



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**Αξιολόγηση των επιπέδων μυελοϋπεροξειδάσης σε ασθενείς
με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα του Εντέρου μετά από
διατροφική παρέμβαση με μαστίχα**

Πτυχιακή Εργασία

Παρασκευή Κατσορίδα
217093

ΑΘΗΝΑ, 2020



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Καλιώρα Ανδριάνα

**Επίκουρη καθηγήτρια Διατροφής του Ανθρώπου και Τρόφιμα
(Επιβλέπουσα)**

Καλογερόπουλος Νικόλαος

Καθηγητής Χημείας Τροφίμων και Περιβάλλοντος

Παπανικολάου Γεώργιος

**Επίκουρος Καθηγητής στην Παθοφυσιολογία – Γενετική του
Ανθρώπου**

Η Παρασκευή Κατσορίδα 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.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια της πτυχιακής μου εργασίας, κυρία Καλιώρα Ανδριάνα, για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετάσχω ενεργά στη μελέτη ενός θέματος με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς και για την καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας πτυχιακής.

Ευχαριστώ πολύ τον κ. Καλογερόπουλο Νικόλαο και τον κ. Παπανικολάου Γεώργιο, για τη συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή και για τις γνώσεις που μου μετέδωσαν κατά τη διάρκεια της φοίτησής μου.

Ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στη διδακτορική φοιτήτρια του τμήματος, Αμερικάνου Χαραλαμπία, για τις πολύτιμες συμβουλές, την έμπρακτη βοήθεια και την υποστήριξή της.

Τέλος, είμαι ευγνώμων για την αμέριστη συμπαράσταση της οικογένειάς μου, που με την αγάπη τους μου δίνουν δύναμη για κάθε επόμενο βήμα στη ζωή μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	10
ΜΕΡΟΣ Α΄- ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΙΔΙΟΠΑΘΕΙΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΝΟΣΟΙ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ	12
1.1 Ορισμός	12
1.2 Επιδημιολογία	12
1.3 Κλινική εικόνα	16
1.3.1. Κλινικά χαρακτηριστικά	16
1.3.2. Συμπτωματολογία	17
1.4 Κλινική αξιολόγηση ΙΦΝΕ	19
1.4.1. Διάγνωση και ταξινόμηση	19
1.4.2. Αξιολόγηση δραστηριότητας της νόσου	20
1.5 Διαχείριση ΙΦΝΕ	22
1.5.1. Φαρμακευτική παρέμβαση	22
1.5.2. Διαιτητική παρέμβαση	24
1.5.3. Χειρουργική παρέμβαση	26
1.5.4. Εναλλακτική και συμπληρωματική θεραπεία	27
1.6 Παθοφυσιολογικός Μηχανισμός	28
1.6.1. Γενετική προδιάθεση εμφάνισης των ΙΦΝΕ	28
1.6.2. Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος	30
1.6.3. Αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων	30
1.6.4. Ανοσορυθμιστική δυσλειτουργία και ΙΦΝΕ	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΣΤΙΣ ΙΦΝΕ	37
2.1 Ανοσία	37
2.1.1. Έμφυτη ανοσία	37
2.1.2. Επίκτητη ανοσία	38
2.2 Ανοσολογικές διαταραχές και φλεγμονή	38

2.3	Οξειδωτικό στρες και φλεγμονή στις ΙΦΝΕ	40
2.3.1.	Ελεύθερες ρίζες	40
2.3.2.	Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS)	41
2.3.3.	Οξειδωτικό στρες	42
2.3.4.	Οξειδωτικό στρες στις ΙΦΝΕ	42
2.3.5.	Εκτίμηση οξειδωτικού στρες	44
2.4	Μυελοϋπεροξειδάση (ΜΡΟ)	45
2.4.1.	Σύνθεση και δομή	45
2.4.2.	Λειτουργία	46
2.4.3.	Ρόλος ΜΡΟ στο μηχανισμό άμυνας	47
2.4.4.	Ρόλος ΜΡΟ στο μηχανισμό πρόκλησης φλεγμονής	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.	Η ΜΑΣΤΙΧΑ	50
3.1	Γενικά στοιχεία	50
3.1.1.	Ο Σχίνος ή Μαστιχόδεντρο	50
3.1.2.	Καλλιέργεια μαστίχας	51
3.1.3.	Ιστορικά στοιχεία	52
3.2	Σύσταση	53
3.3	Βιολογική δραστηριότητα	55
ΜΕΡΟΣ Β'- ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		59
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ		60
4.1	Σκοπός	60
4.2	Σχεδιασμός μελέτης	60
4.3	Μέθοδος ELISA	63
4.4	Προσδιορισμός των επιπέδων ΜΡΟ στον ορό	65
4.4.1.	Αρχή της μεθόδου	65
4.4.2.	Υλικά και εξοπλισμός	66
4.4.3.	Πρωτόκολλο	66
4.5	Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων	68
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ		69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		77
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ		90

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου (ΙΦΝΕ), είναι χρόνιες φλεγμονώδεις ασθένειες του γαστρεντερικού συστήματος, χαρακτηρίζονται από περιόδους έξαρσης και ύφεσης και διακρίνονται σε δύο νόσους, την Ελκώδη Κολίτιδα (UC) και τη Νόσο Crohn (NC) . Η αιτιολογία των νόσων δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, αλλά στηρίζεται στην αλληλεπίδραση γενετικών, ανοσολογικών, μικροβιολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Η μυελοϋπεροξειδάση (MPO) είναι μια πρωτεΐνη των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια φλεγμονωδών καταστάσεων και υπό φυσιολογικές συνθήκες αποτελεί σημαντικό παράγοντα του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος. Παρ' όλα αυτά, έχει φανεί ότι η πρωτεΐνη αυτή αυξάνεται σε περιπτώσεις χρόνιας φλεγμονής εξαιτίας πολύπλοκων διαταραχών στην ανοσολογική απόκριση, και για το λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται ως βιοδείκτης ενεργότητας χρόνιων νοσημάτων. Η μαστίχα Χίου αποτελεί το αποξηραμένο ρητινώδες εξίδρωμα που λαμβάνεται από τους μίσχους και τους κλάδους του δέντρου *Pistacia lentiscus* L. var *latifolius* Coss ή *Pistacia lentiscus* var. *Chia*, και έχει αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται από την αρχαιότητα για τις ευεργετικές της ιδιότητες, και να αποτελεί αντικείμενο με εξαιρετικό ερευνητικό ενδιαφέρον.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η αξιολόγηση των επιπέδων MPO σε ασθενείς με ΙΦΝΕ σε έξαρση, έπειτα από παρέμβαση με συμπλήρωμα μαστίχας. Στη μελέτη συμμετείχαν 34 ασθενείς με ΙΦΝΕ σε έξαρση, εκ των οποίων 10 έπασχαν από UC και 24 από CD. Αξιολογήθηκαν τα επίπεδα της MPO στον ορό των ατόμων του δείγματος πριν και μετά την παρέμβαση. Για τον προσδιορισμό της MPO πραγματοποιήθηκε Δοκιμασία Ενζυμο-Συζευγμένης Ανοσοπροσρόφησης ELISA - Sandwich. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με το SPSS (V22.0). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η MPO σχετίζεται θετικά με την καλπροτεκτίνη των κοπράνων, έναν σημαντικό δείκτη ενεργότητας για τις ΙΦΝΕ. Τα επίπεδα MPO μειώθηκαν μετά την παρέμβαση, τόσο στην ομάδα που έλαβε το συμπλήρωμα μαστίχας, όσο και στην ομάδα που έλαβε το placebo. Συγκρίνοντας τα επίπεδα στις επιμέρους ομάδες της παρέμβασης, φάνηκε ότι στατιστικά σημαντική μείωση σημειώθηκε στους ασθενείς με CD και στους άνδρες, έπειτα από 3 μήνες λήψης του συμπλήρωμα μαστίχας, ενώ στατιστικά σημαντική μείωση σημείωσαν και οι γυναίκες της ομάδας placebo. Συγκρίνοντας τις δύο ομάδες της παρέμβασης, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις μεταβολές των επιπέδων MPO κατά την παρέμβαση, λαμβάνοντας υπόψη τα επίπεδα της MPO στην αρχή της παρέμβασης. Κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση των εμπλεκόμενων μηχανισμών, ώστε να προσδιοριστεί η επίδραση της μαστίχας στους δείκτες ενεργότητας των ΙΦΝΕ και η θέση της στη διαχείριση της νόσου.

Λέξεις κλειδιά: Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου, μυελοϋπεροξειδάση, Μαστίχα Χίου

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is a chronic inflammatory disease of the gastrointestinal tract, characterized by periods of outbreak and remission and is divided into two diseases, Ulcerative Colitis (UC) and Crohn's Disease (NC). The etiology of the disease has not been fully elucidated, but it is based on the interaction of genetic, immunological, microbiological and environmental factors. Myeloperoxidase (MPO) is a protein of polymorphonuclear neutrophils that is released during inflammatory conditions and under normal circumstances is an important factor in the human immune system. However, this protein has been shown to increase in cases of chronic inflammation due to complex immune response disorders, and for this reason it has been used the past few years as a biomarker of chronic disease activity. Chios mastiha is the dried resinous exudate obtained from the stems and branches of the tree *Pistacia lentiscus* L. var *latifolius* Coss or *Pistacia lentiscus* var. Chia, and has proven antioxidant and anti-inflammatory effects. For this reason, it has been used since ancient times for its beneficial properties, and it is an object of great academic interest.

The aim of this study was to evaluate MPO levels in patients with IBD in outbreak, after intervention with mastic supplementation. The study included 34 IBD patients, of which 10 ulcerative colitis patients and 24 Crohn's disease patients. MPO levels were assessed in the serum of the patients of our sample before and after the intervention. Sandwich Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) was used to measure the MPO levels. Statistical processing was performed with SPSS (V22.0). According to the results, MPO is positively correlated with fecal calprotectin, an important activity indicator for IBD. MPO levels decreased after the intervention, in both groups, the one receiving the mastic supplement and the one receiving the placebo. Comparing the levels in the individual groups of the intervention, it was shown that there was a statistically significant decrease in CD patients, and men after 3 months of taking the mastic supplement, while statistically significant decrease was also observed in women of the placebo team. Comparing the two groups of intervention, no statistically significant difference was observed in the changes of MPO levels during the intervention, taking into account the MPO levels at the beginning of the intervention. It is necessary to further investigate the mechanisms involved, in order to determine the effect of mastic on the indicators of inflammatory activities in IBD and its position in the management of the disease.

Keywords: Inflammatory Bowel Disease, myeloperoxidase, Chios Mastiha

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Χάρτες επίπτωσης των ΙΦΝΕ ανά 100000 ανθρωπο-χρόνια, για το χρονικό διάστημα 1990-2016, επικεντρωμένοι στη Δυτική Ευρώπη και τη Νότια Ασία (Χάρτης Α- Νόσος Crohn, Χάρτης Β- Ελκώδης Κολίτιδα)

Εικόνα 2. Η μεταβολή της επίπτωσης των ΙΦΝΕ στο χρονικό διάστημα 1990-2015 ανά τον κόσμο (Διάγραμμα Α- CD, Διάγραμμα Β- UC)

Εικόνα 3. Συμβατικές και νέες φαρμακολογικές και βιολογικές θεραπείες για τις ΙΦΝΕ και που εντοπίζεται η δράση τους

Εικόνα 4. Αλληλεπίδραση παραγόντων κινδύνου που συμβάλλουν στη χρόνια εντερική φλεγμονή

Εικόνα 5. Πιθανοί μηχανισμοί επίδρασης της δίαιτας στην ανάπτυξη και εξέλιξη των ΙΦΝΕ

Εικόνα 6. Ο φαύλος κύκλος ανοσολογικών διαταραχών και πρόκλησης εντερικής φλεγμονής

Εικόνα 7. Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και αντιπροσωπευτικές αντιδράσεις σχηματισμού τους στα ανθρώπινα κύτταρα

Εικόνα 8. Αντιοξειδωτικά ένζυμα

Εικόνα 9. Οξειδωτικό στρες και φλεγμονή

Εικόνα 10. Παραγωγή ROS στο εντερικό επιθηλιακό κύτταρο και αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί αντιμετώπισής τους

Εικόνα 11. Δομή ώριμου ομοδιμερούς ανθρώπινης μυελοπεροξειδάσης. Κάθε μονομερές αποτελείται από μια βαριά (σκούρο χρώμα) και μια ελαφριά (ανοιχτό χρώμα) αλυσίδα και ένα σύνολο υποκαταστατών, με χαρακτηριστική την ομάδα αίμης στο κέντρο της (κόκκινο χρώμα). (RCSB-Protein Data Base/ 1CXP)

Εικόνα 12. Καταλυτικός κύκλος μυελοπεροξειδάσης

Εικόνα 13. Το «δάκρυ» της Μαστίχας

Εικόνα 14. Καλλιέργεια Μαστίχας

Εικόνα 15. Χρονοδιάγραμμα της ιστορίας της Μαστίχας από την αρχαία χρόνια έως σήμερα

Εικόνα 16. Χημική σύσταση CMG

Εικόνα 17. Δισκία Verum και placebo

Εικόνα 18. Σχηματική απεικόνιση ELISA τύπου Sandwich

Εικόνα 19. Πρώτη επώαση

Εικόνα 20. Δεύτερη επώαση

Εικόνα 21. Τερματισμός αντίδρασης

Εικόνα 22.. Διάγραμμα ροής δείγματος μελέτης

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Τυπικά χαρακτηριστικά Ελκώδους Κολίτιδας και Νόσου Crohn

Πίνακας 2. Ανεπάρκειες μικροσυστατικών στις ΙΦΝΕ

Πίνακας 3. Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού της μελέτης

Πίνακας 4. Ενδεικτικά η οργάνωση τυφλών, προτύπων και δειγμάτων στα μικροβοθρία

Πίνακας 5. Χαρακτηριστικά του δείγματος

Πίνακας 8. Συσχέτιση επιπέδων MPO με ανθρωπομετρικούς δείκτες και δείκτες σχετιζόμενους με τη νόσο

Πίνακας 9. Συσχέτιση επιπέδων MPO με βιοχημικούς δείκτες

Πίνακας 10. Συσχέτιση επιπέδων MPO με δείκτες φλεγμονής (ορού και κοπράνων)

Πίνακας 11. Συσχέτιση επιπέδων MPO με δείκτες οξειδωσης

Πίνακας 12. Αξιολόγηση επιπέδων MPO στο χρόνο 0 (baseline) και στο χρόνο 6 (follow-up), στην ομάδα της παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου

Πίνακας 13. Αξιολόγηση επιπέδων MPO ανάλογα με τον τύπο της νόσου και το φύλο στο χρόνο 0 (baseline) και στο χρόνο 6 (follow-up), στην ομάδα της παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου

ΜΕΡΟΣ Α' - ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΙΔΙΟΠΑΘΕΙΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΝΟΣΟΙ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ

1.1 Ορισμός

Ο όρος Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου (ΙΦΝΕ) (Inflammatory Bowel Diseases, IBDs) χρησιμοποιείται στην κλινική πρακτική για να περιγράψει ένα φάσμα ετερογενών, φλεγμονωδών και ελκωτικών ασθενειών του γαστρεντερικού σωλήνα, κυρίως του λεπτού και του παχέως εντέρου, άγνωστης αιτιολογίας, με εντερικές και εξωεντερικές εκδηλώσεις. Η εμφάνισή τους συνήθως λαμβάνει χώρα στην πρώιμη ενήλικη ζωή, αν και δεν είναι σπάνια η εκδήλωση σε μεγαλύτερες ηλικίες. Η πορεία τους χαρακτηρίζεται από περιόδους έξαρσης και ύφεσης και σχετίζονται με ποικίλες γαστρεντερικές και συστηματικές διαταραχές. Οι νόσοι αυτές διακρίνονται φαινοτυπικά σε δύο βασικές κατηγορίες: τη Νόσο του Crohn (NC) (Crohn's Disease, CD) και την Ελκώδη Κολίτιδα (ΕΚ) (Ulcerative Colitis, UC). Οι δύο φαινότυποι διαφέρουν στους παράγοντες κινδύνου και στη γενετική προδιάθεση και η διάκρισή τους στηρίζεται σε διαφορές στην κλινική, ενδοσκοπική και ιστολογική εικόνα τους¹. Σε μεγάλο τμήμα της βιβλιογραφίας γίνεται αναφορά και σε έναν τρίτο σπανιότερο φαινότυπο (10-15% των περιστατικών) που ορίζεται ως Απροσδιόριστη Κολίτιδα (Indetermined Colitis, IC), όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει τους φαινότυπους της νόσου, που ενώ ανήκουν στις ΙΦΝΕ βάσει κλινικών, ενδοσκοπικών και παθολογικών χαρακτηριστικών, στερούνται χαρακτηριστικών γνωρισμάτων που επιτρέπουν την κατάταξή τους σε έναν, εκ των δύο βασικών φαινοτύπων².

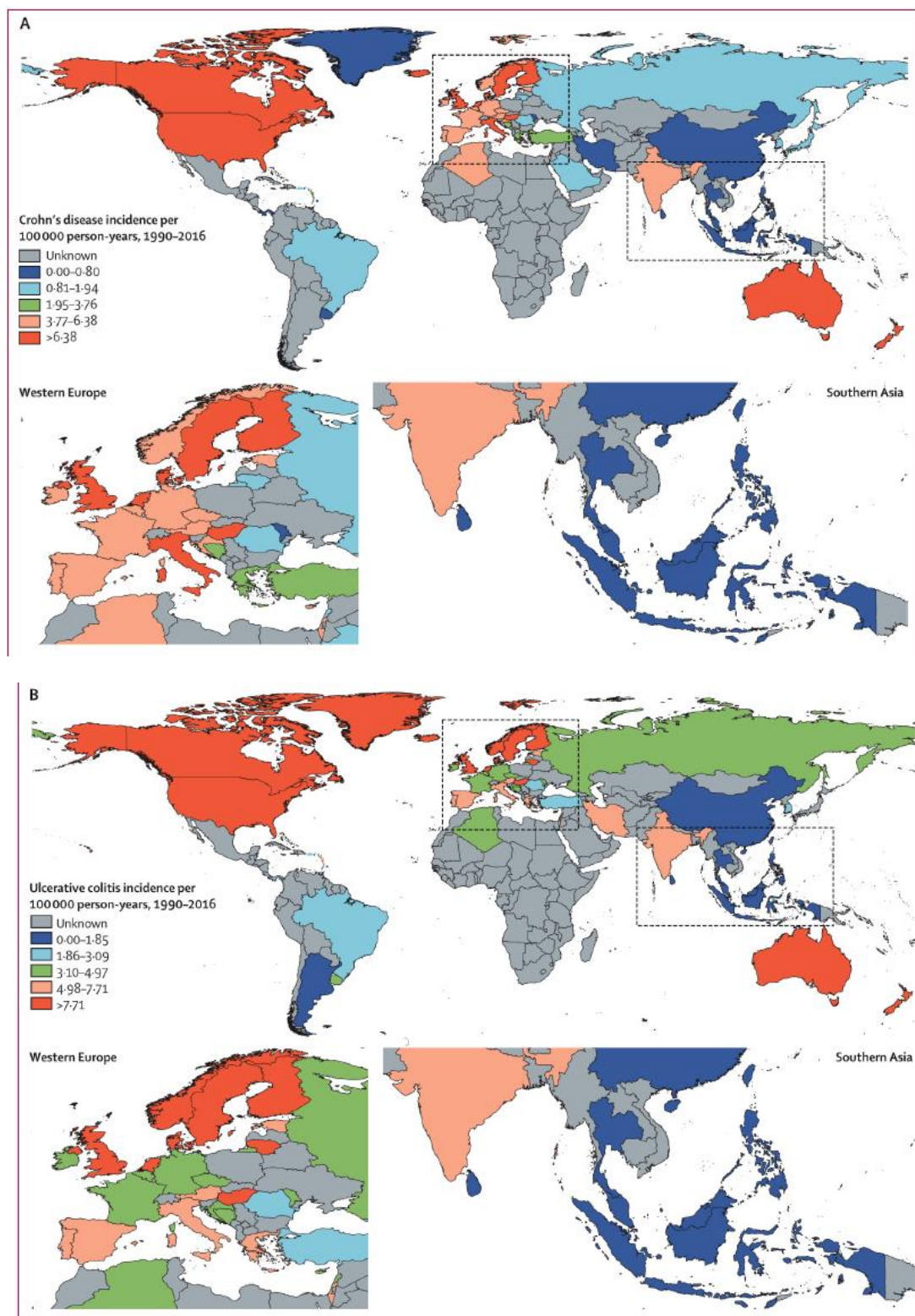
1.2 Επιδημιολογία

Οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου εμφανίζονται από τα αρχαία ακόμη χρόνια. Η πρώτη αναφορά νόσου που προσομοιάζει την ελκώδη κολίτιδα έγινε στην Αρχαία Ελλάδα από τον Ιπποκράτη, χαρακτηριζόταν από χρόνια διάρροια και αιματηρές κενώσεις και θεωρούταν άμεσα συσχετιζόμενη με το έλκος και τη φλεγμονή του παχέος εντέρου³. Πολλές αναφορές, ως μεμονωμένες περιπτώσεις, εμφανίζονται στη Μεγάλη Βρετανία και τη Βόρεια Ευρώπη (19ο-αρχές 20ού αι). Η πρώτη περιγραφή της ελκώδους κολίτιδας γίνεται από τον Samuel Wilks στο Λονδίνο το 1859⁴, και ο όρος θεμελιώνεται από τους Wilks και Moxon λίγα χρόνια αργότερα (1875)⁵. Καθώς τα περιστατικά της ελκώδους κολίτιδας αρχίζουν να αυξάνονται στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, ένας νέος φαινότυπος αναγνωρίζεται το 1932 με τον όρο “τοπική ειλεΐτιδα” και διαφοροποιείται από την ελκώδη κολίτιδα, ακολουθούμενος από τη δημοσίευση ορόσημο για την επίσημη αναγνώριση της Νόσου του Crohn των Burrill Bernard Crohn, Leon Ginzburg και Gordon Oppenheimer το 1932, η οποία οδηγεί την ιατρική κοινότητα στη διάκριση των δύο φαινοτύπων των ΙΦΝΕ σε δύο διαφορετικές νόσους.

Στο πρώτο μισό του 20^{ου} αιώνα, η επίπτωση της ελκώδους κολίτιδας ήταν χαρακτηριστικά μεγαλύτερη. Ακολούθησε σταδιακή αύξηση των περιστατικών της Νόσου

Crone, με αποτέλεσμα να θεωρείται πλέον πιο διαδεδομένη σε πολλές περιοχές ανά τον κόσμο. Οι ΙΦΝΕ θεωρούνταν μέχρι πρότινος νόσοι των δυτικών πληθυσμών, αφού ήταν σχετικά σπάνιες στις αναπτυσσόμενες χώρες. Εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι η «δυτικοποίηση» των κοινωνιών των νέων βιομηχανικών χωρών, φαίνεται να συνοδεύεται από ραγδαία αύξηση της συχνότητας εμφάνισής των ΙΦΝΕ στις χώρες αυτές. Καθώς βελτιώνεται η οικονομική κατάσταση μιας χώρας, παρατηρούνται θεμελιώδεις αλλαγές μέσα στην κοινωνία: αστικοποίηση, εκβιομηχάνιση, αλλαγή στις γεωργικές πρακτικές, εξελισσόμενη υποδομή υγειονομικής περίθαλψης, εξυγίανση και υιοθέτηση ενός δυτικού τρόπου ζωής, ένα νέο περιβάλλον στο οποίο οι ΙΦΝΕ αναδύονται. Έτσι, όλο και αυξανόμενα περιστατικά εμφανίζονται τις τελευταίες δεκαετίες στις νέες βιομηχανοποιημένες χώρες της Ασίας, της Νότιας Αμερικής και της Μέσης Ανατολής, με τη συχνότητα εμφάνισης να εξακολουθεί να είναι σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη του Δυτικού κόσμου, ωστόσο ο ρυθμός αύξησής της είναι σημαντικά υψηλότερος. Επιπλέον, οι πρόσφατα εκβιομηχανισμένες χώρες της Ινδίας και της Κίνας έχουν πληθυσμό άνω του ενός δισεκατομμυρίου ανθρώπων. Αυτοί οι μεγάλοι πληθυσμοί σε συνδυασμό με την επεκτεινόμενη αστικοποίηση και την δυτικοποίηση θα μπορούσαν να σημαίνουν ότι ο αριθμός των κρουσμάτων ΙΦΝΕ στις νέες βιομηχανοποιημένες χώρες πιθανόν σε κάποιο βαθμό να ξεπεράσει τον αριθμό των περιπτώσεων στον δυτικό κόσμο, δεδομένου ότι τα πιο πρόσφατα ευρήματα μιλούν για σταθεροποίηση της επίπτωσης των νόσων στο δυτικό κόσμο⁶.

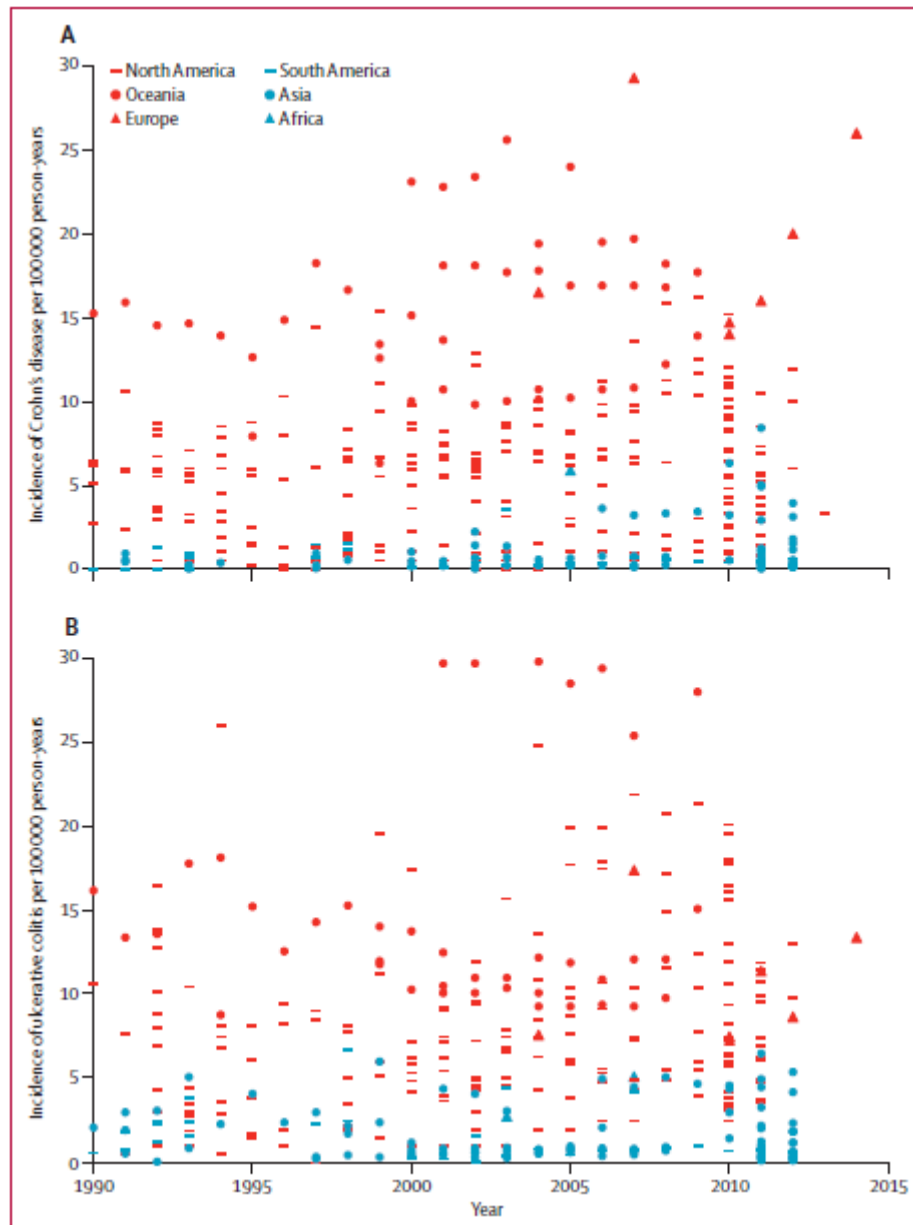
Στον 21ο αιώνα, οι ΙΦΝΕ εμφανίζονται πλέον ως παγκόσμια ασθένεια. Εκατοντάδες πληθυσμιακές μελέτες σχετικά με τη συχνότητα εμφάνισης και την επικράτηση των ΙΦΝΕ έχουν πραγματοποιηθεί σε ολόκληρο τον κόσμο. Συστηματική ανασκόπηση άνω των 200 μελετών των Molodecky et al., καθόρισε την παγκόσμια κατανομή της νόσου⁷. Σε αυτήν στηρίζεται πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση⁸, η οποία συνδύασε 95 μελέτες της ανασκόπησης των Molodecky et al., και 52 νεότερες μελέτες. Η συλλογή αυτών των μελετών παρουσιάζει το εντυπωσιακό μοτίβο της επιδημιολογίας των ΙΦΝΕ που οδηγεί στην καλύτερη κατανόηση της παθογένεσής τους και την επισήμανση της εξελισσόμενης βαρύτητας της νόσου. Αυτά τα επιδημιολογικά πρότυπα είναι καλύτερα αντιληπτά σε επιδημιολογικούς χάρτες επικεντρωμένους στον δυτικό κόσμο, στις νέες βιομηχανοποιημένες χώρες και στον αναπτυσσόμενο κόσμο.



Εικόνα 1. Χάρτες επίπτωσης των ΙΦΝΕ ανά 100000 ανθρωπο-χρόνια, για το χρονικό διάστημα 1990-2016, επικεντρωμένοι στη Δυτική Ευρώπη και τη Νότια Ασία (Χάρτης Α- Νόσος Crohn, Χάρτης Β- Ελκώδης Κολίτιδα)⁸.

Τα ευρήματα της ανωτέρω μελέτης φανερώνουν ότι η συχνότητα εμφάνισης των ΙΦΝΕ στις Δυτικές χώρες ανέρχεται στα 25 ανά 100.000 ανθρωποέτη, και ο επιπολασμός αγγίζει το 0,5%, ποσοστά τα οποία είναι τα υψηλότερα παγκοσμίως. Στη Βόρεια Αμερική, η

ετήσια συχνότητα εμφάνισης UC και CD αγγίζει έως και τα 19,2 και 20,2 ανά 100,000 αντίστοιχα, με την επικράτησή τους να ανέρχεται στα 37,5-248,6 ανά 100.000 και 16.7-318.5 ανά 100.000, αντίστοιχα⁷. Υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης CD παρατηρείται στα βόρεια γεωγραφικά πλάτη και σε αστικούς σε σχέση με αγροτικούς πληθυσμούς².



Εικόνα 2. Η μεταβολή της επίπτωσης των ΙΦΝΕ στο χρονικό διάστημα 1990-2015 ανά τον κόσμο (Διάγραμμα Α- CD, Διάγραμμα Β- UC)⁸

Ενώ τις τελευταίες δεκαετίες η επίπτωση των ΙΦΝΕ στο δυτικό κόσμο φαίνεται να σταθεροποιείται, και σε πολλές περιοχές ακόμη και να μειώνεται, η συνολική επικράτηση της νόσου συνεχίζει να αυξάνεται. Σύμφωνα με προβλέψεις, οι ασθενείς με ΙΦΝΕ θα φθάσουν τα 1,5 εκατομμύρια στην Κίνα μέχρι το 2025⁶, ενώ στον Καναδά, η επικράτηση των ΙΦΝΕ από 0,6% του πληθυσμού το 2015 αναμένεται να αγγίξει το 0,9% έως το 2025⁸.

Η αύξηση του επιπολασμού των ΙΦΝΕ συνοδεύεται και από αξιοσημείωτη οικονομική επιβάρυνση στο σύστημα υγείας. Οι δαπάνες προέρχονται τόσο από την άμεση φροντίδα των ασθενών (ιατρικές θεραπείες, νοσηλεία, χειρουργικές επεμβάσεις, επιπλοκές κα.), όσο και έμμεσα, υπό μορφή απώλειας χρόνου εργασίας. Το άμεσο και έμμεσο κόστος των ΙΦΝΕ στον δυτικό κόσμο είναι σημαντικό. Στις ΗΠΑ, εκτιμάται ότι οι νοσούντες ξεπερνούν το 1 εκατομμύριο με το άμεσο ιατρικό κόστος που συνδέεται με αυτήν να υπολογίζεται ότι υπερβαίνει τα US \$ 6 δισεκατομμύρια στις ΗΠΑ το 2004. Πάνω από 200.000 Καναδοί εκτιμάται ότι έχουν τη νόσο, με πάνω από CDN \$ 1.2 δισεκατομμύρια σε ετήσιες άμεσες δαπάνες υγειονομικής περίθαλψης. Στην Ευρώπη, 2,5-3,0 εκατομμύρια ασθενείς νοσούν και το άμεσο κόστος για την υγειονομική περίθαλψη εκτιμάται ότι ανέρχεται σε 4,6-5,6 δισεκατομμύρια ευρώ ετησίως.

1.3 Κλινική εικόνα

1.3.1. Κλινικά χαρακτηριστικά

Η νόσος του Crohn είναι μια κοκκιωματώδης διατοιχωματική νόσος που εντοπίζεται συχνότερα στον τελικό ειλέο και στο παχύ έντερο αλλά μπορεί δυνητικά να εκτείνεται σε οποιοδήποτε τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα. Οι αλλοιώσεις εμφανίζουν ασυνεχή (τμηματική) κατανομή, καθώς υπάρχουν τμήματα με φυσιολογικό βλεννογόνο μεταξύ των περιοχών φλεγμονής. Η πιο κοινή φλεγμαίνουσα περιοχή του γαστρεντερικού σωλήνα είναι ο ειλέος, ο οποίος προσβάλλεται στο 80% των ασθενών με τη νόσο, ένα 50% των ασθενών εμφανίζει ειλεοκολίτιδα, άλλο ένα τρίτο περιπρωκτική νόσο, και ένα 5-15% προσβολή τμημάτων του ανώτερου γαστρεντερικού, συνήθως της στοματικής κοιλότητας και του γαστροδωδεκαδακτύλου ενώ το ορθό προσβάλλεται σε περίπου 20% των ασθενών. Κοινά συμπτώματα περιλαμβάνουν κοιλιακό άλγος, κόπωση, χρόνια διάρροια με ή χωρίς αιμορραγία, απώλεια βάρους, αναιμία και πυρετό. Η χρόνια φλεγμονή μπορεί οδηγήσει σε αποστήματα, στενώσεις και συρίγγια².

Η Ελκώδης Κολίτιδα χαρακτηρίζεται από φλεγμονή του βλεννογόνου, εντοπισμένη στο παχύ έντερο. Η προσβολή ξεκινά από το ορθό και επεκτείνεται στο εγγύς τμήμα του εντέρου με σταθερό και συνεχή τρόπο. Η έκταση της φλεγμονής μπορεί να περιορίζεται στο ορθό (πρωκτίτιδα) στο 25% των περιπτώσεων ή να καλύπτει ολόκληρο το παχύ έντερο (πανκολίτιδα), σε περίπου 10% των περιπτώσεων. Όταν η προσβολή δεν εκτείνεται πέρα από τη σπληνική καμπή χαρακτηρίζεται ως αριστερόπλευρη κολίτιδα, ενώ στις περιπτώσεις που επεκτείνεται περισσότερο περιφερικά η νόσος χαρακτηρίζεται ως εκτεταμένη. Σπάνια, ο τερματικός ειλέος μπορεί να εμφανίσει φλεγμονή, με επιφανειακές ιστολογικές αλλοιώσεις, φαινόμενο που είναι γνωστό ως παλίνδρομη ειλεΐτιδα και μπορεί περιστασιακά να μιμείται τη CD. Κατά βάση όμως, σε αντίθεση με τη Νόσο του Crohn, στην Ελκώδη Κολίτιδα δεν παρατηρούνται αλλοιώσεις. Η φλεγμονή του παχέος εντέρου μπορεί τελικά να οδηγήσει σε εξέλκωση, οίδημα, αιμορραγία, αναιμία, αφυδάτωση, λοιμώξεις, και ηλεκτρολυτική ανισορροπία.

Πίνακας 1. Τυπικά χαρακτηριστικά Ελκώδους Κολίτιδας και Νόσου Crohn

Τυπικά Χαρακτηριστικά	UC	CD
Κλινικά	Συχνές επείγουσες διαρροϊκές κενώσεις Κυρίαρχη αιματηρή διάρροια	Διάρροια συνοδευόμενη από κοιλιακό πόνο και δυσθρεψία Κοιλιακή μάζα Περιτρωκτικές αλλοιώσεις
Βιοδείκτες ορού	Κυτταροπλασματικά αντιουδετεροφιλικά αντισώματα	Έναντι <i>S.cerevisiae</i> και άλλα αντισώματα σε μικροβιακά αντιγόνα
Ιστοπαθολογικά	Διάχυτη φλεγμονή σε βλεννογόνο και υποβλεννογόνιο Παραμόρφωση αρχιτεκτονικής κρυπτών	Κοκκιωματώδης φλεγμονή Αφθώδη έλκη ή σχισμές Διαφραγματική φλεγμονή
Ενδοσκοπικά/ Απεικονιστικά	Διάχυτη επιφανειακή πρωκτική φλεγμονή Ανομοιόμορφη προσβολή του ορθού Επιφανειακές διαβρώσεις και έλκη Αυτόματη αιμορραγία	Ασυνεχής και ασύμμετρες διατοιχωματικές αλλοιώσεις Προσβολή στο ορθό και το κόλον (δεξιά τμήμα) Κοκκιώδης εμφάνιση Βαθείς ρωγμές και κατά μήκος έλκη

1.3.2. Συμπτωματολογία

Τα συμπτώματα των ΙΦΝΕ εξαρτώνται τόσο από τη φάση εξέλιξης της νόσου, με εμφάνιση ήπιων έως και σοβαρών συμπτωμάτων σε φάσεις έξαρσης, και ελάττωση ή και εξαφάνισή τους κατά τις φάσεις ύφεσης, όσο και από το τμήμα της γαστρεντερικής οδού που φλεγμαίνει. Ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών με ΙΦΝΕ παρουσιάζουν πέρα από τα εντερικά και εξωεντερικά συμπτώματα, γεγονός που τις καθιστά συστηματικές παρά αμιγώς εντερικές νόσους.

- i. *Εντερικά συμπτώματα (Εντερικές εκδηλώσεις και εντερικές επιπλοκές)*

Τα κυριότερα εντερικά συμπτώματα περιλαμβάνουν διάρροια (με πιθανότητα παρουσίας βλέννας ή αίματος, νυκτερινή διάρροια και ακράτεια), δυσκοιλιότητα (πιθανό πρώιμο σύμπτωμα στη UC ή σύμπτωμα στενωτικού τύπου ΙΦΝΕ όταν συνοδεύεται από παγίδευση αερίων στο έντερο), πόνος ή αιμορραγία από τον πρωκτό κατά την εντερική κινητικότητα, επείγουσα εντερική κινητικότητα, κοιλιακές κράμπες και πόνος (στο δεξί κάτω τεταρτημόριο συχνά στη CD, περιομφαλικά και στο αριστερό κάτω τεταρτημόριο συχνά στην UC μέτριας ή σοβαρής βαρύτητας), ναυτία και έμετος (πιο συχνά στη CD), τινεσμός.

Οι πιο συχνά απαντώμενες εντερικές επιπλοκές είναι η προσβολή εγγύς τμήματος του γαστρεντερικού (αυξημένη συχνότητα σε παιδιά και σε συγκεκριμένες εθνικότητες), αιμορραγία λόγω ελκών (πιο συχνή στη UC), μαζική αιμορραγία λόγω εξέλκωσης στο στομάχι ή στο δωδεκαδάκτυλο (5%- 10% των ατόμων με CD), διάτρηση του εντέρου, ενδο-κοιλιακά αποστήματα (CD), στενώσεις και απόφραξη του εντέρου (CD), συρίγγια και περιπρωκτική νόσος (χαρακτηριστικά στη CD με απαιτούμενη χειρουργική επέμβαση σε περιπτώσεις που δεν ανταποκρίνονται σε ιατρική περίθαλψη, ή όταν έχουν αναπτυχθεί αποστήματα και υψηλό κίνδυνο υποτροπής), συρίγγια στο ουροποιητικό ή στον κόλπο, τοξικό megacolon και κακοήθειες (καρκίνοι του παχέος εντέρου στη UC και στη CD εάν εμπλέκεται σημαντική περιοχή του παχέος εντέρου, χολαγγειοκαρκίνωμα σε περιπτώσεις εμφάνισης πρωτοπαθούς σκληρυντικής χολαγγειίτιδας και αδενοκαρκίνωμα του λεπτού εντέρου στη CD)⁹.

ii. *Εξωεντερικά συμπτώματα (Εξωεντερικές εκδηλώσεις-εξωεντερικές επιπλοκές)*

Οι εξωεντερικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν ασθένειες σχετιζόμενες με τις ΙΦΝΕ ή και ανεξάρτητες από αυτές και συνήθως σχετίζονται με προσβολή των αρθρώσεων, του δέρματος, των ματιών αλλά και σημαντικών οργάνων. Οι εξωεντερικές επιπλοκές μπορούν να υποδιακριθούν σε εκείνες που προκαλούνται από την ίδια την νόσο και αποτελούν συνέπεια της απώλειας της λειτουργικότητας των προσβεβλημένων τμημάτων του εντέρου (πχ. ανεπάρκεια μικροθρεπτικών συστατικών λόγω δυσασπορόφησης) και σε αυτές που προκαλούνται από την ειδική θεραπεία της, όπως προκαλούμενες από φάρμακα νόσοι και τοξικότητες.

Τα πιο συχνά εξωεντερικά συμπτώματα περιλαμβάνουν νόσους των αρθρώσεων (στο 35% των ασθενών με ΙΦΝΕ). Το 5-20% των ασθενών με ΙΦΝΕ εμφανίζουν περιφερική αρθρίτιδα, ακολουθεί η αξονική αρθρίτιδα με 5-22% επίπτωση σε ασθενείς με CD και 2-6% σε ασθενείς με UC. Συχνές εκδηλώσεις αφορούν το δέρμα, με συχνότερες το οζώδες ερύθημα (10-15% των ασθενών), το γαγγραινώδες πυόδερμα (<5%) και την οξεία εμπύρετη ουδετεροφιλική δερματοπάθεια (σύνδρομο Sweet), αλλά και τα μάτια (2-6% των ασθενών) με εμφάνιση επιτεφυκίτιδας και επισκληρίτιδας, μέχρι και σκληρίτιδας και η πρόσθιας ραγοειδίτιδας. Στο ήμισυ των ασθενών με ΙΦΝΕ παρατηρείται προσβολή του συστήματος ήπατος-χοληφόρων-πακρέατος(HPB), υπό τη μορφή πρωτοπαθούς σκληρυντικής χολαγγειίτιδας(PSC), περιχολαγγειίτιδας, αυτοάνοσης ηπατίτιδας, στεατοηπατίτιδας, κοκκιωματώδους ηπατίτιδας, πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης, παγκρεατίτιδας, χολολιθίασης και σε εξαιρετικές περιπτώσεις ηπατοσπληνικού T-λεμφώματος. Πολλοί ασθενείς εμφανίζουν αναιμία (συνδυασμός εξωεντερικής εκδήλωσης και επιπλοκής). Σε σπάνιες περιπτώσεις οι ΙΦΝΕ μπορεί να οδηγήσουν σε προσβολή των πνευμόνων, της καρδιάς, των νεφρών και του νευρικού και αγγειακού συστήματος. Τέλος, από μελέτες έχει

φανεί μείωση της οστικής πυκνότητας των ασθενών με ΙΦΝΕ, με αποτέλεσμα οι ΙΦΝΕ να ενοχοποιούνται και για την πρόκληση οστεοπενίας και οστεοπόρωσης¹⁰.

Σε κάποιες περιπτώσεις, οι ΙΦΝΕ μπορεί να συνοδεύονται και από πιο γενικευμένα συμπτώματα, όπως η παρουσία πυρετού, η απώλεια όρεξης, η απώλεια βάρους, η κούραση, η νυχτερινή εφίδρωση, η καθυστέρηση της ανάπτυξης στα παιδιά και η πρώιμη αμηνόρροια στις γυναίκες.

1.4 Κλινική αξιολόγηση ΙΦΝΕ

Όπως είναι εμφανές από τη συμπτωματολογία και την κλινική εικόνα των δύο νόσων, οι CD και UC μοιράζονται κλινικά και παθοφυσιολογικά χαρακτηριστικά, γεγονός που δυσκολεύει τη διάκρισή τους. Σε ένα 5-15% των ασθενών με ΙΦΝΕ, οι ενδοσκοπικές και ιστολογικές εκτιμήσεις δεν μπορούν να διακρίνουν την CD από τη UC, και αυτοί οι ασθενείς θεωρούνται μη ταξινομημένοι με ΙΦΝΕ (IBD-Unclassified, IBD-U), ενώ αν τα χαρακτηριστικά παραμένουν απροσδιόριστα και μετά την ιστολογική αξιολόγηση, η νόσος ορίζεται ως Απροσδιόριστη Κολίτιδα (IC). Το IBD-U είναι πιο συχνό σε παιδιά απ' ό τι σε ενήλικες. Σε μικρό ποσοστό των ασθενών με UC, η διάγνωσή τους αλλάζει αργότερα σε νόσο IBD-U ή CD¹¹. Οι κλινικοί γιατροί τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούν όλο και περισσότερο μοριακούς δείκτες, συμπεριλαμβανομένων των γενετικών, ορολογικών και κοπράνων μαζί με την αξιολόγηση των παραδοσιακών ενδοσκοπικών, απεικονιστικών και ιστολογικών χαρακτηριστικών για τη διάγνωση, τη διαφορική διάγνωση, την εκτίμηση της δραστηριότητας και της σοβαρότητας της νόσου, την πρόβλεψη ανεπιθύμητων ενεργειών, και θεραπευτικών αποκρίσεων. Αυτοί οι δείκτες έχουν αποδεκτή ευαισθησία και ειδικότητα. Παρόλο που έχει σημειωθεί ουσιαστική πρόοδος, η διάγνωση και η ταξινόμηση εξακολουθεί να στερείται ενός μοναδικού τεστ ή "gold standard" δείκτη.

1.4.1. Διάγνωση και ταξινόμηση

Σύμφωνα με τις Κατευθυντήριες οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Γαστρεντερολογίας, η διάγνωση των Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νόσων του Εντέρου απαιτεί:

- ✓ φυσική εξέταση,
- ✓ λήψη ιστορικού του ασθενούς,
- ✓ αιματολογικά τεστ,
- ✓ εξέταση δείγματος κοπράνων,
- ✓ ενδοσκόπηση,
- ✓ λήψη βιοψιών και
- ✓ απεικονιστικούς ελέγχους,

προκειμένου να αποκλειστούν άλλες υποκείμενες νόσοι. Ενδεικτικά οι εξετάσεις που (ανάλογα την περίπτωση) πραγματοποιούνται είναι:

- i. Εξέταση κοπράνων

Εξετάσεις ρουτίνας και καλλιέργεια για αποκλεισμό άλλων αιτιών διάρροιας, εξέταση για *Clostridium difficile*, έλεγχος για λανθάνουσα αιμορραγία ή παρουσία λευκοκυττάρων, μέτρηση επιπέδων λακτοφερρίνης και α₁-αντιθρυψίνης για αποκλεισμό εντερικής φλεγμονής (ELISA tests) και μέτρηση επιπέδων καλπροτεκτίνης για προσδιορισμό δραστηριότητας νόσου.

ii. Εξέταση αίματος

Γενική αίματος, ρυθμός καθίζησης ερυθροκυττάρων, επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και α₁-όξινης γλυκοπρωτεΐνης (ορομουκοειδές), ηλεκτρολύτες, αλβουμίνη, φερριτίνη, ασβέστιο, μαγνήσιο και βιταμίνη B₁₂, κορεσμός τρανσφερρίνης/ διαλυτός υποδοχέας τρανσφερρίνης, κοβαλαμίνη ορού, ηπατικά ένζυμα και έλεγχος λειτουργικότητας, ιός ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), ιός ηπατίτιδας B (HBV), ιός της ηπατίτιδας C (HCV), ιός ανεμοβλογιάς- ζωστήρα (VZV), ανοσοσφαιρίνη G (IgG), περιπυρηνικά αντιουδετεροφιλικά αντισώματα (p-ANCA) και έναντι *S.cerevisiae* αντισώματα (ASCA) για περιπτώσεις μη ταξινομημένων IBD (θετικό p-ANCA και αρνητικό ASCA υποδηλώνει UC, αρνητικό p-ANCA και θετικό ASCA υποδηλώνει CD), ανίχνευση αντισωμάτων για αποκλεισμό κοιλιοκάκης.

iii. Απεικονιστικές και ενδοσκοπικές εξετάσεις

Απλή ακτινογραφία, βαριούχος υποκλυσμός, εντεροκάψουλα, εντεροσκόπηση με σπιράλ ή μονό ή διπλό μπαλόνι, ενδοσκόπηση ανώτερου γαστρεντερικού (σε περιπτώσεις αντίστοιχων συμπτωμάτων), μέθοδοι τρισδιάστατης απεικόνισης (αξονική τομογραφία, μαγνητική τομογραφία) και παρεμβατικές μέθοδοι όπως σιγμοειδοσκόπηση και κολονοσκόπηση με λήψη βιοψιών για ιστοπαθολογική αξιολόγηση⁹.

Για τη διάγνωση της νόσου είναι απαραίτητος ο συνδυασμός των κλινικών, ενδοσκοπικών, ιστοπαθολογικών και ακτινολογικών χαρακτηριστικών⁹.

Τη διάγνωση της νόσου ακολουθεί η ταξινόμηση, αναλόγως τη βαρύτητα, το σημείο εντοπισμού, την έκταση κ.α. Η αξιολόγηση της ενδοσκοπικής βιοψίας παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την ταξινόμηση, καθώς και για τον αποκλεισμό άλλων διαταραχών της γαστρεντερικής οδού. Ποικίλα συστήματα ταξινόμησης έχουν προταθεί ανά τα χρόνια, με ευρέως χρησιμοποιούμενα τα τελευταία χρόνια να είναι τα *Κριτήρια Ταξινόμησης του Μόντρεαλ* για ενήλικες και του *Παρισιού* (προσαρμοσμένη εκδοχή του συστήματος του Μόντρεαλ) για παιδιά. Τα συστήματα αυτά προσδιορίζουν την έκταση της νόσου βάσει ενδοσκοπικών και μακροσκοπικών χαρακτηριστικών¹¹.

1.4.2. Αξιολόγηση δραστηριότητας της νόσου

Για την αξιολόγηση της δραστηριότητας των ΙΦΝΕ υπάρχουν πολλοί κλινικοί, ενδοσκοπικοί, ιστολογικοί και απεικονιστικοί δείκτες (scores), εργαστηριακοί βιοδείκτες και δείκτες αξιολόγησης της ποιότητας ζωής, που έχουν ως σκοπό την αξιολόγηση της σοβαρότητας της νόσου και τη δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξής της στο χρόνο, βοηθώντας στην θεραπευτική διαδικασία.

Η πιο εύκολη και γρήγορη εκτίμηση της δραστηριότητας των UC και CD είναι η εργαστηριακή μέτρηση βιοχημικών δεικτών. Από το σύνολο των δεικτών, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι είναι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) στον ορό και η καλπροτεκτίνη των κοπράνων(FC). Είναι αντιπροσωπευτικές της παρουσίας φλεγμονής, με την δεύτερη να εμφανίζει μεγαλύτερη εγκυρότητα, συγκρινόμενη με αποτελέσματα ενδοσκοπικών δεικτών (gold standard).

Από το σύνολο των Scores στην Ελκώδη Κολίτιδα, από τους μη επεμβατικούς δείκτες, ο πιο έγκυρος και αξιόπιστος είναι ο *SCCAI* για ενήλικες, που αξιολογεί την νυχτερινή εντερική κινητικότητα και τον επείγοντα χαρακτήρα της αφόδευσης και ο *PUCAI* για επικυρωμένη παιδιατρική πρακτική, ως καλύτερα ανεκτός από παιδιά λόγω της μη επεμβατικής φύσης του. Ο *Partial Mayo Clinic Index* αποτελεί τον πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο μη επεμβατικό δείκτη στα πλαίσια κλινικών δοκιμών. Κλινική αξιολόγηση παρέχουν οι *Mayo Clinic Score* και *Ulcerative Colitis Disease Activity Index (UCDAI)* (μη επικυρωμένοι). Η βλεννογονική επούλωση αποτελεί τον κυριότερο στόχο της θεραπευτικής διαδικασίας στη UC, και κατά συνέπεια, οι ενδοσκοπικοί δείκτες είναι ιδανικοί για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς της. Ευρέως χρησιμοποιούμενος είναι ο *Mayo Clinic Subscore (MSC)* (μη επικυρωμένος) ενώ οι *UC Endoscopic Index of Severity (UCEIS)* και *UC Colonoscopic Index of Severity (UCCIS)* είναι επίσημοι επικυρωμένοι ενδοσκοπικοί δείκτες^{12,13}. Η επούλωση σε ιστολογικό και απεικονιστικό επίπεδο δεν αποτελούν μέχρι στιγμής στόχο της θεραπείας, παρόλα αυτά η επούλωση του ιστού αποτελεί ένδειξη πλήρους ύφεσης στη UC γι' αυτό και γίνεται χρήση ιστολογικών δεικτών στην κλινική πρακτική, όπως των *Riley Score* και *Geboes Score*, και δύο νέων επικυρωμένων δεικτών, των *Nancy Index* και *Robarts Histopathology Index (RHI)*. Οι τεχνικές απεικόνισης χρησιμοποιούνται σπανιότερα, λόγω μειωμένης πρακτικότητας και αυξημένου κόστους, συμπληρωματικά της ενδοσκοπικής εκτίμησης, σε ασθενείς με σοβαρή UC (MRC-S, MR-score-S, κ.α).

Στη νόσο Crohn, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι δείκτες κλινικής δραστηριότητας είναι ο *Harvey-Bradshaw Index (HBI)*, ο *Crohn's Disease Activity Index (CDAI)* και ο *Perianal Disease Activity Index (PDAI)* (gold standard για περιπρωκτική νόσο), οι οποίοι εμφανίζουν όμως περιορισμούς στην κλινική πρακτική. Ενδοσκοπικοί δείκτες όπως ο *Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity (CDEIS)* και ο *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD)* είναι επικυρωμένοι και χρησιμοποιούνται ευρέως. Σε μετεγχειρητικούς ασθενείς, η εκτίμηση του κινδύνου επανεμφάνισης της νόσου γίνεται με το *Rutgeerts score*. Παρ' όλα αυτά, σε αντίθεση με τη UC, η βλεννογονική επούλωση δεν θεωρείται πρωτεύον θεραπευτικός στόχος στη CD, αφού πρόκειται για διατοιχωματική νόσο, οπότε και η αξία των παραπάνω εκτιμήσεων είναι περιορισμένη. Λόγω της ασυνέχειας της φλεγμονής, δύσκολη είναι και η ιστολογική εκτίμηση, και παρόλο που υπάρχουν δείκτες, αυτοί δεν χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πρακτική. Αντιθέτως, η απεικονιστική εκτίμηση έχει ιδιαίτερη αξία στη CD, λόγω του ότι η φλεγμονή μπορεί να επεκταθεί εκτός του εύρους της ενδοσκόπησης, ενώ έχει τη δυνατότητα να εντοπίσει επιπλοκές όπως στενώσεις, αποστήματα και συρίγγια, συχνά απαντώμενα στη νόσο. Μεταξύ MRI και CT, η δεύτερη συνήθως αποφεύγεται λόγω έκθεσης σε ακτινοβολία κι έτσι συχνά χρησιμοποιούμενοι επικυρωμένοι ακτινολογικοί δείκτες είναι οι *Magnetic Resonance Index of Activity (MaRIA)* και *Van Assche MRI-Based Score for Severity of Perianal Crohn's Disease*.

Η εκτίμηση της ποιότητας ζωής αποτελεί σημαντικό δείκτη για την αξιολόγηση της πορείας της νόσου, αφού η λειτουργικότητα και η ευεξία του ασθενή αποτελούν τους σημαντικότερους στόχους της θεραπευτικής διαδικασίας. Ο gold standard δείκτης ποιότητας ζωής (Quality Of Life- QOL) χρησιμοποιούμενος σε κλινικές δοκιμές είναι ο *Inflammatory Bowel Diseases Questionnaire (IBDQ)*. Στην κλινική πρακτική χρησιμοποιούνται πιο πρακτικοί και σύντομοι δείκτες, όπως είναι ο *IBD-control 8*, και οι επικυρωμένοι *Short Inflammatory Bowel Disease Questionnaire (SIBDQ)* και *Crohn's Ulcerative Colitis Questionnaire-8 (CUCQ-8)*^{12,13}.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες των ECCO-ESGAR του 2018, η ανταπόκριση στη θεραπεία της ενεργού ελκώδους κολίτιδας (UC) θα πρέπει να προσδιορίζεται με συνδυασμό κλινικών παραμέτρων, ενδοσκοπικής και εργαστηριακών δεικτών όπως η CRP και η καλπροτεκτίνη των κοπράνων (FC). Σε ασθενείς με UC που ανταποκρίνονται κλινικά στην ιατρική θεραπεία, η βλεννογονική επούλωση θα πρέπει να προσδιορίζεται ενδοσκοπικά ή με καλπροτεκτίνη κοπράνων περίπου 3 έως 6 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας. Η κλινική και βιοχημική ανταπόκριση στη θεραπεία της νόσου του Crohn θα πρέπει να προσδιορίζεται εντός 12 εβδομάδων μετά την έναρξη της θεραπείας. Η ενδοσκοπική απόκριση στη θεραπεία πρέπει να αξιολογείται εντός 6 μηνών από την έναρξη της θεραπείας¹⁴.

1.5 Διαχείριση ΙΦΝΕ

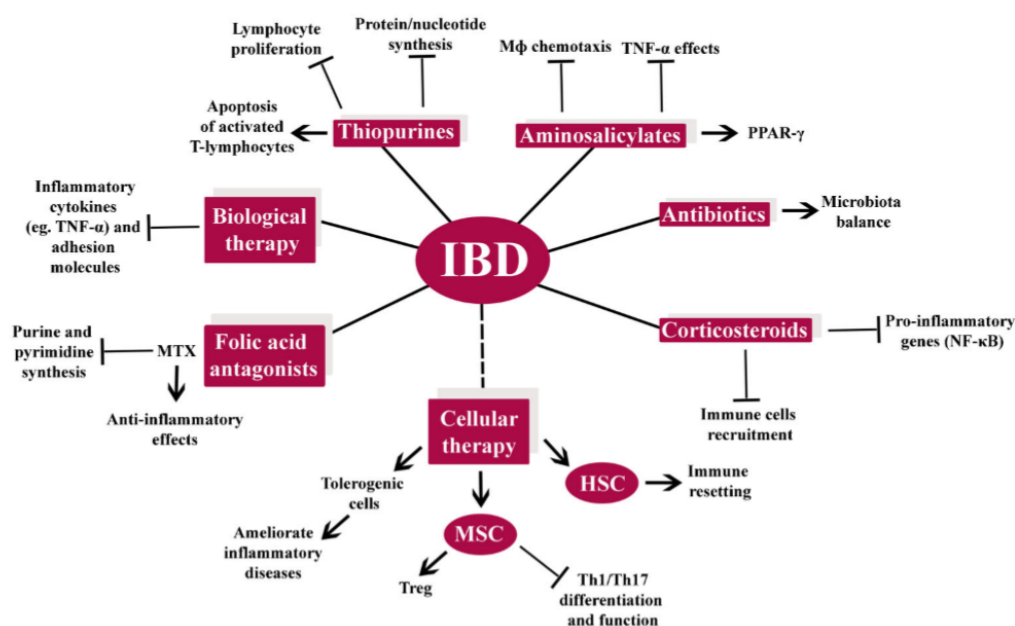
Η διαχείριση των ΙΦΝΕ περιλαμβάνει φαρμακευτική, διατροφική και χειρουργική παρέμβαση. Ο κύριος στόχος της θεραπείας είναι η επαγωγή και η διατήρηση της ύφεσης, η διόρθωση των διατροφικών ελλείψεων και η πρόληψη των επιπλοκών.

1.5.1. Φαρμακευτική παρέμβαση

Παραδοσιακά, οι στόχοι της φαρμακολογικής ή βιολογικής θεραπείας τόσο για τη CD όσο και για τη UC, ήταν η μείωση της φλεγμονώδους διαδικασίας κατά τη διάρκεια των υποτροπών και η παράταση της περιόδου κατά την οποία ο ασθενής διατηρείται σε κατάσταση ύφεσης των κλινικών συμπτωμάτων. Ως εκ τούτου, η θεραπεία εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ αποτελεσματικότητας, δευτερογενών παρενεργειών των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται, και της ανταπόκρισης του ασθενούς σε προηγούμενη θεραπεία. Η επιλογή της θεραπείας θα πρέπει επίσης να βασίζεται στη συχνότητα της υποτροπής της νόσου, στην έκταση και τη σοβαρότητά της και στην παρουσία εξω-εντερικών εκδηλώσεων, που υποδεικνύουν σοβαρές επιπλοκές. Επιπρόσθετοι παράγοντες που επηρεάζουν τη θεραπευτική αντιμετώπιση της εντερικής φλεγμονής είναι η περιοχή της βλάβης, η δραστηριότητα της νόσου και η συνολική κλινική κατάσταση του κάθε ασθενούς.

Η θεραπευτική διαδικασία μπορεί να διακριθεί σε δύο θεραπευτικές προσεγγίσεις γνωστές ως «step-up» ή «top-down» στρατηγικές. Στην πρώτη ακολουθείται αυξανόμενης

έντασης θεραπεία παράλληλη με τη σοβαρότητα της νόσου, ενώ στη δεύτερη η έναρξη της θεραπείας είναι επιθετική, προκειμένου να αποφευχθεί η πρόκληση μελλοντικών επιπλοκών. Οι συμβατικές θεραπείες περιλαμβάνουν συνήθως φάρμακα που ανήκουν σε πέντε ξεχωριστές φαρμακολογικές κατηγορίες: αμινοσαλικυλικά, αντιβιοτικά, κορτικοστεροειδή, θειοπουρίνες και ανταγωνιστές φολικού οξέος, όπως η μεθοτρεξάτη¹⁵. Η συνήθης τρέχουσα στρατηγική περιλαμβάνει έναρξη με 5-αμινοσαλικυλικό οξύ (5-ASA) και συστηματική χορήγηση κορτικοστεροειδών (GSs)¹⁶. Σε περιπτώσεις που δεν επιτυγχάνεται ύφεση, γίνεται χρήση ανοσοκατασταλτικών και TNF α ανταγωνιστών. Παρά την αξιοσημείωτη πρόοδο των τελευταίων χρόνων, ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών αδυνατούν να ανταποκριθούν στη θεραπεία ή χάνουν γρήγορα την απόκρισή τους σε αυτήν. Ως εκ τούτου, για τους ασθενείς με σοβαρή, ανθεκτική στις συμβατικές θεραπείες νόσο, επιτακτική είναι η ανάγκη για νέες, πιο αποτελεσματικές θεραπείες. Προσφάτως εγκεκριμένες επερχόμενες θεραπευτικές οδοί που βρίσκονται αυτή τη στιγμή υπό μελέτη περιλαμβάνουν νέους TNF α αναστολείς, φάρμακα κατά της ιντεγκρίνης, IL-12/IL23 αναστολείς, φάρμακα μικρού μοριακού βάρους (Small-molecule drugs, SMDs), μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων και κοπράνων¹⁷.



Εικόνα 3. Συμβατικές και νέες φαρμακολογικές και βιολογικές θεραπείες για τις ΙΦΝΕ και που εντοπίζεται η δράση τους¹⁵.

Σε εξωεντερικές εκδηλώσεις που οφείλονται στην εντερική δραστηριότητα, η θεραπεία της υποκείμενης ΙΦΝΕ συχνά είναι αρκετή για την ταχεία ανακούφιση των συμπτωμάτων. Σε ανεξάρτητες της νόσου εξωεντερικές εκδηλώσεις, απαιτούνται διαφορετικές στρατηγικές για τη διαχείρισή τους. Επιπλέον, οι εξωεντερικές επιπλοκές θα πρέπει να αξιολογούνται σε ασθενείς με ΙΦΝΕ σε τακτική βάση, καθώς η πρόληψη ή/και η ειδική θεραπεία τους μπορεί να έχει σημαντικό όφελος για τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών¹⁰.

1.5.2. Διαιτητική παρέμβαση

1.5.2.1. Δυσθρεψία

Η δυσθρεψία είναι συχνή στους πάσχοντες από ΙΦΝΕ, συναντάται τόσο στην UC όσο και στη CD, και αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που συνδέονται με κακή έκβαση της νόσου. Ο επιπολασμός της δυσθρεψίας είναι υψηλότερος σε φάσεις έξαρσης των ΙΦΝΕ και υψηλότερος στη CD (14%) σε σύγκριση με τη UC (5,7%)¹⁸, εξαιτίας της ικανότητάς της πρώτης να προσβάλει τμήματα κατά μήκος ολόκληρης της γαστρεντερικής οδού, σε αντίθεση με τη UC είναι πιο περιορισμένη και εντοπισμένη στο παχύ έντερο. Η σοβαρότητα της δυσθρεψίας στις ΙΦΝΕ επηρεάζεται από τη δραστηριότητα (UC), τη διάρκεια (CD) και την έκταση (CD) της νόσου. Οι ασθενείς με CD παραμένουν σε κίνδυνο ακόμη και όταν η ασθένειά τους βρίσκεται σε ύφεση, ενώ οι ασθενείς με UC συνήθως αναπτύσσουν προβλήματα μόνο κατά την ενεργό φάση της νόσου^{19,20}. Οι κύριοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της δυσθρεψίας στις ΙΦΝΕ μπορεί να είναι:

- ✓ Η μείωση της από του στόματος διαιτητικής πρόσληψης εξαιτίας ανορεξίας, κοιλιακού πόνου, ναυτίας, εμετού, περιοριστικών διαιτών ή/και φαρμάκων
- ✓ Η υπερμεταβολική κατάσταση εξαιτίας της παρουσίας ενεργού φλεγμονής, που οδηγεί σε αυξημένες ανάγκες σε θρεπτικά συστατικά
- ✓ Οι αυξημένες γαστρεντερικές απώλειες που μπορεί να οφείλονται σε διάρροια, στεατόρροια, εξιδρωματική εντεροπάθεια, απώλειες πρωτεϊνών από το έντερο ή από συρίγγια ή/και μαζική απώλεια αίματος
- ✓ Η δυσαπορρόφηση θρεπτικών συστατικών εξαιτίας βακτηριακής υπερανάπτυξης, μειωμένης απορροφητικής επιφάνειας λόγω φλεγμονής ή χειρουργικής εκτομής ή παράκαμψης (bypass)
- ✓ Οι παρενέργειες των φαρμάκων που μπορεί να σχετίζονται με ανορεξία, ναυτία, αλληλεπίδραση με τα διαιτητικά συστατικά και πρωτεόλυση^{20,21}

Οι κύριες μορφές δυσθρεψίας στις ΙΦΝΕ είναι:

- ✓ Ο πρωτεΐνο-ενεργειακός υποσιτισμός, η συχνότερη μορφή δυσθρεψίας σε ενήλικες ασθενείς με ΙΦΝΕ, με επιπολασμό 18-62% σε ασθενείς με UC και 50-70% σε ασθενείς με CD¹⁸. Ενδεικτικά, μπορεί να αντικατοπτριστεί στη μείωση του σωματικού βάρους (20% και 37% των ασθενών με UC και CD αντίστοιχα εμφανίζουν μείωση στο Δείκτη Μάζας Σώματος)²² και στα μειωμένα επίπεδα αλβουμίνης (25-80% και 25-50% των ασθενών με UC και CD αντίστοιχα εμφανίζουν υποαλβουμιναιμία)¹⁸.
- ✓ Η διαταραγμένη σύσταση σώματος, συνήθως άμεσα σχετιζόμενη με μειωμένη μυϊκή και σκελετική μάζα. Πρόσφατες έρευνες δείχνουν μείωση της άλιπης μάζας σώματος στο 20% των ασθενών με ΙΦΝΕ, έναν στους δύο ασθενείς να πάσχει από οστεοπενία και τα ποσοστά της οστεοπόρωσης να ανέρχονται στο 15-20% των ασθενών²⁰.
- ✓ Οι ανεπάρκειες σε θρεπτικά συστατικά, συχνότερες σε ασθενείς με CD. Η σιδηροπενική αναιμία αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για μεγάλο ποσοστό των ασθενών με ΙΦΝΕ, ενώ ελλείψεις σε άλλα μικροσυστατικά όπως το φυλλικό οξύ, τη βιταμίνη B12, λιποδιαλυτές βιταμίνες και αντιοξειδωτικούς παράγοντες έχουν παρατηρηθεί σε σημαντικά ποσοστά, όπως αναγράφονται παρακάτω (**Πίνακας 3**).

Πίνακας 2. Ανεπάρκειες μικροσυστατικών στις ΙΦΝΕ¹⁸

Μικροσυστατικά	Επιτολασμός (%) σε	
	UC	CD
Σίδηρος	81	39
Φυλλικό οξύ	35	54-67
Βιταμίνη B12	5	48
Κάλιο	-	6-20
Ασβέστιο	10	13
Μαγνήσιο	-	14-33
Βιταμίνη A	26-93	11-50
Βιταμίνη D	35	75
Ψευδάργυρος	-	40-50
Σελήνιο	-	35-40

Συνεπώς, οι ασθενείς με ΙΦΝΕ είναι ομάδα υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη δυσθρεψίας (πενταπλάσιος κίνδυνος σε σχέση με υγιείς)²³, και γι' αυτό συστήνεται η διατροφική αξιολόγησή τους (screening) κατά τη διάγνωση και ανά τακτά χρονικά διαστήματα στη συνέχεια. Η διαγνωσμένη δυσθρεψία πρέπει να αντιμετωπίζεται καταλλήλως, αφού δυσχεραίνει την πρόγνωση και την ποιότητα ζωής των ασθενών, αυξάνει τα ποσοστά επιπλοκών και θνησιμότητας, την αναγκαιότητα για χειρουργική παρέμβαση, το χρόνο διαμονής στο νοσοκομείο και τις μεταχειρουργικές επιπλοκές^{19,24}.

1.5.2.2. Διατροφική διαχείριση

Η διατροφική φροντίδα είναι συνεπώς σημαντική στη θεραπεία των ασθενών με ΙΦΝΕ, και στη επίτευξη και διατήρηση της ύφεσης στη νόσο. Στοχεύει στην πρόληψη του υποσιτισμού και της ανεπάρκειας μικροθρεπτικών συστατικών, τον περιορισμό των συμπτωμάτων της νόσου και των ανεπιθύμητων ενεργειών της φαρμακευτικής αγωγής και τη διασφάλιση της σωστής ανάπτυξης στα παιδιά¹⁹.

Σε φάσεις έξαρσης, δεν υπάρχει συγκεκριμένη δίαιτα που να συστήνεται σε όλους τους ασθενείς και οι δίαιτες αποκλεισμού δε συστήνονται για την επαγωγή της ύφεσης. Αντίθετα, απαιτείται εξατομικευμένος σχεδιασμός της διαίτας, ανάλογα με την κλινική εικόνα και φαρμακευτική αγωγή του εκάστοτε ασθενούς. Σε κάθε περίπτωση, οι ενεργειακές απαιτήσεις είναι παρόμοιες με αυτές του υγιούς πληθυσμού ενώ οι πρωτεϊνικές ανάγκες είναι αυξημένες, και συνεπώς συστήνεται αύξηση της διαιτητικής πρωτεϊνικής πρόσληψης στα 1.2-1.5g/kg ημερησίως σε ενήλικες ασθενείς¹⁹.

Σε φάση ύφεσης, δεν απαιτείται η ακολούθηση συγκεκριμένης διαίτας από τους ασθενείς. Ενθαρρύνεται η υψηλή πρόσληψη διαιτητικών ινών από φρούτα και λαχανικά (εκτός από περιπτώσεις στενωτικού τύπου CD), η αποφυγή ω-6 PUFA, trans λιπαρών οξέων, μη παστεριωμένων γαλακτοκομικών²⁵ και η ελεγχόμενη κατανάλωση κρέατος. Ανάμεσα στις δίαιτες που έχουν ελεγχθεί κατά καιρούς, θετική επίδραση φαίνεται να έχει η υιοθέτηση Μεσογειακού τύπου διατροφής και η δίαιτα FODMAP^{25,26}. Τόσο οι ενεργειακές όσο και οι πρωτεϊνικές ανάγκες είναι αντίστοιχες με του υγιούς πληθυσμού, με τις πρωτεϊνικές απαιτήσεις να διαμορφώνονται στο 1g/kg ημερησίως σε ενήλικες ασθενείς¹⁹. Σημαντική είναι η αυτό-παρακολούθηση του ασθενούς, για την αποφυγή τροφών που μπορεί να επιδεινώνουν τα συμπτώματα της νόσου.

Ποικίλες μελέτες έχουν διερευνήσει την επίδραση συμπληρωματικής παροχής θρεπτικών συστατικών στις ΙΦΝΕ. Βάσει των μέχρι τώρα κλινικών αποτελεσμάτων η χορήγηση βιταμίνης D²⁶ και B12 συστήνεται μόνο σε περιπτώσεις ανεπαρκειών, η πρόσληψη βιταμίνης D και ασβεστίου σε περιπτώσεις χρήσης κορτικοστεροειδών και σιδήρου σε περιπτώσεις αναιμίας. Παρόλο που υπάρχουν ανεπαρκή δεδομένα που να υποστηρίζουν τη χρήση συμπληρωμάτων για μείωση ή διατήρηση της ύφεσης, θετική επίδραση στην εξέλιξη της νόσου φαίνεται από μελέτες ότι πιθανώς να προσδίδει η πρόσληψη ψύλλιου²⁶, αντιοξειδωτικών, γλουταμίνης, βραχείας αλύσου λιπαρών οξέων (SCFA) και κουρκουμίνης²³. Τα σημερινά δεδομένα δεν δικαιολογούν τη χορήγηση πρε- και προβιοτικών, ούτε αυξητικών παραγόντων.

1.5.2.3. Υποστήριξη θρέψης

Συχνά απαιτείται διατροφική παρέμβαση με χορήγηση Τεχνητής Διατροφής για την υποστήριξη θρέψης. Η διατροφική θεραπεία διακρίνεται σε πρωτογενή και υποστηρικτική θεραπεία. Ο στόχος της πρώτης είναι να προκαλέσει και να διατηρήσει την ύφεση και της δεύτερης να υποστηρίξει τις μακροχρόνιες επιπτώσεις της φαρμακευτικής αγωγής²⁰. Η Τεχνητή Διατροφή δε συστήνεται στην πρωτογενή θεραπεία για τη διατήρηση της ύφεσης¹⁹, και συνεπώς χρησιμοποιείται κυρίως σε ασθενείς που βρίσκονται σε φάση έξαρσης της νόσου. Οι ενδείξεις για την Εντερική Διατροφή (ΕΔ) στη θεραπεία των ΙΦΝΕ περιλαμβάνουν αποκλειστική ΕΔ για ενεργή νόσο, συμπληρωματική ΕΔ για διατήρηση της ύφεσης της νόσου και διατροφική υποστήριξη για την επίτευξη επαρκούς αύξησης βάρους και ανάπτυξης. Η Παρεντερική Διατροφή (ΠΔ) μπορεί να είναι μια εναλλακτική μέθοδος διατροφής για την εντερική πρόσληψη θρεπτικών ουσιών σε ασθενείς με ΙΦΝΕ, που χρησιμοποιείται κυρίως σε άτομα με αντενδείξεις στην ΕΔ, ειδικά όταν υπάρχουν συμπτώματα σοβαρού υποσιτισμού.

Πιο συγκεκριμένα, στην UC η ΕΔ χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις έντονης δυσθρεψίας, και στη CD σε περιπτώσεις δυσθρεψίας, χρήσης κορτικοστεροειδών, ως περιεγχειρητική υποστήριξη και για μείωση των επιπλοκών (στενώσεις, συρίγγια, αποστήματα). Σε περιπτώσεις που η ΕΔ δεν είναι καλά ανεκτή και σε ιδιαίτερες περιπτώσεις μπορεί να χορηγηθεί ΠΔ. Αντενδείκνυται η ανάπαυση του εντέρου με ολική ΠΔ στη UC σε περιόδους έξαρσης, εκτός από περιπτώσεις τοξικού megacolon, εκτεταμένων αιμορραγιών, διάτρησης ή απόφραξης. Αντιστοίχως, στη CD η ολική ΠΔ χορηγείται μόνο σε περιπτώσεις σοβαρού υποσιτισμού, σε σύνδρομο βραχέος εντέρου ή εκτεταμένων εκτομών εντέρου, σε ενδοκοιλιακή σήψη ή διάτρηση, παρουσία συριγγίων και στενώσεων²⁷. Η αποκλειστική ΕΔ είναι αποτελεσματική και συστήνεται ως πρώτη γραμμή θεραπείας για επαγωγή της ύφεσης σε παιδιά και εφήβους με ενεργό CD¹⁹, στα οποία η αποφυγή στεροειδών είναι σημαντική για την ανάπτυξή τους, σε αντίθεση με τους ενήλικες, οι οποίοι εμφανίζουν χαμηλό βαθμό συμμόρφωσης.

1.5.3. Χειρουργική παρέμβαση

Στην Ελκώδη Κολίτιδα, η χειρουργική επέμβαση αποτελεί συχνή θεραπευτική επιλογή, κυρίως σε περιπτώσεις αποτυχίας της φαρμακευτικής αγωγής, κακοηθειών, και επιπλοκών όπως διάτρηση εντέρου ή τοξικό megacolon. Αντιθέτως, αποτελεί σπάνια θεραπευτική λύση

σε ασθενείς με Νόσο Crohn, εξαιτίας των μεγάλων ποσοστών επανεμφάνισης της νόσου μετεγχειρητικά, αν και έχει φανεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε μακροχρόνια ύφεση σε ορισμένους ασθενείς. Συγκεκριμένα, στη CD αποτελεί επιλογή μόνο σε περιπτώσεις εμφάνισης ανθεκτικότητας σε κορτικοστεροειδή, σε περιπτώσεις αποφρακτικών συμπτωμάτων, εντοπισμένης ειλεοτυφλικής νόσου και επιπλοκών όπως εκτεταμένων στενώσεων και αποστημάτων¹⁴.

Οι συχνότερες χειρουργικές επιλογές στις ΙΦΝΕ είναι:

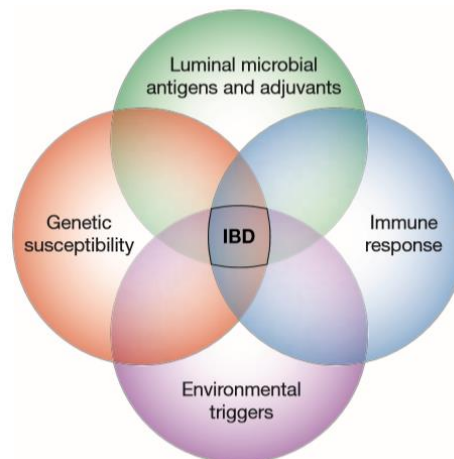
- ✓ Διάνοιξη αποστημάτων
- ✓ Υφολική κολεκτομή
- ✓ Ειλεοπρωκτική ή ειλεοορθική αναστόμωση
- ✓ Ειλεοκολική εκτομή
- ✓ Προσωρινή ειλεοστομία/κολοστομία
- ✓ Λαπαροσκοπική κολεκτομή

1.5.4. Εναλλακτική και συμπληρωματική θεραπεία

Αναφέρεται ότι περίπου 21-60% των ασθενών με ΙΦΝΕ έχουν καταφύγει σε συμπληρωματική και εναλλακτική θεραπεία, η οποία περιλαμβάνει φυτοθεραπεία, ψυχοθεραπεία και θεραπεία βελονισμού. Η διαφορά μεταξύ των δύο ειδών έγκειται στο γεγονός ότι η συμπληρωματική θεραπεία χρησιμοποιείται ταυτόχρονα με την συμβατική, ενώ η εναλλακτική θεραπεία την αντικαθιστά. Αν και ο αριθμός των σχετικών κλινικών μελετών είναι σχετικά μικρός, η αποτελεσματικότητα των φυτικών θεραπειών φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την απουσία παρενεργειών, έχει οδηγήσει στην αυξημένη δημοτικότητά τους μεταξύ ασθενών αλλά και στο όλο και αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον. Οι φυτικές θεραπείες ασκούν το θεραπευτικό τους όφελος με διαφορετικούς μηχανισμούς όπως ανοσολογική ρύθμιση, αντιοξειδωτική δράση, αναστολή λευκοτριενίου B4 και πυρηνικού παράγοντα-kB, και αντιαιμοπεταλιακή δραστηριότητα. Μεταξύ των φυτικών φαρμάκων ή βοτάνων, τα *Pistacia lentiscus* var *Chia*, *Plantago ovata*, *Curcuma longa*, *Andrographis paniculata*, *Curcumin*, *Aloe vera*, *Artemisia absinthium*, *Boswellia serrata*, *Cannabis sativa* και *Tripterygium wilfordii* αποτελούν τις πιο δημοφιλείς φυτικές θεραπείες που χρησιμοποιούνται από ασθενείς με ΙΦΝΕ²⁸. Μια πρόσφατη ανασκόπηση από τους Τριανταφυλλίδη και συν., σχετικά με την αποτελεσματικότητα των βοτάνων για τη θεραπεία των ΙΦΝΕ, εξετάστηκαν 27 κλινικές μελέτες που μελετούσαν 11 είδη φυτοθεραπείας σε 1874 ασθενείς με ΙΦΝΕ. Από τις 11 φυτοθεραπείες, επτά είχαν ωφέλιμες επιδράσεις στη UC, ενώ τέσσερις είχαν ως αποτέλεσμα κλινική ύφεση στη CD²⁹. Παρόλ'αυτά, απαιτείται εκτενής έρευνα γύρω από αυτές τις θεραπείες, έως ότου να μπορέσουν να συμπεριληφθούν και επίσημα στην κλινική πρακτική.

1.6 Παθοφυσιολογικός Μηχανισμός

Αν και ο ακριβής μηχανισμός που οδηγεί στην κλινική εκδήλωση των ΙΦΝΕ είναι ασαφής, η επικρατέστερη θεωρία για την παθογένεσή τους υποστηρίζει ότι πρόκειται για το αποτέλεσμα ανοσορρυθμιστικής δυσλειτουργίας της γαστρεντερικής οδού, που πυροδοτείται από την αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών και μικροβιακών παραγόντων, σε ξενιστή με γενετική προδιάθεση εμφάνισης της νόσου.



Εικόνα 4. Αλληλεπίδραση παραγόντων κινδύνου που συμβάλλουν στη χρόνια εντερική φλεγμονή³⁰.

Οι παράγοντες κινδύνου μπορεί να προέρχονται τόσο από το εξωτερικό περιβάλλον, που περιλαμβάνουν μολυσματικά παθογόνα όπως ιοί και βακτήρια, όσο και από τον ίδιο τον οργανισμό, όπως αυτοαντιγόνα του εντερικού μικροβιώματος. Ο βασικός μηχανισμός πρόκλησης της φλεγμονής του εντέρου στα ΙΦΝΕ είναι ανοσοκατευθυνόμενος, και συνήθως αποδίδεται σε μη φυσιολογική ή υπερβάλλουσα ανοσολογική απάντηση.

1.6.1. Γενετική προδιάθεση εμφάνισης των ΙΦΝΕ

Έχει παρατηρηθεί και ερευνητικά επιβεβαιωθεί η επίδραση της κληρονομικότητας στις ΙΦΝΕ, η οποία φαίνεται να είναι μεγαλύτερη στη CD απ' ό τι στη UC, με το βαθμό συμμόρφωσης σε ομοζυγωτικούς διδύμους να κυμαίνεται μεταξύ 30-58% και 10-15% αντίστοιχα³¹. Το 15% των ασθενών με ΙΦΝΕ έχουν συγγενή 1^{ου} βαθμού που πάσχει από την ίδια νόσο. Τα άτομα με συγγενείς 1^{ου} βαθμού που νοσούν έχουν 5% και 2% πιθανότητα να εμφανίσουν CD και UC αντίστοιχα. Τα ποσοστά αυτά εμφανίζονται ελαφρώς αυξημένα σε εβραϊκούς πληθυσμούς³. Η εμφανής γενετική προδιάθεση των ΙΦΝΕ έχει οδηγήσει σε αναζήτηση των γενετικών μηχανισμών στους οποίους αποδίδεται η κληρονομικότητα της νόσου. Τις τελευταίες δεκαετίες, εξελίξεις στον τομέα του γονιδιακού ελέγχου και της τεχνολογίας ανάλυσης δεδομένων επέτρεψαν την πραγματοποίηση μελετών σάρωσης του γονιδιώματος (GWAS) και την ταυτοποίηση μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs). Περισσότεροι από 200- σχετιζόμενοι με ΙΦΝΕ- γενετικοί τόποι έχουν ταυτοποιηθεί τα τελευταία 20 χρόνια που εμπλέκονται σε βιολογικές διαδικασίες όπως η λειτουργικότητα εντερικού φραγμού, η επιθηλιακή αποκατάσταση, η άμυνα έναντι μικροβίων, η έμφυτη και

προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση, η παραγωγή ελευθέρων ριζών, η αυτοφαγία, το ER stress και μεταβολικές οδοί σχετιζόμενες με τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης³¹. Οι ισχυρότερες συσχετίσεις έχουν βρεθεί σε γονίδια των παρακάτω κύριων οδών³²⁻³⁴:

i. Βακτηριακή ανίχνευση

Το πρώτο αλληλόμορφο που συσχετίστηκε με τις ΙΦΝΕ εντοπίστηκε στο NOD2, ένα πρωτεϊνικό γονίδιο που περιέχει τον γενετικό κώδικα ενός ενδομεμβρανικού υποδοχέα που συναντάται στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, στα μακροφάγα, στα μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα του βλεννογόνου και αναγνωρίζει το MPD, διπεπτίδιο που περιέχεται στην πεπτιδογλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος Gram+ και Gram-βακτηρίων και σχετίζεται με τη μεταγραφή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και τον έλεγχο του βακτηριακού πολλαπλασιασμού και της αντιγονο-παρουσίασης. Η μετάλλαξη των NOD2 αλληλόμορφων φαίνεται να τριπλασιάζει τον κίνδυνο εμφάνισης ΙΦΝΕ.

ii. Αυτοφαγία

Η αυτοφαγία είναι μια διαδικασία αυτο-αποδόμησης που εμπλέκεται στη διατήρηση της ενδοκυτταρικής ομοιόστασης. Το ATG16L1 γονίδιο παίζει κύριο ρόλο στο μονοπάτι όλων των τύπων αυτοφαγίας και η T300A μετάλλαξη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για CD, εξαιτίας της βλάβης που προκαλεί στο σχηματισμό των αυτοφαγοσωμάτων που οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα «καθαρισμού» του κυτταροπλασματικού περιεχομένου, σε περιπτώσεις όπως προσβολή από βακτήρια. Στην ίδια οδό εμπλέκεται και το IRGM, που ανήκει στην p47 οικογένεια GTPασών και CD-σχετιζόμενοι πολυμορφισμοί του οδηγούν σε μειωμένη πρωτεϊνική έκφραση.

iii. Οδός Th17 (IL23R)

Προσφάτως περιγράφηκε και η σχέση των Th17 κυττάρων με τη νόσο. Τα Th17 είναι ένα υποσύνολο βοηθητικών T κυττάρων που παράγουν IL-17, μια ισχυρή προφλεγμονώδη κυτταροκίνη που εμπλέκεται σε διάφορες φλεγμονώδεις παθολογίες. Η παραγωγή IL-17 επάγεται από την ενεργοποίηση του υποδοχέα IL23R και ρυθμίζεται από την έκκριση IL-23, μιας προφλεγμονώδους κυτταροκίνης που εκφράζεται μεταξύ άλλων, και σε κύτταρα Th17. Αυξημένη έκφραση IL-17 έχει εντοπιστεί σε ιστούς και στον ορό ασθενών με ΙΦΝΕ³⁵, και αποτελεί αιτιοπαθολογικό παράγοντα εντερικής ίνωσης στη CD³⁶. Παραλλαγές Arg381Gln (rs11209026) στην περιοχή του γονιδίου IL23R, αποτελούν παράγοντες κινδύνου για CD³⁷. Η οδός Th17 και IL-23 είναι καλά εδραιωμένη στην παθογένεση των ΙΦΝΕ, και οι γενετικοί τύποι ευαισθησίας IL23R, IL12B, JAK2 και STAT3 έχουν ταυτοποιηθεί τόσο σε UC όσο και σε CD ασθενείς^{38,39}.

iv. ER stress

Το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) είναι ένα βασικό υποκυτταρικό οργάνο υπεύθυνο για τη σύνθεση και την ωρίμανση πρωτεϊνών. Η αποτυχία της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών

λόγω αλλαγών στο περιβάλλον, όπως η φλεγμονή, οδηγεί σε δυσλειτουργία εντός του ER, που ονομάζεται ER stress. Οι γενετικές μελέτες των ΙΦΝΕ έχουν εντοπίσει ευαίσθητα αλληλόμορφα, όπως τα XBP1 και ARG2 (Anterior Gradient 2), ως πιθανούς παράγοντες κινδύνου⁴⁰. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η γενετική αποσιώπηση των γονιδίων που εμπλέκονται στην σηματοδότηση του ER stress συνδέεται με την αυθόρμητη φλεγμονή του εντέρου ή / και την αυξημένη ευαισθησία στην κολίτιδα^{32,40}.

Παρόλο που όλο και αυξανόμενος αριθμός γενετικών τόπων που συμμετέχουν στην παθογένεση των ΙΦΝΕ, οι γενετικές επιδράσεις εξηγούν μόνο ένα 20%-25% της κληρονομικότητας της νόσου. Αυτό δεν ισχύει μόνο για τις ΙΦΝΕ, αλλά και για πολλές άλλες πολυγενετικές ασθένειες και το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως "γενετικό κενό". Ένα σημαντικό μέρος του γενετικού κενού θα μπορούσε να εξηγηθεί από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γονιδίων και των προϊόντων τους. Αυτή η θεωρία ανοίγει έναν νέο δρόμο στην διερεύνηση αλληλεπιδράσεων γονιδίου-γονιδίου, γονιδίου-οδού και γονιδίου-περιβάλλοντος, που πιθανόν να απαντήσουν τα ερωτήματα γύρω από την παθογένεση ενός συνόλου νοσημάτων³³.

1.6.2. Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος

Πιθανή αιτία πρόκλησης της νόσου είναι η αλληλεπίδραση ενός περιβαλλοντικού παράγοντα (εξωτερικός παράγοντας) με την εντερική μικροχλωρίδα (εσωτερικός παράγοντας) οδηγώντας στην εκδήλωση της ασθένειας. Άλλοι κατά καιρούς προτεινόμενοι παθογενετικοί μηχανισμοί αναφέρουν τις προφλεγμονώδεις ιδιότητες ορισμένων ειδών του εντερικού μικροβιώματος ως πιθανή αιτία πρόκλησης της νόσου. Για το λόγο αυτό, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες που εξετάζουν το εντερικό μικροβίωμα ατόμων με ΙΦΝΕ. Το συνολικό εντερικό μικροβίωμα εγκαθίσταται στον ανθρώπινο οργανισμό εντός των δύο πρώτων εβδομάδων ζωής και έκτοτε φυσιολογικά παραμένει σταθερό. Αντιθέτως, σε ασθενείς με ΙΦΝΕ έχει βρεθεί σημαντική μείωση της βιοποικιλότητας του μικροβιώματος σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον, φαίνεται να μεταβάλλεται και η ισορροπία του μικροβιώματος με υπερανάπτυξη κάποιων ειδών με προφλεγμονώδεις ιδιότητες και μείωση στον αριθμό άλλων με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Συγκεκριμένα, το μικροβίωμα των ατόμων με ΙΦΝΕ χαρακτηρίζεται από μείωση του πληθυσμού των Firmicutes και αύξηση των Proteobacteria και Bacteroidetes βακτηρίων. Η παραπάνω αλλαγή οδηγεί σε μείωση της παραγωγής μικρής αλύσου λιπαρών οξέων και μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία των Τ κυττάρων και να αυξήσει τη διαπερατότητα του εντερικού επιθηλίου^{33,41}. Η ανισορροπία στις αναλογίες των κοινών μικροβιακών ειδών στο μικροβίωμα του ξενιστή μπορεί να προκαλέσει απορρύθμιση στη διαδικασία διάκρισης παθογόνων από φυσιολογικά είδη του εντερικού μικροβιώματος, που σε συνδυασμό με αυξημένη διαπερατότητα του εντερικού επιθηλίου οδηγεί στην πρόκληση φλεγμονωδών αποκρίσεων²⁸.

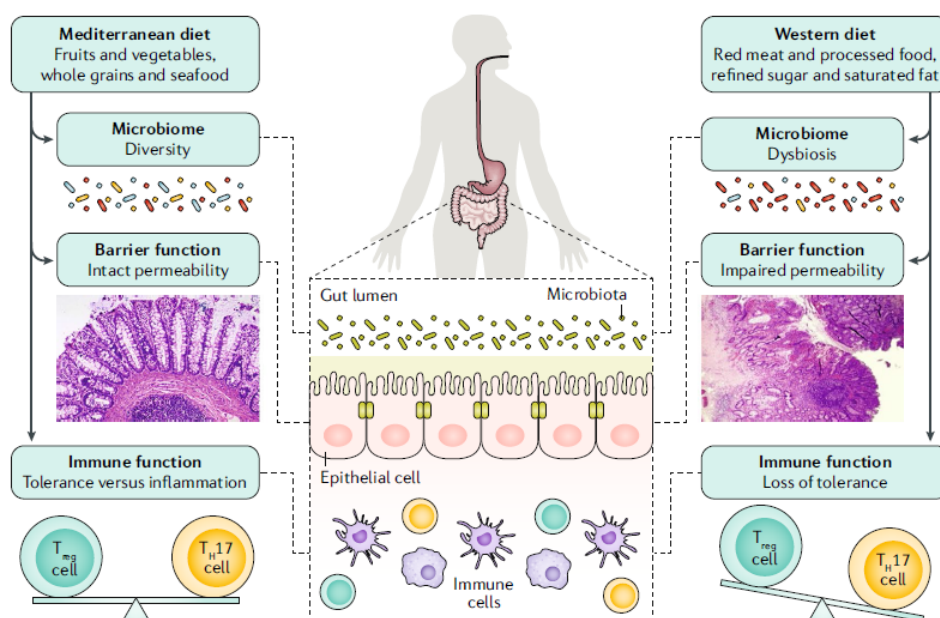
1.6.3. Αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων

Η γενετική προδιάθεση και οι αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη των ΙΦΝΕ, αλλά η εκδήλωσή της νόσου προϋποθέτει την αλληλεπίδρασή τους με ένα σύνολο περιβαλλοντικών παραγόντων. Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η παγκόσμια αύξηση του επιπολασμού των ΙΦΝΕ πραγματοποιήθηκε παράλληλα

με την εκβιομηχάνιση και «δυτικοποίηση» χωρών με -έως τώρα- χαμηλό επιπολασμό, καθώς και με την μετανάστευση πληθυσμών από τις χώρες αυτές, στις αναπτυγμένες χώρες. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην ανάγκη διερεύνησης των συνηθειών που εμπίπτουν στο δυτικό τρόπο ζωής, και τη συσχέτισή τους με την ανάπτυξη της νόσου. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που έχουν κατά καιρούς διερευνηθεί, είναι οι ακόλουθοι:

1. Δίαιτα

Η διαίτα παίζει κυρίαρχο ρόλο στη διατήρηση του φυσιολογικού εντερικού περιβάλλοντος, επηρεάζοντας τη σύσταση και τη λειτουργία του μικροβιώματος, τη διαπερατότητα του επιθηλιακού εντερικού φραγμού και τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, ενώ δύναται να επιδρά ακόμη και σε επιγενετικές τροποποιήσεις. Η στροφή στον δυτικό τρόπο ζωής γνωστή και ως «δυτικοποίηση» των κοινωνιών, συνοδεύεται από την υιοθέτηση δυτικού τύπου διαιτών, πλούσιων σε απλά σάκχαρα, κορεσμένα λίπη, κόκκινο κρέας, γαλακτοκομικά και επεξεργασμένα-τυποποιημένα προϊόντα, και φτωχών σε φρούτα, λαχανικά και γενικότερα τρόφιμα πλούσια σε διαιτητικές ίνες, όπως όσπρια και δημητριακά ολικής άλεσης. Παρόλο που η σχέση μεταξύ δυτικού τύπου διαίτας και ΙΦΝΕ δεν έχει διερευνηθεί πλήρως, είναι γεγονός ότι πρόκειται για διαίτα πλούσια σε τρόφιμα με άμεση ή έμμεση προφλεγμονώδη επίδραση στο εντερικό περιβάλλον, ενώ είναι φτωχή σε συστατικά με αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Δεν είναι παράλογο λοιπόν το γεγονός ότι στη βιβλιογραφία γίνεται παραλληλισμός της αύξησης του επιπολασμού των ΙΦΝΕ με τη δυτικοποίηση των κοινωνιών και κατ' επέκταση των διαιτητικών συνηθειών, γεγονός που καθιστά τη δυτικού τύπου διαίτα ως βασικό παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη της νόσου⁴².



Εικόνα 5. Πιθανοί μηχανισμοί επίδρασης της διαίτας στην ανάπτυξη και εξέλιξη των ΙΦΝΕ⁴³.

Σύμφωνα με τις επίσημες συστάσεις της ESPEN¹⁹, διαίτα πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, και ω-3 λιπαρά οξέα, και φτωχή σε ω-6 λιπαρά οξέα σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης

CD ή UC και συστήνεται. Πιο συγκεκριμένα, τα δεδομένα που έχουν προκύψει από μελέτες έχουν ως εξής:

➤ *Υδατάνθρακες*

Η πρώτη μελέτη περίπτωσης που δημοσιεύθηκε το 1976, από τους Martini και Brandes, προτείνει τη θετική συσχέτιση της επίπτωσης των ΙΦΝΕ με την κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων επεξεργασμένων υδατανθράκων στη δίαιτα. Επιπροσθέτως, αυξημένη κατανάλωση απλών σακχάρων παρατηρήθηκε σε νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με τη νόσο που κατανάλωναν μειωμένες ποσότητες διαιτητικών ινών, φρούτων και λαχανικών συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Σήμερα, τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα, με την γενίκευση της θετικής συσχέτισης των μονοσακχαριτών, της συνολικής πρόσληψης σακχάρων και υδατανθράκων με την εμφάνιση των ΙΦΝΕ να τίθεται υπό αμφισβήτηση, αφού τα ευρήματα ποικίλλουν μελετών αντιτίθεται στις ανωτέρω συσχετίσεις^{44,45}. Σε πρόσφατες μελέτες, η αυξημένη πρόσληψη απλών σακχάρων έχει συσχετισθεί θετικά με την εμφάνιση CD όχι όμως με τη UC και η αυξημένη κατανάλωση σουκρόζης φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης UC⁴⁶. Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει προστατευτικό ρόλο έναντι της CD αλλά δεν φαίνεται να συσχετίζεται με τη UC⁴⁷. Υπομελέτη κοορτής της μελέτης EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study)⁴⁸, επιβεβαίωσε ότι μεμονωμένα, η κατανάλωση μόνο και δισακχαριτών και σιτηρών δεν σχετίζεται με την εκδήλωση της νόσου, ενώ ο συνδυασμός της αυξημένης κατανάλωσης απλών σακχάρων και αναψυκτικών με ζάχαρη, και μειωμένης κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών αυξάνουν τον κίνδυνο για ανάπτυξη UC⁴³.

➤ *Διαιτητικές ίνες*

Στο σύνολο της βιβλιογραφίας υπάρχει σχεδόν καθολική συμφωνία σχετικά με τον προστατευτικό ρόλο των διαιτητικών ινών. Η προοπτική μελέτη κοορτής NHS (Nurses Hospital Study)⁴⁹ έδειξε ότι η αυξημένη πρόσληψη διαιτητικών ινών (με κύρια πηγή τα φρούτα και τα λαχανικά) μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης ΙΦΝΕ. Η αρνητική συσχέτιση των διαιτητικών ινών με τη UC επιβεβαιώνεται από την EPIC-IBD υπομελέτη κοορτής, η οποία όμως δεν βρίσκει καμία συσχέτιση με τη CD⁴³. Στον αντίποδα, προοπτική μελέτη των Ananthakrishnan και συν.⁵⁰, αναφέρει συσχέτιση των διαιτητικών ινών με τη μείωση του κινδύνου για CD και όχι για UC, εύρημα που υποστηρίζεται και από ακόλουθη μετα-ανάλυση των Liu και συν.⁵¹, οι οποίοι χαρακτήρισαν τη σχέση αυτή δοσοεξαρτώμενη, με κάθε αύξηση 10g ινών/d να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης CD κατά 13%. Αυτό που δεν έχει εξακριβωθεί στη βιβλιογραφία και αναμένεται να διερευνηθεί περαιτέρω, είναι κατά πόσο η προστατευτική δράση των ινών οφείλεται σε αυτές καθ' αυτές, ή σε άλλα μικροσυστατικά που περιέχονται στα τρόφιμα που αποτελούν τις πηγές τους, όπως τα φρούτα και τα λαχανικά, ερώτημα που τίθεται έπειτα από την απουσία συσχέτισης των διαιτητικών ινών που προέρχονται από δημητριακά ολικής άλεσης και όσπρια με τη νόσο^{43,47}.

➤ *Πρωτεΐνες*

Η επιδημιολογική ανάλυση των Shoda και συν. (Japanese study), ανέδειξε την αυξημένη πρόσληψη πρωτεΐνης ζωικής προέλευσης ως τον ισχυρότερο ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη CD⁵², ενώ μη στατιστικά σημαντική τάση προς αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΦΝΕ βρήκε η συστηματική ανασκόπηση των Hou και συν.⁵³. Πρόσφατη μετα-ανάλυση των Ge και συν., έδειξε ότι η αυξημένη κατανάλωση τόσο κρέατος όσο και ψαριού, αυξάνει τον κίνδυνο για ΙΦΝΕ⁵⁴, ευρήματα που επιβεβαιώνονται από την E3N προοπτική μελέτη που διεξήχθη σε μέσης ηλικίας γυναίκες στη Γαλλία, και εμφανίζουν ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον⁵⁵. Πιο εξειδικευμένα είναι τα ευρήματα της NHS προοπτικής μελέτης κοορτής, που συσχέτισε θετικά την κατανάλωση κόκκινου κρέατος με την εμφάνιση UC⁴⁹, συσχέτιση που επιβεβαιώνεται και από ομπρέλα μετα-αναλύσεων των Pionani και συν.⁵⁶. Τέλος, όσον αφορά στην κατανάλωση γάλακτος, όπως φάνηκε στην EPIC-IBD μελέτη κοορτής, αυτή συσχετίζεται αρνητικά με τον κίνδυνο για ανάπτυξη CD, σε αντίθεση με τη μη στατιστικά σημαντική επίδραση της συνολικής πρόσληψης γαλακτοκομικών, με αποτέλεσμα η ομάδα αυτή να μην θεωρείται παράγοντας κινδύνου⁵⁷.

➤ *Λίπη*

Δεν έχει βρεθεί στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ολικής πρόσληψης λιπιδίων, της κατανάλωσης κορεσμένων και μονοακόρεστων λιπιδίων και της ανάπτυξης ΙΦΝΕ. Η NHS μελέτη έδειξε θετική συσχέτιση της κατανάλωσης trans λιπαρών οξέων και αρνητική συσχέτιση του λόγου ω-3/ω-6 λιπαρών οξέων με τον κίνδυνο ανάπτυξης UC⁴⁹. Την προστατευτική επίδραση των ω-3 λιπαρών οξέων επιβεβαίωσε και η EPIC-IBD μελέτη που έδειξε ότι η αυξημένη κατανάλωση ω-3 και συγκεκριμένα DHA μειώνει τον κίνδυνο για ανάπτυξη UC, σε αντίθεση με την αυξημένη πρόσληψη ω-6 λιπαρών οξέων με κύριο εκπρόσωπο το LA, που τον αυξάνει⁵⁸. Η παραπάνω σχέση εξηγείται από το μεταβολισμό των λιπαρών οξέων, με τα ω-3 να μεταβολίζονται σε αντιφλεγμονώδη ενδιάμεσα και τα ω-6 σε προφλεγμονώδη²³.

➤ *Μικροσυστατικά*

Οι Ananthakrishnan και συν., περιγράφουν μια δοσοεξαρτώμενη αρνητική συσχέτιση των επιπέδων 25-(OH)D σε γυναίκες και του κινδύνου ανάπτυξης CD, υποστηρίζοντας ότι για κάθε αύξηση των επιπέδων στο πλάσμα κατά 1ng/ml, μπορεί να μειωθεί ο κίνδυνος για CD σε ποσοστό 6% (και 4% μη στατιστική μείωση στην περίπτωση της UC)⁵⁹, ενώ καμία τέτοια συσχέτιση δεν βρέθηκε στη μελέτη EPIC⁴⁸. Οι Pionani και συν., επιβεβαίωσαν τον προστατευτικό ρόλο των υψηλών επιπέδων βιταμίνης D στην CD και επιπροσθέτως έδειξαν ότι η ανεπάρκειά της αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα κινδύνου για το σύνολο των ΙΦΝΕ. Επιπλέον, ανέδειξαν τον προστατευτικό ρόλο των υψηλών επιπέδων φυλλικού, ενώ όσον αφορά στις λιποδιαλυτές βιταμίνες A, K και E τα επίπεδά τους συσχετίστηκαν αρνητικά με τις ΙΦΝΕ, χωρίς όμως μεγάλη αξιοπιστία του αποτελέσματος⁵⁶. Η NHS προοπτική μελέτη υποστηρίζει την αρνητική συσχέτιση του διαιτητικού ψευδαργύρου και καλίου με τον κίνδυνο για ΙΦΝΕ, λόγω των ιδιοτήτων τους που σχετίζονται με τη ρύθμιση της λειτουργίας του εντερικού φραγμού και του ανοσοποιητικού συστήματος⁶⁰. Όσον αφορά σε συστατικά όπως οι πολυφαινόλες (και όλες οι υποομάδες τους), που είναι γνωστές για την αντιφλεγμονώδη δράση τους και την

επίδρασή τους στη μείωση του οξειδωτικού στρες, δεν συσχετίζονται με τον κίνδυνο για ΙΦΝΕ σύμφωνα με την EPIC μελέτη κοορτής, ενώ ενδιαφέρουσα είναι η αρνητική συσχέτιση των φλαβονών και της ρεσβερατρώλης με τον κίνδυνο για ανάπτυξη CD, όπως ανέδειξε η ίδια μελέτη⁴⁷.

II. Κάπνισμα

Το κάπνισμα, τόσο το ενεργητικό όσο και το παθητικό με έμφαση στην έκθεση στα πρώτα στάδια της ζωής, κατηγορείται για διπλασιασμό του κινδύνου εμφάνισης ΙΦΝΕ και μικρότερη ηλικία εκδήλωσης της νόσου³. Το κάπνισμα θεωρείται ότι αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης CD, με ισχυρότερη συσχέτιση να εμφανίζεται σε γυναίκες⁶¹. Πρόσφατη ανασκόπηση, ομπρέλα μετα-ανάλυσεων επιβεβαίωσε τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης CD ενώ έδειξε και αρνητική συσχέτιση με την ανάπτυξη UC σε μη Εβραϊκούς πληθυσμούς⁵⁶.

III. Θηλασμός

Ο θηλασμός κατά τη βρεφική ηλικία φαίνεται να έχει προστατευτικό ρόλο έναντι των ΙΦΝΕ, χάρη σε ένα σύνολο μηχανισμών. Η μελέτη των Azad και συν., έδειξε ότι τα μη θηλάζοντα νεογνά εμφάνιζαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στρεπτόκοκκους όπως το *Clostridium difficile*, βακτήριο που προδιαθέτει την εμφάνιση αλλεργιών και αυτοάνοσων νοσημάτων^{62,63}. Επιπροσθέτως, τα συστατικά του μητρικού γάλακτος επηρεάζουν την ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος. Η λυσοζύμη και η λακτοφερρίνη εξασφαλίζουν προστασία έναντι παιδικών λοιμώξεων, οι οποίες έχει φανεί σε μελέτες κοορτής ότι σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΙΦΝΕ. Παράγοντες όπως ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας, ο ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας, η λεπτίνη και η αντιπνεκτίνη που περιέχονται στο ανθρώπινο γάλα ελέγχουν την ανοσολογική απάντηση και εμποδίζουν την παραγωγή IL-8, μειώνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης ΙΦΝΕ. Τέλος, συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση των Xu και συν., έδειξε ότι υπάρχει δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ της διάρκειας του θηλασμού και του κινδύνου εμφάνισης νόσου, με την ισχυρότερη προστατευτική επίδραση να παρατηρείται στους 12 μήνες θηλασμού και άνω. Επιπλέον, αναφέρθηκε η επίδραση της εθνικότητας και της γεωγραφικής θέσης, με τις συσχετίσεις να εμφανίζονται ισχυρότερες σε Ασιατικούς πληθυσμούς⁶⁴. Ο θηλασμός συμπεριλαμβάνεται στις συστάσεις της ESPEN ως ιδανική τροφή για το νεογνό και προστατευτικός παράγοντας έναντι στον κίνδυνο για τις ΙΦΝΕ¹⁹.

IV. Μεσεντέριο Λίπος και Παχυσαρκία

Ο λιπώδης ιστός αποτελεί ενεργό ενδοκρινές όργανο που αποτελείται από συνδετικό ιστό και κύτταρα που εκκρίνουν λιποκυτταροκίνες και προ λιποκυτταροκίνες, πιθανούς διαμεσολαβητές φλεγμονής στο ανθρώπινο σώμα. Εξαιτίας της πιθανής προφλεγμονώδους ιδιότητάς του, ο λιπώδης ιστός έχει συσχετισθεί σε πλήθος μελετών με την ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων. Συγκεκριμένα, Η NHS μελέτη συσχέτισε θετικά την παχυσαρκία με τον κίνδυνο ανάπτυξης UC και CD⁶⁵ και η Danish National Birth Control μελέτη κοορτής έδειξε συσχέτιση μόνο με την CD⁶⁶. Τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των μελετών οφείλονται στην πιθανότητα η επίδραση της παχυσαρκίας να είναι εξαρτώμενη από την ηλικία, με την παχυσαρκία σε νεότερες ηλικίες να αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης CD σε μεγαλύτερη ηλικία,

όπως επιβεβαιώνεται από τους Jensen και συν., σε μελέτη κοορτής του CSHRR, η οποία προτείνει επιπροσθέτως το λιποβαρές κατά την παιδική ηλικία ως παράγοντα κινδύνου για τη UC⁶⁷. Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση των Rahmani και συν., φαίνεται η επίδραση κυρίως του σπλαχνικού λίπους στην ανάπτυξη της φλεγμονής και προτείνεται ο VAT (Visceral adipose tissue- Σπλαχνικός λιπώδης ιστός) ως καλύτερος προγνωστικός δείκτης για την ανάπτυξη της νόσου, σε σχέση με το BMI που χρησιμοποιούνταν στις μέχρι πρότινος σχετικές μελέτες⁶⁸. Τέλος, οι Khalili και συν., σε προοπτική μελέτη εντόπισαν μια τάση εμφάνισης CD σε ασθενείς με υψηλό δείκτη WHR (waist hip ratio- δείκτης μέσης γλουτού), χωρίς στατιστική σημαντικότητα⁶⁹.

V. Φυσική δραστηριότητα

Η φυσική δραστηριότητα προστατεύει τον οργανισμό από την «ελαττωματική» αυτοφαγία που παρατηρείται στη CD, ενώ ταυτόχρονα φαίνεται να μειώνει τα επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτταροκινών σε πειραματικά μοντέλα⁵⁶. Έχει παρατηρηθεί δοσοεξαρτώμενη αρνητική συσχέτιση μεταξύ της φυσικής δραστηριότητας και του κινδύνου ανάπτυξης CD στους πληθυσμούς της Ασίας και της Δύσης. Η προστατευτική αυτή δράση επιβεβαιώθηκε και από ανασκόπηση ομπρέλα μετα-αναλύσεων των Pironi και συν.⁶¹.

VI. Σκωληκοειδεκτομή

Έχει συζητηθεί ο προστατευτικός της ρόλος έναντι της ανάπτυξης UC στη Δύση, παρ' όλ' αυτά οι στατιστική σημαντικότητα της συσχέτισης παύει να υφίσταται σε περιπτώσεις εγχειρήσεων σε άτομα άνω των 20 ετών, ενώ στην πρόσφατη μελέτη κοορτής ACCESS, η συσχέτιση αυτή δεν επιβεβαιώθηκε σε πληθυσμούς της Ασίας και της Αυστραλίας. Όσον αφορά στη CD, φαίνεται να υπάρχει αντίθετη επίδραση, με τον κίνδυνο για εμφάνιση της νόσου να είναι αυξημένος τα 5 χρόνια που ακολουθούν την εγχείριση⁶¹. Πρόσφατη ανασκόπηση επιβεβαιώνει τον συγκεκριμένο παράγοντα κινδύνου σε σχέση με τη CD, ενώ αναξιόπιστα χαρακτηρίζει τα κατά τα άλλα στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα που υποστηρίζουν τον προστατευτικό του ρόλο σε σχέση με την ανάπτυξη UC⁵⁶.

VII. Υγιεινή περιβάλλοντος

Ποικίλες μελέτες δείχνουν ότι η υγιεινή του περιβάλλοντος κατά την παιδική ηλικία επηρεάζει τον κίνδυνο εμφάνισης ΙΦΝΕ. Οι βελτιωμένες συνθήκες διαβίωσης συνοδεύονται από μειωμένη έκθεση σε περιβαλλοντικά αντιγόνα, γεγονός που φαίνεται να μεταβάλλει την ισορροπία μεταξύ τύπου 1 και τύπου 2 Τ-βοηθητικών κυττάρων, ευνοώντας την προφλεγμονώδη ανοσολογική απάντηση των δεύτερων, και κατά συνέπεια την ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων.. Σε μετα-ανάλυση, η επαφή με κατοικίδια και ζώα φάρμας κατά την παιδική ηλικία δρούσε προστατευτικά απέναντι στην ανάπτυξη ΙΦΝΕ, με τη συσχέτιση αυτή να είναι ισχυρότερη σε πληθυσμούς της Δύσης. Στην ανασκόπηση των Pironi και συν., η διαβίωση σε αστική περιοχή αποτελεί ισχυρό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ΙΦΝΕ, ενώ το «μοίρασμα» του κρεβατιού αποτελεί ισχυρό προστατευτικό παράγοντα έναντι της CD. Στατιστικά σημαντικά συσχετιζόμενοι προστατευτικοί παράγοντες, αλλά με λιγότερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων αναδείχθηκαν η πρόσβαση σε ζεστό νερό και η χρήση

προσωπικής τουαλέτας, η επαφή με κατοικίδια και ζώα φάρμας καθώς και η ύπαρξη 2 ή περισσότερων αδερφιών καθώς και η συγκατοίκηση^{56,61}.

VIII. Έκθεση σε αντιβιοτικά κατά την παιδική ηλικία

Αντικρουόμενα αποτελέσματα εμφανίζονται σχετικά με το ρόλο των αντιβιοτικών στον παθογενετικό μηχανισμό των ΙΦΝΕ. Τα αντιβιοτικά μεταβάλλουν το μικροβίωμα του εντέρου και μειώνουν τη βιοποικιλότητά του. Μελέτη κοορτής στη Δανία έδειξε στατιστικά σημαντική δοσοεξαρτώμενη σχέση της έκθεσης σε αντιβιοτικά στην παιδική ηλικία και της εμφάνισης CD, συσχέτιση που επιβεβαιώνεται από τους Ριοναππί και συν., ενώ αντίθετα αποτελέσματα φάνηκαν στην Ασία, με τον συγκεκριμένο παράγοντα να εμφανίζει προστατευτικό ρόλο έναντι των ΙΦΝΕ, γεγονός που οφείλεται πιθανώς στην ύπαρξη διαφορετικών παθογενετικών μηχανισμών^{56,61}.

IX. Ψυχολογικό προφίλ και ύπνος

Η κατάθλιψη και το στρες φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των ΙΦΝΕ και στην πρόκληση έξαρσης των συμπτωμάτων, μέσω μηχανισμών που περιλαμβάνουν την αναστολή του πνευμονογαστρικού νεύρου, την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, την μεταβολή του εντερικού μικροβιώματος και την αύξηση της διαπερατότητας του εντερικού φραγμού. Μελέτη που χρησιμοποίησε το UK Health Improvement Network (THIN) έδειξε ότι οι ασθενείς με κατάθλιψη είχαν σημαντικά μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης CD και UC⁷⁰. Προοπτικές μελέτες κοορτής δείχνουν ότι γυναίκες με συμπτώματα κατάθλιψης εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης CD⁷¹, σε αντίθεση με μελέτη των Li και συν., που δεν βρήκαν συσχέτιση μεταξύ του ψυχολογικού στρες και των ΙΦΝΕ⁷². Επίσης, μελέτη των Ananthakrishnan και συν., έδειξε ότι διαταραχές στον ύπνο σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης UC, και συγκεκριμένα ο ύπνος κάτω από 6 ή άνω των 9 ωρών συσχετίζεται θετικά με την ανάπτυξη της νόσου⁶⁰.

1.6.4. Ανοσορυθμιστική δυσλειτουργία και ΙΦΝΕ

Ο βασικός μηχανισμός πρόκλησης της φλεγμονής του εντέρου στις ΙΦΝΕ είναι αποδεδειγμένα ανοσοκατευθυνόμενος, και συνήθως αποδίδεται σε μη φυσιολογική ή υπερβάλλουσα ανοσολογική απάντηση. Οι διαταραχές στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, που δυνητικά συνδέονται με όλους τους προαναφερθέντες παράγοντες κινδύνου (μεταλλάξεις γονιδίων, έκθεση σε βλαπτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, μεταβολές στη σύσταση του μικροβιώματος και στη διαπερατότητα του επιθηλιακού εντερικού φραγμού, κ.α.) μπορούν να προκαλέσουν οξείες και χρόνιες φλεγμονές³⁴. Οι μηχανισμοί που καθιστούν το διαταραγμένο ανοσοποιητικό σύστημα καθοριστικό παράγοντα κινδύνου, τόσο για τις ΙΦΝΕ, όσο και για ένα ευρύτερο φάσμα νοσημάτων, περιγράφονται αναλυτικά στο επόμενο κεφάλαιο (Κεφάλαιο 2).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΣΤΙΣ ΙΦΝΕ

2.1 Ανοσία

Με τον όρο ανοσία περιγράφεται η ιδιότητα του ανθρώπινου οργανισμού να αμύνεται σε εξωτερικούς βλαπτικούς παράγοντες, μέσω ενός συστήματος που ονομάζεται ανοσοποιητικό σύστημα. Το ανοσοποιητικό σύστημα απαρτίζεται από δύο διακριτά αλλά αλληλεξαρτώμενα ανοσολογικά υποσυστήματα, που εξασφαλίζουν την έμφυτη και την επίκτητη ανοσία. Η συνεργική λειτουργία των δύο υποσυστημάτων έχει ως στόχο την αναγνώριση ξένων αντιγόνων και την εξουδετέρωση αυτών. Η έμφυτη ανοσία έχει ταχεία και μη ειδική δράση, χρησιμοποιώντας ένα σύνολο υποδοχέων αναγνώρισης μοριακών προτύπων (Pattern Recognition Receptors, PRRs) που αναγνωρίζουν μοριακά πρότυπα (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) και όχι συγκεκριμένα αντιγόνα. Η επίκτητη ανοσία είναι πιο αργή και ευέλικτη, έχοντας την ικανότητα αναγνώρισης οποιουδήποτε εξελιγμένου παθογόνου μέσω εξαιρετικά ειδικών υποδοχέων και διαθέτει ανοσολογική μνήμη που αυξάνει την αποτελεσματικότητα της απόκρισης σε κάθε επανέκθεση στο ίδιο παθογόνο. Θεωρείται συνέχεια της έμφυτης ανοσίας και καθοδηγείται από αυτήν, γι' αυτό και η συνύπαρξή και συνεργασία τους είναι απαραίτητες για την ολοκληρωμένη άμυνα του οργανισμού^{73,74}.

2.1.1. Έμφυτη ανοσία

Η έμφυτη ανοσία υπάρχει στον άνθρωπο εκ γενετής και αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού. Τα κύρια συστατικά της είναι ένα σύνολο κυττάρων, όπως επιθηλιακά (επιθηλιακοί φραγμοί στο δέρμα, το γαστρεντερικό σωλήνα, την αναπνευστική οδό), φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, δενδριτικά), φυσικοί φονείς (NK) και πρωτεΐνών, όπως κυτταροκίνες (TNF, IL-1, IL-12, IFN-γ), πρωτεΐνες πλάσματος (οξείας φάσης) και το συμπλήρωμα.

Το έμφυτο εντερικό ανοσοποιητικό σύστημα στηρίζεται στη λειτουργία του εντερικού επιθηλιακού φραγμού, ο οποίος αποτελεί μηχανικό φραγμό έναντι μικροοργανισμών, και επιπλέον παράγει αντιμικροβιακούς παράγοντες (α-ντιφενσίνες από τα κύτταρα Paneth και β-ντιφενσίνες από τα περισσότερα επιθηλιακά κύτταρα), ενεργοποιεί το συμπλήρωμα ή το μηχανισμό της φαγοκυττάρωσης, ως απάντηση σε αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα, επιτρέποντας την έναρξη γρήγορων και αποτελεσματικών φλεγμονωδών αποκρίσεων που ρυθμίζονται από τις κυτταροκίνες (μεσολαβητές της φλεγμονής). Τα δενδριτικά αντιγονο-παρουσιαστικά κύτταρα, είναι υπεύθυνα για την ενεργοποίηση των T κυττάρων και την πρόκληση προσαρμοστικών ανοσολογικών αποκρίσεων, αποτελώντας σημαντικό συνδετικό κρίκο μεταξύ έμφυτης και επίκτητης ανοσίας^{73,75}.

2.1.2. Επίκτητη ανοσία

Η επίκτητη ανοσία δεν είναι κληρονομική, δημιουργείται στον οργανισμό κατά τη διάρκεια της ζωής, έχει μνήμη και προσφέρει μεγάλη εξειδίκευση ανά αντιγονικό επίτοπο. Διακρίνεται σε χυμική και κυτταρική και η δράση της στηρίζεται στη λειτουργία των λεμφοκυττάρων. Στη χυμική ανοσία, η εξάλειψη του αντιγόνου γίνεται μέσω της παραγωγής αντισωμάτων από τα Β-λεμφοκύτταρα, ενώ στην κυτταρική, μέσω απελευθέρωσης κυτταροτοξικών κοκκίων από τα Τ-κυτταροτοξικά κύτταρα ή μέσω σηματοδότησης από τα Τ-βοηθητικά κύτταρα προς άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Μετά την ενεργοποίησή τους, τα παραπάνω κύτταρα αφήνουν πίσω τους «κύτταρα μνήμης», τα οποία προσφέρουν τη δυνατότητα ταχείας απάντησης σε μελλοντική προσβολή του οργανισμού από το ίδιο αντιγόνο.

Η ειδικότητα για το αντιγόνο είναι το αποτέλεσμα μιας σύνθετης ωρίμανσης και ανάπτυξης των ανοσοκυττάρων. Καθοριστικό ρόλο στην άμυνα του εντερικού βλεννογόνου παίζουν τα Τ λεμφοκύτταρα, τα οποία ανάλογα με τους υποδοχείς (CD8 και CD4) που εκφράζουν στην επιφάνειά τους, διακρίνονται σε κατηγορίες. Τα CD8 Τ-κύτταρα, γνωστά και ως Τ-κυτταροτοξικά κύτταρα αναλαμβάνουν την κάθαρση των ενδοκυτταρικών παθογόνων, με θανάτωση των μολυσμένων κυττάρων. Μετακινούνται στην περιφέρεια, προσδένονται στον MHC-I υποδοχέα και απελευθερώνουν κυτταρολυτικούς κόκκους, θανατώνοντας το κύτταρο στόχο. Τα CD4 Τ-κύτταρα, γνωστά και ως Τ-βοηθητικά κύτταρα, έχουν αποκλίνουσες επιδράσεις αναλόγως του τύπου ενεργοποίησης που λαμβάνουν. Παρουσία IL-12 και IFN- γ , σε περιπτώσεις ενδοκυτταρικών λοιμώξεων από ιούς, βακτήρια και πρωτόζωα, διαφοροποιούνται σε Th1 κύτταρα, υπεύθυνα για την κυτταρική ανοσία αφού εκκρίνουν Th1 κυτταροκίνες (IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-2, IL-23), ενεργοποιώντας μακροφάγα και διεγείροντας τα CD8 Τ-κύτταρα. Παρουσία IL-4, κυρίως σε περιπτώσεις αλλεργικών αντιδράσεων, διαφοροποιούνται σε Th2 κύτταρα, υπεύθυνα για την χυμική ανοσία αφού εκκρίνουν Th2 κυτταροκίνες (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) διεγείροντας τα Β λεμφοκύτταρα για την παραγωγή αντισωμάτων. Παρουσία IL-6, IL-23 και TGF- β , σε περιπτώσεις παρουσίας εξωκυττάρων παθογόνων, διαφοροποιούνται σε Th-17, που εκκρίνουν Th17 κυτταροκίνες (IL-17A, IL-17F, IL-21 και IL-22). Τέλος, μια πρόσφατα αναγνωρισμένη οικογένεια CD4 Τ-κυττάρων, τα Τ-ρυθμιστικά κύτταρα (Treg), είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση ιστών και την καταστολή των αποκρίσεων άλλων Τ-κυττάρων, έχοντας καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της ομοιόστασης του εντερικού περιβάλλοντος, συνιστώντας το μηχανισμό με τον οποίο το επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα συμβάλλει στους μηχανισμούς ανοχής.⁷⁵⁻⁷⁷

2.2 Ανοσολογικές διαταραχές και φλεγμονή

Το ανοσοποιητικό σύστημα εντοπίζει, αναγνωρίζει και εξουδετερώνει τα ξένα αντιγόνα, εξασφαλίζοντας την ακεραιότητα του ξενιστή. Υπό κανονικές συνθήκες, δεν αναπτύσσονται ανοσολογικές αντιδράσεις κατά της κοινής χλωρίδας του εντέρου ή των διαιτητικών αντιγόνων, αφού στο εντερικό περιβάλλον, σε αντίθεση με τον υπόλοιπο

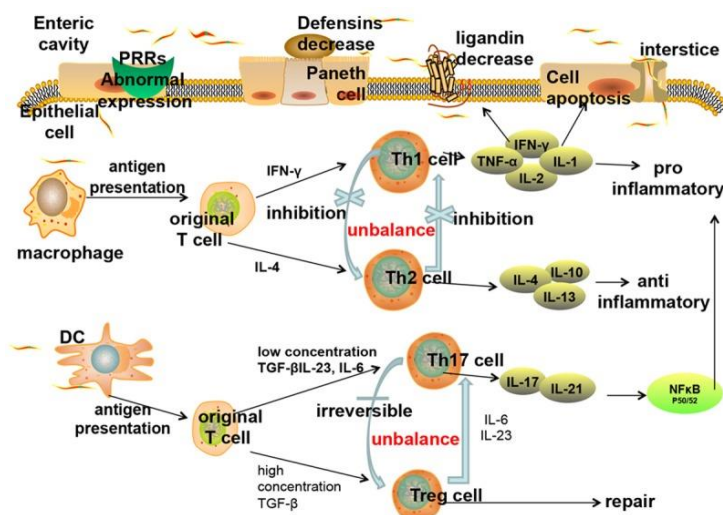
οργανισμό, το ανοσοποιητικό σύστημα είναι κατεσταλμένο. Κατά την ωρίμανσή του, αναπτύσσονται μηχανισμοί ανοχής που αποτρέπουν ή αναστέλλουν δυνητικά επιβλαβείς αντιδράσεις στα αυτο-αντιγόνα. Η επιβίωση του ξενιστή στηρίζεται στην ταυτόχρονη αποτελεσματική εξουδετέρωση των ξένων αντιγόνων και ανοχή στα αυτο-αντιγόνα. Υπάρχουν δύο μηχανισμοί ανοχής, η κεντρική και η περιφερική ανοχή. Κατά τη φυσιολογική τους, τα αυτο-αντιδραστικά T κύτταρα είτε οδηγούνται σε απόπτωση στον θύμο αδένα (κεντρική), τους λεμφαδένες ή την περιφερική κυκλοφορία (περιφερική) ή καταστέλλονται ενεργά από T-ρυθμιστικά (Treg) κύτταρα (περιφερική). Ομοίως, τα αυτο-αντιδραστικά B κύτταρα εξουδετερώνονται στο μυελό των οστών (κεντρική) ή στα περιφερειακά λεμφοειδή όργανα (περιφερική)⁷⁸. Η αυτοανοσία προκύπτει από την κατάρρευση της ανοχής στα αυτοαντιγόνα μέσω αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων.

Υπό κανονικές συνθήκες, η ισορροπία μεταξύ των ανοσοκυττάρων ελέγχεται αυστηρά. Οι έμφυτες ανοσολογικές ανωμαλίες της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου οδηγούν σε ανοσολογικές διαταραχές στο επίκτητο ανοσοποιητικό, με ανισορροπία ρύθμισης Th1/Th2 και Th17/Treg κυττάρων. Συγκεκριμένα, έχει φανεί από μελέτες ότι η CD χαρακτηρίζεται από φλεγμονή που προκαλείται από υπερβάλλουσα Th1 απάντηση και περίσσεια παραγωγής IL-12, IL-17 και IL-23, ενώ στη UC κυριαρχούν κυτταροκίνες όπως IL-4, IL-5, IL-10 και IL-13, παραγόμενες από Th2 κύτταρα. Στη CD, το μικροβίωμα πυροδοτεί την Th1 απάντηση παράγοντας ιντερφερόνη-γ και TNF-α οδηγώντας σε βλάβη του εντερικού φραγμού και το σηματοδοτικό μονοπάτι NF κB ενεργοποιείται τόσο στα λευκοκύτταρα, όσο και στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα των ασθενών. Στη UC, τα NK κύτταρα παράγουν Th2 κυτταροκίνες, διεγείροντας την ανοσολογική απάντηση και με κύρια την IL-13, προκαλούν κυτταρική απόπτωση, παρέχοντας θετική ανατροφοδότηση στα NK. Επίσης, οι ΙΦΝΕ έχουν συνδεθεί με αυξημένα επίπεδα IL17A, λόγω υπερέκφρασης Th17 κυττάρων, και διαταραχή στη λειτουργία των Treg, και κατά «επίθεση» του ανοσοποιητικού έναντι του φυσιολογικού εντερικού μικροβιώματος.

Συνοπτικά, ο παθογενετικός μηχανισμός της φλεγμονής βασίζεται στη διατάραξη της ισορροπίας μεταξύ των T βοηθητικών κυττάρων (Th) και των ρυθμιστικών T κυττάρων (Treg) που οδηγεί σε ανισορροπία μεταξύ προφλεγμονωδών (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, και IL-23) και αντιφλεγμονωδών (IL-5, IL-10, IL-11 και TGF-β) κυτταροκινών, με αύξηση των πρώτων να οδηγεί σε επιπλέον έμφυτες ανοσολογικές βλάβες (απόπτωση εντερικών επιθηλιακών κυττάρων, μείωση των αντιβακτηριακών πεπτιδίων που εκκρίνονται από κύτταρα Paneth κ.λπ.), που με τη σειρά τους μειώνουν της λειτουργία του εντερικού επιθηλιακού φραγμού με αποτέλεσμα τη επιδείνωση της φλεγμονής⁷⁴.

Στις ΙΦΝΕ πλήθος μελετών αποδεικνύουν την άμεση συσχέτιση των ανοσολογικών διαταραχών με την εντερική φλεγμονή. Συγκεκριμένα, έχει επιβεβαιωθεί η αυξημένη παραγωγή IL-6 από μακροφάγα και T κύτταρα. Τα μακροφάγα, λιποκύτταρα, ινοβλάστες και T-κύτταρα ασθενών με ΙΦΝΕ φαίνεται να παράγουν αυξημένες ποσότητες TNF. Τα δενδριτικά και τα μακροφάγα φαίνεται να αυξάνουν την παραγωγή IL-12 σε ασθενείς με CD. Ενεργοποιημένα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (Antigen-Presenting Cells, APCs) επάγουν τη διαφοροποίηση και ενεργοποίηση Th1 κυττάρων στη CD, και παράγουν αυξημένη IL-23, αυξάνοντας τις TH17 ανοσολογικές απαντήσεις και αναστέλλοντας τη δραστηριότητα των Treg κυττάρων^{34,74,79}. Αυξημένες συγκεντρώσεις TNF-α και χημειοτακτικής πρωτεΐνης των

μονοκυττάρων -1 (MCP-1) έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με CD⁸⁰ και πρόσφατα, οι Gan et al. τεκμηρίωσαν την αύξηση του πυρηνικού παράγοντα κβ (NF-κβ) και των επιπέδων ιντερλευκίνης IL-1β και IL-8 στον ιστό ατόμων με UC⁸¹. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α), και οι ιντερλευκίνες IL -6 και IL-8 έχουν βρεθεί αυξημένα στον ιστό του παχέος εντέρου και στο περιφερικό αίμα των ασθενών με ΙΦΝΕ^{82,83}.



Εικόνα 6. Ο φαύλος κύκλος ανοσολογικών διαταραχών και πρόκλησης εντερικής φλεγμονής⁷⁴

2.3 Οξειδωτικό στρες και φλεγμονή στις ΙΦΝΕ

2.3.1. Ελεύθερες ρίζες

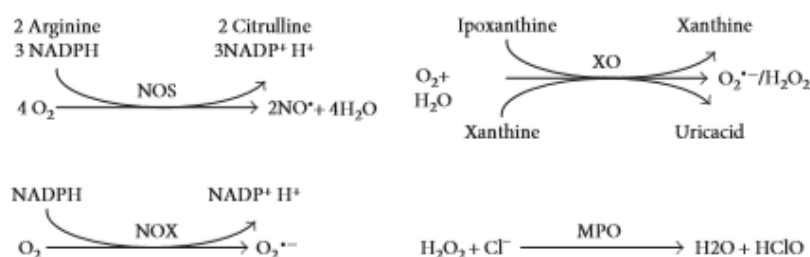
Ο όρος «Ελεύθερη ρίζα» χρησιμοποιείται για να περιγράψει κάθε άτομο ή μόριο, με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα. Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να προέλθουν είτε από αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, είτε από ομολυτική διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού. Είναι εξαιρετικά δραστικές, λόγω της τάσης τους να αποσπούν ηλεκτρόνια από άλλα μόρια, με σκοπό τη σύζευξη του μονήρους ηλεκτρονίου και τη σταθεροποίησή τους.

Η δράση μιας ελεύθερης ρίζας A^{*} σε ένα μόριο μη-ελεύθερη ρίζα B, έχει ως αποτέλεσμα την απόσπαση ενός ηλεκτρονίου και τη σταθεροποίηση του A, με ταυτόχρονη δημιουργία νέας ελεύθερης ρίζας B^{*}. Σε κάθε αντίδραση ελεύθερης ρίζας, τουλάχιστον ένα από τα προϊόντα θα είναι ελεύθερη ρίζα (λόγω της αφαίρεσης ενός ηλεκτρονίου από ένα ζεύγος ηλεκτρονίων). Η νέα ελεύθερη ρίζα αντιδρά με τη σειρά της σχηματίζοντας εκ νέου ελεύθερες ρίζες. Έτσι, πραγματοποιούνται συνεχείς αλυσιδωτές αντιδράσεις, οι οποίες είναι δυνητικά επιβλαβείς, αναλόγως του περιβάλλοντος και του βαθμού στον οποίο αυτές ελέγχονται από το εκάστοτε σύστημα που τις φιλοξενεί. Ο τερματισμός της αλυσιδωτής αντίδρασης ελευθέρων ριζών, απαιτεί την αντίδραση δύο ριζών μεταξύ τους, ή τη απόσπαση του ηλεκτρονίου από μόριο το οποίο υπό μορφή ελεύθερης ρίζας είναι σχετικά αδρανές.

2.3.2. Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS)

Οι ελεύθερες ρίζες συναντώνται στους ζωντανούς οργανισμούς κυρίως υπό μορφή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και αζώτου, οι οποίες μαζί και με άλλες μη ριζικές ενώσεις τους, συνιστούν τις λεγόμενες δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS). Μπορεί να προέλθουν είτε από βασικές μεταβολικές διεργασίες είτε από εξωτερικές πηγές, και παράγονται τόσο από ενζυμικές όσο και από μη ενζυμικές αντιδράσεις.

Οι NOS/RNS παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς ως αποτέλεσμα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού. Η κυριότερη ενδογενής πηγή ROS είναι τα μιτοχόνδρια. Από τα ηλεκτρόνια που μεταφέρονται μέσω της μιτοχονδριακής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων κατά το μεταβολισμό του οξυγόνου, το 1 έως 3% των ηλεκτρονίων διαρρέουν από το σύστημα και παράγουν ανιόντα υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$). Άλλες ενδογενείς πηγές είναι τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα, μονοκύτταρα και μακροφάγα, που μέσω της οξειδάσης του NADPH (NOX) κατά την φαγοκυττάρωση παράγουν υπεροξείδιο, που έχει βακτηριοκτόνο δράση. Το υπεροξείδιο με τη σειρά του, με τη δράση της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD), μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) το οποίο μπορεί να παραχθεί επίσης από την οξειδάση της ξανθίνης (XO), τις συνθάσες του οξειδίου του αζώτου (NOS) και την οξειδάση του NADPH (NOX). Σε μια σειρά αντιδράσεων που ονομάζονται αντιδράσεις Haber – Weiss και Fenton, το H_2O_2 παρουσία μετάλλων (Fe^{2+} ή Cu^{2+}) μπορεί να παράγει την εξαιρετικά δραστική υδροξυλική ρίζα ($\cdot OH$). Η ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων προκαλεί τη λεγόμενη «αναπνευστική έκρηξη» με παραγωγή υπεροξειδίου και οξειδίων του αζώτου από τις NOX και NOS και την παραγωγή περοξυντρικού. Στα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα, τα κοκκιοκυτταρικά ένζυμα όπως η μυελοπεροξειδάση (MPO), ενισχύουν τη δραστικότητα του H_2O_2 , και παρουσία χλωριούχου ανιόντος μέσω του αλογενετικού κύκλου, το μετατρέπουν στο υποχλωριώδες οξύ (HOCl) (βλ. 2.4.2).



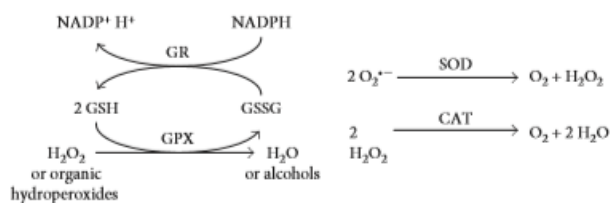
Εικόνα 7. Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και αντιπροσωπευτικές αντιδράσεις σχηματισμού τους στα ανθρώπινα κύτταρα⁸¹

Πέρα από την ενζυμική παραγωγή ελευθέρων ριζών στους ζωντανούς οργανισμούς κατά τη διάρκεια φυσιολογικών διεργασιών, η παραγωγή ελευθέρων ριζών μπορεί να πυροδοτηθεί και από εξωτερικούς παράγοντες. Εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών μπορεί να είναι οι ατμοσφαιρικοί ρύποι, ο καπνός του τσιγάρου, βιομηχανικοί διαλύτες, οι ακτίνες X, το όζον, ορισμένα φάρμακα και φυτοφάρμακα, η ακτινοβολία, η χημειοθεραπεία, το αλκοόλ, τα ναρκωτικά καθώς και συστατικά της τροφής.

2.3.3. Οξειδωτικό στρες

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδράσουν και να οξειδώσουν όλα τα βασικά συστατικά του κυττάρου. Συγκεκριμένα, η δράση τους μπορεί να προκαλέσει υπεροξειδωση λιπιδίων, μετουσίωση πρωτεϊνών, κατακερματισμό των υδατανθράκων, κατακερματισμό νουκλεϊκών οξέων και πρόκληση μεταλλάξεων στο γενετικό υλικό. Η ανεξέλεγκτη δημιουργία ROS και RNS στα κύτταρα θα είχε καταστροφικές συνέπειες στους ζωντανούς οργανισμούς, γι' αυτό και η παραγωγή τους ελέγχεται αυστηρά από αντιοξειδωτικά συστήματα. Αυτά μπορεί να είναι ενζυμικά, με κύριους εκπροσώπους την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), την καταλάση (CAT) και τις υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPXs), ή μη ενζυμικά, που σχετίζονται με μικρού μοριακού βάρους συστατικά όπως βιταμίνες (ασκορβικό οξύ, α-τοκοφερόλη), καροτενοειδή (β-καροτένιο), το ουρικό οξύ ή πεπτίδια (γλουταθιόνη)⁸⁴. Ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να παράγει αυτά τα μικροσυστατικά, γι' αυτό και απαραίτητη είναι η πρόσληψή τους από τη διατροφή.

Η διασφάλιση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας είναι σημαντική για όλους τους οργανισμούς, για τη διατήρηση των ζωτικών κυτταρικών λειτουργιών. Το οξειδωτικό στρες προκύπτει ως αποτέλεσμα μιας ανισορροπίας μεταξύ της παραγωγής ελεύθερων ριζών και της δράσης των αντιοξειδωτικών συστημάτων, και μπορεί να προκληθεί είτε από αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και άλλων δραστικών μορφών, είτε από μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα, είτε από συνδυασμό και των δύο⁸⁵.



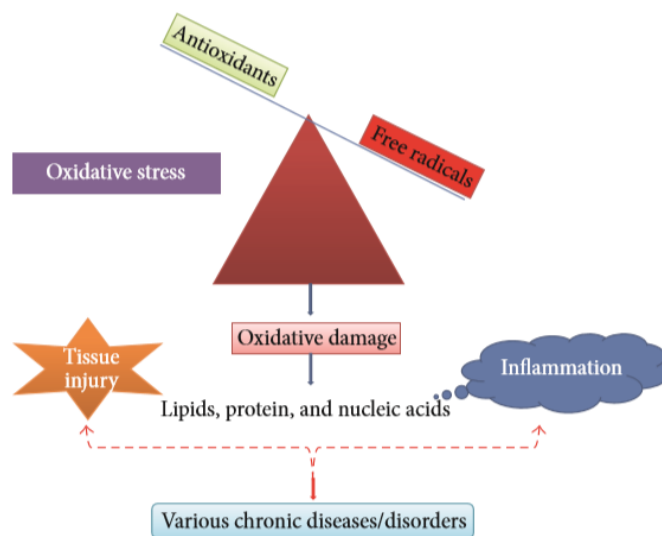
Εικόνα 8. Αντιοξειδωτικά ένζυμα⁸¹

2.3.4. Οξειδωτικό στρες στις ΙΦΝΕ

Το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται αποδεδειγμένα σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως η νόσος του Alzheimer, η νόσος του Parkinson, η σκλήρυνση κατά πλάκας, σε αυτοάνοσες διαταραχές όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, η ψωρίαση, και η κοιλιοκάκη καθώς και σε ένα εύρος άλλων χρόνιων ασθενειών όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η αθηροσκλήρωση, η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και οι ΙΦΝΕ.

Η σχέση μεταξύ οξειδωτικού στρες, ανοσολογικής απορρύθμισης και ΙΦΝΕ στηρίζεται στο συνδυασμό γενετικών, ανοσολογικών και περιβαλλοντικών μηχανισμών που δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Ήδη είδαμε πως οι ανοσολογικές διαταραχές συνδέονται με την

εντερική φλεγμονή. Η ανοσορυθμιστική δυσλειτουργία που χαρακτηρίζει τις περιπτώσεις φλεγμονωδών παθήσεων όπως οι ΙΦΝΕ, μέσω της ανισορροπίας που δημιουργεί μεταξύ προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, προκαλεί απορρύθμιση του μεταβολισμού του οξυγόνου και εξασθένηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού, οδηγώντας σε υπερπαραγωγή επιβλαβών δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου. Το υπερβολικό οξειδωτικό φορτίο μπορεί να αυξήσει σημαντικά τη διαπερατότητα της μεμβράνης, να μεταβάλει τη φλεγμονώδη απόκριση συμβάλλοντας στην παθογένεση της αυτοανοσίας και να οδηγήσει σε τροποποιήσεις λιπιδίων και πρωτεϊνών, βλάβη στο DNA, συμβάλλοντας στην επιδείνωση της φλεγμονής.

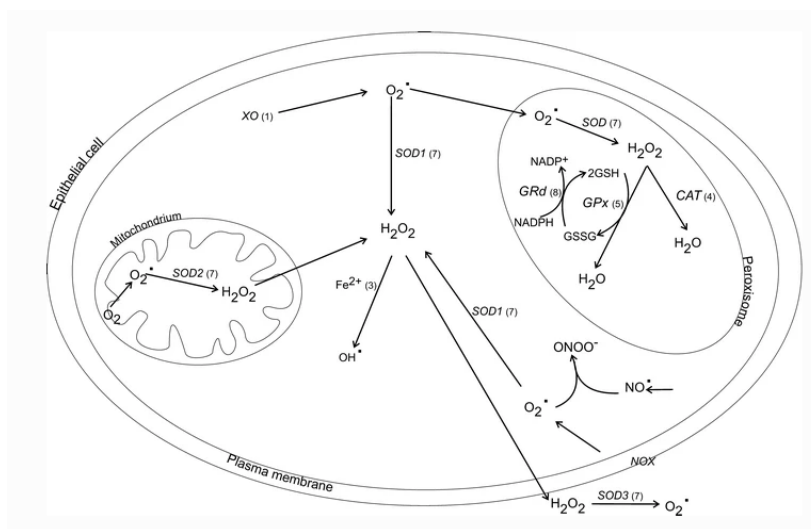


Εικόνα 9. Οξειδωτικό στρες και φλεγμονή⁸⁶.

Πλήθος μελετών επιβεβαιώνουν τον παθογενετικό ρόλο του οξειδωτικού στρες στις ΙΦΝΕ. Έχει βρεθεί ότι οι ασθενείς με CD, ειδικά κατά την ενεργή φάση της νόσου, έχουν υψηλότερα επίπεδα προϊόντων υπεροξειδωσης λιπιδίων στο πλάσμα και ότι η υπεροξειδωση των λιπιδίων σχετίζεται με τη δραστηριότητα της μιτοχονδριακής υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD), υποδηλώνοντας τη συμμετοχή των $\text{OH}^\bullet$ και $\text{O}_2^{\bullet-}$ στη νόσο⁸⁷. Ο Szczeklik και οι συνεργάτες του περιέγραψαν πρόσφατα την παρουσία ανοδικής τάσης στα επίπεδα MDA στον ορό (και στο σάλιο), ανάλογα με τη σοβαρότητα της CD και συσχέτισαν τα επίπεδα MDA με τα ορατά συμπτώματα φλεγμονής⁸⁸. Τα NOXs ένζυμα που συμμετέχουν στην παραγωγή ROS και RNS, όπως τα NOX2, NOX1 και η διπλή οξειδάση 2 (DUOX2), έχουν αναφερθεί ως νέοι παράγοντες κινδύνου για τις ΙΦΝΕ. Το iNOS ανιχνεύεται σε φλεγμονώδεις ιστούς και είναι υπεύθυνο για την υπερβολική παραγωγή RNS σε ενεργοποιημένα μακροφάγα, λευκοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα στον εντερικό βλεννογόνο⁸⁹. Στη UC, το iNOS θεωρείται υπεύθυνο για την πολύ αυξημένη παραγωγή NO στο επιθήλιο που διεγείρει την παραγωγή TNF- α οδηγώντας έτσι σε βλάβη του παχέος εντέρου⁹⁰ και σε εστίες φλεγμονής σε συνδυασμό με τη νιτροτυροσίνη⁹¹. Η ενεργοποίηση των iNOS/COX2/5-λιποξυγενάσης (5-LOX) και η συσσώρευση των τελικών προϊόντων τους, δηλαδή NO, προσταγλανδίνης E2 (PGE2) και λευκοτριενίου B4 (LTB4), συμβάλλουν στη βλάβη του παχέος εντέρου, του βλεννογόνου και του αντιοξειδωτικού συστήματος⁹². Οι ασθενείς με CD έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε ONOO^- , ένα υποπροϊόν του iNOS που εκφράζεται ιδιαίτερα σε

ενεργοποιημένα μακροφάγα και ουδετερόφιλα του βλεννογόνου του παχέος εντέρου⁹³. Η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2) συνδέεται στενά με προκαρκινικές αλλοιώσεις στον βλεννογόνο σε ποικίλες γαστρεντερικές νόσους⁸¹.

Τέλος, μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα έχει βρεθεί σε ασθενείς με ΙΦΝΕ είτε έμμεσα, με εύρεση μειωμένων επιπέδων αντιοξειδωτικών του πλάσματος (GSH, βιταμίνες Α, C, Ε, λυκοπένιο και β-καροτένιο) στο αίμα και το βλεννογόνο των ασθενών, μειωμένων επιπέδων δραστηριότητας των κυτταρικών αντιοξειδωτικών ενζύμων (SOD και GPX) σε ασθενείς με CD⁹⁴⁻⁹⁶ και αυξημένων βλαβών στο DNA⁹⁷, είτε άμεσα με μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας^{98,99}. Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί ότι η δράση των IL-1 και TNF-α κυτταροκινών μπορεί να εμποδιστεί με χορήγηση αντιοξειδωτικών σε ασθενείς με ΙΦΝΕ και οι βιταμίνες C και Ε μπορούν να εμποδίσουν την ανάπτυξη οξειδωτικού στρες σε εντερικά λεία μυϊκά κύτταρα ασθενών με CD.



Εικόνα 10. Παραγωγή ROS στο εντερικό επιθηλιακό κύτταρο και αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί αντιμετώπισής τους⁸¹

2.3.5. Εκτίμηση οξειδωτικού στρες

Για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες μπορούν να ακολουθηθούν τριών ειδών προσεγγίσεις:

- I. Άμεση μέτρηση των επιπέδων ROS, πχ. Μέτρηση των επιπέδων H_2O_2 , $HO^\bullet$, $ROO^\bullet$ με χρήση φθορίζοντων ανιχνευτών, ποσοτικοποίηση των ROS μέσω μέτρησης υδροπεροξειδίων $ROOH$
- II. Ανίχνευση της προκύπτουσας οξειδωτικής βλάβης στα βιομόρια, πχ. Μέτρηση της πρωτεϊνικής βλάβης με μέτρηση επιπέδων *πρωτεϊνικών καρβονυλίων* (PC), μέτρηση της βλάβης των λιπιδίων με μέτρηση επιπέδων *Μαλονδιαλδεϋδης* (MDA) και μέτρηση της βλάβης του DNA με μέτρηση επιπέδων *8-Υδρόξυ-2'-δεοξυγουανοσίνης* (8-OHdG)

III. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής κατάστασης, πχ. Αξιολόγηση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC)

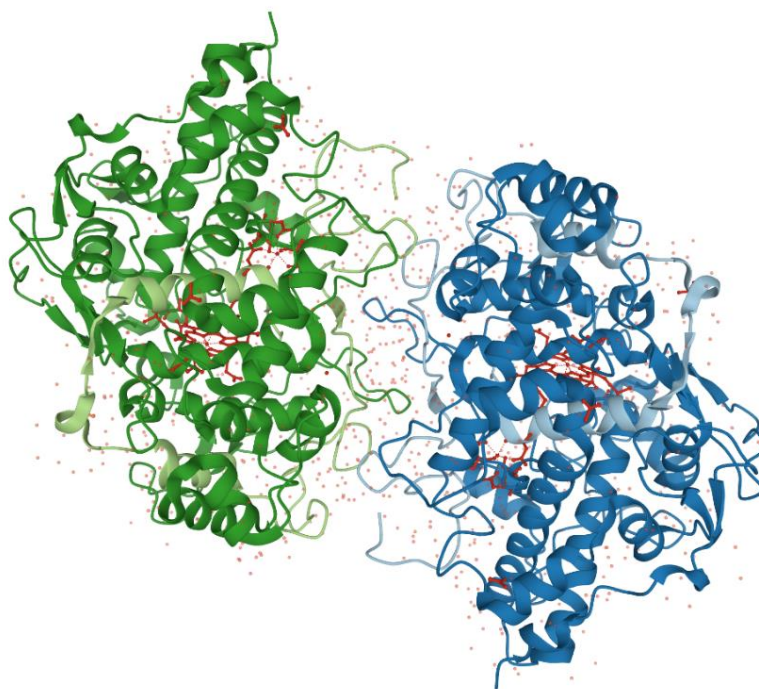
Ένας δείκτης που χρησιμοποιείται εκτενώς ως αξιόπιστος δείκτης καρδιαγγειακού κινδύνου είναι η μυελοπεροξειδάση (MPO), η οποία τα τελευταία χρόνια έχει ξεκινήσει να χρησιμοποιείται ως δείκτης οξειδωτικού στρες σε πλήθος άλλων νόσων, συμπεριλαμβανομένων και των ΙΦΝΕ¹⁰⁰.

2.4 Μυελοϋπεροξειδάση (MPO)

2.4.1. Σύνθεση και δομή

Η μυελοϋπεροξειδάση (MPO) αποτελεί την κυρίαρχη πρωτεΐνη των ανθρώπινων πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων, όπου αντιπροσωπεύει το 5% των πρωτεϊνών ενώ σε μικρότερα ποσοστά συναντάται σε μονοκύτταρα και μακροφάγα. Συντίθεται στο μυελό των οστών και αποθηκεύεται στα αζουρόφιλα κοκκία των ουδετερόφιλων και στα λυσοσώματα των μονοκυττάρων. Τα μονοκύτταρα σταδιακά χάνουν την MPO κατά την ωρίμανση τους σε μακροφάγα, γι' αυτό και τα τελευταία την λαμβάνουν με ενδοκυττάρωση.

Το ώριμο ένζυμο MPO είναι ένα ομοδιμερές 146 kDa, αποτελούμενο από δύο πανομοιότυπα και λειτουργικά ανεξάρτητα μονομερή 73 kDa, καθένα εκ των οποίων συνίσταται από 2 πολυπεπτιδικές αλυσίδες: μια γλυκοζυλιωμένη βαριά αλυσίδα (467 υπολείμματα αμινοξέων, 58,5 kDa) και μια ελαφριά αλυσίδα (106 υπολείμματα αμινοξέων, 14,5 kDa). Η δευτεροταγής δομή είναι κατά βάση δομή α-έλικας, όπου κάθε μονομερές αποτελείται από 5 έλικες στο βασικό της κορμό, μια ομάδα αίμης και μια θέση δέσμευσης ασβεστίου που είναι ζωτικής σημασίας για την λειτουργικότητα του ενζύμου και τη σταθερότητα της δομής του. Η επιφάνεια του μορίου περιέχει πολλά υπολείμματα λυσίνης και αργινίνης που το καθιστούν ένα πολύ κατιονικό μόριο, επιτρέποντας την ηλεκτροστατική αλληλεπίδρασή του με πλήθος ενώσεων ή κυττάρων με αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια.

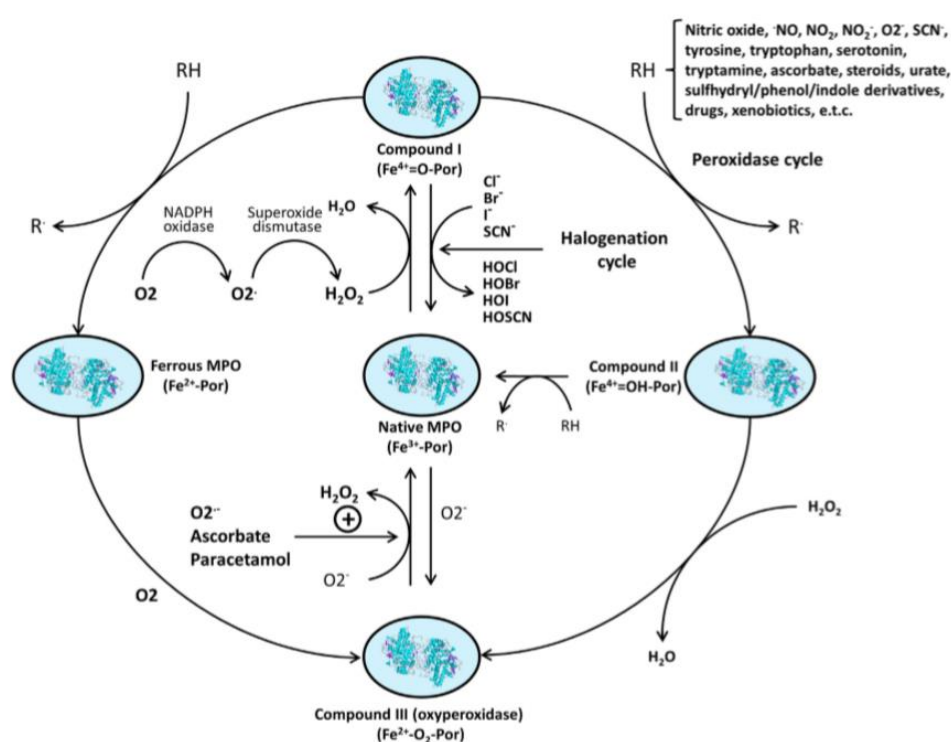


Εικόνα 11. Δομή ώριμου ομοδιμερούς ανθρώπινης μυελοϋπεροξειδάσης. Κάθε μονομερές αποτελείται από μια βαριά (σκούρο χρώμα) και μια ελαφριά (ανοιχτό χρώμα) αλυσίδα και ένα σύνολο υποκαταστατών, με χαρακτηριστική την ομάδα αίμης στο κέντρο της (κόκκινο χρώμα). (RCSB-Protein Data Base/ 1CXP)

2.4.2. Λειτουργία

Η MPO είναι μια μεταλλοπρωτεάση και ανήκει στην οικογένεια υπεροξειδασών της αίμης. Αυτές οι πρωτεΐνες περιέχουν μια αιμική ομάδα που δρα ως συμπράγοντας, καταλύοντας αντιδράσεις που σχετίζονται κυρίως με τη δραστική ένωση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), που αποτελεί το βασικό τους υπόστρωμα. Το ολοκληρωμένο MPO-σύστημα αποτελείται από το ένζυμο MPO, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και αναγωγικούς συμπράγοντες. Τέσσερις μορφές MPO έχουν περιγραφεί ανάλογα με την οξειδωτική κατάσταση της αιμικής ομάδας: Η φυσική MPO (Fe(III)-Por), το Σύμπλοκο I (Fe(IV)=O-Por^{*+}), το Σύμπλοκο II (Fe(IV)-OH-Por) και το Σύμπλοκο III ($\text{Fe(III)-O}_2^{\bullet}\text{-Por}$).

Στη φυσική της μορφή, απουσία H_2O_2 , η MPO είναι συνδεδεμένη με τρισθενή σίδηρο (Fe^{3+}) και βρίσκεται στα αζουρόφιλα κοκκία των ουδετερόφιλων. Η ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων σηματοδοτεί την απελευθέρωση του περιεχομένου των κοκκίων, την ενεργοποίηση της οξειδάσης της NADPH και παραγωγή υπεροξειδίου του οξυγόνου $\text{O}_2^{\bullet-}$ το οποίο μετατρέπεται σε H_2O_2 και ενεργοποιεί την MPO, που μεταπίπτει στην ασταθή οξειδωμένη της μορφή MPO-Fe(IV)=O^{-1} (Σύμπλοκο I). Το Σύμπλοκο I αμέσως οξειδώνει ένα σύνολο αρνητικά φορτισμένων υποστρωμάτων, όπως αλογονίδια και ψευδοαλογονίδια, παράγοντας ισχυρά οξειδωτικά μόρια (κύκλος αλογόνωσης). Ο συχνότερος στόχος του είναι



Εικόνα 12. Καταλυτικός κύκλος μυελοϋπεροξειδάσης¹⁰¹

2.4.3. Ρόλος MPO στο μηχανισμό άμυνας

Τα ουδετερόφιλα αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των παθογόνων. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η μυελοϋπεροξειδάση απελευθερώνεται από αυτά τα κύτταρα σε περιπτώσεις προσβολής του οργανισμού, για την ενίσχυση του μηχανισμού της φαγοκυττάρωσης, και συνεπώς αποτελεί σημαντικό βακτηριοκτόνο παράγοντα και μέρος του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος. Κατά την είσοδο του βακτηρίου στον ξενιστή, πραγματοποιείται η λεγόμενη «έκρηξη υπεροξειδίου», μια ακολουθία αντιμικροβιακών αντιδράσεων, που λαμβάνει χώρα παρουσία την οξειδάσης της NADPH και οδηγεί στην παραγωγή προϊόντων που δίνουν υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Η βακτηριοκτόνος δράση της αποδίδεται κυρίως στα προϊόντα του κύκλου αλογόνωσης (υποαλογονούχα οξέα όπως $HOCl$, $HOBr$, HOI , $HOSCN$), αλλά και σε άλλα δραστικά ενδιάμεσα (τυροσινική ή

ασκορβική ρίζα), που με τη σειρά τους οξειδώνουν το NO προς το εξαιρετικά δραστικό NO_2 . Δεδομένου ότι το Cl_2 βρίσκεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο αίμα, σε σχέση με τα υπόλοιπα υποστρώματα, το HOCl αποτελεί το πρωταρχικό προϊόν της δραστηριότητας MPO. Το HOCl και τα υπόλοιπα δραστικά προϊόντα δρουν ως κυτταροτοξικοί παράγοντες εναντίον διαφόρων τύπων βακτηρίων και παθογόνων. Η τοξικότητά τους αποδίδεται στην ικανότητά να τροποποιούν τα λιπίδια, το DNA, τις αμίνες και τα τυροσινικά κατάλοιπα. Συγκεκριμένα, το HOCl τροποποιεί τις πλευρικές αλυσίδες και τους πεπτιδικούς δεσμούς των πρωτεϊνών μέσω σχηματισμού χλωραμιδίων και χλωραμινών, και οδηγεί σε κατακερματισμό του πεπτιδικού δεσμού. Έτσι, έχει βρεθεί ότι επάγει τον κατακερματισμό της αλβουμίνης, της ριβονουκλεάσης A και της μυοσφαιρίνης. Επίσης, μεσολαβεί στη τροποποίηση των νουκλεοτιδίων στο DNA μέσω της δημιουργίας χλωραμινών και τον σχηματισμό ριζών που μετουσιώνουν το DNA. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων πραγματοποιείται από τη ρίζα διοξειδίου του αζώτου (NO_2), ενώ οι πολυσακχαρίτες προσβάλλονται, έπειτα από προσβολή του αζώτου των αμινοσακχάρων, που μέσω της δράσης ριζικών ενδιαμέσων, οδηγεί σε κατακερματισμό των γλυκοζαμινογλυκανών. Ο κατακερματισμός των μακρομορίων μέσω ριζικών ενδιαμέσων είναι σχετικά γρήγορος λόγω της αστάθειας αυτών. Η ίδια η MPO χάρη στην κατιονική φύση της συμβάλλει στη δέσμευση των αρνητικά φορτισμένων επιφανειών των παθογόνων, προκαλώντας καταστροφή της κυτταρικής τους μεμβράνης, που τα οδηγεί αυτόματα σε θάνατο.

2.4.4. Ρόλος MPO στο μηχανισμό πρόκλησης φλεγμονής

Υπό φλεγμονώδεις συνθήκες, η αγγειακή διαπερατότητα αυξάνεται και ενεργοποιούνται διάφοροι φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Αυτός ο καταρράκτης της φλεγμονώδους διαδικασίας ενθαρρύνει τη μετανάστευση των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων και την απελευθέρωση της MPO. Οι φλεγμονώδεις διεργασίες προκαλούνται επίσης από την υπεροξείδωση των λιπιδίων, η οποία μπορεί να είναι μια φυσιολογική δραστηριότητα ή πιθανός συντελεστής στην παθοφυσιολογική συνέπεια των οξέων και χρόνιων φλεγμονωδών ασθενειών. Τα αντιδραστικά παράγωγα της δράσης της MPO, που προκύπτουν από την οξείδωση της τυροσίνης και των νιτρικών αλάτων προς σχηματισμό ρίζας τυροσινίου και διοξειδίου του αζώτου (NO_2), αντίστοιχα, μπορούν να οξειδώσουν τα λιπίδια στο πλάσμα και την κυτταρική μεμβράνη. Τα επίπεδα NO_2 στο πλάσμα και εξωκυτταρικά σε φλεγμονώδεις καταστάσεις είναι σημαντικά αυξημένα. Επίσης, η επαγόμενη από το NO_2 παραγωγή NO_2Tyr θεωρείται καθοριστική για τον φλεγμονώδη τραυματισμό των ιστών, αφού η NO_2Tyr έχει εντοπιστεί σε ποικίλα κύτταρα και συστήματα σε καταστάσεις οξείας και χρόνιας φλεγμονής¹⁰¹⁻¹⁰⁴. Η υπεροξείδωση των λιποπρωτεϊνών φωσφολιπιδίων της μεμβράνης οδηγεί σε κυτταρικές δυσλειτουργίες. Η μη ρυθμιζόμενη παραγωγή HOCl και άλλων δραστικών προϊόντων της MPO, μπορεί να οδηγήσει σε οξείδωση του GADPH και επαγωγή της απόπτωσης των επιθηλιακών κυττάρων του ξενιστή. Επιπλέον, σχετίζεται με εξάντληση της ενδογενούς αντιοξειδωτικής ικανότητας, υπερφωσφορυλίωση των υποστρωμάτων του ξενιστή και συνολική ενίσχυση της φλεγμονής.

Η παραγωγή ROS και ειδικά HOCl από την MPO φαίνεται να ενισχύει έναν ακόμη μηχανισμό. Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα, εκτός από την απελευθέρωση αντιμικροβιακών μορίων από τα κοκκία, έχουν την ικανότητα να δημιουργούν εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων (NETs). Πρόκειται για δομές DNA που απελευθερώνονται έπειτα από αποσυμπύκνωση της χρωματίνης. Ένας αριθμός πρωτεϊνών δεσμεύεται στα NETs συμπεριλαμβανομένων των ιστονών και των κοκκιωδών πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων της ελαστάσης, της καθεψίνης G και της MPO¹⁰². Τα NETs είναι υπεύθυνα για τη διαδικασία κυτταρικού θανάτου που ονομάζεται NETosis. Επίσης, φαίνεται να επηρεάζουν μηχανισμούς τόσο της έμφυτης όσο και της επίκτητης ανοσίας. Στην έμφυτη ανοσολογική απάντηση οδηγούν σε αυξημένη απελευθέρωση IL-1β και IL-18. Στην προσαρμοστική ανοσία, φαίνεται να επηρεάζουν τη λειτουργία των δενδριτικών κυττάρων, αναστέλλοντας την ωρίμανσή τους και εμποδίζοντας την ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Οι μοριακές οδοί που οδηγούν σε NETosis περιλαμβάνουν κινητοποίηση ασβεστίου, παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), ενεργοποίηση και απελευθέρωση της μυελοϋπεροξειδάσης (MPO) και της ουδετερόφιλης ελαστάσης και τροποποίηση χρωματίνης μέσω της κιτροποίησης ιστών από την PAD4.

Τα NETs έχουν εμπλακεί στην αιτιολογία φλεγμονωδών αυτοάνοσων καταστάσεων¹⁰⁵ και η MPO είναι απαραίτητη για την πυροδότηση της διαδικασίας της NETosis και υπεύθυνη για ένα σύνολο μηχανισμών που σχετιζόμενων με τη φλεγμονή. Μερικά από τα κοινά παραδείγματα ασθενειών και καταστάσεων με χρόνια φλεγμονή είναι η φυματίωση, το άσθμα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η χρόνια ιγμορίτιδα, η χρόνια ηπατίτιδα, το πεπτικό έλκος, η ελκώδης κολίτιδα και η χρόνια περιοδοντίτιδα. Η μυελοϋπεροξειδάση θεωρείται πλέον ένας νέος βιοδείκτης φλεγμονής σε αυτές τις ασθένειες καθώς και άλλες ασθένειες όπως η ισχαιμική καρδιακή νόσος και το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο¹⁰³.

Η MPO σχετίζεται με την πρόκληση και διατήρηση της φλεγμονής και στις ΙΦΝΕ, γεγονός που επιβεβαιώνεται από ευρήματα πλήθους μελετών. Σε πειραματικά μοντέλα αρουραίων με επαγόμενη από οξύ κολίτιδα που προσομοιάζει την ανθρώπινη CD και UC, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων MPO στους ιστούς που φλεγμαίνονται¹⁰⁶⁻¹⁰⁹. Τα επίπεδά της MPO εμφανίζονται αυξημένα και στους ανθρώπινους ιστούς ασθενών με ΙΦΝΕ. Σε μελέτη των Sugí και συν. ήδη από το 1996, φάνηκε η αποτελεσματικότητα δεικτών των κοπράνων, όπως της λακτοφερρίνης, της ουδετεροφιλικής ελαστάσης, της μυελοϋπεροξειδάσης και της λυσοζύμης, στην αξιολόγηση της δραστηριότητας της νόσου¹¹⁰. Στη μελέτη των Kruidenier και συν., παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων MPO στα φλεγμονώδη στρώματα των ασθενών με UC και αποδείχθηκε ότι τα αυξημένα προϊόντα υπεροξειδωσής σχετίζονται με την έκφραση του επιθηλιακού CAT και τη δραστηριότητα της MPO, προτείνοντας έναν μεσολαβούμενο μηχανισμό HO₂⁻ ή/και HOCl¹¹¹. Σε μελέτη των Liu και συν., τα επίπεδα MPO εμφανίστηκαν αυξημένα σε ιστούς τόσο CD όσο και UC ασθενών, σε σχέση με υγιείς ιστούς¹¹², ενώ μελέτη των Feng και συν., δείχνει αυξημένα επίπεδα MPO και στον ορό αυτών των ασθενών¹¹³.

Η MPO χρησιμοποιείται πλέον εκτενώς ως δείκτης φλεγμονής. Τα επίπεδα της MPO στον ορό ασθενών με ΙΦΝΕ, όπως στα πλαίσια της παρούσας έρευνας, όντας ενδεικτικά της δραστηριότητας της νόσου, μπορούν να αποτελέσουν και αξιόπιστο δείκτη αποτελεσματικότητας της παρέμβασης σε αυτούς τους ασθενείς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Η ΜΑΣΤΙΧΑ

3.1 Γενικά στοιχεία

Σύμφωνα με τη μονογραφία της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας, η Μαστίχα είναι το αποξηραμένο ρητινώδες εξίδρωμα που λαμβάνεται από τους μίσχους και τους κλάδους του δέντρου *Pistacia lentiscus* L. var *latifolius* Coss ή *Pistacia lentiscus* var. *Chia*. ((Eur. Ph)(01/2008:1876))



Εικόνα 13. Το «δάκρυ» της Μαστίχας

3.1.1. Ο Σχίνος ή Μαστιχόδεντρο

Το γένος *Pistacia* ανήκει στην οικογένεια *Anacardiaceae*, συναντάται κυρίως στις περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου, και περιλαμβάνει περίπου 20 αειθαλή ή φυλλοβόλα είδη, θάμνους και δενδρύλλια¹¹⁴. Η ποικιλία *Chia*, γνωστή και ως Μαστιχόδεντρο ή Σχίνος, καλλιεργείται μόνο στο νότιο τμήμα του ελληνικού νησιού της Χίου (Zohary, 1952; Browicz, 1987), και αποτελεί τη μοναδική πηγή Μαστίχας Χίου (*Chios Mastic Gum*, CMG) στον κόσμο. Είναι ρητινοφόρος αειθαλής θάμνος, που διατηρεί το φύλλωμά του όλο το χρόνο ενώ συχνά αποκτά και δενδρώδη μορφή, φτάνοντας έως και τα 5 μέτρα. Μεγαλώνει αργά, φτάνοντας σε πλήρη ανάπτυξη μεταξύ του 40ου και του 50ου έτους. Τα περισσότερα μαστιχόδεντρα έχουν κύκλο ζωής 100 ετών και η παραγωγή μαστίχας ξεκινά το 5ο έτος, επιτυγχάνοντας μέγιστη απόδοση 1 κιλού μετά το 12ο έτος του δέντρου¹¹⁵. Η επεξεργασία του μαστιχόδεντρου μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή τριών κύριων προϊόντων: ακατέργαστης μαστίχας (CMG), συμπιεσμένου ελαίου που εξάγεται από τον καρπό του μαστιχόδεντρου και αιθέριου ελαίου από τα άνθη, τα φύλλα και τα κλαδιά του, καθώς και διάφορα άλλα φυτικά εκχυλίσματα¹¹⁶. Το CMG καταναλώνεται βασικά υπό μορφή τσίχλας ενώ έχει και άλλες μαγειρικές χρήσεις, ειδικά στην ελληνική, τουρκική και αραβική κουζίνα, υπό μορφή σκόνης ως πρόσθετο τροφίμων, υπό μορφή ζάχαρης ως επιτραπέζιο γλυκαντικό και υπό μορφή ελαίου ως πρόσθετο ποτών και γλυκαντικών¹¹⁷.

3.1.2. Καλλιέργεια μαστίχας

Η Μαστίχα είναι φυσική ρητίνη σε σχήμα δακρύου, που πέφτει στο έδαφος σε σταγόνες από επιφανειακές τομές που προκαλούνται από καλλιεργητές στον κορμό και τα κύρια κλαδιά του δέντρου με αιχμηρά εργαλεία. Καθώς στάζει, εμφανίζεται ως ένα κολλώδες και ημιδιαφανές υγρό το οποίο, 15-20 ημέρες αργότερα, στερεοποιείται σε ακανόνιστα σχήματα που επηρεάζονται από τις καιρικές συνθήκες της περιοχής το καλοκαίρι, δηλαδή έντονη ξηρασία και ηλιακό φως. Αφού στερεοποιηθεί, έχει κρυσταλλική μορφή, ενώ η μάλλον πικρή του γεύση υποχωρεί γρήγορα, αφήνοντας ένα διακριτικό άρωμα στο οποίο αποδίδεται η μοναδικότητα του προϊόντος¹¹⁷. Πρόσφατα, έχει αναπτυχθεί ένας νέος τύπος συλλογής ρητίνης, η λεγόμενη «συλλογή υγρών», που περιλαμβάνει είτε την προσθήκη είτε την έγχυση φυτοορμονών στο δέντρο, έτσι ώστε η ρητίνη να συλλέγεται σε λιγότερο ιξώδη μορφή.

Παραδοσιακά, η καλλιέργεια της μαστίχας απαιτεί μια σειρά διαδικασιών. Η πρώτη φάση της προετοιμασίας, περιλαμβάνει τον καθαρισμό του εδάφους γύρω από τα δέντρα και δημιουργία ενός στρώματος σκόνης ανθρακικού ασβεστίου, του «τραπεζιού», στο οποίο θα πέσει η ρητίνη. Η συγκέντρωση της ρητίνης διακρίνεται σε δύο φάσεις, την χάραξη και τη συλλογή. Η τομή των δέντρων, το λεγόμενο «κέντημα», πραγματοποιείται με ειδικά εργαλεία που ονομάζονται «κεντητήρια» και λαμβάνει χώρα τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο, ενώ η συλλογή της ρητίνης πραγματοποιείται τέλη Αυγούστου και Σεπτεμβρίου^{115,118}.



Εικόνα 14. Καλλιέργεια Μαστίχας

Η ιστορία της Μαστίχας συνδέεται άρρηκτα με αυτή της Χίου. Η συνολική παραγωγή προέρχεται από συγκεκριμένα χωριά, τα Μαστιχοχώρια, όπου η καλλιέργεια του μαστιχόδεντρου και η συλλογή της μαστίχας είναι μέρος της πολιτιστικής κληρονομιάς της περιοχής¹¹⁷. Το παχύ και ασβεστώδες έδαφος των χωριών αυτών παρέχει τις τέλειες συνθήκες για την ανάπτυξη του φυτού και την παραγωγή ρητίνης. Λόγω της οικονομικής αξίας της ρητίνης, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες με την πάροδο των ετών για τη μεταφορά της καλλιέργειας σε παρακείμενες περιοχές, ωστόσο, η παραγωγή της ρητίνης ήταν πάντα εξαιρετικά φτωχή ή ανύπαρκτη¹¹⁸.

3.1.3. Ιστορικά στοιχεία

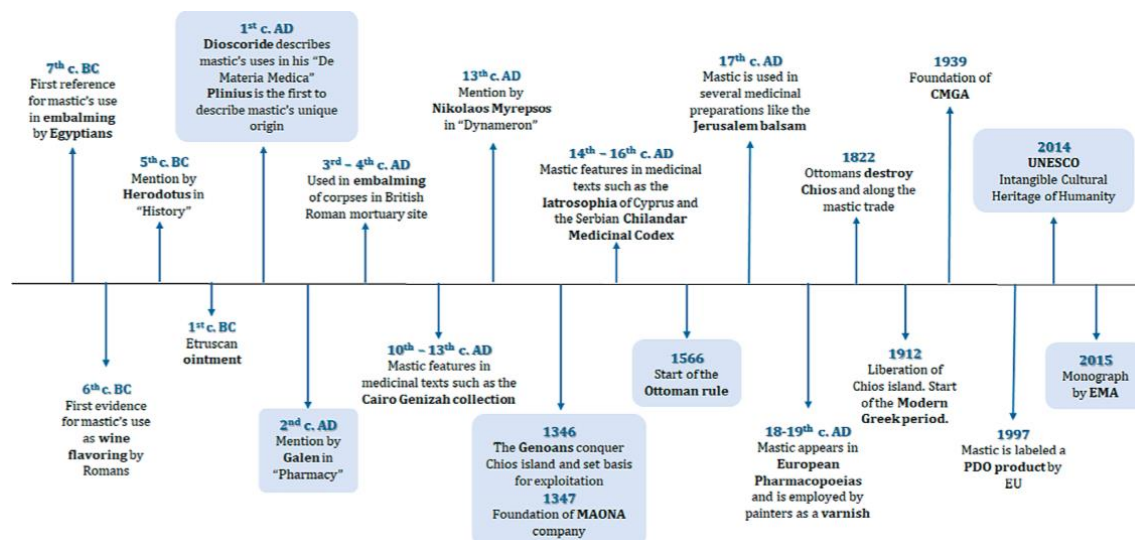
Η πρώτη τεκμηριωμένη αναφορά της χρήσης Μαστίχας γίνεται από τον Ηρόδοτο, τον 5^ο αιώνα π.Χ., που περιγράφει την κολλώδη ουσία που χρησιμοποιούσαν οι Αιγύπτιοι για την ταρίχευση των νεκρών, η ταυτότητα της οποίας και επιβεβαιώθηκε¹¹⁹. Εκτενής επιβεβαιωμένη χρήση της ρητίνης ακολουθεί κι από άλλους λαούς, όπως τους Ρωμαίους και τους Ετρούσκους, ενώ αναφορές της Μαστίχας εντοπίζονται σε κείμενα του Πλίνιου, σχετικά με τις αρωματικές, και του Διοσκουρίδη και του Γαληνού, σχετικά με τις θεραπευτικές της ιδιότητες, καθώς και σε πλήθος άλλων μεγάλων έργων της Κλασικής Εποχής¹²⁰. Κατά τη βυζαντινή και μεσαιωνική εποχή, η μαστίχα συνεχίζει να καταλαμβάνει τη δική της θέση στη λαϊκή ιατρική^{121,122}. Το εμπόριο και η ζήτησή της σε Ευρώπη και Ασία φτάνει στο απόγειο τον 14^ο αιώνα, κατά τη διάρκεια της κατοχής του νησιού της Χίου από τους Γενουάτες, ενώ η φήμη της συνεχίζει να διαδίδεται τους επόμενους αιώνες, κατά τη διάρκεια της Οθωμανικής Αυτοκρατορίας, με επέκταση της χρήσης της και σε άλλους τομείς (π.χ. στη ζωγραφική, ως σκληρυντικό και γυαλιστικό συστατικό των βαφών)¹²³ (Viguerie et al., 2017). Η πρώτη επίσημη αναφορά του μαστιχόδεντρου γίνεται το 1825 από τον De Candolle υπό την ονομασία *Pistacia lentiscus* L. var. *Chia*¹¹⁵, ενώ το 1914, ο Γεννάδιος προτείνει το όνομα *Pistacia chia* Desf. για το μαστιχόδεντρο που καλλιεργείται στη Χίο, το οποίο είναι επίσης γνωστό ως Μαστίχα ή Μαστίξ.

Το 1939 μια νέα εποχή ξεκινά για το εμπόριο της Μαστίχας, με την ίδρυση της Ένωσης Μαστιχοπαραγωγών Χίου (The Chios Gum Mastic Growers Association, CMGA). Σήμερα, πέρα από την ίδια τη μαστίχα, διακινείται παγκοσμίως ένα σύνολο προϊόντων που περιέχουν την ίδια ή το έλαιο αυτής, όπως αναψυκτικά, αλκοολούχα ποτά, είδη ζαχαροπλαστικής και καλλυντικά¹¹⁷.

Από το 1997, η Μαστίχα Χίου έχει αναγνωριστεί ως προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 1997) και το 2014 η τεχνογνωσία της καλλιέργειας μαστίχας στο νησί της Χίου εγγράφηκε από την UNESCO στον κατάλογο εκπροσώπων της άυλης πολιτιστικής κληρονομιάς της ανθρωπότητας (UNESCO, 2014). Επιπροσθέτως, η απόλυτη αναγνώριση ήρθε το 2015, όταν επίσημα εκδόθηκε μονογραφία για τη Μαστίχα από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) ως παραδοσιακό φυτικό φαρμακευτικό προϊόν:

- i. για τη θεραπεία ήπιων δυσπεπτικών διαταραχών
- ii. κατά των φλεγμονών του δέρματος
- iii. και για την επούλωση μικρών πληγών

Αρχικά υιοθετήθηκε ο όρος *Pistacia lentiscus* L. var. *latifolius* Coss, ενώ έπειτα από πρόταση αναθεώρησης το 2015, ο όρος αντικαταστάθηκε από το *Pistacia lentiscus* L. που χρησιμοποιείται έκτοτε (Ph. Eur., 2017).



Εικόνα 15. Χρονοδιάγραμμα της ιστορίας της Μαστίχας από την αρχαία χρόνια έως σήμερα¹²⁴.

3.2 Σύσταση

Η χημική σύσταση της Μαστίχας Χίου δεν είναι ακόμη πλήρως εξακριβωμένη, παρ' όλα αυτά ένα ευρύ φάσμα χημικών ενώσεων έχει έως τώρα ταυτοποιηθεί. Οι πτητικές ενώσεις, μια κατηγορία φυσικών προϊόντων που βρίσκονται σε αφθονία περιλαμβάνονται στο αιθέριο έλαιο και το νερό της μαστίχας, δύο προϊόντα που λαμβάνονται μετά τη διαδικασία απόσταξης της ρητίνης. Το υπόλειμμα μετά την απόσταξη και την απομάκρυνση των πτητικών συστατικών της ρητίνης ονομάζεται "κολοφώνιο", και είναι πλούσιο σε μια άλλη ομάδα ενώσεων τα τριτερπένια, που συνιστούν και τη βασική χημική ομάδα της CMG και το 65-70% του συνολικού βάρους της. Τέλος, πλήθος άλλων ενώσεων συναντώνται σε χαμηλά ποσοστά (~5%). Οι προαναφερθείσες χημικές ενώσεις μορφοποιούνται σε δομή ρητίνης λόγω του πολυμερούς της μαστίχας, το οποίο αποτελεί περίπου το 25-30% του ξηρού βάρους της^{125,126}. Πιο αναλυτικά, η CMG αποτελείται από:

✓ Το πολυμερές (πολυ-β-μυρκένιο)

Ταυτοποιήθηκε από τον Van Den Berg και τους συνεργάτες του το 1998. Προσδίδει συνεκτικότητα στη ρητίνη, αλλά ταυτοχρόνως μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα των δραστικών συστατικών, με αποτέλεσμα να αποτελεί εμπόδιο στην ταυτοποίηση των υπολοίπων συστατικών της. Για το λόγο αυτό, απαιτείται ένας κύκλος εκχύλισης-κλασμάτωσης για την απομάκρυνση του πολυμερούς, και την ανάλυση κάθε κλάσματος (όξινων και ουδέτερων τριτερπενίων) ξεχωριστά¹²⁵.

✓ Τα πτητικά συστατικά

Είναι τα κυριότερα συστατικά του μαστιχελαίου και του μαστιχόνερου. Το αιθέριο έλαιο αποτελεί το 3% του βάρους της μαστίχας και τα κυριότερα συστατικά του είναι το α-πινένιο (30-75%), το μυρκένιο (3-60%) και το β-πινένιο (1-3%), και μαζί αποτελούν περίπου το 90% του μαστιχελαίου^{127,128}. Πιο συγκεκριμένα, οι

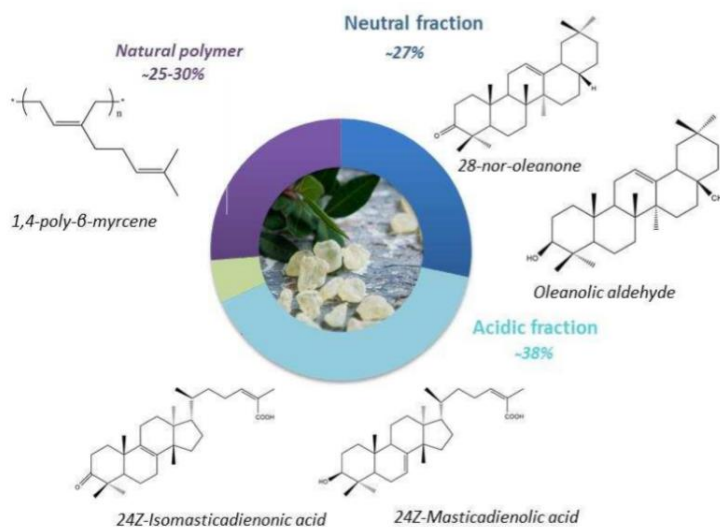
μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες αντιπροσωπεύουν το 50%, τα οξυγονωμένα μονοτερπένια το 20% και τα σεσκιτερπένια το 25% του συνόλου του παραχθείσαντος ελαίου¹²⁶.

✓ Το τριτερπενικό κλάσμα

Αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος της CMG. Οι Paraschos και συν., πραγματοποίησαν πρώτοι μια διαδικασία διαχωρισμού, για την απομόνωση και ανάλυση των κύριων ενώσεων της CMG. Εν συντομία, μετά το απομάκρυνση πολυμερούς CMG, το τριτερπενικό κλάσμα διαιρείται περαιτέρω σε όξινα και ουδέτερα τριτερπένια. Από το όξινο κλάσμα απομονώθηκαν τα κυριότερα τριτερπενικά οξέα (ολεανονικό οξύ, μορονικό οξύ, 24Z-μαστιχαδιενονικό οξύ (MNA), 24Z-ισομαστιχαδιενονικό οξύ (IMNA), 24Z-μαστιχαδιενολικό οξύ και 24Z-ισομαστιχαδιενολικό οξύ). Το ουδέτερο κλάσμα απέδωσε πέντε ουδέτερες τριτερπενικές ενώσεις (τιρουκαλλόλη, δαμμαραδιενόνη, 28-νορολεάν12-εν-3-όνη, ολεανονική αλδεΐδη και ολεανολική αλδεΐδη). Όλα τα παραπάνω συστατικά ταυτοποιήθηκαν με NMR και ανάλυση MS¹²⁵. Ο ίδιος κύκλος εκχύλισης και διαδικασία κλασμάτωσης, με μικρές τροποποιήσεις έχει επίσης αναφερθεί και από άλλους ερευνητές. Σε πιο πρόσφατη μελέτη, οι Ασημοπούλου και Παπαγεωργίου ταυτοποίησαν 36 τριτερπένια σε δείγμα “παραδοσιακής συλλογής” και 19 σε δείγμα «υγρής συλλογής», γεγονός που υποδηλώνει ότι η μέθοδος συλλογής επηρεάζει τη σύσταση του τριτερπενικού κλάσματος στο τελικό προϊόν. Τα κύρια τριτερπένια και στα δύο δείγματα CMG ήταν το IMNA (24 και 22,5% κ.β. τριτερπενικού κλάσματος, αντίστοιχα), το MNA (9,3 και 14,7% κ.β. τριτερπενικού κλάσματος αντίστοιχα) και η 28-νορεολάνη-17-εν-3-όνη (19 και 36% κ.β. τριτερπενικού κλάσματος αντίστοιχα)¹²⁹.

✓ Άλλα συστατικά

Εκτός από τις χημικές κατηγορίες που αναφέρονται παραπάνω, η Καλιώρα και οι συνεργάτες της βρήκαν την παρουσία αραβινογαλακτανών (AGPs)¹³⁰, καθώς και σε χαμηλές συγκεντρώσεις ή ίχνη απλές φαινόλες, όπως βανιλλικό, γαλλικό, τρανσ-κινναμικό, ο-κουμαρικό και πρωτοκατεχουικό οξύ¹³¹. Τέλος, πρόσφατη δημοσίευση αναφέρει την πιθανή παρουσία και α-τοκοφερόλης στη CMG.¹³²



Εικόνα 16. Χημική σύσταση CMG¹²⁴

3.3 Βιολογική δραστηριότητα

Πέρα από τα οργανοληπτικά της χαρακτηριστικά, η Μαστίχα είναι γνωστή και για τις ευεργετικές της ιδιότητες. Αρκετοί ερευνητές έχουν διερευνήσει την αντιβακτηριακή, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, κυτταροτοξική, υπολιπιδαιμική δράση της και την επίδρασή της στην υγεία του ήπατος και του εντέρου.

✓ Αντιβακτηριδιακή

Οι αντιβακτηριδιακές ιδιότητες της μαστίχας ήταν γνωστές από την αρχαιότητα, και έχουν επιβεβαιωθεί με ποικίλες μελέτες που ξεκίνησαν στα τέλη του προηγούμενου αιώνα. Συγκεκριμένα, το 1984, η μαστίχα χρησιμοποιήθηκε σε κλινικές δοκιμές σε ασθενείς με πεπτικά έλκη και φάνηκε ότι η χορήγηση 1g ημερησίως ανακούφισε τον πόνο και επούλωσε το έλκος στομάχου και δωδεκαδακτύλου στην πλειονότητα των ασθενών εντός 2 εβδομάδων¹³³. Το 1986, οι Al-Said και συν., μελέτησαν την επίδραση της μαστίχας σε πειραματικώς επαγόμενα γαστρικά και δωδεκαδακτυλικά έλκη σε αρουραίους. Η μαστίχα (500mg/kg per os) προκάλεσε σημαντική μείωση των γαστρικών εκκρίσεων και της έντασης της βλάβης του γαστρικού βλεννογόνου. Οι Marshall και Warren συνέδεσαν τη γαστρική φλεγμονή και το πεπτικό έλκος με το *H.pylori* και ακολούθησαν μελέτες για την ανάλυση της επίδρασης της μαστίχας στο *H.Pylori* και άλλους μικροοργανισμούς. Το 1996, οι Lauk και συν., μελέτησαν την *in vitro* αντιμικροβιακή δράση των εκχυλισμάτων *P. Lentiscus* σε βακτήρια και μύκητες και πρώτη φορά το 1999, οι Huwez και συν. δημοσίευσαν την πιθανή βακτηριοκτόνο δράση της μαστίχας έναντι του *Helicobacter pylori* (σε συγκεντρώσεις μόλις 0,06 mg / mL)¹³³. Οι Paraschos και συν., απέδωσαν τις αντιβακτηριακές ιδιότητες έναντι του *H.pylori* στο όξινο κλάσμα της μαστίχας, και συγκεκριμένα στο ισομασιχαδιενικό οξύ¹²⁵. Οι Kottakis et al., διερεύνησαν την επίδραση των αραβινογαλακτανών της μαστίχας σε έμφυτους κυτταρικούς ανοσοποιητικούς παράγοντες (επαγωγείς ουδετερόφιλων) και βρήκαν ότι οι αραβινογαλακτάνες ανέστειλαν την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων, παίζοντας ένα κρίσιμο ρόλο στην αντιμετώπιση του *H. pylori* στον γαστρικό βλεννογόνο¹³⁰. Οι Sharifi και Hazell, έδειξαν ότι το πιο ενεργό κλάσμα της μαστίχας εναντίον του *H. pylori* ήταν το πολυμερές, ακολουθούμενο από το όξινο κλάσμα¹³⁴.

Η αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας ταυτοποιήθηκε και έναντι βακτηρίων που συναντώνται στο ανώτερο γαστρεντερικού. Ήδη από το 1984, μελέτη των Topitsoglou et al., είχε επιβεβαιώσει την ικανότητά της μαστίχας να αποτρέπει (ή και να μειώνει) το σχηματισμό μικροβιακής πλάκας, μέσω τη δράσης της έναντι στον *Streptococcus mutans*¹³⁵. Μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν θετικά αποτελέσματα έναντι και άλλων βακτηρίων στη στοματική κοιλότητα¹³⁶, όπως των *Porphyromonas gingivalis*^{136–138}, *Streptococcus oralis*¹³⁶ και *Prevotella melaninogenica*¹³⁷. Οι αντιβακτηριακές ιδιότητες της μαστίχας, του μαστιχελαίου^{127,128,139} και του νερού μαστίχας¹⁴⁰, έχουν μέχρι σήμερα επιβεβαιωθεί έναντι πλήθους βακτηρίων και μυκήτων, που περιλαμβάνει τα *Escherichia coli*^{127,139}, *Staphylococcus aureus*^{127,128,139}, *Bacillus subtilis*^{127,139}, *Lactobacillus plantarum*¹³⁹, *Pseudomonas fragi*¹³⁹, *Salmonella enteridis*¹³⁹, κ.α., και μυκήτων *Candida albicans*¹²⁸, *Candida tropicalis*¹²⁸ and *Torulopsis glabrata*¹²⁸ κ.α.

✓ Αντιοξειδωτική

Η αντιοξειδωτική ικανότητα της μαστίχας επιβεβαιώθηκε για πρώτη φορά σε μελέτη *in vitro* του Ανδρικόπουλου και συν., η οποία έδειξε ότι η CMG αποτελεί την πιο αποτελεσματική αντιοξειδωτική ρητίνη στην παρεμπόδιση της επαγόμενης από χαλκό LDL-οξείδωσης (PPAR-α αγωνιστής)¹⁴¹. Σε πείραμα σε ποντίκια, εκχύλισμα μαστίχας μείωσε την έκφραση του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF-α) μέσω παρεμπόδισης των PKC-εξαρτώμενων NADPH οξειδασών¹⁴². Στα μονοκύτταρα αναφέρθηκε αποκατάσταση της γλουταθειόνης, και επακόλουθη αναστολή της πρωτεϊνικής κινάσης C, γεγονός που υποδεικνύει έναν μη-οξειδοαναγωγικό μηχανισμό που περιλαμβάνει την οδό γλουταθειόνης- PKC, στον οποίο βασίζεται η αντιοξειδωτική δράση της. Σε άλλη *in vitro* μελέτη, εκχύλισμα μαστίχας ανέστειλε τη διαδικασία απόπτωσης σε κυτταρική καλλιέργεια μονοκύτταρων περιφερικού αίματος, εμποδίζοντας την οξείδωση της LDL¹⁴³. Έρευνα των Παπαδά και συν., που διεξήχθη σε ανθρώπους, επιβεβαίωσε τη βιοδιαθεσιμότητα των τερπενίων *in vivo* και την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, σημειώνοντας μείωση των επιπέδων oxLDL και της ολικής οξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος μόλις 1h μετά τη *per os* λήψη 10g μαστίχας¹⁴⁴.

Η αύξηση της αρτηριακής πίεσης επαγωγή οξειδωτικού στρες συμβαίνει μέσω της ενεργοποίησης του ενζύμου οξειδάσης της NADPH. Σε πρόσφατες έρευνες η οξειδωτικά τροποποιημένη LDL, πιθανότατα προερχόμενη από ανεπαρκή πρόσληψη αντιοξειδωτικών, έχει αποδειχθεί ότι ενισχύει το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων στην αθηρωματική πλάκα, αυξάνοντας κατά συνέπεια τον κίνδυνο καρδιαγγειακών. Σε κατάσταση οξειδωτικού στρες, οι ελεύθερες ρίζες επιτίθενται στην LDL στο πλάσμα που τροποποιείται οξειδωτικά, οδηγώντας στην προσέλκυση μονοκυττάρων του αίματος κάτω από το ενδοθήλιο. Τα μονοκύτταρα διαφοροποιούνται σε μακροφάγα, τα οποία επηρεάζουν τις τροποποιήσεις στην LDL, προσλαμβάνοντάς την τροποποιημένη LDL των ενδοθηλιακών κυττάρων και υπόκεινται σε απόπτωση, με αποτέλεσμα να μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα, γεμάτα χοληστερόλη και οξειδωμένα λιπίδια. Τα κύτταρα αυτά σχηματίζουν τις πρώιμες αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις¹⁴³.

✓ Αντιφλεγμονώδης

Η CMG φαίνεται να εμποδίζει την έκφραση των γονιδίων της συνθάσης του οξειδίου του αζώτου (iNOS) και της κυκλοξυγενάσης (COX-2), αναστέλλοντας την παραγωγή NO και προσταγλανδίνης (PGE2), TNF-α και υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂), ασκώντας αντιφλεγμονώδη δράση¹⁴⁵, αναστέλλοντας την -επαγόμενη από την πρωτεϊνική κινάση PKC-ενεργοποίηση των NADPH οξειδασών. Επίσης, μειώνει την έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και τη μετανάστευση ηωσινόφιλων στους αεραγωγούς προστατεύοντας ενάντια στη αλλεργική φλεγμονή σε ασθματικά μοντέλα ποντικών.

Η Καλιώρα και οι συνεργάτες της, σε πιλοτική μελέτη με ασθενείς με ενεργό CD, παρατήρησαν σημαντική αύξηση στο συνολικό αντιοξειδωτικό δυναμικό και μείωση στα επίπεδα IL-6 και CRP έπειτα από αγωγή τεσσάρων εβδομάδων με μαστίχα (2.2g/ημέρα)¹⁴⁶. Σε ακόλουθη μελέτη, έδειξαν τη δράση της CMG ως ανοσορυθμιστή μονοκύτταρων περιφερικού αίματος μέσω αναστολής του Παράγοντα Νέκρωσης Όγκων-α (TNF-α) και

αύξησης του ανασταλτικού παράγοντα μετανάστευσης των μακροφάγων (MIF), έπειτα από την ίδια αγωγή¹⁴⁷. Σε διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή σε ασθενείς με ενεργή νόσο των Παπαδά και συν., η μαστίχα (2.8g/ημέρα για τρεις μήνες) φαίνεται να βελτίωσε δείκτες κοπράνων σχετιζόμενους με τη φλεγμονή¹⁴⁸. Τέλος, σε τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή των Παπαδά και συν., η CMG (2.8g/ημέρα για έξι μήνες) ανέστειλε την αύξηση των ελεύθερων αμινοξέων του πλάσματος σε ασθενείς με ΙΦΝΕ σε ύφεση, πρώιμου δείκτη της νόσου, αποκαλύπτοντας πιθανό ρόλο της CMG στη διατήρηση της ύφεσης σε αυτούς τους ασθενείς¹⁴⁹.

✓ Καρδιοπροστατευτική

Στις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της μαστίχας αποδίδεται και η καρδιοπροστατευτική δράση της, που σχετίζεται με υπολιπιδαιμικά, αντιαθηρωματικά, αντιυπερτασικά και αντιδιαβητικά αποτελέσματα. Η μαστίχα φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων ασκώντας ισχυρή αντιοξειδωτική δράση έναντι της LDL, προλαμβάνοντας τη συσσώρευση oxLDL εντός των κυττάρων που αποτελεί αιτιοπαθολογικό παράγοντα πρόκλησης αθηροσκλήρωσης¹⁴³, καθώς και με άμεση αναστολή της φλεγμονώδους διαδικασίας που οδηγεί στην αθηρογένεση. Το εκχύλισμα από ρητίνη *P. lentiscus* έχει αποδειχθεί ότι αποκαθιστά τα επίπεδα GSH, ενισχύοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα έναντι της oxLDL και περιορίζει την έκφραση του CD36 υποδοχέα που είναι υπεύθυνος για πρόσληψη LDL από τα μακροφάγα, ακόμη και σε μεταγραφικό επίπεδο¹⁴³. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα αορτής (HAEC) φάνηκε ότι το ουδέτερο κλάσμα της μαστίχας, και συγκεκριμένα η ένωση τιρουκαλλόλη (φυτοστερόλη του ουδέτερου κλάσματος) μπορεί να οδηγήσει στη μείωση των VCAM-1 και ICAM-1 μορίων προσκόλλησης, που αποτελούν τους διαμεσολαβητές της αλληλεπίδρασης των μονοκυττάρων με τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, επάγοντας τη διαδικασία της αθηρογένεσης¹⁵⁰. Οι Tzani και συν., αναφέρουν την επίδραση της μαστίχας στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης και τριγλυκεριδίων στον ορό διαβητικών αρσενικών ποντικών¹⁵¹, και στη μείωση της αρτηριακής πίεσης σε υπερτασικούς αρουραίους, ευρήματα που συνδέθηκαν με μειωμένη ρενίνη, CRP και επίπεδα ιντερλευκίνης-6 (IL-6), αλλά και με βελτιωμένη αγγειακή και καρδιακή αναδιαμόρφωση¹⁵². Η θεραπεία με μαστιχέλαιο μείωσε τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης του πλάσματος, LDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων σε αρουραίους (πιθανή συνεργιστική δράση μεταξύ καμφενίου και άλλων ενώσεων της μαστίχας)¹⁵³. Χορήγηση NMF (Neutral Mastic Fraction) και TMEWP (Ολικό εκχύλισμα μαστίχας χωρίς πολυμερές) σε ίδιες δόσεις (46mg/kg/ημέρα) για 6 εβδομάδες παρουσίασε υπολιπιδαιμικές δραστηριότητες σε υπερχοληστερολαιμικά κουνέλια¹⁵⁴. Σε μια προοπτική, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη, πιλοτική μελέτη, χορήγηση μαστίχας (1g/ημέρα) μείωσε σημαντικά τη συνολική χοληστερόλη και τα επίπεδα γλυκόζης υγιών εθελοντών σε περίοδο 8 εβδομάδων¹⁵⁵. Η μαστίχα, χάρη στα τριτερπένια, έχει δείξει πολύτιμη δράση στον μεταβολισμό της γλυκόζης, προτρέποντας τα β-παγκρεατικά κύτταρα να εκκρίνουν ινσουλίνη και αναστέλλοντας την πρωτεΐνη φωσφορικής τυροσίνης-1B^{153,155}. Είναι ενδιαφέρον ότι η απουσία πολυμερούς οδηγεί στη μείωση της δραστηριότητας μαστίχας^{154,155}. Ευνοϊκά αποτελέσματα της μαστίχας στην αρτηριακή πίεση σε υπερτασικούς ασθενείς συνδέθηκαν με αναστολή στη λειτουργία του πρωτεασώματος και του NOX-2 προ-οξειδωτικού μονοπατιού¹⁵⁶. Τέλος, μια άλλη πιλοτική μελέτη έδειξε ότι η σκόνη μαστίχας θα μπορούσε να έχει ηπατοπροστατευτικό ή

καρδιοπροστατευτικό ρόλο in vivo στον άνθρωπο. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση στην ολική χοληστερόλη του ορού, στη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL), στην αναλογία ολικής χοληστερόλης/λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL), στη λιποπρωτεΐνη (α), στην απολιποπρωτεΐνη A-1, στα επίπεδα απολιποπρωτεΐνης B, SGOT, SGPT και γ-GT στην ομάδα που κατανάλωνε καθημερινά 5g μαστίχας σκόνη ημερησίως για 18 μήνες¹⁵⁷.

✓ Αντικαρκινική

Κατά την τελευταία δεκαετία, όλο και περισσότερα ερευνητικά δεδομένα επιβεβαιώνουν τη χημειοπροστατευτική δράση της μαστίχας σε ορισμένους τύπους ανθρώπινης νεοπλασίας, με μηχανισμούς που συνδέονται είτε με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της, είτε με την ανασταλτική δράση της στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και την αγγειογένεση. Εκχύλισμα μαστίχας προκάλεσε την έκφραση του γονιδίου υπεύθυνου για την παραγωγή της μασπίνης, μιας σερίνο-πρωτεάσης που συνδέεται με ογκοκατασταλτική δραστηριότητα στον καρκίνο του προστάτη. Ο πολλαπλασιασμός της καρκινικής κυτταρικής σειράς PC-3 του προστάτη παρεμποδίστηκε στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου μετά την αγωγή με DMSO εκχύλισμα μαστίχας μέσω αναστολής της έκφραση του NF-κΒ¹⁵⁸. Εκχύλισμα μαστίχας έχει φανεί να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου, πιθανόν μέσω ενεργοποίησης αποπτωτικών ενζύμων, των κασπασών¹⁵⁹, καθώς και να μειώνει το μέγεθος του όγκου¹⁶⁰. Κατά του καρκίνου του παχέος εντέρου θετικά είναι τα αποτελέσματα και από τη χρήση μαστιχελαίου τόσο σε in vitro, όσο και in vivo έρευνα σε ποντικούς, αποδίδοντας ογκοκατασταλτικές ιδιότητες και στο έλαιο της μαστίχας. Το μαστιχέλαιο εμφάνισε αντιπολλαπλασιαστική και προαποπτωτική δράση και σε ανθρώπινα λευχαιμικά κύτταρα K562 καθώς φάνηκε να ελέγχει την ανάπτυξη του όγκου μέσω της αναστολής του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα. Τέλος, οι ευεργετικές ιδιότητες του μαστιχελαίου επιβεβαιώνονται και σε περιπτώσεις καρκίνου του πνεύμονα, αφού μελέτες έχουν δείξει μείωση των καρκινικών κυττάρων in vitro και in vivo έπειτα από θεραπεία με μαστιχέλαιο σε καρκίνωμα Lewis στους πνεύμονες, μέσω αναστολής της έκφρασης αποπτωτικών παραγόντων, αλλά και αντιμεταστατική επίδραση του μαστιχελαίου μέσω παρεμπόδισης της αγγειογένεσης, η οποία θεωρείται υπεύθυνη για τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.

ΜΕΡΟΣ Β'- ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.1 Σκοπός

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, όλο και αυξανόμενο είναι το ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια για την φαρμακευτική χρήση φυσικών προϊόντων, τα οποία είτε ως τρόφιμα στην καθημερινή διατροφή, είτε υπό μορφή συμπληρωμάτων, αποτελούν πολύτιμες πηγές βιοδραστικών συστατικών με υποσχόμενες προοπτικές στον τομέα της πρόληψης και αντιμετώπισης νοσημάτων, ιδίως σε ασθενείς ανθεκτικούς στις συμβατικές θεραπείες, και με το πλεονέκτημα της απουσίας παρενεργειών που συχνά συνοδεύουν μια φαρμακευτική αγωγή. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτιμά ότι το 80% του παγκόσμιου πληθυσμού χρησιμοποιεί φυσικά προϊόντα για τις βασικές ανάγκες υγειονομικής περίθαλψης⁸⁶.

Μέχρι σήμερα και με βάση τα περιορισμένα διαθέσιμα δεδομένα, φαίνεται ότι πιθανότατα η Μαστίχα εμφανίζει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση χάρη στα περιεχόμενα βιοδραστικά φυτοχημικά συστατικά της. Η διερεύνηση της επίδρασης της μαστίχας σε ένα σύνολο νόσων βρίσκεται υπό εξέλιξη, και απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για να διαλευκανθούν πλήρως οι μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για τα επιβεβαιωμένα οφέλη της.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση των επιπέδων της μυελοϋπεροξειδάσης (MPO) ορού, έπειτα από διατροφική παρέμβαση με ημερήσια πρόσληψη 2.8g συμπληρώματος Μαστίχας Χίου, έναντι εικονικού φαρμάκου, για χρονική διάρκεια τριών μηνών, σε ασθενείς με Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου (ΙΦΝΕ) σε έξαρση.

4.2 Σχεδιασμός μελέτης

▪ Βιοηθική

Το πρωτόκολλο εφαρμόστηκε έχοντας λάβει έγκριση από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι (1989).

▪ Στρατολόγηση ασθενών

Το δείγμα των ασθενών συλλέχθηκε μεταξύ του Μάιου του 2016 και του Ιουνίου του 2017. Η στρατολόγηση των συμμετεχόντων πραγματοποιήθηκε έπειτα από ανακοίνωση προς την Ελληνική Εταιρεία Ασθενών με Νόσου Crohn και Ελκώδους Κολίτιδας, ενώ επίσης συμμετείχαν και εξωτερικοί ασθενείς με ενδοσκοπικά αποδεδειγμένη Νόσο Crohn, και πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με συγκεκριμένα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού της μελέτης

Κριτήρια Ένταξης	Φύλο: Άνδρες και Γυναίκες Ηλικία: 18-67 ετών
	Διαγνωσμένη ΙΦΝΕ με κολονοσκόπηση και σταθερή κλινική και ιστολογική πορεία
	Ενεργή νόσος Harvey & Bradshaw ≥ 5 για CD Partial Mayo Clinic Score ≥ 2 για UC
	Σταθερή θεραπεία με κορτικοστεροειδή το λιγότερο 2 εβδομάδες πριν την έναρξη της μελέτης, με μεσαλαμίνη για 4 εβδομάδες και ανοσοκατασταλτικά για 8 εβδομάδες.
	Σταθερή θεραπεία κατά τη διάρκεια της μελέτης
Κριτήρια αποκλεισμού	Θετική καλλιέργεια κοπράνων για εντερικά παθογόνα ή τοξίνη Clostridium difficile
	Αντιβιοτική θεραπεία 2 μήνες πριν ή κατά τη διάρκεια έναρξης της μελέτης
	Χειρουργείο στο έντερο ≤ 3 μήνες πριν την έναρξη ή κατά τη διάρκεια της μελέτης, προγραμματισμένο χειρουργείο κατά τη διάρκεια της παρέμβασης, σύνδρομο βραχέως εντέρου, παρουσία ενδοκοιλιακού αποστήματος ή συριγγίου, ειλεοστομία, κολοστομία
	Εντερική ή Παρεντερική σίτιση, κατάχρηση αλκοόλ, χρήση ναρκωτικών ουσιών ή συμπληρωμάτων διατροφής, χορτοφαγική ή μακροβιοτική διατροφή
	Παρουσία κακοήθειας, καρδιαγγειακής νόσου ή πεπτικού έλκους 1 χρόνο πριν ή κατά τη διάρκεια της μελέτης
	Εγκυμοσύνη, γαλουχία

▪ Διαδικασία

Πριν τη συλλογή οποιασδήποτε πληροφορίας, οι συμμετέχοντες επικοινωνούσαν με μέλη της ερευνητικής ομάδας και οριζόταν συνεδρία για περαιτέρω ενημέρωση σχετικά με τον σκοπό της μελέτης, το χρονικό πλαίσιο διεξαγωγής της, τα κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού τους και γι' άλλες λεπτομέρειές της και τους δόθηκε χρόνος (48 ώρες) να αποφασίσουν αν θα λάβουν μέρος. Κάθε ασθενής που συμφώνησε να συμμετάσχει, υπέγραψε έγγραφο συγκατάθεσης, αντίγραφο του οποίου δόθηκε και στον ίδιο. Στα πλαίσια της μελέτης, στρατολογήθηκαν ενήλικοι ασθενείς με CD ή UC, είτε σε φάση ύφεσης είτε έξαρσης. Η διάγνωση έγινε με βάση τα ενδοσκοπικά, ακτινολογικά, ιστολογικά και κλινικά κριτήρια που παρέχονται από το Συμβούλιο του ΠΟΥ για Διεθνείς Οργανισμούς Ιατρικών Επιστημών και από τον Διεθνή Οργανισμό για τη Μελέτη των ΙΦΝΕ. Αποκλείστηκαν ασθενείς με απροσδιόριστη κολίτιδα.

Πρόκειται για διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη, στην οποία οι ασθενείς λαμβάνουν δια στόματος είτε το διατροφικό συμπλήρωμα, είτε το εικονικό φάρμακο. Πρόκειται για διεπιστημονική μελέτη αφού η ερευνητική ομάδα πλαισιώνεται από

Διαιτολόγους-Διατροφολόγους, Γαστρεντερολόγους και Βιολόγους. Οι συμμετέχοντες κατανεμήθηκαν τυχαία στην ομάδα παρέμβασης της μαστίχας ή του εικονικού φαρμάκου, βάσει προγράμματος στον υπολογιστή. Δεδομένου ότι η πρόσβαση σε στοιχεία των ασθενών ήταν απαγορευμένη στην αρχή της μελέτης, λόγω της πολιτικής απορρήτου της Ελληνικής Εταιρίας ασθενών με ΙΦΝΕ, στο δείγμα εφαρμόστηκε τυχαιοποίηση, και η σχηματιζόμενη από υπολογιστή αριθμητική λίστα για κατάταξη των εθελοντών στις ομάδες, προετοιμάστηκε από ανεξάρτητο ερευνητή. Πραγματοποιήθηκε τυφλοποίηση όλου του προσωπικού, των συμμετεχόντων και των αναλυτών η οποία τηρήθηκε αυστηρά. Η ομάδα της Μαστίχας έλαβε δισκία με 2.8g ημερήσια δόση (4x700mg), ενώ η ομάδα του εικονικού φαρμάκου έλαβε αντίστοιχα δισκία με το συμπλήρωμα. Η παρέμβαση διήρκεσε τρεις μήνες για ασθενείς σε υποτροπή και 6 μήνες σε ασθενείς σε ύφεση. Όλοι οι εθελοντές έλαβαν τυπικές διατροφικές συμβουλές από διαιτολόγους και ενθαρρύνθηκαν να αναφέρουν τυχόν ανεπιθύμητες ενέργειες κατά τη διάρκεια της παρέμβασης.

▪ Δισκία

Δισκία Verum: 70% Μαστίχα, 14% μικροκρυσταλλική κυτταρίνη, 14% άνυδρο διβασικό φωσφορικό ασβέστιο και 2% στεατικό μαγνήσιο. Βάρος: 0,98 g / δισκίο
Δισκία placebo: 49% μικροκρυσταλλική κυτταρίνη, 49% άνυδρο διβασικό φωσφορικό ασβέστιο και 2% στεατικό μαγνήσιο. Βάρος: 0,99 g / δισκίο

Η ρητίνη κονιοποιήθηκε πριν από τη συμπίληψη σε δισκίο και η ληφθείσα σκόνη ήταν υπόλευκη έως κιτρινωπή. Τα δισκία verum και placebo μοιράστηκαν έχοντας πανομοιότυπη εμφάνιση και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Εικόνα 18).



Εικόνα 17. Δισκία Verum και placebo

▪ Αξιολόγηση ασθενών στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

- I. Ενημέρωση των ασθενών σχετικά με το σκοπό της μελέτης και υπογραφή εγγράφου συγκατάθεσης
- II. Λήψη ιατρικού ιστορικού και πληροφοριών σχετιζόμενων με τη νόσο (ηλικία έναρξης, οι επιπλοκές, η θεραπεία, η διάρκεια, η ενεργότητα, η περιοχή εντόπισης της νόσου και οι εξωεντερικές εκδηλώσεις) από εξειδικευμένους γαστρεντερολόγους της ερευνητικής ομάδας.
- III. Συμπλήρωση ερωτηματολογίων: δείκτες ενεργότητας - ποιότητας ζωής ειδικοί για ΙΦΝΕ:
 - ✓ Inflammatory Bowel Disease Questionnaire-IBDQ,

- ✓ Harvey-Bradshaw-HB index (HBI) (CD)
- ✓ Partial Mayo Score-MCS (UC)
- IV. Αιμοληψία για απομόνωση ορού και πλάσματος, για διεξαγωγή πλήρους ελέγχου βιοχημικών παραμέτρων και μέτρηση των επιπέδων της MPO στον ορό.
- V. Πραγματοποίηση εργαστηριακών αναλύσεων με χρήση αυτόματου βιοχημικού αναλυτή για υπολογισμό σιδήρου ορού (Fe), αλβουμίνης, γλυκόζης, ολικής χοληστερόλης, υψηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνης (HDL), χαμηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνης (LDL), τριγλυκεριδίων και ινωδογόνου πλάσματος. Πραγματοποίηση δοκιμασιών ρουτίνας για υπολογισμό αμυλάσης ορού, γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH), γλουταμικής οξαλοξικής τρανσαμινάσης (SGOT), γλουταμικής πυροσταφυλικής τρανσαμινάσης (SGPT), γ-γλουταμύλοτρανσφεράσης (γ-GT) και CRP.
- VI. Λήψη δείγματος κοπράνων κόπρανα για ποσοτικοποίηση δεικτών φλεγμονής.
- VII. Πραγματοποίηση ανοσοενζυμικής μεθόδου sandwich ELISA για μέτρηση φλεγμονωδών δεικτών (Ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και ιντερλευκίνη 10 (IL-10)) στον ορό. Υπολογισμός οξειδωμένης LDL (oxLDL) με τη μέθοδο ELISA με χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος 4E6.

Η ίδια ακριβώς διαδικασία ακολουθήθηκε και στο follow up.

4.3 Μέθοδος ELISA

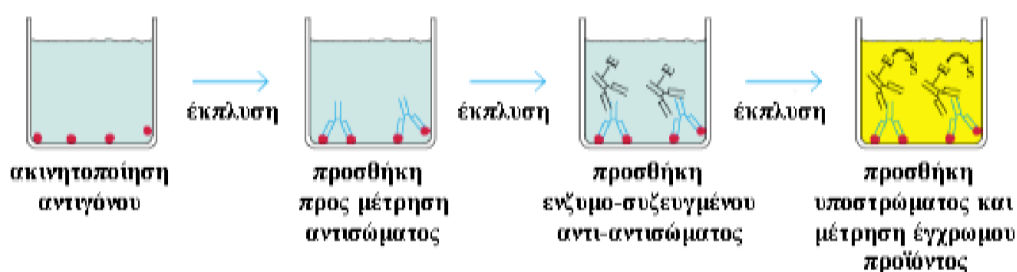
Η Δοκιμασία Ενζυμο-Συζευγμένης Ανοσοπροσρόφησης ELISA αποτελεί μια ποσοτική αναλυτική μέθοδο υψηλής ευαισθησίας, η οποία επιτρέπει τον προσδιορισμό αντισωμάτων, αντιγόνων, κυτταροκινών, ορμονών και διαφόρων χημικών ουσιών σε βιολογικά υγρά, με τη χρήση ενζυμο-συζευγμένων αντισωμάτων και χρωμογόνου υποστρώματος. Συγκεκριμένα, η αρχή της μεθόδου έγκειται στην ειδική αλληλεπίδραση αντιγόνου-αντισώματος, και η συγκέντρωση του εξεταζόμενου μορίου προσδιορίζεται από την ποσότητα του έγχρωμου προϊόντος που παράγεται από την αντίδραση του αντιγόνου με το εκάστοτε αντίσωμα. Πρωτοπεριγράφηκε από τους Engvall και Perlman το 1971 και αναλόγως της εφαρμογής, τα αντιδραστήρια και την επιδιωκόμενη ευαισθησία εμφανίζεται σε πολλαπλές παραλλαγές, όπως Άμεση ανταγωνιστική/ Έμμεση ELISA, Antibody/ Double antibody- Sandwich ELISA, Άμεση/ Έμμεση κυτταρική ELISA. Σε όλες τις παραλλαγές της μεθόδου, τα βασικά στάδια διαμορφώνονται ως εξής:

- i. Πρόσδεση και ακινητοποίηση αντισώματος ή αντιγόνου σε στερεή επιφάνεια (Ανοσοπροσρόφηση, ImmunoSorbent), μέσω σχηματισμού χημικού δεσμού (προσκόλληση σε σφαιρίδια κυτταρίνης, αгарόζης ή πολυακρυλαμιδίου) ή μέσω φυσικής προσρόφησης με σχηματισμό υδρόφοβου δεσμού (προσρόφηση σε πλαστική επιφάνεια, όπως πλάκες μικροτιτλοδότησης).
- ii. Χρήση ενζυμο-συζευγμένου (Enzyme-Linked) αντισώματος για σχηματισμό ομοιοπολικού δεσμού μεταξύ ενζύμου-αντισώματος με άμεση (αλκαλική

- φωσφατάση (AP), β-γαλακτισιδάση (β-Gal)) ή έμμεση (ραφανική υπεροξειδάση (HRP)) δράση στο υπόστρωμα.
- iii. Επώαση και πλύση για απομάκρυνση των μη συζευγμένων αντιγόνων
 - iv. Χρήση χρωμογόνων υποστρωμάτων, τα οποία μετά από αντίδραση με το ένζυμο παράγουν διαλυτό έγχρωμο προϊόν (χρώμα ή φθορισμό). Η επιλογή του ζεύγους ενζύμου-υποστρώματος της χρωμογόνου αντίδρασης καθορίζει την ευαισθησία της δοκιμασίας.
 - v. Ανίχνευση και ποσοτικός προσδιορισμός του προϊόντος. Η μέτρησή του μπορεί να πραγματοποιηθεί με φωταύγεια, φθορισμομετρία ή χρωματομετρία.

Η παραλλαγή της *ELISA* τύπου *Sandwich* (**Εικόνα 15**) χαρακτηρίζεται από τη χρησιμοποίηση δύο διαφορετικών αντισωμάτων που αναγνωρίζουν διαφορετικούς επιτόπους του αντιγόνου. Το πρώτο αντίσωμα ακινητοποιείται στην στερεά επιφάνεια, 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 η προσθήκη του ενζυμο-συζευγμένου δευτέρου αντισώματος. Η ποσότητα του δευτέρου αντισώματος που θα προσδεθεί, άρα και ενζύμου, είναι ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου που έχει προσδεθεί στο πρώτο αντίσωμα. Στη συνέχεια, προστίθεται το κατάλληλο υπόστρωμα και μέσω ενζυμικής αντίδρασης ανιχνεύεται ποσότητα προϊόντος ανάλογη αυτής του αντιγόνου που έχει συνδεθεί με το ακινητοποιημένο αντίσωμα. Για την ποσοτικοποίηση των εξεταζόμενων δειγμάτων χρησιμοποιείται καμπύλη αναφοράς που γίνεται με διαδοχικές αραιώσεις διαλύματος αναφοράς του αντιγόνου, δηλαδή διαλύματος που περιέχει γνωστή συγκέντρωση του αντιγόνου, και τα αποτελέσματα μπορούν να εκφραστούν σε διεθνή μονάδα συγκέντρωσης (g/l ή υποδιαιρέσεις, π.χ. ng/ml, pg/ml).

Καθώς το προσδιοριζόμενο μόριο έχει δεσμευτεί μεταξύ δύο αντισωμάτων, αυτή η μέθοδος ονομάζεται *Sandwich ELISA* και εφαρμόζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό ορμονών, κυτταροκινών, ανοσοσφαιρινών και άλλων πρωτεϊνών σε βιολογικά υγρά και σε υπερκείμενα καλλιέργειών. Τα βασικά πλεονεκτήματά της έναντι των άλλων ανοσοδοκιμασιών είναι κυρίως η υψηλότερη ευαισθησία της και η επαναληψιμότητά της και η μη χρησιμοποίηση ραδιενέργειας, όπως στις μεθόδους RIA (Radioimmunoassay).



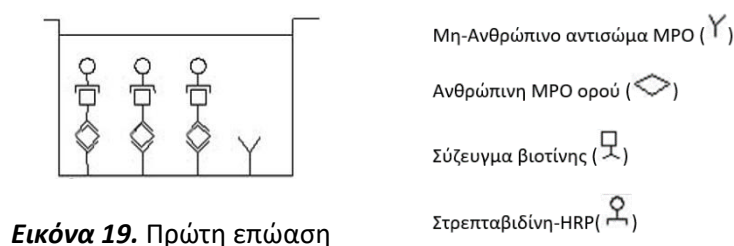
Εικόνα 18. Σχηματική απεικόνιση *ELISA* τύπου *Sandwich* (προσαρμογή από R.A. Goldsby, T.J. Kindt, B.A. Osborne, J. Kuby, Immunology)

4.4 Προσδιορισμός των επιπέδων MPO στον ορό

4.4.1. Αρχή της μεθόδου

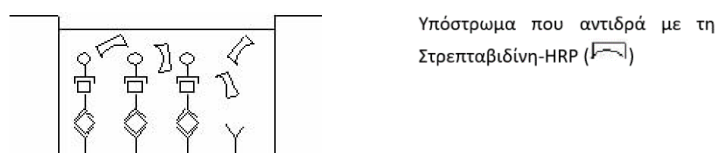
Ο προσδιορισμός των επιπέδων της MPO στον ορό του δείγματος βασίστηκε στη μέθοδο Sandwich ELISA και πραγματοποιήθηκε με το Human MPO Instant Kit της εταιρίας Invitrogen (ThermoFischer Scientific).

Ένα Μη-ανθρώπινο αντίσωμα έναντι της MPO προσκολλάται σε μικροβοθρία (microwells). Η ανθρώπινη MPO ορού στο δείγμα (sample) ή στο πρότυπο (standard), συνδέεται με τα προσκολλημένα αντισώματα. Το συζευγμένο με βιοτίνη μη-ανθρώπινο MPO αντίσωμα, συνδέεται με την ανθρώπινη MPO που με τη σειρά της είναι συνδεδεμένη με το πρώτο αντίσωμα. Η Στρεπταβιδίνη-HRP δεσμεύεται με το συζευγμένο με βιοτίνη, μη-ανθρώπινο αντίσωμα έναντι της MPO. Μετά από επώαση, τα αδέσμευτα συμπλέγματα απομακρύνονται κατά τη διάρκεια ενός σταδίου πλύσης (Εικόνα 19).



Εικόνα 19. Πρώτη επώαση

Έπειτα προστίθεται υπόστρωμα που αντιδρά με τη Στρεπταβιδίνη-HRP. Η ποσότητα του έγχρωμου προϊόντος που σχηματίζεται είναι ανάλογη με αυτήν της MPO που υπάρχει στον υπό εξέταση ορό (Εικόνα 20).



Εικόνα 20. Δεύτερη επώαση

Η αντίδραση τερματίζεται με από προσθήκη οξέος στο διάλυμα (Stop solution) και η απορρόφηση μετρείται στα 450 nm. Για τον προσδιορισμό της MPO δείγματος σχηματίζεται πρότυπη καμπύλη από 7 γνωστές αραιώσεις δειγμάτων ανθρώπινης MPO (Εικόνα 21).



Εικόνα 21. Τερματισμός αντίδρασης

4.4.2. Υλικά και εξοπλισμός

- ✓ Εξειδικευμένο Human MPO Instant ELISA Kit (ThermoFisher SCIENTIFIC) το οποίο περιλαμβάνει:
 - 1 θήκη αλουμινίου με πλάκα Microwell (12 λωρίδες, 8 μικροβοθρίων η καθεμία) επικαλυμμένη με μονοκλωνικό αντίσωμα ανθρώπινη MPO
 - Σύζευγμα βιοτίνης με μη-ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα MPO
 - Στρεπταβιδίνη-HRP
 - Διάλυμα αραιώσης δείγματος, λυοφιλιωμένο
 - 2 θήκες αλουμινίου με μια πρότυπη καμπύλη (έγχρωμη) για ανθρώπινη MPO
 - 1 Buffer πλύσης (25 mL)
 - 2 φιαλίδια (50 mL) με διάλυμα αραιώσης
 - 1 φιαλίδιο (15 mL) με διάλυμα υποστρώματος (τετραμεθυλ-βενζιδίνη)
 - 1 φιαλίδιο (15 mL) με διάλυμα τερματισμού αντίδρασης (1M Φωσφορικό οξύ)
 - 2 συγκολλητικές ταινίες
- ✓ Διαβαθμισμένες πιπέτες 5 mL και 10 mL
- ✓ Ρυθμιζόμενες μονοκάναλες μικροπιπέτες 5 μ L έως 1000 μ L με αναλώσιμα ρύγχη (tips)
- ✓ Ρυθμιζόμενες πολυκάναλες μικροπιπέτες (για όγκο μεταξύ 50 μ L και 500 μ L) με αναλώσιμα ρύγχη (tips)
- ✓ Δοχείο πολυκάναλων μικροπιπετών
- ✓ Ποτήρια, φιάλες, κύλινδροι απαραίτητοι για την προετοιμασία αντιδραστηρίων
- ✓ Συσκευή διαλύματος έκπλυσης
- ✓ Συσκευή ανάγνωσης ταινιών Microwell με δυνατότητα ανάγνωσης στα 450 nm (620 nm ως προαιρετικό μήκος κύματος αναφοράς)
- ✓ Απιονισμένο νερό
- ✓ Πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης αποτελεσμάτων

4.4.3. Πρωτόκολλο

1. Προετοιμασία δειγμάτων πριν την εκκίνηση της διαδικασίας. Αραίωση δειγμάτων ορού ή πλάσματος σε αναλογία 1:50 με διάλυμα αραιώσης σύμφωνα με το ακόλουθο σχήμα:
10 μ L δείγματος + 490 μ L διαλύματος αραιώσης
2. Προσδιορισμός του αριθμού των μικροβοθρίων που απαιτούνται, που ισοδυναμούν με το σύνολο των δειγμάτων, των τυφλών και των προτύπων εις διπλούν. Αφαίρεση των περισσευούμενων μικροβοθρίων και φύλαξη τους σε καλά σφραγισμένη θήκη αλουμινίου με ξηραντικό, στους -20°C. Τοποθέτηση των προτύπων διαλυμάτων στα μικροβοθρία με αρίθμηση από A1 / A2 έως H1 / H2 (Εικόνα 20).

3. Προσθήκη απεσταγμένου νερού στα βοθρία πρότυπων δειγμάτων και τυφλών.
4. Προσθήκη 100μL απιονισμένου νερού στα μικροβοθρία με τα δείγματα.

Πίνακας 4. Ενδεικτικά η οργάνωση τυφλών, προτύπων και δειγμάτων στα μικροβοθρία

	1	2	3	4
A	Standard 1 10,000 pg/mL	Standard 1 10,000 pg/mL	Sample 1	Sample 1
B	Standard 2 5000 pg/mL	Standard 2 5000 pg/mL	Sample 2	Sample 2
C	Standard 3 2500 pg/mL	Standard 3 2500 pg/mL	Sample 3	Sample 3
D	Standard 4 1250 pg/mL	Standard 4 1250 pg/mL	Sample 4	Sample 4
E	Standard 5 625 pg/mL	Standard 5 625 pg/mL	Sample 5	Sample 5
F	Standard 6 313 pg/mL	Standard 6 313 pg/mL	Sample 6	Sample 6
G	Standard 7 156 pg/mL	Standard 7 156 pg/mL	Sample 7	Sample 7
H	Blank	Blank	Sample 8	Sample 8

5. Προσθήκη 50 μL από κάθε 1:50 προ-αραιωμένο δείγμα, εις διπλούν, στα μικροβοθρία και ανάμειξη του περιεχομένου τους.
6. Κάλυψη με συγκολλητική ταινία και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (18 ° C έως 25 ° C) για 3 ώρες σε αναδευτήρα.
7. Αφαίρεση ταινίας και άδειασμα μικροβοθρίων. Έκπλυση μικροβοθρίων 3 φορές με περίπου 400 μL Buffer έκπλυσης ανά μικροβοθρίο και λεπτομερή αναρρόφηση του περιεχομένου τους μεταξύ των πλύσεων (παραμονή buffer εντός βοθρίων για 10-15 sec προ αναρρόφησης). Μετά την τελευταία πλύση, πραγματοποιείται απόθεση των λωρίδων των μικροβοθρίων σε απορροφητικό χαρτί, για απομάκρυνση περίσσειας buffer, για όχι περισσότερο από 15 λεπτά καθώς δεν πρέπει να στεγνώσουν τελείως τα μικροβοθρία.
8. Προσθήκη 100 μL υποστρώματος σε όλα τα μικροβοθρία, συμπεριλαμβανομένων των τυφλών.
9. Επώαση των λωρίδων των μικροβοθρίων σε θερμοκρασία δωματίου (18 ° C έως 25 ° C) για περίπου 10 λεπτά. Αποφυγή άμεσης έκθεσης σε έντονο φως. Η ανάπτυξη χρώματος στις λωρίδες θα πρέπει να παρακολουθείται και η αντίδραση του υποστρώματος θα πρέπει να τερματιστεί πριν το χρώμα πάψει να είναι αναγνώσιμο. Ο ορισμός της ιδανικής περιόδου για την χρωματική ανάπτυξη γίνεται εξατομικευμένα για κάθε δοκιμασία. Συνιστάται η προσθήκη του διαλύματος τερματισμού (Stop solution) όταν το Standard 1 έχει αναπτύξει ένα σκούρο μπλε χρώμα ή εναλλακτικά μόλις φθάσει σε απορρόφηση OD 0,9-0,95, στο φωτόμετρο ELISA.
10. Διακοπή ενζυμικής αντίδρασης με προσθήκη 100 μL διαλύματος τερματισμού σε κάθε μικροβοθρίο, συμπεριλαμβανομένων των τυφλών. Είναι σημαντικό να απλωθεί γρήγορα και ομοιόμορφα ώστε να αδρανοποιηθεί πλήρως το ένζυμο. Η ανάγνωση αποτελεσμάτων πραγματοποιείται άμεσα ή εντός μιας ώρας (με αποθήκευση σε σκοτεινό μέρος και σε θερμοκρασίες 2°C- 8°C).

11. Η ανάγνωση των απορροφήσεων κάθε μικροβοθρίου στο φασματοφωτόμετρο πραγματοποιείται σε κύριο μήκος κύματος 450 nm (προαιρετικά 620 nm ως μήκος κύματος αναφοράς, από 610 nm έως 650 nm είναι αποδεκτή). Το φασματοφωτόμετρο μηδενίζεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και χρησιμοποιώντας το τυφλό δείγμα. Καταγραφή των απορροφήσεων δειγμάτων και προτύπων.

4.5 Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS (Version 21, SPSS Corp. Chicago, IL, USA). Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπική απόκλιση, ενώ οι ποιοτικές ως απόλυτες τιμές (%). Πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικότητας με βάση το κριτήριο Shapiro-Wilk. Η σύγκριση των μέσων όρων πραγματοποιήθηκε με το Independent Samples t-test για τις παραμετρικές τιμές που ακολουθούσαν κανονική κατανομή και με το Mann-Whitney U test για όσες δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή. Για τον έλεγχο της συσχέτισης μεταξύ δυο ποσοτικών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε έλεγχος κατά Spearman. Για όσες παραμέτρους παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση εφαρμόστηκαν μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης και έγινε διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε σε 5% ($p=0,05$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι ΙΦΝΕ αποτελούν μια ομάδα χρόνιων φλεγμονωδών ασθενειών και διακρίνονται σε δύο κατηγορίες νόσων, την Ελκώδη Κολίτιδα (UC) και τη Νόσο Crohn (CD). Η αιτιολογία τους δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, καθώς σχετίζεται με έναν πολύπλοκο παθοφυσιολογικό μηχανισμό, που στηρίζεται στην αλληλεπίδραση γενετικών, ανοσολογικών, μικροβιολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων.

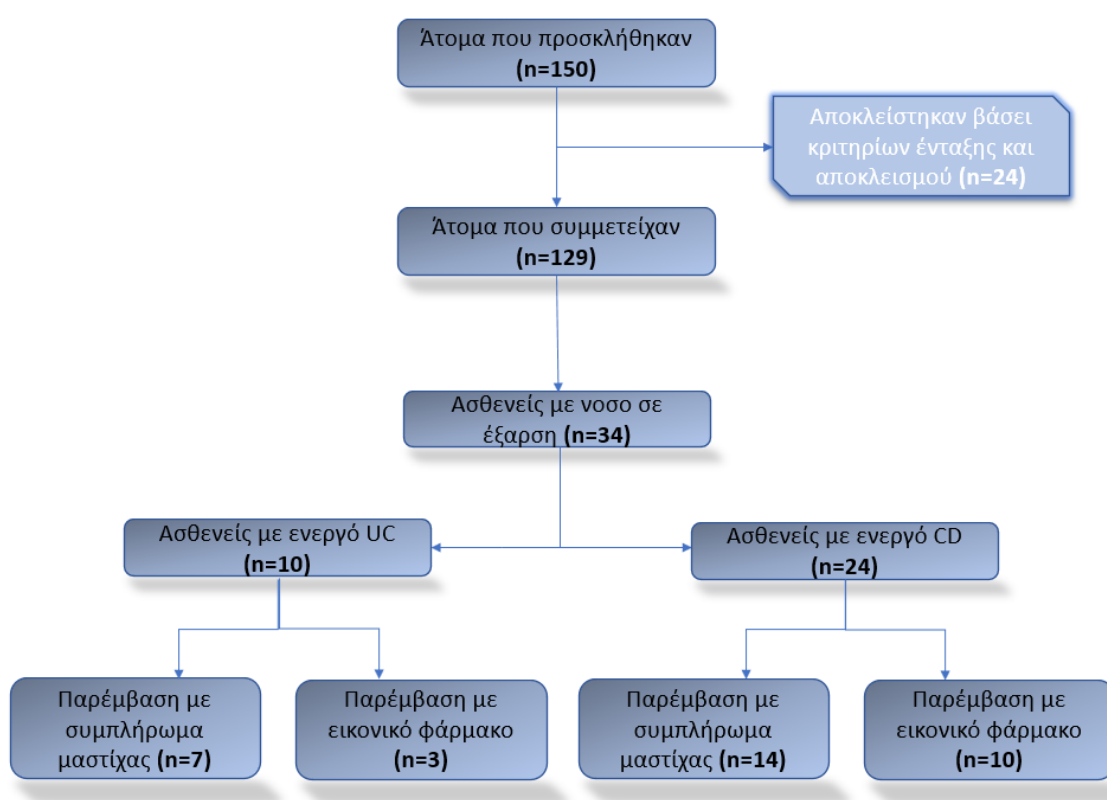
Ο αυξανόμενος επιπολασμός των ΙΦΝΕ σε συνδυασμό με την υποτροπιάζουσα φύση τους, επιβαρύνει τόσο μεμονωμένα τους ασθενείς, όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο ολόκληρο το σύστημα υγειονομικής περίθαλψης. Η ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια των SMDs, των φαρμάκων κατά της εντεγκρίνης και άλλων βιολογικών παραγόντων έφεραν την επανάσταση στη φαρμακευτική διαχείριση της νόσου και έχουν καταφέρει να μειώσουν τα ποσοστά χειρουργικών επεμβάσεων και να ανακουφίσουν ένα μεγάλο μέρος των ασθενών¹⁷. Παρ' όλα αυτά εξακολουθεί να μην υπάρχει κάποιο θεραπευτικό σχήμα που να είναι απολύτως ικανοποιητικό όσον αφορά στην αποτελεσματικότητά του, γεγονός που αντικατοπτρίζεται στα υψηλά ποσοστά των ασθενών που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία, ή χάνουν την απόκρισή τους σε αυτήν, καθώς και στο πλήθος παρενεργειών που φαίνεται να συνοδεύουν τις συμβατικές θεραπείες. Τα παραπάνω έχουν στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον στις πιθανές ευεργετικές ιδιότητες φυσικών προϊόντων, με πλήθος κλινικών μελετών να διερευνούν την επίδραση φυτοχημικών συστατικών, όπως πολυφαινόλων κ.α. στην εξέλιξη τόσο των ΙΦΝΕ, όσο και πλήθους άλλων χρόνιων παθήσεων²⁸.

Η μαστίχα, το ρητινώδες εξίδρωμα του δέντρου *Pistacia Lenticus* είναι πλούσιο σε συστατικά με αποδεδειγμένες αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες²⁹, ενώ όλο και περισσότερες έρευνες εξετάζουν την επίδρασή της κυρίως σε διαταραχές του γαστρεντερικού συστήματος και φλεγμονώδεις καταστάσεις. Οι μηχανισμοί που κρύβονται πίσω από την ευεργετική δράση της είναι υπό διερεύνηση, αλλά μελέτες εμπλέκουν τα συστατικά της σε μηχανισμούς αναστολής της ενεργοποίησης των ουδετερόφιλων¹³⁰, μείωσης έκφρασης του TNF- α ^{142,147}, έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-6, IL-8..) ^{146,161}, εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών¹⁶¹ και αναστολής του NF- κ B¹⁶².

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη μελέτη που εξετάζει την επίδραση της μαστίχας στα επίπεδα MPO του ορού. Η MPO, η λυσοσωματική πρωτεΐνη των αζουρόφιλων κοκκιοκυττάρων των ουδετερόφιλων, συμβάλλει με πολλαπλούς μηχανισμούς στη επαγωγή φλεγμονής, και στην πρόκληση χρόνιων φλεγμονωδών νοσημάτων. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια ως δείκτης ενεργότητας σε όλο και περισσότερα νοσήματα, μεταξύ των οποίων και οι ΙΦΝΕ. Έχει αποδειχθεί ότι άτομα που νοσούν, εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα της MPO των κοπράνων και του ορού, σε σχέση με τα υγιή άτομα. Στη μελέτη των Kruidenier και συν., παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων MPO στα φλεγμονώδη στρώματα των ασθενών με UC και αποδείχθηκε που σχετίστηκε με τη δραστηριότητα της MPO, προτείνοντας έναν μεσολαβούμενο μηχανισμό HO₂⁻ ή/και HOCl¹¹¹. Σε μελέτες που ακολούθησαν, τα επίπεδα της MPO εμφανίστηκαν αυξημένα τόσο σε ιστούς ασθενών με ΙΦΝΕ¹¹², όσο και στον ορό αυτών των ασθενών¹¹³, σε σχέση με υγιείς. Με βάση λοιπόν την παρούσα βιβλιογραφία, η πιθανή επίδραση της μαστίχας στην παρούσα μελέτη

μπορεί να επιβεβαιωθεί μέσω μέτρησης της MPO στον ορό των ασθενών του δείγματος, η οποία μπορεί να αποτελέσει δείκτη αποτελεσματικότητας της παρέμβασης.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μέρος της μελέτης IBD-GR στην οποία προσκλήθηκαν 150 άτομα, εκ των οποίων οι 24 αποκλείστηκαν επειδή δεν πληρούσαν τα κριτήρια, με αποτέλεσμα να συμμετάσχουν τελικά 129 ασθενείς. Στην παρούσα εργασία επιλέξαμε μέρος του δείγματος που είχε ενεργό νόσο και μετρήσαμε και αξιολογήσαμε τα επίπεδα της MPO των ατόμων αυτών, στα πλαίσια της παρέμβασης με μαστίχα. Το δείγμα διαμορφώθηκε στα 35 άτομα με ενεργό ΙΦΝΕ, 10 ασθενείς με ενεργό UC και 24 ασθενείς με ενεργό CD. Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα ροής, στο οποίο διακρίνονται οι ομάδες της παρέμβασης στο τελικό δείγμα (Εικόνα 22).



Εικόνα 22. Διάγραμμα ροής δείγματος μελέτης

Στους πίνακες που ακολουθούν αναγράφονται τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των ατόμων του δείγματος, κάποια δημογραφικά στοιχεία και στοιχεία σχετικά με τη νόσο (Πίνακας 5), καθώς και δείκτες φλεγμονής και οξείδωσης, όπως αυτοί μετρήθηκαν πριν την παρέμβαση (Πίνακας 6). Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας που λάμβανε εικονικό φάρμακο και της ομάδας που λάμβανε τη μαστίχα στο σύνολο των ασθενών με ΙΦΝΕ, αναφορικά με το ΔΜΣ, το IBDQ, και την πλειοψηφία των δεικτών που μετρήθηκαν. Εξαιρέση αποτελεί η ηλικία των ασθενών που παρουσίασε στατιστικά

σημαντική διαφορά ($p=0.011$) μεταξύ των δύο ομάδων, καθώς και τα επίπεδα οξειδωμένης LDL ($p=0,010$).

Πίνακας 5. Χαρακτηριστικά του δείγματος

	Συνολικό δείγμα (n=34)	Ομάδα Μαστίχας (n=21)	Ομάδα placebo (n=13)	p
Φύλο (Γυναίκες : Άνδρες)	15 : 19	7 : 14	8 : 5	
Ηλικία (έτη)				
Mean $\pm$ SD	41,4 $\pm$ 16,2	35,4 $\pm$ 11,5	50,9 $\pm$ 18,6	0,011*
<30	9	6	3	
30-50	16	13	3	
>50	9	2	7	
Οικογενειακή κατάσταση				
Παντρεμένος	19	10	9	
Ανύπαντρος-η	15	11	4	
Εκπαίδευση				
1-9	5	3	2	
10-12	7	6	1	
>12	22	12	10	
Κάπνισμα (N%)	13 (38,2%)	10	3	
ΔΜΣ (kg/m²)				
Mean $\pm$ SD	23,6 $\pm$ 4,4	23,4 $\pm$ 4,1	23,9 $\pm$ 5,0	0,818
<18,5	3	2	1	
18,5-24,9	19	12	7	
25-29,9	8	5	3	
>30	4	2	2	
Τύπος Νόσου				
UC	10	7	3	
CD	24	14	10	
Διάρκεια νόσου				
<10	17	12	5	
10-20	11	7	4	
>20	6	2	4	
Εντοπισμός νόσου				
Κόλον	6	4	2	
Ειλεό	10	5	5	
Ειλεό και Κόλον	9	5	4	
Άλλο	9	7	2	
IBDQ				
Mean $\pm$ SD	144,4 $\pm$ 28,2	146,2 $\pm$ 29,9	141,0 $\pm$ 25,9	0,536
HB				
Mean $\pm$ SD	7,5 $\pm$ 2,3	7,9 $\pm$ 2,5	7,0 $\pm$ 1,9	0,544
MAYO				
Mean $\pm$ SD	3,9 $\pm$ 1,3	3,4 $\pm$ 1,1	5,0 $\pm$ 1,0	0,562

Πίνακας 6. Επίπεδα δεικτών φλεγμονής και οξείδωσης στο συνολικό δείγμα και στις ομάδες παρέμβασης στην αρχή της παρέμβασης.

Παράμετρος	Συνολικό δείγμα (n=34) Mean ± SD	Ομάδα Μαστίχας (n=21) Mean ± SD	Ομάδα placebo (n=13) Mean ± SD	P
CRP (mg/L)	4,0 ± 4,2	5,9 ± 6,6	5,1 ± 6,2	0,317
IL-6_0 (pg/mL)	16,6 ± 17,6	13,7 ± 15,0	21,0 ± 20,6	0,212
IL-10_0 (pg/mL)	5,3 ± 1,7	5,6 ± 2,1	4,8 ± 0,9	0,496
IL-17_0 (pg/mL)	33,9 ± 40,7	35,1 ± 42,5	32,0 ± 39,7	0,359
FECAL DEFENSIN (ng/g)	28,5 ± 32,2	24,4 ± 31,1	32,2 ± 34,3	0,438
FECAL LYSOZYME (μg/g)	14,3 ± 12,5	17,6 ± 15,0	9,4 ± 3,9	0,083
FECAL LACTOFERRIN (μg/g)	103,7 ± 119,8	125,7 ± 131,6	72,5 ± 97,6	0,170
FECAL CALPROTECTIN (μg/g)	1356,9 ± 1275,1	1475,2 ± 1366,6	1174,9 ± 1148,5	0,377
oxLDL (U/L)_0	145,6 ± 53,1	167,8 ± 37,3	111,2 ± 57,0	0,010*
uric acid (mg/dL)_0	5,7 ± 5,1	5,8 ± 6,2	5,5 ± 2,7	0,697
<u>MPO (ng/mL)_0</u>	<u>93,8 ± 83,6</u>	<u>108,2 ± 100,7</u>	<u>70,5 ± 36,8</u>	<u>0,535</u>

Αξιολογώντας τα επίπεδα της MPO, που αποτελεί το δείκτη αναφοράς στην παρούσα έρευνα, στην αρχή της παρέμβασης, παρατηρούμε ότι δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων της παρέμβασης στο χρόνο 0, με μέσο όρο των επιπέδων στην ομάδα της μαστίχας και του εικονικού φαρμάκου να είναι $108,2 \pm 100,7$ και $70,5 \pm 36,8$ αντίστοιχα, με $p=0,635$. Επιπλέον, το γεγονός ότι η πλειοψηφία των μετρήσεων δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων της παρέμβασης υποδηλώνει την επιτυχημένη τυχαιοποίηση της μελέτης.

Στη συνέχεια, συγκρίθηκαν τα επίπεδα MPO μεταξύ των ανδρών και γυναικών της μελέτης, των ασθενών με UC και CD και των καπνιστών και μη καπνιστών συμμετεχόντων. Παρατηρούνται μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα MPO σε σχέση με το φύλο, και το κάπνισμα. Όσον αφορά στον τύπο της νόσου, τα επίπεδα MPO των ασθενών με UC ($63,6 \pm 60,7$) είναι χαμηλότερα από τα επίπεδα των ασθενών με CD ($106,3 \pm 89,6$), και η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,045$) (Πίνακας 7).

Πίνακας 7. Σύγκριση επιπέδων MPO πριν την παρέμβαση (baseline) στις επιμέρους κατηγορίες του δείγματος (βάσει φύλου, τύπου νόσου και καπνίσματος)

Παράμετρος	MPO (ng/mL)		Sig
	Mean ± SD		
Φύλο	Γυναίκες	Άνδρες	0,822
	88,4 ± 68,9	98,0 ± 95,3	
Τύπος Νόσου	UC	CD	

	63,6 ± 60,7	106,3 ± 89,6	0,045*
Κάπνισμα	Ναι	Όχι	
	63,4 ± 49,1	112,6 ± 95,5	0,099

Σε μελέτη των Høy και συν., οι τιμές των MPO σε υγιείς άνδρες και γυναίκες βρέθηκαν $49,7 \pm 27,6$ και $42,8 \pm 20,7^{163}$. Συγκρίνοντάς τις τιμές της MPO σε υγιείς, με τις τιμές των ασθενών στο δείγμα μας, είναι εμφανές ότι η MPO εμφανίζεται αυξημένη στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, γεγονός αναμενόμενο, που δικαιολογείται από την παρουσία φλεγμονής.

Στη συνέχεια, ακολούθησε έλεγχος συσχέτισης της MPO ορού (ng/mL) με διάφορες ποσοτικές μεταβλητές στο σύνολο των ασθενών με ΙΦΝΕ. Από το σύνολο των δεικτών που εξετάστηκαν, η καλπροτεκτίνη των κοπράνων φαίνεται να εμφανίζει στατιστικά σημαντική, και μέτριας ισχύος συσχέτιση με την MPO ορού ($p=0,011$) (Πίνακας 10).

Πίνακας 8. Συσχέτιση επιπέδων MPO με ανθρωπομετρικούς δείκτες και δείκτες σχετιζόμενους με τη νόσο.

Παράμετρος	MPO (ng/mL)	
	Correlation Coefficient	Sig
Ηλικία (έτη)	-0,179	0,311
ΔΜΣ (kg/m ²)	-0,110	0,534
Διάρκεια νόσου	0,129	0,466
IBDQ	0,081	0,664
HB	-0,041	0,850
MAYO	0,183	0,614

Πίνακας 9. Συσχέτιση επιπέδων MPO με βιοχημικούς δείκτες.

Παράμετρος	MPO (ng/mL)	
	Correlation Coefficient	Sig
AMYLASE (iu/L)	-0,340	0,061
CRP (mg/L)	0,308	0,082
FIBRINOGEN (mg/dL)	0,006	0,974
Fe (μg/dL)	-0,014	0,938
TOTAL BILIRUBIN (mg/dL)	0,212	0,252
DIRECT BILIRUBIN (mg/dL)	0,203	0,272
GLUCOSE (mg/dL)	-0,347	0,052

UREA (mg/dL)	0,012	0,947
TOTAL CHOL (mg/dL)	-0,280	0,121
HDL (mg/dL)	0,137	0,456
LDL (mg/dL)	-0,194	0,286
TRIGLYCERIDES (mg/dL)	-0,311	0,083
ALBUMIN (g/dL)	0,00	1,000
SGOT/AST (iu/L)	-0,013	0,943
SGPT/ALT (iu/L)	0,046	0,805
γ-GT (iu/L)	0,118	0,519
ALKALINE PHOSPHATASE (iu/L)	-0,120	0,514
LACTATE DEHYDROGENASE (U/L)	0,253	0,170

Πίνακας 10. Συσχέτιση επιπέδων MPO με δείκτες φλεγμονής (ορού και κοπράνων).

Παράμετρος	MPO (ng/mL)	
	Correlation Coefficient	Sig
IL-6_0 (pg/mL)	0,196	0,282
IL-10_0 (pg/mL)	-0,121	0,517
IL-17_0 (pg/mL)	-0,047	0,814
FECAL DEFENSIN (ng/g)	-0,273	0,230
FECAL LYSOZYME (μg/g)	0,234	0,190
FECAL LACTOFERRIN (μg/g)	0,358	0,056
FECAL CALPROTECTIN (μg/g)	0,439	0,011*

Πίνακας 11. Συσχέτιση επιπέδων MPO με δείκτες οξειδωσης.

Παράμετρος	MPO (ng/mL)	
	Correlation Coefficient	Sig
Lagtime (s) [245]_0	0,030	0,867
oxLDL (U/L)_0	-0,023	0,908
uric acid (mg/dL)_0	0,019	0,919

Η καλπροτεκτίνη κοπράνων αποτελεί έως σήμερα έναν από τους σημαντικότερους βιοδείκτες ενεργότητας των ΙΦΝΕ, και κατ' επέκταση τα επίπεδά της είναι ενδεικτικά της

πορείας της νόσου¹⁴. Χρησιμοποιείται ευρέως στην παιδιατρική, αλλά και σε ενήλικες με ΙΦΝΕ φαίνεται να αντικατοπτρίζει καλύτερα από τη CRP την κλινική δραστηριότητα, αφού φαίνεται να σχετίζεται με το βαθμό της φλεγμονής και την επούλωση του βλενογόννου. Σε μελέτη των Sugí και συν., φαίνεται η αποτελεσματικότητα δεικτών των κοπράνων, όπως της λακτοφερρίνης, της ουδετεροφιλικής ελαστάσης, της μυελοϋπεροξειδάσης και της λυσοζύμης, στην αξιολόγηση της δραστηριότητας της νόσου¹¹⁰. Συνεπώς, η θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο δεικτών ισχυροποιεί την αξιοπιστία της MPO στον ορό, ως δείκτη ενεργότητας στις ΙΦΝΕ. Αυτό είναι σημαντικό, αφού η έγκαιρη και ακριβής διάγνωση των ΙΦΝΕ είναι ζωτικής σημασίας για την καλύτερη έκβαση της νόσου, και τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Δεν υπάρχει όμως έως και σήμερα κάποιος διαγνωστικός βιοδείκτης ορού ή κοπράνων, που να αποτελεί από μόνος του gold- standard εργαλείο κλινικής αξιολόγησης της νόσου.

Στη συνέχεια, ακολούθησε σύγκριση των επιπέδων της MPO πριν την παρέμβαση (baseline) και έπειτα από 3 μήνες (follow up), σε κάθε ομάδα παρέμβασης ξεχωριστά, και σύγκριση των επιπέδων μετά την παρέμβαση μεταξύ των ομάδων, λαμβάνοντας υπόψη τα αρχικά της επίπεδα στο χρόνο 0 (Πίνακας 12). Η μεταβολή των επιπέδων MPO είναι στατιστικά σημαντική και στις δύο ομάδες (μαστίχα και placebo, $p=0,001$ και $p=0,046$ αντίστοιχα). Συγκρίνοντας τις δύο ομάδες της παρέμβασης και λαμβάνοντας υπόψη τα επίπεδα της MPO στην αρχή της παρέμβασης, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στις μεταβολές των επιπέδων MPO μεταξύ της ομάδας που έλαβε τη μαστίχα και της ομάδας που έλαβε το placebo ($p=0,793$).

Πίνακας 12. Αξιολόγηση επιπέδων MPO στο χρόνο 0 (baseline) και στο χρόνο 3 (follow-up), στην ομάδα της παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου.

	Μαστίχα			Placebo			Μαστίχα VS placebo
	Mean $\pm$ SD		Sig	Mean $\pm$ SD		Sig	Sig
	Time 0	Time 3		Time 0	Time 3		
MPO (ng/mL)	108,2 $\pm$ 100,7	26,9 $\pm$ 35,3	0,001*	70,5 $\pm$ 36,7	28,3 $\pm$ 43,7	0,046*	0,793

Παρόμοια ανάλυση πραγματοποιήθηκε και μεταξύ ασθενών με CD και UC, γυναικών και ανδρών (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. Αξιολόγηση επιπέδων MPO ανάλογα με τον τύπο της νόσου και το φύλο στο χρόνο 0 (baseline) και στο χρόνο 3 (follow-up), στην ομάδα της παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου.

	Μαστίχα			Placebo			Μαστίχα VS placebo
	Mean $\pm$ SD		Sig	Mean $\pm$ SD		Sig	Sig
	Time 0	Time 3		Time 0	Time 3		
CD	133,2 $\pm$ 106,7	35,0 $\pm$ 41,0	0,004*	68,67 $\pm$ 36,8	34,5 $\pm$ 48,6	0,174	0,961

Τύπος νόσου	UC	58,0 ± 69,0	10,8 ± 8,1	0,097	76,6 ± 44,0	7,7 ± 5,8	0,138	0,423
Φύλο	Γυναίκες	108,6 ± 94,8	25,3 ± 29,5	0,058	70,7 ± 32,0	15,0 ± 24,6	0,014*	0,522
	Άνδρες	108,0 ± 107,1	27,7 ± 38,9	0,010*	70,2 ± 47,5	49,8 ± 61,2	0,655	0,316

Σημειώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων MPO των ασθενών με CD που ανήκαν στην ομάδα της μαστίχας ($p=0,004$), των ανδρών που ανήκαν στην ομάδα της μαστίχας ($p=0,010$) και των γυναικών που ανήκαν στην ομάδα placebo ($p=0,014$). Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων της παρέμβασης έδειξε μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα βάσει του τύπου της νόσου και του φύλου.

Ο ρόλος της MPO ως μεσολαβητή φλεγμονωδών διαδικασιών στον ανθρώπινο οργανισμό, μέσω παραγωγής δραστικών ενδιαμέσων, συμμετοχής της στα Nets, υπεροξείδωσης των λιπαρών οξέων και των λιποπρωτεϊνών κ.α, είναι αποδεδειγμένος και αδιαμφισβήτητος. Η ευεργετική δράση της μαστίχας είναι επίσης επιστημονικά εγκαθιδρυμένη, με πλήθος μελετών να έχουν συνδέσει συγκεκριμένα συστατικά της με αντιοξειδωτικές δράσεις έναντι των επιβλαβών δραστικών ενδιαμέσων και αντιφλεγμονώδεις δράσεις μέσω συμμετοχής τους στην αναστολή προφλεγμονωδών μονοπατιών. Συνεπώς, τα αποτελέσματα που προέκυψαν έπειτα από σύγκριση των μεταβολών της MPO στις δύο ομάδες της παρέμβασης και σε σχέση με τα αρχικά επίπεδα της στην αρχή της παρέμβασης ήταν μη αναμενόμενα, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στο σχετικά μικρό μέγεθος του δείγματος.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, μπορούν να θεωρηθούν αρκετά αξιόπιστα λόγω της ευαίσθητης μεθόδου που εφαρμόστηκε, αν και το δείγμα ήταν περιορισμένο. Οι συμμετέχοντες επιλέχθηκαν με αυστηρό τρόπο σύμφωνα με πολλά κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού. Όπως έχει φανεί από μελέτες της Καλιώρα και της ομάδας της, η μαστίχα έχει επιβεβαιωμένη θετική επίδραση στην εξέλιξη των ΙΦΝΕ, που φαίνεται από μετρήσεις σε δείκτες κοπράνων¹⁴⁸, στα επίπεδα ελεύθερων αμινοξέων¹⁴⁹ και σε άλλους δείκτες ενεργότητας^{146,147,161,162}. Απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για τη διερεύνηση της επίδρασης της μαστίχας και σε άλλους δείκτες φλεγμονής, όπως η MPO, και για την αξιολόγηση της συσχέτισης της MPO ορού με τις ΙΦΝΕ όσο και της πιθανής χρήσης της ως βιοδείκτη. Προς το παρόν, δεν μπορούν να εξαχθούν απόλυτα συμπεράσματα. Σε κάθε περίπτωση, η μαστίχα αποτελεί αδιαμφισβήτητα μια σημαντική εναλλακτική στο κεφάλαιο διαχείρισης των ΙΦΝΕ, και αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω η θέση της στην θεραπεία χρόνιων νόσων, ώστε να μπορέσει να συμπεριληφθεί στην κλινική πρακτική, και να αξιοποιηθούν τα πολλαπλά ευεργετικά οφέλη που έχει να προσφέρει για την ανθρώπινη υγεία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gramlich T, Petras RE. Pathology of inflammatory bowel disease. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2007;16(3):154-163. doi:10.1053/j.sempedsurg.2007.04.005
2. Clarke K, Chintanaboina J. Allergic and Immunologic Perspectives of Inflammatory Bowel Disease. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 2019;57(2):179-193. doi:10.1007/s12016-018-8690-3
3. Malik TA. Inflammatory Bowel Disease. *Surgical Clinics of North America*. 2015;95(6):1105-1122. doi:10.1016/j.suc.2015.07.006
4. Wilks S. *Morbid Appearances in the Intestine of Miss Bankes*. London Medical Gazette; 1859.
5. Wilks S, Moxon W. *Lectures on Pathological Anatomy*. 2nd Ed. Philadelphia Lindsay and Blakiston 1875.
6. Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12(12):720-727. doi:10.1038/nrgastro.2015.150
7. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, et al. Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review. *Gastroenterology*. 2012;142(1):46-54.e42. doi:10.1053/j.gastro.2011.10.001
8. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*. 2017;390(10114):2769-2778. doi:10.1016/S0140-6736(17)32448-0
9. Bernstein CN, Eliakim A, Fedail S, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Inflammatory Bowel Disease: Update August 2015. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2016;50(10):803-818. doi:10.1097/MCG.0000000000000660
10. Ott C, Schölmerich J. Extraintestinal manifestations and complications in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(10):585-595. doi:10.1038/nrgastro.2013.117
11. Lamb CA, Kennedy NA, Raine T, et al. British Society of Gastroenterology consensus guidelines on the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut*. 2019;68(Suppl 3):s1-s106. doi:10.1136/gutjnl-2019-318484
12. Walsh AJ, Bryant RV, Travis SPL. Current best practice for disease activity assessment in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(10):567-579. doi:10.1038/nrgastro.2016.128
13. Sturm A, Maaser C, Calabrese E, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in Inflammatory Bowel Disease. Published online 2018:48.
14. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2019;13(2):144-164K. doi:10.1093/ecco-jcc/jjy113

15. Sales-Campos H, Basso PJ, Alves VBF, et al. Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48(2):96-107. doi:10.1590/1414-431x20143774
16. Hvas CL, Bendix M, Dige A, Dahlerup JF, Agnholt J. Current, experimental, and future treatments in inflammatory bowel disease: a clinical review. *Immunopharmacology and Immunotoxicology.* 2018;40(6):446-460. doi:10.1080/08923973.2018.1469144
17. Hazel K, O'Connor A. Emerging treatments for inflammatory bowel disease. *Therapeutic Advances in Chronic Disease.* 2020;11:204062231989929. doi:10.1177/2040622319899297
18. Massironi S, Rossi RE, Cavalcoli FA, Della Valle S, Fraquelli M, Conte D. Nutritional deficiencies in inflammatory bowel disease: Therapeutic approaches. *Clinical Nutrition.* 2013;32(6):904-910. doi:10.1016/j.clnu.2013.03.020
19. Forbes A, Escher J, Hébuterne X, et al. ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. *Clinical Nutrition.* 2017;36(2):321-347. doi:10.1016/j.clnu.2016.12.027
20. Wędrychowicz A. Advances in nutritional therapy in inflammatory bowel diseases: Review. *WJG.* 2016;22(3):1045. doi:10.3748/wjg.v22.i3.1045
21. Hartman C, Eliakim R, Shamir R. Nutritional status and nutritional therapy in inflammatory bowel diseases. *WJG.* 2009;15(21):2570. doi:10.3748/wjg.15.2570
22. Bryant RV, Trott MJ, Bartholomeusz FD, Andrews JM. (2013) Systematic review: body composition in adults with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther,* 38(3):213-22.
23. Schreiner P, Martinho-Grueber M, Studerus D, Vavricka SR, Tilg H, Biedermann L. Nutrition in Inflammatory Bowel Disease. *Digestion.* Published online January 10, 2020:1-16. doi:10.1159/000505368
24. Li S, Ney M, Eslamparast T, et al. Systematic review of nutrition screening and assessment in inflammatory bowel disease. *WJG.* 2019;25(28):3823-3837. doi:10.3748/wjg.v25.i28.3823
25. Levine A, Rhodes JM, Lindsay JO, et al. Dietary Guidance From the International Organization for the Study of Inflammatory Bowel Diseases. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2020;18(6):1381-1392. doi:10.1016/j.cgh.2020.01.046
26. Haskey N, Gibson D. An Examination of Diet for the Maintenance of Remission in Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients.* 2017;9(3):259. doi:10.3390/nu9030259
27. Brown AC, Rampertab SD, Mullin GE. Existing dietary guidelines for Crohn's disease and ulcerative colitis. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology.* 2011;5(3):411-425. doi:10.1586/egh.11.29
28. Yeshi K, Ruscher R, Hunter L, Daly NL, Loukas A, Wangchuk P. Revisiting Inflammatory Bowel Disease: Pathology, Treatments, Challenges and Emerging Therapeutics Including Drug Leads from Natural Products. *JCM.* 2020;9(5):1273. doi:10.3390/jcm9051273

29. Triantafyllidi A, Xanthos T, Papalois A, Triantafyllidis JK. Herbal and plant therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Annals of Gastroenterology*.:11.
30. Sartor RB. Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2006;3(7):390-407. doi:10.1038/ncpgasthep0528
31. Ramos GP, Papadakis KA. Mechanisms of Disease: Inflammatory Bowel Diseases. *Mayo Clinic Proceedings*. 2019;94(1):155-165. doi:10.1016/j.mayocp.2018.09.013
32. Solà Tapias N, Vergnolle N, Denadai-Souza Alexandre, Barreau F. The interplay between genetic risk factors and proteolytic dysregulation in the pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*. Published online February 22, 2020:jjaa033. doi:10.1093/ecco-jcc/jjaa033
33. Zhang Y-Z. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *WJG*. 2014;20(1):91. doi:10.3748/wjg.v20.i1.91
34. Tian T, Wang Z, Zhang J. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:1-18. doi:10.1155/2017/4535194
35. Fujino S. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2003;52(1):65-70. doi:10.1136/gut.52.1.65
36. Biancheri P, Pender SL, Ammoscato F, et al. The role of interleukin 17 in Crohn's disease-associated intestinal fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2013;6(1):13. doi:10.1186/1755-1536-6-13
37. Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD, et al. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat Genet*. 2007;39(5):596-604. doi:10.1038/ng2032
38. Anderson CA, Boucher G, Lees CW, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet*. 2011;43(3):246-252. doi:10.1038/ng.764
39. 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(8):1152-1167. doi:10.1136/gut.2008.163667
40. Kaser A, Martínez-Naves E, Blumberg RS. Endoplasmic reticulum stress: implications for inflammatory bowel disease pathogenesis: *Current Opinion in Gastroenterology*. 2010;26(4):318-326. doi:10.1097/MOG.0b013e32833a9ff1
41. Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. *Surgical Clinics of North America*. 2019;99(6):1051-1062. doi:10.1016/j.suc.2019.08.001
42. Rizzello F, Spisni E, Giovanardi E, et al. Implications of the Westernized Diet in the Onset and Progression of IBD. *Nutrients*. 2019;11(5):1033. doi:10.3390/nu11051033
43. Khalili H, Chan SSM, Lochhead P, Ananthakrishnan AN, Hart AR, Chan AT. The role of diet in the aetiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(9):525-535. doi:10.1038/s41575-018-0022-9

44. Chan SSM, Luben R, van Schaik F, et al. Carbohydrate Intake in the Etiology of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis: *Inflammatory Bowel Diseases*. 2014;20(11):2013-2021. doi:10.1097/MIB.0000000000000168
45. Khalili H, Hakansson N, Chan SS, et al. No Association Between Consumption of Sweetened Beverages and Risk of Later-Onset Crohn's Disease or Ulcerative Colitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2019;17(1):123-129. doi:10.1016/j.cgh.2018.04.059
46. Wang F, Feng J, Gao Q, et al. Carbohydrate and protein intake and risk of ulcerative colitis: Systematic review and dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Clinical Nutrition*. 2017;36(5):1259-1265. doi:10.1016/j.clnu.2016.10.009
47. Schreiner P, Martinho-Grueber M, Studerus D, Vavricka SR, Tilg H, Biedermann L. Nutrition in Inflammatory Bowel Disease. *Digestion*. Published online January 10, 2020;1-16. doi:10.1159/000505368
48. Riboli E, Hunt K, Slimani N, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public Health Nutr*. 2002;5(6b):1113-1124. doi:10.1079/PHN2002394
49. Colditz GA, Manson JE, Hankinson SE. The Nurses' Health Study: 20-Year Contribution to the Understanding of Health Among Women. *Journal of Women's Health*. 1997;6(1):49-62. doi:10.1089/jwh.1997.6.49
50. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, et al. A Prospective Study of Long-term Intake of Dietary Fiber and Risk of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. 2013;145(5):970-977. doi:10.1053/j.gastro.2013.07.050
51. Liu X, Wu Y, Li F, Zhang D. Dietary fiber intake reduces risk of inflammatory bowel disease: result from a meta-analysis. *Nutrition Research*. 2015;35(9):753-758. doi:10.1016/j.nutres.2015.05.021
52. Shoda R, Matsueda K, Yamato S, Umeda N. Epidemiologic analysis of Crohn disease in Japan: increased dietary intake of n-6 polyunsaturated fatty acids and animal protein relates to the increased incidence of Crohn disease in Japan. *Am J Clin Nutr*. 1996 May; 63(5): 741-5.
53. Hou JK, Abraham B, El-Serag H. Dietary Intake and Risk of Developing Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review of the Literature: *American Journal of Gastroenterology*. 2011;106(4):563-573. doi:10.1038/ajg.2011.44
54. Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong, China, These authors contributed to this work equally, Ge J, et al. Meat intake and risk of inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *Turk J Gastroenterol*. 2020;26(6):492-497. doi:10.5152/tjg.2015.0106
55. Jantchou P, Morois S, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Carbonnel F. Animal Protein Intake and Risk of Inflammatory Bowel Disease: The E3N Prospective Study: *American Journal of Gastroenterology*. 2010;105(10):2195-2201. doi:10.1038/ajg.2010.192

56. Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, Nikolopoulos GK, Lytras T, Bonovas S. Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Diseases: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Gastroenterology*. 2019;157(3):647-659.e4. doi:10.1053/j.gastro.2019.04.016
57. Reddavid R, Rotolo O, Caruso MG, et al. The role of diet in the prevention and treatment of Inflammatory Bowel Diseases. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*. 2018;89(9-S):60-75. doi:10.23750/abm.v89i9-S.7952
58. The IBD in EPIC Study Investigators. Linoleic acid, a dietary n-6 polyunsaturated fatty acid, and the aetiology of ulcerative colitis: a nested case-control study within a European prospective cohort study. *Gut*. 2009;58(12):1606-1611. doi:10.1136/gut.2008.169078
59. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Higuchi LM, et al. Higher Predicted Vitamin D Status Is Associated With Reduced Risk of Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2012;142(3):482-489. doi:10.1053/j.gastro.2011.11.040
60. Vedamurthy A, Ananthakrishnan AN. Influence of Environmental Factors in the Development and Outcomes of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2019;15(2):72–82.
61. Mak WY, Zhao M, Ng SC, Burisch J. The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets west. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2020;35(3):380-389. doi:10.1111/jgh.14872
62. Azad M, Konya T, Persaud R, et al. Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. *BJOG: Int J Obstet Gy*. 2016;123(6):983-993. doi:10.1111/1471-0528.13601
63. Penders J, Thijs C, van den Brandt PA, et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut*. 2007;56(5):661-667. doi:10.1136/gut.2006.100164
64. Xu L, Lochhead P, Ko Y, Claggett B, Leong RW, Ananthakrishnan AN. Systematic review with meta-analysis: breastfeeding and the risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;46(9):780-789. doi:10.1111/apt.14291
65. Khalili H, Ananthakrishnan AN, Konijeti GG, et al. Measures of Obesity and Risk of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis: *Inflammatory Bowel Diseases*. 2015;21(2):361-368. doi:10.1097/MIB.0000000000000283
66. Harpsøe MC, Basit S, Andersson M, et al. Body mass index and risk of autoimmune diseases: a study within the Danish National Birth Cohort. *International Journal of Epidemiology*. 2014;43(3):843-855. doi:10.1093/ije/dyu045
67. Jensen CB, Ängquist LH, Mendall MA, Sørensen TIA, Baker JL, Jess T. Childhood body mass index and risk of inflammatory bowel disease in adulthood: a population-based cohort study: *American Journal of Gastroenterology*. 2018;113(5):694-701. doi:10.1038/s41395-018-0031-x

68. Rahmani J, Kord-Varkaneh H, Hekmatdoost A, et al. Body mass index and risk of inflammatory bowel disease: A systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies of over a million participants. *Obesity Reviews*. 2019;20(9):1312-1320. doi:10.1111/obr.12875
69. Bilski J, Mazur-Bialy A, Wojcik D, et al. Role of Obesity, Mesenteric Adipose Tissue, and Adipokines in Inflammatory Bowel Diseases. *Biomolecules*. 2019;9(12):780. doi:10.3390/biom9120780
70. Frolkis AD, Vallerand IA, Shaheen A-A, et al. Depression increases the risk of inflammatory bowel disease, which may be mitigated by the use of antidepressants in the treatment of depression. *Gut*. 2019;68(9):1606-1612. doi:10.1136/gutjnl-2018-317182
71. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Pan A, et al. Association Between Depressive Symptoms and Incidence of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis: Results From the Nurses' Health Study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2013;11(1):57-62. doi:10.1016/j.cgh.2012.08.032
72. Li J, Norgard B, Precht DH, Olsen J. Psychological Stress and Inflammatory Bowel Disease: A Follow-up Study in Parents Who Lost a Child in Denmark. *Am J Gastroenterology*. 2004;99(6):1129-1133. doi:10.1111/j.1572-0241.2004.04155.x
73. McComb S, Thiriot A, Akache B, Krishnan L, Stark F. Introduction to the Immune System. In: Fulton KM, Twine SM, eds. *Immunoproteomics*. Vol 2024. Methods in Molecular Biology. Springer New York; 2019:1-24. doi:10.1007/978-1-4939-9597-4_1
74. Huang Y, Chen Z. Inflammatory bowel disease related innate immunity and adaptive immunity. :8.
75. Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Di Sabatino A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity Reviews*. 2014;13(1):3-10. doi:10.1016/j.autrev.2013.06.004
76. Siegmund B, Zeitz M. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2011;17(27):3178–3183. doi:10.3748/wjg.v17.i27.3178.
77. Clark R, Kupper T. Old Meets New: The Interaction Between Innate and Adaptive Immunity. *Journal of Investigative Dermatology*. 2005;125(4):629-637. doi:10.1111/j.0022-202X.2005.23856.x
78. Perl A. Pathogenesis and Spectrum of Autoimmunity. In: Perl A, ed. *Autoimmunity*. Vol 900. Methods in Molecular Biology. Humana Press; 2012:1-9. doi:10.1007/978-1-60761-720-4_1
79. Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(5):329-342. doi:10.1038/nri3661
80. Grip O, Janciauskiene S, Lindgren S. Circulating Monocytes and Plasma Inflammatory Biomarkers in Active Crohn's Disease: Elevated Oxidized Low-density Lipoprotein and the Anti-inflammatory Effect of Atorvastatin. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2004;10(3):193-200. doi:10.1097/00054725-200405000-00003

81. Piechota-Polanczyk A, Fichna J. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2014;387(7):605-620. doi:10.1007/s00210-014-0985-1
82. Gross V, Andus T, Caesar I, Roth M, Schölmerich J. Evidence for continuous stimulation of interleukin-6 production in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1992;102(2):514-519. doi:10.1016/0016-5085(92)90098-J
83. Daig R, Andus T, Aschenbrenner E, Falk W, Scholmerich J, Gross V. Increased interleukin 8 expression in the colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 1996;38(2):216-222. doi:10.1136/gut.38.2.216
84. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense: *World Allergy Organization Journal*. 2012;5(1):9-19. doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613
85. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:1-32. doi:10.1155/2017/6501046
86. Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, et al. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:1-15. doi:10.1155/2016/5276130
87. 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). doi:10.1515/cclm-2011-0817
88. Szczeklik K, Krzyściak W, Cibor D, et al. Markers of lipid peroxidation and antioxidant status in the serum and saliva of patients with active Crohn disease. *POLISH ARCHIVES OF INTERNAL MEDICINE*.:9.
89. Expression of nitric oxide synthases and formation of nitrotyrosine and reactive oxygen species in inflammatory bowel disease. *J Pathol*. Published online 1998:6.
90. Yasukawa K, Tokuda H, Tun X, Utsumi H, Yamada K. The detrimental effect of nitric oxide on tissue is associated with inflammatory events in the vascular endothelium and neutrophils in mice with dextran sodium sulfate-induced colitis. *Free Radical Research*. 2012;46(12):1427-1436. doi:10.3109/10715762.2012.732698
91. Singer I, Kawka D, Scott S, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1996;111(4):871-885. doi:10.1016/S0016-5085(96)70055-0
92. Sklyarov AY, Panasyuk NB, Fomenko IS. ROLE OF NITRIC OXIDE-SYNTHASE AND CYCLOOXYGENASE/LIPOOXYGENASE SYSTEMS IN DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL ULCERATIVE COLITIS. :9.
93. Rachmilewitz D, Stamler JS, Bachwicz D, Karmeli F, Ackerman Z, Podolsky DK. Enhanced colonic nitric oxide generation and nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease. :7.

94. Balmus I, Ciobica A, Trifan A, Stanciu C. The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in Inflammatory Bowel Disease: Clinical aspects and animal models. *Saudi J Gastroenterol*. 2016;22(1):3. doi:10.4103/1319-3767.173753
95. Maor I, Rainis T, Lanir A, Lavy A. Oxidative Stress, Inflammation and Neutrophil Superoxide Release in Patients with Crohn's Disease: Distinction Between Active and Non-active Disease. *Dig Dis Sci*. 2008;53(8):2208-2214. doi:10.1007/s10620-007-0141-6
96. Geerling BJ, Badart-Smook A, Stockbrügger RW, Brummer RJ. Comprehensive nutritional status in patients with long-standing Crohn disease currently in remission. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1998;67(5):919-926. doi:10.1093/ajcn/67.5.919
97. Pereira C, Coelho R, Grácio D, et al. DNA Damage and Oxidative DNA Damage in Inflammatory Bowel Disease. *ECCOJC*. 2016;10(11):1316-1323. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw088
98. Koutroubakis IE, Malliaraki N, Dimoulis PD, Karmiris K, Castanas E, Kouroumalis EA. Decreased Total and Corrected Antioxidant Capacity in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci*. 2004;49(9):1433-1437. doi:10.1023/B:DDAS.0000042242.22898.d9
99. Yuksel M, Ates I, Kaplan M, et al. Is Oxidative Stress Associated with Activation and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease? *Journal of Medical Biochemistry*. 2017;36(4):341-348. doi:10.1515/jomb-2017-0013
100. Katerji M, Filippova M, Duerksen-Hughes P. Approaches and Methods to Measure Oxidative Stress in Clinical Samples: Research Applications in the Cancer Field. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019:1-29. doi:10.1155/2019/1279250
101. Ndrepepa G. Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*. 2019;493:36-51. doi:10.1016/j.cca.2019.02.022
102. Strzepa A, Pritchard KA, Dittel BN. Myeloperoxidase: A new player in autoimmunity. *Cellular Immunology*. 2017;317:1-8. doi:10.1016/j.cellimm.2017.05.002
103. Khan A, Alsahli M, Rahmani A. Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. *Medical Sciences*. 2018;6(2):33. doi:10.3390/medsci6020033
104. Lau D, Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*. 2006;111(1):16-26. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.06.023
105. Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönermarck U, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med*. 2009;15(6):623-625. doi:10.1038/nm.1959
106. Lei L, Li X, Yuan Y, et al. Inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 attenuates 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis via repressing toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*. Published online May 12, 2020:kjm2.12225. doi:10.1002/kjm2.12225

107. Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, et al. Protection by *Ziziphora clinopoides* of acetic acid-induced toxic bowel inflammation through reduction of cellular lipid peroxidation and myeloperoxidase activity. *Hum Exp Toxicol*. 2006;25(6):325-332. doi:10.1191/0960327105ht626oa
108. Ghazanfari G, Minaie B, Yasa N, et al. Biochemical and Histopathological Evidences for Beneficial Effects of *Satureja Khuzestanica Jamzad* Essential Oil on the Mouse Model of Inflammatory Bowel Diseases. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2006;16(7):365-372. doi:10.1080/15376520600620125
109. Motavallian-Naeini A, Minaiyan M, Rabbani M, Mahzuni P. ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF ONDANSETRON THROUGH 5-HT₃ RECEPTORS ON TNBS-INDUCED COLITIS IN RAT. *EXCLI Journal*. Published online 2012:15.
110. Sugi K, Saitoh O, Hirata I, Katsu K. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am J Gastroenterol*. 1996;91(5):927-934.
111. Kruidenier L, Kuiper I, van Duijn W, et al. Imbalanced secondary mucosal antioxidant response in inflammatory bowel disease. *J Pathol*. 2003;201(1):17-27. doi:10.1002/path.1408
112. Liu Z, Feng B-S, Yang S-B, Chen X, Su J, Yang P-C. Interleukin (IL)-23 Suppresses IL-10 in Inflammatory Bowel Disease. *J Biol Chem*. 2012;287(5):3591-3597. doi:10.1074/jbc.M111.304949
113. Feng B-S, Chen X, Li P, et al. Expression of integrin α v β 6 in the intestinal epithelial cells of patients with inflammatory bowel disease. *North American Journal of Medical Sciences*. 2009;1(4):6.
114. Rauf A, Patel S, Uddin G, et al. Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;86:393-404. doi:10.1016/j.biopha.2016.12.017
115. Ierapetritis D. The Geography of the Chios Mastic Trade from the 17th through to the 19th Century. *Ethnobot Res App*. 2010;8:153. doi:10.17348/era.8.0.153-167
116. Barra A, Coroneo V, Dessi S, Cabras P, Angioni A. Characterization of the Volatile Constituents in the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Different Origins and Its Antifungal and Antioxidant Activity. *J Agric Food Chem*. 2007;55(17):7093-7098. doi:10.1021/jf071129w
117. CMGA (Chios Mastiha Growers Association). <https://www.gummastic.gr/en> (accessed 14 May 2020).
118. Browicz K. *Pistacia lentiscus* cv. Chia (Anacardiaceae) on Chios island. *Plant Systematics and Evolution*. 1987;155(1):189-195. doi:10.1007/BF00936298
119. Colombini MP, Modugno F, Silvano F, Onor M. Characterization of the Balm of an Egyptian Mummy from the Seventh Century B.C. *Studies in Conservation*. 2000;45(1):19-29. doi:10.1179/sic.2000.45.1.19

120. Brettell RC, Schotsmans EMJ, Walton Rogers P, et al. 'Choicest unguents': molecular evidence for the use of resinous plant exudates in late Roman mortuary rites in Britain. *Journal of Archaeological Science*. 2015;53:639-648. doi:10.1016/j.jas.2014.11.006
121. Valiakos E, Marselos M, Sakellaris N, Constantinidis Th, Skaltsa H. Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the "Antidotes" in Nikolaos Myrepsos' Dynameron. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;163:68-82. doi:10.1016/j.jep.2015.01.005
122. Valiakos E, Marselos M, Sakellaris N, Constantinidis Th, Skaltsa H. Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the "Elements Alpha to Delta" in Nikolaos Myrepsos' Dynameron . Part II. *Journal of Ethnopharmacology*. 2017;205:246-260. doi:10.1016/j.jep.2017.04.021
123. de Viguerie L, Jaber M, Pasco H, et al. A 19th Century "Ideal" Oil Paint Medium: A Complex Hybrid Organic-Inorganic Gel. *Angew Chem Int Ed*. 2017;56(6):1619-1623. doi:10.1002/anie.201611136
124. Pachi VK, Mikropoulou EV, Gkiouvetidis P, et al. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Chios mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*, Anacardiaceae): A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;254:112485. doi:10.1016/j.jep.2019.112485
125. Paraschos S, Magiatis P, Mitakou S, et al. In Vitro and In Vivo Activities of Chios Mastic Gum Extracts and Constituents against *Helicobacter pylori*. *AAC*. 2007;51(2):551-559. doi:10.1128/AAC.00642-06
126. Xynos N, Termentzi A, Fokialakis N, Skaltsounis LA, Aligiannis N. Supercritical CO₂ extraction of mastic gum and chemical characterization of bioactive fractions using LC-HRMS/MS and GC-MS. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2018;133:349-356. doi:10.1016/j.supflu.2017.10.011
127. 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(20):7681-7685. doi:10.1021/jf050639s
128. Magiatis P, Melliou E, Skaltsounis A-L, Chinou I, Mitaku S. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Planta Med*. 1999;65(08):749-752. doi:10.1055/s-2006-960856
129. Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Biomed Chromatogr*. 2005;19(4):285-311. doi:10.1002/bmc.454
130. Kottakis F, Kouzi-Koliakou K, Pendas S, Kountouras J, Choli-Papadopoulou T. Effects of mastic gum *Pistacia lentiscus* var. *chia* on innate cellular immune effectors: *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2009;21(2):143-149. doi:10.1097/MEG.0b013e32831c50c9
131. Kaliora AC, Mylona A, Chiou A, Petsios DG, Andrikopoulos NK. Detection and Identification of Simple Phenolics in *Pistacia lentiscus* Resin. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2004;27(2):289-300. doi:10.1081/JLC-120027100

132. Kivçak B, Akay S. Quantitative determination of α -tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*. 2005;76(1):62-66. doi:10.1016/j.fitote.2004.09.021
133. Al-Habbal MJ, Al-Habbal Z, Huwez FU. A DOUBLE-BLIND CONTROLLED CLINICAL TRIAL OF MASTIC AND PLACEBO IN THE TREATMENT OF DUODENAL ULCER. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1984;11(5):541-544. doi:10.1111/j.1440-1681.1984.tb00864.x
134. Sharif Sharifi M, Hazell SL. Fractionation of Mastic Gum in Relation to Antimicrobial Activity. *Pharmaceuticals*. 2009;2(1):2-10. doi:10.3390/ph2010002
135. Aksoy A, Duran N, Toroglu S, Koksall F. Short-term Effect of Mastic Gum on Salivary Concentrations of Cariogenic Bacteria in Orthodontic Patients. *The Angle Orthodontist*. 2007;77(1):124-128. doi:10.2319/122205-455R.1
136. Koychev S, Dommisch H, Chen H, Pischon N. Antimicrobial Effects of Mastic Extract Against Oral and Periodontal Pathogens. *Journal of Periodontology*. 2017;88(5):511-517. doi:10.1902/jop.2017.150691
137. Sakagami H, Kishino K, Kobayashi M, et al. Selective Antibacterial and Apoptosis-modulating Activities of Mastic. *in vivo*. Published online 2009:9.
138. Sterer N. Antimicrobial Effect of Mastic Gum Methanolic Extract Against *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Medicinal Food*. 2006;9(2):290-292. doi:10.1089/jmf.2006.9.290
139. Tassoua CC, Nycha GJE. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Mastic Gum (*Pistacia Zentiscus* var. *chia*) on Gram Positive and Gram Negative Bacteria in Broth and in Model Food System. :10.
140. Paraschos S, Magiatis P, Gousia P, et al. Chemical investigation and antimicrobial properties of mastic water and its major constituents. *Food Chemistry*. 2011;129(3):907-911. doi:10.1016/j.foodchem.2011.05.043
141. 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(5):501-507. doi:10.1002/ptr.1185
142. 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(1):64. doi:10.1186/1475-2891-10-64
143. Dedoussis GVZ, Kaliora AC, Psarras S, et al. Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*. 2004;174(2):293-303. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2004.02.011
144. Papada E, Gioxari A, Brieades V, et al. Bioavailability of Terpenes and Postprandial Effect on Human Antioxidant Potential. An Open-Label Study in Healthy Subjects. *Mol Nutr Food Res*. 2018;62(3):1700751. doi:10.1002/mnfr.201700751
145. Zhou L, Satoh K, Takahashi K, et al. Re-evaluation of Anti-inflammatory Activity of Mastic Using Activated Macrophages. *in vivo*. Published online 2009:7.

146. Kaliora AC. Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *WJG*. 2007;13(5):748. doi:10.3748/wjg.v13.i5.748
147. Kaliora AC, Stathopoulou MG, Triantafillidis JK, Dedoussis GV, Andrikopoulos NK. Alterations in the function of circulating mononuclear cells derived from patients with Crohn's disease treated with mastic. :6.
148. Papada E, Gioxari A, Amerikanou C, et al. Regulation of faecal biomarkers in inflammatory bowel disease patients treated with oral mastiha (*Pistacia lentiscus*) supplement: A double-blind and placebo-controlled randomised trial: Regulation of faecal biomarkers in active IBD; a RCT. *Phytotherapy Research*. 2019;33(2):360-369. doi:10.1002/ptr.6229
149. Papada E, Amerikanou C, Torović L, et al. Plasma free amino acid profile in quiescent Inflammatory Bowel Disease patients orally administered with Mastiha (*Pistacia lentiscus*); a randomised clinical trial. *Phytomedicine*. 2019;56:40-47. doi:10.1016/j.phymed.2018.08.008
150. 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 (Maywood)*. 2009;234(5):553-561. doi:10.3181/0811-RM-338
151. Tzani A, Bletsas E, Doulamis IP, et al. Hypolipidemic, hepatoprotective and anti-inflammatory role of Chios Mastic gum in Streptozotocin-induced diabetic mice with fatty liver disease. Published online 2016:13.
152. Tzani AI, Doulamis IP, Konstantopoulos PS, et al. Chios mastic gum decreases renin levels and ameliorates vascular remodeling in renovascular hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;105:899-906. doi:10.1016/j.biopha.2018.06.067
153. Vallianou I, Peroulis N, Pantazis P, Hadzopoulou-Cladaras M. Camphene, a Plant-Derived Monoterpene, Reduces Plasma Cholesterol and Triglycerides in Hyperlipidemic Rats Independently of HMG-CoA Reductase Activity. Hofmann A, ed. *PLoS ONE*. 2011;6(11):e20516. doi:10.1371/journal.pone.0020516
154. Andreadou I, Mitakou S, Paraschos S, et al. "Pistacia lentiscus L." reduces the infarct size in normal fed anesthetized rabbits and possess antiatheromatic and hypolipidemic activity in cholesterol fed rabbits. *Phytomedicine*. 2016;23(11):1220-1226. doi:10.1016/j.phymed.2016.06.002
155. Kartalis A, Didagelos M, Georgiadis I, et al. 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. doi:10.1177/2047487315603186
156. Kontogiannis C, Georgiopoulos G, Loukas K, et al. Chios mastic improves blood pressure haemodynamics in patients with arterial hypertension: Implications for regulation of proteostatic pathways. *Eur J Prev Cardiol*. 2019;26(3):328-331. doi:10.1177/2047487318796985

157. Triantafyllou A, Chaviaras N, Sergentanis TN, Protopapa E, Tsaknis J. Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;111(1):43-49. doi:10.1016/j.jep.2006.10.031
158. He M, Chen W, Zhang P, et al. Gum mastic increases maspin expression in prostate cancer cells. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2007;28(4):567-572. doi:10.1111/j.1745-7254.2007.00535.x
159. Balan KV, Prince J, Han Z, et al. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. *chia*. *Phytomedicine*. 2007;14(4):263-272. doi:10.1016/j.phymed.2006.03.009
160. Dimas KS, Pantazis P, Ramanujam R. Chios Mastic Gum: A Plant-produced Resin Exhibiting Numerous Diverse Pharmaceutical and Biomedical Properties. *in vivo*. Published online 2012:9.
161. Gioxari A, Kaliora AC, Papalois A, Agrogiannis G, Triantafillidis JK, Andrikopoulos NK. *Pistacia lentiscus* Resin Regulates Intestinal Damage and Inflammation in Trinitrobenzene Sulfonic Acid–Induced Colitis. *Journal of Medicinal Food*. 2011;14(11):1403-1411. doi:10.1089/jmf.2010.0240
162. Papalois A, Gioxari A, Kaliora AC, et al. Chios Mastic Fractions in Experimental Colitis: Implication of the Nuclear Factor κ B Pathway in Cultured HT29 Cells. *Journal of Medicinal Food*. 2012;15(11):974-983. doi:10.1089/jmf.2012.0018
163. Hoy A, Trégouët D, Leininger-Muller B, et al. Serum myeloperoxidase concentration in a healthy population: biological variations, familial resemblance and new genetic polymorphisms. *Eur J Hum Genet*. 2001;9(10):780-786. doi:10.1038/sj.ejhg.5200702

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ASSESSMENT OF CD ACTIVITY

HARVEY & BRADSHAW ACTIVITY INDEX

1) Number of loose stools per day

2) Abdominal pain (0=absence, 1= mild, 2= moderate, 3=severe)

3) General health condition (0= very good, 1= good, 2= moderate, 3= bad, 4= very bad)

4) Abdominal mass (0= absence, 1= dubious, 2= definite, 3= definite + sensitive)

5) Complications (1 point for every complication): arthralgia, mouth ulcers, uveitis, erythema nodosum, puoderma nodosum, anal fistula, abscess)

General score:

< 5 remission

5-7 mild disease

8-16 moderate disease

>16 severe disease

ASSESSMENT OF UC ACTIVITY

PARTIAL MAYO ACTIVITY INDEX FOR UC

1. Stool Frequency (based on the past 3 days)

Normal number of stools =0

1-2 stools more than normal =1

3-4 stools more than normal =2

5 or more stools more than normal =3

2. Rectal Bleeding (based on the past 3 days)

No blood seen =0

Streaks of blood with stool less than half the time =1

Obvious blood with stool most of the time =2

Blood alone passed =3

3. Physician's Global Assessment (to be completed by Physician)

Normal (sub scores are mostly 0) =0

Mild disease (sub scores are mostly 1) =1

Moderate disease (sub scores are mostly 1 to 2) =2

Severe disease (sub scores are mostly 2 to 3) =3

The physician's Global Assessment acknowledges the Sub scores, the daily record of abdominal discomfort and functional assessment and other observations such as physical findings, and the patient's performance status.

Total Partial Mayo Index Score [sum of all above items]

Remission = 0-1

Mild Disease = 2-4

Moderate Disease = 5-6

Severe Disease =7-9