



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE**

**DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea Magistrale in Biologia Molecolare e Applicata**

*Curriculum Scienze della Nutrizione*

**Effetti di un trattamento dietetico ad elevato contenuto di antiossidanti  
in pazienti pediatriche con malattia infiammatoria cronica intestinale**

**Effects of high antioxidant dietary treatment in pediatric patients  
with chronic inflammatory bowel disease**

Tesi di Laurea Magistrale di:

**Rebecca Fioravanti**

Relatore: *Chiar.ma*

**Prof. Tiziana Galeazzi**

**Sessione Autunnale**

**Anno Accademico 2021-2022**

# INDICE

<b>INTRODUZIONE.....</b>	<b>5</b>
<b>Capitolo primo.....</b>	<b>7</b>
<b>1. Le Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali (IBD).....</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Epidemiologia.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2 Patogenesi.....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.1 Ruolo dello stress ossidativo nella patogenesi delle IBD.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2.2 Ruolo della dieta nella patogenesi delle IBD.....</b>	<b>14</b>
<b>2. L'intervento nutrizionale nelle IBD.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 La nutrizione in fase attiva di malattia e induzione della remissione nelle IBD pediatriche.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2 La nutrizione nella gestione della remissione nelle IBD pediatriche.....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.1 Dieta priva di glutine.....</b>	<b>23</b>
<b>2.2.2 Dieta a basso contenuto di FODMAPs.....</b>	<b>24</b>

<b>2.3 Dieta Mediterranea.....</b>	<b>25</b>
<b>2.4 Dieta antiossidante/antinfiammatoria.....</b>	<b>27</b>
<b>2.4.1 Sostanze con proprietà antinfiammatorie/antiossidanti.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4.2 Polifenoli (flavonoidi, antocianine, resveratrolo, curcumina, quercetina, catechine, etc).....</b>	<b>33</b>
<b>Capitolo secondo.....</b>	<b>37</b>
<b>SCOPO DELLA TESI.....</b>	<b>37</b>
<b>Capitolo terzo.....</b>	<b>39</b>
<b>MATERIALI E METODI.....</b>	<b>39</b>
<b>Determinazioni analitiche.....</b>	<b>50</b>
<b>Capacità ferro-riducente del plasma (ferric ion reducing antioxidant capacity, FRAP).....</b>	<b>50</b>
<b>Sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS).....</b>	<b>51</b>
<b>Prodotti di ossidazione avanzata delle proteine (AOPP).....</b>	<b>51</b>
<b>Proteine plasmatiche.....</b>	<b>52</b>

<b>Questionario IMPACT</b> .....	<b>52</b>
<b>Statistica</b> .....	<b>53</b>
<b>Capitolo quarto</b> .....	<b>54</b>
<b>RISULTATI</b> .....	<b>54</b>
<b>Capacità ferro-riducente plasmatica (FRAP)</b> .....	<b>57</b>
<b>Prodotti di ossidazione proteica avanzata (AOPP)</b> .....	<b>59</b>
<b>Perossidazione lipidica (TBARs)</b> .....	<b>60</b>
<b>Vitamine e minerali</b> .....	<b>61</b>
<b>Marcatori circolanti dello stato infiammatorio</b> .....	<b>62</b>
<b>Questionario IMPACT III</b> .....	<b>63</b>
<b>Capitolo quinto</b> .....	<b>64</b>
<b>DISCUSSIONE</b> .....	<b>64</b>
<b>CONCLUSIONI</b> .....	<b>70</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>71</b>

## **INTRODUZIONE**

L'alimentazione è coinvolta in diversi aspetti delle malattie infiammatorie intestinali in età pediatrica, dall'eziologia della malattia all'induzione e alla gestione della stessa. Si ritiene che l'eziologia delle IBD sia multifattoriale, causata da un'interazione di fattori genetici, ambientali, microbici e immunologici.

È stato osservato un aumento dell'incidenza delle IBD in tutto il mondo, che si è verificato con la diffusione della dieta occidentale, ricca di grassi e proteine ma povera di frutta e verdura.

Numerosi studi, condotti principalmente su adulti, hanno valutato l'esistenza di associazioni tra lo sviluppo di IBD e la dieta e hanno suggerito che specifici nutrienti possono svolgere un ruolo come fattori di rischio o protettivi per lo sviluppo della malattia attraverso meccanismi biologici diversi.

Inoltre, la malnutrizione e le carenze nutrizionali specifiche sono frequenti tra questi tipi di pazienti, a seconda dello stato e/ o dell'avanzamento della

malattia, e molti pazienti sono soliti seguire regimi alimentari particolarmente restrittivi, secondo delle convinzioni personali.

L'alimentazione svolge un ruolo significativo anche nel trattamento della malattia. Sono diversi gli approcci nutrizionali che sembrano avere successo nel mantenere la fase di remissione e la riduzione della sintomatologia e nel correggere gli stati di malnutrizione oltre a limitare l'utilizzo di farmaci; ne è un esempio la nutrizione enterale esclusiva (EEN) ampiamente applicata in età pediatrica per indurre la remissione della malattia di Crohn, che favorisce il controllo dell'infiammazione, la guarigione della mucosa e apporta benefici sulla crescita e sullo stato nutrizionale generale del paziente. Altri approcci nutrizionali in corso di studio sono la CDED (Crohn disease exclusion diet), la SCD (specific carbohydrate diet), la GFD (gluten-free diet) e la low FODMAPs diet (LFD), la dieta mediterranea (MD) e la dieta "antiossidante", caratterizzata da un elevato contenuto in polifenoli.

La terapia nutrizionale potrebbe quindi essere considerata, nel lungo termine, una valida alternativa alla terapia medica e farmacologica, soprattutto perché scevra da effetti collaterali, con benefici sullo stato nutrizionale generale e sulla qualità di vita dei pazienti IBD.

## Capitolo primo

### 1. Le Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali (IBD)

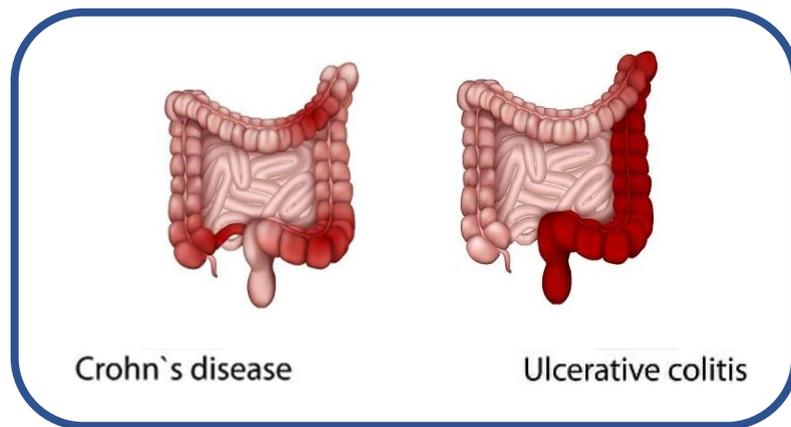
Le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD, *Inflammatory Bowel Disease*) classificate principalmente in due forme, la malattia di Crohn (CD) e la colite ulcerosa (UC), sono disturbi cronici, di eziologia multifattoriale, che colpiscono principalmente il tratto gastrointestinale (GI) e sono caratterizzate da un'inflammatione recidivante e remittente che interessa tutto l'intestino o parte di esso [1]. Ad oggi l'esatta eziologia delle IBD non è completamente nota, ma è ben noto che fattori ambientali, di predisposizione genetica, di disregolazione del sistema immunitario e del microbiota intestinale, in associazione con stimoli antigenici e ossidativi [2], sono contemporaneamente implicati nella patogenesi, inducendo lo sviluppo e il mantenimento dell'inflammatione cronica.

L'insorgenza in giovane età, la cronicità e le limitazioni delle normali attività quotidiane, nonché la possibile insorgenza di complicanze determina, nei pazienti affetti, una notevole riduzione della qualità della vita, oltre ad un forte impatto sul sistema economico e sanitario.

Le IBD presentano delle caratteristiche comuni, quali il decorso cronico ricorrente, sintomi intestinali e talvolta manifestazioni extraintestinali di severità e decorso variabile, alternati a periodi di remissione. Sia nella malattia di Crohn che nella rettocolite ulcerosa è stato ampiamente riconosciuto il ruolo della disregolazione immunitaria, geneticamente determinata, nella induzione del danno tissutale [3]. I sintomi più comuni all'esordio includono: dolore addominale, diarrea, ematochezia e anemia; a questi possono aggiungersi segni e sintomi di tipo sistemico come anoressia, ritardo di crescita, ritardo puberale, artralgie e osteoporosi (più tipici della CD).

Sebbene condividano molte somiglianze nei fenotipi patologici e clinici (cronicità, remittenza, sintomatologia, patogenesi), esse tuttavia mostrano un diverso quadro anatomo-patologico e differenti caratteristiche di decorso clinico, che consentono una diagnosi differenziale nella quasi totalità dei casi [4,5]. La malattia di Crohn è caratterizzata da un'inflammatione transmurale che può influenzare qualsiasi area lungo l'asse prossimale-distale del tratto gastrointestinale (GI) con coinvolgimento tipicamente discontinuo (Figura 1a); nella Colite Ulcerosa (UC) l'inflammatione è superficiale (interessa solo

la mucosa e la lamina propria), limitata al colon e al retto e procede in maniera continua in senso caudo-craniale (Figura 1b).



*Figura 1a; Figura 1b* - Differenze anatomico-patologiche delle IBD

Nei casi in cui la malattia coinvolge solo il colon e sono presenti alterazioni della mucosa caratteristiche sia di UC che di CD (5-10%) si parla di “colite indeterminata” (IBD-U).

### ***1.1 Epidemiologia***

Negli ultimi 30 anni la prevalenza globale delle IBD è aumentata dell'85%, in particolare nelle regioni con tassi di incidenza e morbilità precedentemente bassi, come Asia, Sudamerica, Africa e Europa orientale, evidenziando una

diffusione sempre più globale dello stato morboso e un ruolo critico nella patogenesi attribuito con maggiore forza ai trigger ambientali [6] (Figura 2).



*Figura 2-* Prevalenza mondiale delle IBD

L'aumento dell'incidenza è marcato anche nei paesi mediterranei, probabilmente a causa del cambiamento delle abitudini alimentari; in Italia i dati relativi alla prevalenza delle IBD si attestano intorno alle 250mila persone affette, con un'incidenza di circa 10.5 nuovi casi/anno per 100.000 abitanti. Sono in aumento i casi in età pediatrica, circa il 20% di essi interessa bambini e adolescenti sotto i 20 anni di età [7,8], e in popolazioni prima interessate solo marginalmente, come i soggetti con più di 60 anni.

## 1.2 Patogenesi

Sebbene l'eziologia delle IBD non sia ad oggi ancora completamente definita, è ampiamente dimostrato che nella patogenesi delle IBD sono contemporaneamente coinvolti fattori genetici, immunitari, microbici, e fattori ambientali, in particolare l'alimentazione e gli stili di vita, in associazione con stimoli antigenici e ossidativi (Figura 3) [9,10]. Tutti questi elementi interagiscono tra loro e promuovono, in maniera sinergica, lo sviluppo dell'infiammazione cronica e del danno intestinale e possono influenzare l'espressione genica attraverso meccanismi epigenetici [11].

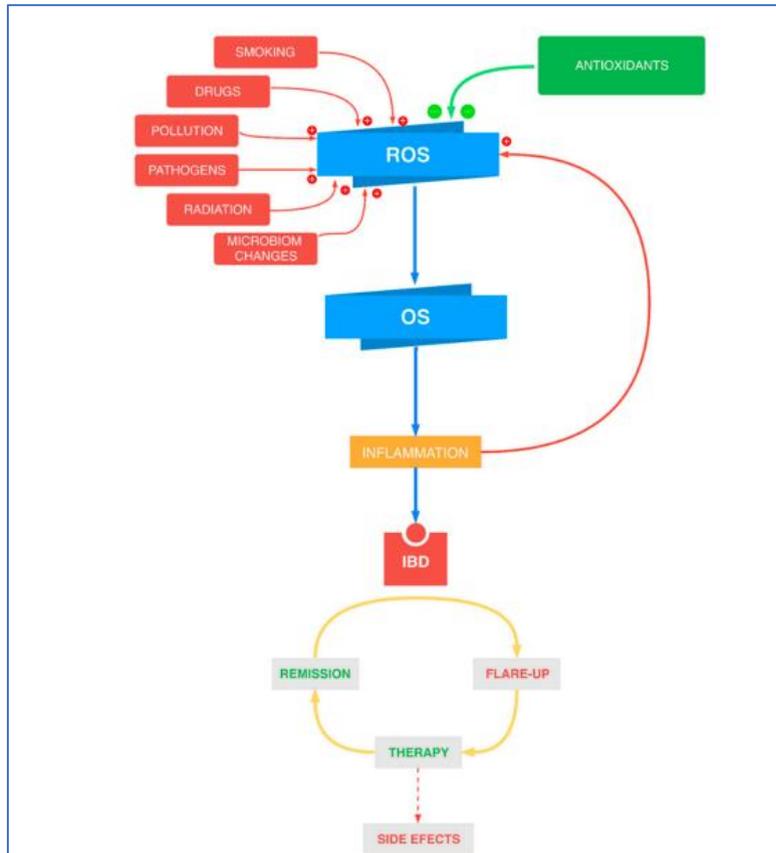


**Figura 3** - Importanti fattori di rischio associati a malattie infiammatorie intestinali e cambiamenti immunologici

### ***1.2.1 Ruolo dello stress ossidativo nella patogenesi delle IBD***

Il tratto intestinale sotto l'azione continua di microrganismi luminali e di composti ossidati della dieta, risulta quindi essere particolarmente esposto a reazioni di ossido-riduzione e all'attacco ossidativo, con conseguente danno a carico di cellule e tessuti e compromissione funzionale della mucosa enterica (erosioni mucosali, alterazioni della funzionalità di barriera dell'epitelio intestinale e aumento della permeabilità).

Lo squilibrio dell'omeostasi redox intestinale dovuto ad una eccessiva produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e di specie reattive dell'azoto (RNS) e alla insufficiente rimozione dei prodotti di ossidazione, insieme alla perdita della tolleranza immunologica, stimolano una over produzione di citochine e altri mediatori dell'infiammazione, perpetuando sia il danno ossidativo che il caratteristico stato infiammatorio cronico [12-14] (Figura 4).



**Figura 4** - La connessione tra stress ossidativo (OS) e malattie infiammatorie intestinali (IBD) e il ruolo chiave degli antiossidanti. ROS- specie reattive dell'ossigeno

In questo contesto l'organismo risponde attivando in maniera coordinata tutto il corredo antiossidante enzimatico (superossido dismutasi SOD, catalasi CAT, glutazione perossidasi GPX) e non enzimatico (proteine albumina, transferrina, glutazione ridotto, acido urico, etc) di natura endogena,

attraverso un complesso sistema di riciclo dinamico in cui diverse molecole subiscono reazioni di ossido-riduzione ben definite.

Alcune recenti evidenze mostrano che ci possa essere un effetto inibitorio sulla cascata infiammatoria dovuto all'apporto di sostanze antiossidanti di origine esogena alimentare. Un corretto apporto dietetico di antiossidanti sembrerebbe essenziale per mantenere un corretto equilibrio redox gastrointestinale [15]. I composti alimentari particolarmente ricchi in antiossidanti rivestono quindi un ruolo principale nel promuovere e mantenere la salute intestinale.

### ***1.2.2 Ruolo della dieta nella patogenesi delle IBD***

Da quanto esposto fin d'ora emerge chiaramente il duplice ruolo della dieta nelle malattie infiammatorie intestinali, come fattore eziopatogenetico e come strumento terapeutico adiuvante per l'induzione e il mantenimento della remissione di malattia.

La letteratura scientifica mostra che i regimi alimentari occidentali (Western diet) caratterizzati da un eccesso di calorie, grassi e carboidrati e poveri di fibra, rivestono un ruolo cruciale nell'innescare una condizione pro-

infiammatoria in soggetti predisposti attraverso molteplici meccanismi [16]

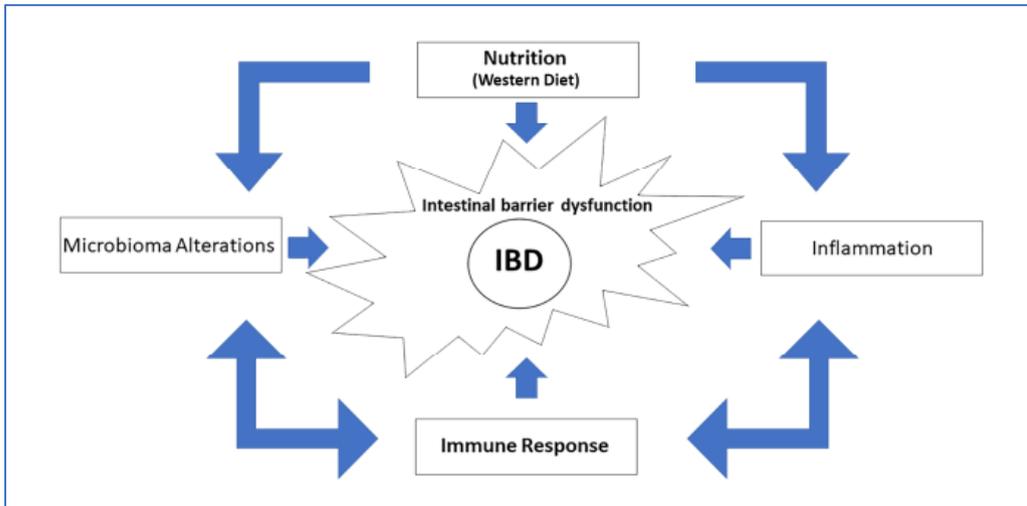
(Figura 5):

- scarsa diversità del microbioma: tale condizione, favorisce la condizione di disbiosi e modifica la risposta immunitaria dell'ospite [17];

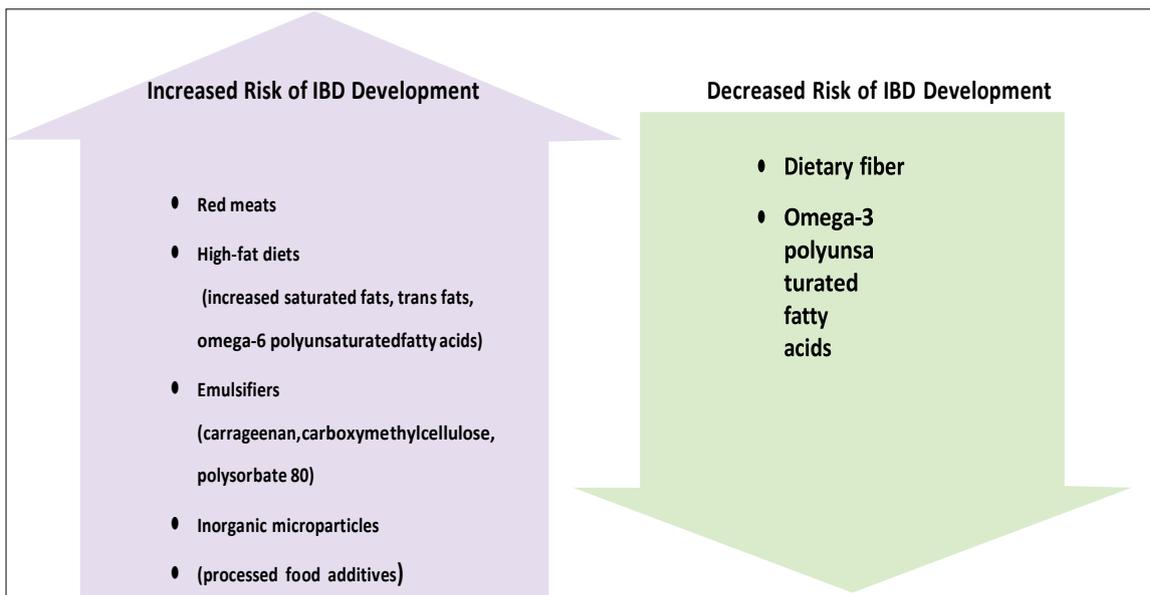
- scarso consumo di fibra da frutta e verdura: la fermentazione batterica anaerobica dei carboidrati alimentari non digeriti e dei polisaccaridi delle fibre produce acidi grassi a corta catena (SCFA) quali acetato, propionato e butirato, molecole importanti nel mantenimento del trofismo dei colonociti; di conseguenza, una dieta povera di fibre e povera di SCFA può causare alterazione dell'omeostasi della barriera intestinale, favorendo lo stato infiammatorio [18];

- consumo acidi grassi omega-6 pro-infiammatori, a scapito degli acidi grassi omega-3 ad azione antinfiammatoria [19] (Figura 6): una dieta ricca di acido eicosapentanoico (EPA) particolarmente abbondante nel pesce, può quindi proteggere la mucosa del colon dall'infiammazione [20].

Il ruolo di altri alimenti come carne, pesce e prodotti lattiero-caseari, nello sviluppo della malattia è invece ancora controverso [21].



**Figura 5** - Meccanismi che influenzano il microbiota intestinale e che portano all'infiammazione intestinale nelle IBD.



**Figura 6** - Componenti alimentari associati ad aumento o diminuzione del rischio di sviluppo di IBD

## **2. L'intervento nutrizionale nelle IBD**

L'obiettivo primario della terapia nutrizionale delle IBD, integrata alla terapia farmacologica, è quello di raggiungere e mantenere la remissione, e migliorare la qualità della vita attraverso la risoluzione dei sintomi [22].

Una condizione che si osserva frequentemente nei pazienti IBD alla diagnosi è l'elevata prevalenza (fino al 70%) di malnutrizione [23] e solo un adeguato apporto alimentare di macro e micronutrienti favorisce il raggiungimento della fase di remissione e ne supporta il mantenimento.

Dati della letteratura evidenziano che i pazienti affetti da IBD ricorrono ad una grande varietà di strategie nutrizionali fortemente restrittive (diete di eliminazione) che, se apportano benefici nella fase acuta di malattia, sono spesso la causa, nel lungo termine, della malnutrizione; infatti circa il 70% dei pazienti continua a seguire regimi alimentari fortemente restrittivi anche dopo la remissione, per paura di riaggravare la malattia [24].

Gli alimenti più comunemente esclusi sono cereali (29%), latte (28%), verdura (18%) e frutta (11%). Tuttavia, molti di questi alimenti sono i componenti principali della dieta mediterranea (MD), modello nutrizionale

che sembrerebbe apportare i maggiori benefici sia nelle IBD che in altre patologie cronico-degenerative [25].

### ***2.1 La nutrizione in fase attiva di malattia e induzione della remissione nelle IBD pediatriche***

A partire dall'ultimo decennio, la relazione tra dieta e patogenesi delle IBD è stata chiaramente supportata da prove scientifiche; le diverse strategie nutrizionali si sono evolute nel corso degli anni e sono attualmente considerate strumenti terapeutici a tutti gli effetti, con diversi gradi di efficacia e supporto.

L'IBD pediatrica alla diagnosi è comunemente associata a malnutrizione e carenza di nutrienti [26], con ritardo di crescita e sottopeso per un terzo dei pazienti pediatrici con UC e per metà dei pazienti pediatrici con CD [27]; l'inadeguato apporto di calorie e nutrienti ha cause multifattoriali, come la riduzione dell'appetito dovuta all'effetto catabolico e per disregolazione ipotalamica, il dolore addominale e il malassorbimento [28].

La valutazione nutrizionale nei bambini con IBD è quindi un passaggio centrale nella gestione di questi pazienti, con l'obiettivo di personalizzare e ottimizzare gli interventi nutrizionali e dietetici [29].

In ambito pediatrico, numerosi studi e meta-analisi hanno dimostrato che la nutrizione enterale esclusiva (EEN) con formule specifiche è un valido e consolidato approccio per l'induzione della fase di remissione, soprattutto nella CD, quanto la terapia con corticosteroidi [30,31] e/o con farmaci biologici [32]; tale trattamento, è infatti in grado di alleviare i sintomi clinici, indurre la guarigione della mucosa, migliorare lo stato nutrizionale [33] e normalizzare i parametri di laboratorio associati all'infiammazione (proteina C-reattiva, calprotectina fecale, citochine pro-infiammatorie, come interleuchina-1, IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ ) [34], ottenendo la remissione in più dell'80% dei soggetti [35], indipendentemente dal fenotipo della malattia [36]. Questa terapia nutrizionale che si basa sull'uso di una formula polimerica completa *per os* o per via naso-gastrica, viene somministrata per 6-8 settimane come unica fonte di calorie e nutrienti, evitando l'assunzione di cibi solidi [37] ed è raccomandata da società scientifiche di grande rilievo come l'Organizzazione Europea per la Colite e il morbo di Crohn (ECCO) e l'ESPGHAN (Società Europea di Gastroenterologia Epatologia e Nutrizione

Pediatria) per indurre la remissione, sia come terapia di prima scelta per CD, che durante le fasi di recidiva [38]. Al contrario, ad oggi, non ci sono prove evidenti a sostegno dell'EEN come terapia efficace per la UC attiva [39]. L'impiego clinico di EEN rimane comunque limitato al raggiungimento della remissione, poiché scarsamente tollerato e accettato nel lungo termine [37], pertanto, sono state sviluppate strategie terapeutiche nutrizionali meglio tollerate per superare la non aderenza, che si basano sulla identificazione ed esclusione di componenti alimentari potenzialmente pro-infiammatori e con impronta negativa sul microbioma. Un approccio innovativo che permette di raggiungere alti tassi di risposta clinica e remissione nella malattia di Crohn è la Crohn Disease Exclusion Diet (CDED), in cui una parte del fabbisogno energetico è dato dalla nutrizione enterale parziale (PEN) e l'altra parte da alimentazione *per os* con l'esclusione di tutti gli alimenti processati e conservati, bevande zuccherate, prodotti caseari, la carne rossa e tutte le carni lavorate, i cereali contenenti glutine [40] (Tabella 1).

## ***Tabella 1***

Alimenti proibiti in tutte le fasi di malattia [40]

---

Dairy products of any kind, margarine

Wheat, breakfast cereals, breads and baked goods of any kind, yeast for baking

Gluten-free products not listed above, Soya products, potato or corn flour

Processed or smoked meats and fish (sausages, luncheon meats, salamis, fish sticks)

Sauces, salad dressings, syrups and jams of any kind

Canned products and dried fruits

Packaged snacks (potato chips, pretzels, popcorn, nuts, etc)

All soft drinks, fruit juices and sweetened beverages, alcoholic beverages, coffee

Candies, chocolates, cakes, cookies and gum

---

Questo regime nutrizionale si articola in diverse fasi con rapporti incrementali tra alimenti consentiti e formule enterali, e fornisce una quantità costante di proteine e zuccheri di alta qualità (Tabella 2).

**Tabella 2** - Esempio di Crohn Disease Exclusion Diet (CDED)

<b>Phase</b>	<b>Polymeric formula</b>	<b>Mandatory foods</b>	<b>Allowed foods</b>
1 (Week 1–6)	Modulen <sup>®</sup> (50% of daily requirements)	Fresh Chicken breast (150–200 g/d) 2 Eggs/d 2 Bananas/d	Fresh Strawberries Fresh Melon (1 slice) Rice flour White rice and rice noodles (unlimited)
2 (Week 7–12)	Modulen <sup>®</sup> (25% of daily requirements)	1 Fresh Apple/d 2 Potatoes/d	2 Tomatoes (additional allowed for cooking) 2 Cucumbers (medium size) 2 Avocado halves 1 Carrot Spinach 1 cup uncooked leaves Lettuce (3 leaves) Onion Fresh green herbs (basil, parsley, coriander, rosemary, thyme, mint, dill)
3 (Maintenance) (Week 13 onwards)	Modulen <sup>®</sup> (25% of daily requirements)	No mandatory food	1 glass of squeezed orange juice from fresh oranges Water, sparkling water Salt, pepper, paprika, cinnamon, cumin 3 tablespoons honey 4 teaspoons sugar Fresh ginger and garlic cloves, lemons

## ***2.2 La nutrizione nella gestione della remissione nelle IBD pediatriche***

Se l'EEEN è consigliata come terapia di prima linea per indurre la remissione, solo pochi studi hanno analizzato l'effetto dell'intervento dietetico per il mantenimento della remissione dell'IBD. I nuovi approcci proposti di recente prevedono l'eliminazione di alimenti, attraverso diete di esclusione, o l'integrazione di sostanze antinfiammatorie.

Il parere degli esperti è a favore delle "diete sane", che comprendono il consumo di alimenti di origine vegetale anziché animale e di alimenti integrali anziché raffinati. Alcune delle diete più popolari per la gestione delle IBD includono la GDF, la dieta a basso contenuto di FODMAP, la dieta senza lattosio e la dieta mediterranea (MD).

### ***2.2.1 Dieta priva di glutine***

La dieta gluten-free (GFD), tradizionalmente utilizzata per le persone con disturbi glutine-correlati (malattia celiaca, sensibilità al glutine non celiaca, allergia al grano), si basa sull'esclusione permanente dalla dieta della gliadina, proteina presente nel grano, nell'orzo e nella segale e tutti gli alimenti derivati che possano contenere glutine, incluse le fonti nascoste (es. agenti addensanti o aromatizzanti usati per migliorare il gusto del cibo). Gli alimenti consentiti dalla GFD includono quindi cereali senza glutine (es. riso, mais, grano saraceno, quinoa, e altri pseudocereali), carne fresca o pollame, frutta e verdura fresca e latticini.

Se il ruolo della dieta GF nei disturbi legati al glutine è ben definito e rappresenta l'unica terapia efficace, meno chiaro sembra essere il razionale per cui l'esclusione del glutine possa portare benefici nelle IBD. Il meccanismo di azione più verosimile sembrerebbe fare riferimento al rilascio di zonulina

indotto dalla gliadina, che porta ad un aumento della permeabilità intestinale alle macromolecole, contribuendo all'attivazione della risposta immunitaria innata [41,42]. Ad oggi non ci sono evidenze sufficienti per supportare questa ipotesi e la dieta priva di glutine non viene raccomandata per i pazienti IBD.

### ***2.2.2 Dieta a basso contenuto di FODMAPs***

Tradizionalmente, la dieta a basso contenuto di FODMAP, che limita l'assunzione di carboidrati a catena corta fermentescibili e scarsamente assorbiti (oligo-, di- e monosaccaridi e polioli), è utilizzata nel trattamento della sindrome dell'intestino irritabile (IBS) e dei sintomi gastrointestinali funzionali. Tali nutrienti possono favorire una eccessiva crescita batterica (disbiosi intestinale), distensione per formazione di gas da fermentazione batterica e il richiamo di acqua per effetto osmotico, infiammazione intestinale [43-45].

Gli alimenti ad elevato contenuto di FODMAPs includono latticini ad alto contenuto di lattosio (latte e formaggi freschi), la maggior parte della frutta e della verdura (fruttani nella banana/ galattani), cereali e legumi (es. frumento) e polioli contenuti naturalmente in alcuni tipi di frutta (es. drupacee come la pesca) e nei dolcificanti.

La dieta a basso contenuto di FODMAPs prevede una rigorosa fase di riduzione di tutti i FODMAPs alimentari per un periodo di 2-4 settimane, seguita da una fase di reintroduzione in base ai sintomi e alla tolleranza del paziente.

Nella pratica clinica, la dieta a basso contenuto di FODMAPs può essere suggerita ai pazienti affetti da IBD con attività di malattia minima o in remissione, in cui persistono i sintomi gastrointestinali, infatti questa dieta mira a migliorare i sintomi gastrointestinali funzionali piuttosto che l'impatto sull'infiammazione.

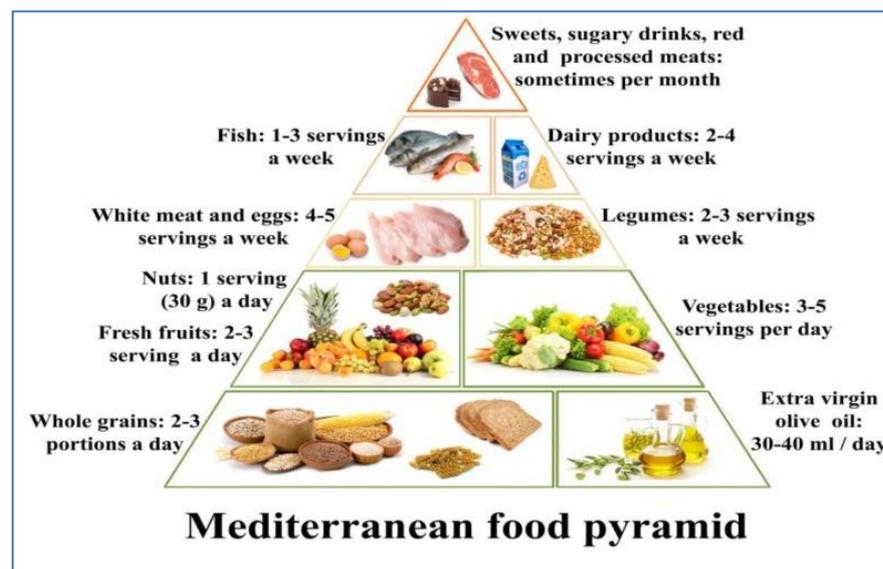
Una dieta a basso contenuto di FODMAP, in particolare la fase di eliminazione, non deve essere istituita come terapia a lungo termine, in quanto potrebbe predisporre i pazienti a carenze di micro o macronutrienti [46]. Inoltre, la natura restrittiva della dieta, soprattutto se le fasi di reintroduzione sono prolungate, può creare problemi di aderenza al paziente nel tempo.

### ***2.3 Dieta Mediterranea***

Negli anni '60 Ancel Keys coniò il termine "dieta mediterranea" (MD), in seguito ai risultati di uno studio epidemiologico, noto come *Seven Countries Study*, che mostrava come le popolazioni che si affacciavano sul Mar Mediterraneo, come l'Italia e la Grecia, avessero un tasso di mortalità e un'incidenza di malattie cardiovascolari e di cancro inferiori rispetto alle altre

popolazioni. Oggi si suggerisce di seguire la MD come modello alimentare per mantenere la salute e ridurre lo sviluppo di malattie croniche. Il regime dietetico mediterraneo è stato ampiamente studiato come fattore protettivo di patologie cardiovascolari e rappresenta un valido strumento di prevenzione primaria e secondaria delle malattie croniche non trasmissibili (diabete, ipertensione, dislipidemie, sindrome metabolica, etc) [47].

La MD si basa su un'alimentazione ricca di frutta e verdura, cereali integrali e proteine provenienti da legumi, pesce, pollame, basso apporto di carni rosse e lavorate, e il consumo di olio d'oliva come fonte principale di grassi (Figura 7) [48,49].



*Figura 7* - Piramide alimentare tipica della dieta mediterranea

Il suo contenuto proporzionalmente elevato di acidi grassi monoinsaturi, acidi grassi polinsaturi omega-3, fibra dietetica, vitamine antiossidanti (vitamina C, vitamina E,  $\beta$ -carotene) e fitonutrienti, (flavonoidi e polifenoli), oltre a conferire proprietà anti-infiammatorie e antiossidanti [50], può contribuire a modificare favorevolmente la composizione del microbiota intestinale [51], fattore eziopatogenetico importante nelle IBD.

Alla luce di tali evidenze, l'approccio “mediterraneo” come potenziale intervento per le IBD ha suscitato notevole interesse; studi epidemiologici associano alla aderenza alla dieta mediterranea un minor rischio di sviluppare IBD, un minor grado di infiammazione intestinale dopo la diagnosi nonché una migliore qualità di vita [25, 50, 52].

I risultati della ricerca clinica sulla dieta mediterranea nella gestione delle IBD sono incoraggianti [53], ma sono ancora pochi i dati a disposizione, soprattutto per l'età pediatrica.

#### ***2.4 Dieta antiossidante/antinfiammatoria***

La “dieta a zona” proposta nel 1995 dal Dr. Barry Sears, spesso identificata come una delle prime diete antinfiammatorie, si caratterizza per l'assunzione di precisi rapporti tra i macronutrienti per la risposta ormonale al cibo (cortisolo e insulina) [54,55], ed ha come obiettivo la gestione dello stato infiammatorio.

La dieta antinfiammatoria (AD) limita l'assunzione di alcuni carboidrati (lattosio e carboidrati complessi raffinati o lavorati), promuove l'assunzione di alimenti pre e probiotici (fibra solubile, cibi fermentati) e modifica gli acidi grassi della dieta (diminuzione dei grassi saturi e aumento dei grassi polinsaturi attraverso i grassi omega-3 acidi), ed infine modifica la consistenza del cibo secondo necessità per migliorare l'assorbimento dei nutrienti e ridurre la fibra intatta (es. alimenti macinati o frullati). Inoltre questa dieta promuove il consumo quotidiano di frutta e verdura per il loro ricco contenuto di fitonutrienti come vitamina C, vitamina E e betacarotene, utili per le loro proprietà antiossidanti), oltre a vitamina B3, vitamina B6, zinco e magnesio, importanti cofattori enzimatici chiave nel metabolismo degli acidi grassi. Tale pattern è stato utilizzato come terapia dietetica aggiuntiva per il trattamento dei pazienti con IBD, con risultati positivi sulla sintomatologia e l'uso di farmaci [56], ma mancano evidenze sulla modifica dei parametri clinici. Infine, negli ultimi decenni, anche le diete vegetariane e vegane hanno guadagnato una notevole popolarità per presunte proprietà antinfiammatorie, probabilmente dovute alla esclusione della carne e dei prodotti di origine animale; i dati in merito sono estremamente limitati e la loro utilità nel trattamento delle IDB rimane ancora poco chiara.

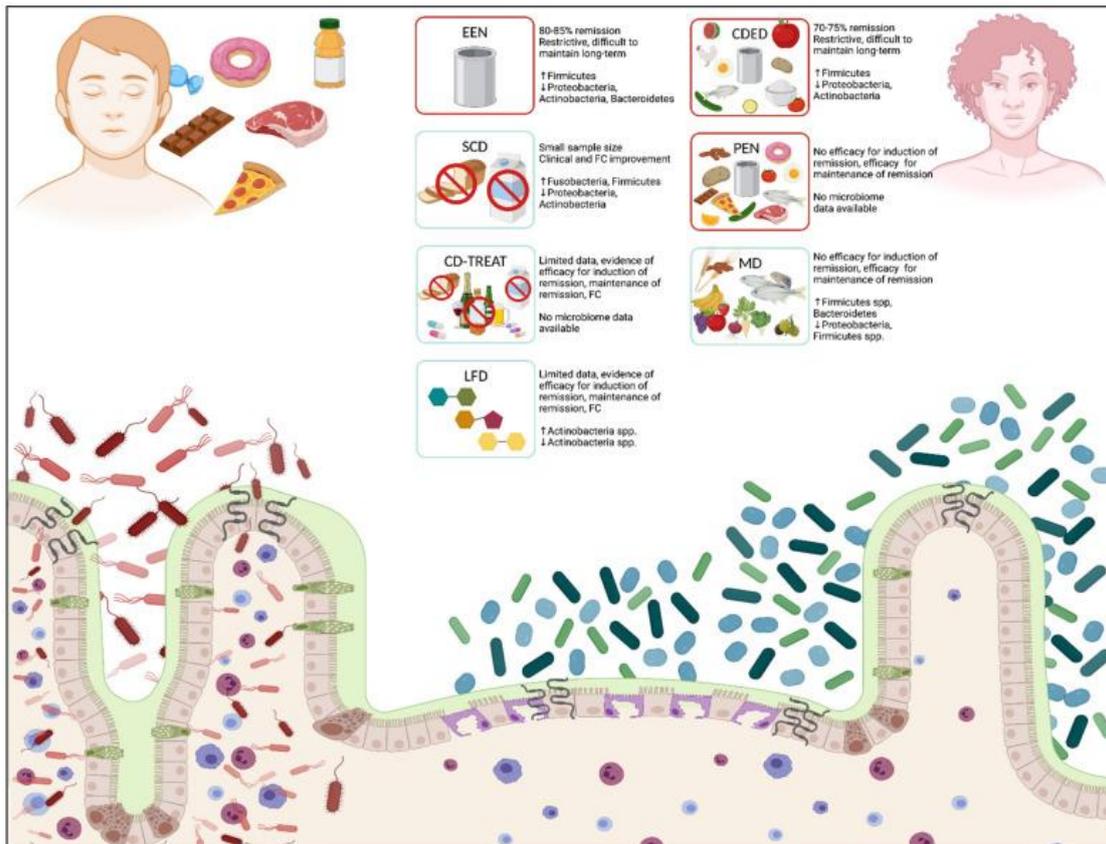
**Tabella 3** - Indicazioni ed evidenze di modelli alimentari nelle IBD

Diet	The restricted nutrient of focus	The rationale and claims for its use	Level of evidence	Foods to eat (sample list)	Foods to limit (sample list)
Specific Carbohydrate Diet	Carbohydrates (all except for monosaccharides)	Eliminating all carbohydrates that require enzymatic digestion will reduce bacterial fermentation upon those carbohydrates and thus will reduce inflammation and injury.	Although some studies have shown improvement on inflammatory markers, mucosal healing, and symptoms, data continues to be limited, especially for the adult population.	Fresh meat, poultry, fish, eggs, lactose-free dairy (e.g., hard cheeses, all fruits and non-starchy vegetables, honey)	Processed meats, high-lactose dairy (e.g., cow's milk), all grains (e.g., breads, pastas), starchy vegetables (e.g., corn, potatoes), table sugar
Low FODMAP diet	Carbohydrates (the fermentable carbohydrates)	Reducing intake of highly fermentable FODMAPs may reduce functional symptoms similar to the functional symptoms experienced by those with IBS.	A few studies have shown reduction in functional symptoms that were similar to IBS in IBD patients. There are minimal data on the impact of the diet on inflammation. The diet can be utilized to manage functional symptoms in IBD patients as long as adequate nutrition is monitored. The diet's role is well established in celiac disease and, to some extent, has shown to improve IBS-like symptoms in those with non-celiac gluten sensitivity. Some studies have shown improvement in symptoms in IBD patients, but overall, when compared to those who were not	Meat, poultry, fish, eggs, lactose-free dairy, gluten-free grains (e.g., rice), fruits (e.g., bananas), vegetables (e.g., spinach), sugar, most nuts, most spice and herbs, garlic-infused oil	High-lactose dairy (e.g., cow's milk), grains (e.g., wheat, barley, rye), fruits (e.g., stone fruits), vegetables (e.g., cauliflower), legumes (e.g., lentils), cashews, honey, garlic, onion
Gluten-free diet	Gluten	Removing all gluten containing foods from the diet may reduce inflammation and symptoms.	The diet's role is well established in celiac disease and, to some extent, has shown to improve IBS-like symptoms in those with non-celiac gluten sensitivity. Some studies have shown improvement in symptoms in IBD patients, but overall, when compared to those who were not	Meat, poultry, fish, eggs, gluten-free grains (e.g., quinoa), plain dairy, all fruits and vegetables, all fresh spices and herbs	Grains with gluten (e.g., wheat, barley, rye, malt), hidden gluten (e.g., soy sauce)

Diet	The restricted nutrient of focus	The rationale and claims for its use	Level of evidence	Foods to eat (sample list)	Foods to limit (sample list)
Anti-inflammatory diet	Carbohydrates (refined) Saturated fats	Adding plant-based foods high in phytonutrients, especially fruits and vegetables, plant-based protein as primary protein, spices and herbs, and fish rich in omega-3 polyunsaturated fats may reduce inflammation.	following a gluten free diet, there were no significant differences found in outcomes for disease activity, hospitalizations, surgery, or complications. The role of the diet in IBD remains uncertain. Very limited data in IBD. A small study has shown improvements in symptoms and a reduction in the use of medications. Data is limited by small sample size and retrospective design. No data available on the impact of the diet on mucosal healing or inflammation. Very limited data in IBD. A small study has shown that with a Mediterranean diet, there were altered expressions of more than 3000 genes and trends progressing toward normalization in intestinal microbiota and inflammatory markers.	Fish, low-fat dairy, whole grains, all fruits and vegetables, nuts, plant based protein (e.g., beans), all spices and herbs	Meat, poultry, eggs, high-fat dairy, refined grains, concentrated sweets
Mediterranean diet	Carbohydrates (refined) Saturated fats	Restricting refined carbohydrates, trans fat, saturated fats, and including plant-based foods rich in phytonutrients, olive oil as the primary oil, nuts and fish rich in polyunsaturated fats (omega-3 fatty acids) may reduce inflammation.		Fish, low-fat dairy, whole grains, all fruits and vegetables, nuts, all legumes, olive oil, all spices and herbs	Meat, poultry, eggs, high-fat dairy, trans fats, refined grains, concentrated sweets

**Tabella 4** - Diete popolari oggetto di studi e ricerche scientifiche nelle IBD

<b>Diet</b>	<b>Components of Diet</b>	<b>Recommendations</b>
<b>In cases of active disease</b>		
<b>Enteral Nutrition (EN) diet</b>	Liquid oral nutrition supplements	EN is recommended when oral nutrition supplements are not sufficient.  Exclusive EN (EEN) is recommended to induce remission in children and adolescents with severe active Crohn's disease (CD)
<b>Parenteral Nutrition (PN) diet</b>	Liquid nutrition supplements	PN is indicated in inflammatory bowel diseases (IBD) when the gastrointestinal (GI) tract is dysfunctional or in CD patients with short bowel, when there is an obstructed bowel, or when other complications occur
<b>CD exclusion diet (CDED)</b>	Only whole foods that have been minimally processed, free from additives or other artificial substances; exclusion of some foods.	CDED has shown promise in inducing disease remission; further studies are required before recommending this diet
<b>In cases of remission disease</b>		
<b>Specific carbohydrate diet (SCD)</b>	Removal of grains including wheat, barley, corn, and rice; removal of added sugar, honey and most milk products. Fully fermented yogurts allowed.	There have been several studies showing the potential benefits of this diet in improving the course of disease; however, there are not enough studies yet to recommend this diet
<b>Gluten-Free Diet (GFD)</b>	Elimination: gluten, i.e., cereals such as wheat, barley, oats, rye.  Allowed: gluten-free cereals (rice, maize, buckwheat, millet), meat, fish, fruit and vegetables, legumes and dairy products.	GFD appears to lead to symptomatic improvement in these patients. To date, there is not enough evidence to recommend a GFD in IBD patients [24,25].
<b>Low-FODMAP diet (LFD)</b>	Elimination: short-chain carbohydrates (oligosaccharides), disaccharides, monosaccharides and related alcohols.	A low-FODMAP diet may be worth trying in patients with IBD who have 'Irritable bowel syndrome (IBS)-type' symptoms



**Figura 8** - Effetti della dieta e delle terapie nutrizionali sul microbiota intestinale e sulla risposta immunitaria della mucosa. *Malattia di Crohn (CD)*; *dieta per l'esclusione della malattia di Crohn (CDED)*; *dieta per il trattamento della malattia di Crohn (CD-TREAT)*; *nutrizione enterale esclusiva (EEN)*; *calprotectina fecale (FC)*; *malattia intestinale infiammatoria (IBD)*; *dieta oligo-, di-, monosaccaridi e polioli (FODMAP) a bassa fermentazione (LFD)*; *dieta mediterranea (MD)*; *nutrizione enterale parziale (PEN)*; *dieta specifica dei carboidrati (SCD)*; *colite ulcerosa (UC)*.

### 2.4.1 Sostanze con proprietà antinfiammatorie/antiossidanti

Oltre alla terapia nutrizionale che rappresenta un cardine fondamentale nell'ambito della gestione terapeutica delle IBD, ampio interesse si sta sviluppando riguardo all'efficacia di composti bioattivi con spiccate proprietà

antiossidanti e/o antinfiammatorie che potrebbero essere utilizzate al fine di migliorare la prognosi di tali patologie, (es. miglioramento della risposta immunitaria, mantenimento della remissione, migliorare l'efficacia e ridurre gli effetti collaterali della terapia farmacologica, migliorare la qualità di vita, etc).

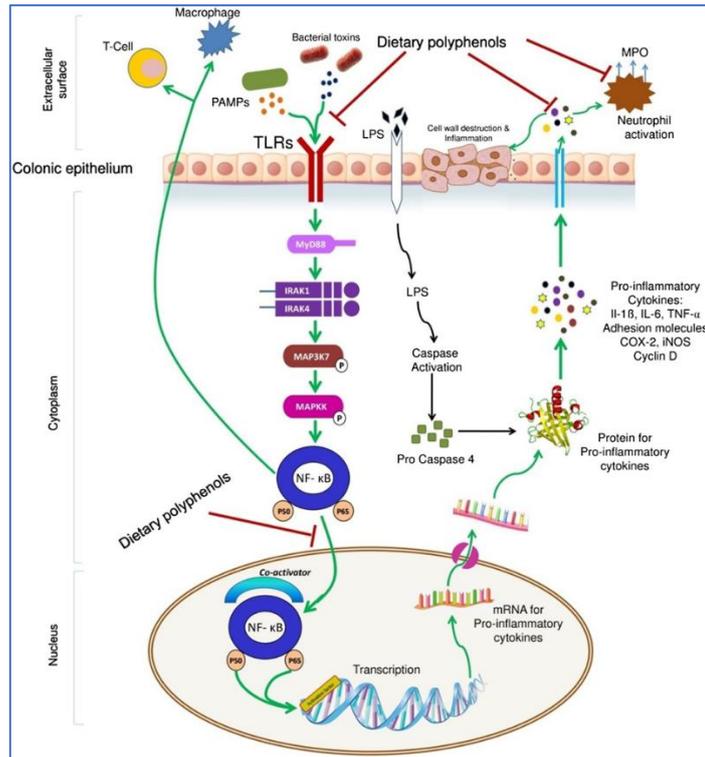
#### ***2.4.2 Polifenoli (flavonoidi, antocianine, resveratrolo, curcumina, quercetina, catechine, etc)***

I polifenoli sono composti organici caratterizzati dalla presenza di numerosi gruppi fenolici; essi sono presenti in alcuni alimenti vegetali comunemente assunti con l'alimentazione, come cacao, tè, soia, alcuni tipi di verdura e frutta [57]. I polifenoli sono oggetto da anni di crescente attenzione per il loro importante ruolo nella salute umana, infatti numerose evidenze sperimentali dimostrano un ruolo di antiossidanti e immunomodulanti [58] nelle malattie neurodegenerative e alcune malattie cardiovascolari, la cui patogenesi è legata anche all'eccessiva produzione di ROS [59,60]. Tali molecole (curcumina, resveratrolo, quercetina) possono ridurre lo stress ossidativo, regolare le vie di segnalazione dell'NF- $\kappa$ B e della proteina chinasi attivata dal mitogeno (MAPK) riducendo la secrezione di fattori infiammatori [61,62] (Tabella 5, Figura 9).

Inoltre, i polifenoli possono regolare la composizione e la funzione della flora intestinale mediante un meccanismo sinergico, con effetti positivi sulla integrità e funzione della barriera intestinale. Studi sull'uomo hanno dimostrato che i polifenoli possono aumentare l'abbondanza di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* nel tratto intestinale, ridurre la crescita di microrganismi patogeni come il *Parvimonas* [63], e ridurre il livello di marcatori infiammatori nel siero [64].

Polyphenol	Major dietary sources	Mechanism of action
Quercetin	Apple, Grapes, Black tea, Green tea, Red wine, Broccoli, Red onions, Peppers	Inhibition of TLR-4-mediated inflammatory responses in LPS-stimulated RIMVFCs through MyD88-dependent NF- $\kappa$ B, MAPKs, and STAT pathways (Yoshida, 2018).
Naringenin	Grape, Orange, Cherries, Tomatoes, Cocoa, Water mint, Beans	Decreases the mucosal Toll-like receptor 4 (TLR4) mRNA and protein expression (Dou et al., 2013).
Wogonin	Nuts, Beans	Inhibition of the TLR4-MyD88-TAK1-mediated NF- $\kappa$ B translocation (Wang et al., 2015).
Punicalagin	Pomegranates	Suppression of TLR4-mediated MAPKs and NF- $\kappa$ B activation (Xu et al., 2014).
Phloretin	Apple, Pear	Inhibition of TLR2/1 heterodimerization step (Kim et al., 2018).
Iberin	Cabbage, Cauliflower	Specifically inhibited the dimerization step of TLRs in the TLR signaling pathway (Shibata et al., 2014).
Curcumin	Turmeric	Downregulation of TLR-4-MyD88 signaling and activation of NF- $\kappa$ B (Lubbud, Oriowo, & Khan, 2009).
Resveratrol	Pea nuts, Pista, Grapes, Blueberries, Cocoa	Inhibition of TRIF signaling in the TLR3 and TLR4 pathway by targeting TANK-binding kinase 1 and RIP1 in TRIF complex (Youn et al., 2005). Inhibition of TLR4/NF- $\kappa$ B p65/MAPKs signaling cascade (Wang et al., 2017).
Genistein, Kaempferol, Daidzein	Lupin, Beans, Soybeans	Inhibition of the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway (Hämäläinen, Nieminen, Vuorela, Heinonen, & Mollanen, 2007).

**Tabella 5** - I polifenoli e le loro principali fonti alimentari che agiscono inibendo la segnalazione TLR (toll-like-receptor)



**Figura 9** - Cascata di segnalazione immunitaria e infiammatoria nell'eziopatogenesi dell'IBD e i possibili bersagli dei polifenoli alimentari nell'attenuazione della malattia. Le cascate di segnalazione comprendono l'attivazione dei TLRs dalle tossine batteriche e dai PAMPs, che phosphorylates NF- $\kappa$ B via MyD88, IRAK 1&4 e la segnalazione di MAPK, che inducono il fattore di trascrizione per pro-citochina infiammatoria IL-1 $\beta$  & IL-6 e TNF- $\alpha$ , molecole di adesione e migliorare il rilascio di enzimi come Inos e MPO. L'intero evento distrugge l'epitelio del colon. (*Inos*, sintasi di ossido nitrico inducibile; *MPO*, mieloperossidasi; *NF- $\kappa$ B*, fattore nucleare kappa B; *PAMPs*, pattern molecolari associati a patogeni; *TLR*, recettore Toll-like; *TNF- $\alpha$* , fattore di necrosi tumorale alfa)

La maggior parte dei polifenoli assunta con l'alimentazione non è biodisponibile come tale, ma viene trasformata dai batteri del colon in metaboliti con elevate caratteristiche antinfiammatorie e biodisponibilità, in concentrazioni notevolmente superiore a quella del precursore.

Diversi studi hanno dimostrato che i metaboliti dei polifenoli hanno un effetto terapeutico nelle IBD: ad esempio, il metabolita dell'acido caffeico, l'acido idrocaffeico, è in grado di ridurre l'espressione dei fattori pro-infiammatori TNF- $\alpha$  e IL-8, riducendo la colite [65].

## Capitolo secondo

### SCOPO DELLA TESI

La nutrizione, come detto in precedenza, svolge un ruolo bivalente nelle IBD. Come dimostrato grazie a numerosi studi, è stata identificata l'esistenza di un'associazione tra lo sviluppo delle IBD e la dieta ed è stato dimostrato il duplice ruolo di alcuni specifici nutrienti come fattori di rischio o protettivi per lo sviluppo della malattia stessa.

D'altra parte, è stato dimostrato però, anche il ruolo terapeutico della nutrizione, come valido intervento preventivo, o curativo. La nutrizione enterale esclusiva (EEN) applicata in età pediatrica, sembra essere l'approccio migliore in grado di favorire la completa remissione della malattia, ma altri approcci nutrizionali, in particolare le diete ricche in sostanze nutraceutiche e antiossidanti, sono in fase di studio soprattutto con lo scopo di prevenire il riacutizzarsi della malattia.

Sulla base di tali evidenze ancora molto limitate soprattutto in ambito pediatrico, l'obiettivo di tale studio prospettico-interventistico è valutare i possibili gli effetti, sul bilancio redox, sui parametri clinici di malattia e sulla qualità della vita, di un trattamento nutrizionale ad elevato contenuto in antiossidanti (dieta antiossidante, OD) rispetto ad un regime nutrizionale di tipo

mediterraneo (MD), in un gruppo di bambini e adolescenti affetti da malattia infiammatoria intestinale.

Lo studio è parte di un progetto di ricerca finalizzata del Ministero della Salute (RF-2018-12336976).

## Capitolo terzo

### **MATERIALI E METODI**

Nel periodo maggio 2021-giugno 2022 sono stati arruolati presso la Clinica Pediatrica UNIVPM–AOU Ospedali Riuniti di Ancona 20 soggetti di età compresa tra 6 e 17 anni, con diagnosi di IBD, in fase di remissione o con attività lieve di malattia.

I criteri di inclusione e di esclusione dallo studio comprendevano:

- Criteri di inclusione:

- 1) pazienti pediatrici (età compresa tra 6-18 anni) con diagnosi di malattia infiammatoria cronica intestinale;
- 2) acquisizione del consenso informato in forma scritta.

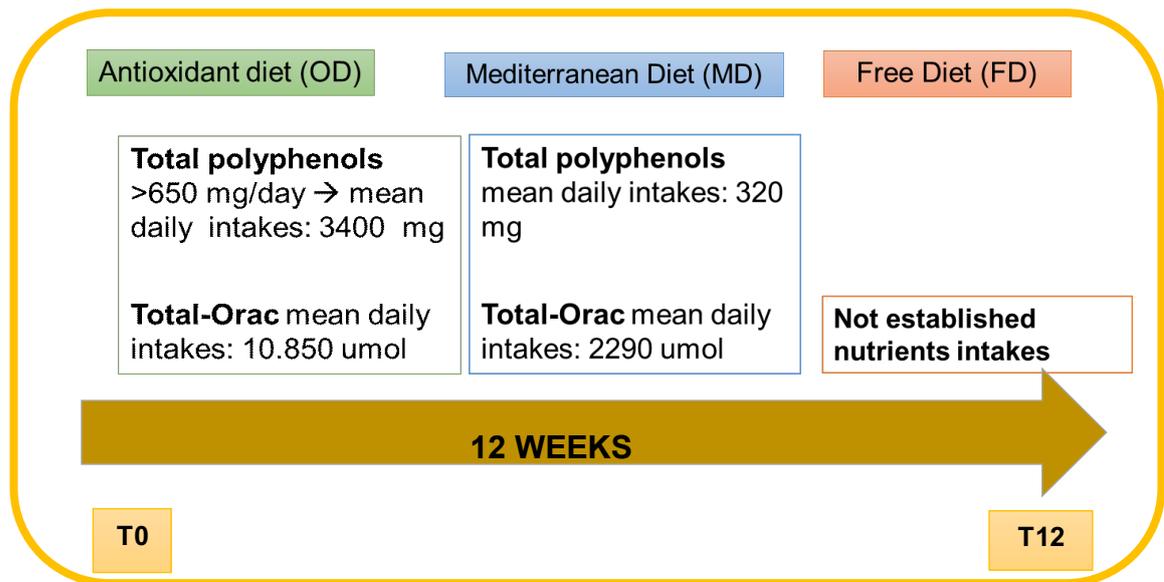
- Criteri di esclusione:

- 1) pazienti con stomia permanente, neoplasie, malattie cardiovascolari e ischemiche, morbo di Alzheimer, diabete di tipo 2, altre condizioni che richiedono un trattamento dietetico specifico (malattia celiaca, allergie alimentari conclamate, insufficienza renale cronica, malattie metaboliche congenite o condizioni acquisite come dislipidemie ed

iperuricemia), gravidanza e allattamento, pazienti con stenosi pilorica, pazienti in terapia steroidea.

I soggetti partecipanti sono stato suddivisi in tre gruppi e sottoposti a 3 differenti trattamenti nutrizionali per 12 settimane (Figura 10):

- **Dieta antiossidante (OD)**: schema dietetico normocalorico bilanciato, caratterizzato dalla elevata presenza di polifenoli (> 650 mg/die), con assunzione media giornaliera di circa 3400 mg e indice ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity, potere antiossidante degli alimenti) di 10.850 mcmol;
- **Dieta mediterranea (MD)**: schema dietetico normocalorico bilanciato, con assunzione media giornaliera di polifenoli di 320 mg e indice ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity, potere antiossidante degli alimenti) di 2290 mcmol;
- **Dieta libera (FD)**: nessuna prescrizione particolare, forte raccomandazione a non consumare cibi proibiti.



**Figura 10** - Disegno dello studio e caratteristiche distintive dei 3 trattamenti nutrizionali

Per alcuni tipi di alimenti (spezie, condimenti, tisane, etc...) è stata prevista una fornitura da parte della Clinica Pediatrica, sufficiente per coprire le indicazioni di consumo per la durata dell'intero trattamento dietetico.

Si riportano le indicazioni fornite ai pazienti per eseguire correttamente la dieta nelle 12 settimane:

### 1) **Dieta Antiossidante:**

Linee guida generali:

OGNI GIORNO è importante consumare

- ❖ porzioni di frutta fresca (circa 150 g a porzione) e/o estratto di frutta fresca (150 ml) e/o composta di frutta antiossidante. Frutta da prediligere: mirtillo nero, mirtillo rosso, ribes nero, fico, sambuco, kaki, guava, melagrana, banana, limone.
- ❖ 200 ml di succo di frutta fresca a scelta tra quelli forniti.
- ❖ 2 porzioni di verdure fresche (circa 150 g a porzione), tra cui crucifere (es cavolo cappuccio, cavolo verza, broccoli) e carciofo. Altre verdure da poter utilizzare nel periodo estivo: pomodori, carote, spinaci, crescione, barbabietola. Come metodo di cottura prediligere la cottura a vapore.
- ❖ Erbe aromatiche (timo, origano, maggiorana, rosmarino, ecc) e/o zenzero e/o curcuma tra quelle fornite, per i pasti principali (quantità: 2 g al giorno).
- ❖ Olio extravergine di oliva, almeno 50 ml (circa 5 cucchiaini).
- ❖ Una tazza di tè verde e/o tisana tra quelle selezionate (es. tiglio, melissa, olivo, ecc.).

DURANTE LA SETTIMANA assumere:

- ❖ Almeno 2 porzioni di frutta ricca di vitamina C: kiwi, fragole, arance, mandarini, pompelmo, ecc.

- ❖ Almeno 3 porzioni (circa 30-40 g a porzione) di frutta secca: mandorle, noci del Brasile, anacardi, noci.
- ❖ Almeno 1-2 porzioni di pesce ricco di omega-3: pesce azzurro (sardine, aringhe, alici, sgombro), salmone.
- ❖ 2 porzioni (circa 20-30 g a porzione) di cioccolato extra-fondente.

INOLTRE, si consiglia di:

-Assumere almeno 1.5 L di acqua al giorno, distribuendola a piccoli sorsi nell'arco della giornata.

-Prediligere frutta e verdura di stagione.

-Utilizzare prevalentemente prodotti freschi e non conservati.

-Evitare il consumo di alimenti industriali e/o lavorati, come dadi, carne e verdura in scatola, insaccati, biscotti/merendine confezionate, snack salati, fast-food.

-Consumare prodotti integrali (es. pasta, pane, ecc.) e legumi (almeno 2 porzioni a settimana).

Si riporta inoltre un esempio del piano alimentare personalizzato antiossidante (2100Kcal/die) di due settimane “tipo” da ripetere in maniera ciclica per tutto il trattamento; i menù possono essere spostati nei diversi giorni, mantenendo invariate le frequenze settimanali di consumo (elaborato con software nutrizionale WINFOOD®).

Piano alimentare personalizzato						
Settimana 1			Piano alimentare antiossidante 2100 kcal - (██████████)			
<b>Colazione</b>	<b>Colazione</b>	<b>Colazione</b>	<b>Colazione</b>	<b>Colazione</b>	<b>Colazione</b>	<b>Colazione</b>
Succo di melagrana fresco - 250 g	Latte di vacca pastor parz. Screamato - 200 g	Yogurt greco 2%, Fage Total - 170 g	Thè verde, in foglie - 250 g	Latte di vacca pastor parz. Screamato - 200 g	Succo di melagrana fresco - 250 g	Thè verde, in foglie - 250 g
Ciambellone fatto in casa - 80 g	Pane integrale - 80 g Confettura di ribes nero - 30 g	Mirtillo nero - 100 g Fiocchi di avena - 30 g Cioccolato fondente - 20 g	Pane integrale - 80 g Confettura di ribes nero - 30 g	Pancakes * - 100 g Fragole - 150 g	Pane integrale - 80 g Confettura di mirtilli - 30 g	Pane integrale - 80 g Ricotta di vacca - 30 g Cioccolato fondente - 20 g
<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>
Mandorle dolci secche - 40 g	Banane - 200 g	Pane integrale - 60 g Prosciutto crudo - 30 g	Crackers integrali - 25 g Parmigiano - 20 g	Succo d'uva nera, Natipuri Bio - 200 g Mandorle dolci secche - 20 g	Banane - 200 g	Succo di mirtillo - 200 g Noci fresche - 20 g
<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>
Carciofi - 150 g Pasta integrale - 80 g Ricotta di vacca - 100 g	Spinaci - 200 g Riso integrale - 80 g Sgombro o maccarelllo fresco [1] - 130 g	Pomodori - maturi - 200 g Pasta di semola - 80 g Ceci secchi, cotti - 80 g	Carote - 200 g Quinoa - 80 g Tacchino - petto - 100 g	Pomodori - maturi - 200 g Pasta integrale - 80 g Tonno sott'olio sgocciolato - 120 g	Carciofi - 150 g Orata - 200 g Pane integrale - 30 g	Carote - 200 g Quinoa - 80 g Ceci secchi, cotti - 100 g
Olio di oliva extravergine - 25 g Origano secco macinato - 2 g	Olio di oliva extravergine - 25 g Maggiorana, secca - 2 g	Olio di oliva extravergine - 25 g Curcuma, macinata - 2 g	Olio di oliva extravergine - 20 g	Olio di oliva extravergine - 25 g	Olio di oliva extravergine - 25 g Curcuma, macinata - 2 g	Olio di oliva extravergine - 25 g Maggiorana, secca - 2 g
<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>
Fragole - 200 g Cioccolato fondente - 25 g	Yogurt da latte intero - 125 g Kiwi - 100 g	Succo d'uva nera, Natipuri Bio - 200 g Noci fresche - 30 g	Succo di melagrana fresco - 250 g Pane integrale [3] - 30 g Olio di oliva extravergine - 5 g	Kefir [2] - 125 g	Anacardi - 30 g Kiwi - 100 g	Yogurt da latte intero - 125 g Fragole - 150 g
<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>
Pomodori - da insalata - 200 g Pollo - petto - 200 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g	Carote - 200 g Uovo di gallina - intero - 120 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g	Carciofi - 150 g Bovino adulto o vitellone - carne magra - 150 g Pane integrale - 60 g Olio di oliva extravergine - 25 g	Crescione - 150 g Merluzzo o nasello fresco - 250 g Patate - 250 g Olio di oliva extravergine - 25 g Timo secco macinato - 2 g	Spinaci - 150 g Pollo - petto - 200 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g Rosmarino secco - 2 g	Lattuga - 50 g Pizza - con pomodoro e mozzarella - 240 g	Pomodori - da insalata - 200 g Bovino adulto o vitellone - carne magra - 160 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g
<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>
Tisana alla melissa, in foglie - 250 g	Tisana/the rooibos - 250 g	Tisana al tiglio - 250 g		Tisana alla melissa, in foglie - 250 g	Tisana alla melissa, in foglie - 250 g	Tisana alla melissa, in foglie - 250 g

\* ricetta, [n] nota presente

#### Note Alimenti

Nota [1]: Si può sostituire con salmone, sardine, alici, aringhe

Nota [2]: Si può sostituire con yogurt bianco intero

Nota [3]: Tostato

Colazione	Colazione	Colazione	Colazione	Colazione	Colazione	Colazione
Thè verde, in foglie - 250 g	Latte di vacca pastor parz. Scremato - 200 g	Succo di melagrana fresco - 250 g	Tisana/the rooibos - 250 g	Latte di vacca pastor parz. Scremato - 200 g	Succo di ribes nero, Voelkel - 250 g	Tisana/the rooibos - 250 g
Ciambellone fatto in casa - 80 g	Fiocchi di avena - 30 g Cioccolato fondente - 20 g	Pane integrale - 80 g Confettura di mirilli - 30 g	Biscotti secchi - 40 g Confettura di ribes nero - 30 g	Pane integrale - 80 g Confettura di mirilli - 30 g	Pane integrale - 80 g Ricotta di vacca - 30 g Cioccolato fondente - 20 g	Pane integrale - 80 g Confettura di mirilli - 30 g
<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>	<b>Spuntino matt.</b>
Banane - 200 g	Mandorle dolci secche - 40 g	Pizza - bianca - 50 g	Pane integrale - 60 g Prosciutto crudo - 40 g	Anacardi - 40 g	Banane - 200 g	Succo di mirtillo - 200 g Noci fresche - 30 g
<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Pranzo</b>
Zucchine - 200 g Riso integrale - 80 g Parmigiano - 40 g Olio di oliva extravergine - 25 g Origano secco macinato - 2 g	Pomodori - maturi - 200 g Pasta di semola - 80 g Fagioli, cotti - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g	Insalata mista - 150 g Uovo di gallina - intero - 120 g Pane integrale - 60 g Olio di oliva extravergine - 25 g Fragole - 100 g	Zucchine - 200 g Pasta integrale - 90 g 5Gamberetti - 200 g Olio di oliva extravergine - 25 g Mirtillo nero - 150 g	Carciofi - 150 g Quinoa - 80 g Linea Osella - Kraft - 50 g Olio di oliva extravergine - 25 g Frutta fresca - 150 g	Insalata mista - 150 g Pasta all'uovo - fresca - 130 g Olio di oliva extravergine - 25 g Frutta fresca - 150 g	Carote - 200 g Riso integrale - 80 g Piselli freschi - 100 g Olio di oliva extravergine - 25 g Frutta fresca - 150 g
<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>	<b>Merenda</b>
Succo di ribes nero, Voelkel - 200 g Crackers integrali - 25 g	Succo di melagrana fresco - 250 g Pane integrale [4] - 30 g Olio di oliva extravergine - 5 g	Yogurt da latte intero - 125 g Kiwi - 100 g	Succo di ribes nero, Voelkel - 220 g Cioccolato fondente - 25 g	Tisana al tiglio - 250 g Ciambellone fatto in casa - 30 g	Yogurt da latte intero - 125 g Fragole - 150 g	Gelato alla frutta - 120 g
<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>	<b>Cena</b>
Crescione - 150 g Tacchino - petto - 160 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g	Carciofi - 150 g Salmone fresco [6] - 150 g Patate viola - 250 g Olio di oliva extravergine - 25 g Timo secco macinato - 2 g	Spinaci - 150 g Farinata di ceci, fatta in casa [5] - 120 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g Rosmarino secco - 2 g	Lattuga - 50 g Pollo - petto - 180 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g Curcuma, macinata - 2 g	Pomodori - da insalata - 200 g Spigola - 200 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g Timo secco macinato - 2 g	Spinaci - 150 g Bovino adulto o vitellone - carne magra - 150 g Patate viola - 200 g Olio di oliva extravergine - 25 g Zenzero, secco macinato - 2 g	Carciofi - 150 g Tacchino - petto - 160 g Pane integrale - 80 g Olio di oliva extravergine - 25 g Curcuma, macinata - 2 g
<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>	<b>Spuntino serale</b>
	Tisana al tiglio - 250 g	Tisana alle foglie di olivo - 250 g			Tisana alla melissa, in foglie - 250 g	

**Settimana 2** **Piano alimentare antiossidante 2100 kcal - (██████████)**

Note Alimenti
Nota [4]: Tostato
Nota [5]: Vedi ricette. Si può sostituire con qualsiasi ricetta con legumi oppure legumi freddi con verdure di stagione
Nota [6]: Si può sostituire con sgombro, sardine, alici, aringhe

## 2) Dieta Mediterranea (MD)

Linee guida generali:

OGNI GIORNO è importante consumare:

❖ 2 porzioni di frutta fresca (circa 150 g a porzione) e/o estratto di frutta fresca (150 ml) di stagione, a scelta.

❖ 2 porzioni di verdure fresche (circa 150 g a porzione) di stagione, crude o cotte a scelta. **EVITARE il consumo di crucifere** (es cavolo cappuccio,

cavolo verza, broccoli), carciofo, pomodori, carote, spinaci, crescione, barbabietola.

❖ Erbe aromatiche tra quelle fornite, per insaporire i piatti. **EVITARE l'utilizzo di** timo, origano, maggiorana, rosmarino, e/o zenzero/curcuma.

❖ Olio extravergine di oliva, **MAX 30 ml al giorno** (circa 2-3 cucchiaini).

❖ Cereali e/o pasta/pane, preferibilmente integrali.

❖ Latte e yogurt, preferibilmente magri, se graditi e tollerati.

DURANTE LA SETTIMANA consumare

❖ Almeno 3-4 porzioni di legumi (ceci, fagioli, lenticchie, piselli, ecc.).

❖ Almeno 1-2 porzioni di pesce bianco (orata, merluzzo, branzino, pesce persico, etc) e/o tonno.

❖ Circa 2-3 porzioni di carne, di cui 1 rossa.

❖ 2-3 uova.

❖ Max 2-3 porzioni di formaggi.

❖ Dolci, affettati e prodotti industriali: all'occasione (max 1 volta a settimana).

INOLTRE, si consiglia di:

-Assumere almeno 1.5 L di acqua al giorno, distribuendola a piccoli sorsi nell'arco della giornata. □ Prediligere frutta e verdura di stagione.

- Utilizzare prevalentemente prodotti freschi e non conservati.

- Evitare il consumo di alimenti industriali e/o lavorati, come dadi, carne e verdura in scatola, insaccati, biscotti/merendine confezionate, snack salati, fast-food.

- Mantenere una vita attiva: ogni giorno (almeno 30 minuti) si consigliano attività all'aperto, come la camminata o la bicicletta oppure semplici attività da fare in casa, come cyclette, corda, esercizi a corpo libero. Inoltre, è bene ridurre le attività sedentarie e l'uso di dispositivi elettronici.

**Si riporta qui di seguito il piano alimentare personalizzato mediterraneo** (1900 Kcal/die), strutturato su 5 pasti giornalieri, con una “Scelta principale” e le “Varianti” con cui poterla sostituire (elaborato con software nutrizionale WINFOOD®).

### Dieta Giornaliera

	Tacchino - petto	60 g		
	Agnello	90 g		
	Uovo di gallina - intero	60 g		
	Ricotta di vacca	60 g		
	Mozzarella di vacca	90 g		
	Bresaola	90 g		
	Prosciutto crudo	40 g		
	Tacchino - fesa	80 g		
	Prosciutto cotto	40 g		
	Ceci secchi, cotti	100 g		
	Fagioli, cotti	100 g		
	Lenticchie secche, cotte	100 g		
	Olio di oliva extravergine	15 g		
	Frutta fresca	100 g		
<b>Merenda</b>				
Prima Scelta	Grammi	Varianti	Grammi	
Frullato di frutta fresca	150 g	Yogurt di soia	125 g	
		Crackers non salati	25 g	
		Pane integrale	40 g	
		spremuta di arancia	250 g	
Seni di girasole	10 g	Carote	100 g	
		Olio di oliva extravergine	5 g	
		Seni di zucca	30 g	
Prima Scelta	Grammi	Varianti	Grammi	
Verdure	200 g			

### Dieta Giornaliera

	Carbolfone fatto in casa	90 g		
	Banane	200 g		
	Pizza - bianca	90 g		
<b>Pranzo</b>				
Prima Scelta	Grammi	Varianti	Grammi	
Verdure	200 g			
Pasta di semola	90 g	Quinoa	90 g	
		Riso integrale	90 g	
		Farro o Spelta	90 g	
		Oro perlato	100 g	
		Grano saraceno	100 g	
		Polenta	150 g	
		Pasta integrale	100 g	
Parmigiano grattugiato	5 g			
Torino al naturale in salamoia	80 g	Merluzzo o nasello fresco	120 g	
		Sgombro o nasello fresco	90 g	
		Orata	90 g	
		Sogliola	100 g	
		Sogliola	100 g	
		Salmoncino fresco	90 g	
		Scorpe	130 g	
		Calamari freschi	130 g	
		Polpo	140 g	
		Stingole sgusciate	150 g	
		Cozza o mitilo	100 g	
		Pollo - petto	60 g	
		Coniglio	70 g	

### Dieta Giornaliera

<b>Colazione</b>			
Prima Scelta	Grammi	Varianti	Grammi
Latte di mandorle	150 g	Yogurt di soia	125 g
		spremuta di arancia	100 g
		Latte di soia	120 g
		Tisana in tazza	300 g
		caffè d'orzo	300 g
Pane integrale	80 g	Pane bianco	70 g
		Fette biscottate	90 g
		Biscotti secchi	90 g
		Fisocchi di maie - Cornflakes	90 g
		Fisocchi di avena	90 g
		Riso soffiato da prima colazione	60 g
		Croissant semplice	90 g
		Torta margherita	90 g
		Ciambellone fatto in casa	70 g
		Pancakes	100 g
mandorlate	30 g	Miele	30 g
		Crema di nocciola e cacao	10 g
		Ciocolato al latte	30 g
		Ricotta di vacca	40 g
<b>Spuntino matt.</b>			
Prima Scelta	Grammi	Varianti	Grammi
Mandorle dolci secche	40 g	Pistacchi	40 g
		Panino bresaola/melanzane	120 g

### Dieta Giornaliera

Pollo - petto	200 g	Merluzzo o nasello fresco	280 g
		Sgombro o nasello fresco	120 g
		Orata	230 g
		Sogliola	240 g
		Sogliola	240 g
		Torino al naturale in salamoia	190 g
		Salmoncino fresco	130 g
		Seppie	280 g
		Calamari freschi	290 g
		Polpo	300 g
		Stingole sgusciate	150 g
		Cozza o mitilo	200 g
		Coniglio	170 g
		Tacchino - petto	190 g
		Agnello	130 g
		Uovo di gallina - intero	120 g
		Bresaola	90 g
		Prosciutto crudo	90 g
		Tacchino - fesa	90 g
		Prosciutto cotto	90 g
		Ceci secchi, cotti	150 g
		Fagioli, cotti	150 g
		Lenticchie secche, cotte	150 g
Olio di oliva extravergine	15 g		
Pane integrale	70 g	Petite	200 g
Frutta fresca	100 g	Wasa original	50 g

Per ogni soggetto sono state raccolte le seguenti informazioni: età, etnia e genere, peso, altezza, le informazioni riguardanti lo stato di malattia: età alla diagnosi, tipo di malattia (**CD**, **UC** e **IBD-U**), estensione di malattia (classificazione **Paris**), **attività clinica** di malattia (**PCDAI**, Pediatric Crohn's Disease Activity Index, e **PUCAI**, Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index; terapia in corso (farmaci biologici, steroidi, immunomodulatori, aminosalicilati, etc), terapia nutrizionale (nutrizione enterale totale o parziale e il tipo di miscela utilizzata), l'eventuale assunzione di integratori vitaminico-minerali (specificando il nome del prodotto e il dosaggio).

Al tempo T0 (inizio dieta) e T12 (fine dieta) sono stati inoltre rilevati i seguenti **parametri ematochimici**: emocromo, VES, PCR, albumina, urea, creatinina, glicemia, ALT, AST, profilo lipidico, ferritina, livelli sierici di selenio, zinco, vitamina A, E, C, D e calprotectina fecale.

Sono stati quantificati i seguenti **parametri indicativi di stress ossidativo**: ROS, capacità antiossidante totale espressa come **ORAC** (Oxygen Radical Absorbance Capacity) (dati non riportati) e **FRAP** (Ferric iron Reducing Antioxidant Power); sostanze reattive-all'acido tiobarbiturico (**TBARS**) come marker di perossidazione lipidica; prodotti di ossidazione avanzata delle proteine (**AOPP**).

Sono stati inoltre misurati i livelli e le attività enzimatiche degli enzimi antiossidanti (GST, SOD, GPX e GR), livelli di glutatione ridotto (GSH) e di glutatione ossidato (GSSG) e rapporto GSH/GSSG (dati non riportati).

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico della Regione Marche (CERM), Italia, 30 maggio 2019, protocollo n. 2019/174 e condotto in conformità con la Dichiarazione di Helsinki del 1975, come rivista nel 1983.

### **Determinazioni analitiche**

I campioni di plasma, ottenuti da centrifugazione del prelievo venoso in eparina, sono stati conservati a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  fino al momento dell'esame. Le cellule mononucleate da sangue periferico (PBMCs) sono state isolate per centrifugazione su gradiente di densità con sistema Leucosept<sup>TM</sup> e conservate a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  fino al momento dell'analisi.

### Capacità ferro-riducente del plasma (ferric ion reducing antioxidant capacity, FRAP)

Rappresenta la misura della capacità dei composti antiossidanti del plasma ridurre il  $\text{Fe}^{3+}$  (ferrico) a  $\text{Fe}^{2+}$  (ferroso). Il complesso ridotto è colorato di blu intenso e la reazione può essere monitorata allo spettrofotometro con  $\lambda=593$

nm. La curva di calibrazione viene costruita utilizzando una soluzione 2.0 mM di FeSO<sub>4</sub> a concentrazioni standard fino a 1.0 mM. Tutte le misurazioni sono state condotte in duplicato e le repliche tecniche sono state calcolate come media prima dell'analisi statistica.

#### Sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS)

I livelli plasmatici delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS) sono stati misurati utilizzando un ELISA TBARS Assay Kit (Cayman Chemical, USA), secondo le istruzioni fornite dal produttore. Tutte le misurazioni sono state condotte in duplicato e le repliche tecniche sono state calcolate come media prima dell'analisi statistica.

#### Prodotti di ossidazione avanzata delle proteine (AOPP)

La determinazione dei prodotti ossidati delle proteine (AOPP) è stata eseguita secondo la metodica descritta da Witko-Sarsat *et al.* [66]; brevemente, campioni di plasma diluiti 1:5 sono stati aggiunti a 50 µL KI 1,16 M e 100 µL CH<sub>3</sub>COOH. L'assorbanza del mix di reazione è stata letta immediatamente a 340 nm usando Chloramine-T (Sigma-Aldrich, Italy) come standard per la curva di calibrazione. I valori di AOPP sono calcolati in base alla

concentrazione delle proteine plasmatiche ed espressi in  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  di proteine. Tutte le misurazioni sono state condotte in duplicato e le repliche tecniche sono state calcolate come media prima dell'analisi statistica.

### Proteine plasmatiche

Il dosaggio delle proteine plasmatiche è stato eseguito secondo il metodo colorimetrico descritto da Bradford [67], utilizzando il Bio-Rad Protein Assay Dye Reagent (Bio-Rad, USA).

Altri indici di laboratorio, come emocromo, formula leucocitaria, conta piastrinica (PLT), velocità di eritrosedimentazione (VES), proteina C-reattiva (PCR), aminotransferasi (ALT-AST), calprotectina fecale (FC), glicemia, profilo lipidico etc., sono stati valutati con procedure automatiche di routine.

### **QUESTIONARIO IMPACT III**

Ai soggetti arruolati è stato somministrato al tempo T0 (inizio trattamento), T3 (dopo 6 settimane di trattamento) e T12 (fine trattamento) un questionario strutturato sulla qualità della vita (HR-QoL), appositamente formulato per

bambini e ragazzi con malattia infiammatoria cronica intestinale (IMPACT III, versione in italiano). Il questionario si compone di 35 domande totali riferite a 5 diversi topics: sintomi, intestinali e sistemici, percezione della malattia, ripercussioni sulla sfera sociale, percezione della immagine corporea e stato emotivo. Le risposte sono valutate utilizzando una scala di tipo Likert con cinque risposte. Punteggi più elevati (massimo = 100) indicano una buona QoL, i punteggi più bassi indicano che la malattia ha influenzato negativamente la QoL del paziente.

## **Statistica**

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software GraphPad 8.0.2 per Windows. I dati sono espressi come valori di mediana  $\pm$  scarto interquartile (IQR) o media  $\pm$  deviazione standard (SD). I test parametrici (ANOVA) e non parametrici (Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Wilcoxon) per dati appaiati sono stati applicati per confrontare i diversi gruppi di variabili normalmente o non normalmente distribuiti. Valori di  $p < 0.05$  sono considerati statisticamente significativi.

## Capitolo 4

### RISULTATI

Tra i soggetti afferenti all'ambulatorio di Gastroenterologia pediatrica della Clinica di Pediatria per il follow-up delle malattie infiammatorie intestinali, sono stati arruolati 20 soggetti con diagnosi di IBD e in fase di remissione di malattia, di età compresa tra 6 e 17 anni; essi venivano assegnati a seguire 3 diversi trattamenti nutrizionali della durata di 12 settimane (dieta antiossidante/antinfiammatoria (OD), dieta mediterranea (MD) e dieta libera (FD)).

Le Tabelle 6a e 6b riportano le caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione al momento dell'arruolamento (T0).

**Tabella 6a**

IBD children (20)	
Età (mediana, IQR)	13.5 (5)
Maschi (%)	10 (50%)
Malnutrizione (%)	1 (5%)
Obesità (%)	1 (5%)
CD (n, %)	14 (70%)
UC (n,%)	6 (30%)
Durata di malattia anni (median, IQR)	0.8 (0,45)
Attività di malattia	
Remissione (n,%)	19 (95%)
Lieve (n,%)	1 (5%)
Calprotectina fecale >250 mg/Kg	3 (15%)
Terapia:	
ASA (n,%)	5 (25%)
Immunosoppressivi (n,%)	10 (50%)
Corticosteroidi (n,%)	0 (0%)
Farmaci biologici (n,%)	16 (80%)
Terapia con probiotici (n,%)	0 (0%)
Supplementazioni vitamine/minerali (n,%)	4 (20%)
Vitamina D	3 (15%)
Chirurgia (n,%)	0 (0%)
Manifestazioni extraintestinali (n,%)	4 (20%)

**Tabella 6b**

Demographical and clinical features of IBD subjects	OD (N= 9)	MD (N= 7)	FD (N=4)
Age (median, IQR)	14.2 (3.2)	14.2 (3.0)	16.5 (2.1)
Male n (%)	3 (33.3)	4 (51.7%)	3 (75%)
CROHN'S DISEASE (n, %)	6 (66.6)	5 (71.4)	3 (75)
ULCERATIVE COLITIS (n,%)	3 (33.3)	2 (28.6)	1 (25)

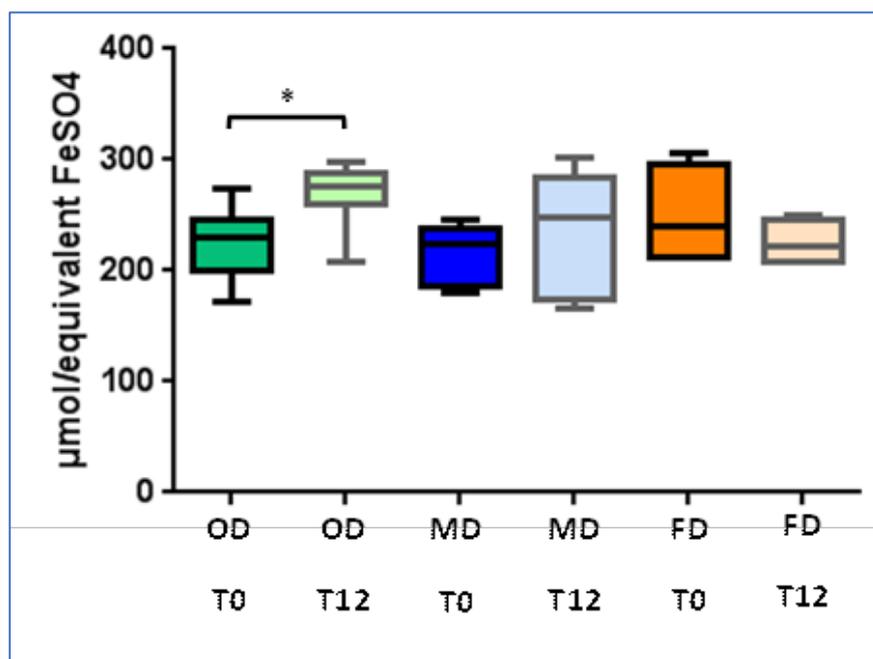
I biomarkers di stress ossidativo (FRAP, AOPP, TBARS) sono stati misurati al momento dell'arruolamento (T0= prima di iniziare il trattamento dietetico assegnato) e al termine delle 12 settimane di trattamento dietetico (T12, fine dieta), come riportato in tabella (Tabella 7).

FRAP (median, IQR)				AOPP (median, IQR)				TBARS (median, IQR)				
	T0	T12	p value	Δ%	T0	T12	p value	Δ%	T0	T12	p value	Δ%
<b>OD</b>	229 (45)	275 (29.5)	<b>0.015</b>	<b>+20</b>	5.9 (1.1)	4.7 (1.2)	<b>0.043</b>	<b>-20</b>	8.1 (1.4)	6.7 (1.2)	<b>&lt; 0.0001</b>	<b>-17</b>
<b>MD</b>	224 (51)	248 (110)	0.112	<b>+11</b>	5.4 (1.8)	4.1 (1.3)	<b>0.038</b>	<b>-24</b>	8.5 (2.9)	7.3 (2.4)	<b>0.002</b>	<b>-14</b>
<b>FD</b>	229 (45)	222 (38)	0.337	<b>-2</b>	4.0 (1.0)	4.2 (0.7)	0.278	<b>+5</b>	9.0 (1.6)	8.8 (1.0)	0.633	<b>-2</b>

**Tabella 7:** Valori plasmatici dei biomarcatori di danno ossidativo e capacità antiossidante nei gruppi di studio (FRAP: *mcmol/eq FeSO4*, AOPP: *mcmol/plasma proteins*, TBARS: *mcmol/l MDA*)

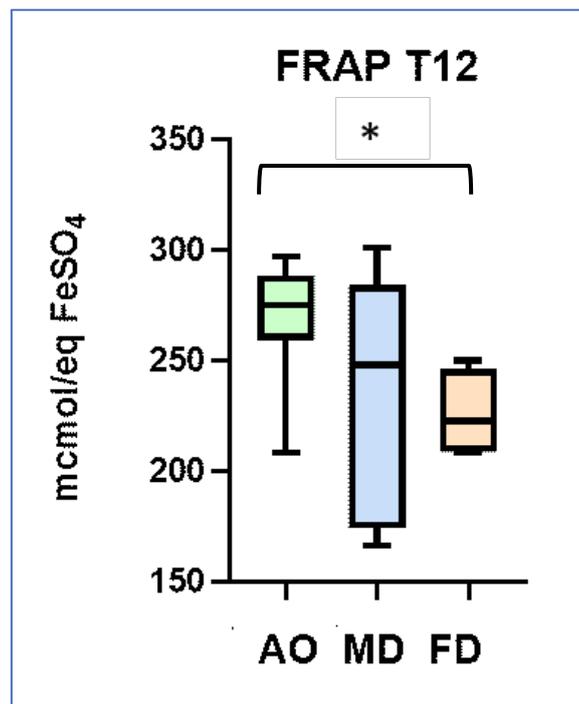
### ***Capacità ferro-riducente plasmatica (FRAP)***

La capacità ferro-riducente plasmatica (FRAP) risulta significativamente aumentata nei soggetti sottoposti a dieta antiossidante (OD) al termine del trattamento dietetico, rispetto ai valori basali, con un incremento del +20%; lo stesso trend si osserva anche nel gruppo MD (mediana 224 vs 248  $\mu\text{mol/equiv}$   $\text{FeSO}_4$ ), anche se il dato non è statisticamente significativo ( $p=0.112$ ), e con un minore incremento percentuale rispetto al gruppo OD (+11%). Nessuna variazione significativa si evidenzia nel gruppo a dieta libera (Figura 11).



***Figura 11*** - Valori di FRAP longitudinali (T0 -T12) nei gruppi di studio

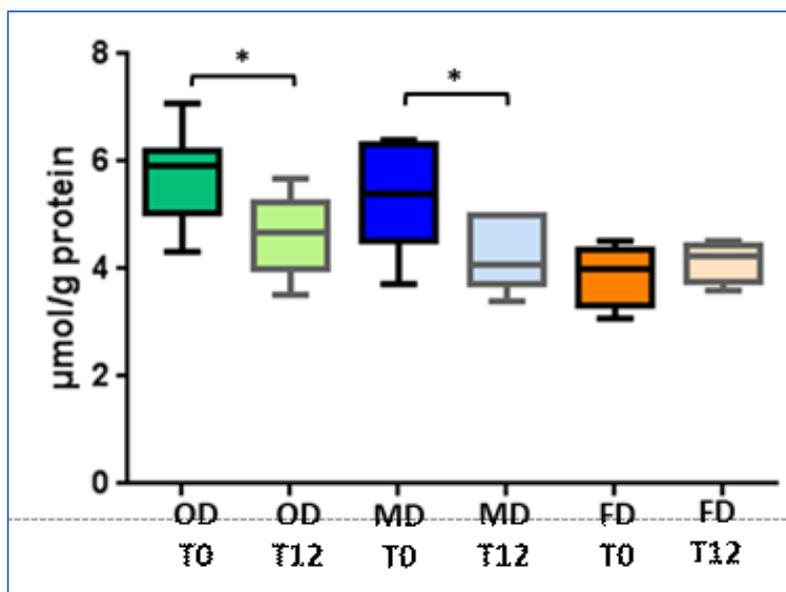
Come riportato in Figura 11, Tabella 8, i valori di FRAP al tempo T0 sono simili per i 3 gruppi di studio, mentre al T12 emerge una significatività statistica tra i gruppi OD e FD ( $p=0.020$ ) (tabella 9, figura 12).



**Figura 12** - Valori di FRAP nei 3 gruppi di studio al termine del trattamento nutrizionale

### ***Prodotti di ossidazione proteica avanzata (AOPP)***

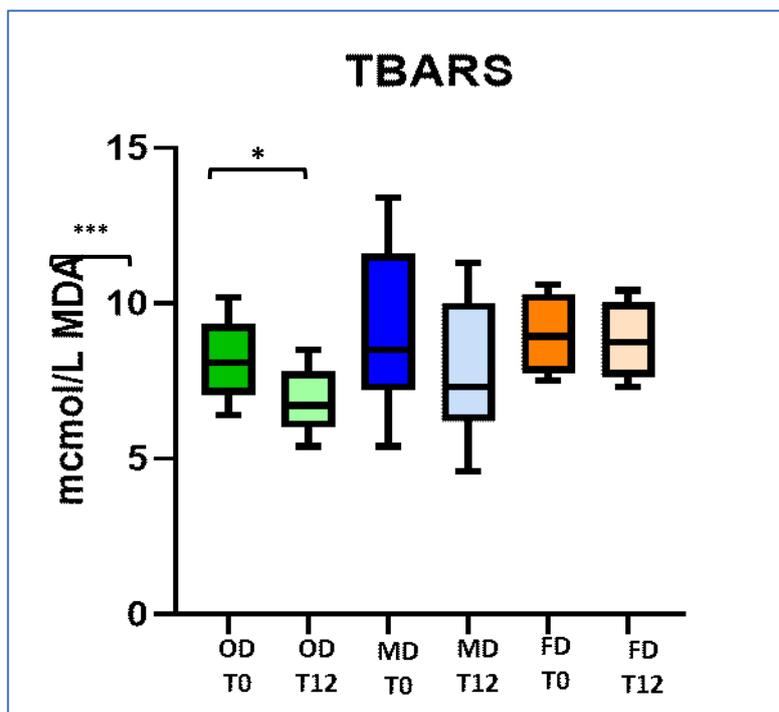
All'analisi longitudinale T12>>T0, i prodotti di ossidazione proteica avanzata (AOPP) risultano minori al termine del trattamento dietetico sia nel gruppo OD che nel gruppo MD, con un decremento rispettivamente di -20% e -24%, e con una buona significatività statistica (gruppo OD,  $p=0.042$ ; gruppo MD,  $p=0.038$ ). Nessuna variazione si evidenzia per il gruppo a dieta libera (Figura 13, Tabella 10)



**Figura 13** - Valori di AOPP longitudinali (T0 -T12) nei gruppi di studio

### *Perossidazione lipidica (TBARs)*

Le sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico (TBARs) mostrano differenze significative alla fine del trattamento dietetico nei gruppi OD e MD, con valori statisticamente significativi rispettivamente  $p < 0.0001$  e  $p = 0.002$ , con un decremento simile nei due gruppi mentre si sono mantenuti inalterati nel gruppo a dieta libera ( $p = 0.633$ ,  $\Delta = -2\%$ ) (Tabella 11, Figura 14).



*Figura 14* - Valori di TBARs longitudinali (T0 -T12) nei gruppi di studio

## Vitamine e minerali

La Tabella sotto (Tabella 12) riporta le percentuali di incremento/riduzione longitudinali (T0 >> T12) nei valori sierici di alcune vitamine e minerali ad azione antiossidante (vit. A, C, E) e antinfiammatoria (vit. D, zinco), rispetto ai 3 gruppi di studio.

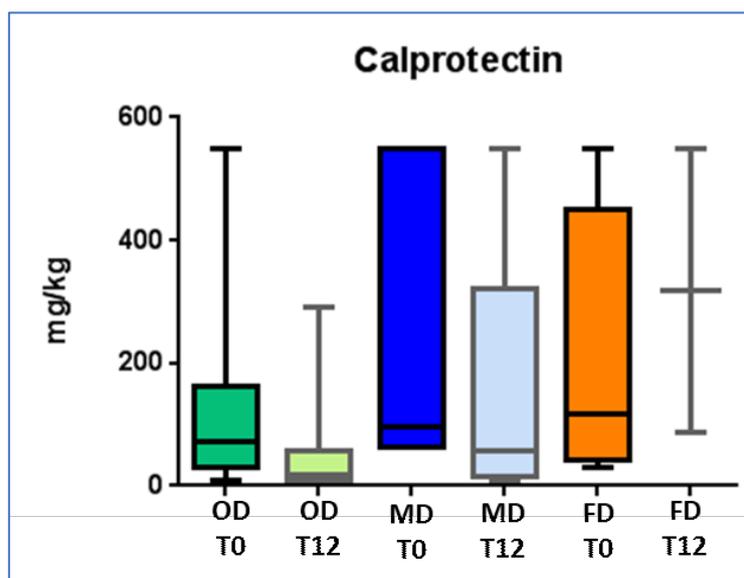
	Zinco	Vit A	Vit E	Vit C	Vit D	p value (T0-T12)
OD	+102%	+31%	-1%	+34%	+26%	ns
MD	-5%	+17%	-2%	-29%	0%	ns
FD	-14%	-22%	0.4%	+68%	-21%	ns

**Tabella 12:** valori longitudinali ( $\Delta\%$ T0-T12) di vitamine e minerali

Si può notare un incremento di zinco, Vit. A, Vit. E, Vit. C e Vit. D nel gruppo OD e una diminuzione di tali parametri nel gruppo MD, ad eccezione della Vit. A e Vit. D che mostrano un trend in aumento in entrambi i gruppi. Nessuna significatività emerge tra T0 e T12 nei tre gruppi.

### Marcatori circolanti dello stato infiammatorio

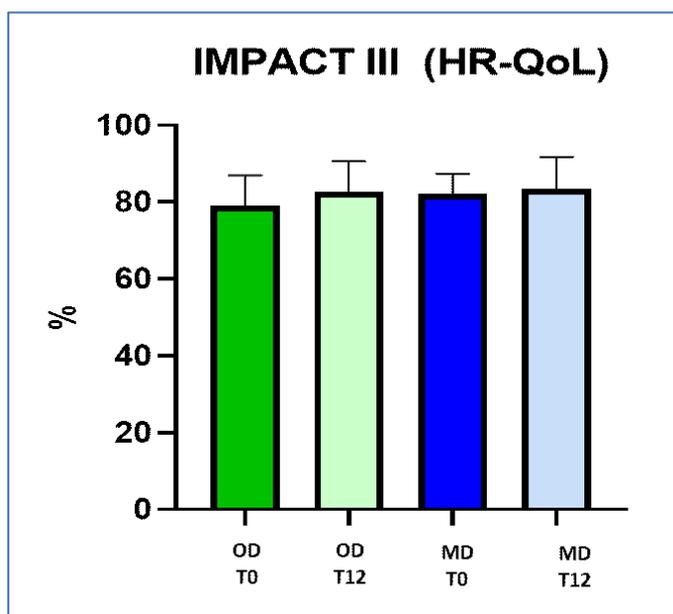
Infine, tra i biomarkers circolanti di infiammazione (velocità di eritrosedimentazione VES, proteina C-reattiva PCR) non sono stati rilevati cambiamenti durante le 12 settimane di trattamento nei tre gruppi, tranne che per la **calprotectina fecale (FC)** che diminuisce notevolmente al T12 sia nel gruppo OD (-55%) che MD (-34%), anche se il dato non assume significatività statistica, mentre nel gruppo non trattato si osserva un incremento del 56% (Figura 15, Tabella 13)



**Figura 15** - Valori longitudinali (T0 -T12) della calprotectina nei gruppi di studio

### Questionario IMPACT III

I dati relativi al questionario IMPACT III somministrati ai gruppi OD (antiossidante) e MD (mediterranea) non mostrano differenze nello score totale tra l'inizio e la fine del trattamento dietetico (Figura16, Tabella 14).



**Figura 16** - Questionario IMPACT III ai tempi T0 e T12 nei gruppi di studio OD e MD

## Capitolo quinto

### DISCUSSIONE

Nel corso degli ultimi anni, si è assistito ad una rilevante diffusione delle malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD), che ha portato a sviluppare numerose strategie di intervento al fine di migliorare la qualità e le prospettive di vita dei pazienti che ne sono affetti; l'insorgenza in giovane età, la severità, il decorso cronico, le limitazioni nella vita quotidiana, sono caratteristiche comuni della Malattia di Crohn (CD) e della Colite Ulcerosa (UC), che si cerca di contrastare con strategie terapeutiche diverse, favorendo precocemente la remissione e mantenendo quanto più possibile la condizione libera da malattia.

La terapia dietetica che influisce attraverso meccanismi eziopatogenetici diversi (esposizione lumenale dell'intestino, composizione del microbioma, attivazione del sistema immunitario), ha il potenziale per essere utilizzata come terapia primaria o adiuvante ai farmaci, allo scopo di migliorare la prognosi e ridurre al minimo le complicanze a breve e a lungo termine delle IBD.

Questo studio prospettico interventistico vuole valutare, in un gruppo di soggetti affetti da malattia infiammatoria intestinale, l'efficacia di un intervento dietetico ad elevato contenuto in antiossidanti (OD), rispetto a regimi dietetici normalmente consigliati come quello di tipo mediterraneo (MD), in termini di riduzione dello stress ossidativo, dei parametri di infiammazione intestinale e

sistemica e del miglioramento della qualità della vita; tutti aspetti che concorrono a ridurre la frequenza e l'entità delle recidive.

Dopo 12 settimane di trattamento, i pazienti trattati con dieta antiossidante (OD, polifenoli 3400 mg/die, indice ORAC 10.850 mcmmol/die) e dieta mediterranea (MD, polifenoli 320 mg/die, indice ORAC 2290 mcmmol/die), mostrano un aumento della capacità antiossidante totale, espressa come capacità ferro-riducente plasmatica (FRAP), rispettivamente del 20% e dell'11%, mentre tale parametro non varia nel gruppo che non seguiva alcun trattamento nutrizionale specifico, ma si atteneva soltanto alla esclusione di cibi fortemente sconsigliati per la patologia; in particolare, FRAP risultava significativo, tra T12 e T0, nel gruppo OD ma non nel gruppo MD. Emerge inoltre una significatività statistica al termine del trattamento (T12), tra i gruppi OD e FD, mentre non si osservano significative differenze tra i gruppi OD e MD.

Parallelamente all'aumento della FRAP si osserva nei gruppi OD e MD una diminuzione significativa tra T12 e T0 dei prodotti dell'ossidazione sia proteica (AOPP) (-20%,  $p=0.042$  per il gruppo OD; -24%,  $p=0.038$  per il gruppo MD) che lipidica (TBARs) (-17%,  $p<0.0001$  per il gruppo OD; -14%,  $p=0.002$  per il gruppo MD), mentre anche in questo caso il gruppo a dieta libera mantiene gli stessi valori a 12 settimane (-2%,  $p=0.633$ ), rispetto al T0.

Come riportato dalla letteratura, i pazienti IBD in fase attiva di malattia mostrano livelli circolanti più elevati di AOPP e TBARS, rispetto a pazienti in remissione e a controlli sani; ci sono chiare evidenze sia *in vitro* che *in vivo* del fatto che tali molecole, prodotte dalle reazioni di stress ossidativo, inducono alterazioni funzionali delle cellule epiteliali intestinali, aumentano la secrezione di citochine pro-infiammatorie e perpetuano la condizione di stress ossidativo, aggravando ulteriormente lo stato infiammatorio e l'integrità morfo-funzionale della mucosa intestinale [68]. Nelle IBD l'aderenza al regime alimentare di tipo mediterraneo, ricco in sostanze antiossidanti provenienti da fonti diverse, si è dimostrata capace di regolare lo stato infiammatorio persistente [69] e il danno intestinale, nonché correggere la malnutrizione, il ritardo di crescita nei pazienti pediatrici e ristabilire i principali outcome di salute. I dati ottenuti in questo studio supporterebbero l'ipotesi che un regime alimentare sviluppato sui principi della MD ma caratterizzato da un più elevato contenuto di antiossidanti, sia capace di amplificare i benefici già ben noti associati alla dieta mediterranea, riducendo lo squilibrio redox su due fronti, cioè l'aumento della capacità antiossidante totale e la diminuzione dei prodotti di ossidazione lipidica e proteica.

Un altro dato interessante che emerge dal presente studio riguarda la riduzione al T12 del principale marker di infiammazione intestinale, la calprotectina

fecale (FC), che si osserva nei pazienti OD e MD, mentre si osserva un aumento nei valori nel gruppo non trattato. Il dato, anche se non assume valore statisticamente significativo, probabilmente a causa della bassa numerosità campionaria, ha un rilevante significato prognostico. Il valore della FC è infatti tanto più elevato quanto più grave è l'infiammazione della mucosa intestinale e valori superiori a 100 mg/kg sono predittivi di elevato rischio di recidiva in pazienti IBD in fase di remissione [70].

Come emerge dai risultati, entrambi i trattamenti nutrizionali favoriscono una riduzione dei valori di FC, più marcata per la dieta OD (-55%) rispetto a MD (-34%); un trend opposto invece si osserva nel gruppo a dieta libera (+56%). Tale dato conferma l'outcome positivo del regime mediterraneo, come riportato anche da un recente studio di El Amrousy *et al.* [53] e fa ben sperare in una potenzialità maggiore della dieta antiossidante.

Gli effetti protettivi della MD sull'IBD sarebbero attribuibili al consumo di alimenti tipici di questo regime alimentare, in particolare frutta, verdura, pesce, olio di oliva, vino, etc e, in particolare, a componenti nutrizionali come i polifenoli, gli acidi grassi polinsaturi n-3 contenuti in elevate quantità in tali alimenti. La dieta antiossidante proposta in questo studio è sostanzialmente una dieta di tipo mediterraneo che apporta, attraverso delle integrazioni con

particolari alimenti e/o bevande, una quantità di polifenoli circa 10 volte più elevata della MD.

Studi condotti in vitro hanno dimostrato la capacità dei polifenoli di smorzare l'attivazione infiammatoria dei monociti e il rilascio di fattori umorali, come gli enzimi che degradano la matrice (MMPs) ed enzimi infiammatori (COX-2), citochine (TNF, IL-1 $\beta$ ) e chemochine (CCL2, M-CSF, CXCL-10) [71]. Gli effetti antinfiammatori sono documentati in letteratura per alcuni polifenoli e derivati come acido caffeico, estere fenilico e acido ferulico, un possibile precursore di HFER, che inibisce i livelli di proteina-2 infiammatoria macrofagica (MIP-2) e TNF- $\alpha$  nei macrofagi stimolati con LPS [65]. Da queste considerazioni possiamo dedurre che una terapia basata su un elevato contenuto di polifenoli possa garantire benefici per lo stato di salute dei pazienti IBD, visto l'impatto antinfiammatorio e immunomodulante di tali composti, e che sia in grado di mantenere la remissione e migliorare i sintomi anche mediante un meccanismo sinergico, con effetti positivi sulla integrità e funzione della barriera intestinale. Infatti, per quanto riguarda gli studi sull'uomo, la letteratura recente suggerisce che i polifenoli possono modulare la funzione della barriera intestinale attraverso un'ampia gamma di effetti diretti e indiretti, compreso l'impatto sull'ecosistema intestinale e sul sistema immunitario [70].

Infine, dai dati relativi al questionario sulla qualità della vita (HR-QoL), specifico per i pazienti IBD pediatrici (IMPACT III), non emergono sostanziali differenze nello score totale tra l'inizio e la fine del trattamento dietetico nei diversi gruppi trattati. I punteggi risultano abbastanza elevati (intorno a 80), sia al T0 che al T12, dimostrando comunque una buona qualità di vita in questi pazienti in remissione o fase lieve di malattia, che sembrano non mostrare forti ripercussioni negative, soprattutto riguardo alla sfera sociale ed emotiva.

Questo dato emerge anche dallo studio di Jones *et al.* (2019) [72], condotto in giovani con diagnosi di IBD lieve o con malattia in fase di remissione, in cui la qualità della vita, la sfera sociale e psicologica, seppur a livelli inferiori rispetto a soggetti sani, non risultano tanto compromessi quanto invece lo sono per i malati cronici.

## CONCLUSIONI

I risultati preliminari di questo studio mostrano un impatto significativo della dieta ad elevato contenuto in antiossidanti sul miglioramento del bilancio ossidativo e della infiammazione intestinale in pazienti IBD pediatrici in fase di remissione e/o di malattia lieve.

Anche se allo stato attuale non emerge una netta superiorità della dieta antiossidante rispetto alla dieta mediterranea, ampiamente utilizzata nelle fasi di remissione delle IBD, l'approccio nutrizionale antiossidante può essere ritenuto un valido strumento nella gestione dietetica dei bambini con IBD da far conoscere ed applicare con successo attraverso programmi di educazione nutrizionale dedicata.

Per confermare questi dati preliminari e comprendere ulteriormente gli effetti della dieta antiossidante sulla relazione dieta-salute nelle IBD sono certamente necessari ulteriori studi su una casistica più ampia e per un periodo più lungo di trattamento, che focalizzino l'attenzione su altri markers o dati endoscopici/istologici al fine di monitorare più specificatamente gli outcome clinici.

Di grande interesse infine sarebbe inoltre approfondire il ruolo bioattivo dei polifenoli e il loro effetto gastro-protettivo nei disturbi cronici che coinvolgono l'apparato gastrointestinale.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Halpin SJ, Ford AC. Prevalence of symptoms meeting criteria for irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012;107(10):1474-82.
- [2] Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annual Review of Immunology*, 2010; vol. 28.
- [3] Halme L, Paavola-Sakki P, Turunen U et al. Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 2006;12(23):3668-72.
- [4] Fuller MK. Pediatric Inflammatory Bowel Disease: Special Considerations. *Surg Clin North Am*. 2019;99(6):1177-83.
- [5] Burisch J, Jess T, Martinato M, et al. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis*. 2013;7(4):322-37.
- [6] Shouval DS, Rufo PA, et al. The role of environmental factors in the pathogenesis of inflammatory bowel disease: a review. *JAMA Pediatr* 2017;171(10):999-1005.
- [7] Kuenzig ME, Fung SG, Marderfeld L et al. Twenty-first Century Trends in the Global Epidemiology of Pediatric-Onset Inflammatory Bowel Disease. *Systematic Review. Gastroenterology* 2022;162(4):1147-59.e4
- [8] Sýkora J, Pomahačová R, Kreslová M et al. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2018;24(25):2741-63
- [9] Mehta M, Ahmed S, Dryden G. Immunopathophysiology of inflammatory bowel disease: how genetics link barrier dysfunction and innate immunity to inflammation,. *Innate Immunity*. 2017;23:497-505.
- [10] Liu TC, Stappenbeck TS. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annual Review of Pathology* 2016;11:127-48.
- [11] Bernstein CN. Changes in the epidemiology of inflammatory bowel disease-clues for aetiology. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;46: 911–19.
- [12] Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S et al. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev*. 2014;94:329-54.
- [13] Federico A, Morgillo F, Tuccillo C et al. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer*. 2007;121:2381-86
- [14] Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*. 2015;4:180-83.

- [15] Moura FA, Queiroz de Andrade K, Farias dos J.C, et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? *Redox Biol.* 2015;6:617-639.
- [16] Tamburini B, La Manna MP, La Barbera L, et al. Immunity and Nutrition: The Right Balance in Inflammatory Bowel Disease. *Cells.* 2022;11,455:28.
- [17] Lewis JD, Abreu MT. Diet as a Trigger or Therapy for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology.* 2017;152:398–414.e6.
- [18] Galvez J, Rodriguez-Cabezas ME, Zarzuelo A. Effects of dietary fiber on inflammatory bowel disease. *Mol Nutr Food Res.* 2005;49:601-08.
- [19] Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem Soc Trans* 2005;33:423–427.
- [20] John S, Luben R, Shrestha SS, et al.. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and the aetiology of ulcerative colitis: a UK prospective cohort study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010;22:602-6.
- [21] Comeche JM, Gutierrez-Hervás A, Tuells J, et al.; Predefined Diets in Patients with Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2020; 13(1):52.
- [22] Roncoroni L, Gori R, Elli L, et al. Nutrition in Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Narrative Review. *Nutrients* 2022;14(4):751.
- [23] Einav L, Hirsch A, Ron Y, et al. Risk Factors for Malnutrition among IBD Patients. *Nutrients.* 2021;13(11):4098.
- [24] Kikut J, Skonieczna-Zydecka K, Sochaczewska D, et al. Differences in Dietary Patterns of Adolescent Patients with IBD. *Nutrients.* 2021;13(9):3119.
- [25] Strisciuglio C, Cenni S, Serra MR, et al. Effectiveness of Mediterranean Diet's Adherence in Children with Inflammatory Bowel Diseases. *Nutrients.* 2020;12(10):3206.
- [26] Thangarajah D, Hyde MJ, Konteti VKS, et al. Systematic review: Body composition in children with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42:142–157.
- [27] Houttu N, Kalliomäki M, Grönlund M-M. Body composition in children with chronic inflammatory diseases: A systematic review. *Clin Nutr.* 2020;39:2647–2662.
- [28] Yerushalmy-Feler A, Galai T, Moran-Lev H, Ben-Tov A. BMI in the lower and upper quartiles at diagnosis and at 1-year follow-up is significantly associated with higher risk of disease exacerbation in pediatric inflammatory bowel disease. *Eur J Pediatr.* 2021;180:21–29.
- [29] Miele E, Shamir R, Aloï M, et al. Nutrition in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Position Paper on Behalf of the Porto Inflammatory Bowel Disease Group of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66:687–708.

- [30] Heuschkel RB, Menache CC, Megerian JT. Enteral nutrition and corticosteroids in the treatment of acute Crohn's disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;31:8–15.
- [31] Dziechciarz P, Horvath A, Shamir R, et al. Meta-analysis: enteral nutrition in active Crohn's disease in children. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;26:795–806.
- [32] Lee D, Baldassano RN, Otley AR et al. Comparative Effectiveness of Nutritional and Biological Therapy in North American Children with Active Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2015;21:1786–1793.
- [33] Gerasimidis K, Talwar D, Duncan A, et al. Impact of exclusive enteral nutrition on body composition and circulating micronutrients in plasma and erythrocytes of children with active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18:1672–1681.
- [34] de Sire R, Nardone OM, Testa A, et al. Exclusive Enteral Nutrition in Adult Crohn's Disease: an Overview of Clinical Practice and Perceived Barriers. *Clin Exp Gastroenterol.* 2021; 14: 493–501.
- [35] Zachos M, Tondeur M, Griffiths AM. Enteral nutritional therapy for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;1:CD000542.
- [36] Swaminath A, Feathers A, Ananthakrishnan A, et al. Systematic review with meta-analysis: Enteral nutrition therapy for the induction of remission in paediatric Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;46:645–656.
- [37] De Bie C, Kindermann A, Escher J. Use of exclusive enteral nutrition in paediatric Crohn's disease in The Netherlands. *J Crohn's Colitis.* 2013;7:263–270.
- [38] Ruemmele F, Veres G, Kolho K, et al. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J Crohn's Colitis.* 2014;8:1179–1207.
- [39] Richman E, Rhodes JM. Evidence-based dietary advice for patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38:1156–1171.
- [40] Sigall-Boneh R, Pfeffer-Gik T, Segal I, et al. Partial enteral nutrition with a Crohn's disease exclusion diet is effective for induction of remission in children and young adults with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20:1353–1360.
- [41] Lammers KM, Lu R, Brownley J, et al. Gliadin Induces an Increase in Intestinal Permeability and Zonulin Release by Binding to the Chemokine Receptor CXCR3. *Gastroenterology.* 2008;135:194–204.e3.
- [42] Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol.* 2006;41:408–419.
- [43] Gibson PR, Shepherd SJ. Personal view: food for thought—western lifestyle and susceptibility to Crohn's disease. FODMAP hypothesis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;21(12):1399–409.

- [44] Barrett JS, Gearry RB, Muir JG, et al. Dietary poorly absorbed, short-chain carbohydrates increase delivery of water and fermentable substrates to the proximal colon. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31(8):874–82.
- [45] Ong DK, Mitchell SB, Barrett JS, et al. Manipulation of dietary short chain carbohydrates alters the pattern of gas production and genesis of symptoms in irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010;25(8):1366– 73.
- [46] Colombel JF, Shin A, Gibson PR. AGA Clinical Practice update on functional gastrointestinal symptoms in patients with inflammatory bowel disease: expert review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(3):380–90 e1.
- [47] Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *N Engl J Med.* 2018;378(25):e34.
- [48] Willett WC, Sacks F, Trichopoulos A, et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* 1995;61(6 Suppl):1402S–6S.
- [49] Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, et al. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *Am J Med.* 2015;128(3):229–38.
- [50] Papada E, Amerikanou C, Forbes A, Kaliora AC; Adherence to Mediterranean diet in Crohn’s disease. *Eur J Nutr.* 2020;59(3):1115-1121.
- [51] Donovan MG, Selmin OI, Doetschman TC, Romagnolo DF. Mediterranean diet, inflammatory bowel diseases, and colon cancer. In: Romagnolo DF, Selmin OI, eds. *Mediterranean Diet: Dietary Guidelines and Impact on Health and Disease.* Springer International Publishing; 2016:181-201.
- [52] Khalili H, Håkansson N, Chan SS, et al. Adherence to a Mediterranean diet is associated with a lower risk of later-onset Crohn’s disease: results from two large prospective cohort studies. *Gut.* 2020;69(9):1637-1644.
- [53] El Amrousy D, Elashry H, Salamah A, et al. Adherence to the Mediterranean Diet Improved Clinical Scores and Inflammatory Markers in Children with Active Inflammatory Bowel Disease: A Randomized Trial. *J Inflamm Res.* 2022;29(15):2075-86.
- [54] Sears B, Lawren B; *The Zone: A dietary road map.* 1st ed. Regan Book: New York, NY; 1995.
- [55] Ricker MA, Haas WC. Anti-inflammatory diet in clinical practice: a review. *Nutr Clin Pract.* 2017;32(3):318–25.
- [56] Olendzki BC, Silverstein TD, Persuitte GM, et al. An anti-inflammatory diet as treatment for inflammatory bowel disease: A case series report. *Nutr J.* 2014;13:1–7.
- [57] Rudrapal M, Khairnar SJ, Khan J, et al. Dietary polyphenols and their role in oxidative stress-induced human diseases: insights into protective effects, antioxidant potentials and mechanism(s) of action. *Front Pharmacol.* 2022;13:806470.

- [58] Brglez Mojzer E, Knez Hrnčić M, Skerget M, et al. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*. 2016;21:901.
- [59] Mattera R, Benvenuto M, Giganti MG, et al. Effects of Polyphenols on Oxidative Stress-Mediated Injury in Cardiomyocytes. *Nutrients*. 2017;9:523.
- [60] Biasi F, Astegiano M, Maina M, et al. Polyphenol supplementation as a complementary medicinal approach to treating inflammatory bowel disease. *Curr Med Chem*. 2011;18:4851–4865.
- [61] Li H, Christman LM, Li R, Gu L. Synergic interactions between polyphenols and gut microbiota in mitigating inflammatory bowel diseases. *Food Funct*. 2020;11:4878–91.
- [62] Nunes S, Danesi F, Del Rio D, Silva P. Resveratrol and inflammatory bowel disease: the evidence so far. *Nutr Res Rev*. 2018;31:85–97.
- [63] Kaulmann A, Bohn T. Bioactivity of polyphenols: preventive and adjuvant strategies toward reducing inflammatory bowel diseases-promises, perspectives, and pitfalls. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:9346470.
- [64] Mijan MA, Lim BO. Diets, functional foods, and nutraceuticals as alternative therapies for inflammatory bowel disease: Present status and future trends. *World J Gastroenterol*. 2018;24:2673–85.
- [65] Larrosa M, Luceri C, Vivoli E, et al. Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. *Mol Nutr Food Res*. 2009;53:1044–54.
- [66] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capelliere-Blandin C et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int*. 1996;49:1304-13.
- [67] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;7(72):248-54.
- [68] Luceri C, Bigagli E, Agostiniani S, et al. Analysis of Oxidative Stress-Related Markers in Crohn's Disease Patients at Surgery and Correlations with Clinical Findings. *Antioxidants*. 2019;8(9):378.
- [69] Estruch R. Antinflammatory effects of the Mediterranean diet:the experience of the PREDIMED study. *Proc Nutr Soc*. 2010; 69:333-40
- [70] Molander P, Färkkilä M, Ristimäki A. Does fecal calprotectin predict short-term relapse after stopping TNF $\alpha$ -blocking agents in inflammatory bowel disease patients in deep remission? *J Crohns Colitis*. 2015;9(1):33-40.
- [71] Calabriso N, Scoditti E, Massaro M, et al. Non-Celiac Gluten Sensitivity and Protective Role of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2022;14:2679.

[72] Jones JL, Nguyen GC, Benchimol EI, et al. The Impact of Inflammatory Bowel Disease in Canada 2018: Quality of Life. *J Can Ass Gastroenterol*. 2019;2(S1), S42–S48.