

## Effetti clinici della supplementazione dietetica con DHA in pazienti pediatrici affetti da fibrosi cistica

E. LEGGIERI, R. V. DE BIASE, D. SAVI, S. ZULLO, I. HALILI, S. QUATTRUCCI

CLINICAL EFFECTS OF DIET SUPPLEMENTATION WITH DHA IN PEDIATRIC PATIENTS SUFFERING FROM CYSTIC FIBROSIS

Centro Fibrosi Cistica Regione Lazio  
La Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

**Aim.** Cystic fibrosis (CF) patients present an altered fatty acid (FA) metabolism characterized by imbalance in the arachidonic/docosahexaenoic acid (AA/DHA) ratio in favour of the former which can contribute to the increase in pulmonary inflammation. The present study aims to assess respiratory, nutritional, clinical and laboratory parameters, and inflammatory markers after six months of DHA supplementation in paediatric patients suffering from CF. **Methods.** A dose of 1 g/10 kg/die was administered to ten CF patients of paediatric age for the first month and 250 mg/10 kg/die for the remaining 5 months. We carried out follow-ups at T0 (baseline), T6 (after six months of the diet) and T12 (six months after supplementation was interrupted) during which respiratory, nutritional, clinical and laboratory parameters were assessed.

**Results.** After six months of DHA supplementation inflammatory marker levels had diminished: interleukin 8 (IL-8) and Tumour Necrosis Factor Alfa (TNF- $\alpha$ ) in serum, and calprotectin in stools. In addition, auxometric parameters were improved as was the clinical condition of patients, who tolerated DHA well.

**Conclusion.** Dietetic integration with DHA seems to improve clinical condition and the inflammatory pulmonary and intestinal state of pediatric patients suffering from CF.

**KEY WORDS:** Cystic fibrosis - Dietary supplements - Child.

La fibrosi cistica (FC) è la più comune delle malattie genetiche autosomiche recessive nella popolazione caucasica <sup>1</sup>, con una frequenza di 1:2500-3000 nati vivi <sup>2</sup>. Nella popolazione italiana, l'incidenza di pazienti affetti da FC è circa 1:2700 ed i portatori sani sono circa 1:26 <sup>3</sup>. La patologia deriva dalla mutazione del gene CFTR che codifica per la proteina transmembrana "Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator" coinvolta nella regolazione del flusso di ioni cloro attraverso gli epitelii <sup>1</sup>.

Le caratteristiche principali cliniche della FC sono l'insufficienza pancreatica, il malassorbimento, le infezioni polmonari ricorrenti, l'insufficienza polmonare cronica e l'infertilità nei pazienti di sesso maschile <sup>4</sup>.

I pazienti affetti da FC hanno un alterato metabolismo degli acidi grassi (AG) con conseguente riduzione dei livelli plasmatici di acido linoleico (AL, 18:2 n-6) e acido docosaesaenoico (DHA, 22:6 n-3), e un aumento della concentrazione di acido arachidonico (AA, 20:4 n-6) <sup>5-9</sup>. L'AA è principalmente associato ad un aumento di eicosanoidi pro-infiammatori, mentre la catena n-3 degli acidi grassi corrispondente al DHA contribuisce alla formazione, non del tutto definita, di fattori anti-infiammatori <sup>9</sup>.

Corresponding author: E. Leggieri, Centro Fibrosi Cistica Regione Lazio, Università di Roma "La Sapienza", Roma, Italia. E-mail: emanuela.leggieri@gmail.com

AA e DHA si trovano sui fosfolipidi di membrana e quando vengono rilasciati dalla fosfolipasi A2 generano composti in grado di modulare l'infiammazione. Gli eicosanoidi, specifici mediatori AA-derivati, contribuiscono all'innescare della risposta infiammatoria. Tuttavia, alcuni mediatori lipidici derivati da AG n-3 polinsaturi, come l'acido eicosapentaenoico e il DHA, possono inibire la risposta infiammatoria<sup>10</sup>. Lo squilibrio nel rapporto AA/DHA a favore dell'AA può contribuire all'aumento dell'infiammazione polmonare con un peggioramento delle condizioni del paziente FC<sup>4</sup>.

La possibilità di aumentare le concentrazioni plasmatiche di acidi grassi polinsaturi e promuovere una risposta antinfiammatoria può derivare dalla supplementazione orale con DHA: in un modello murino CFTR -/- la somministrazione orale con DHA ha portato ad una correzione dello squilibrio dei lipidi di membrana in organi FC-correlati con conseguente normalizzazione istologica di ileo e pancreas. Tuttavia, questi risultati non sono stati confermati<sup>11,12</sup>.

Negli ultimi anni, altri tentativi sono stati fatti per normalizzare o modificare le concentrazioni di AG in pazienti con FC mediante supplementazione nella dieta con diversi AG, con l'obiettivo di ridurre l'infiammazione cronica. Sono stati utilizzati AG polinsaturi della famiglia omega-6 (ad esempio, acido gamma-linolenico [GLA]) e altri della famiglia omega-3 (n-3) (olio di pesce, acido eicosapentaenoico [EPA] e DHA). Questi studi hanno dimostrato che è possibile modificare il profilo di AG a livello plasmatico e nelle membrane cellulari con supplementazione orale.

Alcuni studi hanno anche mostrato qualche miglioramento nutrizionale, clinico, spirometrico e dei parametri infiammatori a breve e medio termine. Tuttavia, non sono ancora noti gli effetti a lungo termine sulla evoluzione della malattia o la qualità di vita<sup>13-27</sup>. Altri studi condotti su pazienti con FC non forniscono dati sufficienti per trarre conclusioni certe sulla efficacia clinica del DHA<sup>28</sup>.

Il nostro lavoro ha l'obiettivo di valutare l'effetto della supplementazione orale di

DHA somministrato per sei mesi in pazienti pediatriche affette da FC su diversi parametri quali: funzione respiratoria, parametri nutrizionali e clinici, parametri di laboratorio e markers d'infiammazione.

## Materiali e metodi

### *Pazienti*

Lo studio ha incluso pazienti con diagnosi di FC che venivano regolarmente visitati in follow-up ogni 2-3 mesi presso il Centro Fibrosi Cistica Regione Lazio dell'Università "Sapienza" di Roma.

Nei mesi precedenti l'inizio dello studio, sono stati selezionati e esaminati tutti i pazienti ai quali è stato illustrato il protocollo in questione. Tutti i genitori dei partecipanti, in quanto minorenni, hanno firmato il consenso informato.

### *Criteri di inclusione*

Sono stati inclusi pazienti di età superiore a 6 anni e inferiore a 18, con diagnosi accertata di FC, con BMI percentile  $\geq 25$  e FEV1  $\geq 70\%$  del teorico. Lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'istituto in cui la ricerca è stata condotta.

Sono stati esclusi pazienti affetti da complicanze cliniche come diabete, cirrosi biliare, colonizzazione da *Cepacea*, *Aspergillo* o *Micobatteri*. Inoltre, altri criteri di esclusione riguardavano la presenza di riacutizzazioni polmonari nei due mesi precedenti l'arruolamento e/o l'assunzione di farmaci antinfiammatori.

### *Protocollo*

Ad ogni paziente è stata somministrata una integrazione giornaliera di DHA RichOil DMF (Dietetic Metabolic Food) al dosaggio di 1 gr/10 kg/die, corrispondente a 4 perle/10 kg/die, per il primo mese e successivamente 250 mg/10 kg/die, corrispondente a 1 perla/10 kg/die, per 5 mesi. Ogni perla da 250 mg di DHA RichOil è composta da DHA di origine algale, glic-

rina e gelatina. Sono stati eseguiti controlli di follow-up con frequenza semestrale a T0 (basale), T6 (dopo 6 mesi di integrazione) e T12 (dopo 6 mesi dall'interruzione dell'integrazione) nei quali sono stati valutati parametri respiratori, nutrizionali, clinici e di laboratorio.

Nel corso dei 6 mesi di integrazione con DHA tutti i pazienti hanno seguito dieta libera e non hanno assunto altri integratori contenenti DHA.

Alla fine dei 6 mesi di trattamento, i pazienti hanno interrotto la supplementazione per i 6 mesi successivi nei quali non sono stati assunti altri integratori contenenti DHA fino a fine studio (T12 mesi).

#### *Parametri respiratori*

Per ogni paziente sono state eseguite le spirometrie a T0, T6 e T12.

Sono stati misurati FEV1 (volume espiratorio forzato in 1 secondo), FVC (capacità vitale forzata) in litri (L) e come percentuale rispetto al teorico utilizzando i teorici normali di Knudson *et al.*<sup>29</sup>.

Ad ogni visita è stato raccolto un campione di espettorato indotto per la ricerca di microrganismi comuni, aspergillo e micobatteri e sullo stesso campione è stato eseguito anche l'antibiogramma.

#### *Valutazione nutrizionale*

A tutti i pazienti sono stati misurati in visita T0, T6 e T12 i parametri antropometrici di peso, altezza e BMI percentile. L'altezza è stata misurata con uno stadiometro standardizzato, il peso corporeo è stato determinato con una bilancia medica standard su soggetti vestiti solo di biancheria intima leggera e senza scarpe, il BMI percentile è stato calcolato dividendo il peso in kg sull'altezza in m al quadrato e confrontato con le tabelle dei valori di riferimento in percentile per soggetti dai 2 ai 18 anni<sup>30</sup>.

Ad ogni visita sono stati presi in considerazione l'insorgenza di sintomi gastrointestinali quali: alitosi, cefalea, difficoltà digestive, distensione addominale, dolore

addominale, epigastralgia, eruttazione, flatulenza, inappetenza, pienezza post-prandiale, sazietà precoce, meteorismo, nausea, vomito, pirosi gastrica, pirosi retrosternale, diarrea, stipsi con  $\leq 2$  evacuazioni/settimana, feci aride/caprine, feci acquose, muco nelle feci.

#### *Parametri di laboratorio*

Alle visite T0, T6 e T12 sono stati prelevati dei campioni di sangue ad ogni paziente e sono stati analizzati emocromo, albumina serica, creatinina e urea come indici di funzionalità renale, proteina C reattiva (PCR), aspartato transaminasi (AST), alanina transaminasi (ALT) e gamma glutamil transferasi (GGT) come indici di funzionalità epatica, Immunoglobuline G, A e M (IgG, IgA, IgM).

Un ulteriore campione di sangue è stato prelevato per la ricerca delle citochine nel siero dei pazienti. Il campione è stato centrifugato per ottenere il siero che è stato congelato a  $-80^{\circ}\text{C}$  fino all'esecuzione del test. L'Interleuchina 8 (IL-8) il e Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF- $\alpha$ ) sono stati determinati nel siero con un saggio immunoenzimatico "Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay" (ELISA).

Inoltre, sono stati raccolti dei campioni di feci per valutare la concentrazione di calprotectina fecale e conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$  fino all'esecuzione del test. La concentrazione di calprotectina fecale è stata determinata tramite saggio ELISA.

#### *Analisi statistica*

Il test di Wilcoxon è stato utilizzato per confrontare i valori medi delle variabili prese in esame, relative al gruppo di 10 soggetti, nei vari tempi (T0, T6, T12). Le variabili quantitative sono state espresse come media  $\pm$  deviazione standard della media. Il valore di  $\pi$  è stato considerato significativo se minore o uguale a 0,05. Un approccio di analisi statistica multivariata, Partial Least Square Discriminant Analysis (PLS-DA), è stato implementato per estrapolare trend di cambiamento globali relativi ai pazienti, tenendo in considerazione tutte le variabili

TABELLA I. — *Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti.*

	N.=10	
	Mdia	%
Età	9.1±0.5	
Diagnosi		
— screening	9	90
— sintomi	1	10
Maschi	5	50
Femmine	5	50
Genotipo		
— F508del / F508del	2	20
— F508del / no F508del	6	60
— no F508del / no F508del	2	20
Colonizzazione		
— Stafilococco	5	50
— Pseudomonas	1	10
Funzionalità pancreatica		
— sufficiente	3	30
— insufficiente	7	70

(parametri respiratori, valutazione nutrizionale, parametri di laboratorio). Il test di Fisher è stato utilizzato per valutare la significatività del modello PLS-DA, ed un valore di *p* minore o uguale a 0,05 è stato considerato significativo.

## Risultati

Durante lo screening sono stati selezionati 20 pazienti affetti da FC. Di questi, 6 pazienti sono stati esclusi perché non ri-

spettavano i criteri di inclusione, dei 14 pazienti rimanenti, 1 ha abbandonato lo studio, causa trasferimento presso un altro centro FC, altri 3 pazienti sono volontariamente usciti dallo studio durante il primo mese di trattamento.

Le caratteristiche demografiche e tutti gli aspetti clinici dei 10 pazienti effettivamente arruolati sono riportate in Tabella I.

Dei 10 pazienti arruolati, a 9 è stata fatta diagnosi di FC alla nascita mediante screening neonatale e 1 paziente è stato diagnosticato per sintomi all'età di 8 anni. Di questi 10, 7 pazienti presentavano una forma completa di FC con insufficienza pancreatica mentre 3 una sufficienza pancreatica.

I pazienti avevano i seguenti genotipi F508del/F508del (N.=2), F508del/ 2183AA-toG (N.=1), F508del/ W1282X (N.=1), F508del/G85E (N.=1), F508del/G542X (N.=1), F508del/N1303K (N.=1), F508del/3849+10kbCtoT (N.=1), G85E/G85E (N.=1) e W562I-A1006E/Q779X (N.=1).

### Parametri respiratori

Dal confronto tra le visite si nota un aumento del FEV1 (L) e della FVC (L) durante e alla fine dell'integrazione con DHA, in particolar modo è stato osservato un aumento significativo tra il valore di FEV1 (L) della visita T0 e il valore finale corrispondente alla visita T12 (Tabella II).

Le altre differenze non hanno significato statistico.

TABELLA II. — *Parametri spirometrici e nutrizionali.*

	T0	T6	T12	P value
FEV1 (L)	1.459	1.494	1.618	
	1.459±0.126	1.618±0.131	0.047	
FEV1 (%)	91.024	85.3	85.4	
FVC (L)	1.751	1.813	1.944	
FVC (%)	95.862	90	88.2	
Altezza	130.54	133.41	135.95	
Peso	29.86	31.28	33.2	
BMI perc.	65.57	64.6	59.56	

\*P value statisticamente significativo.

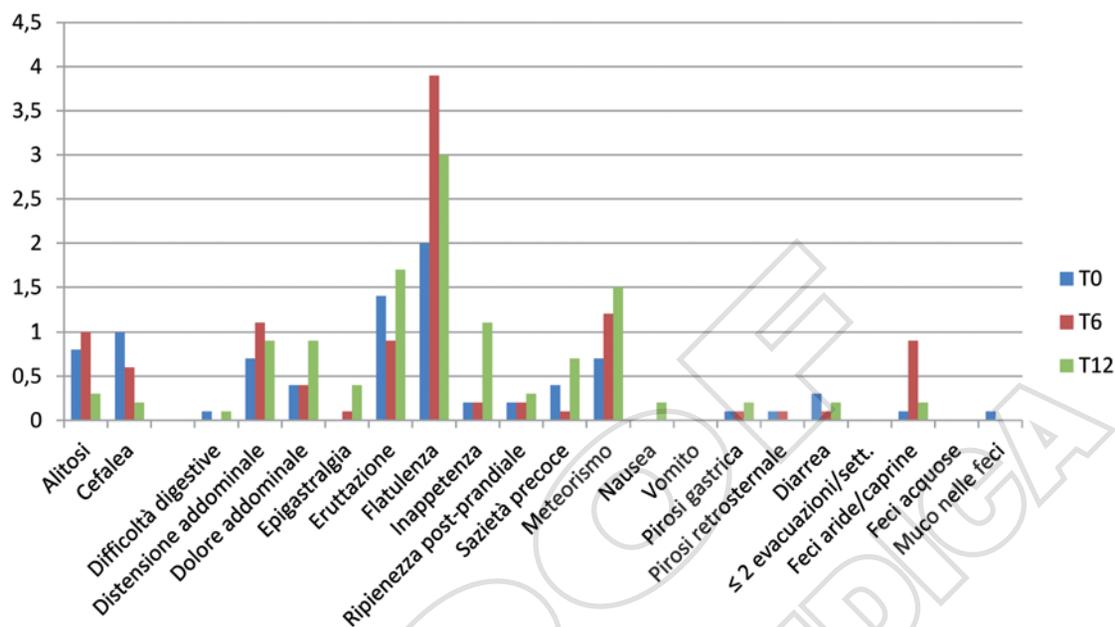


Figura 1. — Andamento dei sintomi in visita T0, T6 e T12.

### Parametri nutrizionali e clinici

Dopo i 6 mesi di supplementazione tutti i pazienti sono cresciuti in peso e altezza in ed è aumentato l'appetito. Mediamente tra la visita T0 e la Visita T6, i pazienti sono cresciuti di 2,87 cm di altezza e di 1,42 Kg di peso. L'aumento dei parametri auxometrici è continuato anche nei 6 mesi successivi di follow-up. Il BMI durante il corso delle visite si è avvicinato verso il 50° percentile (Tabella II).

L'insorgenza di eventuali sintomi gastrointestinali è stata valutata prendendo in considerazione la severità del sintomo e la frequenza con cui il sintomo si manifestava. Per ogni sintomo è stato preso in considerazione l'Indice Sintomatologico Globale (GSI) calcolato moltiplicando Severità X Frequenza.

L'andamento dei sintomi nelle visite T0, T6 e T12 è riportato in Figura 1. I risultati dimostrano che alcuni sintomi, quali cefalea, difficoltà digestive, eruttazione, sazietà precoce, diarrea e muco nelle feci diminuiscono dopo i 6 mesi di supplementazione con DHA, altri sintomi quali dolore addo-

minale, inappetenza, ripienezza post-prandiale, nausea, vomito, pirosi gastrica, pirosi retrosternale, ≤2 evacuazioni/sett. e feci acquose sono rimasti invariati dopo la supplementazione. Un sintomo statisticamente significativo è la riduzione della cefalea, come mostrato in Tabella III.

### Parametri di laboratorio e markers d'infiammazione

Sono state indagate le immunoglobuline del siero che non hanno subito variazioni nel corso dello studio. Come si può notare dalla Tabella IV, le IgG, IgA e le IgM sono rimaste nel range di normalità.

Come parametri di infiammazione respiratoria sono stati presi in considerazione le citochine infiammatorie del siero IL-8 e TNF-alfa, e la calprotectina fecale come parametro d'infiammazione intestinale. Dopo supplementazione con DHA, ci sono state delle diminuzioni delle concentrazioni di citochine infiammatorie nel siero e una riduzione significativa dei valori di calprotectina fecale (Tabella V).

TABELLA III. — *Valutazione del GSI (Indice sintomatologico globale = severità X frequenza).*

Symptoms	GSI T0	GSI T6	GSI T12	P value
Alitosi	0.8	1	0.3	
Cefalea	1	0.6	0.2	
	1±0.394	0.2±0.133	0.024*	
Difficoltà digestive	0.1	0	0.1	
Distensione addominale	0.7	1.1	0.9	
Dolore addominale	0.4	0.4	0.9	
Epigastralgia	0	0.1	0.4	
Eruttazione	1.4	0.9	1.7	
Flatulenza	2	3.9	3	
Inappetenza	0.2	0.2	1.1	
Ripienezza postprandiale	0.2	0.2	0.3	
Sazietà precoce	0.4	0.1	0.7	
Meteorismo	0.7	1.2	1.5	
Nausea	0	0	0.2	
Vomito	0	0	0	
Pirosi gastrica	0.1	0.1	0.2	
Pirosi retrosternale	0.1	0.1	0	
Diarrea	0.3	0.1	0.2	
≤2 evacuazioni/sett.	0	0	0	
Feci aride/caprine	0.1	0.9	0.2	
Feci acquose	0	0	0	
Muco nelle feci	0.1	0	0	

\*P value statisticamente significativo.

TABELLA IV. — *Parametri di laboratorio.*

	T0	T6	T12	Range
IgG	8.27	8.58	8.06	5.8-18.2 g/L
IgA	1.09	1.04	1	0.34-3.48 g/L
IgM	1.2	1.1	1.1	0.31-2.4 g/L
GOT (U/L)	26.8	31.1	28.8	10-36 U/L
GPT (U/L)	24.2	29.2	29.6	10-35 U/L
GGT (U/L)	12.6	13.3	17.6	1-22 U/L
Bilirubina totale (mg/dl)	0.39	0.42	0.4	0,30-1,20 mg/dL
Bilirubina diretta (mg/dl)	0.14	0.11	0.11	<0,20 mg/dL
ALP (U/l)	233	232.5	229	93-315 U/L
Creatinina (μmol/l)	37.9	42.1	40.6	26-80 μmol/L

TABELLA V. — *Markers di infiammazione.*

Parametri di infiammazione	T0	T6	T12	pT0 vs. T6	pT6 vs. T12	pT0 vs. T12
IL-8 sierica	34.980±23.078	23.730±12.820	30.83±18.36	0.721	0.646	0.721
TNF-alfa sierica	21.140±16.760	0.000±9.270	0.79±12.64	0.203	0.878	0.445
Calprotectina fecale	143.750±65.410	126.490±43.547	299.410±92.825	0.878	0.037*	0.022*

\*P value statisticamente significativo.

### *Sicurezza e tollerabilità*

Le dosi di DHA sono state ben tollerate e i pazienti non hanno mostrato particolari effetti collaterali.

Come mostrato in Tabella IV, i parametri di sicurezza epatica e renale sono rimasti nei range di normalità per tutta la durata dello studio.

### **Discussione**

In questo studio abbiamo osservato che l'integrazione ad alto dosaggio di DHA può arrecare dei benefici sulle condizioni cliniche dei pazienti pediatrici affetti da FC.

Durante lo studio tutti i pazienti hanno eseguito le visite di follow-up nei tempi stabiliti dal protocollo.

Sono stati rispettati i criteri di inclusione ed esclusione: nessun paziente ha presentato complicanze cliniche quali diabete e cirrosi epatica, e l'espettorato raccolto ad ogni visita è stato indagato ed è risultato sempre negativo per colonizzazione da *Cepacea*, *Aspergillo* e *Micobatteri*.

I valori spirometrici (FEV1 e FVC) e nutrizionali (peso, altezza e BMI) non suggeriscono conclusioni definitive poiché pazienti in età pediatrica sono continuamente in crescita per cui l'aumento di peso, altezza, BMI, FEV1 (L) e FVC (L) può essere riconducibile alla crescita fisiologica del campione preso in esame, pur osservando un aumento dell'appetito durante il trattamento.

In altri studi sulla integrazione di AG n-3 in pazienti affetti da FC non ci sono stati significativi cambiamenti nel peso e nell'altezza dei bambini, e non sono stati dimostrati miglioramenti della funzionalità respiratoria<sup>19, 24, 26</sup>, probabilmente per la breve durata di questi studi. Nello studio di De Vizia è stato osservato un miglioramento significativo del peso durante i primi 4 mesi di integrazione ma questo miglioramento non è stato mantenuto fino alla fine dello studio<sup>18</sup>. Uno studio recente della durata di 12 mesi, inoltre, non ha dimostrato nessun miglioramento significativo dei parametri spirometrici e sullo stato nutrizionale<sup>4</sup>.

A differenza di altri studi<sup>20, 21</sup>, non abbiamo osservato significativi effetti collaterali. L'indice GSI ci ha permesso di valutare la severità dei sintomi e la frequenza con cui si manifestavano nel corso di integrazione di DHA. Dei 21 sintomi osservati, 6 sono diminuiti a T6 (28,6%), 9 sono rimasti invariati (42,8%) e soltanto 6 (28,6%) sono risultati leggermente aumentati, in particolare modo il sintomo maggiormente accusato è stata la flatulenza. Questi dati dimostrano che il DHA non causa malessere o effetti collaterali, aspetti confermati anche dai parametri epatici e renali di sicurezza e tollerabilità. Inoltre, è stato osservato un miglioramento significativo della cefalea dopo l'integrazione e il miglioramento si è mantenuto fino a T12. Ciò fornisce spunti di riflessione per eventuali studi in campo neurologico.

I valori di infiammazione sistemica (Ig), erano nella norma e sono rimasti nei valori di riferimento a dimostrazione che i pazienti non presentavano riacutizzazioni polmonari in corso durante lo studio.

Il trend di diminuzione dei livelli dei markers infiammatori IL-8 e TNF- $\alpha$  sierici tra T0 e T6 dimostra la diminuzione dello stato infiammatorio dei pazienti dopo i 6 mesi di supplementazione con DHA. A T12 i livelli delle citochine sieriche erano nuovamente aumentati a dimostrazione che il DHA effettivamente ha un effetto antinfiammatorio. L'effetto antinfiammatorio osservato nel periodo di trattamento potrebbe essere stato determinato da un aumento del DHA e dalla diminuzione dei livelli sierici di AA, con un'inversione del rapporto AA/DHA, come riportato in letteratura. La diminuzione di citochine pro-infiammatorie potrebbe determinare una modulazione della quantità di muco, della chemiotassi con l'attivazione dei neutrofili e infiammazione, e della broncoostrizione<sup>31</sup>. Inoltre, gli AG n-3, come il DHA, favoriscono il rilascio di una minor quantità di eicosanoidi proinfiammatori<sup>32</sup>.

Lo stesso andamento è stato osservato per la calprotectina fecale che risulta diminuita durante il trattamento e aumentata a T12. La calprotectina è un complesso proteico di 36 kDa che si trova in varie cellu-

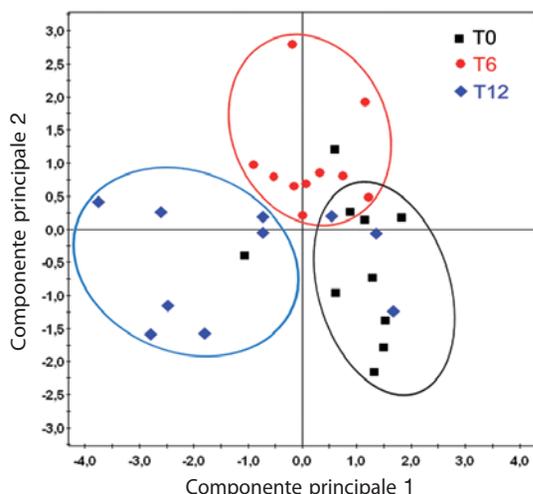


Figura 2. — PLS-DA.

le, tra cui neutrofilo, monociti, macrofagi, cellule dendritiche, cellule epiteliali, cellule endoteliali microvascolari, e fibroblasti, generalmente a seguito di una attivazione<sup>33</sup>. La calprotectina aumenta in condizioni infiammatorie e non può essere considerata un marker specifico di infiammazione in FC. Tuttavia, oltre due decenni fa il complesso proteico è stato identificato nel siero di individui con FC e fu denominato “antigene associato alla FC” (*CF associated antigene*, CFA). Questo complesso è un eterodimero presente sistemicamente o in particolare fluidi in molte condizioni infiammatorie<sup>34</sup>. La calprotectina si trova maggiormente nei neutrofilo. Nel corso dell’infiammazione, viene stimolata l’espressione specifica e la secrezione di calprotectina dalle cellule epiteliali intestinali e questo comporta l’aumento dei livelli di calprotectina nelle feci<sup>35</sup>. La diminuzione delle citochine pro infiammatorie riduce l’attivazione del pathway infiammatorio intestinale con conseguente minore secrezione di calprotectina nelle feci.

L’analisi PLS-DA è una analisi multivariata che è stata implementata per correlare le variabili considerate (parametri respiratori, valutazione nutrizionale, parametri di laboratorio) e definite come matrice X, ai tre differenti status del gruppo di 10 pa-

zienti affetti da FC (T0, T6, T12), definiti come matrice Y. L’analisi multivariata (Figura 2) ha fornito un valore di predittività pari all’83,3 %, mostrando come il gruppo dei pazienti FC prima del trattamento (punti neri) passi ad un diverso status in seguito a sei mesi di trattamento con DHA (punti rossi) ( $P=1,6 \cdot 10^{-7}$ ). In particolare, otto pazienti su 10 (80%) si spostano verso una zona del grafico bidimensionale che può essere considerata una zona di miglioramento clinico, mentre due pazienti (numeri 8 e 10) sono stati considerati outlier dalla PLS-DA, quindi non ulteriormente vagliati. Alla visita T12 la maggior parte dei pazienti resta in uno stato di miglioramento delle condizioni cliniche (punti blu), mentre i pazienti 1 e 7 ritornano allo stato originale all’interno del gruppo pre-trattamento. In modo interessante, i pazienti 1 e 7 sono gli unici del nostro studio a non avere come mutazione in omozigosi o eterozigosi la F508del: il paziente 1 ha il genotipo G85E/G85E e il paziente 7 ha il genotipo W562I-A1006E/Q779X. È opportuno approfondire il meccanismo d’azione di queste mutazioni per capire la correlazione con un mancato effetto benefico legato al DHA.

## Conclusioni

In conclusione, in questo studio effettuato su pazienti pediatrici affetti da FC abbiamo osservato una diminuzione dei parametri infiammatori a livello respiratorio e intestinale riconducibili ad un miglioramento delle condizioni cliniche dei pazienti. Il basso numero di pazienti che hanno partecipato allo studio hanno limitato la significatività statistica che sarebbe emersa con un campione di dimensione più ampio. È noto in letteratura che reclutare un numero adeguato di pazienti è una sfida costante per i trials in FC<sup>36</sup>. D’altra parte, questi risultati forniscono uno spunto per successivi studi sull’efficacia del DHA che includano un numero di pazienti adeguato e l’allungamento della durata di supplementazione per arrivare a chiarire l’effettivo ruolo dell’AG nell’infiammazione.

## Riassunto

**Obiettivo.** I pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) hanno un alterato metabolismo degli acidi grassi (AG) caratterizzato da uno squilibrio nel rapporto acido arachidonico/acido docosaesaenoico (AA/DHA) a favore del primo, che può contribuire all'aumento dell'infiammazione polmonare. Lo studio si propone di valutare i parametri respiratori, nutrizionali, clinici e di laboratorio, e i markers infiammatori dopo sei mesi di supplementazione di DHA in pazienti pediatrici affetti da FC.

**Pazienti e metodi.** A dieci pazienti con FC di età pediatrica è stato somministrato un dosaggio di 1 gr/10 Kg/die di DHA per il primo mese e 250 mg/10 Kg/ die per i restanti 5 mesi. Abbiamo eseguito controlli di follow-up a T0 (basale), T6 (dopo sei mesi di integrazione) e T12 (dopo sei mesi dall'interruzione dell'integrazione) nei quali sono stati valutati parametri respiratori, nutrizionali, clinici e di laboratorio.

**Risultati.** Dopo sei mesi di supplementazione con DHA sono diminuiti i livelli dei markers infiammatori: Interleuchina 8 (IL-8) e di Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF- $\alpha$ ) nel siero, e calprotectina nelle feci. Inoltre, sono migliorati i parametri ausometrici e le condizioni cliniche dei pazienti che hanno ben tollerato il DHA.

**Conclusioni.** L'integrazione dietetica con DHA sembra migliorare le condizioni cliniche e lo stato infiammatorio polmonare e intestinale dei pazienti pediatrici affetti da FC.

PAROLE CHIAVE: Fibrosi cistica - Integratori alimentari - Bambino.

## Bibliografia

- Hyde SC, Emsley P, Hartshorn MJ, Mimmack MM, Gileadi U, Pearce SR *et al.* Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport. *Nature* 1990;346:362-5.
- Welsh MJ, Smith AE. Cystic fibrosis. *Sci Am* 1995;273:52-9.
- Mastella G. Fibrosi cistica. Milan: Edizioni CE.D.RI.M; 1998.
- Alicandro G, Faelli N, Gagliardini R, Santini B, Magazzù G, Biffi A *et al.* A randomized placebo-controlled study on high-dose oral algal docosahexaenoic acid supplementation in children with cystic fibrosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;88:163-9.
- Colombo C, Bennato V, Costantini D, Valmarana L, Daccò V, Zazzeron L *et al.* Dietary and circulating polyunsaturated fatty acids in cystic fibrosis: are they related to clinical outcomes? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;43:660-5.
- Risé P, Volpi S, Colombo C, Padoan RF, D'Orazio C, Ghezzi S *et al.* Whole blood fatty acid analysis with micromethod in cystic fibrosis and pulmonary disease. *J Cyst Fibros* 2010;9:228-33.
- Roulet M, Frascarolo P, Rappaz I, Pilet M. Essential fatty acid deficiency in well nourished young cystic fibrosis patients. *Eur J Pediatr* 1997;156:952-6.
- Freedman SD, Blanco PG, Zaman MM, Shea JC, Ollero M, Hopper IK *et al.* Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism. *N Engl J Med* 2004;350:560-9.
- Keen C, Olin AC, Eriksson S, Ekman A, Lindblad A, Basu S *et al.* Supplementation with fatty acids influences the airway nitric oxide and inflammatory markers in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;50:537-44.
- Serhan CN. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol* 2007;25:101-37.
- Freedman SD, Katz MH, Parker EM, Laposata M, Urman MY, Alvarez JG. A membrane lipid imbalance plays a role in the phenotypic expression of cystic fibrosis in CFTR-/-mice. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:13995-4000.
- Beharry S, Ackerley C, Corey M, Kent G, Heng YM, Christensen H *et al.* Long-term docosahexaenoic acid therapy in a congenic murine model of cystic fibrosis. *AJP Gastrointest Liver Physiol* 2007;292:G839-G848.
- Olveira G, Olveira C, Acosta E, Espíldora F, Garrido-Sánchez L, García-Escobar E *et al.* Fatty acid supplements improve respiratory, inflammatory and nutritional parameters in adults with cystic fibrosis. *Arch Bronconeumol* 2010;46:70-7.
- Lepage G, Yesair DW, Ronco N, Champagne J, Bureau N, Chemtob S *et al.* Effect of an organized lipid matrix on lipid absorption and clinical outcomes in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2002;141:178-85.
- Van Biervliet S, Devos M, Delhaye T, Van Biervliet JP, Robberecht E, Christophe A. Oral DHA supplementation in DeltaF508 homozygous cystic fibrosis patients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;78:109-15.
- Christophe A, Robberecht E, Franckx H, De Baets F, van de Pas M. Effect of administration of gamma-linolenic acid on the fatty acid composition of serum phospholipids and cholesterol esters in patients with cystic fibrosis. *Ann Nutr Metab* 1994;38:40-7.
- Christophe A, Robberecht E, De Baets F, Franckx H. Increase of long chain omega-3 fatty acids in the major serum lipid classes of patients with cystic fibrosis. *Ann Nutr Metab* 1992;36:304-12.
- De Vizia B, Raia V, Spano C, Pavlidis C, Coruzzo A, Alessio M. Effect of an 8-month treatment with omega-3 fatty acids (eicosapentaenoic and docosahexaenoic) in patients with cystic fibrosis. *J Parenter Enteral Nutr* 2003;27:52-7.
- Katz DP, Manner T, Furst P, Askanazi J. The use of an intravenous fish oil emulsion enriched with omega-3 fatty acids in patients with cystic fibrosis. *Nutrition* 1996;12:334-9.
- Henderson WR, Astley SJ, McCreedy MM, Kushmerick P, Casey S, Becker JW *et al.* Oral absorption of omega-3 fatty acids in patients with cystic fibrosis who have pancreatic insufficiency and in healthy control subjects. *J Pediatr* 1994;124:400-8.
- Lawrence RH, Sorrell TC. Eicosapentaenoic acid modulates neutrophil leukotriene B4 receptor expression in cystic fibrosis. *Clin Exp Immunol* 1994;98:12-6.
- Kurlandsky LE, Bennink MR, Webb PM, Ulrich PJ, Baer LJ. The absorption and effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acids on serum leukotriene B4 in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1994;18:211-7.
- Thies NH. The effect of 12 months' treatment with

- icosapentaenoic acid in five children with cystic fibrosis. *J Paediatr Child Health* 1997;33:349-51.
24. Lloyd-Still JD, Powers CA, Hoffman DR, Boyd-Trull K, Lester LA, Benisek DC *et al*. Bioavailability and safety of a high dose of docosahexaenoic acid triacylglycerol of algal origin in cystic fibrosis patients: a randomized, controlled study. *Nutrition* 2006;22:36-46.
  25. Jumpson JA, Brown NE, Thomson AB, Paul Man SF, Goh YK, Ma D *et al*. Fatty acids in blood and intestine following docosahexaenoic acid supplementation in adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2006;5:77-84
  26. Panchaud A, Sauty A, Kernen Y, Decosterd LA, Buclin T, Boulat O *et al*. Biological effects of a dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in cystic fibrosis patients: a randomized, crossover placebo controlled trial. *Clin Nutr*. 2006;25:418-27.
  27. Durieu I, Vericel E, Guichardant D, Roth H, Steghens JP, Drai J *et al*. Fatty acids platelets and oxidative markers following intravenous n-3 fatty acids administration in cystic fibrosis: An open pilot observational study. *J Cyst Fibros* 2007;6:320-6.
  28. Oliver C, Jahnke N. Omega-3 fatty acids for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;CD002201.
  29. Knudson RJ, Lebowitz MD, Holberg CJ, Burrows B. Changes in the normal expiratory flow-volume curve with growth and aging. *Am Rev Respir Dis* 1983;127:725-34.
  30. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: methods and development. Geneva: World Health Organization; 2006.
  31. Van Biervliet S, Van Biervliet JP, Robberecht E, Christophe A. Docosahexaenoic acid trials in cystic fibrosis: a review of the rationale behind the clinical trials. *J Cyst Fibrosis* 2005;4:27-34.
  32. Christophe A, Robberecht E. Directed modification instead of normalization of fatty acid patterns in cystic fibrosis an emerging concept. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001;4:111-3.
  33. McNutt NS. The S100 family of multipurpose calcium-binding proteins. *J Cutan Pathol* 1998;25:521-9.
  34. Foell D, Wittkowski H, Vogl T, Roth J. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. *J Leukoc Biol* 2007;81:28-37.
  35. Foell D, Wittkowski H, Roth J. Monitoring disease activity by stool analyses: from occult blood to molecular markers of intestinal inflammation and damage. *Gut* 2009;58:859-68.
  36. Döring G, Elborn JS, Johannesson M, de Jonge H, Griese M, Smyth A *et al*. Clinical trials in cystic fibrosis. *J Cyst Fibrosis* 2007;6:85-99.

*Conflitti di interesse.*—Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse con nessuna ditta legata al contenuto del manoscritto.