



**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ»**

**Επίδραση παρέμβασης με φυσικό συμπλήρωμα  
διατροφής σε δείκτες φλεγμονής σε ασθενείς με  
Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νόσο του Εντέρου**

**Μεταπτυχιακή Διατριβή**

**της**

**Ανθής Ν. Ταναΐνη**

**ΑΘΗΝΑ, 2016**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ**

ΑΝΔΡΙΑΝΑ ΚΑΛΙΩΡΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

ΑΝΔΡΙΑΝΑ ΚΑΛΙΩΡΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΕΔΟΥΣΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΙΩΑΝΝΗΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΔΗΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ  
ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟΥ  
ΠΑΝΕΜΙΣΤΗΜΙΟΥ ΤΟΥ ΙΑΣΙΟΥ (ΡΟΥΜΑΝΙΑ)

## Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας και Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, υπό την επίβλεψη της κα. Ανδριάνας Καλιώρα, Επίκουρη Καθηγήτρια.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος την επιβλέπουσα μου κα Ανδριάνα Καλιώρα, για την ευκαιρία και το έναυσμα που μου έδωσε να πραγματοποιήσω τη συγκεκριμένη μεταπτυχιακή διατριβή, για τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή της, καθώς και για την ηθική συμπαράσταση που μου προσέφερε σε όλη τη διάρκεια της φοίτησής μου.

Εκφράζω, επίσης, ευχαριστίες στα Μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, τον καθηγητή κ. Γεώργιο Δεδούση και τον αναπληρωματικό καθηγητή της Ιατρική Σχολής του Ιατρικού και Φαρμακευτικού Πανεπιστημίου του Ιασίου (Ρουμανία) κ. Ιωάννη Τριανταφυλλίδη, για την πολύτιμη βοήθεια και την υποστήριξη τους στη διεκπεραίωση της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Τις θερμότερες ευχαριστίες μου θα ήθελα να δώσω στη μεταδιδακτορική ερευνήτρια κα. Αριστέα Γκιοζάρη, στις διδακτορικές φοιτήτριες κα. Ευσταθία Παπαδά και κα. Χαραλαμπία Αμερικάνου για την αμέριστη συμπαράστασή τους, την κατανόηση και την υπομονή τους. Τις ευχαριστώ, επίσης, για τις πολύτιμες συμβουλές τους και το αμείωτο ενδιαφέρον τους κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας ερευνητικής εργασίας.

Επιπρόσθετα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου για την παροχή των σκευασμάτων, Μαστίχας Χίου και εικονικού φαρμάκου αλλά και για την διασφάλιση της τυφλής διαδικασίας.

Τέλος, ιδιαίτερα ευχαριστώ τους γονείς μου και τους φίλους μου που είναι πάντα δίπλα μου και στηρίζουν τις επιλογές μου, χωρίς να στέκονται τροχοπέδη στα όνειρα μου.

Στην οικογένειά μου.....

## Περιεχόμενα

### ΜΕΡΟΣ Α': ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η ΜΑΣΤΙΧΑ ΧΙΟΥ

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 1.1 Το Μαστιχόδεντρο.....          | 11 |
| 1.2 Ιστορική Αναδρομή.....         | 11 |
| 1.3 Η Συγκομιδή της Μαστίχας.....  | 12 |
| 1.3.1 Γενικά.....                  | 12 |
| 1.3.2 Προκαταρκτικές εργασίες..... | 12 |
| 1.3.3 Πρώτο κέντημα.....           | 13 |
| 1.3.4 Πρώτη συλλογή.....           | 14 |
| 1.3.5 Δεύτερο κέντημα.....         | 14 |
| 1.3.6 Δεύτερο μάζεμα.....          | 14 |
| 1.4 Φυσικές ιδιότητες.....         | 15 |
| 1.5 Χρήσεις.....                   | 15 |
| 1.6 Χημικές ιδιότητες.....         | 16 |

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΜΑΣΤΙΧΑΣ ΧΙΟΥ

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 2.1 Γενικά.....                                     | 18 |
| 2.2 Αντιφλεγμονώδης δράση.....                      | 18 |
| 2.3 Αντιοξειδωτική / Καρδιοπροστατευτική δράση..... | 20 |
| 2.4 Αντιμικροβιακή δράση.....                       | 21 |
| 2.5 Χημειοπροστατευτική δράση.....                  | 23 |

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| 3.1 Εισαγωγή.....                     | 24 |
| 3.2 Παθογένεια.....                   | 25 |
| 3.2.1 Γενικά.....                     | 25 |
| 3.2.2 Γενετικοί παράγοντες.....       | 26 |
| 3.2.3 Μικροβίωμα.....                 | 28 |
| 3.2.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες..... | 31 |
| 3.2.5 Ανοσολογικοί παράγοντες.....    | 31 |
| 3.3 Συμπτωματολογία.....              | 32 |
| 3.4 Διάγνωση.....                     | 34 |
| 3.5 Αγωγή.....                        | 39 |
| 3.6 Διατροφική αντιμετώπιση.....      | 41 |
| 3.7 ΙΦΝΕ και φλεγμονή.....            | 42 |
| 3.7.1 Γενικά.....                     | 42 |

|                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.7.2 Ανοσολογικοί μηχανισμοί .....                                             | 43        |
| <b>ΜΕΡΟΣ Β΄: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>                           |           |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ</b>                                       |           |
| 4.1 Σκοπός της μελέτης.....                                                     | 47        |
| 4.2 Σχεδιασμός μελέτης.....                                                     | 47        |
| 4.3 Στάδια μελέτης.....                                                         | 48        |
| 4.3.1 Αρχικό στάδιο – Στρατολόγηση ασθενών μελέτης φάσης II.....                | 48        |
| 4.3.2 Πιλοτική δοκιμή.....                                                      | 49        |
| 4.3.3 Στάδιο παρέμβασης.....                                                    | 52        |
| 4.4 Εργαστηριακές αναλύσεις.....                                                | 54        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b>                                                  |           |
| 5.1 Ποσοτικός προσδιορισμός καλπροτεκτίνης σε δείγμα κοπράνων.....              | 56        |
| 5.2 Ποσοτικός προσδιορισμός λυσοζύμης και β-ντεφενσίνης σε δείγμα κοπράνων..... | 58        |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....</b>                                  | <b>59</b> |
| <b>ΜΕΡΟΣ Γ΄: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>                                                   |           |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>                                            | <b>61</b> |
| <b>ΜΕΡΟΣ Δ΄: ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>                                                       |           |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>                                                | <b>65</b> |
| <b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>                                                        | <b>69</b> |
| <b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>                                                           | <b>81</b> |

## Περίληψη

Η ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (ΙΦΝΕ) αναφέρεται σε μία ομάδα χρόνιων, υποτροπιάζουσών, φλεγμονωδών διαταραχών του γαστρεντερικού σωλήνα με εντερικές και εξωεντερικές εκδηλώσεις. Η νόσος Crohn αποτελεί μία από τις σημαντικότερες ΙΦΝΕ, με την επίπτωσή της να αυξάνεται συνεχώς τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Η ΙΦΝΕ θεωρείται πολυπαραγοντική νόσος, μιας και γενετικοί, λοιμώδεις, ανοσολογικοί και ψυχοκοινωνικοί παράγοντες συμβάλλουν στην παθογένειά της. Η φαρμακευτική αγωγή περιλαμβάνει αμινοσαλκυλικά, αντιβιοτικά, κορτικοστεροειδή, θειουपुरίνες, ανταγωνιστές φυλλικού οξέος και βιολογική θεραπεία. Ωστόσο, η αυξημένη συχνότητα υποτροπών, η εμφάνιση σοβαρών παρενεργειών και οι δυσκολίες στη συμμόρφωση των ασθενών με τη συμβατική αγωγή, έχουν οδηγήσει την επιστημονική κοινότητα στη μελέτη φυσικών προϊόντων με αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις.

Η Μαστίχα Χίου (MX) είναι η φυσική αρωματική ρητίνη που εκκρίνεται από το μαστιχόδεντρο της οικογένειας *Anacardiaceae* (*Pistacia lentiscus* var *Chia*) και παράγεται αποκλειστικά στο νότιο τμήμα της Χίου. Η ρητίνη είναι πλούσια σε τερπενοειδή και φαινολικά συστατικά, τα οποία προσδίδουν *in vivo* και *in vitro* αντιοξειδωτικές / καρδιοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και χημειοπροστατευτικές ιδιότητες.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η πραγματοποίηση μιας πιλοτικής δοκιμής με στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης της MX, έναντι εικονικού φαρμάκου, στην κλινική πορεία της νόσου Crohn, σε ενήλικες ασθενείς με έξαρση και ύφεση. Για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της MX, εκτιμήθηκαν η κλινική εικόνα των ασθενών και η φλεγμονή σε δείγμα κοπράνων, πριν και μετά το τέλος της παρέμβασης.

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε 31 ασθενείς με νόσο Crohn σε έξαρση και σε 26 ασθενείς με τη νόσο σε ύφεση. Οι ασθενείς χωρίστηκαν με τυχαιοποιημένο τρόπο σε δύο ομάδες: Α) Ομάδα ελέγχου, που λάμβανε καθημερινά εικονικό φάρμακο σε μορφή ταμπλέτας και Β) Ομάδα Παρέμβασης που λάμβανε καθημερινά 2.8g MX σε μορφή ταμπλέτας. Η παρέμβαση διήρκεσε 3 μήνες για τους ασθενείς σε έξαρση και 6 μήνες για εκείνους σε ύφεση. Όλοι οι ασθενείς διατηρούσαν τη συμβατική τους φαρμακευτική αγωγή κατά τη διάρκεια της μελέτης. Για την αξιολόγηση της κλινικής πορείας μετρήθηκαν τα παρακάτω:

✓ κλινική εικόνα των ασθενών: δείκτης ενεργότητας της νόσου Harvey-Bradshaw, ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής.

✓ Φλεγμονώδεις δείκτες κοπράνων: καλπροτεκτίνη και λυσοζύμη.

Όλες οι αξιολογήσεις έγιναν στο χρόνο 0, δηλαδή πριν την έναρξη της πρόσληψης MX ή εικονικού φαρμάκου, καθώς και στο τέλος της μελέτης (χρόνος 3 ή 6 μήνες).

Τα αποτελέσματα της παρούσας πιλοτικής μελέτης ήταν ενθαρρυντικά. Συγκεκριμένα, στην ομάδα παρέμβασης με ενεργή νόσο παρατηρήθηκαν μειώσεις στα επίπεδα της καλπροτεκτίνης κοπράνων (46.5%) και στην ενεργότητα της νόσου (25.6%). Αντίθετα, οι ασθενείς που λάμβαναν εικονικό φάρμακο σημείωσαν αύξηση των επιπέδων της καλπροτεκτίνης που άγγιξε το 38.6%. Τα επίπεδα της λυσοζύμης δεν μεταβλήθηκαν για καμία ομάδα ασθενών με ενεργή νόσο. Η ημερήσια πρόσληψη 2.8g MX φάνηκε να μειώνει και την ενεργότητα της νόσου στους ασθενείς με ύφεση (43.8%). Η ποιότητα ζωής των ασθενών σε έξαρση και σε ύφεση έδειξε μικρή άνοδο στο τέλος της παρέμβασης με MX, με ποσοστά ίσα προς 5.1% και 5.3%, αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, υπάρχουν ενδείξεις ότι η ημερήσια πρόσληψη MX έχει ευεργετικά αποτελέσματα στην εξέλιξη της νόσου Crohn, βελτιώνοντας τόσο τη φλεγμονή όσο και την κλινική εικόνα των ασθενών με ενεργή νόσο. Παρόλα αυτά, απαιτείται ανάλυση μεγαλύτερου αριθμού ασθενών για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων.

## Abstract

The Inflammatory Bowel Disease (IBD) refers to a group of chronic, recurrent, inflammatory disorders of the gastrointestinal tract, which are characterized by both intestinal and extraintestinal manifestations. Crohn's disease (CD) is a very common type of IBD that is constantly increased in both developed and developing countries. Inflammatory Bowel Disease is a multifactorial disease; a combination of genetic, infectious, immunological and psychosocial factors contribute to its' pathogenesis. Usual medication includes aminosalicylates, antibiotics, corticosteroids, thiopurines, antagonists of folic acid and biological treatment. However, the increasing frequency of relapse, the occurrence of significant side effects and patients' difficulties to adhere to the conventional treatment, have led scientists to investigate the impact of natural products, with antioxidant and anti-inflammatory properties, on the progression of the disease.

Chios mastic (MX) is the natural aromatic resin secreted by the mastic tree of the *Anacardiaceae* family (*Pistacia lentiscus* var *Chia*), which is exclusively produced in southern Chios. The resin is rich in terpenoids and phenolic compounds that have shown potent *in vivo* and *in vitro* antioxidant / cardioprotective, anti-inflammatory, antimicrobial and chemoprotective effects.

The aim of the present study was to conduct a pilot trial of investigating the effects of Chios mastic consumption, versus placebo intake, on the clinical health outcomes of Crohn's disease patients being in exacerbation and remission of the disease. Evaluations included patients' clinical state and levels of inflammatory markers in sample feces.

The trial was conducted in 31 patients with active CD and 26 patients with the disease in remission. Patients were separated and randomized into two groups: A) Control group that received placebo tablets daily. B) Intervention group that received 2.8g of Chios Mastic tablets daily. In the case of active CD, intervention lasted 3 months, while patients in remission consumed the tablets for 6 months. During the study, all patients maintained their conventional treatment. Clinical course was assessed by:

- ✓ Patients' clinical state: Harvey-Bradshaw activity index, anthropometric characteristics and questionnaire for the life quality.
- ✓ Inflammatory stool markers: calprotectin and lysozyme levels.

All evaluations were made at the beginning of the intervention before Chios mastic intake (time 0) and at the end point of the study (time 3 or 6 months).

The results of the present pilot study are encouraging. More specifically, both calprotectin levels and disease activity were decreased in active CD patients after Chios mastic

treatment (46.5% and 25.6%, respectively). On the other hand, patients with active CD receiving placebo showed a 38.6% increase in calprotectin levels. In patients with active CD, no changes were observed for fecal lysozyme levels after mastic or placebo intake. Daily consumption of 2.8g Chios mastic also reduced disease activity in CD patients in remission (43.8%). Additionally, quality of life was slightly improved after mastic treatment for both active and inactive patients (5.1% and 5.3%, respectively).

In conclusion, there are indications that Chios mastic consumption has beneficial effects on the course of CD, improving inflammation and the clinical state of patients with active disease. Nevertheless, inclusion and analysis of a greater number of patients are needed to come to saver conclusions.

## **Μέρος Α': Θεωρητικό Μέρος**

## **ΜΕΡΟΣ Α': ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : Η ΜΑΣΤΙΧΑ ΧΙΟΥ**

#### **1.1 Το μαστιχόδεντρο**

Το μαστιχόδεντρο ή σχίνος, *Pistacia Lentiscus var Chia*, που ανήκει στην οικογένεια Anacardiaceae, αποτελεί κύριο στοιχείο της Μακκίας βλάστησης των παραμεσόγειων χωρών, αλλά η ρητινώδης έκκρισή του, τα δάκρυα της Μαστίχας, παράγεται αποκλειστικά στο νότιο τμήμα του νησιού της Χίου. Ο σχίνος είναι αειθαλής θάμνος ύψους 2-3μ, ανθεκτικό και με ελάχιστες απαιτήσεις, που παίρνει την πλήρη ανάπτυξή του μετά από 40-50 χρόνια, φτάνοντας μέχρι και τα 5μ στα ηλικιωμένα φυτά. Η διάρκεια ζωής του είναι πάνω από 100 χρόνια και η παραγωγή της μαστίχας δεν είναι δυνατή παρά μόνο μετά τον πέμπτο ή έκτο χρόνο φύτευσής του, με φθίνουσα απόδοση από το 70<sup>ο</sup> έτος και έπειτα και με μέση ετήσια απόδοση ανά δέντρο τα 150-180γρ. Ιδιαίτερες καλλιεργητικές φροντίδες απαιτούνται τόσο κατά την ανάπτυξη του θάμνου από μοσχεύματα, όσο και κατά το επιφανειακό χάραγμα του σχίνου με αιχμηρά εργαλεία (κέντημα) για την παραγωγή της ρητίνης, αλλά και κατά τη συγκομιδή αυτής. ([www.gummastic.gr](http://www.gummastic.gr))



*Εικόνα 1 Το Μαστιχόδεντρο*

#### **1.2 Ιστορική Αναδρομή**

Οι πρώτες πληροφορίες για τη μαστίχα χρονολογούνται από την εποχή του Ηροδότου (5<sup>ο</sup> αι. π.Χ), ενώ και άλλοι αρχαίοι συγγραφείς, όπως ο Θεόφραστος, ο Πλίνιος, ο Διοσκουρίδης,

ο Γαλήνος και ο Ιπποκράτης έκαναν αναφορά για τις θεραπευτικές ιδιότητες της μαστίχας. Στη Βυζαντινή περίοδο, η Χίος υπήρξε σημαντικός σταθμός εισαγωγικού, εξαγωγικού και διαμετακομιστικού εμπορίου, ανεφοδιασμού πλοίων και καταφύγιο, οδηγώντας το νησί σε μεγάλη οικονομική ευμάρεια.

Την περίοδο που το νησί ήταν υπό την κατοχή των Γενοβέζων (1346-1560) ιδρύθηκε η ‘Μαόνα’, μία επιχείρηση που ανέλαβε αποκλειστικά την διαχείριση της Μαστίχας, ενώ επί Τουρκοκρατίας η εκμετάλλευσή της είχε περάσει αποκλειστικά στα χέρια των Τούρκων. Η πτώση της παραγωγής ήταν κατακόρυφη μέχρι το 1853, όπου από εκεί και μέχρι το 1910 το νησί απέκτησε και πάλι τα προνόμια του. Τότε, λόγω Βαλκανικού και Παγκόσμιου πολέμου η παραγωγή αρχίζει να χάνει πάλι έδαφος, με τη μαστίχα να αντικαθίσταται από μη φυσικά προϊόντα μετά τον Β’ Παγκόσμιο πόλεμο.

Παρόλ’ αυτά η Μαστίχα Χίου, η οποία από το 1997 έχει χαρακτηριστεί ως προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π), χρησιμοποιείται παγκοσμίως, τόσο στον τομέα των τροφίμων όσο και στον τομέα της υγείας και της προσωπικής περιποίησης, λαμβάνοντας, επίσης, την ιδιότητα του φυσικού φαρμάκου για στομαχικές διαταραχές και φλεγμονές του δέρματος το 2015, από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων. ([www.gummastic.gr](http://www.gummastic.gr), Dimas και συν, 2012)

### **1.3 Συγκομιδή της Μαστίχας**

#### **1.3.1 Γενικά**

Η παραγωγή της Μαστίχας, της φυσικής και αρωματικής ρητίνης, ξεκινάει από τους μήνες Ιούλιο, Αύγουστο, Σεπτέμβρη και Οκτώβρη, όταν οι συνθήκες το επιτρέπουν, με καθορισμένη από το νόμο περίοδο συλλογής από τις 15 Ιουλίου μέχρι τις 15 Οκτωβρίου. Η μαστιχοπαραγωγή απαιτεί ιδιαίτερη φροντίδα καθ’ όλη τη διάρκεια του έτους, καθώς τα δέντρα πρέπει να λιπανθούν, να κλαδευτούν, να καθαριστεί το έδαφος και έπειτα να κεντηθούν και να συλλεχθεί η μαστίχα.

#### **1.3.2 Προκαταρκτικές εργασίες**

Πριν από το κέντημα και τη συλλογή της μαστίχας, ο σχίνος λιπαίνεται και κλαδεύεται, έτσι ώστε το έδαφος γύρω από το βλαστό να ελευθερωθεί από τα άλλα φυτά. Το έδαφος καθαρίζεται καλά με ένα ειδικό εργαλείο, την ‘άμια’, σχηματίζοντας μία κυκλική περιοχή στη βάση του δέντρου (‘τραπέζι’) και έπειτα, καλύπτεται με καλά κοσκινισμένο ασπρόχρωμα, που στρώνεται και πιέζεται στο έδαφος, για να δημιουργηθεί λεία επιφάνεια. Το ασπρόχρωμα αποτελείται από ανθρακικό ασβέστιο ( $\text{CaCO}_3$ ), ένα αδρανές υλικό, που δεν επηρεάζει τις

φυσικές και χημικές ιδιότητες της μαστίχας, αλλά ούτε και την καθαρότητα της. Έτσι, με τις διαδικασίες αυτές, οι σταγόνες μαστίχας που θα πέσουν, αποκτούν λαμπρότητα, στερεοποιούνται και συλλέγονται ευκολότερα.

### **1.3.3 Πρώτο κέντημα**

Το κέντημα (ρήνιασμα), δηλαδή το χάραγμα των σχίνων, ξεκινάει τον Ιούλιο και συνεχίζεται μέχρι τον Αύγουστο. Γίνεται με ένα αιχμηρό και αυλακωτό στην άκρη, σιδερένιο εργαλείο, ‘το κεντητήρι’. Ο αριθμός των τομών ξεκινάει από 10 με 20 και φθάνει στις 100 κεντιές σε όλη την περίοδο του κεντήματος, ανάλογα με το μέγεθος και την ηλικία του δέντρου. Το κέντημα γίνεται νωρίς το πρωί, δύο φορές την εβδομάδα για πέντε με έξι εβδομάδες. Η μαστίχα εμφανίζεται σαν δάκρυ, έχει μορφή κολλώδους και διαυγούς υγρού και στερεοποιείται (‘κρυσταλλώνει’) μετά από 15-20 ημέρες, υπό την επίδραση των καιρικών συνθηκών που επικρατούν, έντονη ξηρασία και ηλιοφάνεια.



*Εικόνα 2 Το κέντημα του σχίνου και το καθάρισμα του τραπεζιού*



*Εικόνα 3 Το Δάκρυ της Μαστίχας*

### **1.3.4 Πρώτη συλλογή**

Η πρώτη συλλογή γίνεται μετά τις 15 Αυγούστου, αφότου η μαστίχα έχει στερεοποιηθεί. Πρώτα, συλλέγεται η χοντρή μαστίχα, ‘η πίτα’, με ένα ειδικό εργαλείο, το τιμητήρι, και με το ίδιο εργαλείο μαζεύεται η μαστίχα που έχει πήξει στον κορμό του δέντρου (‘τα δάκρυα’), καθώς και αυτή που κρεμιέται από τα κλαδιά (‘φλισκάρια’). Η υπόλοιπη μαζεύεται με σκούπες ή με τα χέρια. Στη συνέχεια, η μαστίχα τοποθετείται σε ξύλινα κιβώτια και αποθηκεύεται σε δροσερούς χώρους.



*Εικόνα 4 Η συλλογή της Μαστίχας*

### **1.3.5 Δεύτερο κέντημα**

Η διαδικασία αυτή διαρκεί 5-6 εβδομάδες, όπου ακολουθούνται οι ίδιες εργασίες μ’ αυτές του πρώτου κεντήματος και κρατά μέχρι και την τελευταία συλλογή του φθινοπώρου.

### **1.3.6 Δεύτερο μάζεμα**

Το δεύτερο μάζεμα γίνεται μετά τις 15 Σεπτεμβρίου, οπότε και συλλέγεται όλη η μαστίχα από τον κορμό του δέντρου και από το έδαφος με σκούπα, τοποθετώντας τη σε τσουβάλια. Μετά την τελική συλλογή, η μαστίχα κοσκινίζεται, ξεπλένεται και απλώνεται για να στεγνώσει, με τελική επεξεργασία το καθάρισμα κάθε κόκκου με μυτερά μαχαίρια για την απομάκρυνση οποιασδήποτε ξένης ύλης. Από εκεί και έπειτα αποστέλλεται στην Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου (Ε.Μ.Χ) για να υποστεί την τελική κατεργασία, προκειμένου να ληφθεί το τελικό εμπορεύσιμο προϊόν. ([www.gummastic.gr](http://www.gummastic.gr))



Εικόνα 5 Το καθάρισμα της Μαστίχας

#### **1.4 Φυσικές ιδιότητες**

Η Μαστίχα είναι η φυσική, αρωματική ρητίνη που εκκρίνεται από τον κορμό και τα μεγάλα κλαδιά του μαστιχόδεντρου σε ακανόνιστο μέγεθος, διαφανής έως ημιδιαφανής, με αρχικό υπόλευκο-υποκίτρινο χρώμα. Με το πέρασμα του χρόνου και την έκθεση στον ήλιο, το χρώμα αυτό χάνεται και σε 12 με 18 μήνες γίνεται κιτρινωπό και αδιαφανές, λόγω οξείδωσης. Η γεύση της, που είναι αρχικά πικρή, σταδιακά φεύγει, προσδίδοντας ένα ιδιαίτερο άρωμα που την κάνει μοναδική. Ο βαθμός σκληρότητάς της εξαρτάται από τη θερμοκρασία της ατμόσφαιρας, το χρόνο έκθεσής της στη φύση και το μέγεθος που έχει. Η μαστίχα είναι αδιάλυτη στο νερό, αλλά διαλύεται σε διάφορους οργανικούς διαλύτες (μεθανόλη, ακετόνη, χλωροφόρμιο, διμεθυλοσουλφοξείδιο κ.α.). Το σημείο τήξεωσ της είναι μεταξύ 85-105°C και η πυκνότητά της 0.96-1.08g/mL.(Dimas και συν, 2012, [www.gummastic.com](http://www.gummastic.com), [www.masticha.gr](http://www.masticha.gr))

#### **1.5 Χρήσεις**

Η Μαστίχα Χίου χρησιμοποιείται ευρύτατα στην:

- Φαρμακευτική
- Παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής
- Παραγωγή καλλυντικών και ειδών περιποίησης
- Αρωματοποιία
- Αρωματοθεραπεία
- Ποτοποιία
- Σαπωνοποιία
- Μαγειρική
- Ζαχαροπλαστική
- Παραγωγή ζαχαρωδών

- Παραγωγή χρωμάτων και βερνικιών  
κ.α. ([www.masticha.gr](http://www.masticha.gr))

## **1.6 Χημικές ιδιότητες**

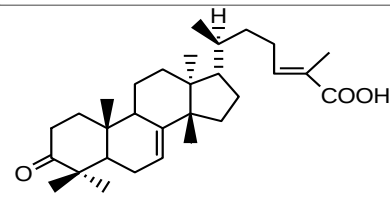
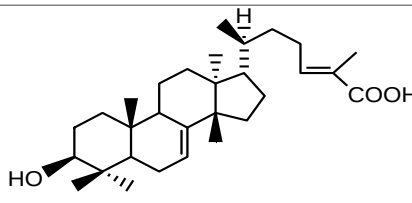
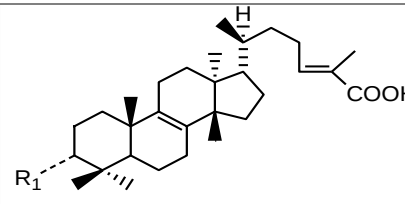
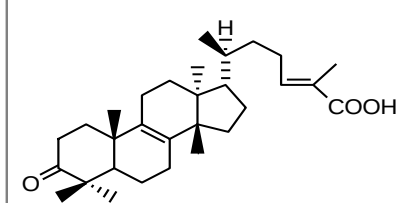
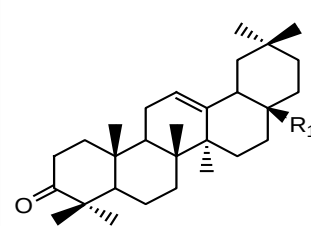
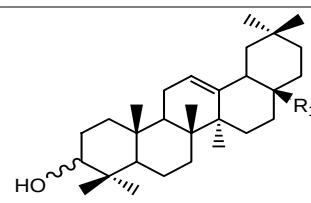
Η χημική σύσταση της μαστίχας έχει μελετηθεί και ανακαλυφθεί από τα αρχαία χρόνια και συνεχίζεται μέχρι και σήμερα. Η ρητίνη αποτελείται από μία μεγάλη ποικιλία οργανικών συστατικών, που συμπεριλαμβάνονται φυσικά πολυμερή, πτητικά και αρωματικά συστατικά, όπως αιθέρια έλαια, τερπενικά οξέα, φυτοστερόλες, πολυφαινόλες, καθώς και ένας μεγάλος αριθμός ενεργών δευτερογενών μεταβολιτών (Sharifi και συν, 2012).

Κλασματοποιώντας τη Μαστίχα Χίου, οι Paraschos και συν, το 2007, κατέληξαν στο διαχωρισμό της μαστίχας σε αδιάλυτο πολυμερικό κλάσμα, που προσδίδει τη χαρακτηριστική κολλώδη υφή της μαστίχας και σε μη πολυμερικό κλάσμα. Πιο συγκεκριμένα, το μη πολυμερικό κλάσμα διαχωρίζεται σε δύο ακόμα κλάσματα, το ουδέτερο και το όξινο. Από αυτά, το ουδέτερο κλάσμα αποτελείται κυρίως από καρβονυλικού τύπου πεντακυκλικές τερπενοειδείς ενώσεις, όπως τιρουκαλλόλη, δαμμαραδιενόνη, 3-οξύ-28-νορολεαν-12-ένη, ολεανονική αλδεΐδη, ολεανολική αλδεΐδη, β-αμυρόνη, β-αμυρίνη και ισομαστιχαδιενολική αλδεΐδη. Το όξινο κλάσμα, από την άλλη, αποτελείται, κυρίως, από τερπενικά καρβονυλικά οξέα, όπως ολεανονικό οξύ, μορονικό οξύ, 24Z-μαστιχαδιενονικό οξύ, 24Z-ισομαστιχαδιενονικό οξύ, 24Z-ισομαστιχαδιενολικό οξύ και 24Z-μαστιχαδιενολικό οξύ. Η χημική ανάλυση της Μαστίχας Χίου, σύμφωνα με τους Chadzopulu και συν, το 2011 είναι 1-3% μαστιχέλαιο, 4% α- και β-μαστιχινικό οξύ, 0.5% μαστιχολικό οξύ, 20% α-μαστιχονικό οξύ, 18% β-μαστιχονικό οξύ.

Το μαστιχέλαιο, δηλαδή η υγρή μορφή της μαστίχας, αποτελείται από πολλά αναγνωρισμένα χημικά συστατικά. Από τα 69 συστατικά του, έχουν αναγνωριστεί τα 61, από τα οποία τα έξι, α-πινένιο, β-πινένιο, β-μυρσίνη, λιναλοόλη, trans-καρυοφυλλένιο και καμφένιο περιλαμβάνουν το 65 με 80% του περιεχομένου των προϊόντων/εκχυλισμάτων. Στη μαστίχα αυτή καθ' αυτή έχουν βρεθεί τα ίδια συστατικά (Magiatis και συν, 1999, Koutsoudaki και συν, 2005) Ο συνδυασμός περισσότερων από 80 συστατικών δικαιολογεί την πολύπλευρη χρήση τους, όχι μόνο ως τρόφιμο, αλλά και στη φαρμακευτική, ιατρική και κοσμετολογία. Ο διαχωρισμός της μαστίχας στα συστατικά της και η ταυτοποίηση αυτών γίνεται με τη μέθοδο της χρωματογραφίας, είτε υγρής είτε αέριας (Sharifi και συν, 2012).

**Πίνακας 1. Ποσοστιαία αναλογία των χημικών ενώσεων της Μαστίχας Χίου (www.mastic.gr)**

| Χημική Ένωση                                 | Σύσταση (%) |
|----------------------------------------------|-------------|
| Αιθέρια έλαια – Μαστιχέλαιο                  | 1-3         |
| Μαστιχαδιενονικό οξύ                         | 8-15        |
| Ισομαστιχαδιενονικό οξύ                      | 8-15        |
| Άλλα τριτερπενικά οξέες, αλδεΐδες & αλκοόλες | 44-58       |
| Πολυ-β-μυρσένιο (φυσικό πολυμερές)           | 25-30       |

|                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                          |                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Μαστιχαδιενονικό οξύ</p>                                                                                                     |  <p>Μαστιχαδιενολικό οξύ</p>                                           |                                                                                       |
|  <p><math>R_1=OH</math>, 3-Επι-ισομαστιχαδιενολικό οξύ<br/><math>R_1=OCOCH_3</math>, 3-Ο-Ακετυλο-2-επι-μαστιχαδιενολικό οξύ</p> |  <p>Ισομαστιχαδιενονικό οξύ</p>                                      |                                                                                       |
|                                                                                                                                | <p><i>β</i>-Αμυρόνη<br/>Nor-<i>β</i>-αμυρόνη<br/>28-Υδροξυ-<i>β</i>-αμυρόνη<br/>Ολεανονική αλδεΐδη<br/>Ολεανονικό οξύ<br/>18<i>α</i>H-Ολεανονικό οξύ</p> | <p><b>R<sub>1</sub></b><br/>CH<sub>3</sub><br/>H<br/>OH<br/>CHO<br/>COOH<br/>COOH</p> |
|                                                                                                                                | <p><i>β</i>-Αμυρίνη<br/>Nor-<i>β</i>-αμυρίνη<br/>Ολεανολικό οξύ</p>                                                                                      | <p><b>R<sub>1</sub></b><br/>CH<sub>3</sub><br/>H<br/>CHO</p>                          |

**Εικόνα 6 Τα τριτερπένια του όξινου και ουδέτερου κλάσματος της ρητίνης *Pistacia lentiscus***

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΜΑΣΤΙΧΑΣ ΧΙΟΥ**

### **2.1 Γενικά**

Εξαιτίας της χημικής της σύστασης, δηλαδή της πληθώρας των τερπενικών ενώσεων και των πολυφαινολών, η Μαστίχα Χίου (MX) έχει μελετηθεί και αναγνωρίζεται για τις αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές/καρδιοπροστατευτικές, αντιμικροβιακές και χημειοπροστατευτικές της ιδιότητες. Εξάλλου η χρήση της ως θεραπευτικό μέσο ήδη από την αρχαιότητα, έχει οδηγήσει του ερευνητές να πραγματοποιούν μελέτες με σκοπό την ανάδειξη των ευεργετικών δράσεων του προϊόντος σε μία ποικιλία νοσημάτων.

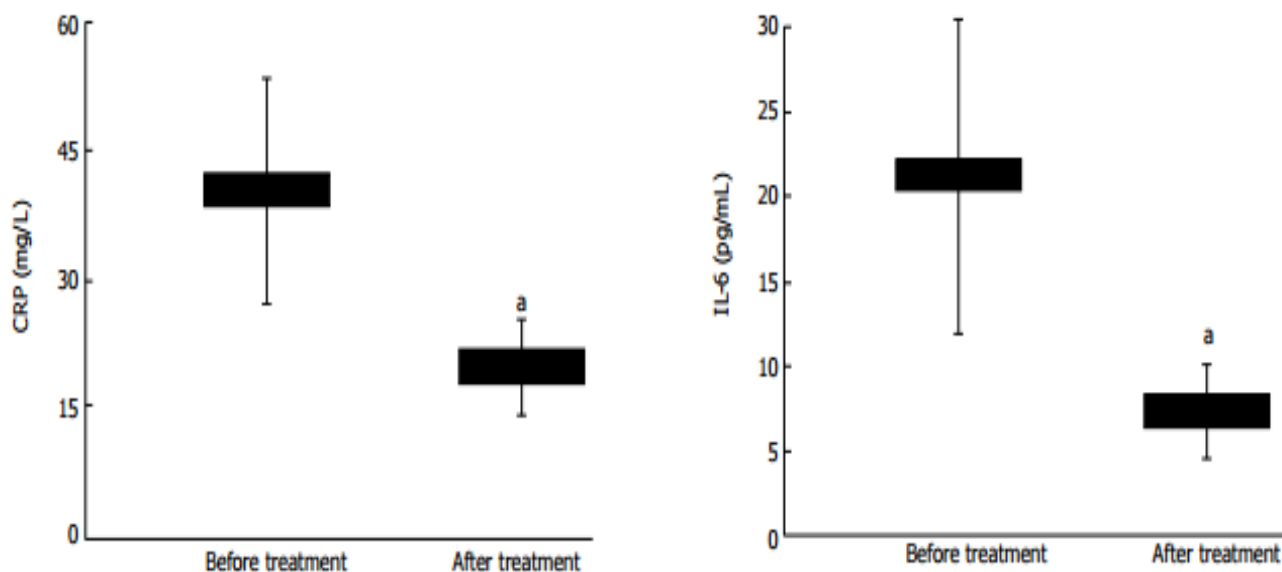
### **2.2 Αντιφλεγμονώδης δράση**

Η αντιφλεγμονώδης δράση της Μαστίχας, που έχει πολλάκις μελετηθεί, οφείλεται στη μεγάλη ποικιλία των τερπενίων που περιέχει, ολεανόνιο, ευφάνιο, λουπεόλη, α-τοκοφερόλη και πολυφαινόλες (Kaliora και συν, 2004), με τις τελευταίες να σχετίζονται με την υποτασική δράση της μαστίχας. Δεδομένου ότι κυτταροκίνες, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου α (Tumor Necrosis Factor, TNF-alpha) επάγει την παραγωγή υπεροξειδίου μέσω οξειδάσης του NADPH (ανηγμένη μορφή της Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate), ενεργοποιώντας φλεγμονώδη μονοπάτια, η φλεγμονή έχει συσχετιστεί με το οξειδωτικό στρες προκαλούμενο από τον TNF-α και την αγγειοτενσίνη II. Η παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), καθώς και η δράση της οξειδάσης του NADPH μειώνονται εξαιτίας των αντιοξειδωτικών συστατικών της μαστίχας, με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η παραγωγή του υπεροξειδίου όχι μόνο από τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, αλλά και από την πρωτεϊνική κινάση C (Protein Kinase C, PKC). Μέλη της οικογένειας των C πρωτεϊνικών κινασών αποτελούν σηματοδοτικούς μεσολαβητές ανοσολογικής απόκρισης, γι' αυτό και η αναστολές αυτών φαίνονται χρήσιμοι για τη θεραπεία πολλών ανοσολογικών ασθενειών (Triantafyllou και συν, 2011).

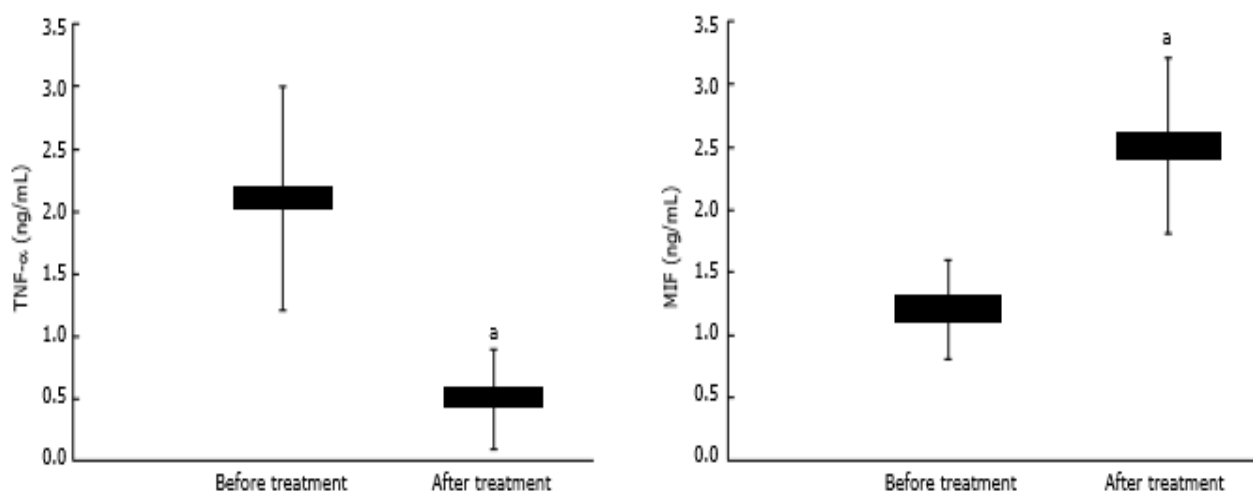
Η αντιφλεγμονώδης δράση της MX μελετήθηκε και το 2007 από μία ομάδα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Στην πιλοτική αυτή μελέτη σε ασθενείς με νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας βαρύτητας, έπειτα από ημερήσια πρόσληψη 2.2γρ MX για ένα μήνα, φάνηκε στατιστικά σημαντική μείωση στους δείκτες φλεγμονής, ιντερλευκίνη 6 (interleukin-6, IL-6), TNF-alpha και C αντιδρώσα πρωτεΐνη (C Reactive Protein, CRP) (Kaliora και συν, 2007a). Η MX, επίσης, φαίνεται να επιδρά στα απομονωμένα από τους ασθενείς περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα αίματος (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC), αναστέλλοντας την έκκριση του TNF-α και επάγοντας την έκκριση του ανασταλτικού παράγοντα μετανάστευσης μακροφάγων

(Macrophage Migration Inhibitory Factor, MIF) (Kaliora και συν, 2007b). Η αναστολή της παραγωγής τόσο του νιτρικού οξειδίου (Nitric Oxide, NO) όσο και των προσταγλανδινών (Prostaglandin E2, PGE<sub>2</sub>) από τα ενεργά μακροφάγα με τη χρήση MX, είναι άλλη μία ένδειξη της αντιφλεγμονώδους δράσης της, που οφείλεται στην κυτταροτοξική τους δράση (Braca και συν, 2011). Η μελέτη αυτή επιβεβαίωσε προηγούμενα αποτελέσματα μελέτης του 2009, στην οποία παρατηρήθηκε αναστολή της παραγωγής αυτών των προφλεγμονώδων παραγόντων τόσο σε επίπεδο πρωτεϊνών όσο και σε επίπεδο mRNA (Zhou και συν, 2009). Την ίδια περίοδο, στην μελέτη των Loizou και συν, η MX και το συστατικό της, τிருκαλλόλη, παρεμπόδισαν την προσκόλληση των μακροφάγων U937 στα ενδοθηλιακά κύτταρα αορτής (Human Aortic Endothelial Cells, HAECs) παρουσία του TNF-alpha και μείωσαν τη φωσφορυλίωση του πυρηνικού παράγοντα-κΒ (Nuclear Factor-kB, NF-kB), βασικό παράγοντα στο μονοπάτι φλεγμονής.

Επίσης, το 2011, η ομάδα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Gioxari και συν, εξετάζοντας ένα πειραματικό μοντέλο με TNBS-κολλίτιδα, παρατήρησαν ότι η MX μειώνει τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-6 (interleukin-6), IL-8 (interleukin-8), TNF-alpha και διακυτταρικό συνδετικό μόριο (Intracellular Adhesion Molecule 1, ICAM-1) στο εντερικό επιθήλιο ποντικού, σε επίπεδο mRNA και προστατεύει το εντερικό επιθηλιακό φραγμό. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Papalois και συν το 2012, αποδεικνύοντας την αντιφλεγμονώδη δράση της μαστίχας μέσω της απενεργοποίησης του NF-kB και έτσι, την έκφραση αντιαποπτωτικών γονιδίων, την παρεμπόδιση της καταστροφής του ιστού και την προστασία του εντερικού φραγμού.



*Εικόνα 8 Η συγκέντρωση της C αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) σε 10 ασθενείς με ενεργή νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας σοβαρότητας πριν και μετά την κατανάλωση 2.2g Μαστίχας Χίου για συνολικά 4 εβδομάδες (Kaliora και συν 2007a).*



*Εικόνα 8. Η επίδραση της Μαστίχας Χίου στον παράγοντα νέκρωσης όγκου α (TNF-α) και στον ανασταλτικό παράγοντα μακροφάγων (MIF) των PBMCs που απομονώθηκαν από 10 ασθενείς με ενεργή νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας σοβαρότητας. Οι συγκεντρώσεις μετρήθηκαν πριν και μετά την κατανάλωση 2.2g Μαστίχας Χίου για συνολικά 4 εβδομάδες (Kaliora και συν, 2007b).*

### **2.3 Αντιοξειδωτική – Καρδιοπροστατευτική δράση**

Η αντιαθηρογόνος δράση της MX καταδεικνύει την προστατευτική της δράση ενάντια στο οξειδωτικό στρες. Η οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (low density lipoprotein, LDL), με απόρροια τη μεταφορά της χοληστερόλης από την οξειδωμένη LDL

(oxLDL) μέσω του περιφερικού αίματος και τη συσσώρευση αυτής σε μακροφάγα στο αγγειακό τοίχωμα, οδηγούν στην εμφάνιση αθηροσκλήρωσης. Το 2003 οι Andrikopoulos και συν, έπειτα από κλασματοποίηση της MX, παρατήρησαν ότι το μαστιχέλαιο και το όξινο κλάσμα της μαστίχας μειώνουν την οξείδωση της LDL *in vitro*, με ελάχιστη και μέγιστη δόση τα 2.5mg και 50mg, αντίστοιχα. Η προστατευτική δράση της μαστίχας κυμαινόταν από 65.0% μέχρι 77.8%, με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Ύστερα από την εξέταση της επίδρασης του τερπενικού και φαινολικού κλάσματος της MX στα μονοπύρρηνα κύτταρα του περιφερικού αίματος (peripheral blood mononuclear cells, PBMC), οι Dedousis και συν το 2004, κατέληξαν στην αντιοξειδωτική και αντιαθηρογόνο δράση της. Το εκχύλισμα καταστέλλει την προκαλούμενη από την oxLDL απόπτωση των μονοκυττάρων μέσω της μείωσης της έκφρασης του υποδοχέα της oxLDL στα μακροφάγα, CD36, και της αποκατάστασης της ενδοκυττάριας αντιοξειδωτικής γλουταθειόνης (Glutathione, GSH). Μία ακόμα μελέτη έδειξε ότι έπειτα από χορήγηση 5g Μαστίχας Χίου ημερησίως, τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης ορού, της LDL, του λόγου ολική χοληστερόλη/HDL, λιποπρωτεΐνης (α), απολιποπρωτεΐνης A-1, απολιποπρωτεΐνης B, SGOT, SGPT και γ-GT μειώνονται, αποδεικνύοντας, έτσι, την καρδιοπροστατευτική και ηπατοπροστατευτική της δράση (Triantafyllou και συν, 2011).

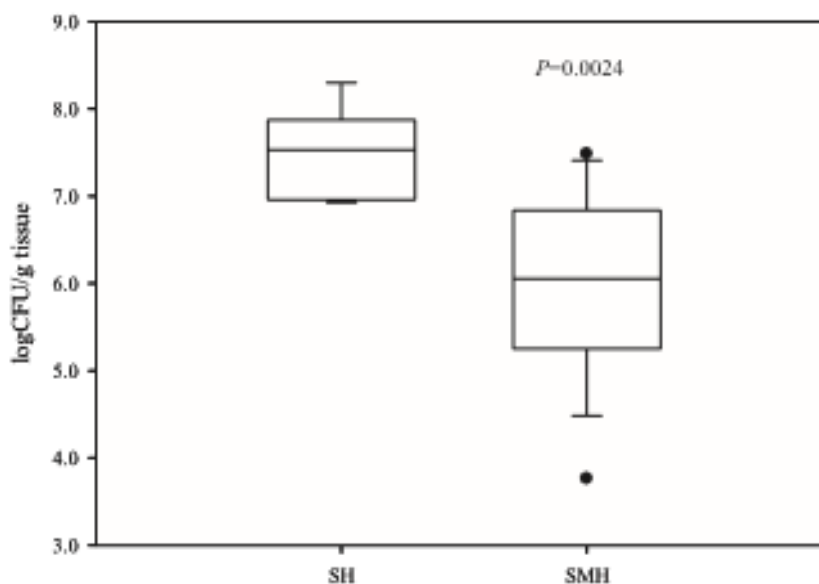
## **2.4 Αντιμικροβιακή δράση**

Πληθώρα μελετών, έχουν εξετάσει την αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας, κυρίως στη γαστρεντερική οδό. Η πλειοψηφία αυτών αφορούν τη δράση της καθ' αυτού μαστίχας, καθώς και των εκχυλισμάτων της ενάντια στο *Helicobacter pylori*, ενός Gram αρνητικού και αερόβιου βακτηρίου, που αποτελεί τη βασική αιτία για την εμφάνιση γαστρίτιδας, γαστρικού και δωδεκαδακτυλικού έλκους, καρκίνου και λεμφώματος (Dimas και συν, 2012). Μία από τις πρώτες μελέτες το 1983, έδειξε ότι η MX δρα ενάντια στο *Helicobacter pylori*. Συγκεκριμένα, μπορεί να μειώσει την αποίκιση του άντρου και του σώματος του στομάχου από το βακτήριο αυτό κατά 30 φορές (Warren & Marshall, 1983). Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και πιο πρόσφατα, το 2007, οι Paraschos και συν, οι οποίοι έπειτα από απομάκρυνση των πολυμερών και κλασματοποίηση της μαστίχας, διαπίστωσαν ότι η ιδιότητα της αυτή οφείλεται κυρίως στο όξινο κλάσμα (τριτερπένια). Αντίθετα με την παραπάνω μελέτη, οι Sharifi και συν το 2009, απέδειξαν ότι το πιο δραστικό κλάσμα της μαστίχας ενάντια στο *Helicobacter pylori* είναι τα πολυμερή.

Το *H.pylori* επάγει την παθογένεια στο γαστρικό βλεννογόνο μέσω της απελευθέρωσης πρωτεϊνών ενεργοποίησης ουδετερόφιλων (neutrophil-activation protein, NAP). Δεδομένου αυτού, οι Kottakis και συν το 2009, παρακολουθώντας τις NAP πριν και μετά από δύο μήνες

χορήγησης MX σε άτομα μολυσμένα με *H.pylori* και σε υγιή άτομα, διαπίστωσαν ότι οι πρωτεΐνες αραβινογαλακτάνης προερχόμενες από τη μαστίχα, καταστέλλουν τη δραστηριότητα των ουδετερόφιλων, δείχνοντας, έτσι, την επίδρασή τους στους έμφυτους κυτταρικούς ανοσολογικούς τελεστές. Το παραπάνω αποτέλεσμα συσχετίστηκε άμεσα με τη σαφώς βελτιωμένη κλινική εικόνα ασθενών με δυσπεψία, επιγαστρική δυσφορία και κοιλιακή διάταση. Έπειτα, οι Choli-Paradouroulou και συν το 2011, ανέφεραν τη MX ως πιθανή αντιφλεγμονώδη θεραπεία σε ασθενείς με *H.pylori*, διότι απέδειξαν ότι οι πρωτεΐνες αραβινογαλακτάνης παρεμποδίζουν την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μία διαδικασία που οφείλεται στην παρουσία του προαναφερθέντος βακτηρίου.

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες της μαστίχας, όμως, δεν περιορίζονται μόνο στο *H.pylori*. Το μαστιγέλαιο, εξαιτίας της περιεκτικότητάς του σε μονοτερπένια, καταπολεμά βακτήρια που προσβάλλουν το πεπτικό σύστημα (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) (Magiatis και συν, 1999, Katsoudaki και συν, 2005). Τέλος, η προστατευτική δράση της Μαστίχας Χίου στη στοματική κοιλότητα έχει διαπιστωθεί από τα αρχαία χρόνια. Η μείωση στους πληθυσμούς των *Streptococcus mutans* και λακτοβακίλων, έπειτα από μάσηση μαστίχας (Aksoy και συν, 2006, Aksoy και συν, 2007), καθώς και η μείωση της πλάκας και η βελτίωση της υγείας των ούλων (Takahashi και συν, 2003) είναι φανερή.



**Εικόνα 9 Η αποίκηση του *H.pylori* σε ποντίκια μολυσμένα με το βακτήριο έπειτα από συνεχή χορήγηση εκχυλίσματος Μαστίχας χωρίς πολυμερή (SMH) (n=10, δεξιά) και χωρίς θεραπεία (SH) (n=9, αριστερά) (Paraschos και συν, 2007)**

## **2.5 Χημειοπροστατευτική δράση**

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χημειοπροστατευτική δράση της Μαστίχας στον καρκίνο του μαστού, του δέρματος και του κόλου. Η δράση της αυτή οφείλεται στη μεγάλη ποικιλία των τερπενίων, που αποτελούν τα αιθέρια έλαια και τη ρητίνη της.

Χαρακτηριστική είναι η έρευνα των Maltzman και συν το 1991, όπου χορήγησαν το μονοτερπένιο, λεμονένιο πριν από τη λήψη του 7,12-διμεθυλβενζ[α]ανθρακενίου (7,12-dimethylbenz(a)anthracene, DMBA), ενός δυνητικά χημικού καρκινογόνου, προκειμένου να ελέγξουν την επίδραση του λεμονενίου στην εξέλιξη του καρκίνου του μαστού. Έτσι, παρατήρησαν ότι το μονοτερπένιο αυτό αναστέλλει την τοξικότητα του DMBA., αυξάνοντας τη νεφρική απέκκριση αυτού και των μεταβολιτών του κατά 2.3 φορές. Ταυτόχρονα, μειώνεται ο σχηματισμός συμπλόκων DMBA-DNA έως και 50% συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Επίσης, το λεμονένιο φαίνεται να εμπλέκεται στο μονοπάτι της ηπατικής αποτοξίνωσης φάσης I και II (Elegbede και συν, 1993).

Ακόμη, σε ό,τι αφορά τον καρκίνο του δέρματος η εφαρμογή διαλύματος περιλλυλ-αλκοόλης επιδερμικά σε μύες, περιορίζει την εμφάνιση μελανώματος και μειώνει το μέγεθος των όγκων σε 32mm<sup>2</sup> έναντι 100mm<sup>2</sup> της ομάδας ελέγχου (Batherlman και συν, 1998). Η χημειοπροστατευτική αυτή δράση της περιλλυλ-αλκοόλης οφείλεται στην κατά 75% αναστολή του μεταγραφικού παράγοντα AP-1, ο οποίος διεγείρεται από την έκθεση σε UVB και UVC. Θετική δράση του παραπάνω μονοτερπενίου έναντι του καρκίνου του κόλου, φάνηκε το 1997 στη μελέτη των Reddy και συν. Παρόλο που η πρόσληψη 2g περιλλυλ-αλκοόλης/Kg τροφής πριν από την επαγωγή καρκίνου στο κόλον μέσω χορήγησης αζοξομεθανίου (Azoxymethane, AOM) δεν έχει σημαντικές επιδράσεις στον επιθετικό καρκίνο, καταφέρνει να μειώσει τον αριθμό μικρών αδеноκαρκινωμάτων στο 50% της ομάδας ελέγχου ( $p<0.05$ ) και να αυξήσει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων ( $p<0.0001$ ).

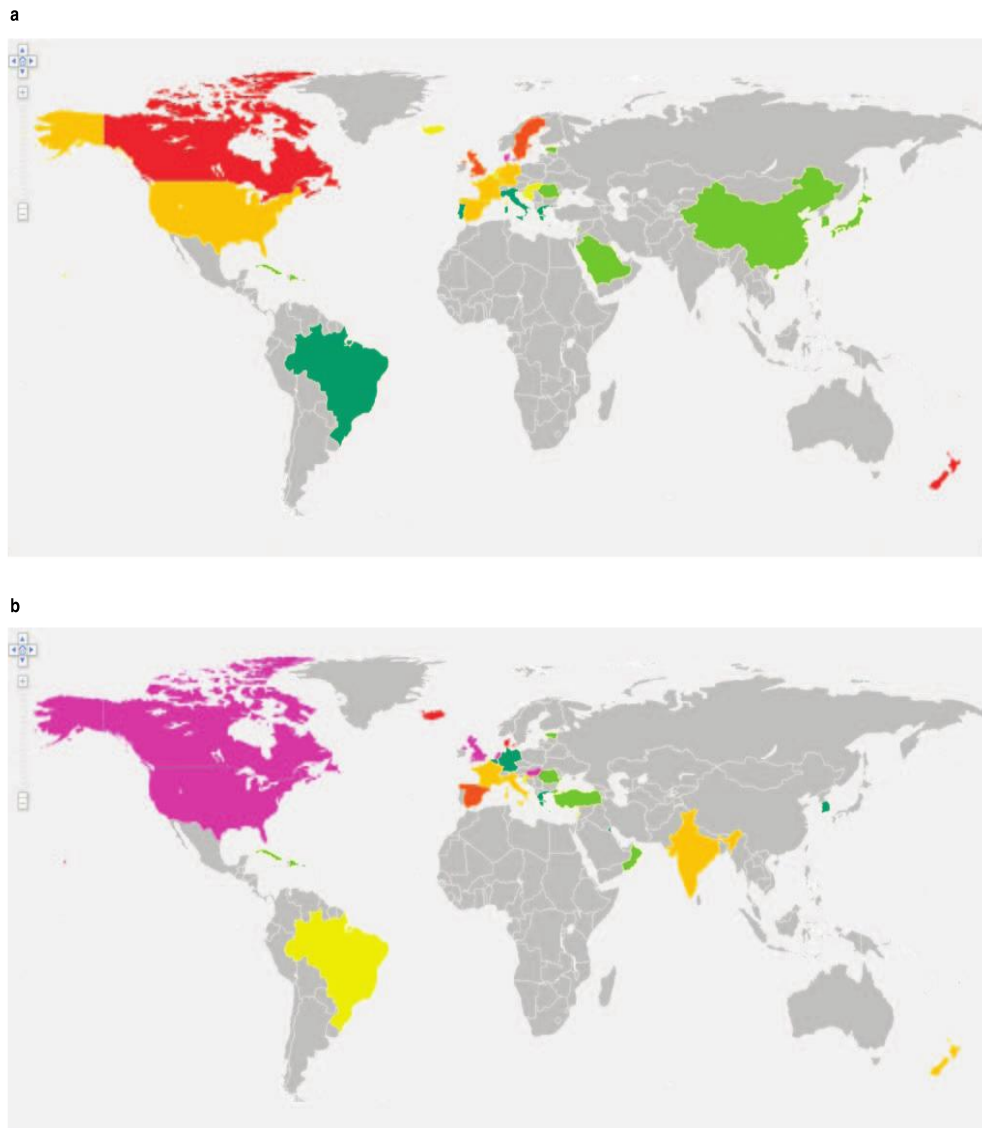
## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΝΟΣΟ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ**

### **3.1 Εισαγωγή**

Η ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (ΙΦΝΕ) είναι μία χρόνια, υποτροπιάζουσα, φλεγμονώδης διαταραχή του γαστρεντερικού σωλήνα, που συμπεριλαμβάνει την ελκώδη κολίτιδα και τη νόσο Crohn (Yulan Ye και συν, 2015). Περίπου το 50% των ασθενών με ΙΦΝΕ είναι κάτω των 40 ετών, με την ελκώδη κολίτιδα να είναι υψηλότερη στους άντρες, ενώ η νόσο Crohn στις ενήλικες γυναίκες και στα παιδιά αρσενικού φύλου (Sheila, 2016). Έχει φανεί, ότι το 25% των ασθενών διαγιγνώσκονται με ΙΦΝΕ στις πρώτες δύο δεκαετίες της ζωής τους με τις περισσότερες περιπτώσεις να εμφανίζονται στην παιδική ηλικία (μεταξύ 13- 18 ετών) και η επίπτωση, η οποία υπολογίστηκε στις 70-150 περιπτώσεις στις 100.000, να αυξάνεται στην αρχή της δεύτερης δεκαετίας, με μέγιστη ηλικία 15 με 25 ετών (Loddo and Romano, 2015).

Η ΙΦΝΕ θεωρείται πλέον μία αναδυόμενη παγκόσμια ασθένεια, που επικρατεί και εμφανίζει επίπτωση τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες (Loftus, 2004). Αρχικά, εμφανίστηκε στις Ευρωπαϊκές χώρες κατά τη βιομηχανική επανάσταση και παρουσίασε σημαντική αύξηση τον εικοστό αιώνα. Η μεγαλύτερη επικράτηση της ΙΦΝΕ παρατηρείται στη Βόρεια Ευρώπη και τον Καναδά, με σαφώς λιγότερες περιπτώσεις στην Αυστραλία, την Ασία και την Αφρική (Molodecky και συν, 2012). Οι μέχρι τώρα μελέτες δείχνουν μία τάση αύξησης στις περιπτώσεις της ελκώδους κολίτιδας ακολουθούμενες από τη νόσο Crohn (Sales-Campos και συν, 2015). Μέχρι τώρα, η υψηλότερη ετήσια επίπτωση της νόσου στην Ευρώπη είναι 24,3 ανά  $10^5$  ανθρωποέτη για την ελκώδη κολίτιδα και 12,7 ανά  $10^5$  ανθρωποέτη για τη νόσο Crohn, ενώ στη Β. Αμερική είναι 19,2 ανά  $10^5$  ανθρωποέτη για την ελκώδη κολίτιδα και 20,2 ανά  $10^5$  ανθρωποέτη για τη νόσο Crohn. Στην Ασία, η επίπτωση είναι σαφώς μικρότερη και παρουσιάζεται στα 6,5 ανά  $10^5$  ανθρωποέτη για την ελκώδη κολίτιδα έναντι των 5 ανά  $10^5$  ανθρωποέτη στη νόσο Crohn. Οι υψηλότερες τιμές για την επικράτηση της ΙΦΝΕ αναφέρονται στην Ευρώπη με 505 περιπτώσεις ανά  $10^5$  άτομα για την ελκώδη κολίτιδα και 322 περιπτώσεις ανά  $10^5$  άτομα για τη νόσο Crohn, καθώς και στη Β. Αμερική με 249 περιπτώσεις ανά  $10^5$  άτομα για την ελκώδη κολίτιδα και 319 περιπτώσεις ανά  $10^5$  άτομα για τη νόσο Crohn (M'Koma, 2013).

Σε πρόσφατη συστηματική κριτική, ο Molodecky και οι συνεργάτες του αναφέρουν σημαντική αύξηση στην επίπτωση της ΙΦΝΕ στην Αυστραλία, την Ασία και την Αφρική, όπου οι περιπτώσεις ήταν λιγότερες. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει τη σημασία του περιβαλλοντικού παράγοντα στην εμφάνιση της νόσου, ωστόσο σημαντική είναι και η έλλειψη επαρκούς και κατάλληλης ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης και θεραπείας στις αναπτυσσόμενες χώρες.



*Εικόνα 10. Ποσοστά παγκόσμιας επίπτωσης της ΙΦΝΕ*

*α) Δεδομένα για νόσο Crohn      β) Δεδομένα για ελκώδη κολίτιδα.*

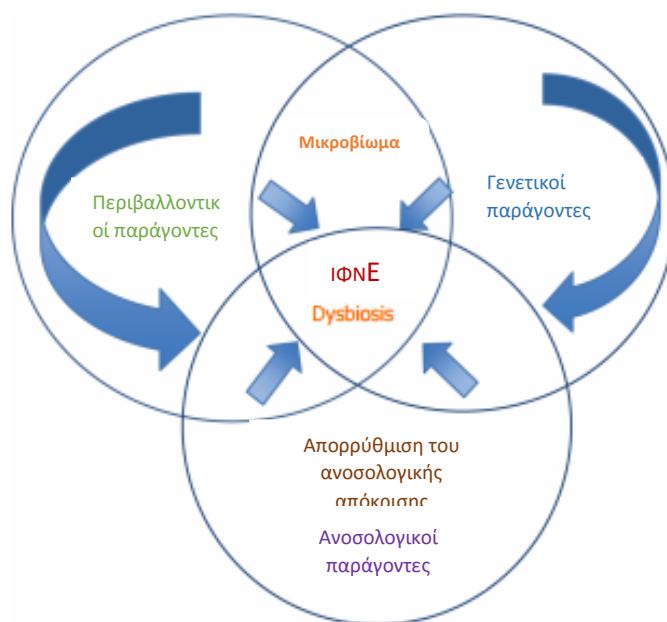
*( γκρι=μη διαθέσιμα δεδομένα, ανοιχτό πράσινο=0-1.9, σκούρο πράσινο=2-3.9, κίτρινο=4-5.9, ανοιχτό πορτοκαλί=6-7.9, σκούρο πορτοκαλί=8-9.9, ροζ=10-12, κόκκινο>12 ανά 100000 άτομα ) (Talley και συν, 2011)*

## **3.2 Παθογένεια**

### **3.2.1 Γενικά**

Η αιτιολογία και η παθογένεια της ΙΦΝΕ δεν είναι πλήρως κατανοητή. Παρόλα αυτά, είναι αποδεκτό ότι οφείλεται σε ένα συνδυασμό παραγόντων που αφορούν στο περιβάλλον, στο γονιδίωμα και στο εντερικό μικροβίωμα και επηρεάζουν τη φυσιολογική απόκριση του

ανοσοποιητικού συστήματος, οδηγώντας, έτσι, στην εμφάνιση της νόσου (Yulan Ye και συν, 2015).



**Εικόνα 11. Σχηματική απεικόνιση των παραγόντων κινδύνου που συμβάλλουν στην ανάπτυξη της ΙΦΝΕ (Abegunde και συν, 2016)**

### **3.2.2 Γενετικοί παράγοντες**

Υπάρχουν ενδείξεις ότι τόσο η νόσος Crohn όσο και η ελκώδη κολίτιδα είναι αποτέλεσμα γενετικής προδιάθεσης με πολλαπλά γονίδια ευαισθησίας, μερικά κοινά και για τις δύο ασθένειες και άλλα ειδικά για κάθε μία απ' αυτές. Έχει φανεί ότι μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΙΦΝΕ έχουν εκείνοι με πάσχοντες συγγενείς, με σχετικό κίνδυνο 13-30 για τη νόσο Crohn και 7-17 για την ελκώδη κολίτιδα. (Weronica και συν, 2014). Όταν δε η συγγένεια είναι πρώτου βαθμού ο κίνδυνος είναι σαφώς μεγαλύτερος από την περίπτωση δευτέρου βαθμού και δεκαπλάσιος από την περίπτωση του γενικού πληθυσμού (Sheila, 2016). Επίσης, παιδιά των οποίων και οι δύο γονείς έχουν διαγνωστεί με ΙΦΝΕ έχουν 35-52% μεγαλύτερο κίνδυνο παρουσίασης της νόσου (Weronica και συν, 2014). Κλινικές μελέτες μεταξύ οικογενειών με νόσο Crohn, συμφωνούν σε μεγάλο βαθμό στην εντόπιση και την πορεία της νόσου, στην ηλικία διάγνωσής της, στις εξωεντερικές εκδηλώσεις και στον αριθμό των εκτομών του παχέος εντέρου. Από την άλλη, λιγότερη συμφωνία εντοπίζεται σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα. Το γεγονός αυτό δηλώνει ότι η συνεισφορά των γονιδίων είναι ισχυρότερη για την παθογένεια της νόσου Crohn απ' ότι της ελκώδους κολίτιδας και μάλιστα, όπως αποδεικνύεται από μελέτες διδύμων, με εικοσιεξαπλάσιο κίνδυνο για την πρώτη έναντι του εννεαπλάσιου της δεύτερης,

όταν κάποιο από τα αδέρφια υποφέρει (Uhlig και συν, 2014). Παιδιά των οποίων η μητέρα υποφέρει από νόσο Crohn, είναι πάνω από 35 ετών και καπνίζει, παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της ίδιας ασθένειας, ενώ παρόμοιες περιγεννητικές συσχετίσεις δεν έχουν παρατηρηθεί για την περίπτωση της ελκώδους κολίτιδας (Sheila, 2016).

Μελέτες σχετικές με το γονιδίωμα έχουν αναγνωρίσει πάνω από 200 γενετικούς τόπους, υπεύθυνους για την ΙΦΝΕ. Κάποιοι γενετικοί τόποι είναι ειδικοί για την ασθένεια, όπως ο IBD1, που σχετίζεται μόνο με τη νόσο Crohn, ενώ άλλοι σχετίζονται τόσο με τη νόσο Crohn όσο και με την ελκώδη κολίτιδα (Weronica και συν, 2014). Το 2001, ο Hugot και οι συνεργάτες του αναγνώρισαν το NOD2 εντός του IBD1, ως το πρώτο γονίδιο ευαισθησίας για τη νόσο Crohn. Το NOD2 αποτελείται από δύο τμήματα αμινοτελικών κασπασών (CARDs), ένα κεντρικό τμήμα σύνδεσης νουκλεοτιδίου και πολλαπλές επαναλήψεις λευκίνης (LRRs) στο καρβοξυτελικό άκρο. Τρεις πολυμορφισμοί στο NOD2 συσχετίστηκαν με τη νόσο, ένας που αφορούσε μετάλλαξη πλαισίου ανάγνωσης και δύο μη συνώνυμους πολυμορφισμούς (λανθασμένου νοήματος) (Hugot και συν, 2001). Άλλες μελέτες σχετικές με το γονιδίωμα, που έγιναν μεταγενέστερα, αναγνώρισαν και άλλα γονίδια ευαισθησίας για τη νόσο Crohn. Για παράδειγμα, το 2005, ο Yamazaki και οι συνεργάτες του, συσχέτισαν πολυάριθμους πολυμορφισμούς (SNPs) στο TNFSF15 με την εμφάνιση της ασθένειας, ενώ το 2006 το ILR23R προστέθηκε στα ήδη αναγνωρισμένα γονίδια κινδύνου (Duerr και συν, 2006). Το 2009, η διεθνής κοινοπραξία της γενετικής της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium, IIBDGC), παρουσίασε την πρώτη σχετική με τη νόσο Crohn μετα-ανάλυση και επιβεβαίωσε 32 γενετικούς τόπους (Barrett και συν, 2008), ενώ στη δεύτερη μετα-ανάλυση, το 2010 προστέθηκαν ακόμη 39 γενετικοί τόποι (Franke και συν, 2010).

Σε ό,τι αφορά την ελκώδη κολίτιδα, η πρώτη σχετικά με το γονιδίωμα μελέτη έγινε το 2008, από την οποία αναγνωρίστηκαν τρεις γενετικοί τόποι (MHC, ECM1, MST1), που σχετίζονται με την ασθένεια. Αλλαγές στο ECM1, το οποίο φαίνεται να ενεργοποιεί τη σηματοδότηση του παράγοντα NF-kB, είναι δείκτες για την εμφάνιση της ασθένειας (Fischer και συν, 2008). Προηγούμενες μελέτες είχαν αναγνωρίσει 18 γενετικούς τόπους ευαίσθητους για την ελκώδη κολίτιδα, αλλά το 2011, μία μετα-ανάλυση από έξι σχετικές με το γονιδίωμα μελέτες που αφορούσαν την ελκώδη κολίτιδα κατέληξαν στους 47 (Anderson και συν, 2011). Ο IIBDGC, το 2012, σε μία από τις μεγαλύτερες μετα-αναλύσεις σε 75.000 ασθενείς με ΙΦΝΕ αναγνώρισαν 163 γονίδια ευαισθησίας, με τα περισσότερα κοινά μεταξύ νόσου Crohn και ελκώδους κολίτιδας και τα άλλα ειδικά για τις δύο διαταραχές (Jostins και συν, 2012). Η μεγαλύτερη βιολογική διαφορά μεταξύ των δύο ασθενειών είναι το γονίδιο NOD2, εμφανίζοντας σημαντικά προστατευτικά αποτελέσματα στην ελκώδη κολίτιδα.

Όμως, οι μέχρι τώρα μελέτες δεν έχουν βρει σημαντική γονοτυπική και φαινοτυπική συσχέτιση. Στην πιο πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη του Cleynen και των συνεργατών του, το 2016, σε περίπου 30.000 ασθενείς με ΙΦΝΕ μόνο 3 γενετικοί τόποι (NOD2, MHC και MST1 3p21) παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με του υποφαινότυπους της ΙΦΝΕ και κυρίως με το σημείο εντόπισης της κάθε ασθένειας. Με αυτόν τον τρόπο, δόθηκαν καινούριες προοπτικές για τη διάγνωση της νόσου.

### **3.2.3 Μικροβίωμα**

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη σημασία του εντερικού μικροβιώματος και τη λειτουργία του βλεννογόνου φραγμού στην παθοφυσιολογία της ΙΦΝΕ (Kostic και συν, 2014, Merga και συν, 2014). Σε υγιείς καταστάσεις, υφίσταται ομοιόσταση μεταξύ εντερικού μικροβιώματος, βλεννογόνου φραγμού και ανοσοποιητικού συστήματος. Σε περίπτωση ΙΦΝΕ, όμως, η ομοιόσταση διαταράσσεται από την παρουσία ευκαιριακών οργανισμών, όπως βακτήρια, μύκητες και ιοί, οδηγώντας σε διαρκείς αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα (dysbiosis), διαταραγμένη λειτουργία φραγμού (διαρρέων έντερο) και ενεργοποίηση ανοσοποιητικού συστήματος (φλεγμονή), με κατάληξη την πρόκληση ΙΦΝΕ, κυρίως σε γενετικά ευαίσθητα άτομα (Stephen και συν, 2016, Abegunde και συν, 2016).

Το μεγαλύτερο ποσοστό των βακτηρίων ανήκει στα φύλα *Bacteroides* (gram αρνητικά βακτήρια) και *Firmicutes* (gram θετικά βακτήρια), ενώ τα φύλα *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* και *Verrucomicrobia* απαντώνται λιγότερο (Eckburg και συν, 2005). Ανάλυση του μικροβιώματος με αλληλούχιση του 16s rRNA επιβεβαίωσε τη σημαντική διαφορά του μικροβιώματος μεταξύ υγιών και ατόμων με ΙΦΝΕ (Matijasic και συν, 2016). Σαφής μείωση έχει παρατηρηθεί στα *Firmicutes* και συγκεκριμένα, στις ομάδες IV και XIVa του γένους *Clostridium*, τα οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες, διεγείρουν τα ρυθμιστικά T-κύτταρα, οδηγώντας στη ανοχή του ανοσοποιητικού και στον περιορισμό της φλεγμονής του γαστρεντερικού (Atarashi και συν, 2011). Στις παραπάνω ομάδες, τα *Bifidobacteria* και το είδος *Faecalibacterium prausnitzii*, που προβλέπει την επανεμφάνιση της εντοπισμένης στον ειλεό νόσο Crohn έπειτα από ειλεοκτομή (Sokol και συν, 2008), καθώς και το είδος *Clostridium difficile*, υφίστανται χαρακτηριστική μείωση, με το τελευταίο να αποτελεί βασικό παράγοντα διάγνωσης για διάρροια λόγω φλεγμονής (Antharam και συν, 2013). Σε ασθενείς με ελκώδη, από την άλλη, διάφορα είδη λακτοβακίλων φάνηκαν σημαντικά λιγότερα σε ασθενείς με ενεργή φλεγμονή, όταν συγκρίθηκαν με ασθενείς σε ύφεση (Bullock και συν, 2004). Πέραν της μείωσης, σημαντική αύξηση έχει εντοπιστεί σε βακτήρια του γένους *Enterobacteriaceae* (φύλο *Proteobacteria*) και συγκεκριμένα, στα παθογόνα του εντέρου *Campylobacter* spp, *Salmonella*

spp, *Shigella* spp, A.I. *E.coli*, εντεροπατικό *Helicobacter* (Darfeuille-Michaud και συν, 2004). Άλλες μελέτες έχουν δείξει αύξηση στα εξωκυτταρικά βακτήρια *Mycobacterium Paratuberculosis* (McNees και συν, 2015) και στη A.I. *E.coli* στη νόσο Crohn (Darfeuille-Michaud και συν, 2004), ενώ στο A.I. *Fusobacterium* στην ελκώδη κολίτιδα (Strauss και συν, 2011). Παρόλ' αυτά, παραμένει ακόμα ασαφές σε ποιο βαθμό αυτές οι αυξήσεις είναι οι κινητήριες δυνάμεις για τη διαδικασία της φλεγμονής ή ευκαιριακά συνεισφέρουν σε μία ήδη καθιερωμένη φλεγμονή (Hajishengallis και συν, 2012, Chow και συν, 2011).

Επιπροσθέτως, πρόσφατες μελέτες έχουν αρχίσει να διερευνούν το ρόλο των μυκήτων και των ιών, ως παράγοντες ή βιοδείκτες της ΙΦΝΕ, καθώς έχει παρατηρηθεί αύξηση στον πληθυσμό αυτών. Ο πολυμορφισμός του C-type υποδοχέα λεκτίνης dectin 1 (CLEC7A) φαίνεται να αλληλεπιδρά με τον κόσμο των μυκήτων, οδηγώντας σε σοβαρή ελκώδη κολίτιδα (Hien και συν, 2012). Ιοί, όπως Cytomegalovirus, ebstein barr ιός και ο ιός του ανθρώπινου έρπητα, φαίνεται να συμμετέχουν ισχυρά στην έξαρση της νόσου (Abegunde και συν, 2016). Παρασιτικοί σκώληκες, ακόμη, που επικοινωνούν με το έντερο φαίνεται να έχουν ανοσορρυθμιστικό ρόλο, η έλλειψη των οποίων αιτιολογεί την μείωση του επιπολασμού της ΙΦΝΕ στις αναπτυσσόμενες χώρες (Weinstock and Elliott, 2009).

Επίσης, ο φραγμός του εντερικού βλεννογόνου αντιδρά διαφορετικά σε ασθενείς με ΙΦΝΕ. Παρόλο που σε υγιείς φάσεις, η μικροχλωρίδα δεν έρχεται σε επαφή με τα επιθηλιακά κύτταρα, που είναι ενωμένα μέσω πρωτεϊνών-συνδέσμων (Hooper and Macpherson 2010, Turner, 2009), στην ΙΦΝΕ, ο βλεννογόνος φραγμός καταστρέφεται, έχοντας ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας και έτσι, την αλληλεπίδραση της μικροχλωρίδας με τα επιθηλιακά κύτταρα και άρα την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος (Merga και συν, 2014, Johansson και συν, 2014). Η μειωμένη γλυκοζυλίωση (Theodoratou και συν, 2014), καθώς και η μείωση στους αντιμικροβιακούς παράγοντες (Hooper and Macpherson, 2010) στο εντερικό βλεννογόνο, που έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με ΙΦΝΕ, διαταράσσουν το εσωτερικό στρώμα του βλεννογόνου, γεγονός που επάγει την αύξηση της διαπερατότητας των επιθηλιακών κυττάρων και ως εκ τούτου τη φλεγμονή.

### **3.2.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες**

Δεδομένου ότι η συμφωνία στα μονοζυγωτικά δίδυμα είναι μόνο 15-20% στην ελκώδη κολίτιδα και λιγότερο από 50 % στη νόσο Crohn και ότι τόσο μεταξύ διδύμων αλλά και συγγενών μπορεί να έχει παρατηρηθεί ένα φυσιολογικό έντερο ή αλλαγές στη μικροχλωρίδα, χωρίς, όμως, εμφάνιση ΙΦΝΕ, έχει προταθεί ότι ναι μεν τα γονίδια προδιαθέτουν για εντερική δυσλειτουργία, αλλά άλλοι μη γενετικοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι για την έναρξη της ασθένειας (Stephen και συν, 2016, Abegunde και συν, 2016). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως οι συνθήκες υγιεινής, η δυτικού τύπου διατροφή, τα φάρμακα, το κάπνισμα, το στρες κ.α., έχουν αλλάξει τους μικροβιολογικούς μηχανισμούς της ανοσολογικής ανοχής και αυξάνουν τον επιπολασμό τόσο της νόσο Crohn όσο και της ελκώδους κολίτιδας, επιδρώντας κατά κύριο λόγο στο μικροβίοκοσμο του εντέρου και στη λειτουργία του βλεννογόνου φραγμού. (Noverr and Huffnagle, 2005, Leong και συν, 2016, Stephen και συν, 2016).

#### **Κάπνισμα**

Το κάπνισμα είναι ένας από τους πρώτους περιβαλλοντικούς παράγοντες που βρέθηκε να σχετίζεται με την ΙΦΝΕ. Παρουσιάζει, όμως, αντίθετα αποτελέσματα στα δύο είδη ασθενειών. Στη μεν ελκώδη κολίτιδα δρα προστατευτικά, με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου για όσους διακόπτουν το κάπνισμα, στη δε νόσο Crohn, η αύξηση του καπνίσματος αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (Higuchi και συν, 2012). Ο δρών μηχανισμός, όμως, δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός. Στην ελκώδη κολίτιδα ίσως περιλαμβάνει τη μείωση της παραγωγής του TNF- $\alpha$ , μέσω της δράσης της νικοτίνης στο νικοτινικό υποδοχέα  $\alpha 7$  ακετυλοχολίνης, την αύξηση της παραγωγής της ιντερλευκίνης IL-10, λόγω του CO<sub>2</sub> του καπνού, τη μείωση της έκφρασης της IL-8, την υποαιμάτωση του ορθού και την άμεση καταστροφή του ιστού του παχέος εντέρου. Στη νόσο Crohn, από την άλλη, η αύξηση του CO<sub>2</sub> προκαλεί βλάβη στην αγγειοδιασταλτική ικανότητα των χρόνια φλεγμονωδών αγγείων, προκαλώντας ισχαιμία και διατηρώντας την έλκωση και την ίνωση (Johnson και συν, 2005).

#### **Διατροφή**

Η διατροφή έχει φανεί να συσχετίζεται με την εμφάνιση της ΙΦΝΕ καθώς επηρεάζει τη φλεγμονή του εντέρου ποικιλοτρόπως, αλλάζοντας την εντερική μικροχλωρίδα ή επιδρώντας στη διαπερατότητα του γαστρεντερικού. Γενικά, έχει διαπιστωθεί ότι η χαμηλή κατανάλωση  $\omega$ -3 λιπαρών οξέων και η αυξημένη κατανάλωση  $\omega$ -6, καθώς και η υιοθέτηση του δυτικού τρόπου ζωής, υψηλού σε λίπος και ζάχαρη και ελλιπή σε φυτικές ίνες αυξάνουν τον επιπολασμό της ΙΦΝΕ (Setiawan και συν, 2007, Yulan Ye και συν, 2015). Η αρνητική επίδραση των

κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων, οφείλεται στις αλλαγές που προκαλούν στο εντερικό μικροβίωμα και στους Toll-like υποδοχείς των μακροφάγων (Abegunde και συν, 2016). Το 2013 διαπιστώθηκε ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, τροφίμων πλούσια κυρίως σε διαλυτές φυτικές ίνες, μείωσε τον κίνδυνο για την εμφάνιση της νόσο Crohn, αλλά όχι της ελκώδους κολίτιδας (Ananthakrishnan και συν, 2013). Νωρίτερα, το 2011, είχε βρεθεί ότι η μείωση αυτή φτάνει στο 78-80% (Hou και συν, 2011). Ο προστατευτικός αυτός ρόλος των διαλυτών φυτικών ινών μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι οι τελευταίες μεταβολίζονται από την εντερική μικροχλωρίδα σε βραχείας αλυσού λιπαρά οξέα, τα οποία μπορούν να αναστείλουν τη μεταγραφή των προφλεγμονώδων μεσολαβητών. Η θετική επίδραση της Μεσογειακής διατροφής επιβεβαιώθηκε και για την εμφάνιση της ΙΦΝΕ, το 2013 από τον Marlow και τους συνεργάτες του, παρατηρώντας μείωση της φλεγμονής και σταθεροποίηση του εντερικού μικροβιώματος σε ασθενείς με ΙΦΝΕ.

Τέλος, σημαντικές είναι οι ενδείξεις για την αποτελεσματικότητα της χορήγησης Βιταμίνης D σε άτομα με ΙΦΝΕ (Abegunde και συν, 2016, Yulan Ye και συν, 2015) και για τον τρόπο θρέψης (μητρικός θηλασμός ή υποκατάστατα), καθώς επηρεάζει τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας, αποτελώντας μακροχρόνιο αντίκτυπο στον επιπολασμό της ΙΦΝΕ (Barclay και συν, 2009).

### Στρες και Ύπνος

Το στρες έχει χαρακτηριστεί απειλή για την ομοιόσταση και επικίνδυνο για αυξημένη υποτροπή ασθενών τόσο με νόσο Crohn όσο και με ελκώδη κολίτιδα, άρα και σημαντικό για την παθογένεια της νόσου (Bitton και συν, 2008, Gerbarg και συν, 2015). Νευρικά μονοπάτια από το συμπαθητικό και παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα, τα οποία ενεργοποιούνται από το στρες, συνδέονται με το εντερικό νευρικό σύστημα, το οποίο ελέγχει την ενδοκρινή και γαστρεντερική κινητικότητα (Yulan Ye και συν, 2015). Όσον αφορά τον ύπνο, έχει διαπιστωθεί ότι έχει ισχυρή συσχέτιση με την ΙΦΝΕ και άλλες φλεγμονώδεις νόσους. Οι κυτταροκίνες που παράγονται λόγω χρόνιας φλεγμονής, ρυθμίζουν τον ύπνο, οδηγώντας στην ανωμαλία αυτού (Dickstein and Moldofsky, 1999).

### **3.2.5 Ανοσολογικοί παράγοντες**

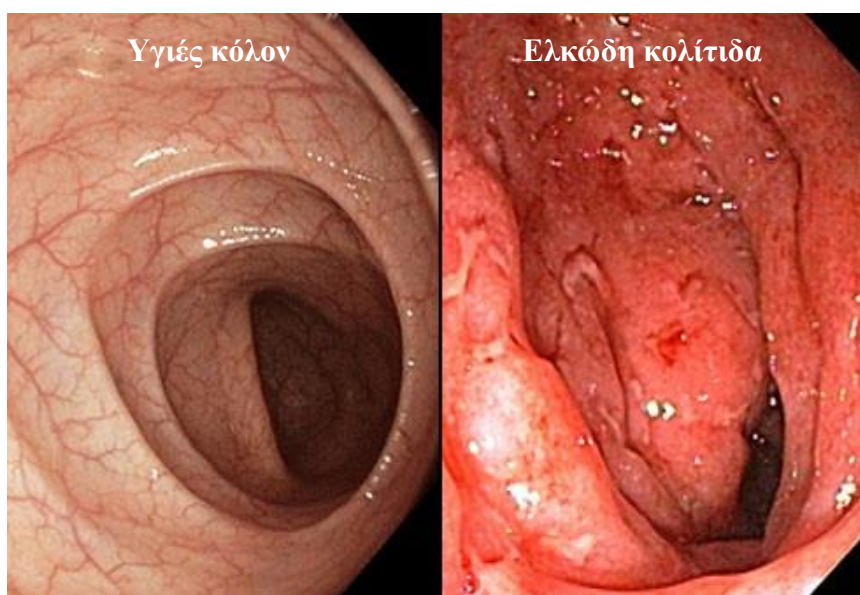
Η φλεγμονή τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις όσο και σε στρεσογόνες καταστάσεις ρυθμίζεται από τη μεσολάβηση των κυτταροκινών και από τη διατήρηση ή όχι της ομοιόστασης του ανοσοποιητικού συστήματος. Η υπερπαραγωγή προφλεγμονώδων κυτταροκινών, όπως TNF-alpha, IL-1, IL-6 και IL-8, η παρουσία ενεργών φλεγμονωδών κυττάρων, όπως

μακροφάγων, ουδετερόφιλων και μονοκύτταρων, καθώς και η εκτεταμένη παραγωγή των ROS, διαταράσσουν την ισορροπία του ανοσοποιητικού συστήματος και συμβάλλουν σημαντικά στην παθογένεια της ΙΦΝΕ (Peng Sun και συν, 2013).

### **3.3 Συμπτωματολογία**

Οι περισσότεροι ασθενείς με ΙΦΝΕ περνάνε φάσεις ύφεσης και έξαρσης διαφορετικής διάρκειας. Η φάση ύφεσης για χρόνια, μπορεί να διακοπεί από μία περίοδο υποτροπής και η νόσος μπορεί να εντοπίζεται είτε στο ίδιο σημείο του γαστρεντερικού σωλήνα, είτε σε διαφορετικό (Sheila, 2016). Η ΙΦΝΕ χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλία σημάτων και συμπτωμάτων, όπως διάρροια, συρίγγια, κοιλιακό άλγος, στένωση και καρκίνο του παχέος εντέρου, τα οποία έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής των ασθενών (Zhang and Li, 2014, Tharian και συν, 2015).

Οι διαφορές μεταξύ ελκώδους κολίτιδας και νόσου Crohn είναι αισθητές τόσο στον εντοπισμό της κάθε νόσου όσο και στα συμπτώματα που παρουσιάζουν. Στην ελκώδη κολίτιδα η φλεγμονή ξεκινάει από το κόλον και συνεχίζει προς τον πρωκτό με συμμετρικό, περιμετρικό και συνεχή τρόπο και προχωράει μέχρι και όλο το μήκος του παχέος εντέρου. Η μορφή αυτή της ΙΦΝΕ χαρακτηρίζεται από ελκώσεις, οίδημα και αιμορραγία στο κόλον με τη φλεγμονή να περιορίζεται στη βλεννογόνιο και υποβλεννογόνιο περιοχή. Ιστολογικά, η ελκώδη κολίτιδα σχετίζεται με πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα και μονοπύρρηνα κύτταρα. Τα αποστήματα κρύπτως, η παραμόρφωση του βλεννογόνου αδένου, καθώς και η εξάντληση των goblet κυττάρων είναι πιθανά συμπτώματα ατόμων με ελκώδη κολίτιδα (Sheila, 2016).



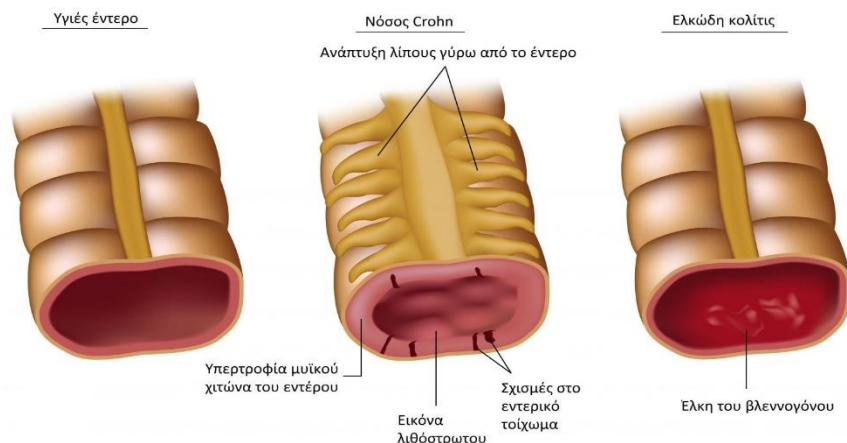
*Εικόνα 12. Υγιές κόλον (αριστερά) και ελκώδη κολίτιδα (δεξιά)*

Η νόσος Crohn, από την άλλη, εντοπίζεται σε οποιαδήποτε περιοχή του γαστρεντερικού σωλήνα από το στόμα έως και τον πρωκτό. Χαρακτηρίζεται από εστιακή, ασύμμετρη και διατοιχωματική φλεγμονή του λεπτού εντέρου και του κόλου, καθώς επίσης και από διακοπτόμενη έλκωση και φλεγμονή του εντερικού τοιχώματος, με υγιείς περιοχές να εντοπίζονται μεταξύ των προσβεβλημένων τμημάτων. Η φλεγμονή στην περίπτωση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε επιφανειακές ελκώσεις, στενώσεις, αποστήματα και συρίγγια. Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά αυτής της νόσου αποτελούν η παχιά υποβλεννογόνιος και διατοιχωματική φλεγμονή, η εξέλκωση και τα νεκρωτικά κοκκιώματα (Sheila, 2016).



*Εικόνα 13. Νόσος Crohn (ενδοσκοπική εικόνα)*

Τόσο η νόσος Crohn όσο και η ελκώδη κολίτιδα είναι διαταραχές, που επηρεάζουν και άλλα όργανα πέρα από το γαστρεντερικό σωλήνα. Οι εξωεντερικές αυτές εκδηλώσεις αφορούν το δέρμα, τα μάτια, τους συνδέσμους, τη χοληφόρο οδό και τους πνεύμονες και συμπεριλαμβάνουν διαταραχές του μυοσκελετικού συστήματος (περιφερική αρθρίτιδα), βλεννογονοδερματικές ασθένειες (οζώδες ερύθημα), οφθαλμικές (πρόσθια ραγοειδίτιδα), ηπατικές (πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα), παγκρεατικές (οξεία παγκρεατίτιδα), παθήσεις του αίματος και των αγγείων (θρομβοεμβολικά επεισόδια), των νεφρών (πρωτεϊνουρία), βρογχοπνευμονικές ασθένειες (χρόνια βροχίτιδα), καρδιακές ασθένειες (περικαρδίτιδα) και νευρολογικές (πολλαπλή σκλήρυνση). (Rothfuss και συν, 2006)



**Εικόνα 14. Απεικόνιση εντέρου σε υγιή κατάσταση, σε νόσο Crohn και σε ελκώδη κολίτιδα**

### **3.4 Διάγνωση**

Η διάγνωση της ΙΦΝΕ στηρίζεται σε ένα συνδυασμό ιστορικού ασθένειας, κολονοσκόπησης, φλεγμονωδών δεικτών και ιστολογικής αξιολόγησης. Η σχετική ομοιότητα που υφίσταται μεταξύ των συμπτωμάτων ελκώδους κολίτιδας και νόσου Crohn οδηγεί κάποιες φορές σε σφάλματα στην προσπάθεια διάκρισής τους. Ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα παρουσιάζουν, αιματηρή διάρροια ή τεινεσμό και ο πόνος εντοπίζεται στο κάτω αριστερό τεταρτημόριο της κοιλιάς με περιφερική νόσο και μπορεί να επεκταθεί σε ολόκληρη την κοιλιακή περιοχή με πανκολίτιδα. Η διάγνωση της ελκώδους κολίτιδας βασίζεται στην παρουσία αίματος και βλέννας στα κόπρανα, καθώς και στην αίσθηση κράμπας στο κάτω μέρος της κοιλιακής περιοχής, η οποία είναι πιο έντονη κατά την κινητικότητα του εντέρου. Σε ό,τι αφορά τη διάγνωση ασθενών με νόσο Crohn εντοπίζεται συχνά καθυστέρηση, εξαιτίας της αδρής παρουσίας των συμπτωμάτων. Ο κοιλιακός πόνος, η χρόνια διάρροια ή η διάρροια κατά τη διάρκεια της νύχτας, η αιμορραγία από το ορθό, η απώλεια βάρους, ο πυρετός και η κόπωση είναι κάποια από τα συμπτώματα της νόσου. Εάν υπάρχει ειλεοκολονική συμβολή, οι ασθενείς παρουσιάζουν πόνο στην περιομφάλιο περιοχή μετά το φαγητό. Η ναυτία, η έμεση, ο επιγαστρικός πόνος, ο πρόωρος κορεσμός και η δυσφαγία είναι τα αποτελέσματα της δωδεκαδακτυλικής νόσου, ενώ η συμβολή του λεπτού εντέρου μπορεί να προκαλέσει κοιλιακό πόνο, ανορεξία, διάρροια και απώλεια βάρους (Hendrickson και συν, 2002).

Ο καθιερωμένος τρόπος εκτίμησης της ενεργότητας της νόσου είναι μέσω του δείκτη ενεργότητας CDAI (Crohns Disease Activity Index), για τη νόσο Crohn και ο UCDAI (Ulcerative Colitis Disease Activity Index), για την ελκώδη κολίτιδα, οι οποίοι συμπεριλαμβάνουν τα συμπτώματα, καθώς και αντικειμενικά κριτήρια, όπως αναιμία και σωματικό βάρος. Τιμές του CDAI από 150 και κάτω σημαίνουν ύφεση της νόσου, τιμές πάνω από 150 και μέχρι 450 δείχνουν ενεργό νόσο και τιμές από 450 και πάνω σοβαρή κατάσταση. Δεδομένου, όμως, ότι οι προαναφερθέντες δείκτες εκτίμησης της ενεργότητας της ΙΦΝΕ προϋποθέτουν και ενδοσκοπικά ευρήματα, δεν καθίστανται πάντα εύκολοι στη χρήση τους (Büning and Lochs, 2006).

Πιο εύχρηστος δείκτης για τη νόσο Crohn είναι εκείνος των Harvey–Bradshaw, ο οποίος αξιολογεί την ενεργότητα με βάση την γενική κατάσταση υγείας, τον αριθμό των υδαρών κενώσεων ημερησίως, την παρουσία κοιλιακής μάζας και κοιλιακού πόνου και την παρουσία εντερικών και μη επιπλοκών. Όταν το συνολικό σκορ του δείκτη είναι πάνω από 4 τότε η νόσος είναι ενεργή ενώ αν είναι πάνω από 12 είναι σοβαρή (Laass και συν, 2014). **(Εικόνα 15)**

| <b>ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΝΟΣΟΥ CROHN</b>                                                                                                                 |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>HARVEY &amp; BRADSHAW ACTIVITY INDEX</b>                                                                                                               |  |
| <b>1) Αριθμός υδαρών κενώσεων ανά ημέρα</b>                                                                                                               |  |
| <b>2) Κοιλιακός πόνος</b> (0=απουσία, 1= ήπιος, 2= μέτριος, 3=σοβαρός)                                                                                    |  |
| <b>3) Γενική κατάσταση υγείας</b> (0= πολύ καλή, 1= καλή, 2= μέτρια, 3= κακή, 4= πολύ κακή)                                                               |  |
| <b>4) Κοιλιακή μάζα</b> (0= απύεστος, 1= αμφίβολη, 2= βέβαιη, 3= βέβαιη+ ευαίσθητη)                                                                       |  |
| <b>5) Επιπλοκές</b> (1 πόντος για κάθε μία): αρθραλγία, στοματικά έλκη, ραγοειδίτιδα, οζώδες ερύθημα, γαγγραινώδες πυόδερμα, πρωκτικό συρίγγιο, απόστημα) |  |
| <b>Συνολικό σκορ&gt; 4 ενεργός νόσος</b>                                                                                                                  |  |
| <b>Συνολικό σκορ&gt; 12 σοβαρή νόσος</b>                                                                                                                  |  |

*Εικόνα 15. Δείκτης Harvey & Bradshaw (Harvey και συν, 1980)*

Στην περίπτωση της ελκώδους κολίτιδας, οι δείκτες των Truelove και Witts και της κλινικής Mayo θεωρούνται πιο εύκολα εργαλεία για την εκτίμηση της σοβαρότητας της νόσου. Με τον πρώτο, ο εκάστοτε ειδικός αντλεί πληροφορίες σχετικά με τον αριθμό των κενώσεων, την παρουσία αίματος και πυρετού, την ταχύτητα καθίζησης ερυθρών τον σφιγμό και την αναιμία του ασθενούς **(Εικόνα 16)**. Ο δείκτης ενεργότητας της κλινικής Mayo περιλαμβάνει

ερωτήσεις, που αφορούν στην αιμοραγία από το ορθό, στον αριθμό των κενώσεων, στα ενδοσκοπικά ευρήματα και στη γενική κλινική κατάσταση. Βασικό πλεονέκτημα του εργαλείου Mayo είναι ότι μπορεί να εκτιμήσει την ενεργότητα της ελκώδους κολίτιδας απουσία της ενδοσκοπικής απεικόνισης. Στο δείκτη αυτό οι ασθενείς κατατάσσονται με βάση το σκορ του στις εξής κατηγορίες ενεργότητας: ύφεση= σκορ μέχρι 2, ήπια ενεργότητα= σκορ 3-5, μέτρια ενεργότητα= σκορ 6-10, σοβαρή ενεργότητα= σκορ 11-12 (**Εικόνα 17**)

Για την κλινική πράξη, όμως, η νόσος μπορεί να χαρακτηριστεί ως:

- ✓ Ήπια: Λιγότερες από 4 αιματηρές κενώσεις την ημέρα.
- ✓ Μέτρια: 4-6 αιματηρές κενώσεις ανά ημέρα και ελάχιστη τοξικότητα.
- ✓ Σοβαρή: Περισσότερες από 6 αιματηρές κενώσεις την ημέρα και σημάδια τοξικότητας όπως πυρετός και ταχυκαρδία (Conrad και συν, 2014).

#### ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ TRUELOVE & WITTS

|                                     | Ήπια                                 | Μέτρια                     | Σοβαρή                                              |
|-------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>Κενώσεις</b> (αριθμός ημερησίως) | < 4                                  | 4-6                        | >6 και τουλάχιστον ένα από τα χαρακτηριστικό με (*) |
| <b>Αίμα στα κόπρανα</b>             | Όχι περισσότερο από μικρές ποσότητες | Μέτρια έως σοβαρή ποσότητα | Ορατό αίμα                                          |
| <b>Πυρετός *</b> (> 37.8°C)         | Όχι                                  | Όχι                        | Ναι                                                 |
| <b>Σφυγμός *</b> (>90 bpm)          | Όχι                                  | Όχι                        | Ναι                                                 |
| <b>Αναιμία *</b>                    | Όχι                                  | Όχι                        | Ναι                                                 |
| <b>TKE</b> (mm/hour) *              | 30 ή χαμηλότερη                      | 30 ή χαμηλότερη            | Πάνω από 30                                         |

**Εικόνα 16. Δείκτης ενεργότητας Truelove & Wits (Dignas και συν, 2010)**

## ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΜΑΥΟ

(ύφεση= μέχρι 2, ήπια= 3-5, μέτρια=6-10, σοβαρή= 11-12)

### 1) Αριθμός κενώσεων (0-3)

Κανονικός για τον ασθενή

1-2 πάνω από το κανονικό

3-4 πάνω από το κανονικό

>5 πάνω από το κανονικό

### 2) Αιμορραγία από το ορθό (0-3)

Απουσία αίματος στα κόπρανα

Σταγόνες αίματος σε λιγότερες από τις μισές κενώσεις

Εμφανές αίμα στις περισσότερες κενώσεις

Αίμα σε όλες τις κενώσεις της ημέρας

### 3) Ενδοσκοπικά ευρήματα (0-3)

Κανονικός βλεννογόνος ή ανενεργός νόσος

Ήπια νόσος (ερύθημα, αλλοιωμένη αγγειακή εικόνα, ήπια ευθρυπτότητα)

Μέτρια νόσος (σοβαρό ερύθημα, αλλοιωμένη αγγειακή εικόνα, ευθρυπτότητα)

Σοβαρή νόσος (περιστασιακή αιμορραγία, εξελκώσεις)

### 4) Γενική ιατρική αξιολόγηση (0-3)

Φυσιολογική κατάσταση

Ήπια νόσος

Μέτρια νόσος

Σοβαρή νόσος

*Εικόνα 17. Δείκτης ενεργότητας ελκώδους κολίτιδας Mayo (Rutgeerts και συν, 2005)*

Επίσης, ο χρόνος καθίζησης, η C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και ο αριθμός των λευκοκυττάρων (λευκά  $>20.000/\text{mm}^3$ ) και των θρομβοκυττάρων είναι δείκτες φλεγμονής, που πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν (Hendrickson και συν, 2002, Büning and Lochs, 2006) . Μη φυσιολογικά αποτελέσματα αυτών οδηγούν στην πραγματοποίηση ενδοσκόπησης. Η εκτίμηση

της φλεγμονής ενδοσκοπικά, που θεωρείται Gold Standard μέθοδος, καθώς επιτρέπει την ιστολογική εξέταση των δειγμάτων βιοψίας, δεν είναι απαραίτητη για όλες τις φάσεις έξαρσης της νόσου, αλλά δίνει σημαντικές πληροφορίες για το σημείο ενεργότητας αυτής. Η διαπίστωση αυτή είναι χρήσιμη για την επιλογή των κατάλληλων θεραπευτικών παραγόντων που δρουν τοπικά, όπως η βουδενοσιδη στο τελικό ειλεό ή δεξί κόλον (Büning and Lochs, 2006, Walsham and Sherwood, 2016).

Πέραν της ενδοσκόπησης, η μαγνητική (MRI) και αξονική τομογραφία (CT) αποτελούν τεχνικές για σαφώς βελτιωμένη απεικόνιση. Παρόλ' αυτά, το υψηλό κόστος και των δύο, αλλά και η επικινδυνότητα λόγω έκθεσης του ασθενούς σε ιονίζουσα ακτινοβολία στην αξονική τομογραφία, δεν τις καθιστούν ως πρώτη επιλογή των ασθενών. Δεδομένου ότι η κολονοσκόπηση είναι μία διαγνωστική μέθοδος, που απαιτεί τη νάρκωση του ασθενούς, προκαλεί δυσφορία και είναι ακριβή, η μη παρεμβατική μέθοδος μέτρησης της καλπροτεκτίνης στα κόπρανα, πέραν του ότι έχει ως αποτέλεσμα την εξοικονόμηση χρήματος, μπορεί να προβλέψει αν απαιτείται κολονοσκόπηση ή όχι (Büning and Lochs, 2006).

Η καλπροτεκτίνη αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του πρωτεϊνικού περιεχομένου στο κυτοσόλιο των ουδετερόφιλων και έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες. Σε ενεργή φλεγμονή, πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα μεταναστεύουν στο εντερικό βλεννογόνο μέσω της κυκλοφορίας. Οποιαδήποτε αλλοίωση του βλεννογόνου οδηγεί σε απελευθέρωση των ουδετερόφιλων και έτσι, απέκκριση της καλπροτεκτίνης στα κόπρανα (Walsham and Sherwood, 2016). Η καλπροτεκτίνη διαφέρει μεταξύ ενεργής και ανενεργής νόσου (Langhorst και συν, 2008). Στις περισσότερες μελέτες για ελκώδη κολίτιδα και νόσο Crohn, τα αποτελέσματα της καλπροτεκτίνης συσχετίζονται με την ενδοσκοπικά επιβεβαιωμένη ενεργότητα της νόσου, αποδεικνύοντας την πιθανή υποτροπή καλύτερα απ' ότι ο CDAI, όταν οι τιμές της είναι αυξημένες (Burri και συν, 2015). Σε σοβαρή κατάσταση της ελκώδους κολίτιδας, η καλπροτεκτίνη είναι ικανή να προβλέψει εάν ο ασθενής θα είναι δεκτικός στην αντι-TNFα therapy ή θα χρειαστεί χειρουργική επέμβαση (Ho και συν, 2009). Ωστόσο, η διάκριση μεταξύ ελκώδους κολίτιδας και νόσου Crohn είναι σε αρκετές περιπτώσεις αδύνατη, οπότε η κολίτιδα είναι απροσδιόριστη.

Παρόλο που η καλπροτεκτίνη αποτελεί τον πιο συχνά μελετημένο δείκτη κοπράνων για τη φλεγμονή στο γαστρεντερικό σωλήνα, τα τελευταία χρόνια έχουν εξεταστεί και άλλοι δείκτες που είτε υπερέχουν της καλπροτεκτίνης είτε προσδίδουν συμπληρωματική πληροφορία με αυτήν. Οι δείκτες αυτοί είναι πρωτεΐνες που εκφράζονται στο κυτταρόπλασμα των ουδετερόφιλων και περιλαμβάνουν τη λακτοφερίνη, τον S100A12, την πολυμορφοπύρρηνη ελαστάση και τον M2-PK, η οποία είναι ισομορφή της πυροσταφυλικής κινάσης που εκφράζεται

από ταχέως διαιρούμενα κύτταρα (Maiden, 2009, Shastri και συν, 2008). Επίσης, η λυσοζύμη, η πρωτεΐνη της ομάδας των αλκαλικών γλυκοσιδασών, που προέρχεται στα κόπρανα από τα εντερικά κοκκιοκύτταρα, καθώς και από τα μονοπύρρηνα κύτταρα του εντερικού αυλού, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βοηθητικό εργαλείο για την αξιολόγηση της ενεργότητας της νόσου (Veer και συν, 1998). Ωστόσο, η καλπροτεκτίνη φαίνεται να αποτελεί πιο αξιόπιστο δείκτη για τη διάγνωση και τη ανίχνευση της ενεργότητας της ΙΦΝΕ (Langhorst και συν, 2005).

### **3.5 Αγωγή**

Η επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής μεθόδου εξαρτάται πέρα από την αποτελεσματικότητά της και τις δευτερογενείς παρενέργειες και από την απόκριση του κάθε ασθενή. Σημαντικοί παράγοντες είναι το σημείο εντόπισης της φλεγμονής, η ενεργότητα και σοβαρότητα της νόσου, καθώς επίσης και η συχνότητα των υποτροπών και η παρουσία εξωντερικών εκδηλώσεων (Lee, 2012). Σκοπός της θεραπείας είναι επιτευχθεί και να διατηρηθεί η νόσος σε ύφεση, με τελικό στόχο την επούλωση του βλεννογόνου (Schoepfer και συν, 2012) .

Η πλέον συμβατική θεραπεία είναι η φαρμακευτική προσέγγιση και περιλαμβάνει αμινοσαλκυλικά, αντιβιοτικά, κορτικοστεροειδή, θειοπουρίνες και ανταγωνιστές φυλικού οξέος (π.χ μεθοτρεξάτη) (Taylor and Irving, 2011). Τα φάρμακα πρώτης γραμμής, κυρίως για την ελκώδη κολίτιδα, είναι τα αμινοσαλκυλικά (ASA), που περιλαμβάνουν το 5-αμινοσαλκυλικό οξύ (5-ASA) (π.χ μεσαλαζίνη). Η παρεμπόδιση της χημειοταξίας των μακροφάγων και των επιπτώσεων του TNF-alpha, καθώς και η επαγωγή της δραστηριότητα των PPARγ είναι τα χαρακτηριστικά των ASA, που τα καθιστούν σημαντικές θεραπευτικές επιλογές. Τα αντιβιοτικά, από την άλλη, (metronidazole, ciprofloxacin, azathioprine) συστήνονται ως συμπληρωματική θεραπεία με στόχο τη μείωση του μικροβιακού φορτίου και της πιθανότητας υποτροπής και περαιτέρω εξέλιξη της νόσου (Sales-Campos και συν, 2015). Έχει φανεί, επίσης, ότι τα προβιοτικά, παρουσιάζουν θετικά αποτελέσματα στην ελκώδη κολίτιδα (Cammaraota και συν, 2015, Matijasic και συν 2016). Παρόλα αυτά, η δυσβίωση, οδηγώντας σε εξάπλωση του μικροβιακού πληθυσμού και ως εκ τούτου σε χειροτέρευση της ασθένειας, μπορεί να είναι αποτέλεσμα της αντιμικροβιακής θεραπείας.

Στην περίπτωση οξείας φάσης της νόσου, τα κορτικοστεροειδή, μέσω απορρύθμισης της μεταγραφής των προφλεγμονώδων γονιδίων (π.χ NF-κΒ), αποτελούν μία από τις καλύτερες επιλογές. Μελέτες έχουν δείξει ότι όταν τα κορτικοστεροειδή συνδυαστούν με 5-ASA η κλινική, ιστολογική και ενδοσκοπική εικόνα ασθενών με ελκώδη κολίτιδα είναι σαφώς πιο βελτιωμένη από τη μονοθεραπεία. Όμως, οι δυσμενείς επιπλοκές που προκαλούνται από τη συστηματική χορήγηση αυτών (οστεοπόρωση, μεταβολικό σύνδρομο, καρδιαγγειακά, καταρράκτης κ.α.) μαζί

με τη μη ανταπόκριση των ασθενών εμποδίζουν τη χρήση τους (Ford και συν, 2011, Mylder και συν, 1996).

Σε εξαρτημένους ασθενείς από κορτικοστεροειδή και για τη μείωση της επανεμφάνισης έπειτα από χειρουργείο, τα ανοσοκατασταλτικά azathioprine (AZA) και 6-mercaptopurine (6MP) (θειοπουρίνες), ανήκουν στις πρώτες θεραπευτικές επιλογές. Έχει φανεί, μάλιστα, ότι η 6-MP είναι πιο ανεκτή σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία με AZA, εξαιτίας κυρίως των αρνητικών επιπτώσεων στο συκώτι ή/και την εμφάνιση αρθραλγίας και μυαλγίας (Hindorf και συν, 2009). Όταν η θεραπεία με θειοπουρίνες δεν είναι αποτελεσματική, η χρήση μεθοτρεξάτης (MTX) ως ανταγωνιστής του φυλικού οξέος, είναι βασική για την πρόκληση και διατήρηση της ύφεσης στη νόσο Crohn. Μάλιστα, η χορήγησή της υποδορίως απ' ότι ενδομυϊκώς είναι πιο ανεκτή από τους ασθενείς (Sales-Campos και συν, 2015).

Σε περίπτωση που καμία από τις παραπάνω θεραπευτικές επιλογές δεν είναι αποτελεσματική, η χρήση αντι-TNFalpha παραγόντων αποτελεί θεραπεία-κλειδί. Όταν η κατάσταση της νόσου χαρακτηρίζεται από μέτρια ως σοβαρή, η θεραπευτική αυτή προσέγγιση εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα. Το infliximab, το πιο σύνηθες χημειοκίνο αντι-TNFalpha αντίσωμα κυρίως για τη θεραπεία της νόσο Crohn και περιστασιακά για την ελκώδη κολίτιδα, πρέπει να χορηγείται ενδοφλεβίως και σε ελάχιστη δόση τα 5mg/kg (Rutgeerts και συν, 2006). Παρόλα αυτά, υπολογίζεται ότι το 36% των ασθενών με νόσο Crohn δεν ανταποκρίνεται στους βιολογικούς αυτούς παράγοντες, γεγονός που σχετίζεται με τη σύνθεση αντι-infliximab αντισωμάτων και την εμφάνιση οξείας υπερευαισθησίας (Molnar και συν, 2012). Όταν, επίσης, ο ασθενής σε επιμένουσα σοβαρή κατάσταση δεν ανταποκρίνεται στις προαναφερθείσες θεραπευτικές στρατηγικές, τότε η χειρουργική αντιμετώπιση αποτελεί μονόδρομο για τη θεραπεία του (Büning and Lochs, 2006). Έχει αναφερθεί, μάλιστα, ότι πάνω από το 20% των ασθενών με ελκώδη κολίτιδα χρειάζονται κολεκτομή και πάνω από το 50% των ασθενών με νόσο Crohn χρειάζονται χειρουργική παρέμβαση μέσα στην πρώτη δεκαετία που έχουν διαγνωστεί (Clynen και συν, 2016).

Εκτός, όμως, από τη φαρμακευτική και χειρουργική θεραπεία, νέες εναλλακτικές στρατηγικές, όπως Mind-Body παρεμβάσεις, που στοχεύουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα, αυξάνοντας την παρασυμπαθητική δραστηριότητα και απελευθερώνοντας τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (Peng Sun και συν, 2013), καθώς επίσης και αλλαγές στον τρόπο ζωής (π.χ κάπνισμα), είναι δυνατόν να εξομαλύνουν σε μεγάλο βαθμό τα συμπτώματα της ασθένειας (Ardizzone and Bianchi Porro, 2002).

Τέλος, η ιδανική θεραπεία θα πρέπει να ελέγχει επιτυχώς το πολύπλοκο σενάριο της παθογένειας της ΙΦΝΕ, που είναι αποτέλεσμα περιβαλλοντικών, ανοσολογικών, γενετικών και

μικροβιακών παραγόντων. Όσο αποτελεσματικές και αν έχουν βρεθεί οι μέχρι τώρα θεραπευτικές μέθοδοι, δεν είναι ακόμα απόλυτα ικανές να ελέγξουν τις πολύπλευρες αιτίες και συνέπειες της συγκεκριμένης νόσου (Sales-Campos, 2015).

### **3.6 Διατροφική αντιμετώπιση**

Οι διατροφικές διαταραχές είναι μια συνήθης εκδήλωση των ατόμων με ΙΦΝΕ και πρωτίστως αυτών που υποφέρουν από νόσο Crohn και οξείας φάσης ελκώδη κολίτιδα. Άτομα με ενεργή νόσο Crohn, εξαιτίας της ανορεξίας, της δυσασπορρόφησης και της φλεγμονώδους κατάστασης, χαρακτηρίζονται από απώλεια βάρους, έλλειψη πρωτεϊνών, βιταμινών, καθώς και υγρών και ιχνοστοιχείων. Για τη βελτίωση αυτής της υποβαθμισμένης διατροφικής κατάστασης στην ενεργή νόσο, αλλά και για την αποφυγή μετεγχειρητικών επιπλοκών, η χορήγηση από του στόματος διατροφικών συμπληρωμάτων πλούσια σε αργινίνη, ω-3 και RNA ή η σίτιση μέσω σωλήνα, αποτελούν εναλλακτικές, αποτελεσματικές λύσεις (Büning and Lochs, 2006).

Η σίτιση των ασθενών με ΙΦΝΕ μπορεί να γίνει είτε εντερικά είτε παρεντερικά. Η εντερική σίτιση φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική σε οξείες φάσεις, με σχεδόν το 60% των ασθενών να φτάνουν σε ύφεση. Παρόλο, όμως, που στα παιδιά αποτελεί θεραπεία πρώτης γραμμής, στους ενήλικες επιλέγεται ως μονοθεραπεία όταν εκείνοι δεν ανταποκρίνονται στα κορτικοστεροειδή (Giannoti και συν, 2002). Ο συνδυασμός, βέβαια, εντερικής σίτισης και φαρμάκων σε υποσιτισμένους ασθενείς και σε ασθενείς με στενώσεις του εντέρου, είναι ενδεικτικός, παρατείνοντας τον χρόνο χωρίς υποτροπές (Wilschanski και συν, 1996). Ωστόσο, η πρώτη είναι σημαντικά καλύτερη στην επούλωση του βλεννογόνου, όπως φάνηκε από ενδοσκοπική και ιστολογική ανάλυση.

Η εντερική σίτιση γίνεται είτε αποκλειστικά είτε μερικώς. Παρόλο που η μερική σίτιση έχει θετικά κλινικά αποτελέσματα, η αποκλειστική φαίνεται να υπερέχει τόσο στην επαγωγή όσο και στη διατήρηση της νόσου σε ύφεση. Η αποτελεσματικότητά της αυτή, οφείλεται στη μειωμένη παρουσία των αντιγόνων στον εντερικό αυλό και σε αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα (Lee και συν, 2016).

Επιπρόσθετα, ενώ έχει φανεί ότι η παρεντερική σίτιση ωφελεί τους υποσιτισμένους με ενεργή νόσο Crohn ασθενείς, ωστόσο λίγες είναι οι πληροφορίες για την ικανότητά της να αποτρέψει την από του στόματος πρόσληψη τροφής που επάγει την καταστολή του εντέρου, αποκλείοντας επίσης, βραχυπρόθεσμα την πιθανότητα χειρουργικής παρέμβασης. Η χρήση της περιορίζεται σε συγκεκριμένες περιπτώσεις, στην προσπάθεια να κλειστούν εντεροδερματικά ή άλλα περίπλοκα συρίγγια σε ασθενείς με συρριγώδη νόσο Crohn, στη θεραπεία συνδρόμου βραχέος εντέρου, έπειτα από εκτεταμένη εκτομή στη νόσο Crohn ή όταν η εντερική σίτιση είναι

πρακτικά αδύνατα για διάφορους λόγους. Το γεγονός αυτό, αποδεικνύει ότι τα αποτελέσματα της εντερικής σίτισης εξακολουθούν να υπερέχουν της παρεντερικής (Triantafillidis and Papalois, 2014).

Πέρα από την εντερική και παρεντερική σίτιση, συγκεκριμένα διατροφικά πρότυπα έχουν ελεγχθεί σχετικά με την επίδραση τους στο πλαίσιο της ΙΦΝΕ, όπως η ειδική υδατανθρακική δίαιτα, η παλαιολιθική δίαιτα και η δίαιτα φτωχή σε ζυμώσιμους ολιγοσακχαρίτες, δισακχαρίτες, μονοσακχαρίτες και πολυόλες (FODMAPs). Τα αποτελέσματα, όμως, είναι αμφιλεγόμενα δεδομένου ότι εκτός από τον αυστηρά περιοριστικό τους χαρακτήρα, οδηγούν σε έλλειψη σημαντικών θρεπτικών συστατικών, όπως βιταμίνης D, βιταμίνη απαραίτητη για τη σωστή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Εξάλλου, είναι γνωστό ότι άτομα με διαπιστωμένη ΙΦΝΕ χαρακτηρίζονται από σοβαρές ελλείψεις, κυρίως μικροθρεπτικών συστατικών (Ruemmele, 2016).

### **3.7 ΙΦΝΕ και φλεγμονή**

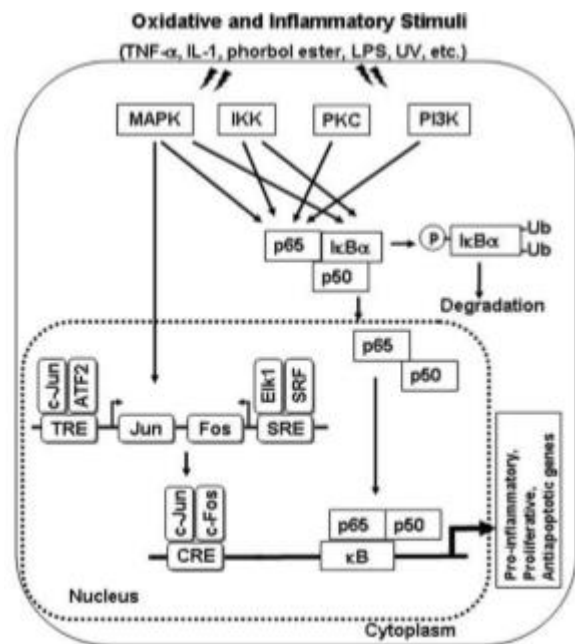
#### **3.7.1 Γενικά**

Φλεγμονή είναι το σύνολο των διαφορετικών μηχανισμών που ενεργοποιούνται ως απάντηση-αντίδραση σε μία ιστική βλάβη. Ο ανθρώπινος οργανισμός έχει την ικανότητα να αναγνωρίζει τη φλεγμονή και να προστατεύεται από αυτή από τα πρώτα κίολας λεπτά της εκδήλωσής της. Η πρώτη, λοιπόν, αντίδραση του οργανισμού για την επίτευξη της προστασίας του πραγματοποιείται με την ενεργοποίηση ειδικών κυττάρων, όπως τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα, τα οποία μετακινούνται στη φλεγμονή και τα επίπεδα τους αυξάνονται άμεσα (Guyton and Hall, 2011).

Συγκεκριμένα, τα μακροφάγα, που αποτελούν κύτταρα της φυσικής άμυνας του οργανισμού, ενεργοποιούνται από τα πρώτα λεπτά της εκδήλωσης της φλεγμονής και συγκεντρώνονται στο τραυματισμένο ιστό, ώστε να ξεκινήσει η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Παράλληλα, η ενεργοποίηση των μακροφάγων, τα οποία αλληλεπιδρούν με τα ανοσοκύτταρα της επίκτητης ανοσίας (T- και B- κύτταρα), συντελεί στην έκκριση πρωτεϊνών, οι οποίες με τη σειρά τους συμμετέχουν στην αντιμετώπιση της φλεγμονής και ονομάζονται κυτταροκίνες. Οι κυτταροκίνες είναι πρωτεΐνες, συνήθως γλυκοπρωτεΐνες, που ρυθμίζουν όλες τις σημαντικές βιολογικές διαδικασίες, όπως την ανάπτυξη και ενεργοποίηση των κυττάρων, τη φλεγμονή, την επανόρθωση των ιστών κ.α. (Roitt και συν, 1996). Ουσιαστικά, αποτελούν την παρατεταμένη και συντονισμένη απάντηση του ανθρώπινου οργανισμού στη μόλυνση ή στο τραυματισμό. Στις κυτταροκίνες ανήκουν οι ιντερλευκίνες (IL 1-31), οι ιντερφερόνες (INF α,β,γ) και οι παράγοντες νέκρωσης όγκων (TNF α και β).

### 3.7.2 Ανοσολογικοί μηχανισμοί

Κατά την ΙΦΝΕ οι υποδοχείς αναγνώρισης (Pattern Recognition Receptors, PRRs) αναγνωρίζουν εξελικτικά συντηρημένα μοτίβα (Pathogen-associated Molecular Patterns, PAMPs) στην επιφάνεια των παθογόνων και ο μεταγραφικός πυρηνικός παράγοντας κB (NF-κB) ενεργοποιείται. Ο παράγοντας αυτός, που ενεργοποιείται μέσω του μονοπατιού των MAP κινασών, απελευθερώνεται και μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου και συνδέεται στο DNA σε συγκεκριμένες αλληλουχίες, λειτουργώντας ως μεταγραφικός παράγοντας πολλών γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονή (**Εικόνα 18**). Τόσο σε



Εικόνα 18. Ενεργοποίηση του NF-κB

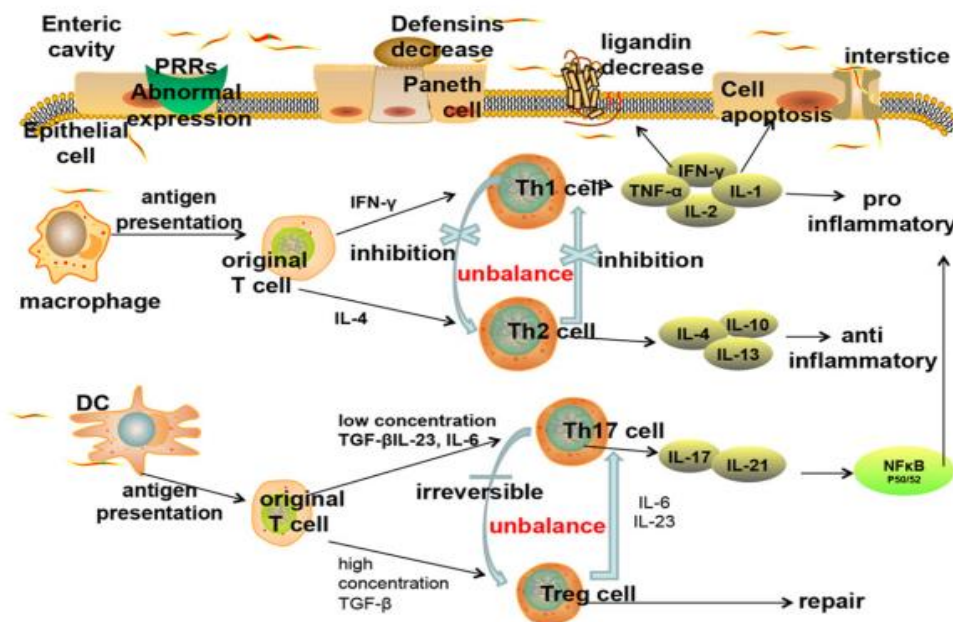
ζωικά πρότυπα κολίτιδας όσο και σε ασθενείς με ΙΦΝΕ, έχει παρατηρηθεί αύξηση της ενεργοποίησης του NF-κB, γι' αυτό και η απενεργοποίησή του ίσως αποτελεί στόχο για τη θεραπεία της νόσου (Huang and Chen, 2016, Peng Sun και συν, 2013).

Οι παράγοντες φλεγμονής που παράγονται από τα ανοσοκύτταρα του εντερικού βλεννογόνου επάγουν την έκφραση των πρωτεϊνών απόπτωσης Caspase-1 και εμποδίζουν αυτήν των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη νέκρωση των επιθηλιακών κυττάρων, την αδυναμία αυτών να αντισταθούν στα παθογόνα και την αύξηση της διαπερατότητας του εντερικού βλεννογόνου (Bouma and Strober, 2003).

Επίσης, τα μακροφάγα και τα δένδροκύτταρα, τα οποία σε οξεία φάση της ΙΦΝΕ αυξάνουν ραγδαία στο εντερικό βλεννογόνο, προάγουν την έκφραση των διεγερτικών μορίων των T-κυττάρων (Schenk και συν, 2007). Τα T-κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην ΙΦΝΕ, καθώς σχετίζονται με την ανοχή του ανοσοποιητικού από τη δράση των κυτταροκινών (Huang and Chen, 2016). Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ T-βοηθητικών (T helper, Th) και T-ρυθμιστικών (T regulatory, Treg) κυττάρων είναι αιτία της επίμονης φλεγμονής που χαρακτηρίζει την ΙΦΝΕ. Όταν τα CD8<sup>+</sup> κυτταροτοξικά ή τα CD4<sup>+</sup> κύτταρα εντοπίσουν την παρουσία αντιγόνου στο εντερικό επιθήλιο η ανοσολογική απάντηση ξεκινά (Bouma and Strober, 2003). Τα CD4<sup>+</sup> κύτταρα ταξινομούνται είτε ως Th1 είτε ως Th2 κύτταρα. Τα Th1, που φαίνεται να έχουν καθοριστικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου Crohn, αφορούν ανοσολογική απάντηση, εκκρίνοντας προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF-α

και INF- $\gamma$ . Τα Th2, από την άλλη, μεσολαβούν σε χυμικές απαντήσεις και εκκρίνουν τις αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-4, IL-5, IL-10, IL-13. Παρόλο, όμως, που η νόσος Crohn έχει συσχετιστεί με τα Th1 κύτταρα, για την ελκώδη κολίτιδα τα δεδομένα δεν είναι ξεκάθαρα, αλλά φαίνεται να σχετίζεται με τα Th2 κύτταρα (Ardizzone and Porro, 2002). Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα δύο αυτά υποσύνολα βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία, αλλά ρυθμίζονται και παρεμποδίζονται από τις κυτταροκίνες που εκκρίνονται από καθένα απ' αυτά. Έτσι, η προσαρμογή του ανοσοποιητικού συστήματος στην ανισορροπία μεταξύ των Th1 και Th2 κυττάρων εμπλέκεται στην παθογένεια αυτοάνοσων ασθενειών, όπως η ΙΦΝΕ (Kanaί και συν, 2006).

Η μετατροπή των T-βοηθητικών κυττάρων σε Th17 παρουσία των IL-23, IL-6, IL-21 και TGF- $\beta$ , οδηγεί στην έκκριση των ιντερλευκινών IL-17, IL-21 και IL-22. Από αυτές, η IL-17, αφού προσδεθεί με τον υποδοχέα της, ενεργοποιεί τον NF- $\kappa$ B, προωθώντας την απελευθέρωση προφλεγμονώδων παραγόντων (Fujino και συν, 2003). Σε φλεγμονώδεις καταστάσεις η ανισορροπία μεταξύ T-ρυθμιστικών (Treg) κυττάρων και Th17 κυττάρων που υφίσταται, οφείλεται στην αυξημένη μετατροπή των πρώτων στα παθογόνα δεύτερα παρουσία IL-6 ή/και IL-23, αυξάνοντας, έτσι, το λόγο Th17/Treg (Εικόνα 19) (Kitani and Xu, 2008, Elson και συν, 2007).



*Εικόνα 19 Διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος στην ΙΦΝΕ. Αλληλεπίδραση φυσικής και επίκτητης ανοσίας. Οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες καταστρέφουν τη φυσική άμυνα του οργανισμού (απόπτωση επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου, μειωμένη έκφραση των πρωτεϊνών συνδέσμων, μείωση αντιβακτηριακών πεπτιδίων που εκκρίνονται από τα Paneth κύτταρα κ.α.).*

Επίσης, στην παθογένεια της ΙΦΝΕ η ανώμαλη ανοσοαπόκριση των Τ-κυττάρων στην μικροχλωρίδα του ξενιστή φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο. Αυτό υποστηρίζεται από τη διασταυρούμενη αντίδραση του περιφερικού αίματος και των CD4<sup>+</sup> Τ-κυττάρων με την ενδογενή μικροχλωρίδα (*Bacteroides*, *Bifidobacteria* και ποικίλα *Enterobacteria*) σε ασθενείς με νόσο Crohn και ελκώδη κολίτιδα. Επίσης, η αυξημένη έκφραση των προφλεγμονώδων κυτταροκινών IL-1 και TNF- $\alpha$  παίζουν σημαντικό ρόλο στη ενίσχυση της φλεγμονής του βλεννογόνου στην ΙΦΝΕ. Οι κυτταροκίνες αυτές, που εκκρίνονται από μονοκύτταρα και μακροφάγα επάγουν εντερικά μακροφάγα, ουδετερόφιλα, ινοβλάστες και κύτταρα λείων μυϊκών κυττάρων, που κινητοποιούν προσταγλανδίνες, πρωτεάσες και άλλους διαλυτούς μεσολαβητές φλεγμονής, όπως και άλλες φλεγμονώδεις και χημειοτακτικές κυτταροκίνες. Ο TNF- $\alpha$  που μεταφράζεται ως πρόδρομη πρωτεΐνη, επηρεάζει το έντερο καταστρέφοντας τον επιθηλιακό φραγμό, προκαλώντας απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων της λάχνης και εκκρίνοντας χημειοκίνες από τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Φαίνεται να είναι καθοριστικός στο σχηματισμό κοκκιωμάτων και μαζί με τις IL-6 και IL-1 συνεισφέρει στα συμπτώματα της ΙΦΝΕ και οδηγεί στην παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσεως (π.χ CRP) (Lukacs και συν, 1994, Sartor, 1994).

Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες φαίνεται να παράγονται και από τα PPARs, τα οποία φαίνεται να συμμετέχουν περισσότερο στα μονοπάτια φλεγμονής της ελκώδους κολίτιδας (Fajas και συν, 1997). Τα PPARs είναι πυρηνικοί ορμονικοί υποδοχείς μεταγραφικών παραγόντων, των οποίων η δραστηριότητα ρυθμίζεται από υψηλής συγγένειας πρόσδεση μικρών λιπόφιλων συνδετών, όπως οι στεροειδείς ορμόνες (Mangelsdorf και συν, 1995). Τα επιθηλιακά κύτταρα του παχέως εντέρου εκφράζουν υψηλά ποσοστά των PPARs πρωτεϊνών, παράγοντας έτσι, προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες.

Τέλος, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η έλλειψη του NOD<sub>2</sub> ενεργοποιεί τον NF- $\kappa$ B μέσω του TLR2 και των Th1 κυττάρων, τα οποία μαζί με τους TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  και IL-2 χαρακτηρίζουν τη νόσο Crohn. Μετάλλαξη στο NOD<sub>2</sub> αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία για νόσο Crohn, καθώς αδυνατεί να αναγνωρίσει το ακετυλοδιπεπτίδιο των κυτταρικών τοιχωμάτων (MDP). Έτσι, περιορίζεται η έκκριση των IL-23 και IL-1 στα δένδροκύτταρα και ως εκ τούτου οι ανασταλτικές επιδράσεις των Th17 κυττάρων (Souza και συν, 2005).

## **Μέρος Β': Πειραματικό Μέρος**

## **ΜΕΡΟΣ Β' ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

#### **4.1 Σκοπός της μελέτης**

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η πραγματοποίηση μίας πιλοτικής δοκιμής με στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης ημερήσιας πρόσληψης 2.8g συμπληρώματος Μαστίχας Χίου, έναντι εικονικού φαρμάκου, στην κλινική πορεία της νόσου Crohn, σε ενήλικες ασθενείς με έξαρση και ύφεση. Η χρονική διάρκεια χορήγησης του συμπληρώματος ορίστηκε σε τρεις μήνες για ασθενείς με ενεργή νόσο και σε έξι μήνες για τη νόσο σε ύφεση. Η κλινική πορεία αξιολογήθηκε με βάση την κλινική εικόνα των ασθενών και δεικτών φλεγμονής σε δείγμα κοπράνων.

Για την εκτίμηση της φλεγμονής μετρήθηκαν οι δείκτες καλπροτεκτίνη και λυσοζύμη σε δείγμα κοπράνων, λαμβάνοντας υπόψιν και την κλινική εικόνα των ασθενών (δείκτης ενεργότητας της νόσου Crohn: Harvey-Bradshaw, ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής).

Βασισμένη στην παρουσία πληθώρας βιβλιογραφικών αναφορών που αναδεικνύουν τις ευεργετικές δράσεις της μαστίχας, πρόσφατα, το 2015 η Επιτροπή φυτικών φαρμακευτικών προϊόντων του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων στο Λονδίνο αναγνώρισε τη Μαστίχα ως φυσικό φάρμακο (EMA / HMPC / 46758/2015). Πιο συγκεκριμένα, την κατέταξε στην κατηγορία των φυτικών φαρμάκων για προβλήματα ήπιων δυσπεπτικών διαταραχών, διάρροιας, καθώς και για τη φλεγμονή του δέρματος και την επούλωση πληγών.

Η υπόθεση της παρούσας πιλοτικής μελέτης ήταν η διαχείριση της ΙΦΝΕ μέσω μίας μη φαρμακολογικής προσέγγισης, της Μαστίχας Χίου, ρυθμίζοντας χαρακτηριστικούς κλινικούς δείκτες και παράγοντες φλεγμονής.

#### **4.2 Σχεδιασμός μελέτης**

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή αποτελεί μέρος μιας κλινικής δοκιμής φάσης II, που διεξάγεται στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο και έχει θέμα την επίδραση παρέμβασης με φυσικό συμπλήρωμα διατροφής, τη Μαστίχα Χίου, σε ασθενείς με Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου (ΙΦΝΕ). Πιλοτική μελέτη Φάσης I έγινε το 2007, εξετάζοντας την επίδραση ημερήσιας πρόσληψης 2.2g Μαστίχας Χίου (MX) σε ασθενείς με νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας σοβαρότητας, η οποία κατέληξε στη μείωση της ενεργότητας της νόσου, καθώς επίσης και σε ρύθμιση της φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες.

Έχοντας αυτό ως γνώμονα και δεδομένου ότι η προαναφερθείσα ρητίνη έχει αναγνωριστεί ως φυσικό φάρμακο, σχεδιάστηκε μία τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη διπλά τυφλή κλινική δοκιμή στην οποία ενήλικες ασθενείς με ΙΦΝΕ λαμβάνουν δια στόματος είτε το διατροφικό συμπλήρωμα ΜΧ είτε εικονικό φάρμακο (placebo). Η ερευνητική ομάδα της μελέτης πλαισιώνεται από Διαιτολόγους-Διατροφολόγους, Γαστρεντερολόγους και Βιολόγους.

#### **4.3 Στάδια μελέτης**

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

##### **4.3.1 Αρχικό στάδιο – Στρατολόγηση ασθενών μελέτης φάσης II**

Για τη συγκεκριμένη μελέτη, στρατολογούνται ενήλικες ασθενείς με διαπιστωμένη νόσο Crohn, είτε σε φάση ύφεσης είτε έξαρσης, από έμπειρους ειδικευμένους γαστρεντερολόγους σύμφωνα με τα κριτήρια επιλογής της μελέτης. Η ενημέρωση των ασθενών για τη μελέτη έγινε είτε μέσω των συνεργαζόμενων γαστρεντερολόγων είτε μέσω του διαδικτύου στην επίσημη ιστοσελίδα των ατόμων με νόσο Crohn και ελκώδη κολίτιδα (<http://www.crohnhellas.gr>). Οι ασθενείς επικοινωνούν και δηλώνουν το ενδιαφέρον τους στην ερευνητική ομάδα, οπότε και ορίζεται συνεδρία στο χώρο του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου για περαιτέρω ενημέρωση. Εκεί ενημερώνονται αναλυτικά για το σκοπό και το είδος της μελέτης, τη χρονική διάρκεια αυτής 2 ή 6 μήνες), τα κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού των ασθενών από τη μελέτη, το είδος του διατροφικού συμπληρώματος (Μαστίχα Χίου ή εικονικό φάρμακο) και τον τρόπο λήψης αυτού (συχνότητα, ποσότητα), καθώς και τις απαιτούμενες αναλύσεις (λήψη δειγμάτων αίματος και κοπράνων).

##### *Κριτήρια επιλογής:*

- Ηλικία: 18-65 ετών
- Διαγνωσμένη ΙΦΝΕ

##### *Κριτήρια Αποκλεισμού:*

- Εντερική ή παρεντερική διατροφή
- Κατάχρηση φαρμάκων
- Χρήση κανναβινοειδών και μη ναρκωτικών ουσιών
- Κατάχρηση αλκοόλ

- Λήψη αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων
- Χορτοφαγία ή μακροβιοτική διαίτα πριν και κατά την διάρκεια της μελέτης
- Ομοιοπαθητική
- Καρδιαγγειακά νοσήματα, καρκίνος, ιστορικό απόφραξης του μυοκαρδίου, στηθάγχη, εγκεφαλικό επεισόδιο
- Μη σταθερή φαρμακευτική αγωγή (κυρίως κατά τη διάρκεια της μελέτης)
- Ψυχιατρικές Διαταραχές
- Εγκυμοσύνη, θηλασμός
- Πεπτικό έλκος ή καρκίνος του γαστρεντερικού

Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω κριτήρια, οι ασθενείς που επιθυμούν να συμμετέχουν στη μελέτη συναινούν εγγράφως για τη συμμετοχή τους και ενσωματώνονται σε αυτή (βλέπε παράρτημα, σελ. 91).

#### 4.3.2 Πιλοτική δοκιμή

Για τους σκοπούς της παρούσας διατριβής, μελετήθηκαν οι ασθενείς με διαγνωσμένη νόσο Crohn σε ενεργή και ανενεργή φάση. Η ενεργότητα της νόσου αξιολογήθηκε με τη βοήθεια του εργαλείου Harvey&Bradshaw στην αρχή της μελέτης, δηλαδή πριν την έναρξη της παρέμβασης με MX ή εικονικό φάρμακο (χρόνος 0), καθώς και στο τέλος της παρέμβασης. Σύμφωνα με το δείκτη ενεργότητας Harvey&Bradshaw, τιμές πάνω από 4 ή κάτω από 4 σημαίνουν έξαρση και ύφεση της νόσου Crohn, αντίστοιχα. (βλέπε παράρτημα σελ. 84)

Οι ασθενείς έπρεπε να λαμβάνουν καθημερινά 2.8g MX ή εικονικού φαρμάκου σε μορφή ταμπλέτας, ποσότητα που υπολογίστηκε ότι ισοδυναμεί με 4 ταμπλέτες ημερησίως. Για τους ασθενείς σε έξαρση η διάρκεια της παρέμβασης ήταν 3 μήνες, ενώ για τους ασθενείς σε ύφεση 6 μήνες. Για λόγους ευκολίας και ομοιομορφίας της μελέτης, η πρόσληψη των ταμπλετών από τους ασθενείς συστήθηκε να γίνεται σε δύο δόσεις: 2 ταμπλέτες το πρωί και 2 ταμπλέτες το βράδυ, τουλάχιστον 2 ώρες μακριά από τη λήψη γεύματος. Σε όλη τη διάρκεια της μελέτης, οι ασθενείς έπρεπε να συνεχίσουν κανονικά τη συμβατική φαρμακευτική αγωγή. Από το σύνολο των 130 ασθενών με νόσο Crohn που ενδιαφέρθηκαν να συμμετάσχουν στη μελέτη φάσης II, 57 ενήλικες ασθενείς με διαπιστωμένη νόσο Crohn, είτε σε φάση ύφεσης είτε σε φάση έξαρσης, τελικά ενσωματώθηκαν. Από αυτούς, 13 ασθενείς σε ύφεση και 26 ασθενείς με ενεργή νόσο ολοκλήρωσαν τη δοκιμή με MX ή εικονικό φάρμακο (**Σχήμα 1**).

Στο **Σχήμα 1** παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής της ένταξης των ασθενών και στον **Πίνακα 2** τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών στο χρόνο 0

### Κριτήρια αποκλεισμού

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

Ενδιαφερόμενοι με CD  
N= 130

Αποκλείστηκαν  
N= 47

### Κριτήρια επιλογής:

- Ηλικία: 18-65 ετών
- Διαγνωσμένη ΙΦΝΕ (CD, UC)

Ενσωματώθηκαν/τυχαιοποιήθηκαν  
N=57

Ασθενείς με CD σε ύφεση

N=26

Ασθενείς με CD σε έξαρση

N=31

Ομάδα ελέγχου  
N=9

Ομάδα παρέμβαση  
N=17

Ομάδα παρέμβασης  
N=15

Ομάδα ελέγχου  
N=16

Αποκλεισμός  
N=2

Αποχώρηση  
N=6

Αποκλεισμός  
N=1

Αποχώρηση  
N=2

Αποκλεισμός  
N=0

Αποχώρηση  
N=5

Αποκλεισμός  
N=1

Αποχώρηση  
N=1

**CD ΥΦΕΣΗ**  
(εικονικό σκεύασμα)  
N=4

**CD ΥΦΕΣΗ**  
(2.8g MX)  
N=9

**CD ΕΞΑΡΣΗ**  
(2.8g MX)  
N=13

**CD ΕΞΑΡΣΗ**  
(εικονικό σκεύασμα)  
N=13

\*Αποκλεισμός λόγω εγκυμοσύνης, χειρουργείου και εμφράγματος του μυοκαρδίου

**Σχήμα 1.** Διάγραμμα ροής της ένταξης των ασθενών

**Πίνακας 2. Δημογραφικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ασθενών με CD σε έξαρση και ύφεση (Ομάδα ελέγχου και Ομάδα παρέμβασης)**

|                       | <b>ΕΞΑΡΣΗ CD (N=26)</b> |                      | <b>ΥΦΕΣΗ CD (N=13)</b>  |                      |
|-----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|
| <b>Χαρακτηριστικά</b> | <b>Ομάδα παρέμβασης</b> | <b>Ομάδα ελέγχου</b> | <b>Ομάδα παρέμβασης</b> | <b>Ομάδα ελέγχου</b> |
| <b>Φύλο</b>           |                         |                      |                         |                      |
| Άντρες                | 7                       | 4                    | 8                       | 2                    |
| Γυναίκες              | 6                       | 9                    | 1                       | 2                    |
| <b>Ηλικία (χρ)</b>    |                         |                      |                         |                      |
| Μέσος όρος            | 36.61                   | 52.69                | 33.44                   | 45.25                |
| Εύρος                 | 20-56                   | 23-74                | 21-51                   | 26-57                |
| <b>Βάρος (κιλά)</b>   |                         |                      |                         |                      |
| Μέσος όρος            | 69.96                   | 66.42                | 71.72                   | 85.8                 |
| Εύρος                 | 52-114                  | 52-90                | 51-86                   | 75-90                |
| <b>Ύψος (εκατ.)</b>   |                         |                      |                         |                      |
| Μέσος όρος            | 175                     | 167                  | 175                     | 172                  |
| Εύρος                 | 150-200                 | 155-182              | 164-180                 | 155-185              |

Κατά την επίσκεψη των ασθενών στην αρχή της παρέμβασης (χρόνος 0) ακολουθούνταν η εξής διαδικασία:

α) Ενημέρωση των ασθενών σχετικά με τη μελέτη και υπογραφή αυτών στο δελτίο συγκατάθεσης.

β) Λήψη ιατρικού ιστορικού από τους εξειδικευμένους γαστρεντερολόγους της ερευνητικής ομάδας. Το ιστορικό ήταν πλήρες και περιλάμβανε τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών, συνήθειες που επηρεάζουν τις νόσους (κάπνισμα, αλκοόλ) και ένα λεπτομερές ιστορικό της νόσου σχετικά με την ηλικία διάγνωσης και έναρξης της νόσου, τη διάρκεια αυτής, την ενεργότητα και την περιοχή εντόπισης, τα συμπτώματα και τις εξωεντερικές εκδηλώσεις, καθώς και τη θεραπεία και την πιθανή χειρουργική παρέμβαση.

γ) Μέτρηση της αρτηριακής πίεσης και των καρδιακών παλμών με ψηφιακό πιεσόμετρο (Omron M6 HEM 7321).

δ) Λήψη διατροφικού ιστορικού από τους καλά εκπαιδευμένους Διαιτολόγους-Διατροφολόγους της ερευνητικής ομάδας με τη χρήση ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) και ανάκλησης εικοσιτετραώρου. (βλέπε παράρτημα σελ. 81)

ε) Λήψη ερωτηματολογίου ποιότητας ζωής (Inflammatory Bowel Disease Questionnaire). (βλέπε παράρτημα σελ. 86)

στ) Λήψη 25ml αίματος από τα οποία απομονώθηκε ορός και πλάσμα για γενική εξέταση αίματος, βιοχημικές εξετάσεις, αξιολόγηση δεικτών φλεγμονής (CRP) και άλλες αναλύσεις, καθώς και λήψη κοπράνων για μέτρηση δεικτών φλεγμονής (λυσοζύμη, καλπροτεκτίνη).

ζ) Τέλος, δόθηκαν αναλυτικές πληροφορίες για τη διαδικασία λήψης των ταμπλετών (4 ταμπλέτες/ημέρα, 2 το πρωί και 2 το βράδυ) και τη χρονική διάρκεια λήψης αυτών.

#### 4.3.3 Στάδιο Παρέμβασης

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

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

χρονικού διαστήματος, έγινε επανέλεγχος των συμμετεχόντων, επαναλαμβάνοντας τις ίδιες διαδικασίες που έγιναν στην πρώτη επίσκεψη.

Στον **Πίνακα 3** και στον **Πίνακα 4** παρουσιάζεται το πλάνο σχεδιασμού της μελέτης σε ασθενείς με νόσο Crohn σε έξαρση και σε ασθενείς με νόσο Crohn σε ύφεση, αντίστοιχα.

**Πίνακας 3. Πλάνο σχεδιασμού μελέτης για του ασθενείς με CD σε έξαρση**

|                               | Επίσκεψη 1<br>(χρόνος 0) | Εβδομαδιαία τηλεφωνική παρακολούθηση |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | Επίσκεψη 2<br>(χρόνος 3) |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|--------------------------|
|                               |                          | 1                                    | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |                          |
| Ενημέρωση για την μελέτη      | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |                          |
| Υπογραφή συγκατάθεσης         | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |                          |
| Δημογραφικά Χαρακτηριστικά    | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |                          |
| Ιατρικό Ιστορικό              | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |                          |
| Φαρμακευτικό Ιστορικό         | ■                        | ■                                    | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Κάπνισμα                      | ■                        | ■                                    | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Ανάκληση 24ώρου               | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | ■                        |
| FFQ                           | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | ■                        |
| Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά | ■                        | ■                                    | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Διατροφικές συμβουλές         | ■                        | ■                                    | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Αιματολογικός έλεγχος         | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | ■                        |
| Βιοχημικός έλεγχος            | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | ■                        |
| Δείγμα κοπράνων               | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | ■                        |
| IBDQ score                    | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    | ■                        |
| Ταμπλέτες MX ή placebo        | ■                        | ■                                    | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  |                          |
| Τρόπος λήψης των ταμπλετών    | ■                        |                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |                          |
| Παρενέργειες                  |                          | ■                                    | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Συμμόρφωση στο πρωτόκολλο     |                          | ■                                    | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■                        |

**Πίνακας 4. Πλάνο σχεδιασμού μελέτης για τους ασθενείς με CD σε ύφεση**

|                               | Επίσκεψη 1<br>(χρόνος 0) | Δεκαπενθήμερη τηλεφωνική παρακολούθηση |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | Επίσκεψη 2<br>(χρόνος 6) |
|-------------------------------|--------------------------|----------------------------------------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|--------------------------|
|                               |                          | 2                                      | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 22 | 24 |                          |
| Ενημέρωση για την μελέτη      | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |                          |
| Υπογραφή συγκατάθεσης         | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |                          |
| Δημογραφικά Χαρακτηριστικά    | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |                          |
| Ιατρικό Ιστορικό              | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |                          |
| Φαρμακευτικό Ιστορικό         | ■                        | ■                                      | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Κάπνισμα                      | ■                        | ■                                      | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Ανάκληση 24ώρου               | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | ■                        |
| FFQ                           | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | ■                        |
| Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά | ■                        | ■                                      | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Διατροφικές συμβουλές         | ■                        | ■                                      | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Αιματολογικός έλεγχος         | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | ■                        |
| Βιοχημικός έλεγχος            | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | ■                        |
| Δείγμα κοπράνων               | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | ■                        |
| IBDQ score                    | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | ■                        |
| Ταμπλέτες MX ή placebo        | ■                        | ■                                      | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  |                          |
| Τρόπος λήψης των ταμπλετών    | ■                        |                                        |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |                          |
| Παρενέργειες                  |                          | ■                                      | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■                        |
| Συμμόρφωση στο πρωτόκολλο     |                          | ■                                      | ■ | ■ | ■ | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■  | ■                        |

#### 4.4 Εργαστηριακές αναλύσεις

**Απομόνωση ορού και πλάσματος:** Για την απομόνωση ορού και πλάσματος, τα δείγματα αίματος των ασθενών συλλέχθηκαν σε vacutainer παρουσία και απουσία αντιπηκτικού παράγοντα, αντίστοιχα. Τα vacutainer για την απομόνωση του ορού παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές (rpm) για 10 λεπτά και σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, λήφθηκε από το υπερκείμενο ο ορός και από το υποκείμενο το πλάσμα. Η λήψη του ορού και του πλάσματος πραγματοποιήθηκε με πιπέτα και τοποθετήθηκαν

σε eppendorfs 1,5mL (6 μερίσματα) και αποθηκεύτηκαν σε βαθιά ψύξη (-80°C) μέχρι την εκτέλεση των απαραίτητων αναλύσεων.

**Γενική εξέταση αίματος και βιοχημικός έλεγχος:** Τα δείγματα πλάσματος των ασθενών αναλύθηκαν σε βιοχημικό αναλυτή (BS 200E, MINDRAY).

**Μέτρηση επιπέδων καλπροτεκτίνης (CAL) και λυσοζύμης (LYS) σε δείγμα κοπράνων:** Οι φλεγμονώδεις δείκτες CAL και LYS μετρήθηκαν με τη μέθοδο ‘Sandwich ELISA’.

**Διατροφική ανάλυση:** Ανάλυση της διατροφής των ασθενών σε μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά με το πρόγραμμα Nutrient analysis.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

### **5.1 Ποσοτικός προσδιορισμός καλπροτεκτίνης σε δείγμα κοπράνων**

Ο προσδιορισμός της καλπροτεκτίνης (calprotectin, CAL) στα κόπρανα, μιας πρωτεΐνης δέσμευσης ασβεστίου, που εκκρίνεται από ουδετερόφιλα και μονοπύρρηνα κύτταρα, είναι σημαντικός δείκτης νεοπλασιών και φλεγμονωδών νόσων του γαστρεντερικού. Το τεστ καλπροτεκτίνης εκτός του ότι επιτρέπει τον ξεκάθαρο διαχωρισμό μεταξύ του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου και της χρόνιας φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, τα επίπεδα του συσχετίζονται σημαντικά με την ιστολογική και ενδοσκοπική αξιολόγηση της ενεργότητας της νόσου Crohn και της ελκώδους κολίτιδας και προβλέπει την πιθανότητα υποτροπής καλύτερα από του βασικούς δείκτες φλεγμονής (CRP, ESR, HB). Χαμηλά επίπεδα καλπροτεκτίνης στα κόπρανα, σχεδόν αποκλείουν την πιθανότητα ύπαρξης οποιασδήποτε οργανικής εντερικής νόσου. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της καλπροτεκτίνης, εφαρμόζεται η τεχνική της **‘Sandwich ELISA’**, μέθοδος υψηλής ευαισθησίας, που επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων, αντιγόνων, κυτταροκινών, χημικών ουσιών και ορμονών σε βιολογικά υγρά.

#### **Αντιδραστήρια – όργανα:**

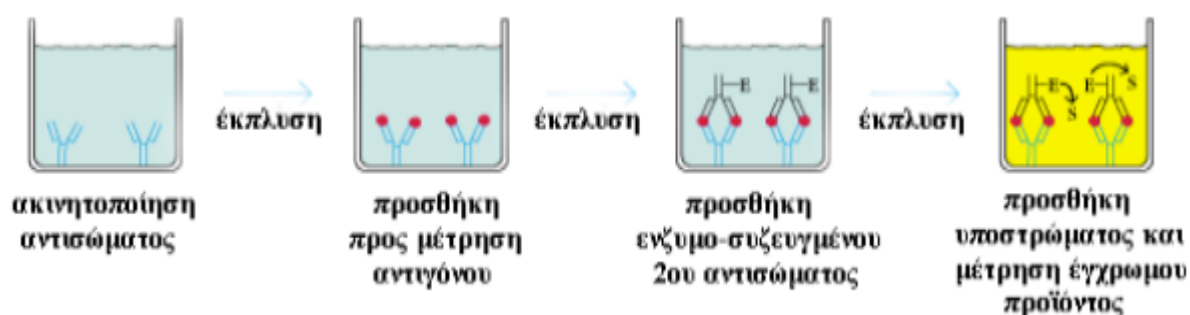
- Φωτόμετρο ELISA
- Εξειδικευμένο Elisa Kit για CAL
- Τριβλύο των 96 βοθρίων, αυτόματες πιπέτες και tips (1-10μL, 10-100μL, 100-1000μL), eppendorfs των 1.5mL και 2mL, falcons των 50mL
- Απιονισμένο ή δυσαπιονισμένο νερό
- Vortex
- Φυγόκεντρος

#### **Αρχή μεθόδου:**

Η αρχή της μεθόδου έγκειται στην ειδική αλληλεπίδραση αντιγόνου-αντισώματος. Στην ELISA τύπου Sandwich χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικά αντισώματα που αναγνωρίζουν διαφορετικούς επιτόπους του αντιγόνου. Τα αντισώματα που χρησιμοποιούνται για την πρόσδεση και την ανίχνευση των αντιγόνων είναι είτε μονοκλωνικά είτε πολυκλωνικά. Τα μονοκλωνικά αντισώματα αναγνωρίζουν έναν μόνο επίτοπο του αντιγόνου, επιτρέποντας την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ακόμα και μικρών ποσοτήτων του αντιγόνου. Τα πολυκλωνικά αντισώματα, από την άλλη, χρησιμοποιούνται ως αντισώματα πρόσδεσης.

Το πρώτο αντίσωμα ακινητοποιείται στην στερεά επιφάνεια και στη συνέχεια προστίθεται το εξεταζόμενο δείγμα που περιέχει το υπό ανίχνευση αντιγόνο σε άγνωστη

συγκέντρωση. Μετά την αντίδραση του πρώτου αντισώματος με το εξεταζόμενο αντιγόνο, ακολουθεί πλύση για να απομακρυνθεί ό,τι δεν δεσμεύτηκε και έπειτα προσθήκη του ενζυμο-συζευγμένου δευτέρου αντισώματος. Στη συνέχεια, επαναλαμβάνεται πλύση και προστίθεται το κατάλληλο υποστρώμα, το οποίο αντιδρά με το ένζυμο, παράγοντας έγχρωμο προϊόν και έτσι, ανιχνεύεται η ποσότητα του προϊόντος, η οποία είναι ανάλογη αυτής του αντιγόνου που έχει συνδεθεί με το ακινητοποιημένο αντίσωμα. Το προϊόν της αντίδρασης απορροφά στα 450nm.



**Εικόνα 20. Σχηματική απεικόνιση ELISA τύπου sandwich**

#### Αναλυτική πορεία:

Τα επίπεδα της καλπροτεκτίνης (CAL) στα δείγματα κοπράνων μετρούνται σε φωτόμετρο ELISA έπειτα από την εφαρμογή εξειδικευμένου Elisa sandwich Kit και αφότου τα αντιδραστήρια, τα πρότυπα και τα δείγματα των ασθενών έχουν προετοιμαστεί σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρίας. Πριν την εφαρμογή του πρωτόκολλου τα φυγοκεντημένα δείγματα (3000rpm για 10 λεπτά) και τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και να έχουν αναμειχθεί επαρκώς. Έπειτα, 100μL από αυτά προστίθενται στα βοθρία του τριβλύου, το οποίο είναι επικαλυμμένο με ένα υψηλής συγγένειας για την CAL μονοκλωνικό αντίσωμα. Το τριβλύο καλύπτεται και αφήνεται να επωαστεί για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας των 30 λεπτών το υπερκείμενο απομακρύνεται και ξεπλένεται με το διάλυμα πλύσης (5x250μL). Στη συνέχεια, 100μL από το επισημασμένο με υπεροξειδάση προϊόν σύζευξης (cojugate) προστίθεται σε κάθε βοθρίο και το τριβλύο επώαζεται για ακόμα 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Απομακρύνεται ξανά το υπερκείμενο και ξεπλένεται με το διάλυμα πλύσης. Ακολουθεί προσθήκη 100μL υποστρώματος (substrate) τετραμεθυλοβενζιδίνης και επώαση για 10-20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό σημείο. Τέλος, προστίθενται 100μL όξινου διαλύματος τερματισμού και το χρώμα μετατρέπεται από μπλε σε κίτρινο, με την ένταση του να είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της

καλπροτεκτίνης στο δείγμα (**Εικόνα 21**). Μετράται η απορρόφηση στα 450nm στο φωτόμετρο ELISA και τα αποτελέσματα εκφράζονται σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη.



*Εικόνα 21. Απεικόνιση της χρωματικής αλλαγής κατά την αντίδραση του κατάλληλου υποστρώματος με το συζευγμένο με το αντίσωμα ένζυμο (μπλε βοθρία) και κατά την προσθήκη του αντιδραστήριου τερματισμού (κίτρινα βοθρία).*

## 5.2 Ποσοτικός προσδιορισμός λυσοζύμης και β-ντεφενσίνης σε δείγμα κοπράνων

Η λυσοζύμη και η β-ντεφενσίνη είναι πρωτεΐνες, που προσδιορίζονται στα κόπρανα για την *in vitro* διάγνωση της νόσο Crohn και της ελκώδους κολίτιδας.

Η λυσοζύμη, που ανήκει στην ομάδα των αλκαλικών γλυκοσιδασών, προέρχεται στα κόπρανα από τα εντερικά κοκκιοκύτταρα, καθώς και από τα μονοπύρρηνα κύτταρα του εντερικού αυλού και εντοπίζεται σε όλα τα κύτταρα φλεγμονώδους διήθησης κατά την ενεργή νόσο Crohn. Η β-ντεφενσίνη, από την άλλη, εκφράζεται από τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και μέσω μικροοργανισμών (*E.coli*, *H.pylori*, *P.aeruginosa* κ.α.), ασκώντας αντιμικροβιακή δράση ενάντια στα βακτήρια, στους μύκητες και μερικούς ιούς, με αποτέλεσμα να επιδρά στη λειτουργία του φραγμού των επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός αυτών των δύο πρωτεϊνών γίνεται με την τεχνική της ‘**Sandwich ELISA**’, με την ίδια αρχή μεθόδου και τα ίδια αντιδραστήρια-όργανα, όπως στην καλπροτεκτίνη.

#### Αναλυτική πορεία:

Για τη μέτρηση των επιπέδων της λυσοζύμης και β-ντεφενσίνης χρησιμοποιούνται τα εξειδικευμένα για την καθεμία Elisa sandwich Kit και εφαρμόζεται το αντίστοιχο πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρίας. Η πορεία μέχρι και την τελική μέτρηση της απορρόφησης στα 450nm είναι ίδια με αυτήν που εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό της καλπροτεκτίνης με κάποιες μικρές διαφορές. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, πριν την προσθήκη των αρχικών δειγμάτων στα βοθρία, τα τελευταία ξεπλένονται με το διάλυμα πλύσης (5x250μL) και οι ενδιάμεσες επώσεις στη θερμοκρασία δωματίου διαρκούν 1 ώρα, με παράλληλη ανάδευση του τριβλύου σε οριζόντιο αναδευτήρα. Μετά την τελευταία επώαση στο σκοτάδι, για τη λυσοζύμη προστίθενται 50μL όξινου διαλύματος τερματισμού, ενώ για την β-ντεφενσίνη 100μL. Μετράται η απορρόφηση στα 450nm στο φωτόμετρο Elisa και τα αποτελέσματα εκφράζονται σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη της καθεμίας.

#### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ**

Όλες οι τιμές δίδονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τυπικό σφάλμα (mean $\pm$ SE). Για όλους τους δείκτες υπολογίστηκε η ποσοστιαία μεταβολή τους στο τέλος της παρέμβασης από το χρόνο 0.

## **Μέρος Γ': Αποτελέσματα**

## ΜΕΡΟΣ Γ' ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κατά την πρώτη επίσκεψη των ασθενών, δηλαδή πριν την έναρξη της κλινικής δοκιμής, έγινε εκτίμηση της κλινικής τους εικόνας, χρησιμοποιώντας τα εργαλεία Harvey-Bradshaw και το ερωτηματολόγιο IBDQ. Επιπλέον, πριν την έναρξη των σκευασμάτων (MX ή εικονικού φαρμάκου), μετρήθηκαν τα επίπεδα καλπροτεκτίνης (CAL) και λυσοζύμης (LYS) σε δείγμα κοπράνων. Συνολικά, 39 ασθενείς με νόσο Crohn σε ύφεση και έξαρση (N=39) ολοκλήρωσαν τη μελέτη και η κλινική τους εικόνα στο χρόνο 0 δίνεται στον **Πίνακα 5**.

*Πίνακας 5. Χαρακτηριστικά ασθενών στο χρόνο 0*

| Παράμετρος                | Μέγεθος                 |                            |
|---------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Φύλο                      | 21 άντρες, 18 γυναίκες  |                            |
| Λήψη βιολογικού παράγοντα | 16 Ναι, 23 Όχι          |                            |
| Κάπνισμα                  | 19 Ναι, 20 Όχι          |                            |
|                           | <i>Μέσος όρος (Μ.Ο)</i> | <i>Τυπικό σφάλμα (S.E)</i> |
| Ηλικία (χρ)               | 42.18                   | 2.44                       |
| Ύψος (cm)                 | 172                     | 0.016                      |
| Βάρος (kg)                | 70.79                   | 2.35                       |
| IBDQ                      | 163.61                  | 5.1                        |
| Harvey-Bradshaw           | 5.48                    | 2.78                       |
| CAL (μg/g)                | 903.45                  | 165.7                      |

Η βαρύτητα της φλεγμονής, που εκτιμήθηκε από τον ποσοτικό προσδιορισμό των φλεγμονωδών δεικτών CAL και LYS στα κόπρανα με την εφαρμογή της μεθόδου ELISA, αξιολογήθηκε πριν την έναρξη (χρόνος 0) και μετά το τέλος της παρέμβασης. Το χρονικό διάστημα της παρέμβασης για τους ασθενείς σε ύφεση και έξαρση ήταν 6 και 3 μήνες, αντίστοιχα (χρόνος 6, χρόνος 3). Στον **Πίνακα 6** φαίνονται τα αποτελέσματα των επιπέδων της CAL και LYS στα δείγματα κοπράνων των ασθενών με νόσο Crohn σε κατάσταση ύφεσης και έξαρσης πριν και μετά το τέλος της παρέμβασης με MX και με εικονικό φάρμακο (placebo).

Η κατανάλωση 2.8g Μαστίχας Χίου είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της καλπροτεκτίνης στους ασθενείς με ενεργή νόσο Crohn από  $1284.81 \pm 263.7 \mu\text{g/g}$  στο χρόνο 0 σε

687.5±157.6μg/g στο χρόνο 3, ενώ στους ασθενείς που έλαβαν το εικονικό φάρμακο η καλπροτεκτίνης αυξήθηκε από 1066.3±358.4μg/g σε 1478.1±312.1μg/g. Όπως, φαίνεται και από τον **Πίνακα 8**, τα επίπεδα του δείκτη στη πρώτη περίπτωση μειώθηκαν σχεδόν στο μισό (46.5%), έναντι της κατά 38.6% αύξησής του στην ομάδα ελέγχου (placebo). Αύξηση των επιπέδων της καλπροτεκτίνης παρατηρήθηκε τόσο στην ομάδα ελέγχου όσο και στην ομάδα παρέμβασης των ασθενών σε κατάσταση ύφεσης. Ωστόσο, η αύξηση στην ομάδα που κατανάλωσε το εικονικό φάρμακο βρέθηκε μεγαλύτερη από εκείνη της ομάδας που έλαβε τη ΜΧ και σε ποσοστά 75.91% και 50.86%, αντίστοιχα (**Πίνακας 7**). Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 6**, τα επίπεδα της λυσοζύμης στα κόπρανα των ασθενών δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές μεταξύ των ομάδων, ούτε κατά την ενεργή ούτε κατά την ανενεργή νόσο. Παρόλ' αυτά, μία ελαφριά μη σημαντική μείωση παρατηρείται σε όλες τις ομάδες.

**Πίνακας 6. Επίπεδα CAL και LYS σε δείγμα κοπράνων ασθενών πριν και μετά την παρέμβαση με ΜΧ ή εικονικό φάρμακο.**

| ΕΞΑΡΣΗ CD     |              |       |          |       |          |       |          |       | ΥΦΕΣΗ CD     |       |          |      |          |       |          |       |  |
|---------------|--------------|-------|----------|-------|----------|-------|----------|-------|--------------|-------|----------|------|----------|-------|----------|-------|--|
|               | Μαστίχα Χίου |       |          |       | Placebo  |       |          |       | Μαστίχα Χίου |       |          |      | Placebo  |       |          |       |  |
| Χρόνος        | Χρόνος 0     |       | Χρόνος 3 |       | Χρόνος 0 |       | Χρόνος 3 |       | Χρόνος 0     |       | Χρόνος 6 |      | Χρόνος 0 |       | Χρόνος 6 |       |  |
|               | M.O          | S.E   | M.O      | S.E   | M.O      | S.E   | M.O      | S.E   | M.O          | S.E   | M.O      | S.E  | M.O      | S.E   | M.O      | S.E   |  |
| CAL<br>(μg/g) | 1284.8       | 263.7 | 687.5    | 157.6 | 1066.3   | 358.4 | 1478.1   | 312.1 | 412.5        | 169.9 | 737.6    | 92.3 | 703.4    | 288.5 | 906.4    | 205.9 |  |
| LYS<br>(μg/g) | 10.87        | 1.74  | 8.34     | 0.77  | 8.6      | 1.01  | 6.86     | 0.42  | 7.13         | 0.93  | 10.27    | 0.69 | 6.96     | 0.43  | 5.99     | 0.38  |  |

**Πίνακας 7. Ποσοστιαία μεταβολή επιπέδων CAL και LYS ασθενών στο τέλος της παρέμβασης με ΜΧ ή εικονικό φάρμακο (- μείωση, + αύξηση).**

|            | ΕΞΑΡΣΗ CD    |         | ΥΦΕΣΗ CD     |         |
|------------|--------------|---------|--------------|---------|
|            | Μαστίχα Χίου | Placebo | Μαστίχα Χίου | Placebo |
|            | % Μεταβολή   |         | % Μεταβολή   |         |
| <b>CAL</b> | -46.5        | +38.6   | +50.9        | +75.9   |
| <b>LYS</b> | -23.3        | -20.2   | -13.9        | -12.9   |

Η κλινική εικόνα των ασθενών με νόσο Crohn αξιολογήθηκε από το ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής (IBDQ) και από το δείκτη Harvey-Bradshaw, χαρακτηριστικό για την εκτίμηση

της ενεργότητας της νόσου. Όπως φαίνεται από τον **Πίνακα 8** και τον **Πίνακα 9**, η ποιότητα ζωής των ασθενών τόσο σε φάση έξαρσης όσο και σε φάση ύφεσης εμφανίζει μικρή και σχεδόν ίση άνοδο στο τέλος της παρέμβασης με MX, από  $146.7 \pm 7.08$  σε  $154.2 \pm 8.99$  (5.11%) στην πρώτη περίπτωση και από  $190.8 \pm 8.37$  σε  $200.9 \pm 3.41$  (5.29%) στη δεύτερη. Η ημερήσια πρόσληψη 2.8g MX έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της ενεργότητας της νόσου Crohn στους ασθενείς με ύφεση σε ποσοστό που αγγίζει το 43.7% (**Πίνακας 9**). Από την άλλη, η κατανάλωση εικονικού φαρμάκου δεν σημείωσε αξιοσημείωτες μεταβολές στην ποιότητα ζωής και στην ενεργότητα της νόσου σε καμία ομάδα ασθενών.

**Πίνακας 8. Κλινική εικόνα των ασθενών πριν και μετά την παρέμβαση με MX ή εικονικό φάρμακο. (IBDQ: ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής, Harvey-Bradshaw: δείκτης ενεργότητας νόσου Crohn).**

| ΕΞΑΡΣΗ CD       |              |      |          |      |          |      |          | ΥΦΕΣΗ CD |              |      |          |      |          |       |          |       |
|-----------------|--------------|------|----------|------|----------|------|----------|----------|--------------|------|----------|------|----------|-------|----------|-------|
|                 | Μαστίχα Χίου |      |          |      | Placebo  |      |          |          | Μαστίχα Χίου |      |          |      | Placebo  |       |          |       |
| Χρόνος          | Χρόνος 0     |      | Χρόνος 3 |      | Χρόνος 0 |      | Χρόνος 3 |          | Χρόνος 0     |      | Χρόνος 6 |      | Χρόνος 0 |       | Χρόνος 6 |       |
|                 | M.O          | S.E  | M.O      | S.E  | M.O      | S.E  | M.O      | S.E      | M.O          | S.E  | M.O      | S.E  | M.O      | S.E   | M.O      | S.E   |
| IBDQ            | 146.7        | 7.08 | 154.2    | 8.99 | 148.9    | 6.37 | 152.2    | 9.46     | 190.8        | 8.37 | 200.9    | 3.41 | 169.0    | 13.19 | 159.0    | 15.92 |
| Harvey-Bradshaw | 7.0          | 0.44 | 5.2      | 1.32 | 6.69     | 0.47 | 5.61     | 0.84     | 1.77         | 0.4  | 1.0      | 0.33 | 2.25     | 0.85  | 2.5      | 0.61  |

**Πίνακας 9. Ποσοστιαία μεταβολή των δεικτών που καθορίζουν την κλινική εικόνα των ασθενών στο τέλος της παρέμβασης με MX ή εικονικό φάρμακο (+ αύξηση. – μείωση). (IBDQ: ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής, Harvey-Bradshaw: δείκτης ενεργότητας νόσου Crohn).**

|                        | ΕΞΑΡΣΗ CD    |         | ΥΦΕΣΗ CD     |         |
|------------------------|--------------|---------|--------------|---------|
|                        | Μαστίχα Χίου | Placebo | Μαστίχα Χίου | Placebo |
|                        | % Μεταβολή   |         | % Μεταβολή   |         |
| <b>IBDQ</b>            | +5.11        | +2.24   | +5.29        | -5.92   |
| <b>Harvey-Bradshaw</b> | -25.69       | -16.09  | -43.75       | +11.11  |

## **Μέρος Δ': Συζήτηση**

## **ΜΕΡΟΣ Δ': ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Τα αποτελέσματα της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι ενθαρρυντικά, μιας και η κατανάλωση φυσικού συμπληρώματος Μαστίχας Χίου φαίνεται να έχει ευεργετικές δράσεις στην κλινική πορεία των ασθενών με διαγνωσμένη νόσο Crohn. Όπως προκύπτει από τη μέτρηση των επιπέδων της φλεγμονώδους καλπροτεκτίνης πριν την έναρξη και στο τέλος της παρέμβασης, αυτά φαίνεται να μειώνονται στους ασθενείς με ενεργή νόσο, έπειτα από την ημερήσια κατανάλωση 2.8g μαστίχας (από  $1284.8 \pm 263.7 \mu\text{g/g}$  σε  $687.5 \pm 157.6 \mu\text{g/g}$ ), έναντι του εικονικού φαρμάκου (από  $1066.3 \pm 358.4 \mu\text{g/g}$  σε  $1478.1 \pm 312.1 \mu\text{g/g}$ ).

Η καλπροτεκτίνη, η μικρή συνδεδεμένη με ασβέστιο πρωτεΐνη των ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων, θεωρείται σημαντικός διαγνωστικός δείκτης για την ανίχνευση της εντερικής φλεγμονής καθότι η συγκέντρωσή της σχετίζεται άμεσα με την ένταση της διήθησης των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων (polymorphonuclear neutrophils, PMN) στο εντερικό βλεννογόνο, που υφίσταται κατά την ενεργή φάση της ΙΦΝΕ (Roseth και συν, 1997, Roseth και συν, 1999). Η θετική προγνωστική αξία αυτού του δείκτη είναι μεταξύ 70% και 100%, ενώ η ευαισθησία του και η ειδικότητα του να διακρίνει τη φλεγμονώδη από τη μη φλεγμονώδη νόσο ξεπερνάει το 90% (Lehman και συν, 2015, van Rheenen και συν, 2010). Η περισσότερη πληροφορία για την καλπροτεκτίνη ως διαγνωστικό δείκτη προέρχεται από μελέτες με ασθενείς που πάσχουν από νόσο Crohn, όπου προβλέπει την πιθανή έξαρση και υποτροπή της νόσου, την αποτελεσματικότητα της θεραπείας και την μετεγχειρητική υποτροπή (Lehman και συν, 2015). Η καλπροτεκτίνη φαίνεται να υπερέχει της C αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και του δείκτη CDAI στην διάκριση των διαφόρων επιπέδων της εντερικής φλεγμονής (Shoepfer και συν, 2010). Αυξημένα επίπεδα αυτής στα κόπρανα αντικατοπτρίζουν εντερική φλεγμονή οποιασδήποτε αιτίας και στην περίπτωση της νόσου Crohn έχουν περισσότερο από 90% θετική προβλεπτική αξία για την ενδοσκοπικά διαπιστωμένη ενεργή νόσο (Benhimol και συν, 2008). Ωστόσο, φαίνεται να σχετίζεται περισσότερο με την ενδοσκοπική και ιστολογική εκτίμηση της ενεργότητας της ελαιοκολικής εντόπισης νόσου Crohn, από αυτήν της νόσου που εντοπίζεται μόνο στον ειλεό (Sirponen και συν, 2008).

Δεδομένης της ισχυρής σύνδεσης της καλπροτεκτίνης με την ενεργότητα της νόσου Crohn, η μείωση των επιπέδων της στο τέλος της τρίμηνης παρέμβασης με MX στους ασθενείς με ενεργή νόσο, καταδεικνύει την προστατευτική δράση της κατανάλωσης MX, παράλληλα με τη συμβατική θεραπεία των ασθενών, στην εξέλιξη της φλεγμονής στο γαστρεντερικό σωλήνα. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε η ίδια δράση της MX στην ομάδα παρέμβασης των ασθενών με

ανενεργή νόσο. Το επίπεδα της καλπροτεκτίνης παρουσίασαν αύξηση, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στο μικρό αριθμό του δείγματος, θέτοντας την ανάγκη για εξέταση μεγαλύτερου αριθμού ασθενών. Επίσης, η λανθασμένη λήψη του σκευάσματος της MX, δηλαδή η παράλειψη της κατανάλωσης των επιθυμητών δόσεων ημερησίως εξαιτίας του μεγαλύτερου χρονικού διαστήματος της παρέμβασης (6 μήνες) αποτελεί ακόμα έναν περιορισμό της συγκεκριμένης μελέτης που συμβάλλει στο παραπάνω αποτέλεσμα. Εξάλλου, η καλπροτεκτίνη είναι κυρίως δείκτης έξαρσης της νόσου και μπορεί να προβλέψει την πιθανή υποτροπή των ασθενών, όταν τα επίπεδα της αυξάνονται.

Ιδιαίτερη μεταβολή στα επίπεδα της λυσοζύμης στα δείγματα κοπράνων δεν παρατηρήθηκε σε καμία από τις ομάδες ελέγχου και παρέμβασης των ασθενών με ενεργή και ανενεργή νόσο Crohn. Εξάλλου, η λυσοζύμη κοπράνων δεν φαίνεται να βοηθάει στη διάγνωση και στην ανίχνευση της ενεργότητας της ΙΦΝΕ ως σύνολο, αλλά ίσως βοηθάει στη διάγνωση και την αξιολόγηση της ενεργότητας της εντοπισμένης στο κόλον νόσου Crohn (Veer και συν, 1998). Πολύ μικρή συσχέτιση της λυσοζύμης με τον δείκτη ενεργότητας CDAI εντοπίστηκε στη μελέτη των Veer και συν, το 1998 ( $r=0.32$ ,  $p=0.001$ ). Το αποτέλεσμα αυτό είναι μηδαμικής σημασίας, γι' αυτό και ο δείκτης αυτός συνηθίζεται να χρησιμοποιείται ως βοηθητικό εργαλείο για την αξιολόγηση της σοβαρότητας της φλεγμονής και της ενεργότητας της νόσου. Παρόλα αυτά, εξειδικευμένος δείκτης διάγνωσης και ενεργότητας δεν έχει βρεθεί ακόμα, γι' αυτό η μέτρηση ενός συνδυασμού δεικτών θα εκτιμούσε σαφέστερα την κλινική εικόνα του ασθενούς.

Η θετική επίδραση της MX στη φλεγμονή αποδεικνύεται και από τη μείωση της ενεργότητας της νόσου, όπως εκτιμήθηκε από τον δείκτη Harvey-Bradshaw, στους ασθενείς με ενεργή και ανενεργή νόσο Crohn που έλαβαν τη MX. Ο δείκτης αυτός, όπως και ο δείκτης CDAI, υπολογίζουν το βαθμό ενεργότητας αντλώντας πληροφορίες σχετικά με τα πιθανά συμπτώματα, τα δεδομένα της κλινικής εξέτασης και τις εργαστηριακές τιμές. Παρόλα αυτά παρουσιάζουν σημαντικές αδυναμίες (Lehman και συν, 2015). Συγκεκριμένα, ο δείκτης Harvey-Bradshaw, που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, ενώ αποτελεί ένα εύχρηστο εργαλείο, δε λαμβάνει υπόψιν σημαντικές πληροφορίες, όπως οι βιοχημικοί δείκτες, ο αιματοκρίτης, το σωματικό βάρος, ο πυρετός και η παρουσία τυχών αιματηρών κενώσεων. Ωστόσο, χρησιμοποιείται στην καθημερινή κλινική πράξη, αλλά και σε μικρές πιλοτικές μελέτες, καθώς αποτελεί ένα εύχρηστο, οικονομικό και γρήγορο εργαλείο για την εκτίμηση της σοβαρότητας της νόσου χωρίς να χρειάζεται η ενδοσκοπική εικόνα του εντέρου (Best και συν, 2006).

Μείωση της ενεργότητας της νόσου Crohn έπειτα από την πρόσληψη MX παρατηρήθηκε και στη μελέτη των Kaliora και συν, το 2007. Συγκεκριμένα, ύστερα από 4 εβδομάδες

πρόσληψη 2.2g φυσικής MX σε μορφή κάψουλας, ο δείκτης CDAI ασθενών ήπιας έως μέτριας σοβαρότητας της νόσου Crohn μειώθηκε στατιστικά σημαντικά, όταν συγκρίθηκε με τις αρχικές τιμές ( $222.9 \pm 18.7$  έναντι  $136.3 \pm 12.3$ ) (Kaliora και συν, 2007α).

Η μικρή μείωση της ενεργότητας της νόσου (16.09%) στην περίπτωση των ασθενών σε έξαρση που έλαβαν το εικονικό φάρμακο, πιθανόν οφείλεται στην απόκριση αυτών στο placebo (placebo effect). Δηλαδή, το θετικό αυτό αποτέλεσμα δεν αποδίδεται στις ιδιότητες του εικονικού φαρμάκου, αλλά στην αυξημένη πεποίθηση των ασθενών για θεραπεία της νόσου. Οι ασθενείς με ΙΦΝΕ παρουσιάζουν κάποια χαρακτηριστικά που τους καθιστούν ιδιαίτερα ευάλωτους στο placebo effect; οι ΙΦΝΕ είναι χρόνιες παθήσεις που χαρακτηρίζονται από φάσεις έξαρσης με τον κοιλιακό πόνο να αποτελεί ένα από τα κύρια συμπτώματα τους (Marín-Jiménez, 2009). Το εικονικό φάρμακο έχει πραγματικές ψυχολογικές και βιολογικές επιδράσεις στους ασθενείς με ΙΦΝΕ, που συνεισφέρουν στο πλαίσιο της θεραπείας (Lu & Chang, 2011). Σε κλινικές μελέτες, που αφορούν ασθενείς, οι οποίοι πάσχουν από φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (ΙΦΝΕ) ή σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (Irritable Bowel Syndrome, IBS), η θετική απόκριση αυτών στη λήψη του εικονικού φαρμάκου, παράλληλα με τη συμβατική τους θεραπεία, είναι πιο έντονη όσο αυξάνεται το χρονικό διάστημα της παρέμβασης και η συχνότητα των επισκέψεων (Sands, 2009). Αυτό αναφέρθηκε και στη μελέτη των Galahan και συν, το 2009, οι οποίοι διερευνώντας τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές σχετικές με τη θεραπεία ενεργής νόσου Crohn, παρατήρησαν ότι η επαγόμενη από το εικονικό φάρμακο μείωση της ενεργότητας της νόσου διαρκεί περισσότερο όσο μεγαλύτερο είναι το χρονικό διάστημα της εκάστοτε δοκιμής. Έτσι, στην παρούσα μελέτη το χρονικό διάστημα των τριών μηνών που διήρκεσε η κατανάλωση του εικονικού φαρμάκου στους ασθενείς σε έξαρση δικαιολογεί τη μείωση της ενεργότητας της νόσου.

Σε ό,τι αφορά την κλινική εικόνα των ασθενών, αυτή αξιολογήθηκε, επίσης, και από την ποιότητα ζωής αυτών μέσω του ερωτηματολογίου ποιότητας ζωής (IBDQ). Το IBDQ που χρησιμοποιείται ευρέως στις κλινικές δοκιμές, λαμβάνοντας υπόψιν την επίδραση που έχει η νόσος στην ψυχολογική και συναισθηματική λειτουργία και την κοινωνική ζωή των ασθενών, αποτελεί ένα έγκυρο, αξιόπιστο και γρήγορο εργαλείο για την αξιολόγηση της ποιότητας ζωής, που σχετίζεται με την υγεία των ανθρώπων με ΙΦΝΕ (Palis και συν, 2001, Palis και συν, 2004). Παρόλα αυτά η υποκειμενικότητα του κάθε ασθενούς όταν αξιολογεί τον βαθμό που επιδρά η νόσος στους τομείς της κοινωνικής δραστηριότητας, της ικανότητας του να εργαστεί, της σεξουαλικής ζωής, καθώς και της εκτίμησης που τρέφει στον εαυτό του, αποτελεί αδυναμία του συγκεκριμένου εργαλείου, που οδηγεί σε αμφίβολα αποτελέσματα (Irvine EJ, 1993, Vlachonicolis και συν, 2003).

Αρκετές μελέτες έχουν αξιολογήσει το βαθμό συσχέτισης της ποιότητας ζωής των ασθενών με ΙΦΝΕ και της ενεργότητας της νόσου. Ενδεικτικά, οι Casellas και συν, το 2004, βρήκαν καλή αντίστροφη γραμμική συσχέτιση μεταξύ του IBDQ και του δείκτη ενεργότητας Harvey-Bradshaw για τη νόσο Crohn ( $-0.59, p<0.05$ ). Δηλαδή, όσο μεγαλύτερος ήταν ο δείκτης Harvey-Bradshaw τόσο μικρότερο ήταν το αποτέλεσμα του IBDQ. Επίσης, συσχέτιση του IBDQ με το δείκτη CDAI παρατηρήθηκε το 2015 στη μελέτη των Gavrilescu και συν, δηλώνοντας ότι όσο πιο ενεργή ήταν η νόσος, τόσο πιο χαμηλά αξιολογούσαν οι ασθενείς την ποιότητα ζωής τους.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, η ποιότητα ζωής παρουσίασε μία μικρή και σχετικά ίση άνοδο σε όλες τις ομάδες των ασθενών που έλαβαν 2.8g MX, σε έξαρση και ύφεση στο τέλος της παρέμβασης, σε αντίθεση με τις ομάδες ελέγχου, όπου δεν σημειώθηκαν σημαντικές μεταβολές. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ενθαρρυντικά σε ό,τι αφορά τη βελτίωση της κλινικής εικόνας των ασθενών, φανερώνοντας την επίδραση της Μαστίχας Χίου στην εξομάλυνση των συμπτωμάτων ασθενών με ενεργή και ανενεργή νόσο, σε τέτοιο βαθμό που βελτιώνει τη δραστηριότητα του στον ψυχολογικό και κοινωνικό τομέα. Μάλιστα, στην περίπτωση των ασθενών με τη νόσο Crohn σε φάση έξαρσης η κατάληξη αυτή συνάδει με τη μειωμένη ενεργότητα της νόσου και τα χαμηλά επίπεδα της καλπροτεκτίνης στα κόπρανα μετά από την πρόσληψη της MX, επιβεβαιώνοντας την ευεργετική επίδραση του φυσικού αυτού συμπληρώματος στην κλινική πορεία των ασθενών. Ωστόσο, η εξέταση μεγαλύτερου δείγματος είναι αναγκαία για την ασφαλή επιβεβαίωση αυτών των αποτελεσμάτων.

Συμπερασματικά, η ημερήσια πρόσληψη Μαστίχας Χίου, της φυσικής αυτής ρητίνης που χαρακτηρίζεται από αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, φαίνεται να βελτιώνει την εξέλιξη της ενεργούς νόσου Crohn, στο επίπεδο της φλεγμονής και της κλινικής εικόνας των ασθενών. Η εξομάλυνση των συμπτωμάτων, ο περιορισμός της ενεργότητας της νόσου Crohn και η μείωση των επιπέδων φλεγμονωδών δεικτών στα κόπρανα μέσω της Μαστίχας Χίου, μπορεί να επιτρέψει την παράλληλη χορήγηση του φυσικού αυτού προϊόντος με τη συμβατική θεραπεία των ασθενών για την καλύτερη κλινική πορεία των ασθενών με ενεργή νόσο. Ωστόσο, τα ενθαρρυντικά αυτά αποτελέσματα της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής αποτελούν πρώιμα αποτελέσματα μιας μεγαλύτερης κλινικής δοκιμής χορήγησης του φυσικού συμπληρώματος Μαστίχας Χίου σε ασθενείς με Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου, η οποία αναμένεται να καταλήξει σε ασφαλέστερα συμπεράσματα.

## Βιβλιογραφία

- Abegunde, A. T., Muhammad, B. H., Bhatti, O., & Ali, T. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review. *World Journal of Gastroenterology*, 2016; 22(27), 6296.
- Aksoy, A., Duran, N., & Koksall, F. In vitro and in vivo antimicrobial effects of mastic chewing gum against *Streptococcus mutans* and *mutans streptococci*. *Archives of Oral Biology*, 2006; 51(6), 476-481.
- 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.
- Ananthakrishnan, A. N., Khalili, H., Konijeti, G. G., Higuchi, L. M., De Silva, P., Korzenik, J. R., & Chan, A. T. 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.
- Anderson, C. A., Boucher, G., Lees, C. W., Franke, A., D'Amato, M., Taylor, K. D., & Lagacé, C. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nature genetics*, 2011; 43(3), 246-252.
- Andrikopoulos, N. K., Kaliora, A. C., Assimopoulou, A. N., & Papapeorgiou, V. P. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytotherapy Research*, 2003; 17(5), 501-507.
- Antharam, V. C., Li, E. C., Ishmael, A., Sharma, A., Mai, V., Rand, K. H., & Wang, G. P. Intestinal dysbiosis and depletion of butyrogenic bacteria in *Clostridium difficile* infection and nosocomial diarrhea. *Journal of clinical microbiology*, 2013; 51(9), 2884-2892.
- Ardizzone, S., & Porro, G. B. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *Journal of internal medicine*, 252(6), 475-496. *ence. J Gastrointestin Liver Dis*, 2002; 21(3), 265-269.
- Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., & Taniguchi, T. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*, 2011; 331(6015), 337-341.
- Barclay, A. R., Russell, R. K., Wilson, M. L., Gilmour, W. H., Satsangi, J., & Wilson, D. C. Systematic review: the role of breastfeeding in the development of pediatric inflammatory bowel disease. *The Journal of pediatrics*, 2009; 155(3), 421-426.

- Barrett, J. C., Hansoul, S., Nicolae, D. L., Cho, J. H., Duerr, R. H., Rioux, J. D., ... & Bitton, A. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nature genetics*, 2008; 40(8), 955-962.
- Benchimol, E. I., Seow, C. H., Steinhart, A. H., & Griffiths, A. M. Traditional corticosteroids for induction of remission in Crohn's disease. *The Cochrane Library*. 2008
- Best, W. R. Predicting the Crohn's disease activity index from the harvey-bradshaw index. *Inflammatory bowel diseases*, 2006; 12(4), 304-310.
- Bouma, G., & Strober, W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*, 2003; 3(7), 521-533.
- Braca, A., Dal Piaz, F., Marzocco, S., Vassallo, A., & De Tommasi, N. Triterpene derivatives as inhibitors of protein involved in the inflammatory process: molecules interfering with phospholipase A2, cyclooxygenase, and lipoxygenase. *Current drug targets*, 2011; 12(3), 302-321.
- Bullock, N. R., Booth, J. C., & Gibson, G. R. Comparative composition of bacteria in the human intestinal microflora during remission and active ulcerative colitis. *Current issues in intestinal microbiology*, 2004; 5(2), 59-64.
- Büning, C., & Lochs, H. Conventional therapy for Crohn's disease. *World journal of gastroenterology*, 2006; 12(30), 4794-4806.
- Burri, E., Beglinger, C., von Felten, S., & Lehmann, F. S. Fecal calprotectin and the clinical activity index are both useful to monitor medical treatment in patients with ulcerative colitis. *Digestive diseases and sciences*, 2015; 60(2), 485-491.
- Cammarota, G., Ianiro, G., Cianci, R., Bibbò, S., Gasbarrini, A., & Currò, D. The involvement of gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: potential for therapy. *Pharmacology & therapeutics*, 2015; 149, 191-212.
- Casellas, F., Alcalá, M. J., Prieto, L., Miró, J. R. A., & Malagelada, J. R. Assessment of the influence of disease activity on the quality of life of patients with inflammatory bowel disease using a short questionnaire. *The American journal of gastroenterology*, 2004; 99(3), 457-461.
- Chadzopulu, A., Koukouliata, A., Theodosopoulou, E., & Adraniotis, J. Unique mastic resin from Chios. *Prog Health Sci*, 2011; 1(1), 131-135.
- Choli-Papadopoulos T, Kottakis F, Papadopoulos G, Pendas S. Helicobacter pylori neutrophil activating protein as target for new drugs against H. pylori inflammation. *World J Gastroenterol*, 2011; 17(21), 2585-91
- Chow, J., Tang, H., & Mazmanian, S. K. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Current opinion in immunology*, 2011; (4), 473-480.

- Cleynen, I., Boucher, G., Jostins, L., Schumm, L. P., Zeissig, S., Ahmad, T., & Brant, S. R. Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: a genetic association study. *The Lancet*, 2016; 387(10014), 156-167.
- Conrad, K., Roggenbuck, D., & Laass, M. W. Diagnosis and classification of ulcerative colitis. *Autoimmunity reviews*, 2014; 13(4), 463-466.
- Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, A. L., Barnich, N., & Colombel, J. F. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2004; 127(2), 412-421.
- Dedoussis GV, Kaliora AC, Psarras S, Chiou A, Mylona A, Papadopoulos NG, Andrikopoulos NK. Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 2004; 174(2), 293-303.
- Dickstein, J. B., & Moldofsky, H. Sleep, cytokines and immune function. *Sleep medicine reviews*, 1999; 3(3), 219-228.
- Dimas, K. S., Pantazis, P., & Ramanujam, R. Chios mastic gum: a plant-produced resin exhibiting numerous diverse pharmaceutical and biomedical properties. *in vivo*, 2012; 26(5), 777-785.
- Duerr, R. H., Taylor, K. D., Brant, S. R., Rioux, J. D., Silverberg, M. S., Daly, M. J., ... & Dassopoulos, T. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *science*, 2006; 314(5804), 1461-1463.
- E Ek, W., D'Amato, M., & Halfvarson, J. The history of genetics in inflammatory bowel disease. *Annals of Gastroenterology*, 2014; 27(4), 294.
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., & Relman, D. A. Diversity of the human intestinal microbial flora. *science*, 2005; 308(5728), 1635-1638.
- Elson CO, Cong Y, Weaver CT, Schoeb TR, McClanahan TK, Fick RB and Kastelein RA. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology*, 2007; 132: 2359-2370.
- Fajas, L., Auboeuf, D., Raspé, E., Schoonjans, K., Lefebvre, A. M., Saladin, R., & Vidal-Puig, A. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR $\gamma$  gene. *Journal of Biological Chemistry*, 1997; 272(30), 18779-18789.
- Fisher, S. A., Tremelling, M., Anderson, C. A., Gwilliam, R., Bumpstead, S., Prescott, N. J., & Barrett, J. C. Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. *Nature genetics*, 2008; 40(6), 710-712.

- Ford, A. C., Bernstein, C. N., Khan, K. J., Abreu, M. T., Marshall, J. K., Talley, N. J., & Moayyedi, P. Glucocorticosteroid therapy in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *The American journal of gastroenterology*, 2011; 106(4), 590-599.
- Franke, A., McGovern, D. P., Barrett, J. C., Wang, K., Radford-Smith, G. L., Ahmad, T., & Anderson, C. A. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nature genetics*, 2010; 42(12), 1118-1125.
- Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T and Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*, 2003; 52: 65-70.
- Gallahan, W. C., Case, D., & Bloomfeld, R. S. An analysis of the placebo effect in Crohn's disease over time. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2010; 31(1), 102-107.
- Gavrilescu, O., Dranga, M., Mihai, C., & Prelipcean, C. C. QUALITY OF LIFE IN CROHN'S DISEASE PATIENTS. *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*, 2014; 119(2), 340-345.
- Gerbarg, P. L., Jacob, V. E., Stevens, L., Bosworth, B. P., Chabouni, F., DeFilippis, E. M., & Harbus, M. D. The effect of breathing, movement, and meditation on psychological and physical symptoms and inflammatory biomarkers in inflammatory bowel disease: a randomized controlled trial. *Inflammatory bowel diseases*, 2015; 21(12), 2886-2896.
- Gianotti, L., Braga, M., Nespoli, L., Radaelli, G., Beneduce, A., & Di Carlo, V. A randomized controlled trial of preoperative oral supplementation with a specialized diet in patients with gastrointestinal cancer. *Gastroenterology*, 2002; 122(7), 1763-1770.
- Gioxari, A., Kaliora, A. C., Papalois, A., Agrogiannis, G., Triantafillidis, J. K., & Andrikopoulos, N. K. Pistacia lentiscus Resin Regulates Intestinal Damage and Inflammation in Trinitrobenzene Sulfonic Acid-Induced Colitis. *Journal of medicinal food*, 2011; 14(11), 1403-1411.
- Goodhand, J., Rampton, D., Bitton, A., Dobkin, P., Edwardes, M., Sewitch, M., & Dufrense, L. Predicting relapse in Crohn's disease: a biopsychosocial model. Commentary. *Gut*, 2008; 57(10).
- Guyton and Hall. *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 13ed. Elsevier.
- Hajishengallis, G., Darveau, R. P., & Curtis, M. A. (2012). The keystone-pathogen hypothesis. *Nature Reviews Microbiology*, 2011; 10(10), 717-725.
- Hendrickson, B. A., Gokhale, R., & Cho, J. H. Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Clinical microbiology reviews*, 2002; 15(1), 79-94.

- Higuchi, L. M., Khalili, H., Chan, A. T., Richter, J. M., Bousvaros, A., & Fuchs, C. S. A prospective study of cigarette smoking and the risk of inflammatory bowel disease in women. *The American journal of gastroenterology*, 2012; 107(9), 1399-1406.
- Hindorf, U., Johansson, M., Eriksson, A., Kvifors, E., & Almer, S. H. C. Mercaptopurine treatment should be considered in azathioprine intolerant patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2009; 29(6), 654-661.
- Ho, G. T., Lee, H. M., Brydon, G., Ting, T., Hare, N., Drummond, H., & Arnott, I. D. Fecal calprotectin predicts the clinical course of acute severe ulcerative colitis. *The American journal of gastroenterology*, 2009; 104(3), 673-678.
- Hooper, L. V., & Macpherson, A. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*, 2010; 10(3), 159-169.
- Hou, J. K., Abraham, B., & El-Serag, H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *The American journal of gastroenterology*, 2011; 106(4), 563-573.
- Huang, Y., & Chen, Z. Inflammatory bowel disease related innate immunity and adaptive immunity. *Am J Transl Res.*; 8(6), 2490-2497.
- Iliev, I. D., Funari, V. A., Taylor, K. D., Nguyen, Q., Reyes, C. N., Strom, S. P., ... & Rotter, J. I. Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis. *Science*, 2012; 336(6086), 1314-1317.
- Irvine, E. J. Quality of Life—measurement in inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1993; 28(sup199), 36-39.
- Johansson, M. E., Phillipson, M., Petersson, J., Velcich, A., Holm, L., & Hansson, G. C. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2008; 105(39), 15064-15069.
- Johnson, G. J., Cosnes, J., & Mansfield, J. C. Review article: smoking cessation as primary therapy to modify the course of Crohn's disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2005; 21(8), 921-931.
- Jostins, L., Ripke, S., Weersma, R. K., Duerr, R. H., McGovern, D. P., Hui, K. Y., & Essers, J. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*, 2012; 491(7422), 119-124.
- Kaliora, A. C., Mylona, A., Chiou, A., Petsios, D. G., & Andrikopoulos, N. K. Detection and identification of simple phenolics in Pistacia lentiscus resin. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 2004; 27(2), 289-300.

- Kaliora, A. C., Stathopoulou, M. G., Triantafillidis, J. K., Dedoussis, G. V., & Andrikopoulos, N. K. Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World journal of Gastroenterology*, 2007; 13(5), 748.
- Kanai, T., Kawamura, T., Dohi, T., Makita, S., Nemoto, Y., Totsuka, T., & Watanabe, M. TH1/TH2-mediated colitis induced by adoptive transfer of CD4<sup>+</sup> CD45RB<sup>high</sup> T lymphocytes into nude mice. *Inflammatory bowel diseases*, 2006; 12(2), 89-99.
- Kitani A and Xu L. Regulatory T cells and the induction of IL-17. *Mucosal Immunol*, 1 Suppl 2008; 1: S43-46.
- Kostic, A. D., Xavier, R. J., & Gevers, D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology*, 2014; 146(6), 1489-1499.
- 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.
- Koutsoudaki C, Krsek M and Rodger A: Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. chia. *J Agric Food Chem*. 2005; 53: 7681-7685.
- Laass, M. W., Roggenbuck, D., & Conrad, K. Diagnosis and classification of Crohn's disease. *Autoimmunity reviews*, 2014; 13(4), 467-471.
- Langhorst, J., Elsenbruch, S., Koelzer, J., Rueffer, A., Michalsen, A., & Dobos, G. J. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices. *The American journal of gastroenterology*, 2008; 103(1), 162-169.
- Langhorst, J., Elsenbruch, S., Mueller, T., Rueffer, A., Spahn, G., Michalsen, A., & Dobos, G. J. Comparison of 4 neutrophil-derived proteins in feces as indicators of disease activity in ulcerative colitis. *Inflammatory bowel diseases*, 2005; 11(12), 1085-1091.
- Lee, D., Albenberg, L., Compher, C., Baldassano, R., Piccoli, D., Lewis, J. D., & Wu, G. D. Diet in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 2015; 148(6), 1087-1106.
- Lee, J. C. Predicting the Course of IBD: Light at the End of the Tunnel?. *Digestive Diseases*, 30(Suppl. 1), 2012; 95-99.
- Lehmann, F. S., Trapani, F., Fueglistaler, I., Terracciano, L. M., von Flüe, M., Cathomas, G., & Beglinger, C. Clinical and histopathological correlations of fecal calprotectin release in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2014; 20(17), 4994-4999.

- Leong, R. W., Mitrev, N., & Ko, Y. Hygiene Hypothesis: Is the Evidence the Same All Over the World?. *Digestive Diseases*, 2016; 34(1-2), 35-42.
- Loddo, I., & Romano, C. Inflammatory bowel disease: genetics, epigenetics, and pathogenesis. *Frontiers in immunology*, 2015; 6.
- Loftus, E. V. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*, 2004; 126(6), 1504-1517.
- Loizou, S., Paraschos, S., Mitakou, S., Chrousos, G. P., Lekakis, I., & Moutsatsou, P. Chios mastic gum extract and isolated phytosterol tirucallol exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Experimental Biology and Medicine*, 2009; 234(5), 553-561.
- Lu, C. L., & Chang, F. Y. Placebo effect in patients with irritable bowel syndrome. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2011; 26(s3), 116-118.
- Lukacs, N. W., Chensue, S. W., Strieter, R. M., Warmington, K., & Kunkel, S. L. Inflammatory granuloma formation is mediated by TNF-alpha-inducible intercellular adhesion molecule-1. *The Journal of Immunology*, 1994; 152(12), 5883-5889.
- Magiatis P, Melliou E, Skaltsounis AL, Chinou IB and Mitaku S: Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Planta Med* 1999; 65: 749-752.
- Maiden, L. Capsule endoscopic diagnosis of nonsteroidal antiinflammatory drug-induced enteropathy. *Journal of gastroenterology*, 2009; 44(19), 64-71.
- Mangelsdorf, D. J., Thummel, C., Beato, M., Herrlich, P., Schütz, G., Umesono, K., & Evans, R. M. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell*, 1999; 83(6), 835-839.
- Marín-Jiménez, I. [The placebo effect in inflammatory bowel disease]. *Gastroenterologia y hepatologia*, 2009; 32, 44-49.
- Marlow, G., Ellett, S., Ferguson, I. R., Zhu, S., Karunasinghe, N., Jesuthasan, A. C., & Ferguson, L. R. Transcriptomics to study the effect of a Mediterranean-inspired diet on inflammation in Crohn's disease patients. *Human genomics*, 2013; 7(1), 1.
- Matijašić, M., Meštrović, T., Perić, M., Čipčić Paljetak, H., Panek, M., Vranešić Bender, D., & Verbanac, D. Modulating composition and metabolic activity of the gut microbiota in IBD patients. *International journal of molecular sciences*, 2016; 17(4), 578.
- McNees, A. L., Markesich, D., Zayyani, N. R., & Graham, D. Y. Mycobacterium paratuberculosis as a cause of Crohn's disease. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 2015; 9(12), 1523-1534.
- Merga, Y., Campbell, B. J., & Rhodes, J. M. Mucosal barrier, bacteria and inflammatory bowel disease: possibilities for therapy. *Digestive Diseases*, 2014; 32(4), 475-483.

- M'Koma, A. E. Inflammatory bowel disease: an expanding global health problem. *Clinical medicine insights. Gastroenterology*. 2013; 6, 33.
- Molnár, T., Farkas, K., Nyári, T., Szepes, Z., Nagy, F., & Wittmann, T. Frequency and predictors of loss of response to infliximab or adalimumab in Crohn's disease after one-year treatment period-a single center exper. 2012
- Molodecky, N. A., Soon, S., Rabi, D. M., Ghali, W. A., Ferris, M., Chernoff, G., & Kaplan, G. G. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*, 2012; 142(1), 46-54.
- Mulder, C. J., Fockens, P., Meijer, J. W., van der Heide, H., Wiltink, H. H., & Tytgat, G. N. Beclomethasone dipropionate (3mg) versus 5-aminosalicylic acid (2g) versus the combination of both (3mg/2g) as retention enemas in active ulcerative proctitis. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 1996; 8(6), 549-554.
- Noverr, M. C., & Huffnagle, G. B. The 'microflora hypothesis' of allergic diseases. *Clinical & Experimental Allergy*, 2005; 35(12), 1511-1520.
- Palis, A. G., Vlachonikolis, J. G., Mantzaris, G., Leontidis, H., Giannadaki, E., Mouzas, I. A. Validation of the Greek version of Inflammatory Bowel Disease Questionnaire. *Archives of Hellenic medicine*, 2001; 18 (3), 297-302.
- Pallis, A. G., Mouzas, I. A., & Vlachonikolis, I. G. The inflammatory bowel disease questionnaire. A review of its national validation studies. *Inflammatory bowel diseases*, 2004; 10(3), 261-269.
- Papalois, A., Gioxari, A., Kaliora, A. C., Lymperopoulou, A., Agrogiannis, G., Papada, E., & Andrikopoulos, N. K. Chios mastic fractions in experimental colitis: implication of the nuclear factor  $\kappa$ B pathway in cultured HT29 cells. *Journal of medicinal food*, 2012; 15(11), 974-983.
- Paraschos, S., Magiatis, P., Mitakou, S., Petraki, K., Kalliaropoulos, A., Maragkoudakis, P., & Skaltsounis, A. L. In vitro and in vivo activities of Chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2007; 51(2), 551-559.
- Roitt, I., J. Brostoff, and D. Male. Immunology, ed. Mosby. 1996
- Røseth, A. G., Aadland, E., Jahnsen, J., & Raknerud, N. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion*, 1997; 58(2), 176-180.
- Røseth, A. G., Schmidt, P. N., & Fagerhol, M. K. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients

- with inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 1999; 34(1), 50-54.
- Rothfuss, K. S., Stange, E. F., & Herrlinger, K. R. Extraintestinal manifestations and complications in inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 2006; 12(30), 4819.
- Ruemmele, F. M. Role of Diet in Inflammatory Bowel Disease. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2016; 68(Suppl. 1), 33-41.
- Rutgeerts, P., Assche, G., & Vermeire, S. Review article: infliximab therapy for inflammatory bowel disease—seven years on. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2006; 23(4), 451-463.
- Sales-Campos, H., Basso, P. J., Alves, V. B. F., Fonseca, M. T. C., Bonfá, G., Nardini, V., & Cardoso, C. R. B. Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2015; 48(2), 96-107.
- Sands, B. E The placebo response rate in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases*, 2010; 27(Suppl. 1), 68-75.
- Sartor, R. B. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiological and clinical considerations. *Gastroenterology*, 1994; 106(2), 533-539.
- Schenk, M., Bouchon, A., Seibold, F., & Mueller, C. TREM-1—expressing intestinal macrophages crucially amplify chronic inflammation in experimental colitis and inflammatory bowel diseases. *The Journal of clinical investigation*, 2007; 117(10), 3097-3106.
- Schoepfer, A. M., Beglinger, C., Straumann, A., Trummel, M., Vavricka, S. R., Bruegger, L. E., & Seibold, F. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *The American journal of gastroenterology*, 2010; 105(1), 162-169.
- Schoepfer, A. M., Vavricka, S., Zahnd-Straumann, N., Straumann, A., & Beglinger, C. Monitoring inflammatory bowel disease activity: clinical activity is judged to be more relevant than endoscopic severity or biomarkers. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2012; 6(4), 412-418.
- Setiawan, T., Metwali, A., Blum, A. M., Ince, M. N., Urban, J. F., Elliott, D. E., & Weinstock, J. V. *Heligmosomoides polygyrus* promotes regulatory T-cell cytokine production in the murine normal distal intestine. *Infection and immunity*, 2007; 75(9), 4655-4663.
- Sharif Sharifi, M., & Hazell, S. L. Fractionation of mastic gum in relation to antimicrobial activity. *Pharmaceuticals*, 2009; 2(1), 2-10.

- Sharifi, M. S., & Hazell, S. L. Isolation, analysis and antimicrobial activity of the acidic fractions of Mastic, Kurdica, Mutica and Cabolica gums from genus Pistacia. *Global journal of health science*, 2012; 4(1), 217.
- Shastri, Y. M., Bergis, D., Povse, N., Schäfer, V., Shastri, S., Weindel, M., & Stein, J. Prospective multicenter study evaluating fecal calprotectin in adult acute bacterial diarrhea. *The American journal of medicine*, 2008; 121(12), 1099-1106.
- Sipponen, T., Kärkkäinen, P., Savilahti, E., KOLHO, K. L., Nuutinen, H., Turunen, U., & Färkkilä, M. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2008; 28(10), 1221-1229.
- Sipponen, T., Savilahti, E., Kolho, K. L., Nuutinen, H., Turunen, U., & Färkkilä, M. Crohn's disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with Crohn's disease activity index and endoscopic findings. *Inflammatory bowel diseases*, 2008; 14(1), 40-46.
- Souza, H. S., Tortori, C. J., Castelo-Branco, M. T., Carvalho, A. T. P., Margallo, V. S., Delgado, C. F., ... & Elia, C. C. Apoptosis in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease: evidence of altered expression of FasL and perforin cytotoxic pathways. *International journal of colorectal disease*, 2005; 20(3), 277-286.
- Strauss, J., Kaplan, G. G., Beck, P. L., Rioux, K., Panaccione, R., DeVinney, R., & Allen-Vercoe, E. Invasive potential of gut mucosa-derived *Fusobacterium nucleatum* positively correlates with IBD status of the host. *Inflammatory bowel diseases*, 2011; 17(9), 1971-1978.
- Sun, P., Zhou, K., Wang, S., Li, P., Chen, S., Lin, G., & Wang, T. Involvement of MAPK/NF- $\kappa$ B signaling in the activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway in experimental colitis by chronic vagus nerve stimulation. *PLoS One*, 2013; 8(8), e69424.
- Takahashi, K., Fukazawa, M., Motohira, H., Ochiai, K., Nishikawa, H., & Miyata, T. A pilot study on antiplaque effects of mastic chewing gum in the oral cavity. *Journal of periodontology*, 2003; 74(4), 501-505.
- Theodoratou, E., Campbell, H., Ventham, N. T., Kolarich, D., Pučić-Baković, M., Zoldoš, V., & Wuhrer, M. The role of glycosylation in IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2014; 11(10), 588-600.
- Triantafillidis, J. K., & Papalois, A. E. The role of total parenteral nutrition in inflammatory bowel disease: current aspects. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 2013; 49(1), 3-14.

- 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. *Nutrition journal*, 2011; 10(1), 1.
- Turner, J. R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 2009; 9(11), 799-809.
- Uhlig, H. H., Schwerd, T., Koletzko, S., Shah, N., Kammermeier, J., Elkadri, A., & Klein, C. The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 2014; 147(5), 990-1007.
- Van Rheeën, P. F., Van de Vijver, E., & Fidler, V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *Bmj*, 2010; 341, c3369.
- Veer, A. V. D. S., Brouwer, J., Biemond, I., Bohbouth, G. E., Verspaget, H. W., & Lamers, C. B. Fecal lysozyme in assessment of disease activity in inflammatory bowel disease. *Digestive diseases and sciences*, 1998; 43(3), 590-595.
- Vindigni, S. M., Zisman, T. L., Suskind, D. L., & Damman, C. J. The intestinal microbiome, barrier function, and immune system in inflammatory bowel disease: a tripartite pathophysiological circuit with implications for new therapeutic directions. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2016; 1756283X16644242.
- Vlachonikolis, I. G., Pallis, A. G., & Mouzas, I. A. Improved validation of the Inflammatory Bowel Disease Questionnaire and development of a short form in Greek patients. *The American journal of gastroenterology*, 2003; 98(8), 1802-1812.
- Walsham, N. E., & Sherwood, R. A. Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clinical and experimental gastroenterology*, 2016; 9, 21.
- Warren, J. R., & Marshall, B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The lancet*, 1983; 321(8336), 1273-1275.
- Wilhelm, S. M. Report: impact of inflammatory bowel disease. *The American journal of managed care*, 2016; 22(3 Suppl), s32-8.
- Wilschanski, M., Sherman, P., Pencharz, P., Davis, L., Corey, M., & Griffiths, A. Supplementary enteral nutrition maintains remission in paediatric Crohn's disease. *Gut*, 1996; 38(4), 543-548.
- Yamazaki, K., McGovern, D., Ragoussis, J., Paolucci, M., Butler, H., Jewell, D., & Saito, S. Single nucleotide polymorphisms in TNFSF15 confer susceptibility to Crohn's disease. *Human molecular genetics*, 2005; 14(22), 3499-3506.
- Ye, Y., Pang, Z., Chen, W., Ju, S., & Zhou, C. The epidemiology and risk factors of inflammatory bowel disease. *International journal of clinical and experimental medicine*, 2015; 8(12), 22529.

Zhang, Y. Z., & Li, Y. Y. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol*, 2014; 20(1), 91-99.

Zhou, L., Satoh, K., Takahashi, K., Watanabe, S., Nakamura, W., Maki, J., & Sakagami, H. Re-evaluation of anti-inflammatory activity of mastic using activated macrophages. *In Vivo*, 2009; 23(4), 583-589.

Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου. [Τεχνικά Χαρακτηριστικά]  
[http://mastic.gr/contents/fr/MASTIC%20GUM%20Technical Specifications2009.pdf](http://mastic.gr/contents/fr/MASTIC%20GUM%20Technical%20Specifications2009.pdf)

Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου. <http://www.gummastic.gr>.

<http://www.masticha.gr/info.php?catid=1>

## Παράρτημα

### ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

#### ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

A.1. Κωδικός ασθενούς

A.2. Όνομα:

Επώνυμο:

A.3. Τηλέφωνο οικίας:

Κινητό:

A.4. Έτος γέννησης:

A.5. Οικογενειακή κατάσταση:

Παντρεμένος

ανύπαντρος

διαζευγμένος

χήρος

Έτη εκπαίδευσης:

Ένα έως εννέα χρόνια (1-9) εκπαίδευσης .....

Δέκα έως δώδεκα (10-12) χρόνια εκπαίδευσης .....

Πάνω από δώδεκα (>12) χρόνια εκπαίδευσης .....

#### ΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Ύψος

Βάρος

ΔΜΣ

Ποσοστό σωματικού λίπους

Ποσοστό μυϊκής μάζας

#### ΝΟΣΟΣ

Ελκώδης κολίτιδα ....

Νόσος Crohn ....

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

### ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΙΦΕΝ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>Σύντομο ιστορικό της ΙΦΕΝ</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |  |
| <i>Ενεργότητα νόσου</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |
| <i>Εντόπιση νόσου</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  |
| <i>Διάρκεια νόσου (έτη)</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |
| <b>Ηλικία ενάρξεως συμπτωμάτων</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <b>Ηλικία διαγνώσεως της νόσου</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <b>Εξωεντερικές εκδηλώσεις</b><br><i>Ήπαρ</i><br><i>Δέρμα-βλεννογόνοι</i><br><i>Σκελετικό σύστημα</i><br><i>Οφθαλμοί</i><br><i>Αιματολογικές διαταραχές</i><br><i>Εμβολικά επεισόδια</i><br><i>Αναπνευστικό</i><br><i>Ουροποιητικό</i><br><i>Εντερικές επιπλοκές</i><br><i>Περιπρωκτικές βλάβες</i><br><i>Ραγδαία αιμορραγία</i><br><i>Τοξικό megacolon</i><br><i>Πολύποδες</i><br><i>Στενώσεις</i><br><i>Συρίγγια</i> |  |

|                        |  |
|------------------------|--|
| Αποστήματα<br>Καρκίνος |  |
|------------------------|--|

ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ (ΤΩΡΙΝΗ ΑΓΩΓΗ)

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

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ : ΝΑΙ .... ΟΧΙ ....

## ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

ΚΩΔΙΚΟΣ:

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:

ΤΗΛΕΦΩΝΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ:

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

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

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

## ΑΝΑΚΛΗΣΗ 24 ΩΡΟΥ

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

## ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΝΟΣΟΥ CROHN

### HARVEY & BRADSHAW ACTIVITY INDEX

- 6) Αριθμός υδαρών κενώσεων ανά ημέρα  
7) Κοιλιακός πόνος (0=απουσία, 1= ήπιος, 2= μέτριος, 3=σοβαρός)  
8) Γενική κατάσταση υγείας (0= πολύ καλή, 1= καλή, 2= μέτρια, 3= κακή, 4= πολύ κακή)  
9) Κοιλιακή μάζα (0= απούσα, 1= αμφίβολη, 2= βέβαιη, 3= βέβαιη+ ευαίσθητη)  
10) Επιπλοκές (1 πόντος για κάθε μία): αρθραλγίας, στοματικά έλκη, ραγοειδίτιδα, οζώδες ερύθημα, γαγγραινώδες πυόδεσμα, πρωκτικό συρίγγιο, απόστημα)

Συνολικό σκορ> 4 ενεργός νόσος  
Συνολικό σκορ> 12 σοβαρή νόσος

## ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΕΛΚΩΔΟΥΣ ΚΟΛΙΤΙΔΑΣ

### ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ TRUELOVE & WITTS

|                                 | Ήπια                                    | Μέτρια                        | Σοβαρή                                                    |
|---------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Κενώσεις<br>(αριθμός ημερησίως) | < 4                                     | 4-6                           | >6 και τουλάχιστον<br>ένα από τα<br>χαρακτηριστικό με (*) |
| Αίμα στα κόπρανα                | Όχι περισσότερο από<br>μικρές ποσότητες | Μέτρια έως σοβαρή<br>ποσότητα | Ορατό αίμα                                                |
| Πυρετός *<br>> 37.8°C           | Όχι                                     | Όχι                           | Ναι                                                       |
| Σφυγμός *<br>>90 bpm            | Όχι                                     | Όχι                           | Ναι                                                       |
| Αναιμία *                       | Όχι                                     | Όχι                           | Ναι                                                       |
| TKE (mm/hour) *                 | 30 ή χαμηλότερη                         | 30 ή χαμηλότερη               | Πάνω από 30                                               |

## MAYO ACTIVITY INDEX FOR UC

(ύφεση= μέχρι 2, ήπια= 3-5, μέτρια=6-10, σοβαρή= 11-12)

### 5) Αριθμός κενώσεων (0-3)

Κανονικός για τον ασθενή

1-2 πάνω από το κανονικό

3-4 πάνω από το κανονικό

>5 πάνω από το κανονικό

### 6) Αιμορραγία από το ορθό (0-3)

Απουσία αίματος στα κόπρανα

Σταγόνες αίματος σε λιγότερες από τις μισές κενώσεις

Εμφανές αίμα στις περισσότερες κενώσεις

Αίμα σε όλες τις κενώσεις της ημέρας

### 7) Ενδοσκοπικά ευρήματα (0-3)

Κανονικός βλεννογόνος ή ανενεργός νόσος

Ήπια νόσος (ερύθημα, αλλοιωμένη αγγειακή εικόνα, ήπια ευθρυπτότητα)

Μέτρια νόσος (σοβαρό ερύθημα, αλλοιωμένη αγγειακή εικόνα, ευθρυπτότητα)

Σοβαρή νόσος (περιστασιακή αιμορραγία, εξελκώσεις)

### 8) Γενική ιατρική αξιολόγηση (0-3)

Φυσιολογική κατάσταση

Ήπια νόσος

Μέτρια νόσος

Σοβαρή νόσος

## **Inflammatory Bowel Disease Questionnaire**

**Πόσες φορές το αίσθημα της κόπωσης ή της κούρασης και της εξάντλησης αποτέλεσε πρόβλημα για σας κατά την διάρκεια των δύο τελευταίων εβδομάδων;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε σύγχυση, ανυπομονησία ή ανησυχία;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες δεν μπορέσατε να πάτε στο σχολείο ή να κάνετε την δουλειά σας (ακόμη και δουλειές στο σπίτι) εξαιτίας του εντερικού σας προβλήματος;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες είχατε κόπρανα με μαλακή σύσταση;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο δραστήριος ήσασταν τις δύο τελευταίες εβδομάδες;**

- |                                         |                   |
|-----------------------------------------|-------------------|
| 1. Λιγότερο δραστήριος από ποτέ άλλοτε. | 5. Μικρή μείωση.  |
| 2. Εξαιρετικά μειωμένη δραστηριότητα.   | 6. Ελαφρά μείωση. |
| 3. Πολύ μειωμένη δραστηριότητα.         | 7. Καμιά μείωση.  |
| 4. Μέτρια μείωση στη δραστηριότητα.     |                   |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες σας ανησύχησε η πιθανότητα να χρειασθείτε κάποια χειρουργική επέμβαση εξαιτίας του εντερικού σας προβλήματος;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες χρειάστηκε να καθυστερήσετε ή να ακυρώσετε κάποια κοινωνική υποχρέωση εξαιτίας του εντερικού σας προβλήματος;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες σας ενόχλησε κάποια κράμπα στην κοιλιά;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |

- 3. Πολύ συχνά.
- 4. Μερικές φορές.

7. Καθόλου.

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε γενική αδιαθεσία;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες ανησυχήσατε πως δεν θα βρίσκατε τουαλέτα;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόση δυσκολία αντιμετωπίσατε ως συνέπεια του εντερικού σας προβλήματος κατά την ανάπαυση ή τις αθλητικές δραστηριότητες που θέλατε να πραγματοποιήσετε κατά τις δύο τελευταίες εβδομάδες;**

- |                                          |                       |
|------------------------------------------|-----------------------|
| 1. Περισσότερη δυσκολία από ποτέ άλλοτε. | 5. Ελαφρά δυσκολία.   |
| 2. Εξαιρετική δυσκολία.                  | 6. Ελάχιστη δυσκολία. |
| 3. Μεγάλη δυσκολία.                      | 7. Καθόλου δυσκολία.  |
| 4. Μέτρια δυσκολία.                      |                       |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε έντονο πόνο στην κοιλιά;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες δεν μπορέσατε να κοιμηθείτε καλά την νύχτα ή σας ξύπνησε κάποιος πόνος;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε κατάθλιψη ή αποθάρρυνση;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες αναγκαστήκατε να αποφύγετε να παραβρεθείτε σε κάποια εκδήλωση επειδή δεν υπήρχε κοντινή τουαλέτα;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Γενικά, τις δύο τελευταίες εβδομάδες πόσο μεγάλο πρόβλημα είχατε με την αποβολή μεγάλων ποσοτήτων αερίων;**

- |                                                 |                       |
|-------------------------------------------------|-----------------------|
| 1. Περισσότερο έντονο πρόβλημα από ποτέ άλλοτε. | 5. Ελαφρό πρόβλημα.   |
| 2. Εξαιρετικά έντονο πρόβλημα.                  | 6. Ελάχιστο πρόβλημα. |
| 3. Μεγάλο πρόβλημα.                             | 7. Καθόλου πρόβλημα.  |
| 4. Μέτριο πρόβλημα.                             |                       |

**Γενικά, τις δύο τελευταίες εβδομάδες πόσο μεγάλο πρόβλημα είχατε να διατηρήσετε ή να φτάσετε το βάρος που επιθυμείτε;**

- |                                                 |                       |
|-------------------------------------------------|-----------------------|
| 1. Περισσότερο έντονο πρόβλημα από ποτέ άλλοτε. | 5. Ελαφρό πρόβλημα.   |
| 2. Εξαιρετικά έντονο πρόβλημα.                  | 6. Ελάχιστο πρόβλημα. |
| 3. Μεγάλο πρόβλημα.                             | 7. Καθόλου πρόβλημα.  |
| 4. Μέτριο πρόβλημα.                             |                       |

**Πολλοί ασθενείς με εντερικά προβλήματα νιώθουν συχνά ανησυχία και αγωνία για την ασθένειά τους. Ανησυχούν πως θα πάθουν καρκίνο, πως δεν θα αισθανθούν ποτέ καλύτερα και πως θα έχουν κάποια υποτροπή. Γενικά, τις δύο τελευταίες εβδομάδες πόσο συχνά νιώσατε ανησυχία γι' αυτά τα θέματα;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες σας ενόχλησε κάποιο αίσθημα κοιλιακής διάτασης;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε ήρεμοι και απαλλαγμένοι από τις εντάσεις;**

- |                     |                      |
|---------------------|----------------------|
| 1. Καθόλου.         | 5. Πολύ συχνά.       |
| 2. Ελάχιστες φορές. | 6. Εξαιρετικά συχνά. |
| 3. Λίγες φορές.     | 7. Όλο το διάστημα.  |
| 4. Μερικές φορές.   |                      |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες είχατε πρόβλημα εντερικής αιμορραγίας κατά τις κενώσεις;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε αμηχανία εξαιτίας του εντερικού σας προβλήματος;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |

3. Πολύ συχνά.
4. Μερικές φορές.

7. Καθόλου.

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες σας ενόχλησε η ιδέα πως πρέπει να πάτε στο μπάνιο παρόλο που το έντερο σας ήταν κενό;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσο συχνά τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε πολύ στεναχωρημένος εξαιτίας του εντερικού σας προβλήματος;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες λερώσατε άθελα σας τα εσώρουχα σας;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες θυμώσατε ως αποτέλεσμα του εντερικού σας προβλήματος;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Ως ποιο σημείο έχει το εντερικό σας πρόβλημα περιορίσει την σεξουαλική σας ζωή κατά τις δύο τελευταίες εβδομάδες;**

- |                                                         |                           |
|---------------------------------------------------------|---------------------------|
| 1. Πλήρης περιορισμός της σεξουαλικής ζωής.             | 5. Ελαφρός περιορισμός.   |
| 2. Εξαιρετικά μεγάλος περιορισμός της σεξουαλικής ζωής. | 6. Ελάχιστος περιορισμός. |
| 3. Μεγάλος περιορισμός.                                 | 7. Καθόλου περιορισμός.   |
| 4. Μέτριος περιορισμός.                                 |                           |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε τάση προς εμετό;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε ευέξαπτοι;**

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 1. Όλο το διάστημα.  | 5. Λίγες φορές.     |
| 2. Εξαιρετικά συχνά. | 6. Ελάχιστες φορές. |
| 3. Πολύ συχνά.       | 7. Καθόλου.         |
| 4. Μερικές φορές.    |                     |

**Πόσες φορές τις δύο τελευταίες εβδομάδες νιώσατε πως οι άλλοι δεν σας καταλαβαίνουν;**

- |                     |                 |
|---------------------|-----------------|
| 1. Όλο το διάστημα. | 5. Λίγες φορές. |
|---------------------|-----------------|

- 2. Εξαιρετικά συχνά.
- 3. Πολύ συχνά.
- 4. Μερικές φορές.

- 6. Ελάχιστες φορές.
- 7. Καθόλου.

**Πόσο ικανοποιημένοι, ευτυχισμένοι ή ευχαριστημένοι είστε τις δύο τελευταίες εβδομάδες από την προσωπική σας ζωή;**

- |              |                |
|--------------|----------------|
| 1. Καθόλου.  | 5. Πολύ.       |
| 2. Ελάχιστα. | 6. Πάρα πολύ.  |
| 3. Λίγο      | 7. Εξαιρετικά. |
| 4. Αρκετά.   |                |



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ  
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

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

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

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

1. Υποβληθώ σε κλινική εξέταση από τον ιατρό της μελέτης.
2. Συμπληρώσω ερωτηματολόγιο με καθοδήγηση του επιστημονικού προσωπικού της μελέτης που θα περιλαμβάνει:
  - δημογραφικά στοιχεία
  - κατάσταση υγείας (ιατρικό ιστορικό ατομικό και οικογενειακό)
  - ενεργότητα της νόσου
  - ποιότητας ζωής
  - καπνιστικές συνήθειες
  - διατροφικές συνήθειες
  - φυσική δραστηριότητα.
3. Υποβληθώ σε μετρήσεις ανθρωπομετρικών παραμέτρων, δηλαδή ύψους, σωματικού βάρους και λιπομέτρηση.
4. Υποβληθώ σε αιματολογικό έλεγχο στις εγκαταστάσεις της κλινικής στην αρχή και στο τέλος της μελέτης.
5. Λάβω από του στόματος 3 γραμμάρια Μαστίχας Χίου καθημερινά σε μορφή ταμπλέτας που θα μου χορηγηθούν από τους υπευθύνους της μελέτης, παράλληλα με την αναγκαία για την περίπτωσή μου φαρμακευτική αγωγή που μου χορηγεί ο θεράπων ιατρός μου.
6. Ενταχθώ στη μελέτη για χρονικό διάστημα 3 μηνών εφόσον βρίσκομαι σε έξαρση της νόσου.
7. Ενταχθώ στη μελέτη για χρονικό διάστημα 6 μηνών εφόσον βρίσκομαι σε ύφεση της νόσου.

8. Συλλέξω και παραδώσω προς εργαστηριακό έλεγχο δείγμα κοπράνων στην αρχή και λήξη της μελέτης.

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

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

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

Ονοματεπώνυμο Εθελοντή \_\_\_\_\_

Διεύθυνση \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_

Τηλ. 

Fax

E-mail

Ημερομηνία \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Υπογραφή Εθελοντή

\_\_\_\_\_