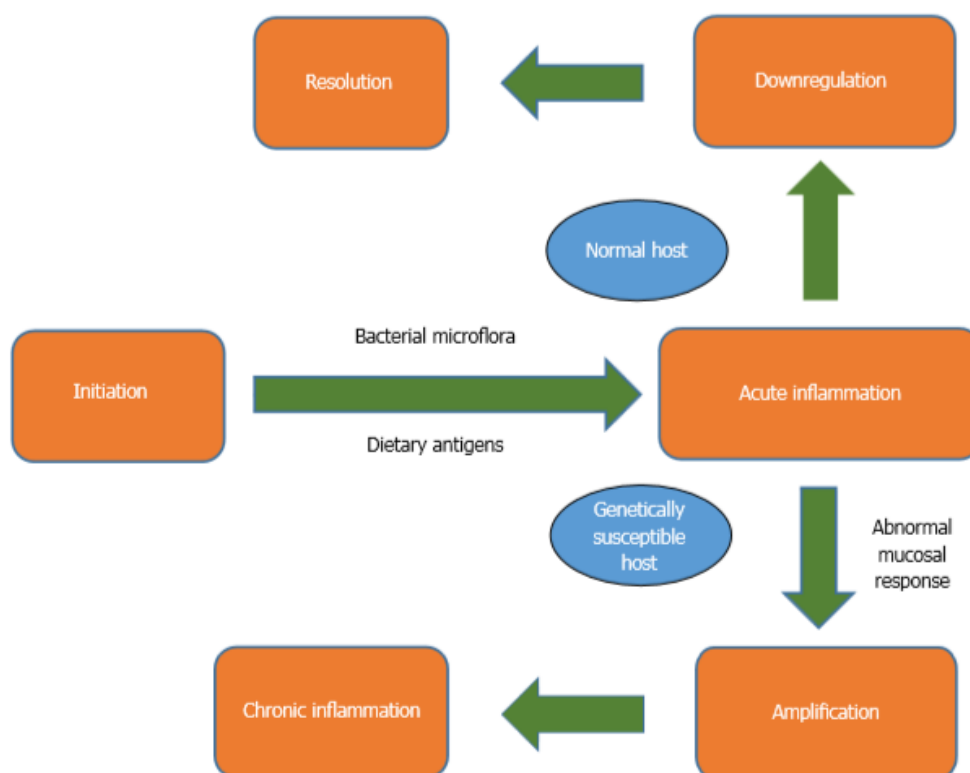
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΙΔΙΟΠΑΘΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ (ΙΦΝΕ)

2.1 Γενικά για τα ΙΦΝΕ

Ο γαστροεντερικός βλεννογόνος εκτίθεται διαρκώς σε αντιγόνα τόσο τροφίμων όσο και βακτηρίων από το ιδιαιτέρως πλούσιο και διαφοροποιημένο υπάρχων μικροβίωμα (Gill και συν., 2006). Η εντερική συμβιωτική χλωρίδα επωφελεί τον ξενιστή μέσω του μεταβολισμού των μη απορροφούμενων συστατικών των τροφίμων και την παραγωγή βιταμινών. Παρόλα αυτά, ο αυλός του εντέρου μπορεί να αποτελεί πύλη εισόδου για παθογόνους μικροοργανισμούς οι οποίοι είναι δυνατόν να προκαλέσουν καταστροφή του ιστού. Το εντερικό ανοσοποιητικό σύστημα, λοιπόν, είναι υπεύθυνο για την διατήρηση μιας ευαίσθητης ισορροπίας: την άμεση και αποτελεσματική απάντηση ενάντια σε παθογόνα βακτήρια και την παράλληλη διατήρηση της ανοχής στα τροφικά και στα ωφέλιμα βακτηριακά αντιγόνα. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της παρουσίας ενός πολύ αποτελεσματικού επιθηλιακού φραγμού και ενός σύνθετου και ειδικού ανοσοποιητικού συστήματος στο έντερο. Διαταραχή αυτής της ευαίσθητης ισορροπίας μπορεί να οδηγήσει σε παρεκκλίνουσες φλεγμονώδεις απαντήσεις, οδηγώντας σε χρόνιες παθήσεις όπως τα ιδιοπαθή φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου (ΙΦΝΕ) (Geremia και συν., 2014). Οι δύο κατηγορίες που συνιστούν τα ΙΦΝΕ είναι η νόσος του Crohn (vC) και η ελκώδης κολίτιδα (ΕΚ) και έχουν αλληλεπικαλυπτόμενα και διακριτά κλινικά και παθολογικά χαρακτηριστικά. Τα ΙΦΝΕ χαρακτηρίζονται από εναλλαγή μεταξύ των φάσεων της κλινικής έξαρσης και ύφεσης και έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για εντερικούς καρκίνους.

2.1.1 Ορισμός

Η ΕΚ και η νC αποτελούν φλεγμονώδη νοσήματα σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα που πηγάζουν από την διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ αμυντικών μηχανισμών του βλεννογόνου και δυνητικά βλαπτικών παραγόντων του εξωτερικού και εντερικού μικρο-περιβάλλοντος όπως η μικροβιακή χλωρίδα, η διαίτα και τα φάρμακα. Η διαταραχή αυτή οδηγεί σε ευαισθητοποίηση έναντι ενδαυλικών αντιγόνων (Ag) και στη μετέπειτα, αυτόνομη και έκτοπη ενεργοποίηση ανοσολογικών οδών που θα οδηγήσουν σε ιστική φλεγμονή και βλάβη. (Strober και συν., 2007, Bamias και Cominelli 2007, Asakura και συν., 2008, Neish 2009) (**Εικόνα 5**).



Εικόνα 5: Ακολουθία γεγονότων κατά την διαδικασία της εντερικής φλεγμονής στο έντερο (Wędrychowicz και συν., 2016)

2.1.2 Επιδημιολογία

Τα ΙΦΝΕ αποτελούν ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας με διαρκώς αυξανόμενο επιπολασμό (Xavier και συν., 2007). Παραδοσιακά, θεωρούνταν μία «δυτική» πάθηση καθώς παγκοσμίως υπάρχουν περισσότερα περιστατικά σε χώρες στο Βορρά και στη Δύση σε σχέση με Νότο και Ανατολή, παρόλα αυτά δεδομένα των τελευταίων δεκαετιών υποδηλώνουν ότι τα ΙΦΝΕ δεν είναι σπάνια και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Μία πιθανή εξήγηση αυτού του φαινομένου αποτελεί η μεταστροφή των συγκεκριμένων χωρών σε ένα δυτικό τύπο διαίτας και τρόπο ζωής.

Συχνά, τα ΙΦΝΕ εμφανίζονται για πρώτη φορά κατά την πρώιμη εφηβεία ενώ η ηλικία στην οποία φτάνει στο μέγιστο η επίπτωση της νC είναι η τρίτη δεκαετία με μία μείωση του ρυθμού επίπτωσης με την αύξηση της ηλικίας. Από την άλλη, ο ρυθμός επίπτωσης για την ΕΚ διατηρείται σταθερός μεταξύ της τρίτης και έβδομης δεκαετίας. Ο επιπολασμός της νC είναι υψηλότερος στις αστικές περιοχές σε σχέση με τις αγροτικές και πιο αυξημένος στις υψηλότερες κοινωνικοοικονομικές τάξεις. Όσον αφορά στην κατανομή των ΙΦΝΕ στα δύο φύλλα παρότι η νC είναι λίγο πιο συχνή στις γυναίκες και η ΕΚ στους άνδρες, τα πιο πρόσφατα δεδομένα δείχνουν παρόμοιους ρυθμούς αύξησης (WGO Global Guidelines 2015). Σε επίπεδο πληθυσμού, τα ΙΦΝΕ επηρεάζουν περίπου 1.5 εκατομμύρια Αμερικάνους, 2.2 εκατομμύρια ανθρώπους στην Ευρώπη και αρκετές εκατοντάδες χιλιάδες επιπλέον παγκοσμίως (Cosnes και συν., 2011, Molodecky και συν., 2012).

2.1.3 Συμπτωματολογία

Τα ΙΦΝΕ αποτελούν μία χρόνια διακοπτόμενη πάθηση. Τα συμπτώματα κυμαίνονται από ήπια έως έντονα κατά την διάρκεια των υποτροπών ενώ μπορεί να εξαφανιστούν ή να μειωθούν κατά την διάρκεια της ύφεσης. Γενικά, η συμπτωματολογία εξαρτάται από το τμήμα της εντερικής οδού που εμπλέκεται (WGO Global Guidelines 2015) και περιλαμβάνει κυρίως διάρροιες, κοιλιακό πόνο και πρωκτικές αιμορραγίες. Παρόλα αυτά, εξωεντερικές εκδηλώσεις της ασθένειας αποτελούν συχνό φαινόμενο (5-20%), με πιθανή συμμετοχή συνδέσμων, ματιών, δέρματος και νεφρών (Bernstein και συν., 2001). Ασθενείς με ΙΦΝΕ βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για εμφάνιση και άλλων χρόνιων παθήσεων όπως ψωρίαση, αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα και πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα (Bernstein και συν., 2005).

Η νC μπορεί να προκαλέσει διατοιχωματική φλεγμονή και να επηρεάσει οποιοδήποτε σημείο του γαστρεντερικού σωλήνα (πιο συχνά τον τελικό ειλεό και την περιοχή γύρω από τον πρωκτό) κατά μη συνεχόμενο τρόπο. Συνήθως συσχετίζεται με επιπλοκές όπως αποστήματα, συρίγγια και στενώματα και υπερισχύουν οι διάρροιες, τα κοιλιακά άλγη, η απώλεια βάρους. Σε αντίθεση, η ΕΚ χαρακτηρίζεται από φλεγμονή του βλεννογόνου η οποία περιορίζεται στο κόλον κατά συνεχόμενο τρόπο, οπότε και εκδηλώνονται βλεννο-αιματηρές κενώσεις (Abraham και συν., 2009).

2.1.4 Διάγνωση, καθορισμός βαρύτητας και παρακολούθηση της πορείας των ΙΦΝΕ

Η διάγνωση των ΙΦΝΕ γίνεται με βάση το ιστορικό του ασθενούς, την κλινική εικόνα, η οποία εξαρτάται από την εντόπιση, τον τύπο και τη βαρύτητα της φλεγμονής με την διαφορική διάγνωση της νC να περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα οξέων και χρόνιων νοσημάτων, την ενδοσκοπική εικόνα, την ιστολογική εξέταση καθώς και απεικονιστικά και εργαστηριακά ευρήματα, όπως είναι οι βιοδείκτες.

Η ενδοσκοπική εξέταση, παρότι αποτελεί εργαλείο εκλογής για την εκτίμηση της φλεγμονής του βλεννογόνου, είναι ιδιαίτερα παρεμβατική, χρονοβόρα και με υψηλό κόστος καθιστώντας την ακατάλληλη για συχνή παρακολούθηση των ασθενών με ΙΦΝΕ. Στον αντίποδα βρίσκονται οι εργαστηριακές χημικές δοκιμές ορού εκ των οποίων οι πιο κοινές είναι οι εξής: C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), ταχύτητα καθίζησης ερυθρών (ESR), λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια, φερριτίνη, απτοσφαιρίνη, σερουλοπλασμίνη, α-1-αντιτριπσίνη, πλασμινογόνο, συμπληρωματικοί παράγοντες και ινωδογόνο (Sands 2015). Οι χημικές αναλύσεις των κοπράνων για ανίχνευση της φλεγμονής περιλαμβάνουν την καλπροτεκτίνη (FC), την λακτοφερίνη, την πολυμορφοπύρηνη ελαστάση, τη μυελοπεροξειδάση, τη μεταλλοπρωτεΐνη-9 και τη νεοπερίνη.

Εκ των διαφορετικών χημικών αναλύσεων, η CRP και η FC αποτελούν από τις πιο κοινώς αποδεκτές και χρησιμοποιούμενες κλινικές πρακτικές για την παρακολούθηση των ΙΦΝΕ. Η CRP δεν είναι ειδική για την εντερική φλεγμονή, έχει μέτριο συσχετισμό με τα κλινικά και ενδοσκοπικά ευρήματα στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, μπορεί να είναι ψευδώς χαμηλή παρά την ενεργή φλεγμονή του βλεννογόνου και είναι πιο αξιόπιστη σε περιπτώσεις διατοιχωματικής φλεγμονής. Από την άλλη, η FC είναι πιο ειδική από την CRP για την εντερική φλεγμονή, εκτός από την μεμονωμένη ελκώδη πάθηση, σχετίζεται καλύτερα με τα ενδοσκοπικά ευρήματα σε σχέση με τη CRP και είναι πιο χρήσιμη στην παρακολούθηση των ασθενών με νC για μετεγχειρητική επανεμφάνιση (Chang και συν., 2015). Παρόλα αυτά, τα βέλτιστα κατώφλια για την FC βρίσκονται υπό διερεύνηση καθώς υπάρχει μεταβλητότητα ανάλογα με τη μεθοδολογία και τη συγκέντρωση του βιοδείκτη στο υπό ανάλυση δείγμα (Peyrin-Biroulet και συν., 2016).

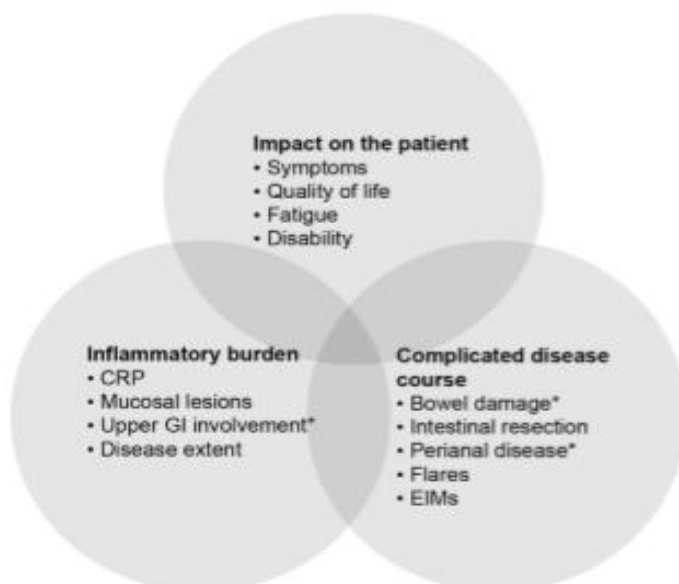
Παρόλο που οι περισσότεροι αλγόριθμοι θεραπείας για τα ΙΦΝΕ ξεκινάνε με κατηγοριοποίηση των ασθενών σύμφωνα με τη βαρύτητα της νόσου, δεν υπάρχουν επίσημα επικυρωμένοι ή συναινετικοί ορισμοί για την ήπια, μέτρια ή σοβαρή εκδήλωση των ΙΦΝΕ. Στις κλινικές μελέτες χρησιμοποιούνται συχνότερα ειδικοί δείκτες ενεργότητας όπως οι Harvey-Bradshaw Activity Index (HB) και Crohn's Disease Activity Index (CDAI) για τη νC και ο Mayo Clinic Score (MCS) για την ΕΚ. Αυτοί οι δείκτες αναπτύχθηκαν για την αξιολόγηση της «δραστικότητας» της νόσου μία δεδομένη στιγμή, όμως η μακροπρόθεσμη αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου με σκοπό την καθοδήγηση των θεραπευτικών αποφάσεων, δεδομένου του ότι τα ΙΦΝΕ αποτελούν προοδευτικές παθήσεις, αποτελεί μία σημαντική πρόκληση.

Οι Peyrin-Biroulet L και συν., 2016 πρότειναν μία ομάδα προκαταρκτικών κριτηρίων τα οποία θα μπορούσαν να αξιολογήσουν τη βαρύτητα των ΙΦΝΕ με μεγαλύτερη εξατομίκευση. Η ομαδοποίηση αυτών των κριτηρίων έγινε έχοντας κατά νου τα τρία βασικά πεδία που συνιστούν στη σοβαρότητα της νόσου και τα οποία είναι (1) η επίδραση της νόσου στον ασθενή (κλινικά συμπτώματα, αυτοδηλούμενες εκδηλώσεις (PROs), η ποιότητα ζωής (QoL), ο βαθμός ανικανότητας (2) το

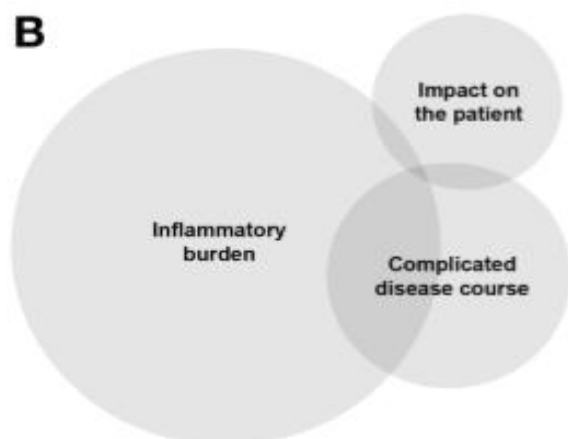
φλεγμονώδες φορτίο (έκταση, σημείο και σοβαρότητα της συμμετοχής του εντέρου μία δεδομένη στιγμή) και (3) η πορεία της νόσου, συμπεριλαμβανομένων των δομικών αλλοιώσεων. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των τριών αυτών πεδίων δεν είναι ισότιμη και διαφοροποιείται ανάλογα με το προφίλ του ασθενούς υποδεικνύοντας μια ορθότερη θεραπευτική προσέγγιση (**Εικόνα 6**).

Η κλινική πορεία των ΙΦΝΕ παρουσιάζει μεγάλο εύρος από ασθενή σε ασθενή. Οι υποτροπές είναι συχνά δύσκολο να προβλεφθούν και τα κλινικά συμπτώματα ασθενών και ιδίως αυτών με νC είναι ασυνεπή με τα ενδοσκοπικά ευρήματα (Cellier και συν., 1994). Η βέλτιστη μέθοδος για την παρακολούθηση της πορείας των ΙΦΝΕ δεν έχει ακόμα καθοριστεί, πρώτιστος στόχος της όμως είναι η ταυτοποίηση των ασθενών σε κίνδυνο για υποτροπή και η ταχύτερη παροχή εξατομικευμένης θεραπείας, ώστε να διατηρηθεί η ύφεση και να αποφευχθούν ανεπανόρθωτες βλάβες του εντέρου όπως οι φίστουλες και οι στενώσεις που πιθανώς θα οδηγήσουν σε χειρουργείο.

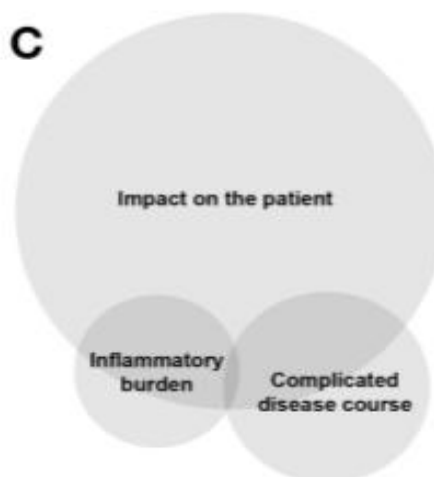
A



B



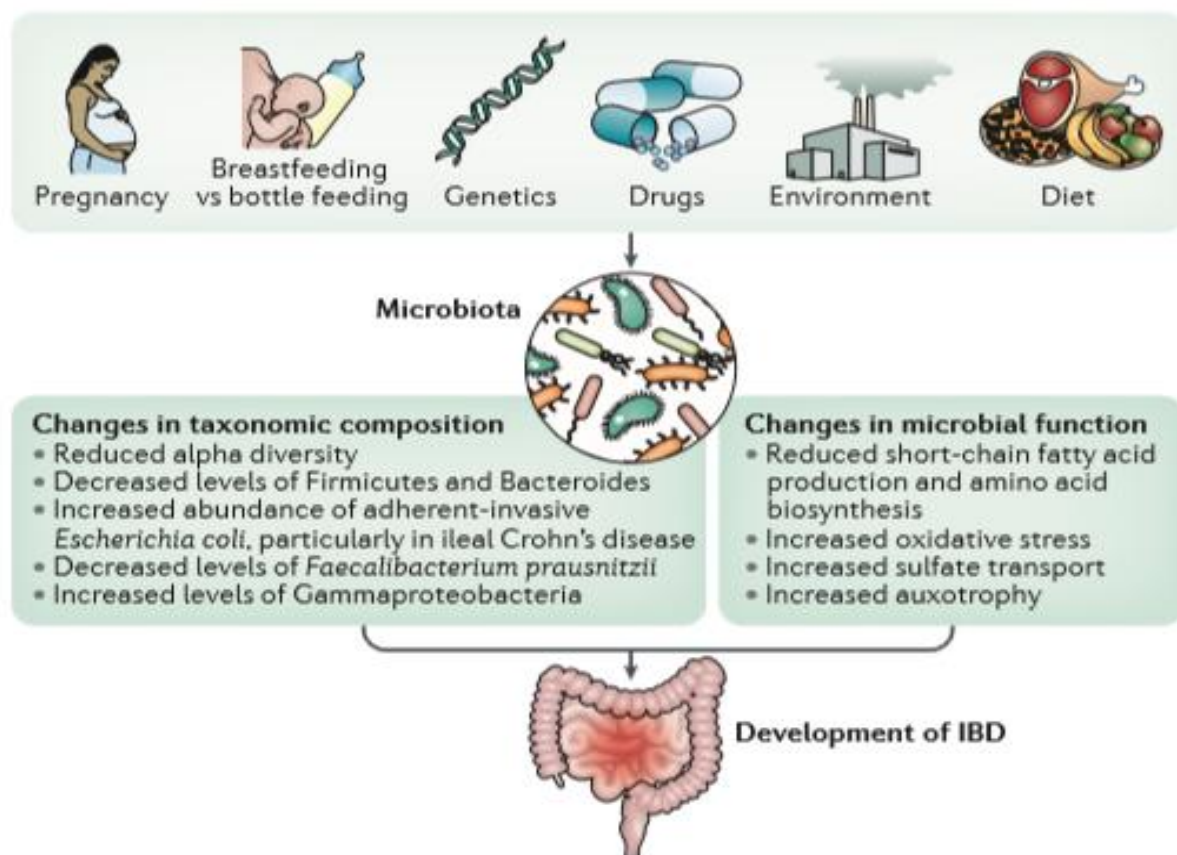
C



Εικόνα 6: : Παράδειγμα αλληλεπιδράσεων μεταξύ των τριών τομέων σε έναν υποθετικό ασθενή με B) ασυμπτωματική και εκτεταμένη στο λεπτό έντερο νC, μέτριας βαρύτητας ενδοσκοπικές βλάβες C) ινώδης στένωση, αποφρακτικά συμπτώματα (Peyrin-Biroulet και συν., 2016)

2.2 Παθογένεια των ΙΦΝΕ

Η αιτιολογία της νόσου παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστη, παρόλα αυτά πλειάδα δεδομένων, τόσο από επιδημιολογικές μελέτες όσο και από κλινικές δοκιμές, υποδεικνύουν ότι οι μοριακοί μηχανισμοί του οξειδωτικού στρες (ΟΣ) σχετίζονται με την γενετική προδιάθεση και την ανοσολογική απόκριση του βλεννογόνου και συμβάλουν στην ανάπτυξη των ΙΦΝΕ μέσω ποικίλων μοριακών μηχανισμών. Ο πολύπλευρος χαρακτήρας της νόσου, όμως, δεν αυξάνει μόνο την πολυπλοκότητα της παθογένειας αλλά προσφέρει και μεγάλο εύρος στις παρεμβάσεις για βελτίωση του αποτελέσματος σε αυτούς τους ασθενείς (**Εικόνα 7**).



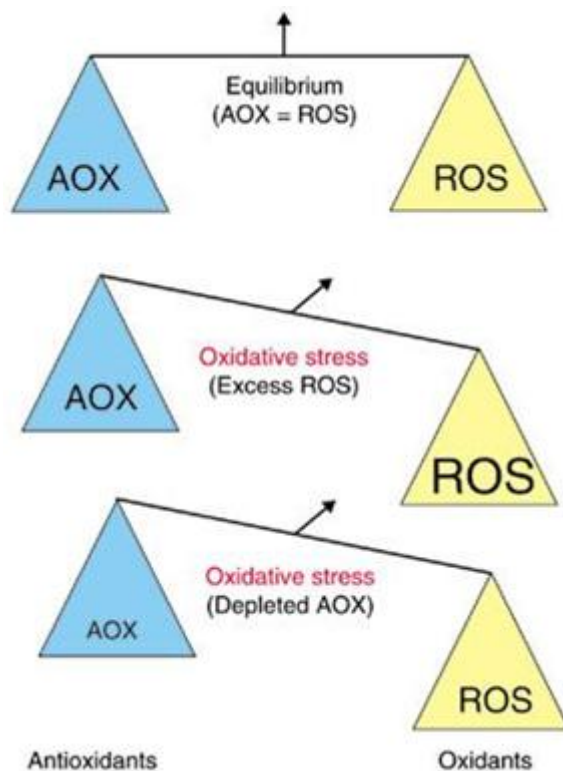
Εικόνα 7: Οι δια βίου παράγοντες που επηρεάζουν το εντερικό μικροβίωμα, από τη σύλληψη στην ενήλικη ζωή, οδηγούν στην δυσβίωση και στην ανάπτυξη των ΙΦΝΕ (Ananthakrishnan και συν., 2017)

2.2.1 Οξειδωτικό στρες και Βιοδείκτες

Ο όρος οξειδωτικό στρες (ΟΣ) εμφανίστηκε αρχικά το 1985 και είχε την έννοια της διατάραξης της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής ελεύθερων ριζών και της απενεργοποίησής τους από τον οργανισμό. Πιο πρόσφατα, οι Dean Jones και Helmut Sies (1995) όρισαν το ΟΣ ως μία ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών προς όφελος των οξειδωτικών που οδηγεί σε διαταραχή στην οξειδοαναγωγική σηματοδότηση και ρύθμιση ή/και σε μοριακές βλάβες.

Στον οργανισμό παράγονται ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) και ενεργές μορφές αζώτου (RNS). Ο όρος ROS περιλαμβάνει όλες τις ελεύθερες ρίζες που έχουν ως δραστικό κέντρο το άτομο του οξυγόνου καθώς και όλες τις ενώσεις που μπορούν να μετατραπούν γρήγορα σε αυτές. Κατά αντιστοιχία, ως RNS θεωρούνται οι ελεύθερες ρίζες που έχουν ως δραστικό κέντρο το άτομο του αζώτου και όλες οι ενώσεις που μπορούν γρήγορα να μετατραπούν σε αυτές. Ως ελεύθερη ρίζα περιγράφεται ένα άτομο ή μόριο που διαθέτει ένα τουλάχιστον ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σε ένα τροχιακό και μπορεί να υφίσταται αυτόνομα σε χημικά ή βιολογικά συστήματα. Οι ρίζες έχουν την τάση να αντιδρούν εύκολα αποσπώντας ένα ηλεκτρόνιο από τα γειτονικά τους μόρια, ξεκινώντας έτσι αλυσιδωτές αντιδράσεις.

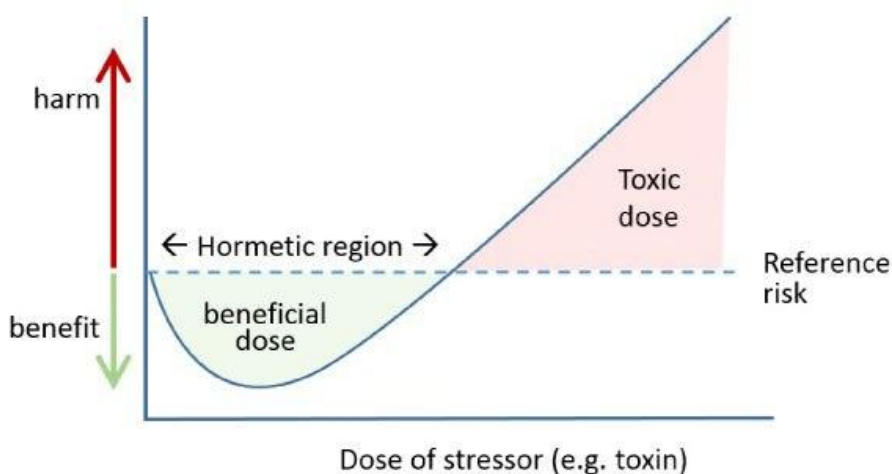
Οι RONS συμμετέχουν σε πολλές παθο-φυσιολογικές καταστάσεις του οργανισμού. Αποτελούν μέρος της άμυνάς του για την καταπολέμηση των παθογόνων μικροοργανισμών από τα φαγοκύτταρα, συμμετέχουν σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων που είναι απαραίτητες για την



Εικόνα 8: Ευεργετική για τον οργανισμό η μικρή αύξηση των ROS

ανάπτυξή του ενώ τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι αποτελούν και μόρια μηνύματα του οργανισμού και μέσω μεταγωγής σήματος ενεργοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες και ρυθμίζουν την έκφραση πολλών γονιδίων. Από την άλλη, μπορούν να παραχθούν και από εξωγενείς παράγοντες όπως το κάπνισμα, τα φάρμακα, η ακτινοβολία και οι ατμοσφαιρικοί ρύποι.

Έχει βρεθεί ότι η βέλτιστη ισορροπία μεταξύ των αντιοξειδωτικών συστημάτων και των RONS για τον οργανισμό πρέπει να είναι μετατοπισμένη προς τα δεξιά (**Εικόνα 8**). Ακόμα και μία μικρή συγκέντρωση ελεύθερων ριζών μπορεί να ενεργοποιήσει/απενεργοποιήσει σηματοδοτικά μονοπάτια που οδηγούν στην έκφραση γονιδίων και τελικά στην απόκριση του κυττάρου σε διαφορετικές συνθήκες. Σε αυτό το πλαίσιο υφίσταται και η υπόθεση του μηχανισμού της όρμησης (hormesis) σε σχέση με το ΟΣ σύμφωνα με την οποία το ΟΣ βραχείας διάρκειας συμβάλλει στην αναστολή της γήρανσης μέσω της κινητοποίησης κυτταρικών μηχανισμών επιδιόρθωσης. Η όρμηση αναφέρεται στην δοσοεξαρτώμενη επίδραση ενός παράγοντα ή μιας κατάστασης η οποία είναι ευεργετική όταν εφαρμόζεται σε περιορισμένο βαθμό αλλά επιζήμια όταν εφαρμόζεται σε μεγαλύτερο (**Εικόνα 9**).



Εικόνα 9: Η διφασική καμπύλη της όρμησης (hormesis)

Δεδομένου, λοιπόν, του σημαντικού φυσιολογικού ρόλου των RONS και του ότι η πλήρης εξάλειψη τους είναι ιδιαίτερα ενεργοβόρα για το κύτταρο, τα αντιοξειδωτικά συστήματα δεν εξαλείφουν πλήρως τις ελεύθερες ρίζες αλλά ρυθμίζουν τα επίπεδά τους. Σε καταστάσεις, όμως, υπέρμετρης παραγωγής τους, ο ανθρώπινος οργανισμός έχει αναπτύξει προστατευτικούς μηχανισμούς για την αντιμετώπισή τους όπως είναι η αναστολή της παραγωγής τους, η δέσμευση και μετατροπή τους σε μη τοξικές ενώσεις, η αποικοδόμηση και απομάκρυνση των οξειδωτικά τροποποιημένων βιομορίων καθώς και η διαμερισματοποίηση της παραγωγής τους. Επιπρόσθετα αυτών των μηχανισμών δρουν και τα ενδογενή αντιοξειδωτικά συστήματα τα οποία διακρίνονται στα ενζυμικά συστήματα μετατροπής των ελευθέρων ριζών σε μη τοξικές ενώσεις και στα μη ενζυμικά βιομόρια με αντιοξειδωτική δράση. Τα πιο χαρακτηριστικά ενδογενή ενζυμικά συστήματα είναι οι υπεροξειδικές δισμουτάσες (SOD), οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPXs) και η καταλάση (KAT) ενώ μεταξύ άλλων στα ενδογενή μη ενζυμικά συστήματα συμπεριλαμβάνονται η αλβουμίνη, το ουρικό

οξύ, η ουβικινόνη και η χολερυθρίνη. Τα εξωγενή αντιοξειδωτικά προσλαμβάνονται μέσω της διατροφής και περιλαμβάνουν τα καροτενοειδή, τη βιταμίνη E, τη βιταμίνη C καθώς και τις πολυφαινολικές ενώσεις, οι οποίες είναι φυτοχημικές ενώσεις με φαινολικούς δακτυλίους και πλειοτροπική αντιοξειδωτική δράση. Γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι τα αντιοξειδωτικά λειτουργούν σε συνέργεια.

Οξειδωτική τροποποίηση μπορούν να υποστούν πολλές κατηγορίες μορίων όπως πρωτεΐνες (δομικές ή κυτταροπλασματικές), λιπίδια (κυτταρικές, πυρηνικές ή μιτοχονδριακές), νουκλεϊκά οξέα και υδατάνθρακες.

Είναι συνεπώς φανερό ότι μέσα στο κύτταρο υπάρχει μια συνεχής παραγωγή RONS, η οποία μπορεί να ενισχυθεί από εξωκυτταρικές πηγές αλλά ταυτόχρονα υπάρχει πλήθος αντιοξειδωτικών μηχανισμών που ρυθμίζει τα επίπεδά τους. Μία μικρή αύξηση των RONS μπορεί να ενεργοποιήσει σηματοδοτικά μονοπάτια προς όφελος του κυττάρου, υπέρμετρη όμως αύξησή τους μπορεί να ξεφύγει από τον έλεγχο των αντιοξειδωτικών συστημάτων με συνεπακόλουθο την οξειδωτική καταστροφή των κυττάρων και στην έναρξη δυσμενών για τον οργανισμό καταστάσεων. Σχετικό παράδειγμα αποτελεί η συμμετοχή του ΟΣ στα ΙΦΝΕ.

Όπως και σε κάθε πολυπαραγοντική ασθένεια πρόκληση αποτελεί ο προσδιορισμός βιοδεικτών που θα διευκολύνουν όχι μόνο την διάγνωση αλλά και την εξέλιξη της πορείας της, έτσι και στα ΙΦΝΕ γίνεται διερεύνηση για τον καθορισμό βιοδεικτών για σκοπούς (διφορικής) διάγνωσης, αξιολόγησης της ενεργότητας της νόσου, ανίχνευσης του κινδύνου επιπλοκών, πρόβλεψης της υποτροπής καθώς και παρακολούθησης της επίδρασης της εκάστοτε θεραπείας.

Ως βιοδείκτης, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, ορίζεται κάθε ουσία, δομή ή διαδικασία η οποία μπορεί να μετρηθεί στο σώμα ή στα προϊόντα αυτού και να επηρεάσει ή να προβλέψει την επίπτωση του αποτελέσματος ή της ασθένειας (WHO 2001). Συνοπτικά, ένας κλινικά χρήσιμος βιοδείκτης πρέπει να πληρεί τα εξής κριτήρια: να διαθέτει διαγνωστική ειδικότητα για μία συγκεκριμένη ασθένεια, να έχει προγνωστική αξία και να σχετίζεται με την ενεργότητα της νόσου. Επίσης, πρέπει να είναι σχετικά σταθερός, να είναι παρών σε έναν εύκολα προσβάσιμο ιστό και να είναι αποδοτικός στο να μετρά με αναπαραγωγικότητα σε μεγάλη κλίμακα (Frijhoff και συν., 2015). Οι βιοδείκτες εκτίμησης του ΟΣ συνήθως ανήκουν σε μία από τις παρακάτω κατηγορίες, κάθε μία με τα δικά της πλεονεκτήματα/μειονεκτήματα:

- ❖ Μέτρηση αντιοξειδωτικών μορίων σε ιστούς (π.χ. αλβουμίνη, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη)
- ❖ Μέτρηση της συγκέντρωσης οξειδωτικά τροποποιημένων μορίων (π.χ. προϊόντα λιπιδικής υπεροξείδωσης, προϊόντα πρωτεϊνικής οξείδωσης, προϊόντα οξείδωσης DNA)

- ❖ Μέτρηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του κυττάρου (π.χ. μέτρηση του λόγου –SH/-S-S- ή του GSH/GSSG)
- ❖ Μέτρηση του ολικού αντιοξειδωτικού δυναμικού βιολογικών υγρών (π.χ. oxygen radical absorbance capacity, total radical trapping antioxidant potential)

2.2.2 Περιβαλλοντική πρόκληση

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια των ΙΦΝΕ με έναν μεγάλο αριθμό τους να αποτελεί παράγοντες κινδύνου για τα ΙΦΝΕ συμπεριλαμβανομένων του καπνίσματος, της διαίτας, των φαρμάκων, της γεωγραφίας, του κοινωνικού στρες και της ψυχολογικής και σωματικής κατάστασης (Loftus 2004).

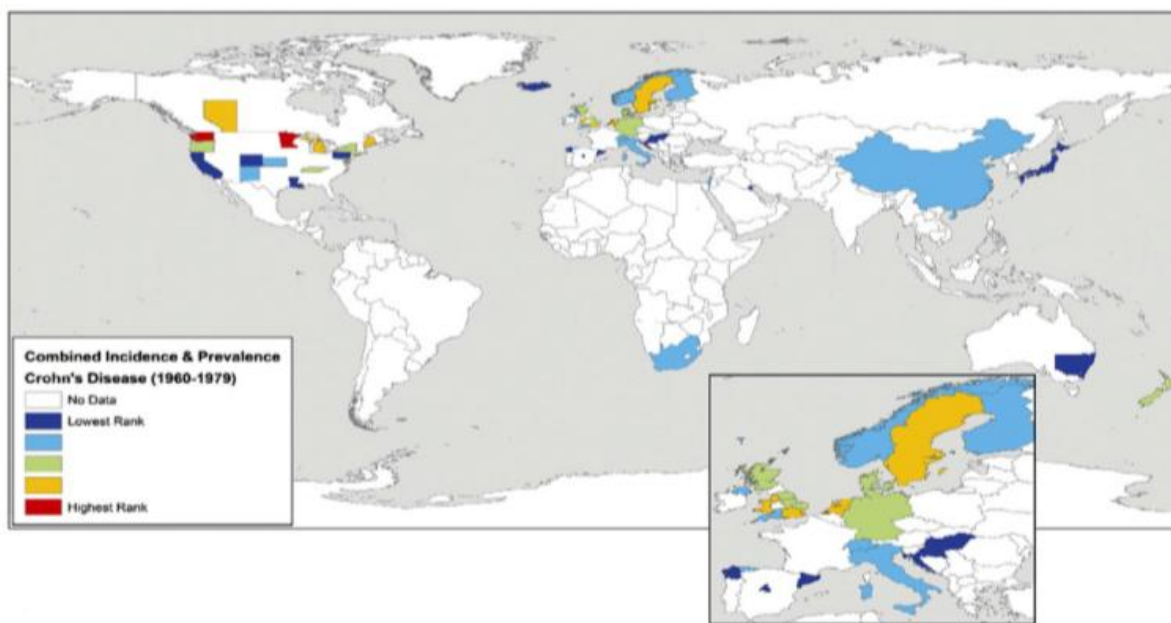
Μεταξύ αυτών, το κάπνισμα παραμένει ο πιο ευρέως μελετημένος περιβαλλοντικός παράγοντας για τα ΙΦΝΕ. Από τότε που περιγράφηκε για πρώτη φορά η αρνητική συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και της ΕΚ το 1982, επακόλουθες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την προστατευτική δράση του έντονου καπνίσματος στην εξέλιξη της ΕΚ με ένα χαμηλότερο ρυθμό υποτροπής (Cosnes 2004, 2008, Lakatos και συν., 2007). Αντίθετα με την επίδραση του καπνίσματος στην ΕΚ, μετα-ανάλυση έδειξε ότι διπλασιάζει τον κίνδυνο για τη νC (OR 1.76, 95% CI 1.40–2.22) (Mahid και συν., 2006). Ο καπνός του τσιγάρου όχι μόνο επηρεάζει τα μονοπάτια παραγωγής των ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) αλλά και περιέχει υψηλές ποσότητες ROS, νικοτίνης, μονοξειδίου του άνθρακα (CO) και μονοξειδίου του αζώτου (NO), συστατικά που συμμετέχουν στην ανοσοποιητική απόκριση του εντέρου και συμβάλλουν στην παθογένεση των ΙΦΝΕ (Mechta και συν., 2008). Επιπλέον, τα μεταλλικά ιόντα, που περιέχονται στον καπνό διευκολύνουν την μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου στην ασταθή ρίζα υδροξυλίου (Wang και συν., 2003)

Η Υπόθεση της Υγιεινής (The Hygiene Hypothesis) (Strachan 1989) είναι η θεωρία που προτείνεται για την ερμηνεία της προοδευτικής αύξησης της επίπτωσης των χρόνιων διαταραχών του ανοσοποιητικού, όπως τα ΙΦΝΕ, η οποία παρατηρείται στις ανεπτυγμένες χώρες σε σχέση με τις αναπτυσσόμενες κατά την διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών. Σύμφωνα με αυτήν τη θεωρία η εξάλειψη των ποικίλων μικροοργανισμών από το περιβάλλον του σύγχρονου ανθρώπου έχει επηρεάσει την εξέλιξη του ανοσιακού του συστήματος. Παράγοντες, στα πρώιμα στάδια της ζωής, που σχετίζονται με την αύξηση του κινδύνου για τα ΙΦΝΕ σε σχέση με την Υπόθεση της Υγιεινής αφορούν τον τρόπο γέννησης του νεογνού και το θηλασμό χωρίς όμως να υπάρχουν αποτελέσματα μελετών με συνοχή.

Όσον αφορά την διατροφή, έχει προταθεί ότι η δυτικού τύπου διαίτα υψηλή σε λίπος και πρωτεΐνη και χαμηλή σε φρούτα και λαχανικά συμβάλλει στην αύξηση των ΙΦΝΕ σε Ευρώπη και ΗΠΑ. Επιπρόσθετα, πιστεύεται ότι η εξάπλωση της δυτικής διαίτας έχει προκαλέσει αύξηση των

ΙΦΝΕ σε μέχρι πρότινος ανεπηρέαστα μέρη (π.χ. Κίνα, Κορέα) (Hou και συν., 2011) (**Εικόνα 10, Εικόνα 11**). Το μακροθρεπτικό συστατικό με τη μεγαλύτερη αρνητική συσχέτιση, παρά την ετερογένεια και τους περιορισμούς των μελετών, είναι οι διαιτητικές ίνες (Amre και συν., 2007, Ananthakrishnan και συν., 2013) ενώ το μικροθρεπτικό συστατικό που μελέτες δείχνουν ότι μείωσή του συμβάλλει στην αύξηση του κινδύνου για ΙΦΝΕ είναι η βιταμίνη D (Cantorna και συν., 2004), με τους Leslie και συν., 2008 να βρίσκουν ότι η έλλειψη της βιταμίνης D είναι συχνή σε ασθενείς με διαγνωσμένη ΙΦΝΕ.

Εναλλαγές στην διάθεση, οι οποίες συνθέτουν το στρες, όπως η κατάθλιψη και το άγχος, μπορεί να παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην επιδείνωση των ΙΦΝΕ (Cámara και συν., 2011). Μία αναδρομική μελέτη των Goodhand και συν., 2012 εντόπισε μείωση των συμπτωματικών υποτροπών στους συμμετέχοντες που λάμβαναν αντικαταθλιπτικά. Όμως μία ανασκόπηση του οργανισμού Cochrane δεν βρήκε συσχέτιση μεταξύ ψυχολογικών παρεμβάσεων και των ΙΦΝΕ (Timmer και συν., 2011).

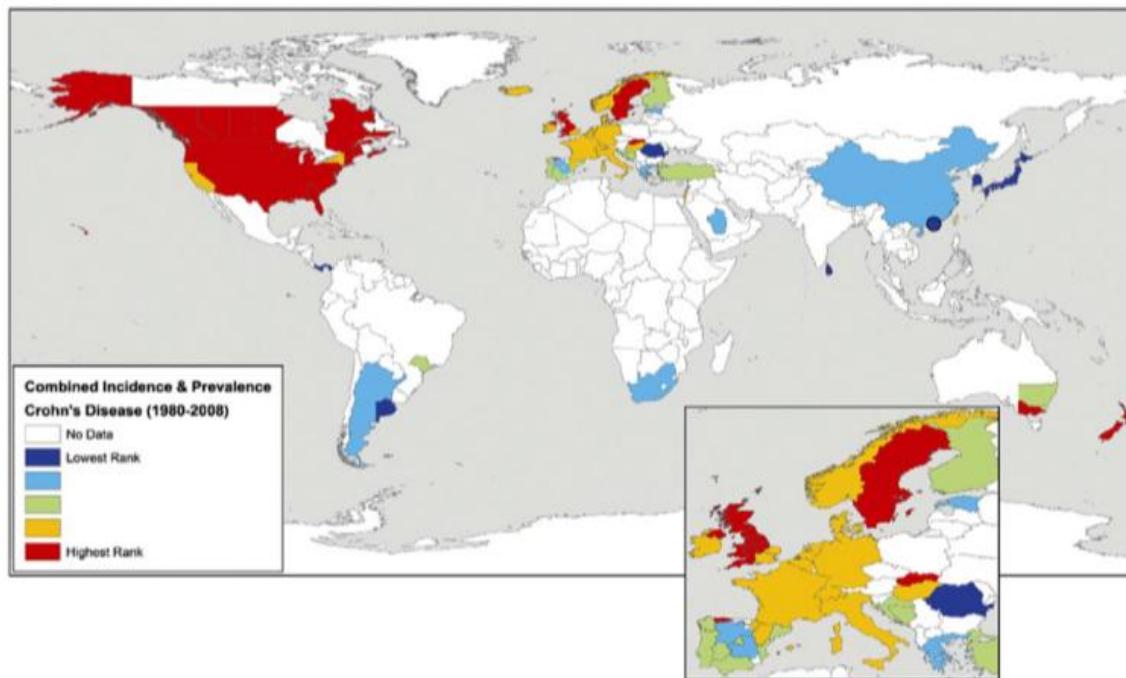


Εικόνα 10: Επιπολασμός και της vC κατά την περίοδο 1960-1979 (Hou και συν., 2011)

Το στρες, πιο συγκεκριμένα, είναι ικανό να επηρεάσει την εντερική φλεγμονή μέσω διάφορων μηχανισμών που περιλαμβάνουν τον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων και του αυτόνομου νευρικού συστήματος, οδηγώντας στην παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών, στην ενεργοποίηση των μακροφάγων και στη μεταβολή της εντερικής διαπερατότητας και του εντερικού μικροβιώματος (Bonaz και συν., 2013).

Τα δεδομένα σχετικά με την επίδραση της άσκησης στην εντερική φλεγμονή και στην πρόληψη της έξαρσης των ΙΦΝΕ είναι περιορισμένα. Παρόλα αυτά, μία προοπτική μελέτη έδειξε ότι η έντονη

φυσική δραστηριότητα σχετίστηκε με σημαντική μείωση του κινδύνου για vC (Khalili και συν., 2013).



Εικόνα 5: Επιπολασμός και επίπτωση της vC κατά την περίοδο 1980-2008 (Hou και συν., 2011)

2.2.3 Εντερικός μικροβιόκοσμος

Το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα περιλαμβάνει πληθυσμούς βακτηρίων, ιών και μυκήτων. Εγκαθίσταται στις 2 πρώτες εβδομάδες ζωής και από εκεί και έπειτα παραμένει σχετικά σταθερό σε σύσταση. Ο ρόλος του είναι ιδιαίτερα σημαντικός καθώς, μεταξύ άλλων, περιορίζει τον πολλαπλασιασμό των παθογόνων βακτηρίων στον γαστρεντερικό σωλήνα, ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα (Kelder και συν., 2014, Falcinelli και συν., 2016), ελέγχει την παραγωγή βιταμινών και παράγονται μέσω ζύμωσης, κυρίως από τα Bacteroidetes και Clostridium, λιπαρά οξέα βραχείας αλυσού (SCFA) όπως οξικό, προπιονικό και βουτυρικό τα οποία είναι απαραίτητα για την ομοιοστάση του βλεννογόνου και την παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτοκινών.

Η αλληλεπίδραση μεταξύ του μικροβιώματος και των ΙΦΝΕ είναι ήδη γνωστή. Σημαντικοί παράγοντες οι οποίοι συμβάλλουν στην δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος αποτελούν το γονιδίωμα του ξενιστή, το ιστορικό των μολύνσεων, η διαίτα και η προηγούμενη χρήση αντιβιοτικών (Man και συν., 2011, Manichanh και συν., 2012). Μελέτες στις οποίες εξετάστηκε η χλωρίδα του εντέρου στα ΙΦΝΕ σε φλεγμονώδη και μη τμήματα παρατηρήθηκε μία σημαντική μείωση της βιοποικιλότητας στον εντερικό μικροβιόκοσμο καθώς και αστάθεια των μικροβιακών πληθυσμών (Kostic και συν., 2014, Manichanh και συν., 2006)

Στο υγιές έντερο υπερισχύουν τα φύλα Firmicutes και Bacteroidetes και συμβάλουν στην παραγωγή επιθηλιακών μεταβολικών υποστρωμάτων. Εν αντιθέσει, το μικροβίωμα στη νC χαρακτηρίζεται από σχετική έλλειψη των συγκεκριμένων φύλων και από μία αυξημένη παρουσία των εντεροβακτηρίων. Μελέτη των Sokol και συν., 2008 παρατήρησε πτώση του πληθυσμού *Faecalibacterium prausnitzii* (παραγωγό βουτυρικού) με γνωστή αντιφλεγμονώδη δράση (μείωση της παραγωγής κυτταροκινών IL-12 και INF- γ , αύξηση της IL-10) και του *Roseburia* σε ασθενείς με νC γεγονός που μπορεί να συμβάλλει στην αύξηση του κινδύνου υποτροπής της νόσου μετά από επέμβαση. Αλλαγές στο μικροβίωμα ασθενών με ΕΚ, όπως μείωση των *Clostridium* spp. και αύξηση του *Escherichia coli* (Martinez και συν., 2008) έχουν επίσης αναφερθεί αν και σε μικρότερο βαθμό.

Και η παραγωγή των ROS από το μικροβίωμα του εντέρου καθώς και των ενεργών μορφών αζώτου (NOS) και NO από τον ξενιστή μέσω των μακροφάγων, ως ανταπόκριση στη φλεγμονή, παίζουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεια των ΙΦΝΕ (Irrazabal και συν., 2014, Collins και συν., 2011, Nougayrede και συν., 2006).

Το ερώτημα που εγείρεται όσον αφορά το διαταραγμένο μικροβίωμα των ασθενών με ΙΦΝΕ είναι εάν πρόκειται για αποτέλεσμα της εκτεταμένης φλεγμονώδους απόκρισης ή εάν αυτό προκαλεί την ενεργοποίησή της. Η άκρη του νήματος σε αυτόν το φαύλο κύκλο είναι δύσκολο να εντοπιστεί καθώς το εντερικό μικροβίωμα ακόμα και των υγιών ατόμων είναι ευμετάβλητο ανάλογα με την διατροφή και άλλους πιθανούς γνωστούς και άγνωστους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η ανάγκη της πλήρους αποσαφήνισης του ρόλου του μικροβιώματος στα ΙΦΝΕ υπογραμμίζεται και από την πρόσφατη επιτυχία της διαχείρισης των συγκεκριμένων ασθενών μέσω μεταμόσχευσης κοπράνων (Fecal Microbiota Transplants, FMTs) (Suskind και συν., 2015). Πρόκειται για την τεχνική της μεταμόσχευσης κοπράνων από έναν υγιή δότη σε κάποιον που νοσεί με σκοπό την αποκατάσταση της υγιούς χλωρίδας στο έντερο του ασθενούς.

2.2.4 Ανοσολογικοί παράγοντες

Η ανοσία αποτελεί μία από τις φυσιολογικές λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού και μπορεί να διακριθεί στην έμφυτη (μη ειδική) και στην επίκτητη (ειδική) ανοσία. Το ανθρώπινο σώμα βασίζεται στην ανοσολογική απόκριση για την αναγνώριση εσωτερικών και εξωτερικών παραγόντων από ειδικά T κύτταρα, τα οποία πολλαπλασιάζονται και αφενός παράγουν κυτοκίνες και αφετέρου διεγείρουν τα B λεμφοκύτταρα, που διαφοροποιούνται σε πλασματοκύτταρα και απελευθερώνουν αντισώματα. Η δράση των T κυτταροτοξικών κυττάρων και των αντισωμάτων ολοκληρώνει την ανοσολογική απόκριση. Οι δύο τύποι ανοσίας αλληλοσυμπληρώνονται και η δράση τους είναι καθοριστική έναντι των παθογόνων (McCurley και συν., 2012), παρόλα αυτά υπάρχουν και διαφορές μεταξύ τους.

2.2.4.1 Έμφυτη ανοσία

Η φυσική (μη ειδική) ανοσολογική απόκριση αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας και δεν προϋποθέτει την προηγούμενη επαφή του οργανισμού με κάποιο παθογόνο. Η λειτουργία του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος βασίζεται σε μηχανικούς (π.χ. επιδερμίδα, βλεννογόνοι επιφάνειες), χημικούς (π.χ. λυσοζύμη, βλέννα) και μικροβιολογικούς (συμβιωτικοί μικροοργανισμοί) φραγμούς άμυνας, σε χυμικούς παράγοντες (συμπλήρωμα, κυτοκίνες) και στα κυτταρικά του στοιχεία (π.χ. φαγοκύτταρα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα) (Yuan και Walker 2004). Οι αποκρίσεις του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος των θηλαστικών εκδηλώνονται μέσω τριών βασικών λειτουργιών του: α) της αναγνώρισης των μικροοργανισμών β) της ανάπτυξης αντίδρασης φλεγμονής και γ) της ενεργοποίησης στοιχείων του επίκτητου ανοσοποιητικού συστήματος μέσω μιας διαδικασίας που είναι γνωστή ως παρουσίαση αντιγόνου.

Η ανίχνευση των μικροβιακών αντιγόνων από τα κύτταρα της φυσικής ανοσίας (εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, Intestinal Epithelium Cells, IECs), όπως είναι τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα και τα δενδριτικά (DCs), μεσολαβείται μέσω των υποδοχέων αναγνώρισης μοριακών προτύπων (Pattern Recognition Receptors, PRRs), οι οποίοι αναγνωρίζουν μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με τα παθογόνα (Pathogen Associated Molecular Patterns, PAMPs) αλλά και μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με βλάβη (Damage Associated Molecular Patterns, DAMPs). Οι κύριοι αντιπρόσωποι των PRRs είναι οι υποδοχείς τύπου Toll (Toll Like Receptors, TLRs), που κατά κύριο λόγο εντοπίζονται στην επιφάνεια των κυττάρων, και οι ενδοκυτταρικοί υποδοχείς τύπου NOD (Caterpillar-(CARD)/NOD). Οι καταρράκτες σηματοδότησης που επάγονται μέσω των PRRs έχουν, μεταξύ άλλων, σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα (NF)-κΒ, ο οποίος με τη σειρά του επάγει τη μεταγραφή των γονιδίων σηματοδοτικών μορίων (χημειοκίνες, κυτοκίνες) που ελέγχουν την ανάπτυξη της φλεγμονώδους αντίδρασης.

Όσον αφορά τα ΙΦΝΕ, ο εντερικός βλεννογόνος διαδραματίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο. Αποτελείται από μία εσωτερική σταθερή στιβάδα και από μία εξωτερική χαλαρότερη στιβάδα η οποία είναι περισσότερο διαπερατή και στην οποία διαβιούν συμβιωτικά βακτήρια. Σε επαφή με την εσωτερική στιβάδα του βλεννογόνου εντοπίζεται το εντερικό επιθήλιο το οποίο αποτελείται από εντεροκύτταρα και εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα, όπως τα κύτταρα Goblet και Paneth. Ο ελαττωματικός επιθηλιακός φραγμός και η αυξημένη εντερική διαπερατότητα αποτελούν πρωτογενή παθογενετικό μηχανισμό των ΙΦΝΕ και έχουν επισταμένα παρατηρηθεί στους συγκεκριμένους ασθενείς (Salim και Soderholm 2011).

Κατά την εντερική φλεγμονή, τα IECs παράγουν ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-) και NO μέσω της ενεργοποίησης του NOX και της προκλητής συνθάσης νιτρικού οξειδίου (iNOS), αντίστοιχα, τα οποία επάγονται από φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Η εκτεταμένη παραγωγή των ROS αλλοιώνει τον

επιθηλιακό φραγμό με αποτέλεσμα την έναρξη φλεγμονής στον γαστρεντερικό σωλήνα (Banan και συν., 1999, Rao και συν., 1999).

Τα ανοσοποιητικά κύτταρα, στο φλεγμαίνων εντερικό βλεννογόνο ασθενών με ΙΦΝΕ, παράγουν φλεγμονώδεις παράγοντες, όπως ο TNF-α και η INF-γ, οι οποίοι επάγουν την έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με την απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων, όπως η κασπάση-1 και αναστέλλουν την έκφραση αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών, όπως η Bcl-2, οδηγώντας σε αυξημένη απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων, μειωμένη ικανότητα των επιθηλιακών κυττάρων να εμποδίζουν τα παθογόνα και κατ'επέκταση σε αυξημένη διαπερατότητα του εντερικού βλεννογόνου (Halliwell και Whiteman 2004). Επιπρόσθετα, κατά την ενεργό φάση της νόσου, οι ασθενείς παρουσιάζουν σημαντική μείωση στις συνδετικές πρωτεΐνες του επιθηλίου και στο αντίστοιχο mRNA τους (Dalle-Donne I και συν., 2003) με αποτέλεσμα την είσοδο των παθογόνων στην ελασματοειδή ουσία (lamina propria) την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών και την περαιτέρω αύξηση της εντερικής επιθηλιακής διαπερατότητας.

2.2.4.2 Επίκτητη ανοσία

Σε αντίθεση με την έμφυτη ανοσία, η επίκτητη διαθέτει ειδικότητα και ανοσοποιητική μνήμη. Οι αποκρίσεις του επίκτητου ανοσοποιητικού συστήματος διακρίνονται στην κυτταρική και στη χυμική και εκδηλώνονται μέσω των T- και B-λεμφοκυττάρων αντίστοιχα. Η σύνδεση του αντιγόνου με τους επιφανειακούς υποδοχείς των B-λεμφοκυττάρων οδηγεί στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίησή τους σε πλασματοκύτταρα τα οποία παράγουν και εκκρίνουν των υποδοχέα σε διαλυτή μορφή (αντισώματα). Αντίθετα, οι υποδοχείς των T-λεμφοκυττάρων (TCR) μπορούν να αναγνωρίσουν μόνο τα αντιγόνα τα οποία παρουσιάζονται στην επιφάνεια άλλων κυττάρων και είναι συνδεδεμένα με τα μόρια του κύριου συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC). Η παρουσίαση των αντιγόνων στα T-λεμφοκύτταρα πραγματοποιείται και από κύτταρα τα οποία είναι εξειδικευμένα ως προς την λειτουργία αυτή (αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, APC), και στα οποία περιλαμβάνονται τα μακροφάγα, τα B-λεμφοκύτταρα και τα δενδριτικά κύτταρα (Goldsby και συν., 2003). Υπάρχουν δύο κύριοι υπο-πληθυσμοί των T-λεμφοκυττάρων, τα βοηθητικά (Th) και τα κυτταροτοξικά (Tc). Βάση των κυτοκινών που παράγουν τα Th λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε τύπου 1 (Th1), τύπου 2 (Th2) και τύπου 17 (Th17) λεμφοκύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, τα Th1 κύτταρα είναι απαραίτητα για τον περιορισμό των ενδοκυτταρικών παθογόνων, τα Th2 δρουν προστατευτικά ενάντια σε παράσιτα και μεσολαβούν στις αλλεργικές αντιδράσεις και τα Th17 συμβάλουν στην εκκαθάριση εξωκυττάρων βακτηρίων και μυκήτων (Romagnani 1994, Korn και συν., 2009). Τα ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα (Treg) αποτελούν έναν τρίτο τύπο T-λεμφοκυττάρων, τα οποία αποτρέπουν την

υπερενεργοποίηση της ανοσοαπόκρισης μέσω της ρυθμιστικής τους δράσης (Winkler και συν., 2007).

Τα κύτταρα Th1 και Th2 βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία και σε φυσιολογικές συνθήκες οι κυτοκίνες που εκκρίνουν αλληλορυθμίζονται. Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως οι IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ου εκκρίνονται από τα Th1 κύτταρα συμμετέχουν στην κυτταρική ανοσία. Αντίθετα, οι αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως οι IL-4, IL-10 και IL-13 και εκκρίνονται από τα Th2 κύτταρα συμμετέχουν στις χημικές ανοσολογικές αποκρίσεις (Xie και συν., 2013). Γενικά θεωρείται ότι αιτία για την εντερική φλεγμονή στη νC αποτελεί μη φυσιολογική Th1 ανοσολογική απόκριση, η οποία πυροδοτείται από τα αυξημένα επίπεδα των IL-18 και IL-12 του βλεννογόνου (Podolsky 2002) ενώ η ΕΚ θεωρείται μία Th2 διαμεσολαβούμενη πάθηση με εκτεταμένη παραγωγή IL-5 και IL-13 (Di Sabatino και συν., 2012). Ερευνητές όμως έχουν πρόσφατα ισχυριστεί ότι μάλλον στην ΕΚ συμμετέχουν και οι δύο τύποι κυττάρων, Th1 και Th2, αλλά σε διαδοχικούς χρόνους (Pang και Zheng 2004).

Τα Th17 κύτταρα χαρακτηρίζονται από την παραγωγή υψηλών συγκεντρώσεων κυρίως IL-17A αλλά και IL-17F, IL-21 και IL-22 (Zhou και συν., 2007). Υψηλά επίπεδα μεταγραφής της IL-17A έχουν ανιχνευθεί τόσο στο βλεννογόνο ασθενών με νC όσο και ασθενών με ΕΚ σε σύγκριση με υγιή άτομα (Kobayashi και συν., 2008, Fujino και συν., 2003). Τα Treg, από την άλλη, παράγουν τις αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες IL-10 και TGF- β και εμποδίζουν την ενεργοποίηση και την δράση των T κυττάρων που έχουν διαφύγει από άλλους μηχανισμούς ανοχής (Valencia και συν., 2006). Παρομοίως με τα Th1/Th2 και τα κύτταρα Th17/Treg βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία με την συγκέντρωση του TGF- β να καθορίζει αν θα υπερισχύσει η παρουσία των Th17 ή των Treg (Korn και συν., 2009). Παρόλα αυτά τα κύτταρα Treg μπορούν να μετασχηματιστούν με μη αναστρέψιμο τρόπο σε Th17 μέσω των κυτοκινών IL-6 και/ή IL-23 (Geremia και συν., 2014, Kitani και συν., 2008). Αυξημένος λόγος Th17/Treg έχει βρεθεί σε ασθενείς με ΙΦΝΕ υποδεικνύοντας την πιθανή συμμετοχή της συγκεκριμένης διαταραχής στα ΙΦΝΕ (Elson και συν., 2007).

2.2.5 Κληρονομική προδιάθεση

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει υπάρξει μεγάλη πρόοδος σχετικά με τη συμβολή του γενετικού υποβάθρου στα ΙΦΝΕ (Gaya και συν., 2006). Αυτό έχει καταστεί εφικτό χάρη στις τεχνολογικές προόδους στην ανάλυση του DNA και της αλληλουχίας του και στη χρήση μεγάλων πολυεθνικών βάσεων δεδομένων (Duerr 2007). Εργαλείο του γενετικού ελέγχου αποτελούν οι μελέτες γενετικής συσχέτισης (GWAS) οι οποίες ταυτοποιούν τους μονούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs).

Το πρώτο συσχετιζόμενο με τη νC γονίδιο περιγράφηκε το 2001 (Hugot και συν., 2001, Ogura και συν., 2001) και από τότε έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 200 γενετικοί τόποι κινδύνου σχετιζόμενοι

με τα ΙΦΝΕ (Duerr και συν., 2006, Hampe και συν., 2007, Uniken και συν., 2017). Οι γενετικοί τύποι κινδύνου συγκεκριμένα για την ΕΚ είναι οι IL-10 και HLA ενώ για τη νόσο του Crohn είναι οι NOD2, ATG16L1 και IRGM1 (Franke και συν., 2008, Fisher και συν., 2008, Anderson και συν., 2011).

Το CARD15/NOD2, το πρώτο γονίδιο ευαισθησίας που ανακαλύφθηκε για τη νC, και εκφράζεται στα μονοκύτταρα και στα κύτταρα Paneth, κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, η οποία αρχικά περιγράφηκε ως ένας ενδοκυτταρικός υποδοχέας που αναγνωρίζει ένα διατοιχωματικό μουραμυλο-διπεπτίδιο (MDP), ένα διατηρημένο μοτίβο που είναι παρών στις πεπτιδογλυκάνες των Gram-θετικών και αρνητικών βακτηρίων (Inohara και συν., 2003), και παίζει σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες των αντιβακτηριακών πεπτιδίων που παράγονται από τα κύτταρα. Μεταλλάξεις στον υποδοχέα NOD2 οδηγούν σε αυξημένους μικροβιακούς πληθυσμούς που προσκολλώνται στο επιθήλιο και σε μειωμένη παραγωγή της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10 (Kostic και συν., 2014, Manichanh και συν., 2006).

Γενετικές αναλύσεις έχουν αποδείξει και τον αναγκαίο ρόλο της αυτοφαγίας στις ανοσολογικές αποκρίσεις στα ΙΦΝΕ, και τα σχετιζόμενα με την αυτοφαγία γονίδια είναι τα ATG16L1 και IRGM (Hampe και συν., 2007, McCarroll και συν., 2008). Η αυτοφαγία εμπλέκεται στην ενδοκυτταρική ομοιόσταση και μέσω της δημιουργίας μιας διπλής μεμβράνης γύρω από εισβάλλοντα ενδοκυτταρικά βακτήρια ή από κυτταροπλασματικά συστατικά συμβάλλει στην υποβάθμιση και την ανακύκλωση κυτοσολικών συστατικών και οργανιδίων καθώς και στην αντίσταση έναντι των μολύνσεων και την απομάκρυνση ενδοκυτταρικών μικροβίων (Khor και συν., 2011). Το γονίδιο ATG16L1 είναι απαραίτητο σε όλες τις εκφάνσεις της αυτοφαγίας, και η κωδικοποιημένη μετάλλαξη T300A σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για νC (Hampe και συν., 2007). Οι πολυμορφισμοί του IRGM οι οποίοι σχετίζονται με νC οδηγούν σε μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης. Επιπρόσθετα, τα επιθηλιακά και τα δενδριτικά κύτταρα τα οποία περιέχουν μεταλλάξεις των ATG16L1 και NOD2 εμφανίζουν μειωμένο βαθμό αυτοφαγίας (Kuballa και συν., 2008) και συμβάλλουν στις μορφολογικές αλλοιώσεις των κυττάρων Paneth σε ασθενείς με νC (VanDussen και συν., 2014).

Στο ίδιο σκεπτικό με την αυτοφαγία, η απορρύθμιση του διπλώματος των πρωτεϊνών, μπορεί επίσης να συμβάλει στην παθογένεση των ΙΦΝΕ. Η αύξηση της συγκέντρωσης μη-φυσιολογικά αναδιπλωμένων (misfolded) πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο, η οποία αναφέρεται και ως «στρες του ενδοπλασματικού δικτύου» (endoplasmatic reticulum stress), κινητοποιεί σειρά διαδικασιών γνωστή ως απόκριση μη-φυσιολογικά αναδιπλωμένων πρωτεϊνών (Unfolded Protein Response, UPR) με σκοπό την διακοπή της μεταγραφικής διαδικασίας, την αύξηση της μεταγραφής συνοδών πρωτεϊνών (chaperones) και στην κινητοποίηση μηχανισμών απόπτωσης του κυττάρου. Η

εκδήλωση της απόκρισης UPR θεωρείται παθογενετικός μηχανισμός πολλών ιδιοπαθών ασθενειών (Groenendyk και συν., 2010).

Επιπλέον, μία σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ΙΦΝΕ και του γονιδίου IL23R έχει πρόσφατα διατυπωθεί (Duert και συν., 2006). Το γονίδιο IL23R κωδικοποιεί μία υπομονάδα του υποδοχέα της προ-φλεγμονώδους κυτοκίνης IL-23, ενός πεπτιδίου που συμμετέχει στη παραγωγή των Th17 κυττάρων. Το μονοπάτι της IL-23 και των Th17 είναι καλά τεκμηριωμένο στην παθογένεια των ΙΦΝΕ με τους γενετικούς τόπους ευαισθησίας IL23R, IL12B, JAK2 και STAT3 να έχουν ταυτοποιηθεί στη νC και στην ΕΚ (Brand S και συν., 2009, Anderson και συν., 2011).

2.3 Διαχείριση των ΙΦΝΕ

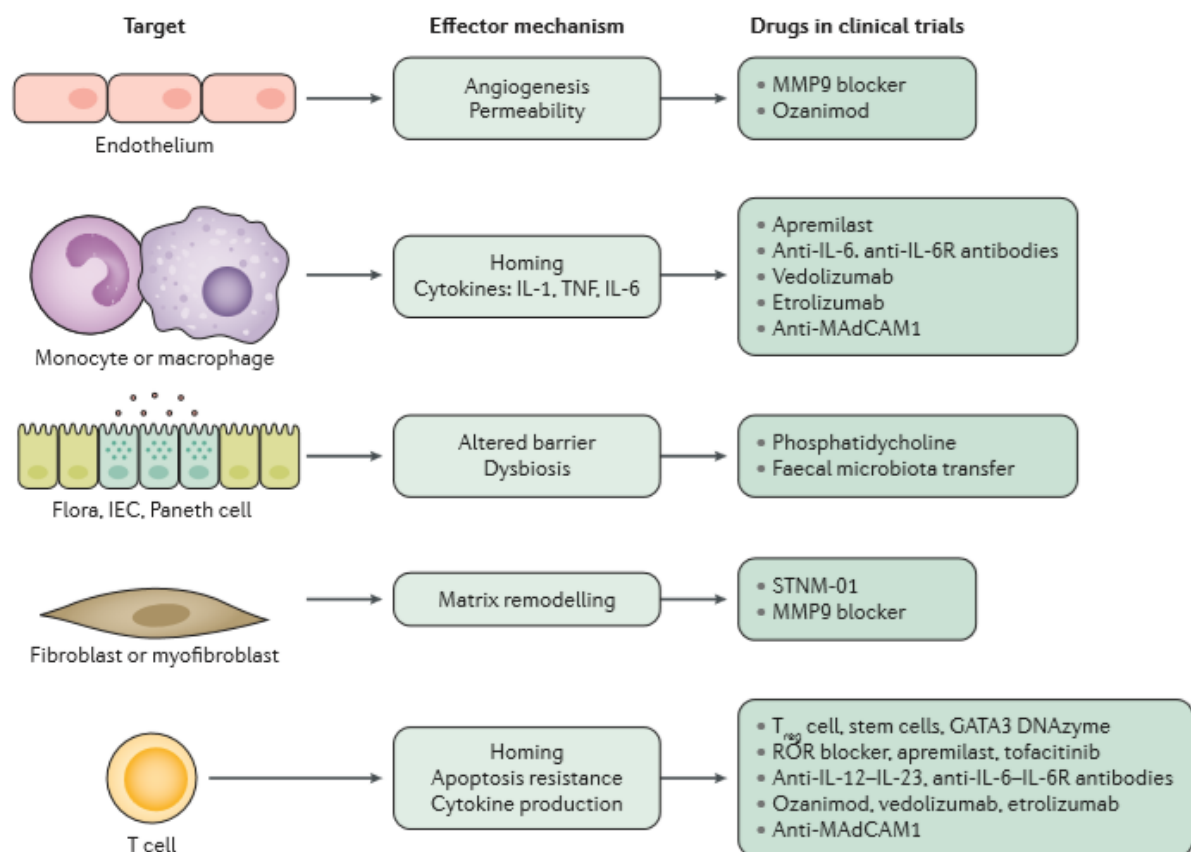
Στόχος της θεραπευτικής διαχείρισης στα ΙΦΝΕ είναι η επίτευξη και διατήρηση της ύφεσης καθώς και η πρόληψη εξέλιξης της ασθένειας (Wedlake και συν., 2014) ενώ αποτελεί μία ακριβή και περίπλοκη διαδικασία με τους ασθενείς συνήθως να απαιτούν διεπιστημονική φροντίδα, βιολογικές θεραπείες, νοσηλεία και χειρουργεία (Mehta 2016).

2.3.1 Φαρμακευτική αγωγή

Η φαρμακευτική αγωγή των ΙΦΝΕ ακολούθησε πολλά στάδια τα τελευταία πενήντα χρόνια. Η αρχή έγινε με την ανακάλυψη της σουλφασαλαζίνης το 1942 στη Σουηδία. Η σουλφασαλαζίνη (5-ASAs) αποτελεί σημαντικό αντιφλεγμονώδες φάρμακο που χρησιμοποιείται συχνά σε ασθενείς με ΕΚ (Allgayer 2003), καθώς επάγει και διατηρεί την ύφεση και μπορεί πιθανώς να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης όγκων συσχετιζόμενων με την κολίτιδα σε αυτούς τους ασθενείς (Velayos και συν., 2005). Αντίθετα, δείχνει μικρή επίδραση στην ανακούφιση των κλινικών συμπτωμάτων και της φλεγμονής του ιστού σε ασθενείς με νC (Lim και συν., 2016). Στη συνέχεια μια σειρά από φάρμακα σημάδεψαν τις δεκαετίες που πρωτοχρησιμοποιήθηκαν στην πάθηση: τη δεκαετία του 1950 τα κορτικοστεροειδή (κορτιζόνη), τα οποία ευνοούν την επαγωγή ύφεσης στη νC και στην ΕΚ, όμως δεν αποτελούν θεραπεία διατήρησης της ύφεσης στα ΙΦΝΕ (Baumgart και Sandborn 2012, Danese και Fiocchi 2011), τη δεκαετία του 1980 τα ανοσοκατασταλτικά/ανοσοτροποποιητικά φάρμακα όπως η αζαθειοπρίνη (AZA), η 6-μερκαπτοπουρίνη (6-MP), η κυκλοσπορίνη Α (CyA), η τακρολίμη και την δεκαετία του 1990 η μεθοτρεξάτη (MTX).

Καθώς πολλοί ασθενείς παρουσιάζουν δυσανοχή ή αντίσταση στις φαρμακευτικές θεραπείες με τους κλασικούς παράγοντες παρουσιάζεται μία επείγουσα ανάγκη για εύρεση καινοτόμων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Σε αυτό το πλαίσιο, την τελευταία δεκαετία, παράγοντες αντι-TNF όπως το ινφλιξιμαμπ εισάχθηκαν στην κλινική θεραπεία των ΙΦΝΕ. Οι βιολογικοί παράγοντες περιλαμβάνουν ειδικά βιομηχανοποιημένα αντισώματα έναντι του παράγοντα νέκρωσης των όγκων-α (anti-TNFα: Infliximab, Humira, Cimzia), μιας ουσίας που παράγεται από πληθώρα κυττάρων που δεν ανήκουν απαραίτητα στο ανοσοποιητικό σύστημα. Η συγκεκριμένη κυτοκίνη έχει πλειοτροπική δράση στο εντερικό τοίχωμα. Μεταξύ άλλων επάγει τη νεοαγγειογένεση (Rutella και συν., 2011), ενεργοποιεί τα μακροφάγα προς παραγωγή προφλεγμονοδών κυτοκινών, αυξάνει την απόπτωση των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων (Juuti-Uusitalo και συν., 2011) και ρυθμίζει την απόπτωση των T κυττάρων (Atreya και συν., 2011).

Έτσι, καθώς τα αντι-TNF αντισώματα μπορούν να καταστείλουν την εντερική φλεγμονή στα



Εικόνα 12: Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις στις ΙΦΝΕ με τους συγκεκριμένους στόχους τους (Neurath 2017)

ΙΦΝΕ μέσω ποικίλων μηχανισμών η χρήση των βιολογικών παραγόντων σηματοδότησε μια πραγματική επανάσταση στον τρόπο θεραπευτικής αντιμετώπισης των ΙΦΝΕ και βελτίωσε σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών μειώνοντας παράλληλα τους δείκτες νοσηρότητάς τους. Πιο συγκεκριμένα, το ινφλιξιμαμπ έχει αποδειχθεί ικανό να επάγει και να διατηρεί την ύφεση τόσο

στη νC όσο και στην ΕΚ (Colombel και συν., 2010, Hanauer και συν., 2002). Επιπρόσθετα, μπορεί να συνδυαστεί με ανοσοκατασταλτικούς παράγοντες όπως η αζαθειοπρίνη. Προοπτικές κλινικές δοκιμές (Panaccione και συν., 2014) έχουν δείξει ότι η θεραπεία που συνδυάζει το ινφλιξιμαμπ και την αζαθειοπρίνη είναι ανώτερη στο να επάγει κλινική ύφεση από ότι η μονοθεραπεία με τον ένα ή τον άλλο παράγοντα ξεχωριστά στα ΙΦΝΕ. Παρόλα αυτά, η ανάγκη για νέα θεραπευτικά σχήματα παραμένει με αποτέλεσμα πληθώρα νέων φαρμάκων να δοκιμάζονται σε κλινικές δοκιμές για τα ΙΦΝΕ (**Εικόνα 12**). Με την εισαγωγή καινούριων εγκεκριμένων φαρμάκων στο μέλλον, αποτελεί εξαιρετικής σημασίας ο προσδιορισμός βιοδεικτών που θα προβλέπουν και θα ελέγχουν τη θεραπευτική επιτυχία με σκοπό την επίτευξη εξατομικευμένης θεραπείας.

Παρόλο που οι φαρμακολογικοί παράγοντες αποτελούν θεραπεία εκλογής (Talley και συν., 2011) οι ανεπιθύμητες παρενέργειες που σχετίζονται με αυτά τα φάρμακα κατά την εκτεταμένη περίοδο χρήσης τους και ο αυξημένος ρυθμός υποτροπής των ασθενών περιορίζουν τη χρήση τους (Barnes και Adcock 2009). Η σουλφουσαλαζίνη για παράδειγμα, μπορεί να ερεθίσει την κοιλίτιδα οδηγώντας σε διάρροιες, κοιλιακές κράμπες και δυσφορία (Tremblay και συν., 2011). Τα αντιβιοτικά, μία συνηθισμένη θεραπεία στη νC, μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά το μικροβίωμα και να πυροδοτήσουν αντίσταση. Επιπρόσθετα, τα ανοσοκατασταλτικά και τα αντι-φλεγμονώδη φάρμακα (όπως τα κορτικοστεροειδή) έχουν πολλές ανεπιθύμητες παρενέργειες (Sartor 2004). Μακροπρόθεσμα, $\leq 25\text{-}33\%$ των ασθενών με ΕΚ θα χρειαστούν χειρουργείο εάν οι φαρμακολογικές προσεγγίσεις δεν επιτύχουν ή στην περίπτωση επιπλοκών όπως στενώσεις, φίστουλες και αποστήματα (κυρίως στη νC) (Zhu και Li 2012). Η δράση αυτών των φαρμάκων, στα πλαίσια μακροχρόνιας χρήσης, να επάγουν έντονες δυσμενείς παρενέργειες και το υψηλό κόστος των συγκεκριμένων θεραπειών για τους ασθενείς καθιστά απαραίτητη την διερεύνηση καινοτόμων και εναλλακτικών φαρμακολογικών προσεγγίσεων (Fok και συν., 2012).

2.3.2 Διαιτητική διαχείριση

Η δυσθρεψία, αποτελεί συχνό φαινόμενο μεταξύ των ασθενών με ΙΦΝΕ. Συνίσταται από τον πρωτεϊνοθερμιδικό υποσιτισμό που εμφανίζεται ως απώλεια βάρους, την αλλοιωμένη σύσταση σώματος και την έλλειψη μικροθρεπτικών συστατικών και αποτελεί τον πιο σημαντικό παράγοντα που συνδέεται με δυσμενή έκβαση σε αυτούς τους ασθενείς (Sandhu και συν., 2015, Hengstermann και συν., 2008). Πέρα από τις προαναφερθέντες συνιστώσες η κατάσταση δυσχεραίνεται λόγω των αυξημένων ενεργειακών αναγκών και κατ'επέκταση του υψηλότερου μεταβολικού ρυθμού που έχουν οι ασθενείς με νC σε σχέση με τα υγιή άτομα (Filippi και συν., 2006). Η εξήγηση αυτού του φαινομένου βασίζεται στην δράση των προφλεγμονωδών κυτοκινών και στον αυξημένο ρυθμό οξείδωσης των λιπιδίων (Toptygina και συν., 2014, Gerasimidis και συν., 2011).

Στόχοι, λοιπόν, της διαιτολογικής παρέμβασης αποτελούν η εξασφάλιση της καλής κατάστασης θρέψης, η ανακούφιση των συμπτωμάτων και πιθανώς η επίδραση στην ενεργότητα της νόσου (Halmos και Gibson 2015) ενώ μέσω παρακολούθησης της θρέψης και κατάλληλης παρέμβασης μπορεί να γίνει και πρόληψη της εμφάνισης δυσμενών συμπτωμάτων. Είναι επίσης σημαντικό ότι δεν υπάρχει μία δίαιτα κατάλληλη για όλους τους ασθενείς με ΙΦΝΕ. Κάθε ένας από αυτούς αποτελεί μία ξεχωριστή περίπτωση και οι διαιτητικές συστάσεις πρέπει να είναι ειδικά διαμορφωμένες και βασισμένες στην πορεία της ασθένειας, σε τυχόν χειρουργικές παρεμβάσεις και στον τύπο της φαρμακοθεραπείας.

Κατάλληλη, λοιπόν, διατροφή σε συγκεκριμένες περιόδους της ασθένειας μπορεί να διευκολύνει την επίτευξη ή την διατήρηση ύφεσης και κυρίως τη βελτίωση ποιότητας ζωής των ασθενών. Κατά την φάση έξαρσης της νόσου, μία δίαιτα χαμηλή σε φυτικές ίνες συστήνεται για ασθενείς με νC, διάρροια και κοιλιακό πόνο, καθώς μειώνει αφενός την διέλευση αντιγόνων των κοπράνων στο έντερο που φλεγμαίνει και αφετέρου τον όγκο και την συχνότητα των κενώσεων. Παρόλα αυτά, η σύσταση αυτή δεν ισχύει για ασθενείς με ΕΚ, καθώς μπορεί να αναπτύξουν δυσκοιλιότητα και σε ασθενείς με στενωτικού τύπου νC. Τέτοιοι ασθενείς παροτρύνονται να ακολουθούν μια δίαιτα πλούσια σε φυτικές ίνες σύμφωνα και με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Γαστρεντερολογίας (World Gastroenterology Organization Global Guidelines, 2009). Σύμφωνα, όμως, με κατευθυντήριες οδηγίες της ESPEN δεν υπάρχει ειδική δίαιτα για τα ΙΦΝΕ ούτε και δίαιτες αποκλεισμού που να συστήνονται για επαγωγή ύφεσης σε ασθενείς με ενεργό νόσο (Forbes και συν., 2017).

Κατά την περίοδο της ύφεσης, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ασθενείς με δυσανεξία στη λακτόζη, μετεωρισμούς, στενώσεις/συρίγγια, εκτομή ειλεού (στεατόρροια) και χρόνια λήψη κορτικοστεροειδών.

2.3.2.1 Υποστήριξη θρέψης

Η υποστήριξη θρέψης θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε περιπτώσεις δυσθρεψίας, ως μέσο πρόληψης/αντιμετώπισης θρεπτικών ανεπαρκειών ή κακής θρέψης, για την περιεγχειρητική υποστήριξη του ασθενούς και ως μέσο επίτευξης/διατήρησης της ύφεσης της ασθένειας, κυρίως σε παιδιατρικούς ασθενείς (αποκλειστικά ή συμπληρωματικά) (Lochs 2010).

2.3.2.2 Εντερική διατροφή (ΕΔ)

Η εντερική σίτιση, στους ενήλικες με ΙΦΝΕ, έχει στόχο την αντιμετώπιση της κακής θρέψης και αποτελεί θεραπευτική επιλογή μόνο όταν η θεραπεία με τα κορτικοστεροειδή δεν είναι ανεκτή (Yamamoto και συν., 2009, Brown και συν., 2011, Zachos και συν., 2007). Συστήνεται όμως ως θεραπεία πρώτης γραμμής για την επαγωγή ύφεσης σε παιδιά με ενεργή νC (Forbes και συν., 2016),

καθώς επιτυγχάνει ύφεση όμοια με αυτή που προκαλούν τα στεροειδή, τα οποία μεταξύ άλλων δυσμενών παρενεργειών προκαλούν και μυϊκό καταβολισμό.

Προς το παρόν, δεν έχει εξακριβωθεί γιατί τα οφέλη που επάγει η ολική εντερική σίτιση στα παιδιά δεν ισχύουν για τους ενήλικες. Ένας πιθανός λόγος μπορεί να είναι ότι η συγκεκριμένη θεραπεία έχει αποτέλεσμα μέσω της μείωσης της φλεγμονής του βλεννογόνου. Στους ενήλικες ασθενείς με ΙΦΝΕ που η διάρκεια της πάθησης είναι μεγαλύτερη, οι επιπλοκές συχνότερες, και συνήθως δεν σχετίζονται με την κατάσταση της φλεγμονής, η ολική εντερική σίτιση μπορεί να είναι λιγότερο αποτελεσματική.

Πιθανοί μηχανισμοί δράσης της εντερικής σίτισης στη vC αποτελούν η βελτίωση της κατάστασης θρέψης, οι αντι-φλεγμονώδεις δράσεις, ανάλογα με τη σύσταση του διαλύματος, η προαγωγή της επούλωσης του εντερικού επιθηλίου και η τροποποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας (O'Sullivan 2009).

Η εντερική σίτιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί όχι μόνο για την επίτευξη αλλά και για την διατήρηση της ύφεσης (Akobeng και Thomas 2007, Yamamoto και συν., 2010). Ο Tagaki και συν., 2006 τυχαιοποίησε 51 ασθενείς με νόσο του Crohn σε 26 που θα λάμβαναν τη μισή θερμιδική τους πρόσληψη μέσω εντερικής σίτισης και σε 25 που θα είχαν ελεύθερη διαίτα. Μετά από ένα μέσο διάστημα παρακολούθησης 11.6 μηνών ο ρυθμός υποτροπής ήταν 34.6% για την πρώτη ομάδα και 64% για την δεύτερη ομάδα (η υποτροπή ορίστηκε ως δείκτης CDAI > 200, ή η ανάγκη για θεραπεία για ξανα-επαγωγή της ύφεσης). Αυτή η μελέτη συμπέρανε ότι η εντερική σίτιση δοσμένη ως το 50% των θερμίδων μπορεί να είναι αποτελεσματική στην διατήρηση της ύφεσης (Richman και Rhodes 2013). Ωστόσο, τα πρωτόκολλα αυτά δεν εφαρμόζονται ευρέως στην κλινική πρακτική ούτε προτείνονται στις τελευταίες οδηγίες της ESPEN (Forbes και συν., 2017).

Αρκετές μελέτες συγκρίνουν και την επίδραση διαφορετικών διαλυμάτων ΕΔ για την διαχείριση της vC: στοιχειακή, ημιστοιχειακή και πολυμερική διαίτα (Yamamoto και συν., 2009). Μία μετα-ανάλυση του οργανισμού Cochrane που αξιολόγησε 10 δοκιμές δεν έδειξε καμία διαφορά μεταξύ της στοιχειακής και μη-στοιχειακής διαίτας (Zachos και συν., 2007) ενώ δεν υπάρχει συστηματική ανασκόπηση που να δείχνει ότι κάποιο διάλυμα ΕΔ είναι καλύτερο από τα υπόλοιπα (Yamamoto και συν., 2009, Goh και O'Morain 2003). Τα πολυμερή σκευάσματα, από την άλλη, αν και προκαλούν μικρότερη ανάπαυση εντέρου έχουν πιθανό πλεονέκτημα ως προς την έκθεση του γαστρεντερικού σε συνήθη διαιτητικά υποστρώματα, που επιτρέπουν με τη σειρά τους την πλήρη έκφραση της εντερικής, χοληφόρου και παγκρεατικής δραστηριότητας. Παρόλα αυτά, μέχρι σήμερα ειδικά εμπλουτισμένα διαλύματα ειδικής σύστασης δε συστήνονται διότι δεν έχουν αναδειχθεί ξεκάθαρα οφέλη (Wild και συν., 2007, Lochs και συν., 2006, Hartman και συν., 2009, Zachos και συν., 2007, Forbes και συν., 2017).

Σε κάθε περίπτωση, κρίνεται απαραίτητη η επανεισαγωγή της φυσιολογικής δίαιτας μετά από 8 εβδομάδες αποκλειστικής ΕΔ, η οποία θα διαρκεί 7-10 ημέρες με την εισαγωγή ενός νέου γεύματος κάθε 3-4 ημέρες (Bishop και συν., 2014). Πάντως, συγκρινόμενη με τα κορτικοστεροειδή, η εντερική ή η ολική εντερική σίτιση δεν παρουσιάζει μακροπρόθεσμες παρενέργειες (Goh και O'Morain 2003), παρόλο που υπάρχουν αρκετοί άλλοι παράγοντες που πιθανώς επηρεάζουν την δραστικότητα της (Yamamoto και συν., 2009) όπως η συμμόρφωση σε αυτήν και ιδιαίτερα όσον αφορά τους παιδιατρικούς πληθυσμούς.

2.3.2.3 Παρεντερική Διατροφή (ΠΔ)

Καθώς τα διαιτητικά αντιγόνα μπορεί να προκαλούν διέγερση του βλεννογονικού ανοσοποιητικού συστήματος, η εντερική ανάπαυση μέσω ολικής παρεντερικής σίτισης (TPN) θεωρείται ως μία πιθανή θεραπευτική επιλογή για τις ΙΦΝΕ. Ο στόχος της TPN ως πρωταρχική θεραπεία για τις ΙΦΝΕ είναι η επίτευξη της εντερικής ανάπαυσης, η διόρθωση των διατροφικών ελλειμμάτων (Goh και Xiao 2009, Goh και O'Morain 2003, Scolapio 1999) και η απομάκρυνση των αντιγονικών διεγερτών του βλεννογόνου (Rajendran και Kumar 2010) ενώ η ΠΔ χορηγείται σε περιπτώσεις που η ΕΔ δεν είναι ανεκτή ή δεν επιτυγχάνεται ικανοποιητική ανάπτυξη (παιδιά) (Brown και συν., 2011, Hartman και συν., 2009).

Πιο συγκεκριμένα, προεγχειρητικά σε ασθενείς με βαριάς μορφής δυσθρεψία συστήνεται η παρεντερική ή η ολική παρεντερική διατροφή με πλεονεκτήματα που αφορούν τη βελτιωμένη επούλωση των τραυμάτων, την πρόληψη των μετεγχειρητικών επιπλοκών και την περιορισμένη περιεγχειρητική απώλεια βάρους (Pari και συν., 2013). Η διάρκεια της παρεντερικής διατροφής κατά την περιεγχειρητική περίοδο εξαρτάται από τον τύπο του χειρουργείου και την κατάσταση του ασθενούς. Διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν ότι ενώ η παρεντερική διατροφή φαίνεται να παίζει πρωταρχικό ρόλο στην διαχείριση ασθενών με ενεργό νC, δεν έχει πρωταρχική θεραπευτική επίδραση στην ενεργό ΕΚ και συνεπώς δεν επάγει κλινική ύφεση σε αυτούς τους ασθενείς. Επίσης, η ΠΔ φαίνεται ότι έχει περιορισμένο ρόλο ως θεραπεία διατήρησης της ύφεσης (Guagnozzi και συν., 2012) και δεν είναι ανώτερη των στεροειδών ή της εντερικής διατροφής.

2.3.2.4 Δίαιτες & ΙΦΝΕ

Η κύρια αρχή των αντιφλεγμονωδών διαιτών που διερευνώνται για την διαχείριση των ΙΦΝΕ βασίζεται στη μείωση των προφλεγμονωδών τύπων τροφών και/ή στην αύξηση τροφών που πιστεύεται ότι προωθούν ένα προτιμότερο εντερικό μικροβίωμα. Για παράδειγμα, η δίαιτα ειδικών υδατανθράκων (SCD) και η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης συστήνουν τον περιορισμό συγκεκριμένων υδατανθράκων και γλουτένης, αντίστοιχα, λόγω των υποπτευόμενων προφλεγμονωδών τους επιδράσεων. Ανάλογης φιλοσοφίας είναι και η παλαιολιθική δίαιτα, η (ημι)χορτοφαγική δίαιτα

πλούσια σε διαιτητικές ίνες η δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε ζυμώσιμους υδατάνθρακες (FODMAP's) καθώς και οι δίαιτες αποκλεισμού. Ενδεικτικό είναι το γεγονός ότι το 70% των ασθενών με ΙΦΝΕ εφαρμόζει δίαιτες αποκλεισμού κατά την περίοδο της ύφεσης, καθώς σύμφωνα με τους Zallot και συν., 2013 προσπαθούν να αποφύγουν την πιθανή πυροδότηση μιας έξαρσης της ασθένειας, επηρεάζοντας έτσι την κοινωνική και οικογενειακή τους ζωή. Η αποφυγή όμως διαφόρων τροφίμων οδηγεί στον αποκλεισμό ολόκληρων ομάδων τροφίμων (Brown και Roy 2010) και υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για την αποτελεσματικότητα των συγκεκριμένων διατροφικών σχημάτων από καλά σχεδιασμένες κλινικές δοκιμές.

Πληθώρα μελετών έχει αξιολογήσει και τη συμπληρωματική παροχή θρεπτικών συστατικών στα ΙΦΝΕ όπως της γλουταμίνης, της κουρκουμίνης, των ω-3 λιπαρών οξέων, των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFA), των αντιοξειδωτικών, των αυξητικών παραγόντων καθώς και των πρε- και προβιοτικών. Τα διαθέσιμα δεδομένα όμως δεν δικαιολογούν τη χορήγησή τους εκτός από τη χορήγηση προβιοτικών σε ασθενείς με ΕΚ (Hartman και συν., 2009).

Όσον αφορά την επίδραση των προβιοτικών συμπληρωμάτων στην πορεία των ΙΦΝΕ διαφέρει ανάλογα με το βακτηριακό στέλεχος και τον τύπο της ασθένειας, ενώ αντικρουόμενα αποτελέσματα έχουν συλλεχθεί για ορισμένα προβιοτικά. Στην ανασκόπησή τους ο Jonkers και συν., 2012 κατέληξαν στο ότι λόγω έλλειψης επαρκών αποδεικτικών στοιχείων δεν μπορεί να υποστηριχθεί η ευεργετική επίδραση των προβιοτικών συμπληρωμάτων στη νC. Όμως η ίδια ανασκόπηση, μία μετα-ανάλυση των Shen και συν., 2014 και μία μελέτη των Miele και συν., 2009 υποδεικνύουν ωφέλιμη επίδραση ενός προϊόντος που περιέχει πολλά στελέχη (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus thermophilus*), του VSL#3, στην επίτευξη και διατήρηση ύφεσης στην ΕΚ. Όταν χρησιμοποιούνται τα προβιοτικά συστήνεται να λαμβάνεται υπόψη η βακτηριακή μετατόπιση και η επακόλουθη βακτηριαμία. Μεγαλύτερη κατανόηση του φυσιολογικού εντερικού μικροβιώματος και καλύτερος χαρακτηρισμός των προβιοτικών στελεχών σε φαινοτυπικό και γενομικό επίπεδο απαιτούνται καθώς και η εξακριβοποίηση των μηχανισμών δράσης σε διαφορετικά κλινικά υπόβαθρα.

ΜΕΡΟΣ Β'

[Πειραματικό μέρος]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

3.1 Σκοπός μελέτης

Το 2007 διεξήχθη στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο πιλοτική μελέτη Φάσης I (Kaliora και συν., 2007, 2007b) η οποία εξέτασε την επίδραση ημερήσιας πρόσληψης 2.2g Μαστίχας Χίου (MX) σε ασθενείς με νόσο του Crohn ήπιας έως μέτριας σοβαρότητας και κατέληξε στη μείωση της ενεργότητας της νόσου και σε ρύθμιση της φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες.

Λαμβάνοντας, λοιπόν, υπόψιν πλειάδα παρόμοιων ευρημάτων που καταδεικνύουν τις ευεργετικές επιδράσεις της MX και δεδομένης της αναγνώρισής της ως φυσικό φάρμακο σχεδιάστηκε και κλινική μελέτη φάσης II, μία τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη διπλά τυφλή κλινική δοκιμή στην οποία ενήλικες ασθενείς με ΙΦΝΕ λαμβάνουν δια στόματος είτε το διατροφικό συμπλήρωμα MX είτε εικονικό φάρμακο (placebo).

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή αποτελεί μέρος της κλινικής δοκιμής φάσης II και είχε ως σκοπό την διερεύνηση της επίδρασης ημερήσιας πρόσληψης 2.8g συμπληρώματος Μαστίχας Χίου, έναντι εικονικού φαρμάκου, στην κλινική πορεία της νόσου Crohn (vC) και της ελκώδους κολίτιδας (EK), σε ενήλικες ασθενείς με ενεργή νόσο (έξαρση). Ως χρονική διάρκεια χορήγησης του συμπληρώματος ορίστηκαν οι τρεις μήνες για ασθενείς σε έξαρση. Η κλινική πορεία αξιολογήθηκε με βάση δείκτες οξειδωτικού στρες (ΟΣ) σε δείγμα αίματος. Πιο συγκεκριμένα, μετρήθηκαν η οξείδωση του ορού (total serum lag time), η οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (oxLDL) και το ουρικό οξύ (uric acid) ενώ υπολογίστηκαν και οι λόγοι oxLDL/HDL και oxLDL/LDL.

Η υπόθεση της παρούσας πιλοτικής μελέτης ήταν η χρήση της MX για την διαχείριση των ΙΦΝΕ μέσω της ρύθμισης χαρακτηριστικών δεικτών ΟΣ.

3.2 Στάδια μελέτης

Για την διεξαγωγή της μελέτης το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου και διεξήχθη σύμφωνα με τις αρχές που ορίζονται από την Διακήρυξη του Ελσίνκι (1989).

3.2.1 Στρατολόγηση ασθενών

Για τη συγκεκριμένη μελέτη, στρατολογούνται ενήλικες ασθενείς με διαπιστωμένα ΙΦΝΕ, είτε σε φάση ύφεσης είτε έξαρσης, από έμπειρους ειδικευμένους γαστρεντερολόγους σύμφωνα με τα κριτήρια επιλογής της μελέτης. Η ενημέρωση των ασθενών για τη μελέτη γίνεται είτε μέσω των συνεργαζόμενων γαστρεντερολόγων είτε μέσω του διαδικτύου στην επίσημη ιστοσελίδα των ατόμων με vC και EK (<http://www.crohnhellas.gr>). Οι ασθενείς επικοινωνούν και δηλώνουν το

ενδιαφέρον τους στην ερευνητική ομάδα, οπότε και ορίζεται συνεδρία στο χώρο του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου για περαιτέρω ενημέρωση. Εκεί ενημερώνονται αναλυτικά για το σκοπό και το είδος της μελέτης, τη χρονική διάρκεια αυτής (3 ή 6 μήνες), τα κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού των ασθενών από τη μελέτη, το είδος του διατροφικού συμπληρώματος (Μαστίχα Χίου ή εικονικό φάρμακο) και τον τρόπο λήψης αυτού (συχνότητα, ποσότητα), καθώς και τις απαιτούμενες αναλύσεις (λήψη δειγμάτων αίματος και κοπράνων).

Κριτήρια επιλογής:

- ❖ Ηλικία: 18-65 ετών
- ❖ Διαγνωσμένα ΙΦΝΕ

Κριτήρια αποκλεισμού:

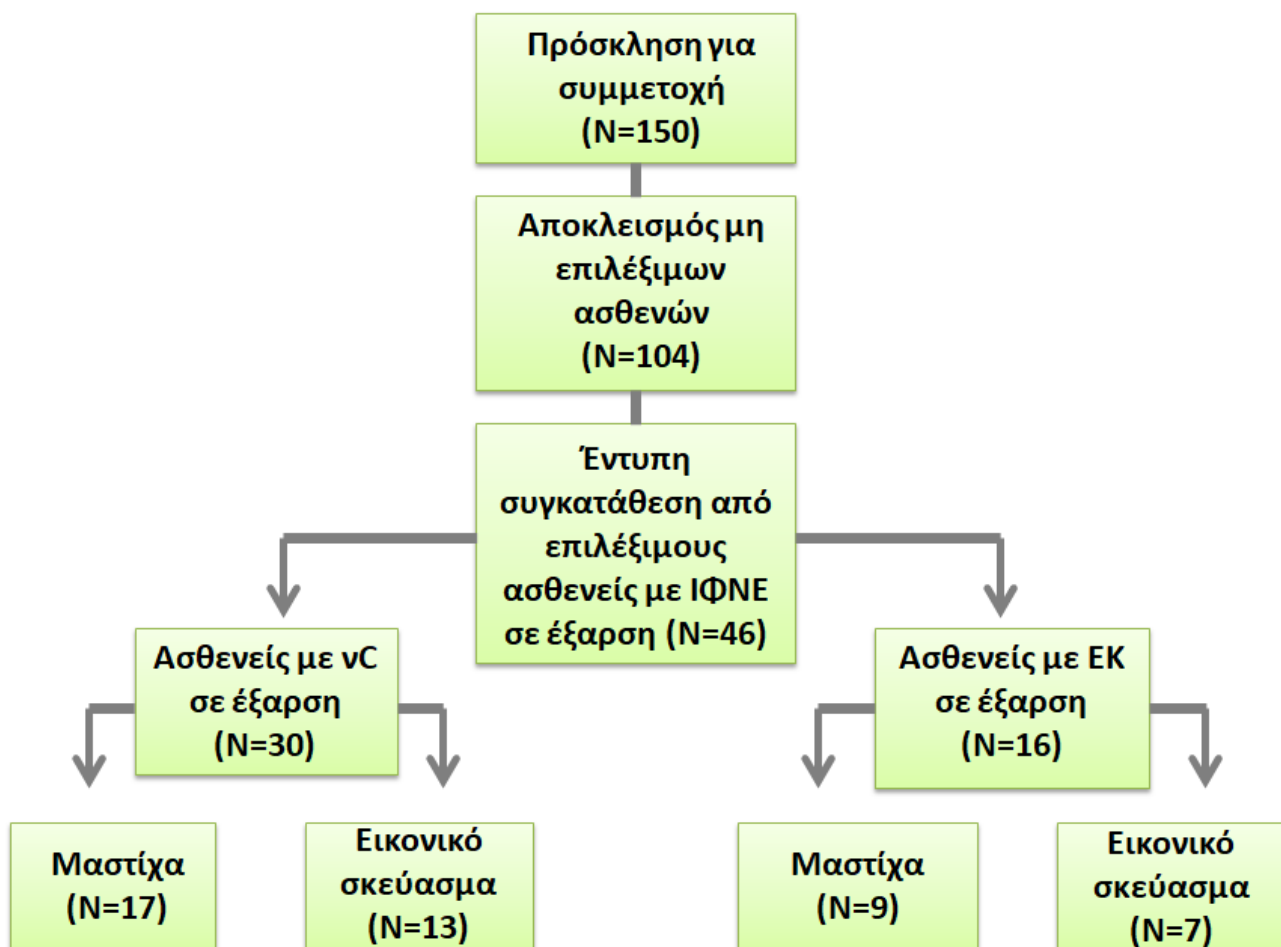
- ❖ Εντερική ή παρεντερική διατροφή
- ❖ Κατάχρηση φαρμάκων
- ❖ Χρήση κανναβινοειδών και μη ναρκωτικών ουσιών
- ❖ Κατάχρηση αλκοόλ
- ❖ Λήψη αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων
- ❖ Χορτοφαγία ή μακροβιοτική δίαιτα πριν και κατά την διάρκεια της μελέτης
- ❖ Ομοιοπαθητική
- ❖ Καρδιαγγειακά νοσήματα, καρκίνος, ιστορικό απόφραξης του μυοκαρδίου, στηθάγχη, εγκεφαλικό επεισόδιο
- ❖ Μη σταθερή φαρμακευτική αγωγή (κυρίως κατά τη διάρκεια της μελέτης)
- ❖ Ψυχιατρικές διαταραχές
- ❖ Εγκυμοσύνη, θηλασμός
- ❖ Πεπτικό έλκος ή καρκίνος του γαστρεντερικού

Λαμβάνοντας υπ'όψιν τα παραπάνω κριτήρια, οι ασθενείς που επιθυμούν να συμμετέχουν στη μελέτη συναινούν εγγράφως για τη συμμετοχή τους και ενσωματώνονται σε αυτή (βλέπε παράρτημα, σελ. 78).

3.2.2 Σχεδιασμός μελέτης

Στην παρούσα διατριβή, μελετήθηκαν ασθενείς με διαγνωσμένη νC και ΕΚ οι οποίοι βρίσκονταν σε έξαρση. Οι ασθενείς έπρεπε να λαμβάνουν καθημερινά 2.8g ΜΧ ή εικονικού φαρμάκου σε μορφή ταμπλέτας, ποσότητα που υπολογίστηκε ότι ισοδυναμεί με 4 ταμπλέτες ημερησίως, για 3 μήνες. Για λόγους ευκολίας και ομοιομορφίας της μελέτης, η πρόσληψη των ταμπλετών από τους ασθενείς

συστήθηκε να γίνεται σε δύο δόσεις: 2 ταμπλέτες το πρωί και 2 ταμπλέτες το βράδυ, τουλάχιστον 2 ώρες μακριά από τη λήψη γεύματος. Σε όλη την διάρκεια της μελέτης, οι ασθενείς έπρεπε να συνεχίσουν κανονικά τη συμβατική φαρμακευτική αγωγή. Από το σύνολο των 150 ασθενών με ΙΦΝΕ που ενδιαφέρθηκαν να συμμετάσχουν στη μελέτη φάσης II, 46 ενήλικες ασθενείς σε φάση έξαρσης, τελικά ενσωματώθηκαν. Από αυτούς, 30 ασθενείς με νC και 16 ασθενείς με ΕΚ ολοκλήρωσαν τη δοκιμή με Μαστίχα ή εικονικό φάρμακο (Σχήμα 1).



Σχήμα 6: Διάγραμμα ροής της ένταξης των ασθενών στην πιλοτική δοκιμή

Κατά την επίσκεψη των ασθενών στην αρχή της παρέμβασης ακολουθούνταν η εξής διαδικασία:

1. Ενημέρωση των ασθενών σχετικά με τη μελέτη και υπογραφή αυτών στο δελτίο συγκατάθεσης.
2. Καταγραφή ανθρωπομετρικών, δημογραφικών χαρακτηριστικών.
3. Λήψη ιατρικού ιστορικού από τους εξειδικευμένους γαστρεντερολόγους της ερευνητικής ομάδας. Το ιστορικό ήταν πλήρες και περιλάμβανε τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών, συνήθειες που επηρεάζουν τις νόσους (κάπνισμα, αλκοόλ) και ένα λεπτομερές ιστορικό της νόσου σχετικά με την ηλικία διάγνωσης και έναρξής της, τη διάρκεια αυτής, την ενεργότητα και την περιοχή εντόπισης, τα συμπτώματα και τις εξωεντερικές εκδηλώσεις, καθώς και τη θεραπεία, το φαρμακευτικό ιστορικό και την πιθανή χειρουργική παρέμβαση.
4. Μέτρηση της αρτηριακής πίεσης και των καρδιακών παλμών με ψηφιακό πιεσόμετρο (Omron M6 HEM 7321).
5. Λήψη διατροφικού ιστορικού από εκπαιδευμένους Διαιτολόγους-Διατροφολόγους της ερευνητικής ομάδας με τη χρήση ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) και ανάκλησης εικοσιτετράωρου (βλέπε παράρτημα, σελ.78).
6. Λήψη ερωτηματολογίου ποιότητας ζωής (IBDQ).
7. Λήψη 25ml αίματος από τα οποία απομονώθηκε ορός και πλάσμα για γενική εξέταση αίματος, βιοχημικές εξετάσεις, αξιολόγηση δεικτών ΟΣ και άλλες αναλύσεις, καθώς και λήψη κοπράνων για μέτρηση δεικτών φλεγμονής (λυσοζύμη, καλπροτεκτίνη).
8. Τέλος, δόθηκαν αναλυτικές πληροφορίες για τη διαδικασία λήψης των ταμπλετών (4 ταμπλέτες/ημέρα, 2 το πρωί και 2 το βράδυ) και τη χρονική διάρκεια λήψης αυτών.

3.2.3 Στάδιο παρέμβασης

Η συγκεκριμένη κλινική δοκιμή είναι τυχαιοποιημένη και «διπλά-τυφλή». Ο κάθε ασθενής, δηλαδή, εντασσόταν σε μία από τις δύο ομάδες (ομάδα μαστίχας και ομάδα εικονικού φαρμάκου) με τυχαίο τρόπο και ανεξάρτητα από τους υπόλοιπους ασθενείς και χωρίς να υπάρχει επιρροή από τις προτιμήσεις τόσο του ερευνητικού προσωπικού όσο και των ασθενών. Η τυχαιοποίηση έγινε με τη μέθοδο των εσώκλειστων ταξινομήσεων σε διαδοχικά αριθμημένους αδιαφανείς φακέλους. Επιπλέον, η κατανομή της παρέμβασης ήταν άγνωστη και από τους πάσχοντες, αλλά και από την ερευνητική ομάδα, προκειμένου να αποφευχθούν οι συνέπειες από τις υποκειμενικές προκαταλήψεις και των δύο («διπλά-τυφλή»). Ο υπεύθυνος δεν είχε κλινική εμπλοκή στη δοκιμή και εξασφάλισε ότι οι φάκελοι ήταν αδιαφανείς ενώ τους άνοιγε διαδοχικά και μόνο αφού το όνομα του συμμετέχοντα είχε γραφτεί στο φάκελο. Η τυφλοποίηση έγινε από τρίτο φορέα μετά από ανάθεση. Το γεγονός αυτό μειώνει το συστηματικό σφάλμα επιλογής και εξουδετερώνει τους συγχυτικούς παράγοντες,

επιτρέποντας την έγκυρη εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της εκάστοτε θεραπευτικής παρέμβασης.

Όλα τα διατροφικά συμπληρώματα, αυτό με τη MX και το εικονικό φάρμακο (placebo), που κατασκευάστηκαν από την Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου, ήταν κωδικοποιημένα. Τα δύο είδη ταμπλετών, είχαν το ίδιο σχήμα, μέγεθος, γεύση και άρωμα, αλλά διαφορετική σύσταση. Η σύσταση των ταμπλετών placebo ήταν: 70% άμυλο, 14% μικροκρυσταλλική κυτταρίνη, 8% άνυδρο διβασικό φωσφορικό ασβέστιο, 6% γλυκολικό νατρίουχο άμυλο, 2% στεατικό μαγνήσιο. Κάθε ασθενής σε έξαρση λάμβανε τις τέσσερις ταμπλέτες ημερησίως (2.8 g MX) για χρονικό διάστημα τριών μηνών. Κατά τη διάρκεια της παρέμβασης υπήρχε συστηματική τηλεφωνική επικοινωνία των ερευνητών με τους συμμετέχοντες προκειμένου να ληφθούν πληροφορίες σχετικά με την γενική κατάσταση υγείας των ασθενών, τυχόν παρενέργειες ή αλλαγές στη φαρμακευτική αγωγή, τη συστηματική λήψη των ταμπλετών, όπως είχε οριστεί, καθώς και να διευκρινιστούν τυχόν απορίες και προβληματισμοί τους. Τέλος, μετά το πέρας του ορισμένου χρονικού διαστήματος, έγινε επανέλεγχος των παραμέτρων της πρώτης επίσκεψης ενώ καταγράφηκε και η συμμόρφωση στο πρωτόκολλο.

3.3 Εργαστηριακές αναλύσεις

- ✓ **Απομόνωση ορού και πλάσματος:** Για την απομόνωση ορού και πλάσματος, τα δείγματα αίματος των ασθενών συλλέχθηκαν σε vacutainer παρουσία και απουσία αντιπηκτικού παράγοντα, αντίστοιχα. Τα vacutainer για την απομόνωση του ορού παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές (rpm) για 10 λεπτά και σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, λήφθηκε από το υπερκείμενο ο ορός και από το υποκείμενο το πλάσμα. Η λήψη του ορού και του πλάσματος πραγματοποιήθηκε με πιπέτα και τοποθετήθηκαν σε erpendorfs 1,5mL (6 μερίσματα) και αποθηκεύτηκαν σε βαθιά ψύξη (-80oC) μέχρι την εκτέλεση των απαραίτητων αναλύσεων.
- ✓ **Γενική εξέταση αίματος και βιοχημικός έλεγχος:** Τα δείγματα πλάσματος των ασθενών αναλύθηκαν σε βιοχημικό αναλυτή (BS 200E, MINDRAY).
- ✓ **Μέτρηση επιπέδων ουρικού οξέος στον ορό:** Προσδιορισμός ουρικού οξέος μέσω ενζυμικής χρωματομετρικής ανάλυσης (uricase PAP, Biosis).
- ✓ **Μέτρηση επιπέδων οξειδωμένης λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας στο πλάσμα:** Για τον *in vitro* ποσοτικό προσδιορισμό της oxLDL, εφαρμόστηκε η ανοσολογική δοκιμή της ‘Sandwich ELISA’ (Mercodia oxidized LDL ELIZA).
- ✓ **Μέτρηση οξείδωσης ορού:** Η ευαισθησία του ορού στην οξείδωση προσδιορίστηκε μέσω οξείδωσης της LDL με CuSO₄ (total serum oxidizability).

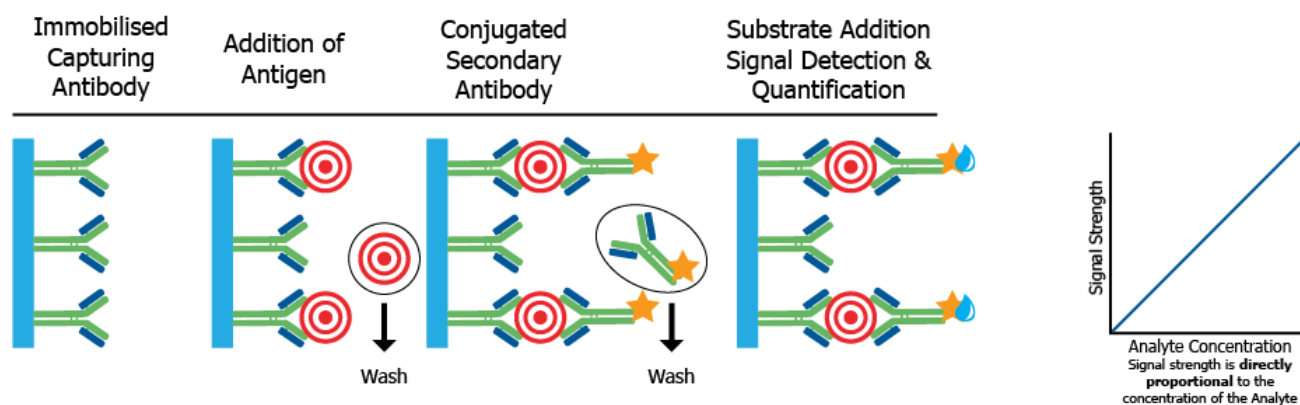
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΙΑ

4.1 Ποσοτικός προσδιορισμός οξειδωμένης LDL (oxLDL ELISA)

Δεδομένης της σχετικότητας της λιπιδικής υπεροξειδωσης με τα ΙΦΝΕ εξετάστηκε η διαγνωστική ικανότητα ενός κοινού δείκτη της συγκεκριμένης κατάστασης, της οξειδωμένης LDL, ως πιθανού βιοδείκτη του οξειδωτικού στρες. Ο προσδιορισμός της oxLDL έγινε με τη μέθοδο ‘Sandwich ELISA’. Η ανοσολογική δοκιμή της ELISA τύπου Sandwich αποτελεί μία μέθοδο ενζυμικού ανοσοπροσροφητικού προσδιορισμού που επιτρέπει τον προσδιορισμό αντισωμάτων, αντιγόνων, κυτταροκινών, χημικών ουσιών και ορμονών σε βιολογικά υγρά με τη χρήση ενζυμο-συζευγμένων αντισωμάτων και χρωμογόνου υποστρώματος, με μεγάλη ευαισθησία. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μονάδες ανά λίτρο (U/L).

4.1.1 Αρχή μεθόδου

Στη μέθοδο ‘Sandwich ELISA’ χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικά αντισώματα που αναγνωρίζουν διαφορετικούς επιτόπους του αντιγόνου. Τα αντισώματα που χρησιμοποιούνται για την πρόσδεση και την ανίχνευση των αντιγόνων είναι είτε μονοκλωνικά είτε πολυκλωνικά. Τα μονοκλωνικά αντισώματα αναγνωρίζουν έναν μόνο επίτοπο του αντιγόνου, επιτρέποντας την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ακόμα και μικρών ποσοτήτων του αντιγόνου. Τα πολυκλωνικά αντισώματα, από την άλλη, χρησιμοποιούνται ως αντισώματα πρόσδεσης.



Εικόνα 13: Σχηματική απεικόνιση ELISA τύπου sandwich

Το πρώτο αντίσωμα ακινητοποιείται στην στερεά επιφάνεια και στη συνέχεια προστίθεται το εξεταζόμενο δείγμα που περιέχει το υπό ανίχνευση αντιγόνο σε άγνωστη συγκέντρωση. Μετά την αντίδραση του πρώτου αντισώματος με το εξεταζόμενο αντιγόνο, ακολουθεί πλύση για να απομακρυνθεί ό,τι δεν δεσμεύτηκε και έπειτα προσθήκη του ενζυμοσυζευγμένου δεύτερου αντισώματος. Η ποσότητα του δεύτερου αντισώματος που θα προσδεθεί, άρα και ενζύμου, είναι ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου που έχει προσδεθεί στο πρώτο αντίσωμα. Στη συνέχεια, επαναλαμβάνεται πλύση και προστίθεται το κατάλληλο υπόστρωμα, το οποίο αντιδρά με το ένζυμο,

παράγοντας έγχρωμο προϊόν και έτσι, ανιχνεύεται η ποσότητα του προϊόντος, η οποία είναι ανάλογη αυτής του αντιγόνου που έχει συνδεθεί με το ακινητοποιημένο αντίσωμα. Το προϊόν της αντίδρασης απορροφά στα 450nm.

4.1.2 Αντιδραστήρια – Όργανα

- ✓ Φωτόμετρο Elisa
- ✓ Vortex
- ✓ Φυγόκεντρος
- ✓ Αναδευτήρας μικροτιτλοδότησης
- ✓ Πλακίδια μικροτιτλοδότησης (τρυβλίο) με 96 πηγαδάκια, αυτόματες πιπέτες και tips (1-10μL, 10-100μL, 100-1000μL), eppendorfs των 1.5mL και 2mL, falcons των 50mL
- ✓ Απιονισμένο ή δυσαπιονισμένο νερό
- ✓ Διαλύματα που περιλαμβάνονται στο εξοπλισμένο kit για την oxLDL

4.1.3 Πειραματική πορεία

Το kit της Mercodia (Ουψάλα, Σουηδία) για την οξειδωμένη LDL βασίζεται στη μέθοδο sandwich στην οποία δύο μονόκλωνα αντισώματα κατευθύνονται κατά διαφορετικών αντιγονικών επιτόπων στο οξειδωμένο μόριο της απολιποπρωτεΐνης B (ApoB). Η ApoB αποτελεί το κύριο συστατικό των λιποπρωτεϊνών χαμηλής συγκέντρωσης.

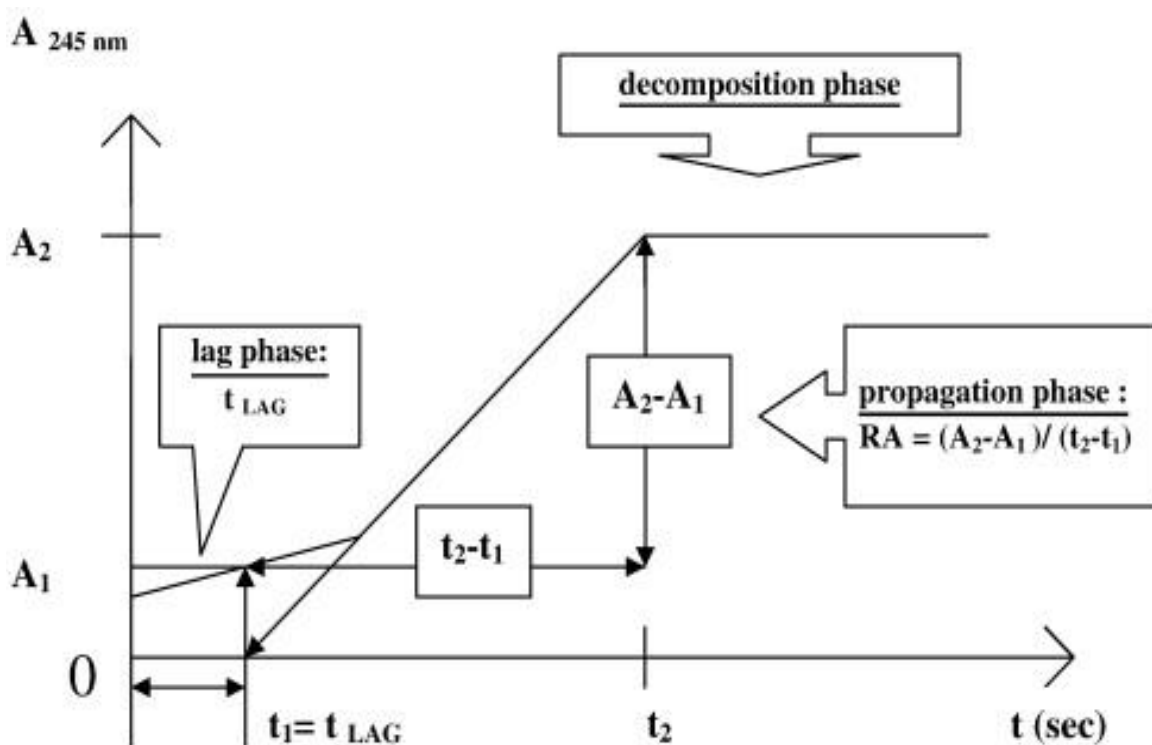
Πριν την εφαρμογή του πρωτοκόλλου τα φυγοκεντρημένα δείγματα (3000rpm για 10 λεπτά), στα οποία έχει γίνει κατάλληλη αραίωση, και τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και να έχουν παρασκευαστεί σύμφωνα με τις οδηγίες. Έπειτα, 25μL από αυτά (αντιδραστήρια, πρότυπα και δείγματα των ασθενών) προστίθενται στα πηγαδάκια του τριβλύου, το οποίο είναι επικαλυμμένο με ένα υψηλής συγγένειας για την oxLDL μονοκλωνικό αντίσωμα. Κάθε πηγαδάκι καλύπτεται με 100μL Assay Buffer και αφήνεται να επωαστεί για 2 ώρες σε συσκευή ανάδευσης (700-900 rpm) σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C). Κατά την επώαση η oxLDL στο δείγμα αντιδρά με τα anti-oxLDL αντισώματα που είναι δεσμευμένα στις υποδοχές μικροτιτλοδότησης. Μετά το χρονικό πέρας, το υπερκείμενο απομακρύνεται και ξεπλένεται 5 φορές με το διάλυμα πλύσης απομακρύνοντας έτσι συστατικά του πλάσματος που δεν έχουν αντιδράσει. Εν συνεχεία, 100μL από το anti-human ApoB αντίσωμα που είναι συζευγμένο με το ένζυμο υπεροξειδάση (conjugate buffer) προστίθεται σε κάθε πηγαδάκι και αναγνωρίζει την οξειδωμένη LDL που είναι δεσμευμένη στη στερεή φάση. Η πλακέτα επωάζεται για ακόμα 1 ώρα σε συσκευή ανάδευσης σε θερμοκρασία δωματίου. Απομακρύνεται ξανά το υπερκείμενο και ξεπλένεται όπως και πριν με το διάλυμα πλύσης για 5 φορές. Ακολουθεί προσθήκη 200μL υποστρώματος τετραμεθυλοβενζιδίνης (substrate TMB) και επώαση για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε

σκοτεινό περιβάλλον. Τέλος, προστίθενται 50μL όξινου διαλύματος τερματισμού και γίνεται τοποθέτηση του τρυβλίου στον αναδευτήρα για 5 λεπτά. Μετράται η απορρόφηση στα 450nm στο φωτόμετρο ELISA και τα αποτελέσματα εκφράζονται σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη.

4.2 Οξείδωση ορού (total serum oxidizability)

Το μέτρο οξείδωσης του ορού αποτελεί δείκτη του ΟΣ και προσδιορίζει την ευαισθησία των λιπιδίων του ορού στην οξείδωση.

4.2.1 Αρχή μεθόδου



Εικόνα 14: Κινητική της οξείδωσης των λιπιδίων του ορού μέσω του χαλκού σύμφωνα με το μοντέλο των Esterbauer και Jurgens. t_{LAG} αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών του ορού, RA αντιπροσωπεύει τη μετατροπή των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε λιποξειδικά υδροπεροξειδία (συζυγοί διένια), A = απορρόφηση, t = χρόνος (Delimaris και συν., 2008).

Για να γίνει μελέτη της οξείδωσης των LDL πρωτεϊνών *in vitro* υποβάλλονται σε οξείδωση με ιόντα Cu^{2+} κάτω από ορισμένες συνθήκες. Μετά την σύνδεση LDL- Cu^{2+} και την αναγωγή του Cu^{2+} σε Cu^{+} , αρχίζει η παραγωγή ελεύθερων ριζών. Η σταδιακή κατανάλωση των φυσικών αντιοξειδωτικών (lag phase) ακολουθείται από την αυτοοξείδωση των PUFA και τη συσσώρευση υδροπεροξειδίων (propagation phase). Τελικά, τα υδροπεροξειδία που σχηματίζονται από τα PUFA διασπώνται και σχηματίζουν διενάλες και άλλες αλδεϋδες (decomposition phase). Η ανίχνευση των υδροπεροξειδίων (συζυγοί διένια) γίνεται με φωτομέτρηση στα 245 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (t_{LAG} , s).

4.2.2 Αντιδραστήρια – Όργανα

- ✓ Διαλύματα: stock διάλυμα CuSO_4 , working διάλυμα CuSO_4 , διάλυμα PBS buffer
- ✓ Πλακίδια μικροτιτλοδότησης (τρυβλίο) με 96 πηγαδάκια, αυτόματες πιπέτες και tips (1-10 μL , 10-100 μL , 100-1000 μL)
- ✓ Ηλεκτρονική ζυγαριά εργαστηρίου
- ✓ Απεσταγμένο νερό
- ✓ Φωτόμετρο Elisa

4.2.3 Πειραματική πορεία

Αρχικά γίνεται προετοιμασία των αντιδραστηρίων. Για το stock διάλυμα CuSO_4 (20mM) ζυγίζονται 0,0125 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (MW=249,68) και διαλύονται σε 2,5mL H_2O . Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκουρόχρωμη φιάλη σε θερμοκρασία δωματίου. Για το working διάλυμα CuSO_4 (200 μM) αραιώνεται 1:100 το stock διάλυμα CuSO_4 με H_2O . Δηλαδή λαμβάνονται 20 μL και αραιώνεται με H_2O έως όγκο 2000 μL . Τέλος για το διάλυμα PBS buffer αναδιαλύονται σε 1000 mL απεσταγμένου νερού 9g NaCl, 0,9076 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2408 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ και ρυθμίζεται το pH στο 7,4. Έπειτα για το διάλυμα ορού γίνεται αραιώση 1:12 του δείγματος με PBS buffer. Λαμβάνονται 5 μL και αραιώνεται με PBS έως όγκο 60 μL σε ειδικά σωληνάκια. Για το μίγμα CuSO_4 και PBS σε ένα πλακίδιο με 96 πηγαδάκια λαμβάνονται 21mL PBS και τοποθετούνται και 2mL CuSO_4 (τελική συγκέντρωση ~16 μM). Σε κάθε πηγαδάκι τοποθετούνται 20 μL αραιωμένου ορού. Η αντίδραση ξεκινάει με την προσθήκη 230 μL μίγματος που περιέχει PBS και CuSO_4 . Γίνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 245 nm για 3,5 h ανά 2 min.

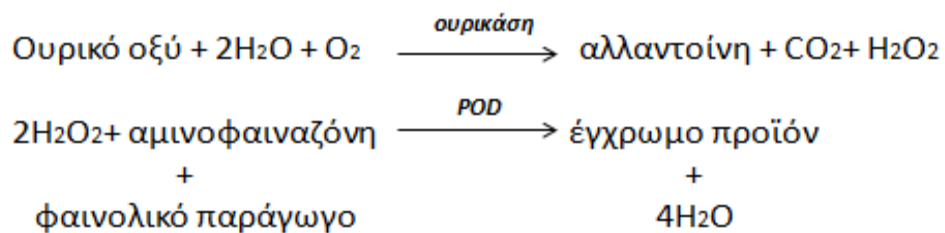
4.3 Μέτρηση ουρικού οξέος στον ορό (uricase/PAP)

Το ουρικό οξύ αποτελεί παραπροϊόν του μεταβολισμού των πουρινών και είναι σημαντικό αντιοξειδωτικό των βιολογικών υγρών (αίμα, σάλιο, βρογχοκυψελιδικό υγρό) αφού είναι ισχυρός δεσμευτής των υπερόξυ- και υδροξυ-ριζών καθώς και του $^1\text{O}_2$. Μαζί με τις πρωτεϊνικές θειόλες είναι τα ισχυρότεροι εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών στο πλάσμα.

Η οξείδωση του ουρικού οξέος από την ουρικάση αποτελεί τη βάση για τον ποσοτικό προσδιορισμό αυτού του μεταβολίτη. Φυσιολογικές τιμές του ουρικού οξέος στο σώμα κυμαίνονται από 3.0-7.2 mg/dl για τους άνδρες και από 2.5-6.0 mg/dl για τις γυναίκες.

4.3.1 Αρχή μεθόδου

Παρουσία του ενζύμου ουρικάση το ουρικό οξύ οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 . Η αντίδραση του H_2O_2 με φαινολικό παράγωγο και 4-αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ενζύμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος στο δείγμα.



Εικόνα 15: Αντίδραση οξείδωσης ουρικού οξέος

4.3.2 Αντιδραστήρια – Όργανα

- ✓ Φωτόμετρο Elisa
- ✓ Ρυθμιστικό διάλυμα, ένζυμα, διάλυμα εργασίας (ρυθμ δ/μα+ένζ), πρότυπο διάλυμα ουρικού οξέος 8 mg/dl, δείγματα ορού
- ✓ Απεσταγμένο νερό

4.3.3 Πειραματική πορεία

Γίνεται παρασκευή των αντιδραστηρίων σύμφωνα με την παρακάτω πίνακα όπου T: τυφλό, Δ: δείγμα και S: πρότυπο.

	T	Δ	S
Διάλυμα εργασίας	0.5	0.5	0.5
Ουρικό οξύ 8 mg/dl	-	-	0.02
Απεσταγμένο H ₂ O	0.02	-	-
Δείγμα : ορός ή αραιωμένα ούρα (1:10)	-	0.02	-
Επώαση 5 min στους 37°C			
Απεσταγμένο H ₂ O	0.5	0.5	0.5

Εικόνα 16: Πορεία παρασκευής αντιδραστηρίων

Έπειτα ακολουθεί ανάδευση και φωτομέτρηση έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός του ουρικού οξέος στα δείγματα γίνεται μέσω της εξίσωσης:

$$\text{Ουρικό οξύ (mg/dL)} = A_{\Delta}/A_S \times 8$$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων διενεργήθηκε στο πρόγραμμα SPSS. Ο έλεγχος υποθέσεων έγινε μέσω ANOVA. Η ανάλυση των συσχετίσεων έγινε μέσω του συντελεστή συσχέτισης Pearson ή Spearman ανάλογα με την κατανομή και τον χαρακτήρα των μεταβλητών. Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p \text{ value} < 0.05$.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως αποτυπώνεται και στο διάγραμμα ροής της ένταξης των ασθενών, συνολικά 46 ασθενείς με ΙΦΝΕ σε έξαρση συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη. Πριν και μετά την παρέμβαση μετρήθηκαν δείκτες του οξειδωτικού στρες (uric acid, oxLDL) καθώς και η αντίσταση του ορού στην οξείδωση (total serum oxidizability, lagtime), ενώ υπολογίστηκαν και οι λόγοι της oxLDL/HDL και της oxLDL/LDL.

Στον **Πίνακα 1** συνοψίζονται τα δημογραφικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των ασθενών πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου. Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας που λάμβανε εικονικό φάρμακο και της ομάδας που λάμβανε MX στο σύνολο των ασθενών με ΙΦΝΕ, αναφορικά με το φύλο, την ηλικία, την οικογενειακή κατάσταση, την εκπαίδευση, το κάπνισμα, το BMI, την ηλικία των πρώτων συμπτωμάτων, την ηλικία της διάγνωσης και την διάρκεια της ασθένειας. Εξαίρεση αποτελεί το σύνολο των ασθενών με vC όπου και παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.014$) μεταξύ των δύο ομάδων αναφορικά με την ηλικία. Γενικά η κατανομή των ασθενών στις δύο ομάδες είναι ομαλή.

Στον **Πίνακα 2** παρατίθενται οι αλλαγές στις μεταβλητές της μελέτης τόσο για την ομάδα ελέγχου (placebo) όσο και για την ομάδα που λάμβανε MX (verum group). Η ολική οξειδωσιμότητα του ορού (total serum lagtime) και το ουρικό οξύ (uric acid) δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ούτε σε κάθε ομάδα ξεχωριστά πριν και μετά την παρέμβαση αλλά ούτε και μεταξύ των δύο ομάδων. Αντίθετα, ο δείκτης της oxLDL καθώς και οι προερχόμενοι από αυτόν λόγοι εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Πιο συγκεκριμένα, και οι τρεις δείκτες (oxLDL, oxLDL/HDL, oxLDL/LDL) μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά πριν (baseline) και μετά (follow-up) την παρέμβαση στην ομάδα που λάμβανε MX (verum group). Για την oxLDL η μείωση ήταν από 160.42 ± 34.26 (U/L) σε 140.12 ± 41.91 (U/L), $p^1=0.031$, ο λόγος της oxLDL/HDL μειώθηκε από 3.06 ± 0.91 σε 2.37 ± 1.42 , $p^1=0.020$ και ο λόγος της oxLDL/LDL από 1.84 ± 0.73 σε 1.3 ± 0.85 , $p^1=0.005$. Ο βαθμός μεταβολής των δεικτών oxLDL/HDL και oxLDL/LDL μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της παρέμβασης διέφερε στατιστικά σημαντικά με $p^2=0.044$ και $p^2=0.015$ αντίστοιχα. Και τέλος η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στην αρχή της παρέμβασης για τους δείκτες oxLDL και oxLDL/HDL ήταν στατιστικά σημαντική με $p^3=0.022$ και $p^3=0.028$ αντίστοιχα.

	ΙΦΝΕ (N=46)		P	νC (N=30)		P	ΕΚ (N=16)		P
	Ομάδα placebo (N=20)	Ομάδα μαστίχας (N=26)		Ομάδα placebo (N=13)	Ομάδα μαστίχας (N=17)		Ομάδα placebo (N=7)	Ομάδα μαστίχας (N=9)	
	N (%)	N (%)		N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
Φύλο									
Γυναίκες	13 (65.0)	11 (42.3)	0.127 ⁺	8 (61.5)	8 (47.1)	0.431 ⁺	5 (71.4)	3 (33.3)	0.315 ⁺⁺
Άνδρες	7 (35.0)	15 (57.7)		5 (38.5)	9 (52.9)		2 (28.6)	6 (66.7)	
Ηλικία (χρ), μ.ο (SD)	44.8 (18.1)	37.3 (11.9)	0.100 ⁺	48.4 (17.8)	34.9 (10.1)	0.014 ⁺	38 (17.9)	41.9 (14.4)	0.637 ⁺
Οικογενειακή κατάσταση									
Ανύπαντρος-η/Διαζευγμ.	11 (55.0)	11 (42.3)	0.393 ⁺	7 (53.8)	9 (52.9)	0.961 ⁺	4 (57.1)	2 (22.2)	0.302 ⁺⁺
Παντρεμένος-η	9 (45.0)	15 (57.7)		6 (46.2)	8 (47.1)		3 (42.9)	7 (77.8)	
Εκπαίδευση (χρ)									
1-9	1 (5.0)	7 (26.9)	0.061 ⁺⁺	0 (0.0)	2 (11.8)	0.185 ⁺⁺	1 (14.3)	5 (55.6)	0.205 ⁺⁺
10-12	3 (15.0)	7 (26.9)		2 (15.4)	6 (35.3)		1 (14.3)	1 (11.1)	
>12	16 (80.0)	12 (46.2)		11 (84.6)	9 (52.9)		5 (71.4)	3 (33.3)	
Κάπνισμα (αρχή μελέτης)									
Όχι	13 (65.0)	16 (64.0)	0.944 ⁺	6 (46.2)	11 (64.7)	0.310 ⁺	7 (100.0)	5 (62.5)	0.200 ⁺
Ναι	7 (35.0)	9 (36.0)		7 (53.8)	6 (35.3)		0 (0.0)	3 (37.5)	
BMI (kg/m ²), μ.ο (SD)	24 (6.4)	24 (5.6)	0.982 ⁺	23.5 (5.1)	22.6 (4.4)	0.624 ⁺	25.1 (8.7)	26.6 (6.9)	0.700 ⁺
BMI (kg/m ²)									
Φυσιολογικό	14 (70.0)	17 (65.4)	1.000 ⁺⁺	9 (69.2)	12 (70.6)	0.720 ⁺⁺	5 (71.4)	5 (55.6)	0.780 ⁺⁺
Υπέρβαρο	3 (15.0)	5 (19.2)		2 (15.4)	4 (23.5)		1 (14.3)	1 (11.1)	
Παχύσαρκο	3 (15.0)	4 (15.4)		2 (15.4)	1 (5.9)		1 (14.3)	3 (33.3)	
Διάρκεια ασθένειας (χρ),μ.ο (SD)	14.6 (11.0)	9.7 (7.5)	0.088 ⁺	15.7 (12.3)	10.1 (7.2)	0.131 ⁺	12.4 (8.6)	8.9 (8.5)	0.435 ⁺
Ηλικία πρώτων συμπτωμάτων, μ.ο (SD)	27.3 (16.9)	25.6 (11.9)	0.694 ⁺	28.3 (17)	23.9 (10.4)	0.386 ⁺	25.4 (17.9)	29.3 (14.7)	0.657 ⁺
Ηλικία διάγνωσης, μ.ο (SD)	30.2 (18.8)	26.5 (11.8)	0.421 ⁺	32.7 (19.4)	24.8 (10.4)	0.162 ⁺	25.6 (17.9)	30.1 (14.2)	0.593 ⁺

Πίνακας 1: Δημογραφικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ασθενών με ΙΦΝΕ σε έξαρση, ⁺Pearson's chi-square test; ⁺⁺Fisher's exact test; ⁺Student's t-test, μ.ο: μέσος όρος, SD: τυπική απόκλιση

	Baseline	Follow-up	Change		
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	p ¹	p ²
oxLDL (U/L)					
Placebo	135.3 (48.38)	135.45 (38.92)	0.15 (52.76)	0.989	0.136
Verum group	160.42 (34.26)	140.12 (41.91)	-20.3 (51.7)	0.031	
p ³	0.022	0.659			
oxLDL/HDL					
Placebo	2.44 (1.22)	2.63 (1.38)	0.19 (1.67)	0.568	0.044
Verum group	3.06 (0.91)	2.37 (1.42)	-0.69 (1.63)	0.020	
p ³	0.028	0.474			
oxLDL/LDL					
Placebo	1.62 (0.88)	1.7 (0.88)	0.07 (0.82)	0.654	0.015
Μαστίχα	1.84 (0.73)	1.3 (0.85)	-0.54 (1.03)	0.005	
p ³	0.307	0.082			
Serum resistance to oxidation (lag time, s)					
Placebo	4279.83 (2573.79)	4889.15 (2094.22)	609.31 (2159.4)	0.155	0.893
Verum group	4271.12 (2236.36)	4959.46 (1760.57)	688.34 (2327.7)	0.099	
p ³	0.989	0.888			
Uric acid (mg/dL)					
Placebo	4.99 (1.92)	4.45 (1.22)	-0.54 (1.79)	0.130	0.551
Verum group	5.76 (4.9)	4.64 (1.11)	-1.12 (4.82)	0.189	
p ³	0.443	0.539			

Πίνακας 2: Δείκτες ΟΣ στην αρχή της παρέμβασης (baseline) και στο τέλος (follow-up) στους ασθενείς με ΙΦΝΕ. ¹p-value for time effect; ²Effects reported include differences between the groups in the degree of change (repeated measurements ANOVA); ³p-value for group effect, SD: τυπική απόκλιση

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πληθώρα δεικτών έχουν προταθεί και αξιολογηθεί για τα ΙΦΝΕ, δεδομένου και του εύρους της παθογένειας της συγκεκριμένης παθολογικής οντότητας. Η παρούσα μελέτη ασχολήθηκε με την αξιολόγηση βιοδεικτών του ΟΣ, το οποίο εμπλέκεται σε όλες τις φάσεις της νόσου, σε ασθενείς με ΙΦΝΕ σε ενεργή φάση πριν και μετά τη λήψη διατροφικού συμπληρώματος ΜΧ. Ασθενείς σε ύφεση δεν ελέγχθηκαν καθώς το εκτεταμένο ΟΣ είναι παρών σε φάσεις έξαρσης της νόσου καθιστώντας την ανίχνευση των βιοδεικτών πιο εύκολη και αποτελεσματική όπως φαίνεται και από μελέτη η οποία έδειξε ότι τα επίπεδα των λιπιδικών υπεροξειδίων είναι υψηλότερα στον ορό ασθενών με ενεργή νC σε ποσοστό που φτάνει τα 22% σε σχέση με τους ασθενείς σε ύφεση ($p < 0.01$) (Maor και συν., 2008). Ο καθορισμός των βιοδεικτών που ελέγχθηκαν έγινε έπειτα από εκτενή μελέτη της βιβλιογραφίας και έχοντας υπόψιν ότι τα αποτελέσματα θα αξιολογηθούν στο σύνολό τους και σε συνάρτηση με άλλους βιοδείκτες (π.χ. φλεγμονής).

Στον **Πίνακα 1** η στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων παρέμβασης στους ασθενείς με νC αναφορικά με την ηλικία ($p = 0.014$) αποτελεί τυχαίο εύρημα δεδομένου ότι το δείγμα μας είναι μικρό σε αριθμό, ότι τηρήθηκαν τα αυστηρά κριτήρια που ορίστηκαν στο πρωτόκολλο, της εισαγωγής δηλαδή ασθενών με ΙΦΝΕ με ηλικίες από 18-65 και ότι η διαδικασία της απλής τυχαιοποίησης διεκπαιρεύθηκε ορθά.

Όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 2**, αρχικά αξιολογήθηκε, η συγκέντρωση της οξειδωμένης λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (oxLDL) στο πλάσμα, η οποία αποτελεί έναν από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους βιοδείκτες της λιπιδικής υπεροξείδωσης. Καθώς η LDL, μετά την οξειδωτική της μετατροπή σε oxLDL, δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας για τα μονοκύτταρα και επάγει φλεγμονώδεις αντιδράσεις εντός του αρτηριακού τοιχώματος οι οποίες εμπλέκονται σε όλες τις φάσεις ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας (Itabe 2009), ο συγκεκριμένος δείκτης χρησιμοποιήθηκε αρχικά σε ασθενείς με καρδιαγγειακές παθήσεις. Έκτοτε, έχει αποδειχθεί η δυναμικότητά του σε εύρος ασθενειών όπως το μεταβολικό σύνδρομο σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (Girona και συν., 2007) και ο καρκίνος στήθους και ωοθηκών (Delimaris και συν., 2007). Η προγνωστική ικανότητα της oxLDL φάνηκε και σε έρευνα των Crespo-Sanjuán και συν., (2015) όπου σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα στο έντερο, μία κατάσταση με υψηλή επίπτωση σε άτομα με ΙΦΝΕ, η oxLDL ήταν αυξημένη από τα αρχικά στάδια της πάθησης.

Υπολογίστηκαν επίσης, και οι λόγοι της oxLDL/HDL και της oxLDL/LDL. Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ο λόγος της oxLDL προς τη συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης αποτελεί καλύτερο βιοδείκτη διάκρισης μεταξύ ατόμων με ή χωρίς στεφανιαία αρτηριακή πάθηση

(Johnston και συν., 2006), καθώς ο λόγος αυτός πιθανώς αντανακλά με μεγαλύτερη ακρίβεια το οξειδοαναγωγικό ισοζύγιο. Η μεγαλύτερη ακρίβεια των δύο αυτών λόγων αποδείχθηκε έπειτα και από σύγκρισή τους με κλασικούς βιοδείκτες αθηρωσκλήρωσης όπως η ολική χοληστερόλη, η LDL και η HDL (Huang και συν., 2008). Επιπρόσθετα, ο λόγος της συγκέντρωσης της oxLDL προς τη συγκέντρωση της LDL χοληστερόλης ή της HDL χοληστερόλης έχει αποδειχθεί, από κλινικής άποψης, καλύτερος βιοδείκτης πλάσματος του οξειδωτικού προφίλ των λιποπρωτεϊνών (Schefer και συν., 2003). Από την άλλη, η χρήση της oxLDL ως βιοδείκτη του ΟΣ έχει δεχθεί κριτική λόγω της ετερογένειας των προϊόντων οξείδωσης, της χαμηλής ειδικότητας των αντισωμάτων και των διαφορετικών αποτελεσμάτων ανάλογα με την πειραματική πορεία που ακολουθείται (Maiolino και συν., 2013, Frijhoff και συν., 2015).

Στην παρούσα μελέτη ο δείκτης της oxLDL καθώς και οι προερχόμενοι από αυτόν λόγοι εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Και οι τρεις δείκτες (oxLDL, oxLDL/HDL, oxLDL/LDL) μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά πριν (baseline) και μετά (follow-up) την παρέμβαση στην ομάδα που λάμβανε MX (verum group), μία μείωση που δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα που λάμβανε το placebo, αποκλείοντας έτσι και την ύπαρξη του 'placebo effect'. Επίσης, ο βαθμός μεταβολής για τους δείκτες της oxLDL/HDL και της oxLDL/LDL μεταξύ των δύο ομάδων παρέμβασης στο τέλος της μελέτης διέφερε στατιστικά σημαντικά ($p^2=0.044$ και $p^2=0.015$ αντίστοιχα). Το εύρημα αυτό καταδεικνύει την πιθανή ανασταλτική δράση της MX στο σχηματισμό ενός σημαντικού οξειδωτικού μορίου, της oxLDL και είναι ιδιαίτερα σημαντικό αν ληφθεί υπόψιν και ο αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών σε ασθενείς με ΙΦΝΕ.

Έχει προταθεί ότι στους συγκεκριμένους ασθενείς αφενός η χρόνια συστηματική φλεγμονή, το ΟΣ και αφετέρου ο διαταραγμένος φραγμός του εντερικού επιθηλίου, οι ενδοτοξίνες και οι βακτηριακοί λιποπολυσακχαρίτες που παράγονται από το εντερικό μικροβίωμα προωθούν γεγονότα τα οποία συμβάλουν στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης. Παρόλο που τα δεδομένα σχετικά με τα ΙΦΝΕ και τον κίνδυνο εμφάνισης οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου και καρδιακής ανεπάρκειας είναι αντικρουόμενα πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι τα ΙΦΝΕ σχετίζονται με μία μικρή αύξηση του κινδύνου για ισχαιμική καρδιοπάθεια (odds ratio, 1.19; 95% confidence intervals [CI], 1.08-1.31) (Singh και συν., 2014).

Έπειτα, αξιολογήθηκε η ολική οξειδωσιμότητα του ορού (total serum oxidizability, lagtime) που λαμβάνει υπόψιν και την επίδραση των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών στην οξείδωση των λιπιδίων (Dotan και συν., 2004, Schnitzer και συν., 1998). Ο όρος οξειδωσιμότητα περιγράφει την ευαισθησία των διάφορων μακρομορίων και σωματιδίων

(λιποπρωτεΐνες) στο ΟΣ (Dotan και συν., 2004). Η οξειδωσιμότητα μπορεί να αξιολογηθεί μέσω κινητικής της *in vitro*, επαγόμενης από τον χαλκό, οξείδωσης των λιπιδίων, η οποία περιγράφεται με τους όρους “lag-time” (t_{LAG}) και μέγιστος ρυθμός συσσώρευσης απορροφούμενων προϊόντων (RA) (Esterbauer και Jurgens 1993, Schnitzer και συν., 1998). Ο t_{LAG} που προηγείται της οξείδωσης θεωρείται ο πιο αναπαραγώγιμος και αποδεκτός δείκτης της οξειδωσιμότητας του ορού (serum oxidizability) και αντικατοπτρίζει την αντίσταση των λιπιδίων του ορού στην οξείδωση έχοντας υπόψιν και την παρουσία των αντιοξειδωτικών του ορού (Dotan και συν., 2004, Fainaru και συν., 2002). Η απουσία στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων του δείκτη αυτού πιθανώς να οφείλεται στην παρουσία της αλβουμίνη καθώς και άλλων συστατικών του ορού τα οποία απορροφούν στο εύρος UV οπότε και διαταράσσουν την ανίχνευση των συζυγών διενίων (Schnitzer και συν., 1995, 1998).

Αντίθετα, μελέτη των Kanellos και συν., (2013) που διερεύνησε την αντίσταση του ορού στην οξείδωση σε υγιείς εθελοντές μετά από λήψη Κορινθιακής σταφίδας βρήκε ότι μέσα στην πρώτη ώρα από τη λήψη της τα φαινολικά συστατικά στο πλάσμα αυξήθηκαν (17 συστατικά της σταφίδας μαζί με το ολεανολικό ανιχνεύθηκαν στο πλάσμα των εθελοντών, $p=0.05$). Μέσα στο ίδιο διάστημα αυξήθηκε σε συμφωνία με αυτό το αποτέλεσμα και η αντίσταση του ορού στην οξείδωση ($p=0.041$). Επίσης, έρευνα των Tynkkynen και συν., (2012) που ανίχνευσε μέσω NMR την ευαισθησία των λιπιδίων του ορού στην οξείδωση υγιών εθελοντών μετά την κατανάλωση 75g ημερησίως (για 3 εβδομάδες) λευκής σοκολάτας, μαύρης σοκολάτας και σοκολάτας με υψηλή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες, βρήκε ότι η ευαισθησία των λιπιδίων του ορού στην οξείδωση μειώθηκε στατιστικά σημαντικά στην ομάδα που λάμβανε σοκολάτα με πολυφαινόλες σε σχέση με την ομάδα που λάμβανε λευκή σοκολάτα. Παρατηρείται λοιπόν μία μεταβολή του αντιοξειδωτικού προφίλ *in vivo* μετά την λήψη διαιτητικών σκευασμάτων η οποία καθιστά την πραγματοποίηση περαιτέρω κλινικών δοκιμών απαραίτητη.

Τέλος, αξιολογήθηκε και η συγκέντρωση ενός ενδογενούς μη-ενζυμικού αντιοξειδωτικού μορίου του ουρικού οξέος (uric acid) στον ορό. Ο ρόλος του ουρικού οξέος σε καταστάσεις που σχετίζονται με το ΟΣ δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Δεδομένα, τα οποία προέρχονται κυρίως από επιδημιολογικές μελέτες, υποδεικνύουν ότι αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος αποτελούν παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις όπου το ΟΣ παίζει σημαντικό παθοφυσιολογικό ρόλο μέσω της ενισχυμένης παραγωγής ROS, τα οποία συμβάλλουν στην φλεγμονή και στην αλλοίωση της αγγειακής λειτουργίας λόγω της προ-οξειδωτικής του δράσης στον αγγειακό ιστό. Από την άλλη, υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι το ουρικό οξύ παίζει σημαντικό αντιοξειδωτικό ρόλο στο πλάσμα καθώς είναι ισχυρά αναγωγική ένωση (δότης ηλεκτρονίων). Στην παρούσα μελέτη το ουρικό οξύ (uric acid) δεν παρουσίασε καμία

στατιστικά σημαντική διαφορά ούτε σε κάθε ομάδα ξεχωριστά πριν και μετά την παρέμβαση αλλά ούτε και μεταξύ των δύο ομάδων.

Η απουσία περαιτέρω στατιστικά σημαντικών ευρημάτων στην παρούσα μελέτη τονίζει την πολυπλοκότητα του εγχειρήματος που αφορά τον εντοπισμό βιοδεικτών του ΟΣ σε ασθενείς με ΙΦΝΕ καθώς η ανίχνευση προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης σε βιολογικό υλικό από έναν ασθενή, αποδεικνύει τη συμμετοχή ελευθέρων ριζών στον σχηματισμό τους, αλλά δεν μπορεί να καθορίσει σε ποιο σημείο της εξέλιξης της ασθένειας εμπλέκεται το οξειδωτικό στρες αλλά ούτε και το μονοπάτι το οποίο πιθανώς επηρεάζει η ΜΧ. Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να ερμηνευτούν στο πλαίσιο μιας έμμεσης μεθόδου (indirect method) σύμφωνα με την οποία γίνεται η υπόθεση ότι οι παρατηρούμενες αλλαγές σε ένα εύρος βιοδεικτών είναι αποτέλεσμα της καθημερινής πρόσληψης ΜΧ.

Συμπερασματικά, η ημερήσια πρόσληψη ΜΧ, της φυσικής αυτής ρητίνης που χαρακτηρίζεται από αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, φαίνεται να προκαλεί μείωση των επιπέδων των βιοδεικτών της oxLDL, oxLDL/HDL και oxLDL/LDL σε ασθενείς με ΙΦΝΕ. Έτσι, καθώς οι λόγοι της oxLDL/HDL και της oxLDL/LDL έχουν συσχετιστεί με την αθηροσκλήρωση από τη μία, και από την άλλη οι ασθενείς με ΙΦΝΕ έχουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, η μείωσή τους μέσω ενός φυσικού διαιτητικού συμπληρώματος όπως η ΜΧ αποτελεί εύρημα ιδιαίτερης σημασίας για την διαχείριση αυτών των ασθενών σε πολλαπλά επίπεδα. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά είναι πρώιμο και μέρος μιας μεγαλύτερης κλινικής δοκιμής χορήγησης του φυσικού συμπληρώματος Μαστίχας Χίου σε ασθενείς με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα του Εντέρου, η οποία αναμένεται να καταλήξει σε ασφαλέστερα συμπεράσματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abraham C, Cho JH: Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078.
- Aebischer T, Meyer TF, Andersen LP: Inflammation, immunity, and vaccines for *Helicobacter*. *Helicobacter* 2010; 15(1): 21-28.
- Akobeng AK, Thomas AG: Enteral nutrition for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (3): CD005984.
- Al-Habbal MJ, Al-Habbal Z and Huwez FU: A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1984; 11: 541-544.
- Allgayer H: Review article: mechanisms of action of mesalazine in preventing colorectal carcinoma in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18(2): 10–14.
- Amre DK, D'Souza S, Morgan K, Seidman G, Lambrette P, Grimard G, Israel D, Mack D, Ghadirian P, Deslandres C, Chotard V, Budai B, Law L, Levy E, Seidman EG: Imbalances in dietary consumption of fatty acids, vegetables, and fruits are associated with risk for Crohn's disease in children. *Am. J. Gastroenterol* 2007; 102: 2016–2025.
- Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, Higuchi LM, de Silva P, Korzenik JR, Fuchs CS, Willett WC, Richter JM, Chan AT: A prospective study of long-term intake of dietary fiber and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2013; 145: 970–977.
- Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, Lee JC, Goyette P, Imielinski M, Latiano A, Lagacé C, Scott R, Amininejad L et al: Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011; 43: 246-252.
- Andrikopoulos NK, Kaliora AC, Assimopoulou AN, Papapeorgiou VP: Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytother Res* 2003; 17: 501–507.
- Asakura H, Suzuki K, Kitahora T, Morizane T: Is there a link between food and intestinal microbes and the occurrence of Crohn's disease and ulcerative colitis? *J Gastro & Hepatol* 2008; (23): 1794-1801.
- Assimopoulou AN, Zlatanov SN, Papageorgiou VP: Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. *Food Chem* 2005; 92(4): 721–727.
- Atreya R, Zimmer M, Bartsch B, Waldner MJ, Atreya I, Neumann H, Hildner K, Hoffman A, Kiesslich R, Rink AD, Rau TT, Rose-John S, Kessler H, Schmidt J, Neurath MF: Antibodies against tumor necrosis factor (TNF) induce T-cell apoptosis in patients with inflammatory bowel diseases via TNF receptor 2 and intestinal CD14⁺ macrophages. *Gastroenterology* 2011; 141: 2026–2038.
- Bamias G, Cominelli F: Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. *Curr Opin Gastroenterol.* 2007; 23(4): 365-369.

Banan A, Choudhary S, Zhang Y, Fields JZ, Keshavarzian A: Ethanol-induced barrier dysfunction and its prevention by growth factors in human intestinal monolayers: evidence for oxidative and cytoskeletal mechanisms. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1999; 291(3): 1075–1085.

Barnes PJ, Adcock IM: Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. *Lancet* 2009; 373: 1915-1917.

Baumgart DC, Sandborn WJ: Crohn's disease. *Lancet* 2012; 380: 1590–1605.

Bernstein C, Eliakim A, Fedail S, Fried M, Gearry R, Goh K, Hamid S, Khan AM, Khalif I, Ng SC, Ouyang Q, Rey J, Sood A, Steinwurz F, Watermeyer G, LeMair A: Inflammatory Bowel Disease. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines 2015.

Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P, Yu N: The prevalence of extraintestinal diseases in inflammatory bowel disease: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1116-1122.

Bernstein CN, Wajda A, Rawsthorne P: The clustering of other chronic inflammatory diseases in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2005; 129: 827-836.

Bishop J, Lemberg DA, Day A: Managing inflammatory bowel disease in adolescent patients. *Adolesc Health Med Ther* 2014; 5: 1-13.

Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M, Paradowski L, Gamian A: Lipid peroxidation markers in Crohn's disease: the associations and diagnostic value. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2012; 50(8): 1359-1366.

Bonaz BL, Bernstein CN: Brain–gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2013; 144: 36–49.

Brand S: Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1152-1167.

Brown AC, Rampertab SD, Mullin GE: Existing dietary guidelines for Crohn's disease and ulcerative colitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011; 5(3): 411-25.

Brown AC, Rampertab SD, Mullin GE: Existing dietary guidelines for Crohn's disease and ulcerative colitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011; 5(3): 411-25.

Brown AC, Roy M: Does evidence exist to include dietary therapy in the treatment of Crohn's disease? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010; 4(2): 191-215.

C.A. Anderson, G.Boucher, C.W.Lees, et al: Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nature Genetics* 2011; 43(3): 246–252.

Cámara RJ, Schoepfer AM, Pittet V, Begré S, von Känel R: Mood and nonmood components of perceived stress and exacerbation of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2358-2365.

Cantorna, MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A: Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune system. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1717–1720.

Cellier C, Sahmoud T, Froguel E, Adenis A, Belaiche J, Bretagne JF, Florent C, Bouvry M, Mary JY, Modigliani R: Correlations between clinical activity, endoscopic severity, and biological parameters in colonic or ileocolonic Crohn's disease. A prospective multicentre study of 121 cases. The Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives. *Gut* 1994; 35: 231-235.

Chang S, Malter L, Hudesman D: Disease monitoring in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2015; 21(40): 11246-11259.

Choli-Papadopoulou T, Kottakis F, Papadopoulos G, Pendas, S: Helicobacter pylori neutrophil activating protein as target for new drugs against H. pylori inflammation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2585-2591.

Collins D, Hogan AM, Winter DC: Microbial and viral pathogens in colorectal cancer. *The Lancet Oncology* 2011; 12(5): 504–512.

Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, Lichtiger S, D'Haens G, Diamond RH, Broussard DL, Tang KL, van der Woude CJ, Rutgeerts P; SONIC Study Group: Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2010; 362: 1383–1395.

Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A: Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1785–1794.

Cosnes J. Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 481-496

Cosnes J. What is the link between the use of tobacco and IBD? *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14 Suppl 2: S14-S15.

Crespo-Sanjuán J , Calvo-Nieves MD, Aguirre-Gervás B, Herreros-Rodríguez J, Velayos-Jiménez B, Castro-Alija MJ, Muñoz-Moreno MF, Sánchez D et al: Early Detection of High Oxidative Activity in Patients With Adenomatous Intestinal Polyps and Colorectal Adenocarcinoma: Myeloperoxidase and Oxidized Low-Density Lipoprotein in Serum as New Markers of Oxidative Stress in Colorectal Cancer. *Lab Med Spring* 2015; 46: 123-135.

Dabos KJ, Sfika E, Vlatka LJ, Giannikopoulos G: The effect of mastic gum on Helicobacter pylori: a randomized pilot study. *Phytomedicine* 2010; 17: 296-299.

Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A: Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med* 2003; 9(4): 169–176.

Danese S, Fiocchi C: Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713–1725.

Dedoussis GV, Kaliora AC, Psarras S, Chiou A, Mylona A, Papadopoulos NG, Andrikopoulos NK: Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis* 2004; 174: 293–303.

Delimaris I, Faviou E, Antonakos G, Stathopoulou E, Zachari A, Dionyssiou-Asteriou A: Oxidized LDL, serum oxidizability and serum lipid levels in patients with breast or ovarian cancer. *Clinical Biochemistry* 2007; 40 1129-1134.

Delimaris I, Georgopoulos S, Kroupis C, Zachari A, Liberi M, Bastounis E, Dionyssiou-Asteriou A. Serum oxidizability, total antioxidant status and albumin serum levels in patients with aneurysmal or arterial occlusive disease. *Clinical Biochemistry* 2008; 41(9): 706-711.

Di Sabatino A, Biancheri P, Rovedatti L, Macdonald TT, Corazza GR: New pathogenic paradigms in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 368-371.

Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuck I: Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res* 2004; 43: 200-227.

Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barnada MM, Rotter JI, Nicolae DL, Cho JH: A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314(5804): 1461–1463.

Duerr RH: Genome-wide association studies herald a new era of rapid discoveries in inflammatory bowel disease research. *Gastroenterology* 2007; 132: 2045-2049.

Elson CO, Cong Y, Weaver CT, Schoeb TR, McClanahan TK, Fick RB and Kastelein RA. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology* 2007; 132: 2359-2370.

Esterbauer H, Jurgens G: Mechanistic and genetic aspects of susceptibility of LDL to oxidation. *Curr Opin Lipidol* 1993; 4: 114-124.

Fainaru O, Almog B, Pinchuk I, Kupfermine MJ, Lichtenberg D, Many: Active labour is associated with increased oxidizability of serum lipids ex vivo. *BJOG* 2002; 109: 938-941.

Falcinelli S, Rodiles A, Unniappan S, Picchiatti S, Gioacchini G, Merrifield DL, Carnevali O: Probiotic treatment reduces appetite and glucose level in the zebrafish model,” *Scientific Reports* 2016; 6: 18061.

Filippi J, Al-Jaouni r, Wiroth JB, Hébuterne X, Schneider SM: Nutritional deficiencies in patients with Crohn’s disease in remission. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 185-191.

Fisher SA, Tremelling M, Anderson CA, et al: Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn’s disease. *Nature Genetics* 2008; 40(6): 710–712.

Fok KC, Ng WWS, Henderson CJA, Connor SJ: Cutaneous Sarcoidosis in a patient with ulcerative colitis on infliximab. *J Crohn’s Colitis* 2012; 6(6): 708-712.

Forbes A, Escher J, Hébuterne X, Kłęk S, Krznaric Z, Schneider S, Shamir R, Stadelova K, Wierdsma N, Wiskin AE, Bischoff SC: ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. *Clin Nutr*. 2017; 36(2): 321-347.

Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Sventoraityte J, Nikolaus S, Mayr G, Domingues FS, Albrecht M, Nothnagel M, Ellinghaus D, Sina C, Onnie CM, Weersma RK, Stokkers PC, Wijmenga C, Gazouli M, Strachan D, McArdle WL, Vermeire S, Rutgeerts P, Rosenstiel P, Krawczak M, Vatn MH; IBSEN study group, Mathew CG, Schreiber S: Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. *Nature Genetics* 2008; 40(11): 1319–1323.

Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N et al: Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling* 2015; 23(14): 1144–1170.

Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y: Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70.

Gaya DR, Russell RK, Nimmo ER, Satsangi J: New genes in inflammatory bowel disease: lessons for complex diseases? *Lancet* 2006; 367: 1271-1284.

Georgiadis I, Karatzas T, Korou LM, Agrogiannis G, Vlachos IS, Pantopoulou A, Tzanetakou IP, Katsilambros N, Perrea DN: Evaluation of Chios Mastic Gum on Lipid and Glucose Metabolism in Diabetic Mice. *J Med Food*. 2014; 17(3): 393-399.

Gerasimidis K, McGrogan P, Edwards CA: The aetiology and impact of malnutrition in paediatric inflammatory bowel disease. *J Hum Nutr Diet* 2011; 24: 313-326.

Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Sabatino AD: Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity Reviews* 2014; 13: 3-10.

Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburq PB, Turnbauch PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liquest CM, Nelson KE: Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006; 312(5778): 1355-1359.

Gioxari A, Kaliora AC, Papalois A, Agrogiannis G, Triantafyllidis JK, Andrikopoulos NK: Pistacia lentiscus Resin Regulates Intestinal Damage and Inflammation in Trinitrobenzene Sulfonic Acid–Induced Colitis. *J Med Food* 2011; 14(11): 1403–1411.

Girona J, Manzanares JP, Marimón F, Cabre A, Heras M, Guardiola M, Ribalta J, Masana L: Oxidized to non-oxidized lipoprotein ratios are associated with arteriosclerosis and the metabolic syndrome in diabetic patients.

Goh J, O'Morain CA: Review article: nutrition and adult inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 307-320.

Goh K, Xiao SD: Inflammatory bowel disease: a survey of the epidemiology in Asia. *J Dig Dis* 2009; 10: 1-6.

Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA, Kubly J: Immunology. WH Freeman and Company 2003.

Goodhand JR, Greig FI, Koodun Y, McDermott A, Wahed M, Langmead L, Rampton DS: Do antidepressants influence the disease course in inflammatory bowel disease? A retrospective case-matched observational study. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1232-1239.

Groenendyk J, Sreenivasaiah PK, Kim DH, Agellon LB, Michalak M: Biology of endoplasmic reticulum stress in the heart. *Circ Res*. 2010; 107(10): 1185-1197.

Guagnozzi D, González-Castillo S, Oliveira A, Lucendo AJ: Nutritional treatment in inflammatory bowel disease. An update. *Rev Esp Enferm Dig* 2012; 104: 479-488.

Halliwell B, Whiteman M: Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004; 142(2): 231–255.

Halmos EP, Gibson PR: Dietary management of IBD--insights and advice. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015; 12(3): 133-146.

Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, Albrecht M, Mayr G, De La Vega FM, Briggs J, Günther S, Prescott NJ, Onnie CM, Häsler R, Sipos B, Fölsch UR, Lengauer T, Platzer M, Mathew CG, Krawczak M, Schreiber S: A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet* 2007; 39: 207-211.

Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Rutgeerts P; ACCENT I Study Group: Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 1541–1549.

Hartman C, Eliakim R, Shamir R: Nutritional status and nutritional therapy in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*. 2009; 15(21): 2570-2578.

Hengstermann S, Valentini L, Schaper L, Buning C, Koernicke T, Maritschnegg M, Buhner S, Tillinger W, regano N, Guglielmi F, Winklhofer-roob BM, Lochs H: Altered status of antioxidant vitamins and fatty acids in patients with inactive inflammatory bowel disease. *Clin Nutr* 2008; 27: 571-578.

Hou JK, Abraham B, El-Serag H: Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 563–573.

Huang H, Mai W, Liu D, Hao Y, Tao J, Dong Y: The oxidation ratio of LDL: A predictor for coronary artery disease. *Disease Markers* 2008; 24: 341–349.

Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G: Association of NOD2 leucinerich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599–603.

Huwez F, Thirwell D, Cockayne A, Ala' Aldeen D: Mastic Gum Kills helicobacter Pylori. *N Engl J Med* 1998; 26: 1946.

Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M, Foster SJ, Moran AP, Fernandez-Luna JL, Nuñez G: Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem* 2003; 278: 5509-5512.

Irrazabal T, Belcheva A, Girardin SE, Martin A, Philpott DJ: The multifaceted role of the intestinal microbiota in colon cancer. *Molecular Cell* 2014; 54(2): 309–320.

Itabe H: Oxidative modification of LDL: its pathological role in atherosclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2009; 20: 306-314.

Johnston N, Jemberg T, Lagerqvist B, Siegbahn A, Wallentin L: Improved identification of patients with coronary artery disease by the use of new lipid and lipoprotein biomarkers. *Am J Cardiol* 2006; 97: 640-645.

Jonkers D, Penders J, Masclee A, Pierik M: Probiotics in the management of inflammatory bowel disease: a systematic review of intervention studies in adult patients. *Drugs* 2012; 72: 803-823.

Juuti-Uusitalo K, Klunder LJ, Sjollem KA, Mackovicova K, Ohgaki R, Hoekstra D, Dekker J, van Ijzendoorn SC: Differential effects of TNF (TNFSF2) and IFN-gamma on intestinal epithelial cell morphogenesis and barrier function in three- dimensional culture. *PLoS ONE* 2011; 6: e22967.

Kaliora AC, Stathopoulou MG, Triantafyllidis JK, Dedoussis GV, Andrikopoulos NK: Alterations in the function of circulating mononuclear cells derived from patients with Crohn's disease treated with mastic. *World J Gastroenterol.* 2007b; 13(45): 6031-6036.

Kaliora AC, Stathopoulou MG, Triantafyllidis JK, Dedoussis GV, Andrikopoulos NK: Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2007a; 13(5): 748-753.

Kanellos PT, Kaliora AC, Gioxari A, Christopoulou GO, Kalogeropoulos N, Karathanos VT: Absorption and Bioavailability of Antioxidant Phytochemicals and Increase of Serum Oxidation Resistance in Healthy Subjects Following Supplementation with Raisins. *Plant Foods Hum Nutr* 2013; 68: 411–415.

Kartalis A, Didagelos M, Georgiadis I, Benetos G, Smyrnioudis N, Marmaras H, Voutas P, Zotika C, Garoufalos S, Andrikopoulos G: Effects of Chios mastic gum on cholesterol and glucose levels of healthy volunteers: A prospective, randomized, placebo-controlled, pilot study (CHIOS-MASTIHA). *Eur J Prev Cardiol.* 2016; 23(7): 722-729.

Kelder T, Stroeve JH, Bijlsma S, Radonjic M, Roeselers G: Correlation network analysis reveals relationships between diet-induced changes in human gut microbiota and metabolic health. *Nutrition & Diabetes* 2014; 4: 122.

Khalili H, Ananthakrishnan AN, Konijeti GG, Liao X, Higuchi LM, Fuchs CS, Spiegelman D, Richter JM, Korzenik JR, Chan AT: Physical activity and risk of inflammatory bowel disease: prospective study from the Nurses' Health Study cohorts. *BMJ* 2013; 347: f6633.

Khor B, Gardet A, Xavier RJ: Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 307-317.

Kitani A and Xu L: Regulatory T cells and the induction of IL-17. *Mucosal Immunol* 2008; 1(1): 43-46.

Kobayashi T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kamada N, Chinen H, Saito R, Kitazume MT, Nakazawa A, Sugita A, Koganei K, Isobe K, Hibi T: IL23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 2008; 57: 1682-1689.

Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK: IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 2009; 27:485-517.

Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D: The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology* 2014; 146(6): 1489-99.

Koutsoudaki C, Krsek M, Rodger A: Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil and the Gum of *Pistacia lentiscus* Var. *chia*. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 7681–7685.

Koychev S, Dommisch H, Chen H, Pischon N: Antimicrobial Effects of Mastic Extract Against Oral and Periodontal Pathogens. *J Periodontol* 2017; 88(5): 511-517.

Kuballa P, Huett A, Rioux JD, Daly MJ, Xavier RJ: Impaired autophagy of an intracellular pathogen induced by a Crohn's disease associated ATG16L1 variant. *PLoS One* 2008; 3: e3391.

Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6134-6139.

Leslie WD, Miller N, Rogala L, Bernstein CN: Vitamin D status and bone density in recently diagnosed inflammatory bowel disease: the Manitoba IBD Cohort Study. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1451-1459.

Lim WC, Wang Y, MacDonald JK, Hanauer S: Aminosalicylates for induction of remission or response in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; 7: CD008870.

Lochs H, Dejong C, Hammarqvist F, Hebuterne X, Leon-Sanz M, Schütz T, van Gemert W, van Gossum A, Valentini L; DGEM (German Society for Nutritional Medicine), Lübke H, Bischoff S, Engelmann N, Thul P; ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition): ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: *Gastroenterology. Clin Nutr.* 2006; 25(2): 260-274.

Lochs H: Basics in Clinical Nutrition: Nutritional support in inflammatory bowel disease. *European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2010; 5(2): 100-103.

Loftus EV: Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004; 126: 1504-1517.

- Loizou S, Paraschos S, Mitakou S, Chrousos GP, Lekakis I, Moutsatsou P: Chios Mastic Gum Extract and Isolated Phytosterol Tirucallol Exhibit Anti-Inflammatory Activity in Human Aortic Endothelial Cells. *Exp Biol Med* 2009; 34(5): 553–561.
- Mahid, SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S: Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin. Proc* 2006; 81: 1462–1471.
- Maiolino G, Rossitto G, Caielli P, Bisogni V, Rossi GP, Calo LA: The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: the myths and the facts. *Mediators of Inflammation* 2013, Article ID 714653
- Man SM, Kaakoush NO, Mitchell HM: The role of bacteria and pattern-recognition receptors in Crohn's disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8(3): 152-168.
- Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F: The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9(10): 599-608.
- Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, Gloux K, Pelletier E, Frangeul L, Nalin R, Jarrin C, Chardon P, Marteau P, Roca J, Dore J: Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 2006; 2: 205-211.
- Marone P, Bono L, Leone E, Bona S, Carretto E and Perversi LJ: Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. *J Chemother* 2001; 13: 611-614.
- Martinez C, Antolin M, Santos J, Torrejon A, Casellas F, Borruel N, Guarner F, Malagelada JR: Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 643-648.
- McCarroll SA, Huett A, Kuballa P, Chilewski SD, Landry A, Goyette P, Zody MC, Hall JL, Brant SR, Cho JH, Duerr RH, Silverberg MS, Taylor KD, Rioux JD, Altshuler D, Daly MJ, Xavier RJ: Deletion polymorphism upstream of IRGM associated with altered IRGM expression and Crohn's disease. *Nat Genet* 2008; 40: 1107-1112.
- McCurley N, Hirano M, Das S and Cooper MD: Immune related genes underpin the evolution of adaptive immunity in jawless vertebrates. *Curr Genomics* 2012; 13: 86-94.
- Mehta F: Report: economic implications of inflammatory bowel disease and its management. *Am J Manag Care* 2016; 22(3): 51-60.
- Mehta H, Nazzal K, Sadikot RT: Cigarette smoking and innate immunity. *Inflammation Research* 2008; 57(11): 497–503.
- Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A: Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 437-443.
- Miyamoto T, Okimoto T, Kuwano M: Chemical Composition of the Essential Oil of Mastic Gum and their Antibacterial Activity Against Drug-Resistant *Helicobacter pylori*. *Nat Prod Bioprospect* 2014; 4: 271-231.

Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG . Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46–54.

Neish AS: Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterol* 2009; (136): 65 – 80.

Neurath M: Current and emerging therapeutic targets for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14(11): 688.

Nougayrede JP, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, Buchrieser C, Hacker J, Dobrindt U, Oswald E: *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science* 2006; 313(5788): 848–851.

Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nuñez G, Cho JH: A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603–606.

O'Sullivan M: Symposium on 'The challenge of translating nutrition research into public health nutrition'. Session 3: Joint Nutrition Society and Irish Nutrition and Dietetic Institute Symposium on 'Nutrition and autoimmune disease'. *Nutrition in Crohn's disease*. *Proc Nutr Soc*. 2009; 68(2): 127-34.

Panaccione R, Ghosh S, Middleton S, Márquez JR, Scott BB, Flint L, van Hoogstraten HJ, Chen AC, Zheng H, Danese S, Rutgeerts P: Combination therapy with infliximab and azathioprine is superior to monotherapy with either agent in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2014; 146: 392–400.

Pang Y and Zheng C: Relationship between Th1/Th2 cells and inflammatory bowel disease. *World Chin J Digestol* 2004; 12: 1922-1924.

Papi C, Fasci-Spurio F, rogai F, Settesoldi A, Margagnoni G, Annesse V: Mucosal healing in inflammatory bowel disease: treatment efficacy and predictive factors. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 978-985.

Paraschos S, Magiatis P, Mitakou S, Petraki K, Kalliaropoulos A, Maragkoudakis P, Mentis A, Sgouras D and Skaltsounis AL: In vitro and in vivo activity of Chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 551-559.

Peyrin-Biroulet L, Panes J, Sandborn WJ, Vermeire S, Danese S, Feagan BG, Colombel J, Hanauer SB, Rycroft B: Defining Disease Severity in Inflammatory Bowel Diseases: Current and Future Directions. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2016; 14: 348–354.

Podolsky DK: Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 417-429.

Rajendran N, Kumar D: Role of diet in the management of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1442-1448.

Rao R, Baker RD, Baker SS: Inhibition of oxidant induced barrier disruption and protein tyrosine phosphorylation in Caco-2 cell monolayers by epidermal growth factor. *Biochemical Pharmacology* 1999; 57(6): 685–695.

Richman E, Rhodes JM: Review article: evidence-based dietary advice for patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 1156-1171.

Romagnani S: Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 227-257.

Rutella S, Fiorino G, Vetrano S, Correale C, Spinelli A, Pagano N, Arena V, Maggiano N, Repici A, Malesci A, Danese S: Infliximab therapy inhibits inflammation-induced angiogenesis in the mucosa of patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 762–770.

Salim SY, Soderholm JD: Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 362-381.

Sandhu A, Mosli M, Yan B, Wu T, Gregor J, Chande N, Ponich T, Beaton M, rahman A: Self-Screening for Malnutrition risk in Outpatient Inflammatory Bowel Disease Patients Using the Malnutrition Universal Screening Tool (MUST). *J Parenter Enteral Nutr* 2015.

Sands BE: Biomarkers of Inflammation in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2015; 149: 1275-1285.

Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004; 126(6): 1620-1633.

Schefer PG, Bos G, Volwater HG, Dekker JM, Heine RJ, Teerlink T: Associations of LDL size with in vitro oxidizability and plasma levels of in vivo oxidized LDL in Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2003; 20: 563-567.

Schnitzer E, Pinchuk I, Bor A, Fainaru M, Samuni AM, Lichtenberg D: Lipid oxidation in unfractionated serum and plasma. *Chem Phys Lipids* 1998; 92: 151-170.

Schnitzer E, Pinchuk I, Fainaru M, Schafer Z, Lichtenberg, D: Copper-induced lipid oxidation in unfractionated plasma: The lag preceding oxidation as a measure of oxidation-resistance. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1995; 216: 854–861.

Scolapio JS: The role of total parenteral nutrition in the management of patients with acute attacks of inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 1999; 29: 223-224.

Shen J, Zuo ZX, Mao AP: Effect of probiotics on inducing remission and maintaining therapy in ulcerative colitis, Crohn's disease, and pouchitis: meta-analysis of randomized controlled trials. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 21-35.

Singh S, Singh H, Loftus EV Jr and Pardi DS: Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 382-393.

Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottière HM, Doré J, Marteau P, Seksik P, Langella P: *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2008; 105(43): 16731-16736.

Sterer N: Antimicrobial effect of mastic gum methanolic extract against *Porphyromonas gingivalis*. *J Med Food* 2006; 9: 290-292.

Strachan, DP: Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299: 1259–1260.

Strober W, Fuss I, Mannon P: The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest*. 2007; 117(3): 514-521.

Suskind DL, Brittnacher MJ, Wahbeh G, Shaffer ML, Hayden HS, Qin X, Singh N, Damman CJ, Hager KR, Nielson H, Miller SI: Fecal microbial transplant effect on clinical outcomes and fecal microbiome in active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015; 21(3): 556-563.

Takagi S, Utsunomiya K, Kuriyama S, Yokoyama H, Takahashi S, Iwabuchi M, Takahashi H, Takahashi S, Kinouchi Y, Hiwatashi N, Funayama Y, Sasaki I, Tsuji I, Shimosegawa T: Effectiveness of an 'half elemental diet' as maintenance therapy for Crohn's disease: A randomized-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1333-1340.

Takahashi K, Fukazawa M, Motohira H, Ochiai K, Nishikawa H and Miyata T: A pilot study on antiplaque effects of mastic chewing gum in the oral cavity. *J Periodontol* 2003; 74: 501-505.

Talley NJ, Abreu MT, Achkar JP, Bernstein CN, Dubinsky MC, Hanauer SB, Kane SV, Sandborn WJ, Ullman TA, Moayyedi P; American College of Gastroenterology IBD Task Force. An evidence-based systematic review on medical therapies for inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106(1): 2-25.

Timmer A, Preiss JC, Motschall E, Rücker G, Jantschek G, Moser G: Psychological interventions for treatment of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (2): CD006913.

Toptygina AP, Semikina EL, Bobyleva GV, Miroshkina LV, Petrichuk SV: Cytokine profile in children with inflammatory bowel disease. *Biochemistry (Mosc)* 2014; 79: 1371-1375.

Tremblay L, Pineton de Chambrun G, De Vroey B, Lavogiez C, Delaporte E, Colombel JF, Cortot A: Stevens-Johnson syndrome with sulfasalazine treatment: report of two cases. *J. Crohn's Colitis* 2011; 5(5): 457-460.

Triantafyllou A, Bikineyeva A, Dikalova A, Nazarewicz R, Lerakis S, Dikalov S: Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress. *Nutr J* 2011; 10: 64.

Tynkkynen T, Mursu J, Nurmi T, Tuppurainen K, Laatikainen R, Soininen P: NMR protocol for determination of oxidation susceptibility of serum lipids and application of the protocol to a chocolate study. *Metabolomics* 2012; 8: 386–398.

Uniken Venema WT, Voskuil MD, Dijkstra G, Weersma RK, Festen EA: The genetic background of inflammatory bowel disease: from correlation to causality. *The Journal of Pathology* 2017; 241(2): 146–158.

Valencia X, Stephens G, Goldbach-Mansky R, Wilson M, Shevach EM, Lipsky PE: TNF downmodulates the function of human CD4⁺ CD25^{hi} T-regulatory cells. *Blood* 2006; 108: 252-261.

VanDussen KL, Liu TC, Li D, Towfic F, Modiano N, Winter R, Haritunians T, Taylor KD, Dhall D, Targan SR, Xavier RJ, McGovern DP, Stappenbeck TS: Genetic variants synthesize to produce paneth cell phenotypes that define subtypes of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2014; 146(1): 200-209.

Velayos FS, Terdiman JP, Walsh JM: Effect of 5-aminosalicylate use on colorectal cancer and dysplasia risk: a systematic review and metaanalysis of observational studies. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1345–1353.

Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, Li JH, Wang H, Yang H, Ulloa L, Al-Abed Y, Czura CJ, Tracey KJ: Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003; 421: 384–388.

Wedlake L, Slack N, Andreyev HJ, Whelan K: Fiber in the treatment and maintenance of inflammatory bowel disease: a systematic review of randomized controlled trials. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 576-586.

Wędrychowicz A, Zajac A, Tomasik P: Advances in nutritional therapy in IBD. *World J Gastroenterol* 2016; 21; 22(3): 1045-1066.

WHO. Biomarkers in Risk assessment: Validity and Validation. Geneva: WHO, 2001.

Wild GE, Drozdowski L, Tartaglia C, Clandinin MT, Thomson AB: Nutritional modulation of the inflammatory response in inflammatory bowel disease--from the molecular to the integrative to the clinical. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(1): 1-7.

Winkler, P., Ghadimi, D., Schrezenmeir, J., Kraehenbuhl, J.P: Molecular and cellular basis of microflora-host interactions. *Journal of Nutrition* 2007; 137: 756-772.

www.crohnhellas.gr

www.gummastic.gr

www.sodisbrands.com

Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434.

Xie C, Zhuang Y, Luan Y: The research progress of the immune factors in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Cellul Mol Immunol* 2013; 29: 889-892.

Yamamoto T, Nakahigashi M, Saniabadi AR: Review article: diet and inflammatory bowel disease--epidemiology and treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 99-112.

- Yamamoto T, Nakahigashi M, Umegae S, Matsumoto K: Prospective clinical trial: enteral nutrition during maintenance infliximab in Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2010; 45: 24-29.
- Yuan Q, Walker WA: Innate immunity of the gut: mucosal defense in health and disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004; 38(5): 463-73.
- Zachos M, Tondeur M, Griffiths AM: Enteral nutritional therapy for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; (1): CD000542.
- Zallot C, Quilliot D, Chevaux JB, Peyrin-Biroulet C, GuéantRodriguez RM, Freling E, Collet-Fenetrier B, Williet N, Ziegler O, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L: Dietary beliefs and behavior among inflammatory bowel disease patients. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 66-72.
- Zhou L, Ivanov II, Spolski R, Min R, Shenderov K, Egawa T, Levy DE, Leonard WJ, Littman DR: IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat Immunol* 2007; 8: 967-974.
- Zhu H, Li YR: Oxidative stress and redox signaling mechanisms of inflammatory bowel disease: updated experimental and clinical evidence. *Exp Biol Med* 2012; 237: 474-480.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

A.1. Κωδικός ασθενούς

A.2. Όνομα:

Επώνυμο:

A.3. Τηλέφωνο οικίας:

Κινητό:

A.4. Έτος γέννησης:

A.5. Οικογενειακή κατάσταση:

Παντρεμένος

ανύπαντρος

διαζευγμένος

χήρος

Έτη εκπαίδευσης:

Ένα έως εννέα χρόνια (1-9) εκπαίδευσης

Δέκα έως δώδεκα (10-12) χρόνια εκπαίδευσης

Πάνω από δώδεκα (>12) χρόνια εκπαίδευσης

ΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Ύψος

Βάρος

ΔΜΣ

ΝΟΣΟΣ

Ελκώδης κολίτιδα

Νόσος Crohn

Αλλεργικές ή ατοπικές εκδηλώσεις	
Ιστορικό καπνίσματος	<i>Τωρινός καπνιστής</i> <i>NAI OXI</i> <i>Αν NAI, έτη καπνίσματος</i> <i>αριθμός σιγαρέτων ημερησίως</i> <i>Διακόψας</i> <i>NAI....</i> <i>OXI.....</i> <i>Έτη διακοπής</i>
Κατανάλωση αλκοόλ	<i>Αποχή (< 3 μερίδες ετησίως):</i> <i>Κατανάλωση: Ελαφριά (<2 μερίδες/ημέρα) Μέτρια (2-4 μερίδες/ημέρα)</i> <i>Βαριά (>4 μερίδες/ημέρα)</i> <i>Κατανάλωση στο παρελθόν</i>

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΙΦΕΝ

Σύντομο ιστορικό της ΙΦΕΝ	
<i>Ενεργότητα νόσου</i>	
<i>Εντόπιση νόσου</i>	
<i>Διάρκεια νόσου (έτη)</i>	
Ηλικία έναρξης συμπτωμάτων	
Ηλικία διάγνωσης της νόσου	
Εξωεντερικές εκδηλώσεις	
<i>Ήπαρ</i>	
<i>Δέρμα-βλεννογόνοι</i>	
<i>Σκελετικό σύστημα</i>	
<i>Οφθαλμοί</i>	
<i>Αιματολογικές διαταραχές</i>	

Εμβολικά επεισόδια	
Αναπνευστικό	
Ουροποιητικό	
Εντερικές επιπλοκές	
Περιπρωκτικές βλάβες	
Ραγδαία αιμορραγία	
Τοξικό megacolon	
Πολύποδες	
Στενώσεις	
Συρίγγια	
Αποστήματα	
Καρκίνος	

ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ (ΤΩΡΙΝΗ ΑΓΩΓΗ)

5-ASA			
Κορτικοειδή			
Αζαθειοπρίνη			
Μετρονιδαζόλη			
Σιπροφλοξασίνη			
Στοιχειακή διαίτα			
MODULEN IBD			
T. P. N.			
Βιολογικοί παράγοντες			
Άλλη			

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ : ΝΑΙ ΟΧΙ

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

ΚΩΔΙΚΟΣ:

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:

ΤΗΛΕΦΩΝΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ:

- ΗΛΙΚΙΑ:
- ΠΑΡΟΝ ΒΑΡΟΣ (KG):
- ΣΥΝΗΘΕΣ ΒΑΡΟΣ (KG):
- ΥΨΟΣ (CM):
- ΔΜΣ :
- ΛΙΠΟΜΕΤΡΗΣΗ: ΟΛΙΚΟ ΣΩΜΑΤΙΚΟ ΛΙΠΟΣ (%):
ΜΥΪΚΗ ΜΑΖΑ (%):
- ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΙΔΙΑ , ΧΩΡΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΝ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟ ΧΡΟΝΟ;
- ΑΚΟΛΟΥΘΕΙΤΕ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΑΙΤΑ;

Τρόφιμα	Συχνότητα κατανάλωσης	Μέγεθος μερίδας
Δημητριακά ολικής αλέσεως ψωμί ζυμαρικά ρύζι δημητριακά πρωινού φρυγανιές		
Πατάτες βραστές ψητές τηγανητές		
Φρούτα και χυμούς φρέσκα φρούτα αποξηραμένα φρούτα χυμοί		
Λαχανικά και σαλάτες ωμά βρασμένα		
Όσπρια		
Ψάρι και σούπες ψητό βραστό τηγανητό		
Κόκκινο κρέας και προϊόντα του κρέας αλλαντικά		
Πουλερικά κρέας αλλαντικά		
Γαλακτοκομικά πλήρη σε λιπαρά γάλα γιασούρτι λευκά τυριά κίτρινα τυριά		
Ελαιόλαδο στην καθημερινή μαγειρική		
Αλκοολούχα ποτά κρασί μπύρα άλλο		
Αναψυκτικά		Coca-cola ☐ NAI ☐ OXI Sprite ☐ NAI ☐ OXI Ανθρακούχοι χυμοί ☐ NAI ☐ OXI Χωρίς ζάχαρη ☐ NAI ☐ OXI
Καφέ καθημερινά τύπος καφέ φλιτζάνια/ημέρα		☐ NAI ☐ OXI ☐ Ελληνικός ☐ Νεσ / cappuccino ☐ Φίλτρον ☐ 0-1(60 gr καφεΐνης) ☐ 1-2 ☐ 3-5 ☐ 5+
Τσάι καθημερινά Φλιτζάνια/ημέρα		☐ NAI ☐ OXI ☐ 0-1(60 gr τεινής) ☐ 1-2 ☐ 3-5 ☐ 5+

Δημητριακά ολικής άλεσης: 1 slice bread (size of toast), 2 toast, 1 small nut, half nut large, half cup of rice or pasta, **Πατάτες:** ½ cup of boiled potatoes, ½ cup mashed potatoes, potato in half medium (100 grams), 1 cup (60 grams) fried potatoes, **Φρούτα & γυμοί:** 1 medium piece of fruit - similar sized tennis ball. Examples: 1 small apple (80 grams), 1 small banana (60 grams), 1 medium orange (100 grams), 2 small apricots, 1 medium peach, 1 and ¼ cup of strawberries, 12 cherries, 17 small grapes, 1 slice watermelon or cantaloupe (200 grams), **Λαχανικά & σαλάτες:** 1 cup of raw leafy vegetables, ½ cup of other vegetables or steamed vegetables (about 100 grams), **Όσπρια:** 1 cup, **Ψάρι, κρέας, κοτόπουλο:** 120 grams (approximately equivalent in size 4 matchboxes), **Γαλακτοκομικά πλήρη σε λιπαρά:** 1 cup milk, 1 cup of yogurt (180 grams), 30 grams of cheese, **Αλκοόλ:** 100 ml glass of wine = 1 or equivalent of 12% ethanol

ΑΝΑΚΛΗΣΗ 24 ΩΡΟΥ

ΓΕΥΜΑ	ΤΡΟΦΙΜΟ (...../...../.....)	ΤΡΟΦΙΜΟ (...../...../.....)	ΤΡΟΦΙΜΟ (...../...../.....)
ΠΡΩΙΝΟ			
ΔΕΚΑΤΙΑΝΟ			
ΜΕΣΗΜΕΡΙΑΝΟ			
ΑΠΟΓΕΥΜΑΤΙΝΟ			
ΒΡΑΔΙΝΟ			
ΠΡΟ ΥΠΝΟΥ			



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Με το παρόν έγγραφο δηλώνω την εθελοντική συμμετοχή μου στην κλινική μελέτη **«ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΦΑΣΗΣ II ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΜΕ ΦΥΣΙΚΟ ΠΡΟΪΟΝ (ΜΑΣΤΙΧΑ ΧΙΟΥ) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΙΔΙΟΠΑΘΗ ΦΛΕΜΟΝΩΔΗ ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΝΟΣΟ (ΙΦΕΝ)»**.

Η μελέτη θα διεξαχθεί στις εγκαταστάσεις του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Σκοπός της είναι η μελέτη της αποτελεσματικότητας της πρόσληψης φυσικής Μαστίχας Χίου σε μορφή ταμπλέτας σε ασθενείς με ενεργό ή ανενεργό ελκώδη κολίτιδα ή νόσο Crohn.

Βεβαιώνω ότι έχω ενημερωθεί προφορικά για το πειραματικό πρωτόκολλο στο οποίο θα συμμετέχω εάν υπογράψω το παρόν συμφωνητικό. Συγκεκριμένα, γνωρίζω ότι **έχω την υποχρέωση να:**

1. Υποβληθώ σε κλινική εξέταση από τον ιατρό της μελέτης.
2. Συμπληρώσω ερωτηματολόγιο με καθοδήγηση του επιστημονικού προσωπικού της μελέτης που θα περιλαμβάνει:
 - δημογραφικά στοιχεία
 - κατάσταση υγείας (ιατρικό ιστορικό ατομικό και οικογενειακό)
 - ενεργότητα της νόσου
 - ποιότητας ζωής
 - καπνιστικές συνήθειες
 - διατροφικές συνήθειες
 - φυσική δραστηριότητα.
3. Υποβληθώ σε μετρήσεις ανθρωπομετρικών παραμέτρων, δηλαδή ύψους, σωματικού βάρους και λιπομέτρηση.
4. Υποβληθώ σε αιματολογικό έλεγχο στις εγκαταστάσεις της κλινικής στην αρχή και στο τέλος της μελέτης.

5. Λάβω από του στόματος 3 γραμμάρια Μαστίχας Χίου καθημερινά σε μορφή ταμπλέτας που θα μου χορηγηθούν από τους υπευθύνους της μελέτης, παράλληλα με την αναγκαία για την περίπτωσή μου φαρμακευτική αγωγή που μου χορηγεί ο θεράπων ιατρός μου.
6. Ενταχθώ στη μελέτη για χρονικό διάστημα 3 μηνών εφόσον βρίσκομαι σε έξαρση της νόσου.
7. Ενταχθώ στη μελέτη για χρονικό διάστημα 6 μηνών εφόσον βρίσκομαι σε ύφεση της νόσου.
8. Συλλέξω και παραδώσω προς εργαστηριακό έλεγχο δείγμα κοπράνων στην αρχή και λήξη της μελέτης.

Γνωρίζω ότι όλες οι παραπάνω μετρήσεις θα γίνουν υπό την επίβλεψη Ιατρού και Διαιτολόγου-Διατροφολόγου και ότι δεν προκαλούν καμία ενόχληση **ούτε ενέχουν οποιονδήποτε κίνδυνο για την υγεία μου.**

- **Είμαι σύμφωνος/η** να ακολουθήσω τα στάδια 1-8.
- **Κατανοώ** ότι οποιαδήποτε ερωτήματα που αφορούν στη διαδικασία θα απαντηθούν πλήρως από το επιστημονικό προσωπικό της μελέτης.
- **Κατανοώ** ότι οποιαδήποτε πληροφορία αφορά σε εμένα και τα αποτελέσματα των εξετάσεών μου θα παραμείνουν απόρρητα ως προς το όνομά μου, δηλαδή δεν θα δημοσιευθούν ονομαστικά σε δημοσίευση που πιθανά θα προκύψει από τη μελέτη.

Εγώ ο/η υπογραφόμενος/η δίνω με ελεύθερη βούληση τη συναίνεσή μου για την **αυστηρά εθελοντική** συμμετοχή μου στη μελέτη αυτή υπό την επίβλεψη της Επ. Καθηγήτριας κ. Ανδριάνας Καλιώρα.

Ονοματεπώνυμο Εθελοντή _____

Διεύθυνση _____ ☐ _____

Τηλ. ☎

Fax

E-mail

Ημερομηνία ____/____/____

Υπογραφή Εθελοντή
