



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

**Efficacia di un trattamento dietetico
antiossidante nelle IBD pediatriche**

Relatore:
Chiar.mo Prof. Carlo Catassi

Tesi di Laurea di:
Tommaso Gasparini

Correlatore:
Chiar.ma Prof.ssa Simona Gatti

A.A. 2022/2023

INDICE

1. ABSTRACT	3
1.1. Introduzione	3
1.2. Materiali e metodi.....	3
1.3. Risultati.....	3
1.4. Conclusione	4
2. INTRODUZIONE	4
2.1. Le malattie infiammatorie croniche intestinali	4
2.1.1. Epidemiologia.....	5
2.1.2. Eziopatogenesi	6
2.1.3. Diagnosi.....	9
2.1.4. Classificazione di Montreal e di Paris	11
2.1.5. Indici di attività di malattia.....	12
2.1.6. Terapia.....	15
2.2. Lo stress ossidativo.....	18
2.2.1. Fisiopatologia.....	19
2.3. Lo stress ossidativo nelle IBD	21
2.3.1. Fisiopatologia.....	21
2.3.2. Biomarcatori di stress ossidativo	23
2.3.3. Terapia antiossidante.....	25
2.4. Progetto OxIBDiet	28
2.4.1. Studio preliminare.....	29
3. OBIETTIVO	31
4. MATERIALI E METODI	32
4.1. Studio preliminare.....	32
4.1.1. Criteri di inclusione ed esclusione	32
4.1.2. Valutazioni cliniche e di laboratorio	33
4.2. Studio dietetico	35
4.2.1. Criteri di inclusione ed esclusione.....	35
4.2.2. Prescrizioni dietetiche.....	35

4.2.3. Valutazioni cliniche e di laboratorio	36
4.3. Metodi statistici.....	38
5. RISULTATI	39
5.1. Caratteristiche cliniche dei pazienti all'arruolamento	39
5.2. Prescrizioni dietetiche all'arruolamento	41
5.3. Modifiche dei parametri clinici e di laboratorio durante i trattamenti dietetici...	43
5.3.1. Parametri nutrizionali	44
5.3.2. Parametri clinici.....	46
5.3.3. Parametri di laboratorio	50
5.3.4. Parametri di stress ossidativo.....	52
6. DISCUSSIONE	56
7. CONCLUSIONI.....	60
8. BIBLIOGRAFIA	61
9. ALLEGATI.....	71

1. ABSTRACT

1.1. Introduzione

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD) comprendenti la malattia di Crohn (MC), la rettocolite ulcerosa (RCU) e la colite indeterminata (IBD-U), sono disturbi infiammatori cronici dell'intestino che interessano l'adulto e il bambino. L'eziologia è in gran parte sconosciuta, ma individua nei fattori genetici, ambientali, immunologici e nel microbiota intestinale i principali meccanismi coinvolti. Lo stress ossidativo è uno stato di disordine dell'omeostasi ossidante-antiossidante all'interno della cellula, responsabile di molti processi patologici: numerosi studi dimostrano come il livello di stress ossidativo nei pazienti con IBD sia più alto rispetto a un gruppo di controllo sano, pur non conoscendone a pieno i processi fisiopatologici alla base. Lo scopo di questa tesi è di valutare l'efficacia di un trattamento dietetico antiossidante in soggetti IBD pediatrici rispetto ad una dieta mediterranea e a una dieta libera.

1.2. Materiali e metodi

Per dodici settimane tre gruppi vengono sottoposti rispettivamente a dieta antiossidante, dieta mediterranea e l'ultimo mantenuto a dieta libera: tramite analisi statistica vengono confrontati i parametri relativi alla qualità di vita, i parametri clinici, di laboratorio e di stress ossidativo tra T0 e T12 nei singoli gruppi e tra i tre gruppi.

1.3. Risultati

Nei soggetti mantenuti a dieta antiossidante si osserva un aumento significativo del peso e del suo z-score. I livelli di FRAP (capacità ferro-riducente del plasma) e AOPP (prodotti proteici di ossidazione avanzata) migliorano significativamente nei soggetti sottoposti a dieta antiossidante e mediterranea rispetto ai soggetti mantenuti a dieta libera, nei quali si osserva un incremento dei livelli di glutatione intracellulare e di SOD plasmatica (superossido dismutasi). I livelli di calprotectina fecale sembrano ridursi nei due gruppi mantenuti in dieta rispetto al gruppo libero, ma in maniera non significativa.

1.4. Conclusione

Lo squilibrio ossidativo che si presenta nei bambini IBD in dieta libera sembra ripristinarsi nei soggetti in dieta antiossidante, in maniera inferiore anche nella dieta mediterranea, ma non è associato un miglioramento significativo dei parametri di attività di malattia: data l'esigenza di scegliere su misura del bambino IBD la strategia terapeutica più efficace e meglio tollerata, la dieta antiossidante può essere considerata una valida alternativa alla dieta mediterranea.

2. INTRODUZIONE

2.1. Le malattie infiammatorie croniche intestinali

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (*Inflammatory Bowel Disease*, IBD) sono condizioni patologiche caratterizzate da un processo infiammatorio cronico a carico del tratto gastrointestinale con fasi di riacutizzazione e fasi di remissione. Tra queste si individuano la malattia di Crohn (MC), la rettocolite ulcerosa (RCU) e la colite indeterminata (CI o IBD non classificata, IBD-U) [1]. Pur essendo affezioni in cui l'incidenza sta aumentando a livello internazionale, soprattutto nella popolazione pediatrica, l'eziologia e i meccanismi fisiopatologici rimangono ancora non del tutto noti: fattori genetici, ambientali e il microbiota hanno un ruolo nello sviluppo, nella persistenza e nelle recidive della risposta immunitaria disregolata [2,3,4]. Un altro importante fattore contribuyente che sta assumendo sempre più un ruolo centrale è lo stress ossidativo [3].

La MC è caratterizzata da un coinvolgimento infiammatorio transmurale che può estendersi a tutto il tratto gastrointestinale in maniera discontinua, dal cavo orale all'ano, più comunemente all'ileo terminale e al colon. Invece, la RCU si associa a un'infiammazione superficiale della mucosa del retto, con un'estensione continua nel colon in senso prossimale. Quando l'infiammazione della parete intestinale ha caratteristiche che non permettono la distinzione tra MC e RCU, si parla di IBD-U [1]. La presentazione clinica delle IBD pediatriche può essere variabile, con segni e sintomi tipicamente caratterizzati da dolore addominale e diarrea, a cui si possono associare perdita di peso e ritardo di crescita, rettorragia ed ematochezia, anemia e manifestazioni

extraintestinali (es. eritema nodoso, manifestazioni muscolo-scheletriche, epatiche, oculari, renali e pancreatiche) [2].

La diagnosi delle IBD si basa su una serie di valutazioni che vanno dall'anamnesi, esame obiettivo, indagini di laboratorio ed esame endoscopico con biopsia, *gold standard* per la distinzione tra le due forme principali e per la diagnosi differenziale con altre patologie. L'obiettivo della terapia, pur essendo condizioni non curabili, è di ottenere la remissione della malattia a lungo termine: è fondamentale evitare le complicanze relative alla malattia, agli interventi chirurgici e gli effetti collaterali delle terapie farmacologiche, inoltre è necessario ottimizzare la crescita, lo sviluppo puberale e la salute psicologica, così da poter aspirare alla migliore qualità di vita (*Quality of Life*, QoL) possibile [5].

2.1.1. Epidemiologia

Da un punto di vista epidemiologico nella popolazione adulta l'incidenza delle IBD sembra stabilizzarsi, al contrario della prevalenza che continua ad aumentare a causa di una giovane età di insorgenza e di una bassa mortalità: i valori di prevalenza sono superiori a 478,4 casi per 100.000 adulti [6,7]. Nella popolazione pediatrica, i tassi di incidenza e prevalenza delle IBD sono in aumento in tutto il mondo: in particolare l'incidenza (*Figura 1*) è più alta in Canada, Nord Europa e Nuova Zelanda e più bassa in Europa meridionale, Africa, Asia e Sud America. L'incidenza per 100.000 persone/anno varia da 0 a 21,3 in Europa, da 2,4 a 15,4 in Nord America e da 5,2 a 6,4 in Oceania. Per quanto riguarda la prevalenza per 100.000 persone (*Figura 2*), in Europa varia da 31,0 a 75, in Nord America da 28,3 a 63,6 e in Oceania da 21,7 a 46,0. In generale, l'incidenza e la prevalenza della MC sono più elevate rispetto alla RCU [4]. Dati italiani sostengono che il tasso di incidenza sembra essersi stabilizzato negli ultimi due decenni, più elevato rispetto agli anni precedenti, con una lieve maggiore prevalenza della RCU rispetto alla MC [8].

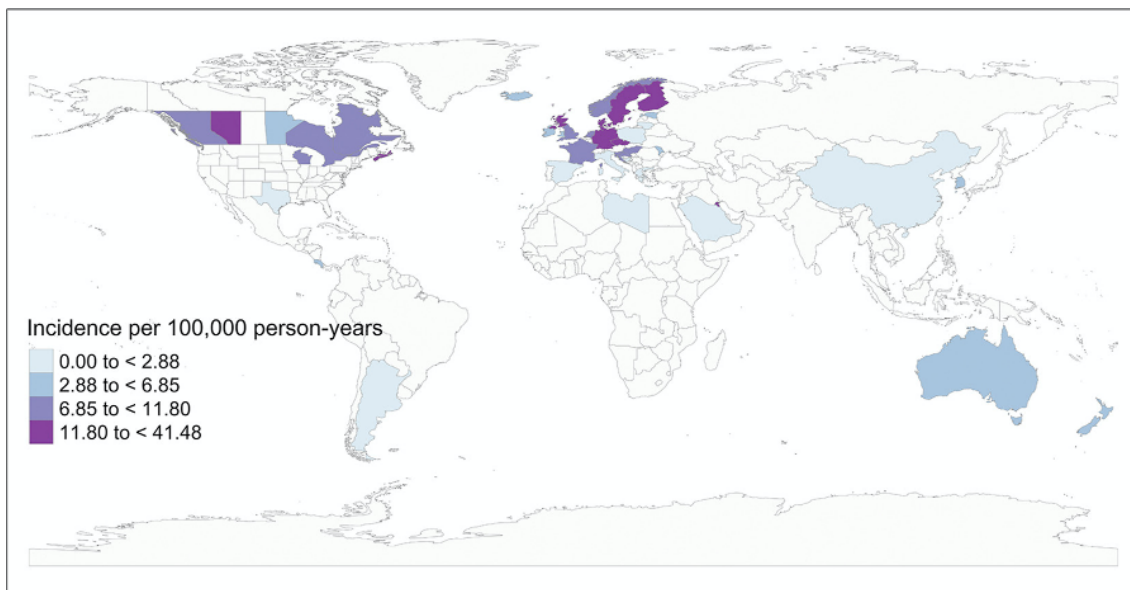


Figura 1: Incidenza delle IBD pediatriche [4].

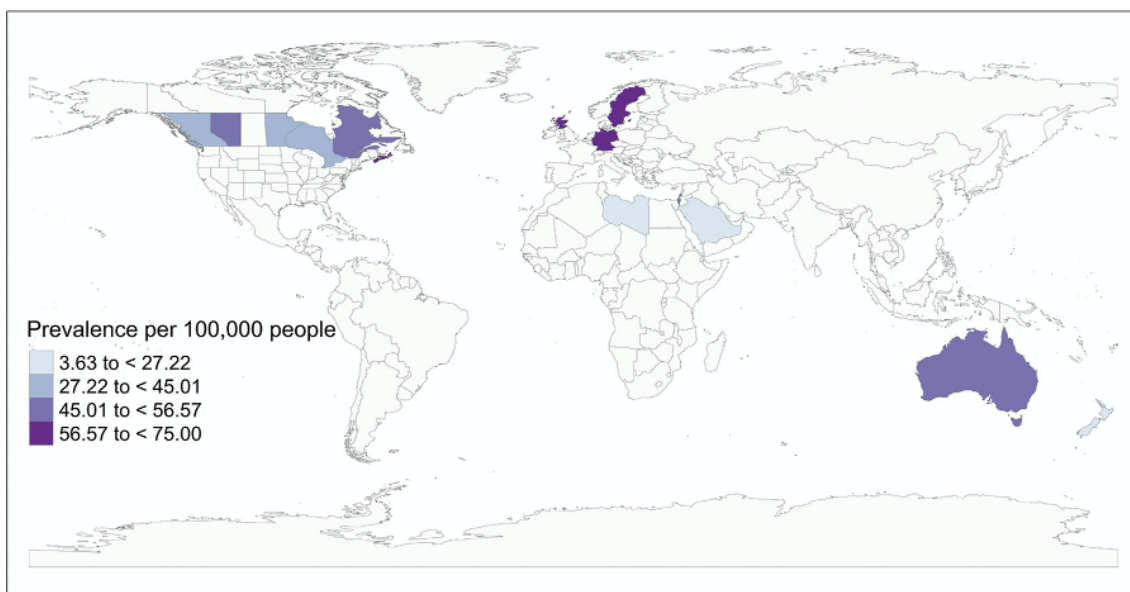


Figura 2: Prevalenza delle IBD pediatriche [4].

2.1.2. Eziopatogenesi

Sebbene le IBD siano in costante aumento nella popolazione mondiale, l'eziologia rimane ancora in gran parte sconosciuta. Recentemente sono stati fatti progressi significativi nella comprensione della patogenesi, dove si attribuisce una particolare importanza a quattro attori principali coinvolti nella storia naturale della malattia: predisposizione genetica, fattori ambientali, microbiota intestinale e sistema

immunitario [5,9]. In soggetti geneticamente predisposti, fattori ambientali e disbiosi intestinale slatentizzano una risposta immunologica alterata, responsabile delle manifestazioni cliniche, endoscopiche e biottiche delle IBD.

Studi genetici hanno dimostrato come particolari polimorfismi del gene *Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2* (NOD2) situato sul cromosoma 16 siano associati a un maggior rischio di sviluppare la MC, infatti avere entrambi i geni con alleli mutati conferisce un rischio fino a 40 volte superiore [5]. Le mutazioni di NOD2 si traducono in una ridotta secrezione di defensine, responsabili di una barriera antimicrobica indebolita con una conseguente attivazione della risposta immunitaria [10]. Inoltre, gli studi di associazione *genome-wide* hanno identificato altri geni associati significativamente alle IBD, tra cui quelli correlati ai meccanismi di autofagia, denominati *Autophagy related 16 Like 1* (ATG16L1) e *Immunity Related GTPase M* (IRGM), e *Interleukin 23 Receptor* (IL23R), gene che codifica per una subunità del recettore per la citochina pro-infiammatoria interleuchina 23 (IL-23) [11].

Anche i fattori ambientali svolgono un ruolo importante nella patogenesi delle IBD: i principali fattori di rischio sono l'appendicectomia, lo stress, le droghe, la dieta ricca di zuccheri, gli antibiotici e l'inquinamento atmosferico. Il fumo di sigaretta ha un ruolo particolare, infatti se da un lato aumenta il rischio di MC, dall'altro ha un effetto protettivo per la RCU [5,11].

Tra i fattori più rilevanti, il microbiota sembra essere uno dei principali: fisiologicamente è presente un'interazione continua tra i microrganismi commensali e il sistema immunitario tramite i recettori dell'immunità innata (*Pattern Recognition Receptors*, PRR) e i profili molecolari associati ai patogeni (*Pathogen Associated Molecular Patterns*, PAMPs), fondamentale per la normale omeostasi intestinale. L'alterazione di questo equilibrio correlata alla disbiosi, probabilmente relativa alla carenza di *Firmicutes* e *Bacteroidetes* e all'eccessiva proliferazione di enterobatteri, contribuisce allo sviluppo della infiammazione intestinale [9,11].

Infine, l'alterata risposta immunologica che si osserva nelle IBD è legata all'attivazione delle cellule epiteliali intestinali (IEC) in risposta ai microrganismi del microbiota intestinale, le quali, tramite l'interazione PRR e PAMP, attivano *pathway* intracellulari che determinano la secrezione di citochine pro-infiammatorie come interleuchina 6 (IL-6) e fattore di necrosi tumorale α (*Tumor Necrosis Factor- α* , TNF-

α), responsabili dell'attivazione della risposta immunitaria innata. L'alterazione dei meccanismi di autofagia, l'attivazione dell'inflammosoma e i polimorfismi di NOD2 sono probabilmente fattori coinvolti, ma non esclusivi, nell'immunità innata anomala [10]. La disregolazione del sistema immunitario innato è causa, inoltre, delle anomalie di funzione dell'immunità adattiva, sono infatti coinvolte anche le cellule dendritiche (DC) che, comportandosi da cellule presentanti l'antigene, migrano dalle placche del Peyer e dalla lamina propria ai linfonodi mesenterici e stimolano l'attivazione dei linfociti T helper (Th) naïve (Figura 3) [9]. Numerosi studi confermano la presenza di un'eccessiva risposta immunitaria Th1 nella MC, la presenza di una risposta Th2 nella RCU e più in generale di un ruolo importante dei linfociti Th17 e dei linfociti T regolatori (Treg) nelle IBD, a conferma di una perdita di tolleranza e di un'inflammatione cronica dell'intestino [9,12].

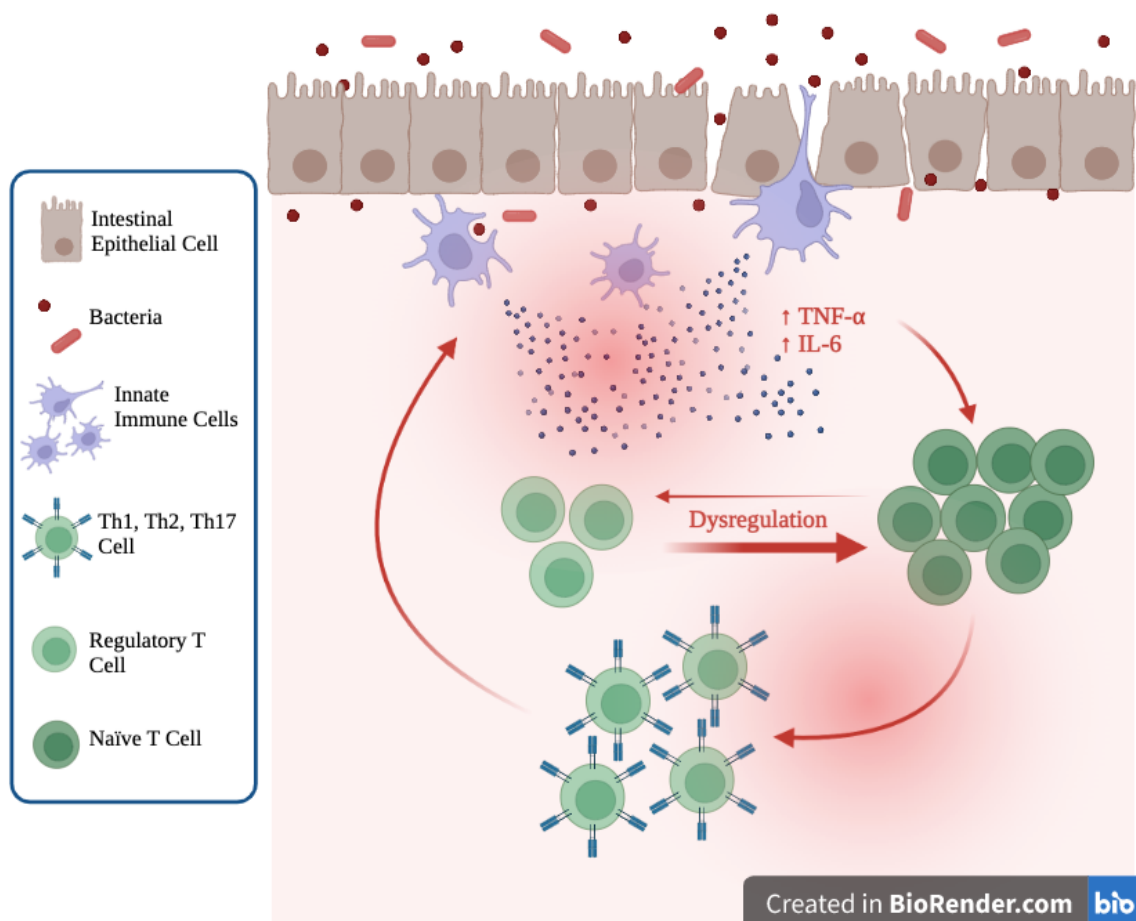


Figura 3: Fisiopatologia delle IBD.

2.1.3. Diagnosi

Secondo le linee guida ECCO-ESGAR (*European Crohn's and Colitis Organisation* [ECCO] ed *European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology* [ESGAR]) ed ESPGHAN (*European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*) per la diagnosi delle IBD, rispettivamente negli adulti e nei bambini, la valutazione dovrebbe essere basata su una combinazione di anamnesi, esame obiettivo, indagini di laboratorio, esofagogastroduodenoscopia (EGDS) ed ileocolonscopia con esame istologico ed *imaging* dell'intestino tenue [13,14]. Nel sospetto di una IBD è importante escludere in primo luogo le infezioni enteriche (es. *Clostridium difficile*).

Nella popolazione pediatrica, i segni e i sintomi possono essere variabili: il dolore addominale, la diarrea, la febbre, la perdita di peso e il ritardo di crescita sono più frequenti nella MC, mentre la diarrea sanguinolenta è più comune nella RCU. Gli esami di laboratorio dovrebbero includere un emocromo completo, marcatori di flogosi, albuminemia, transaminasi, γ GT e la calprotectina fecale per la rilevazione dell'infiammazione intestinale. La diagnosi di RCU si basa sull'identificazione dell'infiammazione cronica del colon tramite ileocolonscopia e biopsie multiple, escludendo sia la MC sia cause infettive: si evidenzia in particolare una flogosi limitata alla mucosa del colon con un coinvolgimento continuo dal retto in senso prossimale. Nel dettaglio, si riconoscono almeno sei fenotipi di RCU, riportati nella *Tabella 1*. Nella MC invece, si individuano da un punto di vista endoscopico ulcere aftose non contigue soprattutto a livello dell'ileo e del colon, con la possibilità di estensione a tutto il tratto gastrointestinale (*Tabella 2*).

Presentation	Macroscopic features	Microscopic features
Typical	Contiguous disease from the rectum	Architectural distortion, basal lymphoplasmacytosis, disease most severe distally, no granulomas
Atypical		
1. Rectal sparing	No macroscopic disease in rectum or rectosigmoid	Same as typical, especially in the involved segment above sparing
2. Short duration	Contiguous disease from the rectum, may also have rectal sparing	May have biopsies with focality, plus signs of chronicity or architectural distortion may be absent; other features are identical. Usually occurs in young children with short duration of symptoms.
3. Cecal patch	Left-sided disease from rectum with area of cecal inflammation and normal appearing segment between the 2	Typical; biopsies from the patch may show nonspecific inflammation
4. UGI	Erosions or small ulcers in stomach, but are neither serpiginous nor linear	Diffuse or focal gastritis, no granuloma (except pericryptal)
5. Acute severe colitis	Contiguous disease from the rectum	May have transmural inflammation or deep ulcers, other features typical. Lymphoid aggregates are absent, ulcers are V-shaped fissuring ulcers

UC = ulcerative colitis; UGI = upper gastrointestinal. JOURNAL OF PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY AND NUTRITION

Tabella 1: Fenotipi di RCU pediatrica alla diagnosi [14].

Typical macroscopic findings of CD:

- Mucosal aphthous ulcers
- Linear or serpentine ulceration

Cobblestoning

- Stenosis/stricturing of bowel with prestenotic dilatation
- Imaging or surgical—bowel wall thickening with luminal narrowing
- Perianal lesions—fistula(s), abscesses, anal stenoses, anal canal ulcers, large and inflamed skin tags

Skip lesions

Jejunal or ileal ulcers

Nonspecific macroscopic findings of CD

- Oedema
- Erythema
- Friability
- Granularity

Exudate

- Loss of vascular pattern
- Isolated aphthous ulcers
- Perianal lesions—midline anal fissures, small skin tags

Typical microscopic findings of CD:

- Noncaseating granuloma(s)—must be remote from ruptured crypt
- Focal chronic inflammation, transmural inflammatory infiltrate, submucosal fibrosis

Nonspecific microscopic findings of CD:

- Granuloma adjacent to ruptured crypt
- Mild nonspecific inflammatory infiltrate in lamina propria
- Mucosal ulceration/erosion
- Signs of chronicity (eg, crypt architectural changes, colonic Paneth cell metaplasia and goblet cell depletion)

CD = Crohn disease.

Tabella 2: Caratteristiche macroscopiche e microscopiche della MC pediatrica [14].

L'imaging può essere un utile elemento diagnostico, in particolare l'ecografia rappresenta uno strumento di *screening* nella valutazione preliminare dei pazienti pediatrici con sospetta IBD, ma dovrebbe essere integrata da altre indagini come l'enterografia a risonanza magnetica (MRE), modalità di imaging di scelta, o l'endoscopia con capsula *wireless* (WCE), quando le altre indagini non siano state diagnostiche. [14]. Attualmente, viene utilizzato un algoritmo diagnostico che segue quanto suddetto, riportato in *Figura 4*.

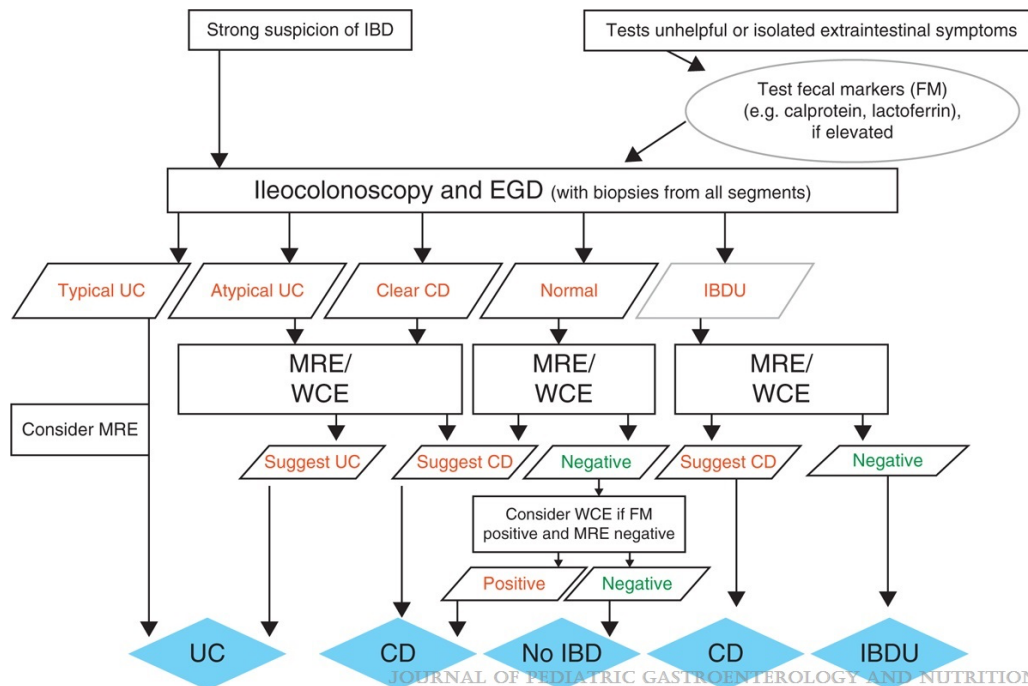


Figura 4: Algoritmo diagnostico delle IBD pediatriche. CD = malattia di Crohn; EGD = esofagogastroduodenoscopia; FM = marcatore fecale; IBDU = IBD non classificata; MRE = enterografia a risonanza magnetica; UC = rettocolite ulcerosa; WCE = endoscopia con capsula wireless [14].

Per quanto riguarda la popolazione adulta, secondo le linee guida ECCO-ESGAR alle precedenti indagini citate dovrebbero aggiungersi valutazioni complementari riguardo i marcatori di attività di malattia, malnutrizione o malassorbimento e stato immunologico con particolare attenzione per la tubercolosi latente. È fondamentale ricordare che nessuna caratteristica endoscopica è specifica per MC o RCU [13].

2.1.4. Classificazione di Montreal e di Paris

Definita la diagnosi, la MC e la RCU sono valutate secondo una serie di parametri definiti dalla classificazione di Montreal per i pazienti adulti e dalla classificazione di Paris per i pazienti pediatrici: l'obiettivo è di distinguere accuratamente il fenotipo e le caratteristiche fisiche di ogni sottotipo di IBD [5].

I parametri valutati sono l'età alla diagnosi (parametro A), la localizzazione di malattia (parametro L per la MC) o la sua estensione (parametro E per la RCU), la forma (parametro B per la MC) o la severità (parametro S per la RCU) e la crescita (parametro G per la MC) [15]. Le singole categorie sono riassunte nelle *Tablelle 3 e 4*.

	Montreal	Paris
Age at Diagnosis	A1: below 17 y A2: 17-40 y A3: Above 40 y	A1a: 0-<10y A1b: 10-<17 y A2: 17-40 y A3: >40 y
Location	L1: terminal ileal ± limited cecal disease L2: colonic L3: ileocolonic L4: Isolated upper disease*	L1: distal 1/3 ileum ± limited cecal disease L2: colonic L3: ileocolonic L4a: upper disease proximal to Ligament of Treitz* L4b: upper disease distal to ligament of Treitz and proximal to distal 1/3 ileum*
Behavior	B1: non-stricturing non-penetrating B2: stricturing B3: penetrating p: perianal disease modifier	B1: nonstricturing nonpenetrating B2: stricturing B3: penetrating B2B3: both penetrating and stricturing disease, either at the same or different times p: perianal disease modifier
Growth	n/a	G ₀ : No evidence of growth delay G ₁ : Growth delay

*In both the Montreal and Paris Classification systems L4 and L4a/L4b may coexist with L1, L2, L3, respectively.
B1 - Nonstricturing, nonpenetrating disease: uncomplicated inflammatory disease without evidence of stricturing or penetrating disease.
B2 - Stricturing disease: the occurrence of constant luminal narrowing demonstrated by radiologic, endoscopic, or surgical examination combined with prestenotic dilation and/or obstructive signs or symptoms but without evidence of penetrating disease.
B3 - Penetrating disease: the occurrence of bowel perforation, intraabdominal fistulas, inflammatory masses and/or abscesses at any time in the course of the disease, and not secondary postoperative intra-abdominal complication (excludes isolated perianal or rectovaginal fistulae).
B2B3 - Stricturing and penetrating disease: the presence of both B2 and B3 phenotypes in the same patient, either at the same moment in time, or separately over a period of time [correction made after initial online publication].

Tabella 3: Classificazione di Montreal e Paris per la MC [15].

	Montreal	Paris
Extent	E1: ulcerative proctitis	E1: ulcerative proctitis
	E2: left-sided UC (distal to splenic flexure)	E2: Left-sided UC (distal to splenic flexure)
	E3: extensive (proximal to splenic flexure)	E3: Extensive (hepatic flexure distally)
		E4: Pancolitis (proximal to hepatic flexure)
Severity	S0: clinical remission	S0: never severe*
	S1: mild UC	S1: ever severe*
	S2: moderate UC	
	S3: severe UC	

*Severe defined by Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index (PUCAI) ≥ 65 .³⁸

Tabella 4: Classificazione di Montreal e Paris per la RCU [15].

2.1.5. Indici di attività di malattia

Sono disponibili numerosi sistemi di punteggio per classificare l'attività di malattia, i quali valutano sia nella MC sia nella RCU parametri clinici ed endoscopici: se ne distinguono alcuni per gli adulti, altri per i bambini. L'importanza di questi *scores*, in particolare di quelli clinici, è legata alla possibilità di differenziare accuratamente gli stati di attività di malattia, valutarne il cambiamento nel tempo e la risposta al trattamento senza la necessità di costanti valutazioni endoscopiche [16,17].

Tra i principali indici di attività di malattia, nella MC dell'adulto si individuano scores clinici come l'indice *Harvey-Bradshaw* (HBI) (Tabella 5), l'indice di attività della MC (*Crohn's Disease Activity Index*, CDAI) e l'indice di attività di malattia perianale (*Perianal Disease Activity Index*, PDAI). [18] Il sistema più semplice e pratico è l'HBI (Tabella 5), il quale valuta i sintomi del paziente e alcuni parametri oggettivi come benessere generale, dolore addominale, numero di evacuazioni liquide al giorno, massa addominale e manifestazioni extraintestinali. Tra i sistemi di punteggio endoscopici si trovano l'indice endoscopico di gravità della MC (*Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity*, CDEIS) e il punteggio endoscopico semplice per la MC (*Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease*, SES-CD) [18].

Variable	Scoring
General well-being (0–4)	0 = very well, 1 = slightly below average, 2 = poor, 3 = very poor, 4 = terrible
Abdominal pain (0–3)	0 = none, 1 = mild, 2 = moderate, 3 = severe
Abdominal mass (0–3)	0 = none, 1 = dubious, 2 = definite, 3 = tender
Number of liquid stools	1 per occurrence
Extra intestinal manifestations	One point for each (Arthralgia, Uveitis, Erythema Nodosum, Pyoderma gangrenosum, Aphthous Ulcer, Anal fissure, New Fistula, Abscess)

HBI score < 4 is considered as remission.

HBI score ≥ 7 is considered as presence of active disease.

Tabella 5: *Indice di Harvey-Bradshaw [19].*

Nella popolazione pediatrica la MC viene valutata con l'indice di gravità wPCDAI (*weighted Pediatric Crohn's Disease Activity Index*) che include dolore addominale, caratteristiche dell'alvo, benessere generale, manifestazioni extraintestinali (es. artrite, rash cutaneo, uveite), esame obiettivo, peso, altezza, ematocrito, VES ed albuminemia (*Tabella 6*) [20].

History (recall, 1 wk)			
Abdominal pain			<u>Score</u>
0 = None	10 = Mild: brief, does not interfere with activities	20 = Moderate/severe: daily, longer lasting, affects activities, nocturnal	_____
Patient functioning, general wellbeing			<u>Score</u>
0 = No limitation of activities, well	10 = Occasional difficulty in maintaining age appropriate activities, below par	20 = Frequent limitation of activity, very poor	_____
Stools (per day)			<u>Score</u>
0 = 0–1 liquid stools, no blood	7.5 = Up to 2 semiformal with small blood, or 2–5 liquid	15 = Gross bleeding, or ≥6 liquid, or nocturnal diarrhea	_____
Laboratory			
ESR			<u>Score</u>
0 = <20 mm/h	7.5 = 20–50 mm/h	15 = >50 mm/h	_____
Albumin			<u>Score</u>
0 = ≥ 3.5 g/dL	10 = 3.1–3.4 g/dL	20 = ≤3.0 g/dL	_____
Examination			
Weight			<u>Score</u>
0 = Weight gain or voluntary weight stable/loss	5 = Involuntary weight stable, weight loss 1%–9%	10 = Weight loss ≥10%	_____
Perirectal disease			<u>Score</u>
0 = None, asymptomatic tags	7.5 = 1–2 indolent fistula, scant drainage, no tenderness	15 = Active fistula, drainage, tenderness, or abscess	_____
Extraintestinal manifestations (fever ≥38.5°C for 3 days during the last week, definite arthritis, uveitis, Erythema nodosum, and Pyoderma gangrenosum)			<u>Score</u>
0 = None		10 = ≥1	_____
		Total score (0–125):	_____

Corresponding threshold values (sensitivity/specificity as previously found (9)). Remission: wPCDAI <12.5 (94%/93%). Mild: wPCDAI 12.5–40 (82%/86%). Moderate: 42.5–57.5 (82%/86%). Severe: >57.5 (82%/78%). Response: a change of >17.5 points (86%/76%). ESR = erythrocyte sedimentation rate; PCDAI = Pediatric Crohn's Disease Activity Index; wPCDAI = weighted Pediatric Crohn's Disease Activity Index.

Tabella 6: *wPCDAI [20].*

Nella RCU dell'adulto il *Mayo Scoring System* (*Tabella 7*) e l'indice di attività della RCU (*Ulcerative Colitis Disease Activity Index*, UCDAI) sono i principali indici di attività di malattia, clinica ed endoscopica rispettivamente, mentre nella popolazione

pediatrica quello più utilizzato è l'indice di attività della RCU pediatrica (*Paediatric Ulcerative Colitis Disease Activity Index*, PUCAI) (Tabella 8), il quale valuta parametri come il dolore addominale, il sanguinamento rettale, la consistenza delle feci, il numero di evacuazioni al giorno, le evacuazioni notturne e il livello di attività [16,18].

Mayo Index	0	1	2	3
Stool frequency	Normal	1-2/day more than normal	3-4/day more than normal	5/day more than normal
Rectal bleeding Mucosa	None Normal	Streaks Mild friability	Blood in stool Moderate friability, erosions	Pure blood Spontaneous bleeding, ulcerations
Physicians global assessment	Normal	Mild	Moderate	Severe

Tabella 7: Mayo Scoring System [21,22,23].

Item	Points
(1) Abdominal pain	
No pain	0
Pain can be ignored	5
Pain cannot be ignored	10
(2) Rectal bleeding	
None	0
Small amount only, in <50% of stools	10
Small amount with most stools	20
Large amount (>50% of the stool content)	30
(3) Stool consistency of most stools	
Formed	0
Partially formed	5
Completely unformed	10
(4) Number of stools per 24 hours	
0-2	0
3-5	5
6-8	10
>8	15
(5) Nocturnal stools (any episode causing wakening)	
No	0
Yes	10
(6) Activity level	
No limitation of activity	0
Occasional limitation of activity	5
Severe restricted activity	10
Sum of PUCAI (0-85)	

Tabella 8: PUCAI [16].

Infine, un altro indice importante per le IBD è rappresentato dal *Physician Global Assessment* (PGA), il quale distingue la malattia in inattiva, lieve, moderata o severa sulla base di esami di laboratorio e di una serie di segni e sintomi riferiti dal paziente (*Allegato 9.1*) [17,24,25].

2.1.6. Terapia

L'obiettivo principale della terapia delle IBD è di ottenere una remissione a breve e a lungo termine della malattia: se in passato si dava importanza alla remissione dei dati clinici e di laboratorio, attualmente, grazie allo sviluppo di strategie terapeutiche più efficaci e a sistemi di valutazione più sofisticati, si mira anche alla guarigione della mucosa intestinale (remissione endoscopica) [5,26]. Un possibile target del trattamento nel futuro potrebbe essere la remissione istologica, considerata come una risposta più profonda rispetto alla guarigione della mucosa, ma ancora dal significato controverso [26]. Nel dettaglio, la terapia della RCU mira a migliorare la QoL del paziente, evitando il più possibile l'utilizzo dei corticosteroidi e riducendo al minimo il rischio di neoplasia, invece, nella MC pediatrica, oltre alla QoL, particolare attenzione viene posta alla crescita e allo sviluppo puberale [26,21]. In generale, la gestione terapeutica delle IBD si basa su una terapia di induzione volta alla gestione della malattia in fase attiva, e, raggiunta la remissione, su una terapia di mantenimento per garantire una remissione a lungo termine [19]. L'approccio può essere di due tipi: quello tradizionale si basa su una terapia *step-up*, in cui vengono utilizzati farmaci meno aggressivi prima di ricorrere a quelli più potenti, e quello *top-down*, in cui i pazienti vengono inizialmente trattati in maniera aggressiva e, raggiunta la remissione, le dosi vengono ridotte e alcuni farmaci sospesi [19]. Gli studi hanno dimostrato come l'approccio *top-down* sia migliore dell'approccio graduale [27].

Nella MC pediatrica, secondo le linee guida ECCO-ESPGHAN la terapia di induzione può prevedere l'utilizzo della Nutrizione Enterale Esclusiva (EEN), dei corticosteroidi (es. budesonide, prednisolone) o degli anti-TNF (es. infliximab, adalimumab), in base all'attività di malattia e alla risposta al trattamento. Nella terapia di mantenimento si possono utilizzare immunomodulatori (es. metrotrexato, azatioprina, 6-mercaptopurina), Nutrizione Enterale di Mantenimento (MEN) o anti-TNF combinati con immunomodulatore (*Figura 5*). Più recentemente, sono stati aggiunti nuovi farmaci come l'ustekinumab e il vedolizumab [26].

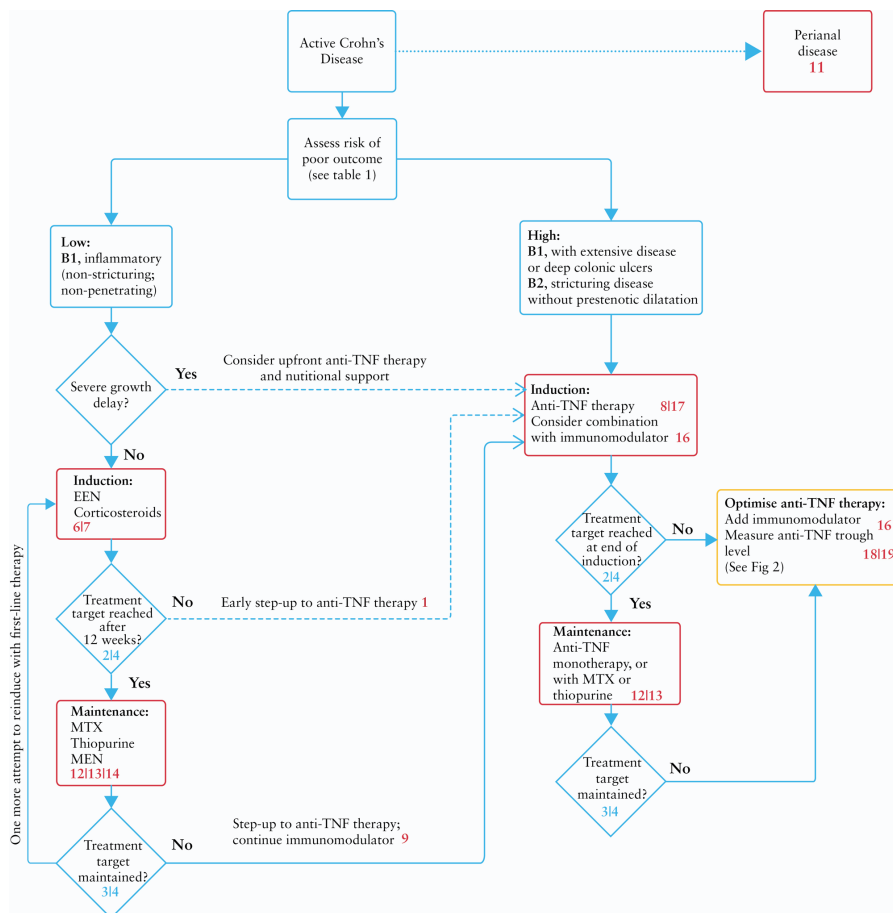


Figura 5: *Trattamento medico della MC pediatrica. EEN = Nutrizione Enterale Esclusiva; MTX = metotrexato; MEN = Nutrizione Enterale di Mantenimento [26].*

Nella MC dell'adulto, secondo le linee guida ECCO in aggiunta ai farmaci sopracitati, nella terapia di induzione si può utilizzare anche il certolizumab pegol, mentre nel mantenimento della remissione si raccomanda anche l'acido 5-amminosalicilico (5-ASA) [28].

Per quanto riguarda la RCU pediatrica (Figura 6), secondo le linee guida ECCO-ESPGHAN i composti 5-ASA sono raccomandati sia nella terapia di induzione sia nel mantenimento, mentre i corticosteroidi (es. prednisolone, budesonide, beclometasone dipropionato) solo nella terapia di induzione. Le tiopurine invece, sono raccomandate nella terapia di mantenimento. Tra gli anticorpi monoclonali, infliximab è quello più utilizzato, sia nell'induzione sia nel mantenimento. La scelta del trattamento dovrebbe essere eseguita sulla base del PUCAI [29,30].

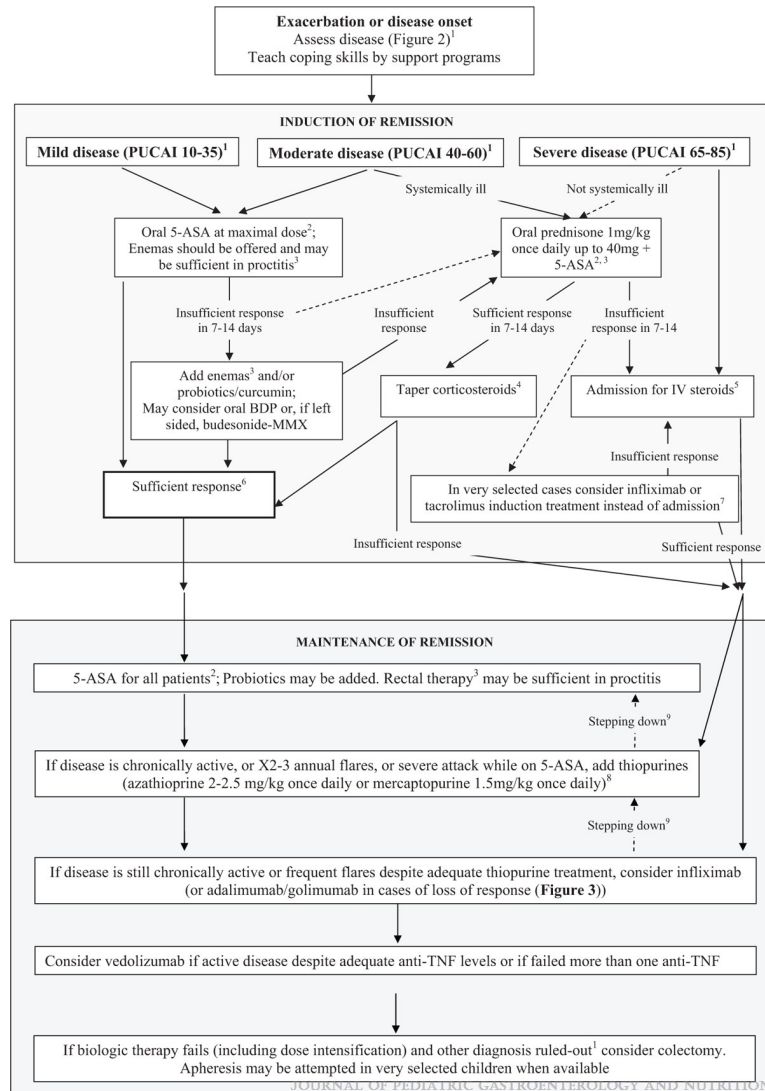


Figura 6: *Trattamento medico della RCU pediatrica. 5-ASA = acido 5-amminosalicilico; BDP = beclometasone dipropionato [29].*

Nella RCU dell'adulto, la gestione terapeutica segue le linee guida ECCO, le quali prevedono le stesse terapie farmacologiche precedentemente nominate [31].

Un importante aspetto nella terapia delle IBD è la gestione non farmacologica: molti fattori influenzano infatti l'esito del trattamento, tra cui la dieta, l'umore e lo stile di vita. Educare i pazienti ad uno stile di vita corretto potrebbe aiutare al mantenimento della remissione della malattia [32].

Un numero crescente di evidenze supporta la necessità di un'attenzione dettagliata alla nutrizione e alla dieta nei bambini con IBD, ma attualmente non sono ancora state pubblicate linee guida specifiche dietetiche pediatriche [33].

La EEN ha la stessa efficacia dei corticosteroidi orali nell'induzione della remissione nei bambini con MC: viene raccomandato l'utilizzo di forme polimeriche standard a moderato contenuto di grassi per un periodo di almeno otto settimane [33]. Per quanto riguarda altri tipi di dieta come la nutrizione enterale parziale (PEN), la dieta a base di carboidrati specifici (*Specific Carbohydrate Diet*, SCD) e la dieta a basso contenuto di oligo-, di- e monosaccaridi fermentabili e polioli (*Diet low in Fermentable Oligo-, Di- and Monosaccharides and Polyol*, FODMAPs), non dovrebbero essere raccomandate per l'induzione della remissione delle IBD. Anche la dieta di esclusione della MC (*Crohn's Disease Exclusion Diet*, CDED) non può essere raccomandata come terapia di induzione. In generale, nei bambini con IBD e sintomi indicativi di malassorbimento del lattosio può essere iniziata una dieta a ridotto apporto di lattosio [33]. Per quanto riguarda la dieta mediterranea, è generalmente raccomandata a tutti i soggetti con IBD come dieta di mantenimento ideale, infatti la dieta mediterranea è stata associata a numerosi vantaggi nelle IBD, come la riduzione del rischio epidemiologico, la riduzione dei sintomi e il miglioramento della qualità di vita dopo la diagnosi e la modulazione dell'infiammazione [34,35,36]. Allo stesso modo, numerose molecole antiossidanti hanno dimostrato di attenuare l'infiammazione e i sintomi nei modelli di IBD e negli studi clinici, tra cui la curcumina, la quercetina, il resveratrolo, la naringenina, l'epigallocatechina-3-gallato e combinazioni di vitamina C ed E [37].

In conclusione, le IBD sono patologie complesse con varie possibilità di manifestazione, per cui le opzioni di terapia dovrebbero essere personalizzate: nessun approccio è perfetto per ogni paziente, per cui raggiungere la remissione è possibile utilizzando più trattamenti [21,19]. A causa degli effetti collaterali delle singole terapie farmacologiche croniche e delle complicanze delle IBD non sempre controllate dalla terapia medica, risulta necessario studiare e individuare nuove strategie, sia farmacologiche sia educazionali.

2.2. Lo stress ossidativo

Lo stress ossidativo può essere definito come uno stato di disordine dell'omeostasi ossidante-antiossidante all'interno della cellula, ovvero uno squilibrio tra le sostanze pro-ossidanti e le antiossidanti a favore delle prime, responsabile di molti processi patologici, quali i tumori, il diabete, le malattie cardiovascolari, l'aterosclerosi,

la broncopneumopatia cronica ostruttiva, le malattie autoimmuni e le malattie neurodegenerative [3,38,39].

2.2.1. Fisiopatologia

I radicali liberi sono piccole molecole o atomi caratterizzati dalla presenza di almeno un elettrone spaiato nel proprio orbitale più esterno: ciò rende questi composti particolarmente reattivi, responsabili di avviare e partecipare a numerose reazioni a catena [39]. Il metabolismo ossidativo, necessario per la sopravvivenza delle cellule dei mammiferi, produce normalmente radicali liberi dell'ossigeno (o specie reattive dell'ossigeno, ROS): in condizioni fisiologiche la cellula tollera questo carico di ROS grazie alle sue capacità antiossidanti. Il livello fisiologico di ROS non disturba l'equilibrio redox ed è coinvolto nel mantenimento della normale omeostasi fisiologica: questi composti infatti partecipano a diversi processi fisiologici come la differenziazione e la proliferazione cellulare, l'induzione del sistema immunitario, la modifica post-traduzionale delle proteine, l'espressione genica o l'adattamento all'ipossia [37]. Quando il carico di ROS diventa eccessivo, per un loro aumento o per una riduzione dei sistemi antiossidanti, causa una serie di eventi patologici come risposte infiammatorie anomale, alterazioni morfologiche lipidiche e proteiche, danni al DNA, apoptosi e cancerogenesi (*Figura 7*) [3].

Nell'organismo le specie reattive più rappresentate sono i ROS, le specie reattive dell'azoto (RNS) e quelle dello zolfo (RSS): i ROS si riferiscono a radicali liberi come il superossido (O_2^-), i radicali idrossilici (HO^-) e a composti reattivi non radicalici tra cui il perossido di idrogeno (H_2O_2). Tra gli RNS si trovano ossido nitrico ($\cdot NO$), biossido di azoto ($\cdot NO_2$) e composti non radicalici come il perossinitrito ($ONOO^-$) [3,39,40]. I ROS sono prodotti soprattutto all'interno delle cellule, in particolare nella catena respiratoria mitocondriale, fondamentale per la sintesi di adenosina trifosfato (ATP). L'eccessiva generazione di ROS determina una minore produzione di ATP, la soppressione della catena di trasporto degli elettroni e il danno al DNA dei mitocondri: se questa situazione continua, ne risente l'omeostasi intracellulare con la conseguente morte cellulare. [3] Gli RNS sono invece prodotti in gran quantità dai macrofagi attivati e reagiscono con molte molecole biologiche causando rotture a singolo filamento del DNA, danni alle proteine e perossidazione lipidica [39]. La produzione di ROS e di

RNS è inoltre correlata all'azione catalizzante di alcuni enzimi come perossidasi, NADPH ossidasi (NOX), xantina ossidasi (XO), lipossigenasi (LOX), glucosio ossidasi, mieloperossidasi (MPO), ossido nitrico sintasi (NOS), ciclossigenasi (COX) [3]. Infine, lo stress ossidativo può essere attivato anche da fattori ambientali, quali le radiazioni, la chemioterapia, il fumo di sigaretta, gli antigeni luminali, l'alcol, le droghe e gli xenobiotici [3].

Sebbene lo stress ossidativo sia dannoso per il tratto gastrointestinale, le difese antiossidanti possono contrastare gli effetti dei ROS. Le capacità antiossidanti dell'organismo sono infatti l'insieme dei meccanismi antiossidanti intracellulari ed extracellulari, fondamentali per rimuovere i danni causati dallo stress ossidativo, prevenirli o ritardarli, mantenendo sotto controllo le concentrazioni di ROS e di RNS [41]. Se tra gli antiossidanti intracellulari si trovano superossido dismutasi (SOD), glutazione perossidasi (GPX), glutazione reduttasi (GSR), glutazione S-transferasi (GST) e catalasi (CAT) come molecole enzimatiche e tocoferolo, glutazione (GSH), acido ascorbico e melatonina come molecole non enzimatiche, tra gli antiossidanti extracellulari si trovano le vitamine A (o β -carotene), C ed E, i minerali come zinco (Zn), rame (Cu), ferro (Fe), manganese (Mn) e selenio (Se), i flavonoidi, l'acido urico, la metionina e la ceruloplasmina [3,37,39,42]. Alcuni di questi si possono trovare anche negli alimenti, soprattutto nella frutta e nella verdura.

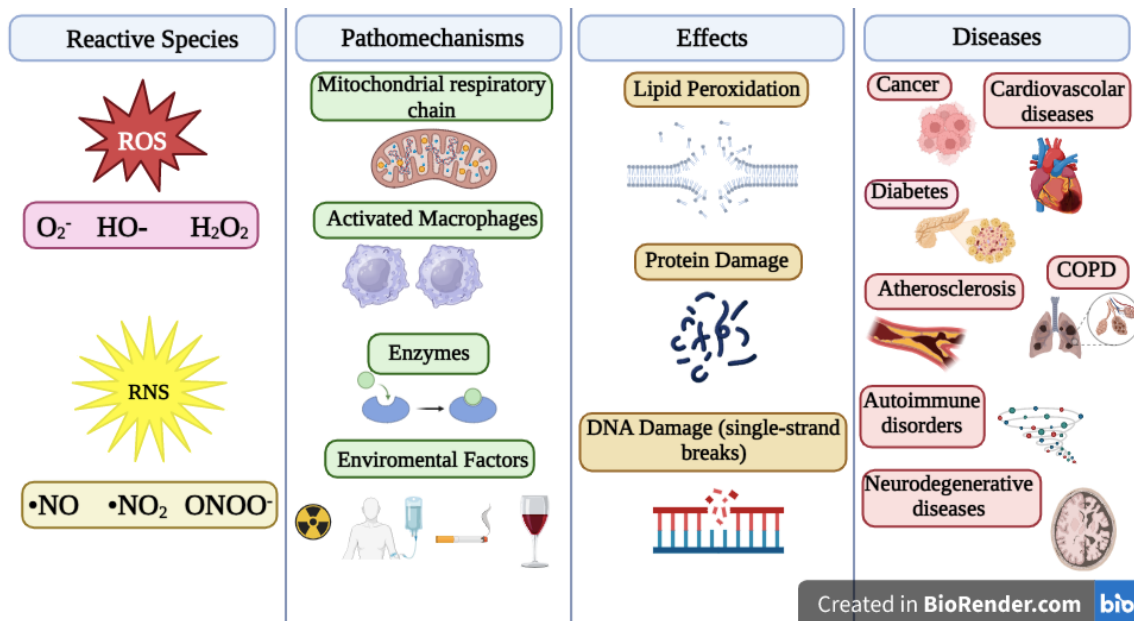


Figura 7: Stress ossidativo: specie reattive, meccanismi patologici, effetti biologici e patologie correlate. COPD = broncopneumopatia cronica ostruttiva.

2.3. Lo stress ossidativo nelle IBD

Essendo le IBD patologie di origine infiammatoria, ai vari fattori eziopatogenetici già illustrati precedentemente, si è considerato come ulteriore fattore contribuente lo stress ossidativo: l'importante risposta immunitaria legata alla flogosi intestinale è causa di un'eccessiva produzione di ROS, i quali aumentano lo stress ossidativo, contribuiscono allo sviluppo e alla progressione dell'infiammazione intestinale cronica. Numerosi studi hanno dimostrato come il livello di stress ossidativo nei pazienti con IBD sia più alto rispetto a un gruppo di controllo sano [43,44].

2.3.1. Fisiopatologia

Alcune mutazioni genetiche associate allo stress ossidativo potrebbero contribuire al rischio di IBD: ad esempio, alcuni polimorfismi di NOX e SOD sono coinvolti nel rischio di sviluppare la RCU e le mutazioni di GST sono correlate ad un esordio precoce della malattia ed a sintomi più gravi [45,46].

Tra i fattori ambientali associati alle IBD, il fumo correla in maniera importante con lo stress ossidativo: in primo luogo il fumo di sigaretta contiene un'alta concentrazione di ROS [47]. In secondo luogo, è stato dimostrato su modelli animali che l'attività di NOS è aumentata e lo stress ossidativo è elevato nell'intestino tenue

dopo la somministrazione di nicotina e che il fumo di sigaretta inattiva SOD nel colon [48,49]. Inoltre, durante l'infiammazione della mucosa intestinale, le IEC producono superossido e ossido nitrico tramite l'attivazione di NOX e di NOS, indotti dalle citochine infiammatorie: il sovraccarico di ROS danneggia le proteine del citoscheletro e le giunzioni strette, aumentando la permeabilità della barriera intestinale. Così, lo stress ossidativo infiamma il tratto gastrointestinale, i batteri penetrano attraverso lo strato di IEC e attivano ulteriormente la risposta immunitaria [3]. L'attivazione delle cellule immunitarie, in particolare di neutrofili e di macrofagi, causa la generazione di ROS e di RNS da parte di NOX e NOS, alla base del danno dei tessuti [3,39]. I NOX della mucosa e la doppia ossidasi 2 (DUOX2), sono stati segnalati come nuovi fattori di rischio per le IBD [3]. La XO funziona principalmente nella mucosa intestinale, generando ROS e portando a lesioni del tratto gastrointestinale, mentre la MPO è attiva nella mucosa infiammata dei pazienti con RCU [50].

Lo stress ossidativo è inoltre correlato al microbiota, infatti durante l'infiammazione intestinale la disbiosi può generare direttamente ROS oppure accelerare la produzione di NOS e ossido nitrico da parte dell'ospite tramite l'attivazione dei macrofagi, responsabile del danno al DNA, alla base del processo di cancerogenesi [51,52].

Da un punto di vista molecolare, l'attivazione dello stress ossidativo è legata soprattutto alla sintesi di TNF- α , il quale facilita la generazione di superossido nelle IEC attraverso l'attivazione di NOX: lo stress ossidativo, di conseguenza, contribuisce all'attivazione del processo infiammatorio nelle IBD [53]. Quindi, pur non conoscendo l'esatta eziopatogenesi delle IBD, può essere considerato lo stress ossidativo come un potenziale fattore coinvolto nell'esordio, nella progressione e nella gravità della malattia, piuttosto che una semplice conseguenza dell'infiammazione cronica della mucosa intestinale: sono necessari ulteriori studi per capire se il danno ossidativo può avere potenziali implicazioni nel monitoraggio e nel trattamento delle IBD (*Figura 8*).

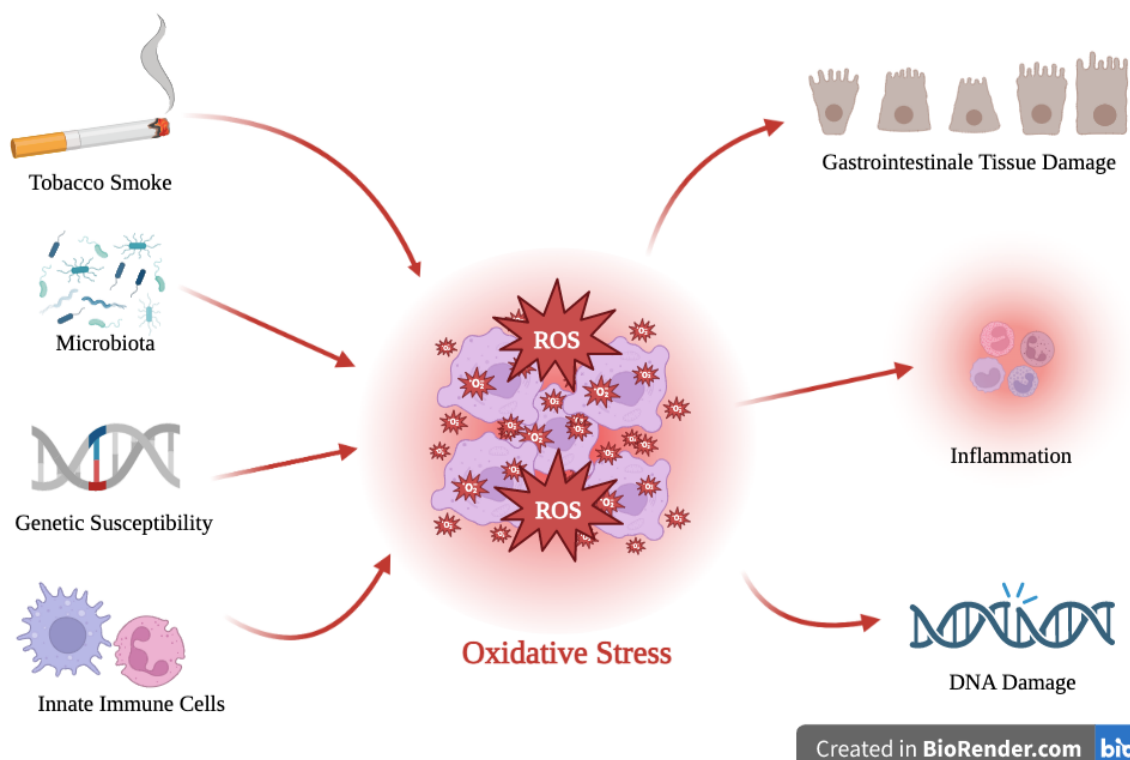


Figura 8: Stress ossidativo nelle IBD.

2.3.2. Biomarcatori di stress ossidativo

La ricerca si è interessata notevolmente alla possibilità di individuare biomarcatori di stress ossidativo come potenziali marker diagnostici, differenziali e di progressione delle IBD: *Krzystek-Korpacka et al.* [54] ne hanno fatto una revisione sistematica, dimostrando come ancora le conoscenze rimangano piuttosto limitate, soprattutto nella popolazione pediatrica.

Tra i marcatori diagnostici di stress ossidativo nelle IBD e in particolare tra i composti pro-ossidanti, NO è stato il più frequentemente valutato, trovato elevato sia nella saliva sia nella mucosa dei pazienti con IBD [55,56]. Anche gli enzimi pro-ossidanti come MPO [57], COX2 [58], NOX2 [58] e NOS2 [58,59] sono stati trovati elevati. Per quanto riguarda gli antiossidanti enzimatici, se per SOD, CAT e GPX c'è una grande discordanza nei risultati, per l'attività di paraoxonasi 1 (PON1) si è riscontrato un calo sia nella MC sia nella RCU [60]. Tra gli antiossidanti non proteici il più utilizzato è l'albuminemia, la quale si riduce nelle IBD indipendentemente dal tipo e dall'attività di malattia [43]. Un altro parametro valutato è il cosiddetto stato antiossidante totale o capacità antiossidante totale (rispettivamente TAS o TAC), ovvero

una misura che riflette la potenza di un campione nel resistere all'azione pro-ossidante: misurato nel plasma, sembra essere diminuito sia nella MC sia nella RCU [43], ma esclusivamente nei pazienti adulti e non in quelli pediatrici [61]. Anche un aumento del rapporto Cu/Zn si associa a condizioni di stress ossidativo [62]. Per quanto riguarda le vitamine, se i carotenoidi si sono dimostrati essere ridotti nelle IBD, lo stesso non vale per la vitamina C ed E, le quali non sempre hanno dimostrato una correlazione significativa [54]. Tra i marcatori associati alla perossidazione lipidica, la malonodialdeide (MDA) è stata ritrovata elevata nei tessuti, negli eritrociti, nella saliva e nel plasma in diversi studi [54], mentre l'8-iso-prostaglandina F₂α (8-iso-PGF₂α), analizzata nelle urine, è stata trovata significativamente aumentata nella MC degli adulti e inalterata nei pazienti pediatrici [63,64]. Gli alcani gassosi, valutati nell'aria espirata, sono elevati nella MC [65]. Anche le sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*, TBARS), misura indiretta di MDA, è aumentato nelle IBD [66]. Diversi studi [54,57,63,67] hanno inoltre dimostrato l'accumulo di prodotti proteici di ossidazione avanzata (*Advanced Oxidation Protein Products*, AOPP) nel siero, marcatori di danno ossidativo delle proteine. Infine, tra i marcatori di danno ossidativo del DNA, l'8-idrossi-2'-deossiguanosina (8-OHdG) è stato il più valutato, significativamente elevato nei leucociti dei pazienti con MC e RCU [44,68]. Tra i marcatori differenziali TAS è significativamente ridotto nel plasma dei pazienti con IBD rispetto a pazienti con disturbi gastrointestinali non infiammatori [69]. Tra i marcatori di progressione si è osservato come NO sia più alto nelle IBD in fase attiva rispetto a quella inattiva, così come l'attività di PON1 e GPX è ridotta nella IBD attiva rispetto alla malattia inattiva [54,70].

Uno dei limiti più impattanti dei marcatori dello stress ossidativo, e più in generale dei marcatori, è che non sono sempre attendibili, soprattutto nella popolazione pediatrica: infatti, la possibilità di ottenere materiale su cui fare ricerca è più complicata di quella degli adulti, inoltre, la semplice estrapolazione dei risultati dei marcatori ottenuti negli adulti, senza una previa convalida nella popolazione pediatrica, rischia di non avere successo, in quanto non seguono gli stessi meccanismi di fondo. È dunque importante investire sulla ricerca dei marcatori nella popolazione pediatrica [54,70,71].

2.3.3. Terapia antiossidante

Il razionale dietro il trattamento delle IBD è di ridurre l'infiammazione a livello intestinale: gli approcci terapeutici tradizionali, infatti, sono utilizzati per antagonizzare l'infiammazione e alleviare i sintomi delle IBD. Questi agenti però sono spesso causa di effetti collaterali e possono provocare intolleranza ai farmaci se assunti per lungo periodo: è fondamentale quindi monitorare la terapia farmacologica, personalizzandola in base alle esigenze del paziente. Inoltre, sono aumentate le richieste di approcci alternativi o complementari al trattamento tradizionale e la terapia antiossidante sembra essere una valida soluzione. Alcuni metodi terapeutici non convenzionali con effetti antiossidanti come gli inibitori della generazione di ROS, gli ormoni e gli interventi dietetici possono avere meno effetti collaterali, costi inferiori e migliori risposte terapeutiche [3].

Le strategie terapeutiche tradizionali, ovvero immunosoppressori, corticosteroidi e anticorpi anti-TNF, non hanno un'azione esclusivamente antinfiammatoria, ma è stato dimostrato come l'effetto terapeutico sia in parte dovuto alla loro attività antiossidante: il 5-ASA, gli immunosoppressori e i corticosteroidi possiedono capacità dirette di *scavenging* dei radicali liberi, mentre gli anti-TNF, diminuendo i livelli di TNF- α , hanno un effetto antiossidante indiretto [39,72].

Tra i metodi terapeutici antiossidanti non convenzionali si trovano gli inibitori della generazione di ROS, in cui si distinguono gli inibitori della COX-2 [73], gli inibitori della angiotensina II tipo 1 (ACEI) e gli inibitori della idrossimetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reduttasi (statine). Tra gli ACEI, il telmisartan inibisce la produzione di ROS, sopprime la perossidazione lipidica, rimuove $\cdot\text{NO}$ e aumenta i livelli di GSH e SOD, come riportato nello studio di *Arab et al.* [74] in un modello animale. *Maheshwari et al.* [75] invece, dimostrano come l'uso di simvastatina e rosuvastatina attenui lo stress ossidativo in un modello murino, diminuendo l'attività di MPO e la perossidazione lipidica e aumentando l'attività di SOD.

Come terapia ormonale non tradizionale la melatonina (MEL) è stata testata con successo: diversi studi sperimentali e clinici hanno dimostrato come MEL elimini i radicali liberi durante la fase iniziale e avanzata di IBD [76] e moduli enzimi antiossidanti come SOD e GPX [77].

Tra le sostanze sintetiche N-acetilcisteina (NAC) è in grado di eliminare i radicali liberi e i metalli coinvolti nella generazione dei ROS [78]: inoltre, *Amrouche-Mekkioui et al.* [79] hanno dimostrato nei modelli murini come NAC riduca l'ossidazione dei lipidi e delle proteine, aumenti l'attività antiossidante di GSH e CAT e migliori lo stato antiossidante nel colon. Un'altra sostanza sintetica è la propionil-L-carnitina (PLC), la quale può sopprimere la generazione di ROS e rimuovere radicali liberi [80,81]. Anche la SOD modificata è stata introdotta negli studi clinici per il forte effetto terapeutico antiossidante nelle IBD [82,83].

I probiotici sembrano avere un importante effetto antiossidante: i ceppi più comunemente usati sono i *Lactobacillus* e i *Bifidobacterium*, i quali sono coinvolti nella rimozione dei ROS riducendo le attività di MPO e ossido nitrico, aumentando l'attività di SOD, CAT e GPX e aumentando i livelli di GSH [84,85].

Altre categorie importanti di antiossidanti che possono avere un significato terapeutico sono rappresentate dagli antiossidanti naturali come i polifenoli e i micronutrienti, entrambi introdotti con la dieta. Tra gli antiossidanti naturali i polifenoli sono un gruppo molto ampio di metaboliti sotto classificati in flavonoidi e non flavonoidi, che si possono ritrovare nella frutta e nella verdura. I flavonoidi comprendono flavan-3-oli, flavoni, isoflavoni, flavonoli, diidroflavonoli, flavanoni, proantociani, antociani, calconi, diidrocalconi e auron. I non flavonoidi comprendono acidi fenolici, stilbeni, lignani, cumarine, curcuminoidi e tanniti. Le fonti alimentari più importanti includono caffè, tè, frutta e verdura, cacao, prodotti a base di soia, noci, olio d'oliva, vino rosso, cereali e cereali integrali [86]. In generale, i polifenoli hanno caratteristiche non solo antiossidanti, ma anche antinfiammatorie e immunomodulatorie, regolando diversi geni coinvolti nell'infiammazione come il fattore nucleare kappa B (*Nuclear Factor kappa B*, NF- κ B), il fattore 2 correlato al fattore nucleare-eritroide 2 (*Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2*, Nrf-2), trasduttori del segnale e attivatori della trascrizione (*Signal Transducer and Activator of Transcription*, STAT) e il pathway della proteina chinasi attivata dai mitogeni (*Mitogen-Activated Protein Kinase*, MAPK). Inoltre, inibiscono la produzione di molteplici citochine infiammatorie, tra cui TNF- α , promuovono l'attività di alcuni antiossidanti intracellulari come SOD e GPX [87,88], eliminano direttamente i radicali liberi ed interrompono alcune vie di segnalazione redox. Sono in grado di stabilizzare le giunzioni strette della mucosa intestinale, riducendone così la

permeabilità, migliorano il microbiota sano dell'intestino e la produzione di acidi grassi a catena corta (*Short Chain Fatty Acid*, SCFA), essenziali per l'omeostasi della mucosa [3]. In *Tabella 9* sono inseriti i principali polifenoli e le loro fonti alimentari.

POLIFENOLI	FONTI ALIMENTARI	AZIONE ANTIOSSIDANTE
RESVERATROLO	Uva rossa, frutti di bosco e arachidi.	Riduzione dei livelli di MDA, dell'attività di MPO e di NOS nel colon [89].
CURCUMINA	Curcuma e curry in polvere.	Riduzione della perossidazione lipidica, di ROS, di RNS e aumento degli enzimi antiossidanti [90].
QUERCETINA	Mela, mirtilli, peperoni.	Scavenger di ROS, chelante del ferro e modulatore del GSH [91].
CATECHINE	Tè verde.	Riduzione dell'attività di MPO, dei livelli di MDA, aumento di SOD e di GPX [92].
ANTOCIANI	Frutti di bosco.	Modulazione del TLR4 e del microbiota intestinale [93].
ALTRI (MIRICETINA, NARIGENINA, KOLAVIRON, AMENTOFLAVONE)	Uva, arancia.	Scavenger di ·NO, riduzione della perossidazione lipidica, aumento dell'attività di SOD e di GSH [94].

Tabella 9: Principali polifenoli, fonti alimentari di riferimento e loro azione antiossidante. MDA = malonodialdeide; MPO = mieloperossidasi; NOS = ossido nitrico sintasi; ROS = specie reattive dell'ossigeno; RNS = specie reattive dell'azoto; GSH = glutatione; SOD = superossido dismutasi; GPX = glutatione perossidasi; TLR4= Toll Like Receptor 4; ·NO = ossido nitrico.

Altre sostanze antiossidanti estratte da piante naturali che potrebbero essere utili alla progettazione futura di farmaci contro le IBD sono il timo, la citronella e l'estratto di zenzero, tuttavia sono indispensabili ulteriori prove di efficacia e sicurezza, in quanto possono presentare problemi di tossicità epatica e renale [3,95]. Particolari alimenti funzionali per la terapia delle IBD sono il latte di cammello e l'olio d'oliva: il latte di cammello è ad alto contenuto di sali minerali (calcio, ferro, magnesio, rame e zinco),

vitamine (A, B2, C ed E), insulina e lattoferrina con effetti antiossidanti e antinfiammatori ed è carente di grassi, colesterolo, proteine e zuccheri [96]. L'olio d'oliva attiva enzimi antiossidanti come CAT, SOD e GPX e regola la risposta immunitaria alleviando i sintomi delle IBD [97].

Infine, tra i micronutrienti con effetto antiossidante si trovano le vitamine A, C ed E, minerali come Zn e Se e acidi grassi polinsaturi (*PolyUnsaturated Fatty Acid*, PUFA). Tra questi ultimi, gli acidi grassi omega-3, che si trovano in noci, pesce e semi di lino, sono i più efficaci nell'attenuare l'infiammazione delle IBD, in quanto riducono l'espressione di TNF- α e di citochine infiammatorie [98].

2.4. Progetto OxIBDiet

L'idea che lo stress ossidativo, a fronte delle numerose evidenze precedentemente riportate, sia un fattore coinvolto nell'insorgenza e nell'evoluzione delle IBD, ha posto le basi per la realizzazione del progetto OxIBDiet: questo progetto di ricerca, finalizzato dal Ministero della Salute, prevede l'esecuzione di uno studio distinto in due fasi, in cui si pone l'obiettivo di valutare la relazione presente tra stress ossidativo e IBD nel paziente adulto e nel paziente pediatrico, sollevando diverse questioni: lo squilibrio redox è un meccanismo patologico primitivo o secondario nell'esordio e nell'evoluzione delle IBD? Ha un ruolo diverso tra le IBD del bambino e le IBD dell'adulto? Quali potrebbero essere gli effetti di un trattamento dietetico antiossidante?

Il progetto di ricerca in questione prevede una prima fase di studio preliminare, di natura osservazionale, dove l'obiettivo è la valutazione dello squilibrio ossidativo nei pazienti IBD rispetto ai controlli ed in relazione alle caratteristiche della malattia e ai fattori genetici. In particolare, viene valutato il livello di squilibrio redox e la condizione di stress ossidativo in bambini e adulti con IBD rispetto a un gruppo di controllo (soggetti sani) attraverso la valutazione della capacità antiossidante totale (TAC), inoltre vengono confrontati altri parametri dello squilibrio redox tra il gruppo di soggetti IBD e i controlli, attraverso la valutazione dei livelli intracellulari di radicali liberi, dell'attività enzimatica e del livello degli enzimi antiossidanti, dei composti antiossidanti a basso peso molecolare, della perossidazione lipidica e del danno ossidativo al DNA. Infine, la prima fase prevede la valutazione della correlazione tra

determinate varianti genetiche di geni implicati nella difesa da stress ossidativo, il livello di stress ossidativo e le caratteristiche della malattia (in termini di severità ed estensione). La seconda fase di studio, di natura interventistica, oggetto della tesi, prevede la valutazione dell'effetto antiossidante di un trattamento dietetico per un periodo di 12 settimane in soggetti IBD rispetto ad una dieta standard sullo stato di stress ossidativo e sull'infiammazione nelle IBD.

2.4.1. Studio preliminare

Lo studio preliminare ha già fornito importanti informazioni utili come punto di partenza per lo studio dietetico. L'obiettivo principale era definire lo stato ossidativo e la capacità antiossidante dei bambini e degli adulti con IBD rispetto a un gruppo di controllo, identificandone inoltre le varianti genetiche, implicate nello stress ossidativo. La capacità antiossidante totale, valutata misurando i livelli di FRAP (capacità ferro-riducente del plasma, *Ferric Reducing Antioxidant Power*), è risultata notevolmente ridotta nei pazienti IBD pediatrici rispetto al gruppo di controllo e rispetto agli adulti affetti da IBD, con elevata significatività statistica (*Figura 9*). Questo dato emerge per la prima volta in ambito pediatrico, in quanto la riduzione dell'attività antiossidante totale nelle IBD era già stata descritta in studi condotti su pazienti adulti [69].

FRAP (ferric reducing ability of plasma)

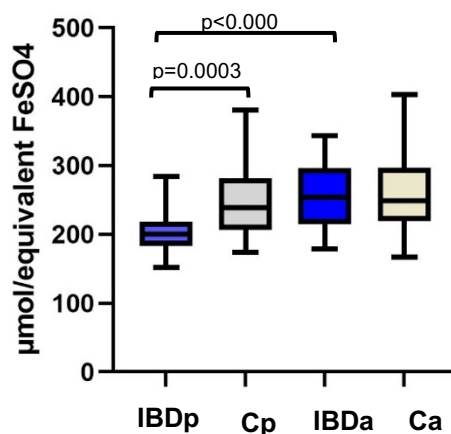


Figura 9: Distribuzione dei valori di FRAP nei pazienti IBD (adulti e pediatrici) e nei controlli (adulti e pediatrici).

IBDp = IBD pediatrici; Cp = controlli pediatrici; IBDa = IBD adulti; Ca = controlli adulti.

Allo stesso modo, i prodotti dell'ossidazione avanzata delle proteine (AOPP) sono risultati significativamente aumentati nei bambini con IBD rispetto ai controlli e nei pazienti affetti da IBD (adulti e bambini) rispetto ai controlli totali (*Figura 10*), in accordo con i dati della letteratura per il paziente adulto [99,100,101]. Inoltre, i livelli di AOPP sono risultati aumentati nei pazienti con MC rispetto ai pazienti con RCU (*Figura 11*).

AOPP (Oxidation Protein Products)

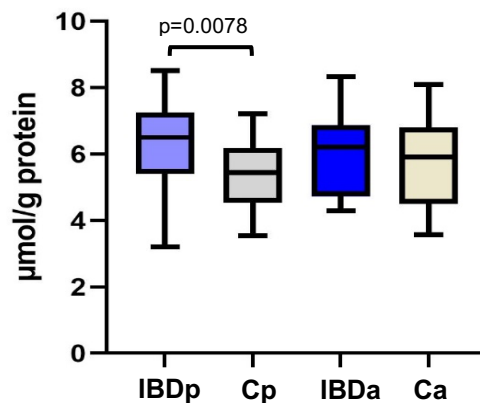


Figura 10: Distribuzione dei valori di AOPP nei pazienti IBD (adulti e pediatrici) e nei controlli (adulti e pediatrici).
 IBDp = IBD pediatrici; Cp = controlli pediatrici; IBDa = IBD adulti; Ca = controlli adulti.

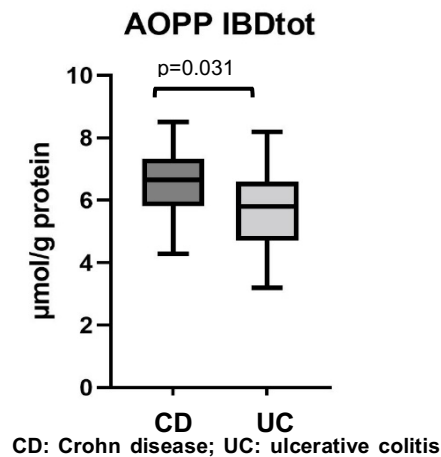


Figura 11: Confronto dei valori di AOPP tra i pazienti con MC e RCU.

In conclusione, è stato possibile affermare che lo squilibrio redox è già evidente in età pediatrica e si modifica nel corso della malattia: tutto ciò potrebbe giustificare un possibile ruolo dello stress ossidativo come evento precoce nella patogenesi e una

possibile implicazione nelle caratteristiche di malattia e nell'aging. Il *background* fornito dalla prima fase ha quindi posto le basi per valutare se un trattamento antiossidante fosse efficace per il controllo dell'inflammazione nelle IBD.

3. OBIETTIVO

L'ipotesi di lavoro è che lo squilibrio redox, responsabile dello stress ossidativo, non sia una semplice conseguenza della flogosi cronica intestinale, ma sia un potenziale fattore chiave coinvolto nell'eziopatogenesi delle IBD, nel loro decorso, nelle complicanze e più in generale nell'evoluzione della malattia: avere una corretta gestione dell'omeostasi ossidante-antiossidante del tratto gastrointestinale potrebbe avere importanti risvolti terapeutici.

Lo scopo di questa tesi è valutare l'efficacia di un trattamento dietetico antiossidante per un periodo di dodici settimane in soggetti pediatrici con IBD rispetto ad una dieta mediterranea e ad una dieta libera: in particolare, vengono confrontati gli indici di attività di malattia, la QoL, i parametri e i biomarcatori dello stress ossidativo tra l'inizio e il termine del trattamento dietetico per ogni paziente e per ogni gruppo di soggetti sottoposto al trattamento antiossidante, rispetto ai gruppi che seguono la dieta mediterranea e la dieta libera.

Questo studio dietetico fa parte del progetto di ricerca OxIBDiet finalizzato dal Ministero della Salute che prevede una prima fase in cui si valuta il livello di squilibrio redox e la condizione di stress ossidativo in bambini e adulti con IBD, rispetto a un gruppo di controllo (soggetti sani). A questo si aggiunge la valutazione della correlazione di determinate varianti genetiche implicate nella difesa antiossidante, nel livello di stress ossidativo e nelle caratteristiche di malattia. Per ultimo, il progetto di ricerca prevede lo studio dietetico nella popolazione pediatrica e in quella adulta. La possibilità di individuare un sottogruppo di pazienti con IBD che possa rispondere in maniera efficace alla dieta antiossidante, affiancata alla terapia farmacologica, può aiutare a personalizzare la strategia terapeutica del bambino. Questo consentirà di mantenere la malattia in fase di remissione a lungo termine, di evitare complicanze di

malattia ed effetti collaterali farmacologici con più agevolezza: nessuno approccio terapeutico, infatti, risulta perfetto per ogni paziente.

4. MATERIALI E METODI

4.1. Studio preliminare

4.1.1. Criteri di inclusione ed esclusione

Lo studio prevede per la prima fase l'arruolamento di 40 bambini di età compresa tra i 6 e i 18 anni e di 40 adulti di età compresa tra i 18 e gli 80 anni. I soggetti arruolati devono avere una diagnosi di IBD effettuata secondo i criteri Porto definiti dall'ESPGHAN per la popolazione pediatrica e secondo le linee guida ECCO-ESGAR per la popolazione adulta, in varie fasi di malattia (es. esordio, remissione o ricaduta). Per la definizione dell'attività di malattia vengono utilizzati per la MC gli indicatori wPCDAI e HBI: in wPCDAI per la popolazione pediatrica si definisce remissione <12,5, attività lieve tra 12,5-40, attività moderata tra 40-57,5, attività severa >57,5, mentre per HBI nella popolazione adulta si definisce remissione <5, attività lieve tra 5-7, attività moderata tra 8-16, attività severa >16. Per la RCU e per la IBD-U si utilizzano il PUCAI nel bambino (<10 remissione, 10-34 attività lieve, 35-64 attività moderata, >65 severa) e il Mayo score nell'adulto (<2 remissione, 2-4 attività lieve, 5-7 attività moderata, >7 severa).

Sono esclusi dallo studio i pazienti con enterostomia, neoplasie in atto o storia di neoplasie nei 10 anni precedenti, malattie cardiovascolari (tra cui cardiopatie congenite corrette o non corrette che necessitano di farmaci cardioattivi, cardiopatia ischemica, scompenso cardiaco, aterosclerosi, ictus, ipertensione arteriosa, soggetti in terapia antiaggregante), malattia di Alzheimer, diabete mellito di tipo 2 e gravidanza. Sono inoltre esclusi soggetti che richiedono un trattamento dietetico specifico per condizioni come la malattia celiaca, l'insufficienza renale cronica, le malattie metaboliche congenite, dislipidemie e iperuricemia. I pazienti con IBD vengono arruolati nell'ambito di uno dei controlli clinici a cui solitamente vengono sottoposti (alla diagnosi o durante il *follow up*).

Per ogni soggetto con IBD è arruolato un soggetto di controllo senza IBD nell'ambito degli ambulatori di Clinica Pediatrica e Clinica di Gastroenterologia tra coloro che accedono per effettuare accertamenti e devono essere sottoposti ad un prelievo ematico. Sono esclusi tra i controlli i familiari di primo grado dei soggetti con IBD e coloro che presentano i criteri clinici di esclusione precedentemente illustrati per i soggetti con IBD. Sono inclusi solo i soggetti con IBD e controlli che firmano il consenso informato (soggetti maggiorenni) o i cui genitori (soggetti minorenni) firmano il consenso.

4.1.2. Valutazioni cliniche e di laboratorio

Per ogni paziente e per ogni controllo vengono valutati parametri clinici e di laboratorio. Tra i parametri clinici sono valutati l'età, il sesso, l'etnia, peso, altezza, BMI, malattie pregresse, terapie in atto, pregressi interventi chirurgici, specifiche diete seguite (dieta priva di lattosio, priva delle proteine del latte vaccino, dieta vegetariana o vegana, dieta priva di glutine, dieta di esclusione di un singolo alimento) e supplementazioni vitaminiche. Solo per i casi sono valutate anche il tipo di malattia (MC, RCU, IBD-U), l'estensione di malattia alla diagnosi e all'ultima rivalutazione endoscopica secondo i criteri di Paris e Montreal, età alla diagnosi, eventuali manifestazioni extraintestinali (es. febbre, manifestazioni cutanee, articolari, oculari, epato-biliari), attività di malattia (wPCDAI e HBI nella MC, PUCAI e Mayo score nella RCU e IBD-U e il PGA), terapia in atto (corticosteroidi, immunosoppressori, farmaci biologici), eventuali interventi chirurgici (es. ileostomia, colostomia, colectomia, ileo-*pouch*, fistolectomia, resezione intestinale) e nutrizione enterale (parziale o totale).

Per i parametri di laboratorio ogni soggetto reclutato è sottoposto a prelievo ematico, urinario e delle feci dopo 8 ore di digiuno, valutando emocromo, PCR, VES, albumina, urea, creatinina, glicemia, ALT, zinco, ferritina, vitamina A, E, C, D, colesterolo totale, colesterolo HDL, trigliceridi, calprotectina fecale e parametri indicativi di stress ossidativo.

Tra i parametri indicativi di stress ossidativo sono presenti:

1. Capacità antiossidante totale (TAC): per la sua determinazione si utilizza la capacità ferro-riducente del plasma (*Ferric Reducing Antioxidant Power*, FRAP) valutata attraverso un saggio colorimetrico;

2. ORAC (capacità di assorbimento dei radicali dell'ossigeno, *Oxygen Radical Absorbance Capacity*): si basa sull'ossidazione di una sonda fluorescente da parte dei radicali;
3. I prodotti di perossidazione lipidica, valutati attraverso l'analisi dei livelli plasmatici delle sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico (TBARS), misurati usando un ELISA TBARS *Assay Kit* (Cayman Chemical, USA);
4. I prodotti di ossidazione proteica (AOPP), misurati utilizzando la Cloramina T come standard di riferimento per la calibrazione. I valori di AOPP sono calcolati in base alla concentrazione delle proteine plasmatiche ed espressi in $\mu\text{mol}/\text{mg}$ di proteine;
5. I livelli intracellulari di ROS nelle cellule mononucleate da sangue periferico, misurati mediante spettrofluorometria a flusso;
6. L'attività degli enzimi antiossidanti intracellulari e plasmatici (SOD, GST, GPX, GSR e CAT), valutata tramite specifici kit. L'attività enzimatica e i livelli di glutatione sono misurati sia nel plasma sia nelle cellule PMN mediante analisi spettrofotometrica. L'attività della glutatione reduttasi (GSR) è analizzata mediante il *Glutathione Reductase Assay Kit* (Cayman Chemical, USA), che ne valuta indirettamente l'attività enzimatica tramite la misurazione dell'ossidazione del NADPH. L'attività della glutatione S-transferasi (GST) è analizzata mediante il *Glutathione S-Transferase Assay Kit* (Cayman Chemical, USA). L'attività della glutatione perossidasi (GPX) è analizzata mediante *Glutathione Peroxidase Assay Kit* (Cayman Chemical, USA). Per l'attività della catalasi (CAT) è utilizzato il *Catalase Assay Kit* (Cayman Chemical, USA). L'attività dell'enzima superossido dismutasi (SOD) è misurata utilizzando *Superoxide Dismutase Activity Assay Kit* (Cayman Chemical, USA);
7. La concentrazione di glutatione totale (GSH + GSSG), misurata tramite *Glutathione Assay Kit* (Cayman Chemical, USA). Le concentrazioni di GSH e GSSH sono valutate solamente per le cellule polimorfonucleate.

4.2. Studio dietetico

4.2.1. Criteri di inclusione ed esclusione

Tra i soggetti pediatrici e adulti con IBD precedentemente reclutati che rientrano nei criteri di inclusione sovramenzionati è proposto in maniera prospettica l'inclusione nello studio dietetico. I pazienti in attività severa di malattia, in terapia steroidea, in nutrizione enterale esclusiva e pazienti con stenosi non sono reclutati per questa parte. I pazienti che accettano sono suddivisi in tre gruppi mediante lista di randomizzazione:

1. Gruppo A: riceve 12 settimane di trattamento dietetico antiossidante (in aggiunta alle terapie farmacologiche già in atto);
2. Gruppo B: riceve 12 settimane di un piano alimentare secondo le linee guida generali di una dieta mediterranea (in aggiunta alle terapie farmacologiche già in atto);
3. Gruppo C: mantenuto a dieta libera.

4.2.2. Prescrizioni dietetiche

Ai gruppi A e B viene fornito uno schema dietetico elaborato da un biologo nutrizionista con specifico programma dietetico (*WinFood*), tenendo conto, quanto possibile, delle abitudini alimentari dei pazienti.

La dieta antiossidante include le principali molecole e sostanze antiossidanti che hanno mostrato in letteratura un ruolo utile nelle IBD (*Allegato 9.2*): flavonoidi (resveratrolo e curcumina), olio d'oliva, vitamine A, C ed E, carotenoidi, selenio ed acidi grassi omega-3. Nello schema di trattamento dietetico antiossidante è garantita una quantità giornaliera di polifenoli >650 mg/die, con assunzione media giornaliera di 3264 mg e un'azione antiossidante degli alimenti assunti pari a 10265 $\mu\text{mol/die}$, espresso in ORAC totale. A ciascun soggetto sono forniti gratuitamente un estrattore di succo e una quota di alimenti a lunga conservazione sulla base della loro composizione nutrizionale e del loro valore antiossidante (es. marmellate e succhi a base di mirtillo, sambuco, ribes, uva, rosa canina, melograno; tè verde/rooibos, tisane a base di verbena, tiglio, olivo, melissa; spezie ed erbe aromatiche come zenzero, curcuma, origano, timo, maggiorana, rosmarino; frutta secca come mandorle, noci brasiliane, anacardi e noci; cioccolato extra-fondente, olio extravergine d'oliva, riso rosso, ceci, lenticchie, sgombro,...).

Ai soggetti del gruppo B sono invece fornite linee guida generali per una dieta mediterranea, limitando la quantità giornaliera media di polifenoli a valori <650 mg/die, con azione antiossidante totale ORAC pari a 3334 $\mu\text{mol/die}$ (*Allegato 9.3*).

4.2.3. Valutazioni cliniche e di laboratorio

Nei soggetti sottoposti a trattamento dietetico (gruppi A e B) al tempo zero (T0) viene somministrato un questionario di frequenza alimentare per valutare la dieta abituale, quindi, a sei e a dodici settimane (T6 e T12 rispettivamente) viene valutata l'aderenza alla dieta proposta mediante specifico questionario (*Allegato 9.4*). Inoltre, per tutti i pazienti reclutati nello studio dietetico, viene valutata la qualità di vita attraverso l'utilizzo del questionario IMPACT-III, valido strumento per misurare la QoL nei bambini con IBD [102]: il questionario contiene 35 domande suddivise in sei categorie (sintomi intestinali, sintomi sistemici, impatto emotivo, impatto sociale, percezione della propria fisicità, impatto di terapia e di eventuali interventi chirurgici), per le quali sono presenti cinque opzioni di risposta, secondo la scala *Likert*. Ad ogni risposta viene assegnato un punteggio (da 0 a 4), il quale viene trasformato linearmente in un range da 0 a 100 (0=100, 1=75, 2=50, 3=25, 4=0): la somma dei vari punteggi trasformati, poi divisa per il numero totale di domande, permette di ottenere il punteggio finale (*Figura 12*).

IMPACT-III
Italiano/Italian-Italia/Italy

QUESTIONARIO SULLA QUALITA' DELLA VITA PER BAMBINI E RAGAZZI CON UNA MALATTIA INFIAMMATORIA CRONICA INTESTINALE

Istruzioni

Qui sotto troverai un questionario che contiene 35 domande per bambini che hanno una malattia infiammatoria cronica intestinale (malattia di Crohn o colite ulcerosa).

Le domande riguardano la tua vita con una malattia infiammatoria cronica intestinale. Alcune domande ad esempio riguardano i dolori che puoi avere, altre le sensazioni o le preoccupazioni che puoi provare. Dopo ciascuna domanda vedrai dei quadratini che corrispondono a cinque possibili risposte.

Sei pregato di mettere una crocetta nel quadratino che meglio corrisponde alla tua risposta.

Ad esempio :

La domanda è : Quanta paura hai delle tigri?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Per niente paura	Un pò paura	Abbastanza paura	Paura	Molta paura

Così, questa persona ha **paura** delle tigri.

<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Per niente paura	Un pò paura	Abbastanza paura	Paura	Molta paura

Questa persona ha un **pò paura** delle tigri.

Per favore, rispondi a **tutte le domande!** Se non capisci una domanda, chiedi aiuto a qualcuno.

Buona fortuna per la compilazione del questionario egrazie in anticipo per il tuo impegno!

Figura 12: Questionario IMPACT-III.

La qualità della vita correlata alla salute è misurata al T0 ed al T12 anche tramite EQ-5D-Y: il questionario prevede una prima parte di valutazione delle difficoltà, dei dolori, dei fastidi e delle preoccupazioni nelle varie attività di vita quotidiana del bambino ed una seconda parte in cui viene riferita la percezione della propria salute con un punteggio da 0 (peggior salute) a 100 (miglior salute immaginabile) (*Allegato 9.5*).

Viene inoltre utilizzato lo “stressometro” al T0 e al T12, una semplice misura in cui il paziente esprime su una scala da 0 a 10 il grado di stress percepito: secondo le linee guida ECCO 2015 rappresenta uno strumento semplice e valido nella valutazione dello stress psicologico nei pazienti con IBD (*Figura 13*) [103].

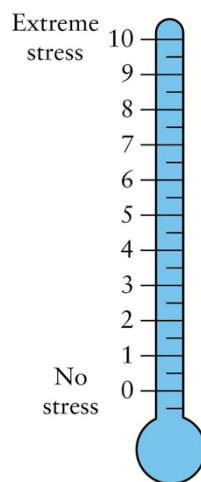


Figura 13: Stressometro. Il paziente deve cerchiare il numero (da 0 a 10) che meglio descrive lo stress dell'ultima settimana [103].

In tutti i soggetti sono poi valutati e confrontati al T0 e al T12 diversi parametri clinici e di laboratorio:

1. Misure antropometriche: peso, indice di massa corporea (*Body Mass Index*, BMI) e i relativi z-score;
2. Indici di attività di malattia (wPCDAI e PUCAI);
3. Parametri biochimici: emocromo, VES, PCR, albumina, urea, creatinina, glicemia, ALT, zinco, ferritina, vitamina A, E, C, D, colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi;
4. Calprotectina fecale;
5. Biomarker dello stress ossidativo: concentrazione di glutazione totale, livelli intracellulari di ROS, FRAP, sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico

(TBARS), capacità di assorbimento dei radicali dell'ossigeno (ORAC plasmatico e cellulare), prodotti di ossidazione proteica (AOPP) e l'attività espressa in nmol/min/mL o nmol/min/mg o U/mL dei principali enzimi antiossidanti (GPX, GST, GSR, CAT, SOD).

4.3. Metodi statistici

L'analisi statistica è condotta utilizzando il software GraphPad 9.1: le variabili continue o categoriali sono analizzate mediante test parametrico (t di Student) se normalizzate e mediante test non parametrico (test di Mann-Whitney) se non normalizzate. I dati con distribuzione non normale sono espressi come valori di mediana, mentre per i dati con distribuzione normale sono calcolate media e deviazione standard. Sono utilizzati il t-test e l'ANOVA per i campioni appaiati, mentre per le variabili qualitative nominali è utilizzato il test chi quadrato (X^2). Valori di $p < 0,05$ vengono considerati statisticamente significativi.

5. RISULTATI

Nel periodo compreso tra dicembre 2019 e aprile 2023 sono arruolati 80 soggetti con diagnosi di IBD, di cui 40 adulti e 40 bambini, e 80 controlli sani (40 adulti e 40 bambini).

Successivamente allo studio preliminare, nello studio dietetico, degli 80 individui già arruolati, sono scelti prospetticamente 50 soggetti con diagnosi di IBD in fase di remissione clinica o di attività lieve di malattia, di cui 25 bambini e 25 adulti in un periodo compreso tra maggio 2021 e aprile 2023. Nel dettaglio dello studio dietetico pediatrico, i 25 bambini reclutati vengono suddivisi in tre gruppi tramite un processo di randomizzazione: lo studio viene eseguito in aperto dove per 12 settimane i tre gruppi sono sottoposti rispettivamente a dieta antiossidante (gruppo A: 10 pazienti), dieta mediterranea (gruppo B: 10 pazienti) e dieta libera (gruppo C: 5 pazienti).

5.1. Caratteristiche cliniche dei pazienti all'arruolamento

Nel gruppo A (10 pazienti), sottoposto a trattamento dietetico antiossidante, 6 soggetti (60%) sono affetti da malattia di Crohn, 4 soggetti (40%) da rettocolite ulcerosa. Quattro soggetti (40%) sono di sesso maschile. Il 100% dei pazienti è in remissione clinica al momento dell'arruolamento, mentre un unico paziente (10%) presenta valori di calprotectina fecale >250 mg/kg. Un unico paziente (10%) presenta uno stato di malnutrizione in difetto, così come un solo soggetto (10%) è obeso. Il 90% dei pazienti è sottoposto a terapia biologica e l'80% associa una terapia immunomodulante con azatioprina. Tre soggetti (33%) assumono mesalazina, mentre nessuno segue una terapia nutrizionale. Un paziente (10%) riceve una supplementazione vitaminica con vitamina D. Nessun paziente è stato sottoposto ad intervento chirurgico prima del reclutamento e 4 pazienti (40%) presentano manifestazioni extraintestinali IBD correlate: 2 pazienti con manifestazioni cutanee, un paziente con patologia articolare e un paziente con manifestazioni epatobiliari.

Nel gruppo B (10 pazienti), sottoposto a dieta mediterranea, 7 soggetti (70%) sono affetti da MC e 3 soggetti (30%) da RCU. 5 pazienti (50%) sono di sesso maschile. Il 90% dei pazienti si trova in uno stato di remissione clinica di malattia al momento dell'arruolamento, un soggetto ha una malattia in attività moderata secondo wPCDAI. Il

20% dei pazienti ha una calprotectina fecale >250 mg/kg. Nessun paziente (0%) è obeso o malnutrito in difetto al momento del reclutamento. Nove pazienti (90%) sono in trattamento con farmaci biologici, 2 pazienti (20%) in terapia con 5-ASA e 6 pazienti (60%) assumono azatioprina. Nessun paziente è in trattamento con terapia nutrizionale. Nessun soggetto ha subito un pregresso intervento chirurgico IBD-correlato. Tre soggetti (30%) ricevono una supplementazione vitaminica con vitamina D ed infine solo un paziente (10%) presenta una patologia articolare come manifestazione extraintestinale.

Nel gruppo C (5 pazienti), a dieta libera, 4 soggetti (80%) sono affetti da MC e solamente uno (20%) da RCU. Quattro pazienti sono di sesso maschile (80%). L'80% dei soggetti si trova in uno stato di remissione clinica di malattia al momento del reclutamento e solamente un soggetto ha una malattia in attività lieve secondo PUCAL. Solo un soggetto (20%) presenta livelli di calprotectina fecale >250 mg/kg. Solamente un paziente (20%) si presenta in uno stato di malnutrizione in difetto. Tutti i pazienti (100%) sono in terapia biologica, 3 pazienti (60%) assumono una terapia con immunomodulanti. Nessun paziente è in trattamento con 5-ASA. Due pazienti (40%) assumono un'integrazione di vitamina D. Nessun soggetto presenta manifestazioni extraintestinali e solo un soggetto (20%) è stato sottoposto ad intervento chirurgico di fistulectomia, evenienza IBD-correlata.

I pazienti appartenenti ai tre gruppi risultano paragonabili in termini di età, genere, tipo di malattia, numero di pazienti in remissione e prevalenza dei livelli di calprotectina fecale >250 mg/kg (*Tabella 10*).

	Dieta antiossidante (n=10)	Dieta mediterranea (n=10)	Dieta libera (n=5)	P
Età (media, DS)	14,0 (3,1)	13,4 (3,2)	16,1 (1,9)	0,28
Maschi (n, %)	4 (40)	5 (50)	4 (80)	0,34
Anni dalla diagnosi (media, DS)	2,2 (3,4)	1,7 (1,6)	2,4 (1,3)	0,29
Malattia di Crohn (n, %)	6 (60)	7 (70)	4 (80)	0,73
Rettocolite ulcerosa (n, %)	4 (40)	3 (30)	1 (20)	0,73
Remissione clinica (n, %)	10 (100)	9 (90)	4 (80)	0,39
Calprotectina fecale <250	9 (90)	8 (80)	4 (80)	0,80

	Dieta antiossidante (n=10)	Dieta mediterranea (n=10)	Dieta libera (n=5)	P
mg/kg (n, %)				
5-ASA (n, %)	3 (33)	2 (20)	0 (0)	0,16
Immunomodulatori (n, %)	8 (80)	6 (60)	3 (60)	0,58
Biologici (n, %)	9 (90)	9 (90)	5 (100)	0,76
Supplementazione di vitamina D (n, %)	1 (10)	3 (30)	2 (40)	0,37
Manifestazioni extraintestinali (n, %)	4 (40)	1 (10)	0 (0)	0,11
Interventi chirurgici (n, %)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0,12
Z-score peso (media, DS)	0,037 (0,8)	-0,640 (0,7)	-1,170 (1,3)	0,06
Z-score altezza (media, DS)	-0,12 (0,7)	-0,23 (0,7)	-0,96 (1)	0,15
Z-score BMI (media, DS)	0,097 (1,1)	-0,620 (0,8)	-0,830 (1,3)	0,19
Stato nutrizionale (n, %):				
Malnutrizione in difetto	1 (10)	0 (0)	1 (20)	0,65
Obesità	1 (10)	0 (0)	0 (0)	

Tabella 10: Caratteristiche cliniche dei pazienti IBD reclutati nello studio dietetico al T0. DS = deviazione standard.

5.2. Prescrizioni dietetiche all'arruolamento

Sono valutate le somministrazioni dietetiche nel gruppo A e nel gruppo B al momento della prescrizione, osservando tramite t test se le medie nel gruppo in trattamento con la dieta antiossidante e nel gruppo con la dieta mediterranea siano differenti in modo significativo.

Nel gruppo A, in trattamento con dieta antiossidante, la quantità di Kcal giornaliera si attesta intorno a 2091, con una quantità di proteine di 92,5 g, 90,3 g di lipidi e 239,2 g di carboidrati giornalieri. La quantità giornaliera di fibre si attesta intorno ai 29,1 g. Per le vitamine, la quota giornaliera di vitamina A è di 1594 µg, di vitamina C 178,8 mg e 20,1 mg di vitamina E. La quantità giornaliera di zinco si attesta a 15 mg e 111 µg/die è la quota di selenio. Per ultimo, la quantità di polifenoli giornaliera si aggira intorno a 3264 mg, con un'azione antiossidante totale degli alimenti assunti pari a 10265 µmol/die, espresso in ORAC.

Nel gruppo B, sottoposto a dieta mediterranea, la quantità di Kcal giornaliera si attesta intorno a 2022, con una quantità di proteine di 101,8 g, 69,5 g di lipidi e 262 g di carboidrati giornalieri. La quantità giornaliera di fibre si attesta intorno ai 33 g. Per le vitamine, la quota giornaliera di vitamina A è di 1504 µg, di vitamina C 294,2 mg e 17,2 mg di vitamina E. La quantità giornaliera di zinco si attesta a 15,6 mg e 89,7 µg/die è la quota di selenio. Per ultimo, la quantità di polifenoli giornaliera si aggira intorno a 425 mg, con un'azione antiossidante totale degli alimenti assunti pari a 3334 µmol/die, espresso in ORAC.

I pazienti appartenenti ai due gruppi presentano valori di Kcal/die, proteine, carboidrati, vitamina A, selenio e zinco non significativamente differenti da un punto di vista statistico, mentre presentano differenze statisticamente significative in termini di quantità giornaliera di lipidi, fibre, vitamina C, vitamina E, polifenoli e ORAC (*Tabella II*). Nel dettaglio si osserva come la quota di fibre e vitamina C sia significativamente più elevata nei pazienti sottoposti a dieta mediterranea, mentre la quantità di lipidi, vitamina E, polifenoli e ORAC sia più elevata in maniera significativa nei soggetti sottoposti a trattamento con dieta antiossidante (*Figura 14 e Figura 15*).

Prescrizione calorica e dei nutrienti	Dieta antiossidante	Dieta mediterranea	P
Kcal/die	2091	2022	0,538
Proteine (g)	92,5	101,8	0,161
Lipidi (g)	90,3	69,5	<0,001
Carboidrati (g)	239,2	262,0	0,179
Fibre (g)	29,1	33,0	0,018
Vitamina A (µg)	1594	1504	0,140
Vitamina C (mg)	178,8	294,2	<0,001
Vitamina E (mg)	20,1	17,2	0,003
Zinco (mg)	15,0	15,6	0,456
Selenio (µg)	111,0	89,7	0,246
Polifenoli (mg)	3264	425	<0,001
ORAC (µmol)	10265	3334	<0,001

Tabella II: Prescrizione calorica e dei nutrienti al basale.

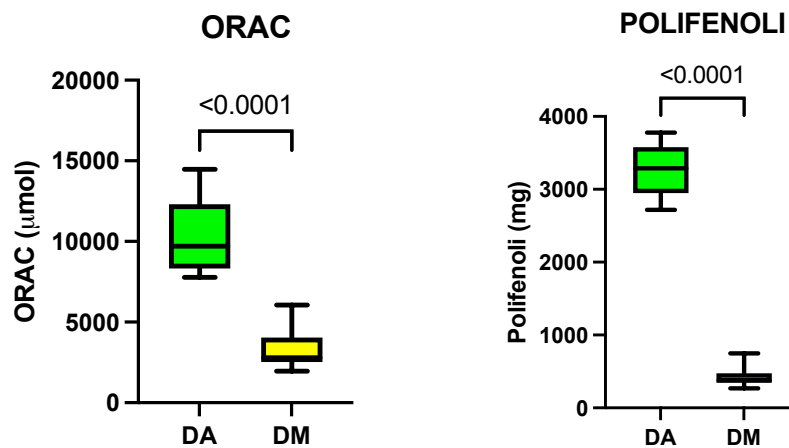


Figura 14: Confronto livelli ORAC e polifenoli alla prescrizione tra gruppo in DA (dieta antiossidante) e DM (dieta mediterranea).

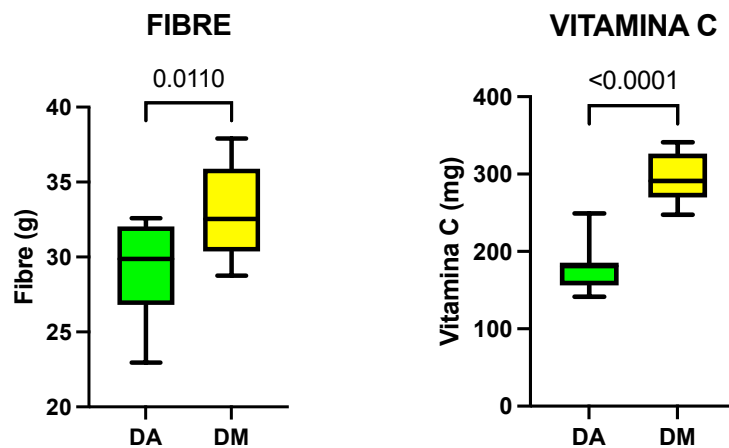


Figura 15: Confronto livelli di fibre e vitamina C alla prescrizione tra gruppo in DA (dieta antiossidante) e DM (dieta mediterranea).

5.3. Modifiche dei parametri clinici e di laboratorio durante i trattamenti dietetici

Nel gruppo A l'aderenza alla dieta proposta a 12 settimane viene definita elevata nel 60% dei casi, media nel 30% e bassa nel 10% dei casi. Nel gruppo B l'aderenza alla dieta proposta a 12 settimane viene definita elevata nel 60% dei casi, media nel 30% e bassa nel 10% dei casi (Figura 15).

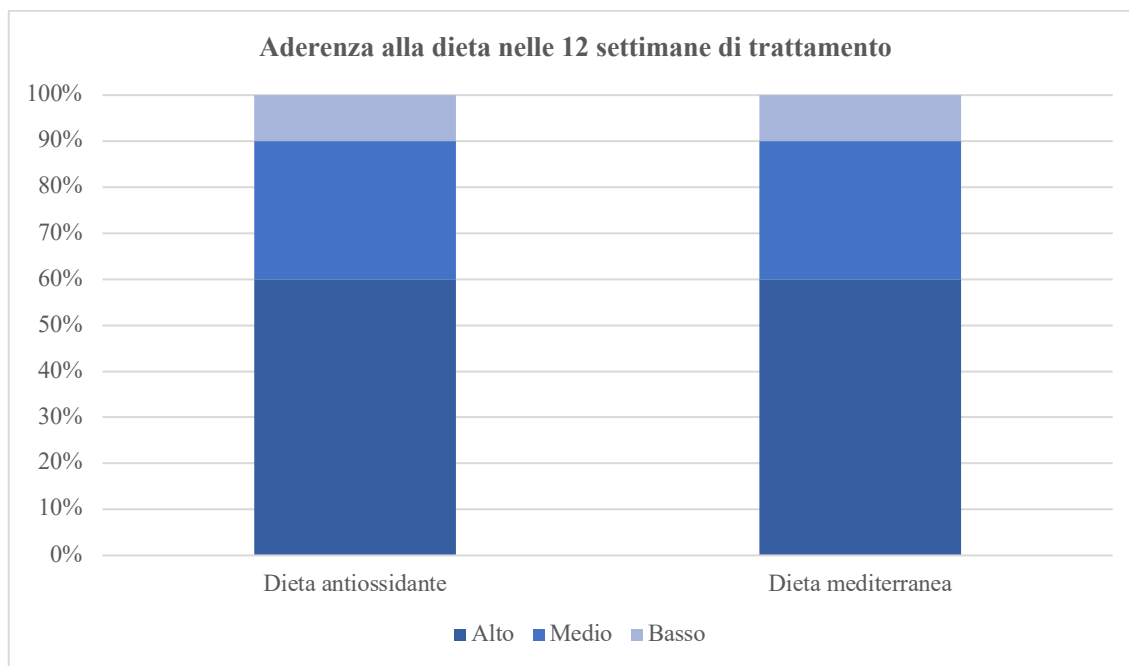


Figura 16: Aderenza alla dieta nel gruppo A e nel gruppo B a 12 settimane di trattamento. *P value = ns.*

Non si segnalano eventi avversi severi nei tre gruppi in studio. Viene segnalato almeno un evento avverso minore nel 20% dei pazienti in dieta antiossidante, nel 30% dei pazienti in dieta mediterranea e nel 30% dei pazienti in dieta libera ($p=0,75$).

5.3.1. Parametri nutrizionali

Da un punto di vista nutrizionale nel gruppo A si può osservare come la dieta antiossidante determini un aumento statisticamente significativo in termini di apporto di fibre, zinco e polifenoli, con un valore di ORAC al T12 di 11150 ($p=0,004$). Nei soggetti del gruppo B invece, la dieta mediterranea è associata ad una riduzione significativa dell'apporto di vitamine A, E, C e del selenio, con un apporto di polifenoli aumentato in maniera significativa e un ORAC al T12 di 5890 ($p<0,0001$) (Tabella 12).

	Gruppo A T0 (DA)	Gruppo A T12 (DA)	P	Gruppo B T0 (DM)	Gruppo B T12 (DM)	P
Kcal/die	1619	1888	0,098	1792	1775	0,874
Proteine (g)	77,29	80,26	0,610	80,92	75,96	0,422
Lipidi (g)	65,84	79,24	0,091	70,50	65,80	0,390
Carboidrati	190,3	224,7	0,982	220,8	232,7	0,526

	Gruppo A T0 (DA)	Gruppo A T12 (DA)	P	Gruppo B T0 (DM)	Gruppo B T12 (DM)	P
(g)						
Fibre (g)	14,24	19,14	0,050	14,89	15,9	0,500
Vitamina A (µg)	762,1	966	0,109	1025	512,2	0,013
Vitamina C (mg)	129,4	150,7	0,450	110,5	46,34	<0,001
Vitamina E (mg)	12,87	12,78	0,956	13	10,68	0,002
Zinco (mg)	9,10	11,15	0,035	9,98	9	0,249
Selenio (µg)	37,22	120,1	0,064	54,63	38,82	0,031
Polifenoli (mg)	406,4	2321	<0,001	202,7	625,8	<0,001
ORAC (µmol)	3723	11150	0,004	1746	5890	<0,001

Tabella 12: T test per campioni appaiati per i parametri nutrizionali dei gruppi in dieta antiossidante e dieta mediterranea. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea.

L'analisi della varianza (ANOVA) mostra come nella dieta antiossidante l'apporto di fibre, vitamina A, vitamina C, selenio e polifenoli sia significativamente più elevato rispetto a una dieta mediterranea (Tabella 13). Anche l'ORAC è nettamente più elevato nella dieta antiossidante rispetto a una dieta mediterranea ($p < 0,0001$) (Figura 17).

	Δ DA	Δ DM	P
Kcal/die	+269	-17	0,342
Proteine (g)	+2,97	-4,16	0,928
Lipidi (g)	+13,41	-4,7	0,166
Carboidrati (g)	+34,41	+11,98	0,216
Fibre (g)	+4,9	+1	0,045
Vitamina A (µg)	+203,9	-512,9	0,015
Vitamina C (mg)	+21,3	-64,14	<0,001
Vitamina E (mg)	-0,09	-2,322	0,155
Zinco (mg)	+2,052	-0,986	0,101

	Δ DA	Δ DM	P
Selenio (μg)	+82,85	-15,82	0,015
Polifenoli (mg)	+1915	+423,1	<0,0001
ORAC (μmol)	+7427	+4144	<0,0001

Tabella 13: Analisi della varianza dei parametri nutrizionali dei gruppi in dieta antiossidante e dieta mediterranea. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea.

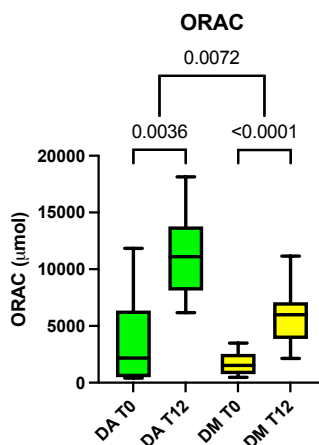


Figura 17: Confronto dei livelli ORAC tra T0 e T12 nel gruppo in DA (dieta antiossidante) e DM (dieta mediterranea).

5.3.2. Parametri clinici

Per quanto riguarda i dati clinici e in particolare per i parametri di stress psicologico e di valutazione della qualità di vita percepita, tutti e tre i gruppi dimostrano un punteggio IMPACT-III aumentato al T12, quindi in miglioramento, ma in maniera non statisticamente significativa, mentre il livello di stress, misurato tramite lo stressometro, dimostra una riduzione statisticamente significativa solo nel gruppo in dieta mediterranea ($p=0,02$). La misurazione della percezione dello stato di salute tramite scala EQ-5D-Y dimostra un miglioramento in tutti e tre i gruppi, ma statisticamente significativo solo nel gruppo con dieta antiossidante (Tabella 14).

	IMPACT-III (media)	Stressometro (media)	EQ-5D-Y (media)
Gruppo A T0 (DA)	79,29	3,44	79,00
Gruppo A T12 (DA)	80,25	4,25	86,10
P	0,15	0,64	0,01
Gruppo B T0 (DM)	82,15	3,90	82,50
Gruppo B T12 (DM)	83,58	2,50	85,50
P	0,51	0,02	0,26
Gruppo C T0 (DL)	76,40	6,90	77,30
Gruppo C T12 (DL)	77,16	4,60	79,30
P	0,82	0,09	0,19

Tabella 14: T test per campioni appaiati per i parametri di stress psicologico e di valutazione della qualità di vita.

Il confronto dei delta tra i tre gruppi dimostra una differenza statisticamente significativa nella valutazione della qualità di vita tramite score EQ-5D-Y, con un incremento maggiore della percezione di salute nel gruppo in dieta antiossidante rispetto agli altri due (*Figura 18*). Per gli altri parametri non si osservano differenze significative (*Tabella 15*).

	Δ DA	Δ DM	Δ DL	P
IMPACT-III	+2,29	+1,43	+0,76	0,86
Stressometro	+0,44	-1,40	-1,90	0,10
EQ-5D-Y	+7,1	+3	+2	0,03

Tabella 15: Analisi della varianza dei parametri di stress psicologico e qualità di vita. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

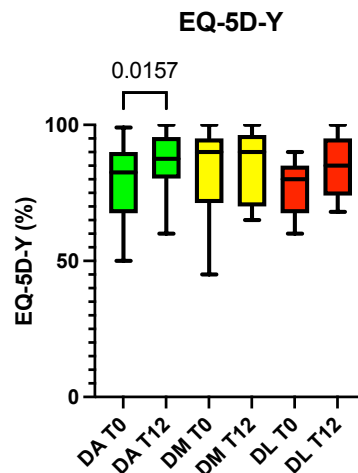


Figura 18: Stato di salute percepito secondo EQ-5D-Y nei tre gruppi al T0 e T12. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

Per quanto attiene agli altri parametri clinici, tra quelli auxologici, il peso dei soggetti che ricevono la dieta antiossidante aumenta in maniera statisticamente significativa ($p=0,04$), anche lo z-score del peso è associato ad un aumento significativo ($p=0,04$). Allo stesso tempo, sempre nel gruppo in dieta antiossidante, si osserva un corrispettivo aumento significativo del BMI, associato a un aumento del suo z-score, non statisticamente significativo. Infine, non emergono variazioni significative tra i tre gruppi nell'attività di malattia espressa in termini di wPCDAI/PUCAI al termine delle 12 settimane (Tabella 16).

	Peso (kg) (media)	Z-score peso (media)	BMI (kg/m ²) (media)	Z-score BMI (media)	Attività di malattia (wPCDAI/PUCAI) (media)
Gruppo A T0 (DA)	51,25	0,037	21,03	0,097	4,25
Gruppo A T12 (DA)	53,13	0,134	21,75	0,224	5,00
P	0,049	0,047	0,043	0,180	0,750
Gruppo B T0 (DM)	45,19	-0,639	18,66	-0,623	2,75
Gruppo B T12 (DM)	46,08	-0,576	18,58	-0,713	1,50

	Peso (kg) (media)	Z-score peso (media)	BMI (kg/m²) (media)	Z-score BMI (media)	Attività di malattia (wPCDAI/PUCAI) (media)
P	0,341	0,520	0,835	0,451	0,500
Gruppo C T0 (DL)	52,80	-1,160	19,78	-0,830	7,00
Gruppo C T12 (DL)	54,32	-1,100	20,16	-0,738	2,50
P	0,126	0,353	0,155	0,272	0,500

Tabella 16: T test per campioni appaiati per i parametri clinici. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

Tramite test ANOVA non si ottengono dati significativi, ad eccezione dello z-score del peso, in cui si ottiene un valore di $p=0,041$ (Tabella 17): c'è un incremento del delta dello z-score del peso nel gruppo in dieta antiossidante rispetto ai gruppi in dieta mediterranea e libera (Figura 19).

	Δ DA	Δ DM	Δ DL	P
Peso (kg)	+2,63	+0,89	+1,52	0,643
Z-score peso	+0,15	+0,06	+0,06	0,041
BMI (kg/m ²)	+0,75	-0,08	+0,38	0,332
Z-score BMI	+0,14	-0,09	+0,09	0,190
Attività di malattia (wPCDAI/PUCAI)	0	0	0	ns

Tabella 17: Analisi della varianza dei parametri auxologici. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

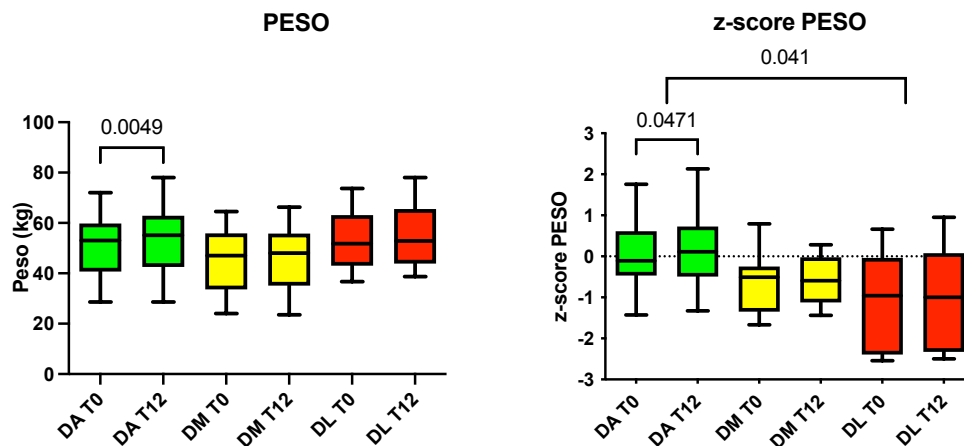


Figura 19: Peso e z-score del peso al T0 e T12. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

5.3.3. Parametri di laboratorio

Negli esami di laboratorio eseguiti al T0 e T12 nei tre gruppi non si notano particolari variazioni dei valori: degno di nota è il valore di calprotectina fecale che, pur non mostrando alterazioni statisticamente significative, si riduce nei gruppi sottoposti a dieta mediterranea e dieta antiossidante, rispetto al gruppo in dieta libera (*Tabella 18*).

	DA T0	DA T12	P	DM T0	DM T12	P	DL T0	DL T12	P
VES (mm/h)	13,9	15,6	0,26	6,8	13,22	0,29	14,50	10,75	0,10
PCR (mg/dL)	0,47	0,49	0,75	0,39	0,73	0,14	0,30	0,30	ns
Calprotectina fecale (µg/g)	131,5	127,3	0,89	200,8	134,2	0,09	170,4	179,5	0,56
Zinco (µg/dL)	82,88	112,00	0,31	109,60	99,40	0,43	96,50	90,40	0,97
Ferritina (ng/mL)	35,0	36,9	0,80	37,5	57,5	0,33	49,0	38,2	0,55
Vitamina A (µg/dL)	37,8	38,8	0,25	36,1	39,1	0,45	42,5	42,4	0,19
Vitamina C (mg/L)	7,52	9,49	0,038	8,32	6,48	0,045	6,04	7,54	0,181
Vitamina E	974	1046	0,25	901	910	0,87	984	906	0,72

	DA	DA	P	DM	DM	P	DL	DL	P
	T0	T12		T0	T12		T0	T12	

($\mu\text{g/dL}$)

Tabella 18: T test per campioni appaiati per i parametri di laboratorio. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

Anche il test ANOVA eseguito per i parametri di laboratorio non ha dato particolari variazioni significative: si può osservare una riduzione dei valori di calprotectina fecale nei due gruppi sottoposti a dieta antiossidante e mediterranea, rispetto al gruppo in dieta libera (Tabella 19 e Figura 20).

	Δ DA	Δ DM	Δ DL	P
VES (mm/h)	+1,7	+7,2	-0,6	0,66
PCR (mg/dL)	+0,02	+0,03	0	0,39
Calprotectina fecale ($\mu\text{g/g}$)	-4,2	-66,2	+11,0	0,95
Zinco ($\mu\text{g/dL}$)	+23,13	-17,56	+1,00	0,77
Ferritina (ng/mL)	+1,9	+20,0	-10,8	0,84
Vitamina A ($\mu\text{g/dL}$)	+4,62	+3,00	+1,75	0,81
Vitamina C (mg/L)	+2,15	-2,61	+1,50	0,20
Vitamina E ($\mu\text{g/dL}$)	+113,5	+9,3	-36,5	0,59

Tabella 19: Test ANOVA per i parametri di laboratorio. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

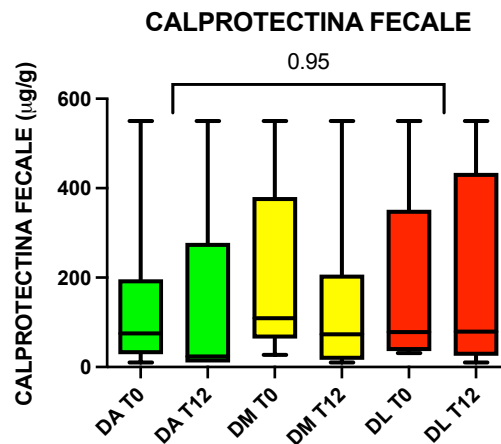


Figura 20: Calprotectina fecale al T0 e T12. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

5.3.4. Parametri di stress ossidativo

La valutazione dei biomarcatori di stress ossidativo tra T0 e T12 nel gruppo in trattamento con dieta antiossidante mostra un generale miglioramento dei parametri antiossidanti, con un risultato significativo in termini di FRAP ($p=0,009$). Anche nella dieta mediterranea si osserva una tendenza in miglioramento dei parametri antiossidanti, ma solo il valore AOPP risulta essere significativamente migliorato ($p=0,03$). Infine, nel gruppo dei soggetti a dieta libera si osserva una generale riduzione dei parametri antiossidanti, non associato a significato statistico: degno di nota è l'aumento significativo dei livelli plasmatici di SOD ($p=0,01$), così come la riduzione dei ROS ($p=0,04$) (Tabella 20).

	DA T0	DA T12	P	DM T0	DM T12	P	DL T0	DL T12	P
Glutazione (nmol/mg)	8,10	18,38	0,07	16,16	13,51	0,43	12,65	47,69	0,23
ROS (U)	87,32	90,03	0,82	57,64	80,98	0,17	97,8	61,48	0,04
FRAP (µmol/equivalenti FeSO ₄)	224,5	266,5	0,009	210,4	237,2	0,050	246	217,6	0,160
AOPP (µmol/equivalenti Cloramina)	5,51	4,65	0,06	5,16	4,24	0,03	4,00	4,30	0,12

	DA	DA	P	DM	DM	P	DL	DL	P
	T0	T12		T0	T12		T0	T12	
ORAC cellulare (trolox equivalenti)	1537	1017	0,15	926	998	0,83	961	228	0,14
ORAC plasmatico (trolox equivalenti)	8157	4391	0,09	8498	5709	0,08	3687	6228	0,32
GST (nmol/min/mL)	11,03	5,57	0,16	8,61	6,68	0,68	33,94	5,57	0,37
CAT plasmatico (nmol/min/mL)	36,18	19,22	0,06	24,87	20,73	0,60	19,06	6,42	0,06
SOD cellulare (U/mg)	5,04	5,69	0,82	4,82	7,51	0,04	3,23	3,58	0,78
SOD plasmatico (U/mL)	9,57	15,19	0,13	10,28	18,05	0,03	6,22	17,59	0,01

Tabella 20: T test per campioni appaiati per i biomarcatori dello stress ossidativo. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera; ROS = specie reattive dell'ossigeno; FRAP = capacità ferro-riducente del plasma; AOPP = prodotti dell'ossidazione avanzata delle proteine; ORAC = capacità di assorbimento dei radicali dell'ossigeno; GST = glutatione S-transferasi; CAT = catalasi; SOD = superossido dismutasi.

L'analisi della varianza dei tre gruppi è caratterizzata da un aumento significativo dei valori di glutatione cellulare nei soggetti in dieta libera ($p=0,023$). Allo stesso modo, si osserva un aumento significativamente più elevato nello stesso gruppo rispetto agli altri due per i valori di SOD plasmatici ($p=0,024$) (Figura 21). Si può osservare infine come i parametri FRAP e AOPP presentino valori rispettivamente in aumento e in riduzione nei gruppi in dieta antiossidante e mediterranea, con significato statistico (rispettivamente $p=0,017$ e $p=0,0012$), al contrario di ciò che accade nei pazienti in dieta libera (Tabella 21 e Figura 22).

	Δ DA	Δ DM	Δ DL	P
Glutazione (nmol/mg)	+4,74	-2,70	+35,04	0,023
ROS (U)	+2,71	+23,34	-36,32	0,152
FRAP (μmol/equivalenti FeSO ₄)	+42,0	+26,8	-28,4	0,017
AOPP (μmol/equivalenti Cloramina)	-0,86	-0,92	+0,30	0,001
ORAC cellulare (trolox equivalenti)	-520,5	+71,3	-733,4	0,145
ORAC plasmatico (trolox equivalenti)	-3766	-2788	-2541	0,083
GST (nmol/min/mL)	-5,47	-1,70	-28,37	0,222
CAT plasmatico (nmol/min/mL)	-16,96	-4,13	-12,65	0,163
SOD cellulare (U/mg)	+0,64	+3,01	+0,34	0,375
SOD plasmatico (U/mL)	+5,62	+7,77	+11,37	0,024

Tabella 21: Test ANOVA per i biomarcatori di stress ossidativo. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera; ROS = specie reattive dell'ossigeno; FRAP = capacità ferro-riducente del plasma; AOPP = prodotti dell'ossidazione avanzata delle proteine; ORAC = capacità di assorbimento dei radicali dell'ossigeno; GST = glutatione S-transferasi; CAT = catalasi; SOD = superossido dismutasi.

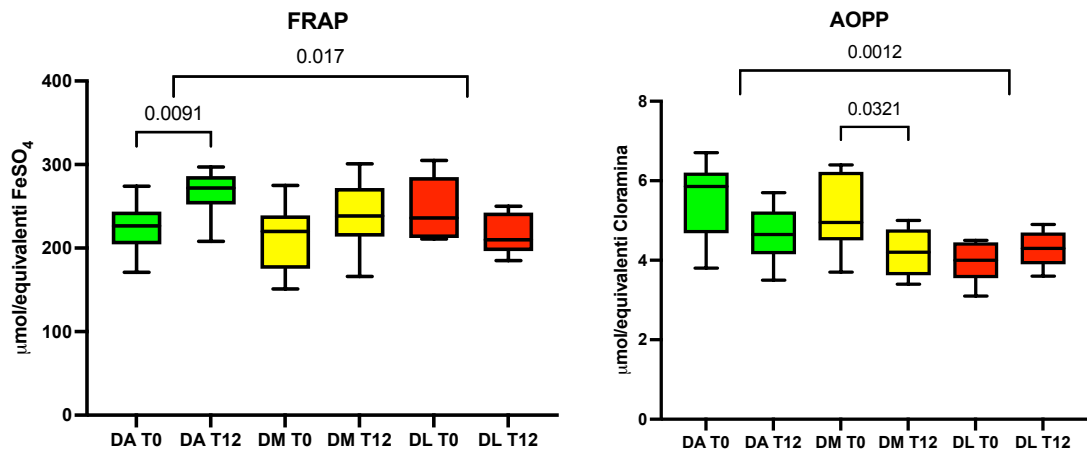


Figura 21: FRAP ed AOPP al T0 e T12. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera; FRAP = capacità ferro riducente del plasma.

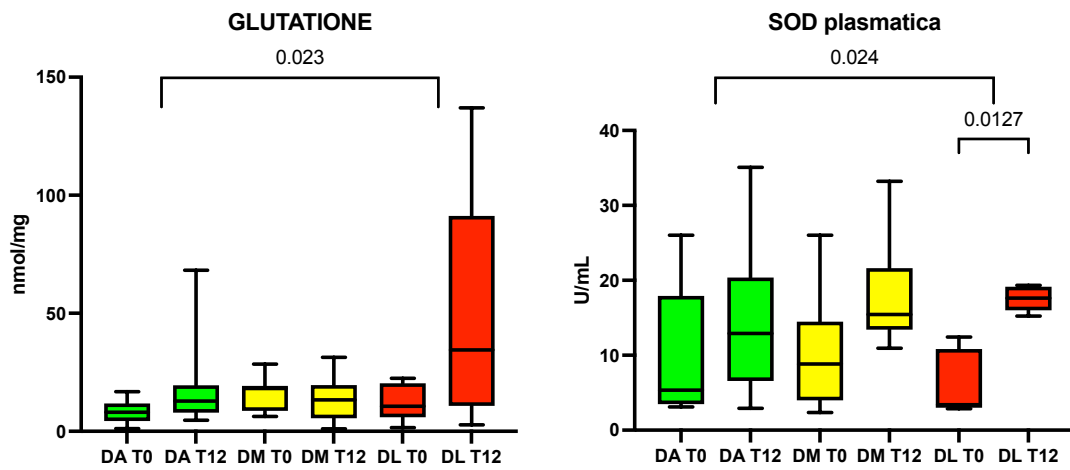


Figura 22: Glutathione e SOD plasmatica al T0 e T12. DA = dieta antiossidante; DM = dieta mediterranea; DL = dieta libera.

6. DISCUSSIONE

Le IBD sono malattie estremamente complesse, dove l'interazione di fattori ambientali, fattori genetici, del microbiota intestinale e del sistema immunitario gioca un ruolo importante nel loro esordio e nella loro evoluzione. Sono numerose le evidenze sperimentali in cui lo stress ossidativo viene rappresentato come processo alla base di questi molteplici meccanismi: individuare strategie terapeutiche alternative, tra cui quelle antiossidanti, potrebbe aiutare a controllare e mantenere lo stato di remissione di malattia. Sono tanti gli studi condotti su modelli animali e iniziano i primi studi clinici, soprattutto nell'adulto, per valutare l'efficacia di trattamenti antiossidanti innovativi [3]: il progetto OxIBDiet rappresenta un approccio innovativo in quanto mira a valutarne l'efficacia anche in ambito pediatrico per la prima volta. A questo si aggiunge l'importanza di individuare marcatori specifici di stress ossidativo: è necessario investire ulteriormente per ottenere parametri più attendibili, soprattutto nella popolazione pediatrica [54], in quanto non seguono gli stessi meccanismi di fondo dell'adulto.

I risultati emersi dallo studio preliminare sono stati fondamentali per poter avviare lo studio dietetico in cui valutare l'efficacia di un trattamento antiossidante nei soggetti IBD pediatrici, rispetto a un gruppo in dieta mediterranea e un altro in dieta libera. Lo studio preliminare dimostra infatti come i livelli di FRAP ed ORAC nei pazienti IBD pediatrici siano più bassi rispetto ai controlli e ai pazienti IBD adulti: lo stress ossidativo potrebbe eccedere le capacità antiossidanti enzimatiche e non enzimatiche in corso di malattia infiammatoria cronica, e ciò risulta essere particolarmente vero nel bambino, caratterizzato da un'immaturità dei meccanismi di difesa antiossidanti e da una gravità di malattia tendenzialmente maggiore nelle forme ad esordio giovanile. Anche i valori di AOPP si dimostrano più elevati nei soggetti IBD rispetto ai controlli: si può confermare quindi lo stress ossidativo un fattore chiave nelle IBD, in particolar modo nei soggetti pediatrici. Infine, dalla valutazione dell'attività degli enzimi antiossidanti emerge un significativo aumento di SOD e CAT nei pazienti affetti da IBD rispetto ai controlli, in particolar modo nelle IBD pediatriche: si può ipotizzare come un processo infiammatorio sistemico, generato e autoalimentato dalla produzione di ROS, stimoli l'attività degli enzimi antiossidanti.

La dieta antiossidante è stata concepita con l'idea di aumentare l'apporto di antiossidanti: l'azione antiossidante dei polifenoli è infatti ampiamente dimostrata in letteratura, a cui probabilmente si possono associare effetti antinfiammatori e immunomodulatori [87,88]. Si può osservare infatti come i valori di polifenoli nella dieta antiossidante prescritta siano effettivamente molto più alti rispetto alla dieta mediterranea, con un valore di ORAC più elevato.

Allo stesso tempo si può constatare una quota di fibre e vitamina C più elevata nella dieta mediterranea rispetto alla dieta antiossidante: ciò avvalorava le evidenze secondo cui l'azione della dieta mediterranea sia modulatoria sull'infiammazione intestinale e sul microbiota, tale da rappresentare il tipo di alimentazione raccomandata a tutti i soggetti con IBD [36,104]. Le fibre, infatti, hanno un importante impatto sulle IBD: come viene riportato nella recensione di *Swann et al.* [105], aiutano a ridurre l'infiammazione intestinale modificandone il pH e la permeabilità. Inoltre, è riconosciuta anche la capacità di modificare il microbiota intestinale, altro fattore coinvolto nell'eziopatogenesi [104].

Il confronto tra T0 e T12 mostra come la dieta antiossidante determini un apporto aumentato di fibre, vitamina A, vitamina C e polifenoli, che risulta inoltre maggiore rispetto alla dieta mediterranea in termini statistici: si può considerare quindi l'ipotesi di scegliere una dieta antiossidante nella gestione terapeutica delle IBD, in quanto l'apporto di molecole ad azione antiossidante (polifenoli, vitamina A e C), probiotica e antinfiammatoria (fibre) è maggiore. Ad ulteriore conferma, anche l'ORAC tra T0 e T12 aumenta in maniera significativa: questo parametro non solo migliora nella dieta antiossidante, ma anche nella dieta mediterranea, dimostrando come la stessa sia in grado di determinare un apporto antiossidante significativo, rispetto alla dieta libera.

Lo stato di salute percepito dai soggetti in studio è valutato nei tre gruppi con i più noti metodi di valutazione della QoL e con la misurazione dello stress percepito. I risultati ottenuti dimostrano un miglioramento significativo della qualità di vita percepita secondo EQ-5D-Y nel gruppo in dieta antiossidante rispetto al T0 e rispetto agli altri due gruppi, così come una riduzione dello stress percepito nei soggetti in dieta mediterranea: sembrerebbe che l'azione della dieta antiossidante impatti anche sullo stato di salute percepito dal bambino e questo è correlabile al numero di eventi avversi

che si verificano nel gruppo in dieta antiossidante in percentuale ridotta rispetto agli altri due gruppi.

La mancanza di significato degli altri due score può essere legata all'inclusione di soggetti solo in stato di remissione o attività lieve di malattia: l'esclusione di bambini con malattia attiva può aver limitato la valutazione di questi risultati.

Tra i parametri auxologici non si notano particolari variazioni, ad eccezione del peso e del suo z-score nel gruppo sottoposto a dieta antiossidante rispetto al T0: si osserva infatti un incremento ponderale significativo accompagnato da un incremento del BMI. In aggiunta, i valori dello z-score del peso confrontati con gli altri due gruppi dimostrano un miglioramento più importante nei soggetti in dieta antiossidante: è possibile che la dieta antiossidante migliori lo stato nutrizionale dei bambini, elemento divenuto di importanza fondamentale nella gestione terapeutica dei soggetti IBD [33].

L'attività di malattia è valutata tramite score (wPCDAI/PUCAI) e tramite valutazione della calprotectina fecale. Sebbene la valutazione clinica non dimostri particolari variazioni in termini di attività tra T0 e T12, la calprotectina fecale si riduce dopo 12 settimane di dieta antiossidante e mediterranea, ma non in quella libera. Nonostante si possa osservare una tendenza in miglioramento nei due gruppi sottoposti a dieta, l'analisi effettuata non fornisce dati significativi: anche in questo caso, è possibile che la selezione di soggetti in remissione o in attività lieve di malattia limiti la valutazione di questo risultato.

I parametri relativi allo stress ossidativo confermano l'efficacia della dieta antiossidante nel migliorare lo squilibrio redox presente nei soggetti IBD pediatrici rispetto alla dieta mediterranea e alla dieta libera: valutando infatti la capacità antiossidante totale, misurata in termini di FRAP, si può osservare un netto miglioramento nei soggetti sottoposti a dieta antiossidante e mediterranea, con un incremento più significativo nel primo gruppo. Si può osservare invece come la dieta libera sia associata ad una riduzione della capacità ferro riducente del plasma, anche se non statisticamente significativa.

L'efficacia della dieta antiossidante è inoltre dimostrabile attraverso la valutazione dei prodotti dell'ossidazione avanzata delle proteine (AOPP) che si riducono in maniera significativa nei due gruppi sottoposti a dieta, rispetto al gruppo tenuto in dieta libera: in

questo caso, anche la dieta mediterranea si è dimostrata efficace, rispetto alla dieta libera, nel ridurre la quantità di prodotti derivanti dallo stress ossidativo.

Di particolare rilievo sono i risultati relativi ai livelli di glutatione e di SOD plasmatica: paradossalmente si osservano valori molto elevati nei soggetti in dieta libera, rispetto ai soggetti sottoposti a dieta antiossidante e dieta mediterranea. È possibile che l'assenza di antiossidanti esogeni introdotti con la dieta determini un aumento dell'attività della superossido dismutasi e del glutatione come meccanismo di controbilanciamento: a livello cellulare e plasmatico i prodotti dello stress ossidativo, tendenzialmente più elevati nei soggetti IBD in dieta libera, potrebbero indurre la sintesi di enzimi e sistemi antiossidanti per combattere questo eccesso e mantenere un'omeostasi ossidante-antiossidante ottimale.

La gestione nutrizionale è un intervento necessario nel controllo della malattia infiammatoria intestinale del bambino, come viene riportato anche nella letteratura, sebbene ad oggi non siano presenti linee guida a riguardo [34]. Il nostro studio valuta per la prima volta l'efficacia di una dieta antiossidante nel bambino, dimostrando come tale trattamento sembri ripristinare lo squilibrio ossidativo nei soggetti IBD. Anche la dieta mediterranea si dimostra come valida alternativa, pur avendo effetti antiossidanti inferiori.

7. CONCLUSIONI

I dati ottenuti dallo studio preliminare dimostrano come lo stress ossidativo sia un processo patologico alla base delle IBD, in particolar modo nel soggetto pediatrico. In relazione a questo, lo studio dietetico mostra come effettivamente la dieta antiossidante sia in grado di ridurre i parametri di stress ossidativo rispetto a una dieta libera e a una dieta mediterranea. Lo squilibrio ossidativo che si presenta nei bambini IBD in dieta libera sembra ripristinarsi nei soggetti in dieta antiossidante, in maniera inferiore anche nella dieta mediterranea. La dieta di mantenimento antiossidante è una dieta ben accettata e sostenibile per i bambini IBD in remissione, osservando inoltre un miglioramento significativo dello stato nutrizionale (z-score del peso) e un miglioramento della salute percepita (EQ-5D-Y). Non si rilevano differenze in termini di parametri di attività di infiammazione/malattia con la dieta antiossidante rispetto alla dieta mediterranea: sebbene entrambe riducano i livelli di calprotectina fecale rispetto ai soggetti in dieta libera, lo studio non si associa a dati significativi.

La mancanza di significatività di alcuni dati riportati potrebbe essere legata a limiti relativi allo studio dietetico: una dimensione campionaria ridotta, la mancanza di *trial cross-over*, la valutazione contemporanea di soggetti con MC e RCU e il mancato reclutamento di pazienti con malattia in attività potrebbero essere i fattori principali correlati. I dati che si otterranno nello studio dietetico rivolto agli adulti IBD, da trattamenti dietetici a lungo termine e dall'inclusione di pazienti attivi permetterà di valutare con più significatività i risultati riguardo l'efficacia di una dieta antiossidante.

Si può concludere affermando che la gestione del bambino con IBD necessita assolutamente di un intervento di carattere nutrizionale, associato alle tradizionali terapie farmacologiche, in grado di mantenere la malattia in uno stato di remissione a lungo termine. Data l'esigenza di scegliere su misura del bambino IBD la strategia terapeutica più efficace e meglio tollerata, la dieta antiossidante può essere considerata una valida alternativa alla dieta mediterranea.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Yu YR, Rodriguez JR. Clinical presentation of Crohn's, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: Symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes. *Semin Pediatr Surg.* 2017; 26(6):349-355.
2. Rosen MJ, Dhawan A, Saeed SA. Inflammatory Bowel Disease in Children and Adolescents. *JAMA Pediatr.* 2015; 169(11):1053-60.
3. Tian T, Wang Z, Zhang J. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017:4535194.
4. 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):1147-1159.e4.
5. Wilson DC, Russell RK. Overview of paediatric IBD. *Semin Pediatr Surg.* 2017; 26(6):344-348.
6. Windsor JW, Kaplan GG. Evolving Epidemiology of IBD. *Curr Gastroenterol Rep.* 2019; 21(8):40.
7. Ye Y, Manne S, Treem WR, Bennett D. Prevalence of Inflammatory Bowel Disease in Pediatric and Adult Populations: Recent Estimates From Large National Databases in the United States, 2007-2016. *Inflamm Bowel Dis.* 2020; 26(4):619-625.
8. Alvisi P, Labriola F, Scarallo L et al. Epidemiological trends of pediatric IBD in Italy: A 10-year analysis of the Italian society of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition registry. *Dig Liver Dis.* 2022; 54(4):469-476.
9. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *J Immunol Res.* 2019; 2019:7247238.
10. Mehta M, Ahmed S, Dryden G. Immunopathophysiology of inflammatory bowel disease: how genetics link barrier dysfunction and innate immunity to inflammation. *Innate Immun.* 2017; 23(6):497-505.
11. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(1):91-9.
12. Lee SH, Kwon JE, Cho ML. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intest Res.* 2018; 16(1):26-42.

13. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis*. 2019; 13(2):144-164.
14. Levine A, Koletzko S, Turner D et al. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014; 58(6):795-806.
15. Levine A, Griffiths A, Markowitz J et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis*. 2011; 17(6):1314-21.
16. Turner D, Otley AR, Mack D et al. Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study. *Gastroenterology*. 2007; 133(2):423-32.
17. Dotson JL, Crandall WV, Zhang P et al. Feasibility and validity of the pediatric ulcerative colitis activity index in routine clinical practice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015; 60(2):200-4.
18. Sturm A, Maaser C, Calabrese E et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 2: IBD scores and general principles and technical aspects. *J Crohns Colitis*. 2019; 13(3):273-284.
19. Gajendran M, Loganathan P, Catinella AP, Hashash JG. A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Dis Mon*. 2018; 64(2):20-57.
20. Hyams JS, Ferry GD, Mandel FS et al. Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1991; 12(4):439-47.
21. Gajendran M, Loganathan P, Jimenez G et al. A comprehensive review and update on ulcerative colitis. *Dis Mon*. 2019; 65(12):100851.
22. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med*. 1987; 317(26):1625-9.
23. Magro F, Langner C, Driessen A et al. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2013; 7(10):827-51.

24. Crandall WV, Margolis PA, Kappelman MD, et al. Improved outcomes in a quality improvement collaborative for pediatric inflammatory bowel disease. *Pediatrics*. 2012; 129(4):e1030-41.
25. Crandall W, Kappelman MD, Colletti RB et al. ImproveCareNow: The development of a pediatric inflammatory bowel disease improvement network. *Inflamm Bowel Dis*. 2011; 17(1):450-7.
26. van Rheeën PF, Aloï M, Assa A et al. The Medical Management of Paediatric Crohn's Disease: an ECCO-ESPGHAN Guideline Update. *J Crohns Colitis*. 2020;jjaa161.
27. D'Haens G, Baert F, van Assche G et al. Early combined immunosuppression or conventional management in patients with newly diagnosed Crohn's disease: an open randomised trial. *Lancet*. 2008; 371(9613):660-667.
28. Torres J, Bonovas S, Doherty G et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment. *J Crohns Colitis*. 2020; 14(1):4-22.
29. Turner D, Ruemmele FM, Orlanski-Meyer E et al. Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 1: Ambulatory Care-An Evidence-based Guideline From European Crohn's and Colitis Organization and European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018; 67(2):257-291.
30. Turner D, Ruemmele FM, Orlanski-Meyer E et al. Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 2: Acute Severe Colitis-An Evidence-based Consensus Guideline From the European Crohn's and Colitis Organization and the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018; 67(2):292-310.
31. Raine T, Bonovas S, Burisch J et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Ulcerative Colitis: Medical Treatment. *J Crohns Colitis*. 2022;16(1):2-17.
32. Cai Z, Wang S, Li J. Treatment of Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 8:765474.
33. 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(4):687-708.

34. Khalili H. The Changing Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease: What Goes Up May Come Down. *Inflamm Bowel Dis.* 2020; 26(4):591-592.
35. Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015; 12(4):205-17.
36. Papada E, Amerikanou C, Forbes A, Kaliora AC. Adherence to Mediterranean diet in Crohn's disease. *Eur J Nutr.* 2020; 59(3):1115-1121.
37. Jarmakiewicz-Czaja S, Ferenc K, Filip R. Antioxidants as Protection against Reactive Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease. *Metabolites.* 2023; 13(4):573.
38. Santolini J, Wootton SA, Jackson AA, Feelisch M. The Redox architecture of physiological function. *Curr Opin Physiol.* 2019; 9:34-47.
39. Pereira C, Grácio D, Teixeira JP, Magro F. Oxidative Stress and DNA Damage: Implications in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2015; 21(10):2403-17.
40. Bourgonje AR, Feelisch M, Faber KN et al. Oxidative Stress and Redox-Modulating Therapeutics in Inflammatory Bowel Disease. *Trends Mol Med.* 2020; 26(11):1034-1046.
41. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol.* 2020; 94(3):651-715.
42. Guan G, Lan S. Implications of Antioxidant Systems in Inflammatory Bowel Disease. *Biomed Res Int.* 2018; 2018:1290179.
43. Yuksel M, Ates I, Kaplan M et al. Is Oxidative Stress Associated with Activation and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease? *J Med Biochem.* 2017; 36(4):341-348.
44. Beltrán B, Nos P, Dasí F et al. Mitochondrial dysfunction, persistent oxidative damage, and catalase inhibition in immune cells of naïve and treated Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2010; 16(1):76-86.
45. Kosaka T, Yoshino J, Inui K et al. Involvement of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 and superoxide dismutase polymorphisms in ulcerative colitis. *DNA Cell Biol.* 2009; 28(12):625-31.

46. Hertervig E, Nilsson A, Seidegård J. The expression of glutathione transferase mu in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 1994; 29(8):729-35.
47. Wang H, Yu M, Ochani M et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature.* 2003; 421(6921):384-8.
48. Eliakim R, Karmeli F, Cohen P et al. Dual effect of chronic nicotine administration: augmentation of jejunitis and amelioration of colitis induced by iodoacetamide in rats. *Int J Colorectal Dis.* 2001; 16(1):14-21.
49. Guo X, Wang WP, Ko JK, Cho CH. Involvement of neutrophils and free radicals in the potentiating effects of passive cigarette smoking on inflammatory bowel disease in rats. *Gastroenterology.* 1999; 117(4):884-92.
50. Sasaki M, Joh T. Oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents. *J Clin Biochem Nutr.* 2007; 40(1):1-12.
51. Maddocks OD, Scanlon KM, Sonnenberg MS. An *Escherichia coli* effector protein promotes host mutation via depletion of DNA mismatch repair proteins. *mBio.* 2013; 4(3):e00152-13.
52. Maddocks OD, Short AJ, Sonnenberg MS et al. Attaching and effacing *Escherichia coli* downregulate DNA mismatch repair protein in vitro and are associated with colorectal adenocarcinomas in humans. *PLoS One.* 2009; 4(5):e5517.
53. Kuwano Y, Tominaga K, Kawahara T et al. Tumor necrosis factor alpha activates transcription of the NADPH oxidase organizer 1 (NOXO1) gene and upregulates superoxide production in colon epithelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2008; 45(12):1642-52.
54. Krzystek-Korpacka M, Kempniński R, Bromke MA, Neubauer K. Oxidative Stress Markers in Inflammatory Bowel Diseases: Systematic Review. *Diagnostics (Basel).* 2020; 10(8):601.
55. Jahanshahi G, Motavasel V, Rezaie A et al. Alterations in antioxidant power and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in saliva of patients with inflammatory bowel diseases. *Dig Dis Sci.* 2004; 49(11-12):1752-7.

56. Keshavarzian A, Banan A, Farhadi A et al. Increases in free radicals and cytoskeletal protein oxidation and nitration in the colon of patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 2003; 52(5):720-8.
57. Baskol M, Baskol G, Koçer D et al. Advanced oxidation protein products: a novel marker of oxidative stress in ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol*. 2008; 42(6):687-91.
58. Christophi GP, Rong R, Holtzapple PG et al. Immune markers and differential signaling networks in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012; 18(12):2342-56.
59. Kumagae Y, Hirahashi M, Takizawa K et al. Overexpression of MTH1 and OGG1 proteins in ulcerative colitis-associated carcinogenesis. *Oncol Lett*. 2018; 16(2):1765-1776.
60. Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K et al. Paraoxonase-1 status in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2009; 15(1):93-9.
61. Grzybowska-Chlebowczyk U, Wysocka-Wojakiewicz P, Jasielska M et al. Oxidative and Antioxidative Stress Status in Children with Inflammatory Bowel Disease as a Result of a Chronic Inflammatory Process. *Mediators Inflamm*. 2018; 2018:4120973.
62. Gîlcă-Blanariu GE, Diaconescu S, Ciocoiu M, Ștefănescu G. New Insights into the Role of Trace Elements in IBD. *Biomed Res Int*. 2018; 2018:1813047.
63. Koláček M, Muchová J, Dvořáková M et al. Effect of natural polyphenols (Pycnogenol) on oxidative stress markers in children suffering from Crohn's disease--a pilot study. *Free Radic Res*. 2013; 47(8):624-34.
64. Cracowski JL, Bonaz B, Bessard G et al. Increased urinary F2-isoprostanes in patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2002; 97(1):99-103.
65. Wendland BE, Aghdassi E, Tam C et al. Lipid peroxidation and plasma antioxidant micronutrients in Crohn disease. *Am J Clin Nutr*. 2001; 74(2):259-64.
66. Bouzid D, Gargouri B, Mansour RB et al. Oxidative stress markers in intestinal mucosa of Tunisian inflammatory bowel disease patients. *Saudi J Gastroenterol*. 2013; 19(3):131-5.

67. Alagozlu H, Gorgul A, Bilgihan A et al. Increased plasma levels of advanced oxidation protein products (AOPP) as a marker for oxidative stress in patients with active ulcerative colitis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2013; 37(1):80-5.
68. D'Odorico A, Bortolan S, Cardin R et al. Reduced plasma antioxidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2001; 36(12):1289-94.
69. Szczeklik K, Krzyściak W, Cibor D et al. Evaluation of plasma concentrations of selected antioxidant parameters in patients with active Crohn's disease. *Folia Med Cracov*. 2018; 58(2):119-130.
70. Savage WJ, Everett AD. Biomarkers in pediatrics: children as biomarker orphans. *Proteomics Clin Appl*. 2010; 4(12):915-21.
71. Shores DR, Everett AD. Children as Biomarker Orphans: Progress in the Field of Pediatric Biomarkers. *J Pediatr*. 2018; 193:14-20.e31.
72. Piechota-Polanczyk A, Fichna J. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2014; 387(7):605-20.
73. Marnett LJ. The COXIB experience: a look in the rearview mirror. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2009; 49:265-90.
74. Arab HH, Al-Shorbagy MY, Abdallah DM, Nassar NN. Telmisartan attenuates colon inflammation, oxidative perturbations and apoptosis in a rat model of experimental inflammatory bowel disease. *PLoS One*. 2014; 9(5):e97193.
75. Maheshwari RA, Balaraman R, Sailor GU, Sen DB. Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Indian J Pharmacol*. 2015; 47(1):17-21.
76. Bonnefont-Rousselot D, Collin F. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology*. 2010; 278(1):55-67.
77. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res*. 2004; 36(1):1-9.
78. Kasperczyk S, Dobrakowski M, Kasperczyk A et al. Effect of N-acetylcysteine administration on the expression and activities of antioxidant enzymes and the malondialdehyde level in the blood of lead-exposed workers. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014; 37(2):638-47.

79. Amrouche-Mekkioui I, Djerdjouri B. N-acetylcysteine improves redox status, mitochondrial dysfunction, mucin-depleted crypts and epithelial hyperplasia in dextran sulfate sodium-induced oxidative colitis in mice. *Eur J Pharmacol.* 2012; 691(1-3):209-17.
80. Mikhailova TL, Sishkova E, Poniewierka E et al. Randomised clinical trial: the efficacy and safety of propionyl-L-carnitine therapy in patients with ulcerative colitis receiving stable oral treatment. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011; 34(9):1088-97.
81. Scioli MG, Stasi MA, Passeri D et al. Propionyl-L-Carnitine is Efficacious in Ulcerative Colitis Through its Action on the Immune Function and Microvasculature. *Clin Transl Gastroenterol.* 2014; 5(3):e55.
82. Porfire AS, Leucuța SE, Kiss B et al. Investigation into the role of Cu/Zn-SOD delivery system on its antioxidant and antiinflammatory activity in rat model of peritonitis. *Pharmacol Rep.* 2014; 66(4):670-6.
83. Hou CL, Zhang J, Liu XT et al. Superoxide dismutase recombinant *Lactobacillus fermentum* ameliorates intestinal oxidative stress through inhibiting NF- κ B activation in a trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis mouse model. *J Appl Microbiol.* 2014; 116(6):1621-31.
84. LeBlanc JG, del Carmen S, Miyoshi A et al. Use of superoxide dismutase and catalase producing lactic acid bacteria in TNBS induced Crohn's disease in mice. *J Biotechnol.* 2011; 151(3):287-93.
85. Sengül N, Işık S, Aslım B et al. The effect of exopolysaccharide-producing probiotic strains on gut oxidative damage in experimental colitis. *Dig Dis Sci.* 2011; 56(3):707-14.
86. Hagan M, Hayee BH, Rodriguez-Mateos A. (Poly)phenols in Inflammatory Bowel Disease and Irritable Bowel Syndrome: A Review. *Molecules.* 2021; 26(7):1843.
87. 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(31):4851-65.
88. Romier B, Schneider YJ, Larondelle Y, During A. Dietary polyphenols can modulate the intestinal inflammatory response. *Nutr Rev.* 2009; 67(7):363-78.

89. Sánchez-Fidalgo S, Cárdeno A, Villegas I et al. Dietary supplementation of resveratrol attenuates chronic colonic inflammation in mice. *Eur J Pharmacol.* 2010; 633(1-3):78-84.
90. Arafa HM, Hemeida RA, El-Bahrawy AI, Hamada FM. Prophylactic role of curcumin in dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis murine model. *Food Chem Toxicol.* 2009; 47(6):1311-7.
91. Guazelli CF, Fattori V, Colombo BB et al. Quercetin-loaded microcapsules ameliorate experimental colitis in mice by anti-inflammatory and antioxidant mechanisms. *J Nat Prod.* 2013; 76(2):200-8.
92. Bitzer ZT, Elias RJ, Vijay-Kumar M, Lambert JD. (-)-Epigallocatechin-3-gallate decreases colonic inflammation and permeability in a mouse model of colitis, but reduces macronutrient digestion and exacerbates weight loss. *Mol Nutr Food Res.* 2016; 60(10):2267-2274.
93. Sodagari HR, Farzaei MH, Bahramsoltani R et al. Dietary anthocyanins as a complementary medicinal approach for management of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015; 9(6):807-20.
94. Sakthivel KM, Guruvayoorappan C. Protective effect of *Acacia ferruginea* against ulcerative colitis via modulating inflammatory mediators, cytokine profile and NF- κ B signal transduction pathways. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2014; 33(2):83-98.
95. Schweigert N, Zehnder AJ, Eggen RI. Chemical properties of catechols and their molecular modes of toxic action in cells, from microorganisms to mammals. *Environ Microbiol.* 2001; 3(2):81-91.
96. Moura FA, de Andrade KQ, Dos Santos JCF et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? *Redox Biol.* 2015; 6:617-639.
97. Oliveras-López MJ, Berná G, Carneiro EM et al. An extra-virgin olive oil rich in polyphenolic compounds has antioxidant effects in OF1 mice. *J Nutr.* 2008; 138(6):1074-8.
98. Barbalho SM, Goulart Rde A, Quesada K et al. Inflammatory bowel disease: can omega-3 fatty acids really help? *Ann Gastroenterol.* 2016; 29(1):37-43.

99. Szczeklik K, Krzyściak W, Cibor D et al. Markers of lipid peroxidation and antioxidant status in the serum and saliva of patients with active Crohn disease. *Pol Arch Intern Med.* 2018; 128(6):362-370.
100. Shi J, Sun S, Liao Y et al. Advanced oxidation protein products induce G1 phase arrest in intestinal epithelial cells via a RAGE/CD36-JNK-p27kip1 mediated pathway. *Redox Biol.* 2019; 25:101196.
101. Mrowicka M, Mrowicki J, Mik M et al. Association between *SOD1*, *CAT*, *GSHPX1* polymorphisms and the risk of inflammatory bowel disease in the Polish population. *Oncotarget.* 2017; 8(65):109332-109339.
102. Gatti S, Del Baldo G, Catassi G et al. Factors associated with quality of life in Italian children and adolescents with IBD. *Sci Rep.* 2021; 11(1):18076.
103. Keegan D, Byrne K, Cullen G et al. The Stressometer: A Simple, Valid, and Responsive Measure of Psychological Stress in Inflammatory Bowel Disease Patients. *J Crohns Colitis.* 2015; 9(10):881-5.
104. Armstrong H, Mander I, Zhang Z et al. Not All Fibers Are Born Equal; Variable Response to Dietary Fiber Subtypes in IBD. *Front Pediatr.* 2021; 8:620189.
105. Swann OG, Kilpatrick M, Breslin M, Oddy WH. Dietary fiber and its associations with depression and inflammation. *Nutr Rev.* 2020; 78(5):394-411.

9. ALLEGATI

9.1. Physician Global Assessment (PGA)

INACTIVE DISEASE	In the past week the patient has had minimal or no symptoms thought to be secondary to IBD
Abdominal pain Diarrhea, bloody stools Fatigue Activity	<ul style="list-style-type: none"> – Asymptomatic – Mild symptoms on one or two occasions that resolved spontaneously – Significant symptoms felt to be secondary to another disorder such as IBS or depression
Fistula	None, or a non-inflamed, indolent fistula with no or minimal drainage.
Weight loss	No unexplained wt loss
Abd mass, tenderness	None
Toxic appearance	No
Lab tests (if available)	Normal or minimal transient abnormalities

MILD DISEASE	In the past week, the patient has had mild recurring or persistent symptoms thought to be secondary to IBD
Abdominal pain	Mild abdominal pain thought to be secondary to IBD and occurring several times a week
Diarrhea, bloody stools	Mild recurrent diarrhea (without nocturnal defecation or gross inflammatory bleeding) thought to be secondary to IBD
Fatigue Activity	<ul style="list-style-type: none"> – Asymptomatic or mild symptoms on one or two occasions that resolved spontaneously – Significant symptoms felt to be secondary to another disorder such as IBS or depression
Fistula	Active fistula or other perianal symptoms without associated symptoms
Weight loss	No unexplained wt loss
Abd mass, tenderness	None
Toxic appearance	No
Lab tests (if available)	Persistent (and significant) laboratory abnormalities felt to be secondary to IBD with no or mild associated symptoms

MODERATE DISEASE	In the past week, the patient has had moderate (or combinations of mild and moderate) recurring or persistent symptoms thought to be due to IBD
Abdominal pain	Moderate abdominal pain thought to be secondary to IBD
Diarrhea, bloody stools	Moderate diarrhea that could include nocturnal diarrhea and gross inflammatory bleeding thought to be secondary to IBD
Fatigue	Significant fatigue thought to be secondary to IBD
Activity	Inability to maintain normal activities due to fatigue or other symptoms
Fistula	Active fistula or other perianal disease in combination with other symptoms
Weight loss	Significant unexplained weight loss
Abd mass, tenderness	Abdominal tenderness and/or small abdominal mass or fullness
Toxic appearance	No
Lab tests (if available)	Significant anemia, hypoalbuminemia, and/or elevation in inflammatory markers

SEVERE DISEASE	In the past week, the patient has had severe (or combinations of moderate and severe) recurring or persistent symptoms thought to be due to IBD
Abdominal pain	Severe abdominal pain thought to be secondary to IBD
Diarrhea, bloody stools	Significant diarrhea that could include nocturnal diarrhea and gross inflammatory bleeding thought to be secondary to IBD
Fatigue	Significant fatigue thought to be secondary to IBD
Activity	Severe impairment of normal activities due to fatigue or other symptoms
Fistula	Active fistula or other perianal disease in combination with other symptoms
Weight loss	Significant unexplained weight loss
Abd mass, tenderness	Abdominal mass and/or tenderness
Toxic appearance	Appears toxic
Lab tests (if available)	Significant anemia, hypoalbuminemia, and/or elevation in inflammatory markers

9.2. Linee guida generali per una dieta antiossidante

DIETA ANTIOSSIDANTE

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) 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 qui di seguito il piano alimentare personalizzato antiossidante, da circa [...] kcal.

- Le due “settimane tipo” si possono ripetere in maniera ciclica.
- Si possono “spostare i menù” dei giorni, purché rimangano invariate le frequenze settimanali di consumo.
- Le tisane possono essere assunte in qualsiasi momento della giornata, almeno 1 tazza al giorno tra quelle fornite.

9.3. Linee guida generali per una dieta mediterranea

DIETA MEDITERRANEA

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. **EVITARE il consumo di** mirtillo nero, mirtillo rosso, ribes nero, fico, sambuco, kaki, guava, melagrana, banana, limone, fragole, kiwi, arancia, pompelmo.
- ❖ 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, da circa [...] kcal.

- Il piano alimentare è strutturato su 5 pasti giornalieri. Per ogni pasto viene riportata la "Scelta principale" e le "Varianti" con cui poterla sostituire.
- Se si vuole fare il pasto con pizza (es. cena), a pranzo consumare un secondo piatto (carne bianca magra oppure pesce) con contorno di verdure di stagione (+ 3 cucchiaini di olio e 1 frutto).
- Le tisane possono essere assunte in qualsiasi momento della giornata.

9.4. Questionario di frequenza alimentare

Consumo alimenti antiossidanti

Pensa al consumo degli alimenti elencati nell'ultima settimana e riporta le porzioni e le frequenze di consumo.

Nome e cognome: _____ Data: _____

Hai consumato uno di questi alimenti (Metti una crocetta vicino a quelli consumati)?	In che quantità? PORZIONE (indicare con una crocetta quella di solito consumata) *vedi Atlante (foto)			Quante volte nell'ultima settimana (N° volte a settimana)?
FRUTTA				
Ribes nero, fresco	PP	PM	PG	
Ribes nero, marmellata o composta	Numero cucchiaini=			
Ribes nero, succo fresco	BP		BG	
Banana	Numero=			
Kaki	Numero=			
Guava	Numero=			
Uva viola, succo	BP		BG	
Sambuco, marmellata o composta	Numero cucchiaini=			
Sambuco, succo	BP		BG	
Melagrana, fresca	Mezza	Una intera	Più di una	
Melagrana, succo	BP		BG	
Mirtilli neri, freschi	PP	PM	PG	
Mirtilli neri, marmellata o composta	Numero cucchiaini=			
Mirtilli neri, succo fresco	BP		BG	
Mirtilli rossi, freschi	PP	PM	PG	
Mirtilli rossi, succo	BP		BG	
Pompelmo, fresco	Numero=			
Pompelmo, succo	BP		BG	
Fico, fresco	Numero=			
Mora di gelso	PP	PM	PG	
Composta di bacche di rosa canina	Numero cucchiaini=			
Kiwi	Numero=			
Arance	Numero=			
Mandarini	Numero=			
Fragole	Numero=			
VERDURA				
Carciofo	Numero (medie dimensioni)=			
Broccoli	PP	PM	PG	
Cavoli, Cavolini di Bruxelles	PP	PM	PG	
Cavolfiore	PP	PM	PG	
Pomodori	PP	PM	PG	
Carote	PP	PM	PG	
Spinaci	PP	PM	PG	
Crescione	PP	PM	PG	
Barbabietola rossa	PP	PM	PG	
SPEZIE ED ERBE AROMATICHE				
Zenzero	PP	PM	PG	
Curcuma	PP	PM	PG	
Peperoncino rosso	PP	PM	PG	
Peperoncino verde	PP	PM	PG	
Erbe aromatiche (timo fresco, timo secco, origano)	PP	PM	PG	

fresco, origano secco, maggiorana fresca, maggiorana secca, salvia fresca, salvia secca, alloro fresco, alloro secco, dragoncello secco, rosmarino fresco, rosmarino secco, erba limoncina secca) → sottolinea quelle utilizzate				
FRUTTA SECCA				
Noci del Brasile			Numero=	
Mandorle			Numero=	
Noci			Numero=	
Pistacchi			Numero=	
Anacardi			Numero=	
PESCE				
Sarde	PP	PM	PG	
Aringhe	PP	PM	PG	
Alici	PP	PM	PG	
Sgombro	PP	PM	PG	
Salmone	PP	PM	PG	
OLIO ED OLIVE				
Olio extravergine di oliva			Numero cucchiaini=	
Olive verdi			Numero=	
Olive nere			Numero=	
CACAO E CIOCCOLATO				
Cacao amaro			Numero cucchiaini=	
Cioccolato fondente (> 75% cacao)			Numero scacchi=	
TÈ E TISANE				
Tè verde	BP		BG	
Tè rooibos	BP		BG	
Tisana alla melissa	BP		BG	
Infuso di foglie di olivo	BP		BG	
Infuso di verbena	BP		BG	
Infuso di Tiglio	BP		BG	

9.5. EQ-5D-Y

EQ-5D-Y

Descrivi la tua salute di OGGI

Per ogni sezione, metti UNA "X" nella casella vicina alla frase che descrive meglio la tua salute OGGI.

Movimento (*camminare*)

Non ho nessuna difficoltà a camminare

Ho un po' di difficoltà a camminare

Ho molte difficoltà a camminare

Mi prendo cura di me (*per esempio lavarmi o vestirmi da solo/a*)

Non ho nessuna difficoltà a lavarmi o vestirmi da solo/a

Ho un po' di difficoltà a lavarmi o vestirmi da solo/a

Ho molte difficoltà a lavarmi o vestirmi da solo/a

Fare le attività di tutti i giorni (*per esempio andare a scuola, fare hobby, sport, giocare, fare delle cose con la famiglia o con gli amici*)

Non ho nessuna difficoltà a fare le cose di tutti i giorni

Ho un po' di difficoltà a fare le cose di tutti i giorni

Ho molte difficoltà a fare le cose di tutti i giorni

Avere dolore o fastidio

Non ho nessun dolore o fastidio

Ho un po' di dolore o fastidio

Ho molto dolore o fastidio

Sentirsi preoccupato/a, triste o infelice

Non sono per niente preoccupato/a, triste o infelice

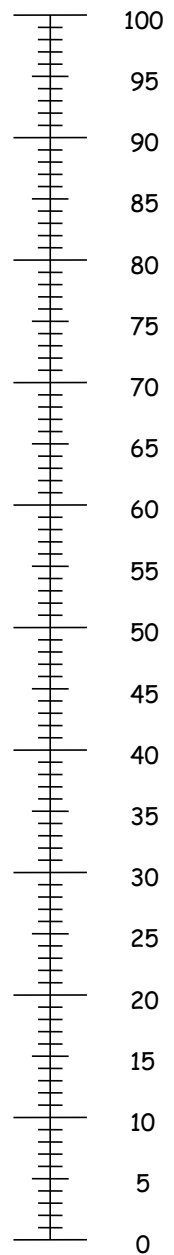
Sono un po' preoccupato/a, triste o infelice

Sono molto preoccupato/a, triste o infelice

Quanto è buona la tua salute **OGGI**

- Vorremmo sapere quanto è buona o cattiva la tua salute **OGGI**.
- Questa è una linea numerata che va da 0 a 100.
- 0 rappresenta la peggiore salute che puoi immaginare.
100 rappresenta la migliore salute che puoi immaginare.
- Per favore scrivi UNA X sul punto della linea numerata che indica quanto è buona o cattiva la tua salute **OGGI**.

La salute
migliore che puoi
immaginare



La salute
peggiore che
puoi immaginare