

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA
Dipartimento di Scienze degli Alimenti
Dottorato in Scienze e Tecnologie Alimentari
Ciclo XXVI

NUTRITIONAL EVALUATION
OF THE GLUTEN FREE DIET

Ph.D. Tutor:

Chiar.ma Prof.ssa Nicoletta Pellegrini

Ph.D. Coordinator:

Chiar.mo Prof. Furio Brighenti

Ph.D. Student:

Teresa Mazzeo

Contenuti

ABSTRACT	1
1.LA MALATTIA CELIACA	7
1.1 EPIDEMIOLOGIA	8
1.2 DIAGNOSI	10
1.3 TERAPIA	11
2. LA DIETA SENZA GLUTINE	13
2.1 COMPLIANCE E IMPATTO DELLA DIETA SENZA GLUTINE SULLA VITA DEL CELIACO	15
2.1.2 CELIACHIA E DIABETE: il ruolo della dieta senza glutine	16
2.1.3 CELIACHIA E PARAMETRI ANTROPOMETRICI E BIOLOGICI: il ruolo della dieta senza glutine	17
2.1.4 CELIACHIA E MICROBIOTA INTESTINALE: il ruolo della dieta senza glutine	23
2.2 QUALITA' DELLA DIETA SENZA GLUTINE	26
2.2.1 QUALITA' DELLA DIETA SENZA GLUTINE NEI BAMBINI	35
3. PRODOTTI SENZA GLUTINE	40
3.1 IL PRONTUARIO	41
3.2. COMPOSIZIONE DEI PRODOTTI SENZA GLUTINE	42
3.2.1 MATERIE PRIME UTILIZZATE NELLA PRODUZIONE DI ALIMENTI SENZA GLUTINE	43
3.2.2 MATERIE PRIME ALTERNATIVE NELLA PRODUZIONE DI ALIMENTI SENZA GLUTINE	47
3.3 QUALITA' NUTRIZIONALE DEI PRODOTTI SENZA GLUTINE	49
3.3.1 INDICE GLICEMICO	50
3.1.2 GRADIMENTO E ACCETTABILITA'	53

3.1.3 MICOTOSSINE	54
4. BIBLIOGRAFIA	56
5. SCOPO	68
6. PARTE SPERIMENTALE :	71
1°STUDIO:	
The development of a composition database of gluten free products	72
2°STUDIO:	
Nutrition evaluation of the gluten free diet	96
3°STUDIO:	
Evaluation of visual and taste preferences of some gluten free commercial products in a group of celiac children	111
7. CONCLUSIONI	126

Riassunto

Attualmente l'unico trattamento previsto per la malattia celiaca è una rigorosa e permanente eliminazione del glutine dalla dieta. Nella comunità scientifica esiste ancora incertezza riguardo l'adeguatezza e la qualità nutrizionale di tale regime alimentare, poiché gli studi presenti al riguardo sono abbastanza contrastanti rendendo pertanto complicato trarre delle conclusioni definitive. I limitati dati esistenti sulla composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine potrebbero in parte spiegare i risultati contrastanti emersi tra gli studi.

Inoltre, nonostante negli ultimi anni si sta assistendo a un miglioramento delle qualità dei prodotti senza glutine, scarsa attenzione, in ambito scientifico, è stata rivolta alla percezione edonistica e sensoriale che questi prodotti generano nei bambini celiaci.

Con lo scopo di valutare l'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine, questa tesi di dottorato si è focalizzata principalmente sulla stima delle abitudini alimentari di 60 soggetti celiaci italiani e sul confronto con un gruppo di controllo sano, opportunamente selezionato. Per la realizzazione di questo obiettivo è stato necessario costruire preliminarmente una banca dati di composizione nutrizionale degli alimenti senza glutine più rappresentativi della dieta celiaca italiana.

Lo sviluppo di una banca dati di composizione dei prodotti senza glutine rappresenta il primo strumento utile per le indagini nutrizionali sulla popolazione celiaca. Dalla stima della composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine si è osservato che questi ultimi sono caratterizzati da una minore quantità di carboidrati e proteine e da un più alto contenuto di lipidi e sodio rispetto ai prodotti analoghi convenzionali contenenti glutine. Diversamente, la maggior parte dei prodotti senza glutine considerati nello studio è caratterizzata da un elevato contenuto di fibra (> 3 g/100 g).

I risultati ottenuti dell'indagine nutrizionale su soggetti celiaci hanno dimostrato che questi, pur introducendo la stessa energia del gruppo di controllo, assumevano più energia da grassi totali e saturi, ma meno da carboidrati e proteine. Inoltre, i pazienti celiaci hanno introdotto più vitamina C, vitamina E e potassio rispetto al gruppo sano. In termini di categorie alimentari, i soggetti celiaci hanno consumato significativamente più farine, altri cereali e dolci, ma

meno pane dei controlli. In generale, rispetto alle raccomandazioni di energia e nutrienti della popolazione italiana (LARN, 2012), i risultati ottenuti mostrano una qualità della dieta simile nei due gruppi caratterizzata da un elevato consumo di grassi totali, ma da basse introduzioni di fibra, calcio, ferro e folati.

Ulteriore obiettivo di questa tesi di dottorato è stato quello di determinare la qualità sensoriale, intesa come gradimento apparente e gustativo, di 3 tipologie di alimenti commerciali senza glutine (biscotti frollini, biscotti al cioccolato e grissini) in 30 bambini celiaci di età compresa tra i 6 e i 12 anni.

Dal punto di vista sensoriale, nessuno dei prodotti testati ha raggiunto il massimo gradimento e nella maggior parte dei casi il gradimento visivo ha prevalso su quello gustativo. I risultati di questo studio rappresentano un primo contributo per approfondire gli aspetti sensoriali legati ai prodotti alimentari destinati ai consumatori celiaci.

In conclusione, i risultati ottenuti suggeriscono che la dieta senza glutine non risulta bilanciata dal punto di vista nutrizionale. Al fine di raggiungere un adeguato apporto di macro- e micro-nutrienti risulta importante e necessaria l'educazione alimentare di questi soggetti.

I risultati sulla percezione sensoriale dei prodotti senza glutine forniscono un'indicazione importante, soprattutto per le aziende manifatturiere che dovrebbero sviluppare nuove formulazioni di prodotti senza glutine con migliori proprietà organolettiche e nutrizionali.

Nowadays, the only treatment for celiac disease is represented by a strict and permanent elimination of the gluten from the diet. In the scientific community there is still uncertainty about the nutritional adequacy of the gluten free diet since the studies concerning the adequacy of macro- and micro-nutrient intake of celiac subjects have presented conflicting results. The discrepancy among the studies could be partly linked to the limited data of gluten free foods in the food databases.

In recent years, despite the development of the gluten free products is increased, very poor attention has been given to the hedonistic and sensory perception that these products generate in the celiac children.

With the aim to assess the nutritional adequacy of the gluten-free diet, this thesis is mainly focused on the evaluation of the dietary habits of 60 Italian celiac patients and the comparison with a matched group of healthy subjects. For this aim, it was necessary firstly to develop a food composition database of gluten free foods more representative of the Italian celiac diet.

A further objective of this thesis was to determine the sensory quality, in terms of visual and taste liking, of 3 commercial gluten free foods (i.e., chocolate biscuit, breakfast biscuit and breadstick) in a group of 30 celiac children, aged between 6 and 12 years.

The development of the nutrient composition database of gluten free products provides a first useful tool for nutritional surveys on dietary habits of celiac people. The estimated nutritional composition of gluten free products demonstrated that these products generally provide lower amounts of carbohydrates and proteins but a higher content of lipids and sodium than their gluten-containing counterpart. On the contrary, the majority of gluten free products considered contained a high amount of fiber (>3 g/100 g), other cereals (i.e. buckwheat and quinoa) and sweets but the consumption of breads in celiac patients was significant lower than controls

The results of nutritional survey on celiac subjects show that although celiac patients observed the same energy as controls, they have a significant higher intake of total and saturated fats, energy from total and saturated fats, vitamin C, vitamin E and potassium than controls. Conversely celiac subjects reported a significant lower intake of energy from carbohydrate and protein than healthy

peers. In terms of food categories celiac subjects consumed significantly a higher amounts of flours, other cereals (i.e. buckwheat and quinoa) and sweets but the consumption of breads in celiac patients was significant lower than controls. In relation to recommended intakes this study reveals inadequate intakes of total fats, fiber, calcium, iron, and folate in both groups studied (LARN, 2012).

From sensory point of view, the results showed that the gluten free snacks tested do not fully satisfy the taste of celiac children and the majority of children appreciated more the appearance than the taste of all the gluten free products analyzed. The results of this study are a contribution to further investigate the underestimated sensory aspects associated to food products designed for celiac consumers diet.

In conclusion, the result of this study suggest that the gluten free diet is not adequate from nutritional point of view. Dietary education should address the achievement of adequate macro and micro-nutrient intake.

The results on sensory perception of gluten free products give an important indication, mainly for manufacturing companies that should offer new gluten free product formulations with better organoleptic and nutritional properties.

1. INTRODUZIONE

1. LA MALATTIA CELIACA

La celiachia è stata di recente classificata come malattia sistemica immuno-mediata dovuta a sensibilizzazione al glutine e alle prolamine in individui geneticamente suscettibili (Husby et al., 2012).

La componente alimentare scatenante la celiachia è il glutine, un complesso proteico contenuto nel frumento e in altri cereali (farro, segale, orzo, kamut®, spelta e triticale). La prolamina, una delle frazioni proteiche che costituiscono il glutine, denominata gliadina nel frumento, ordeina nell'orzo e secalina nella segale, è la responsabile dell'effetto tossico per il celiaco (Niewinski, 2008).

L'introduzione di alimenti contenenti il glutine, nel soggetto geneticamente predisposto, determina una reazione immunitaria nella lamina propria della mucosa del duodeno che è reversibile con l'eliminazione del glutine dalla dieta e recidivante con la sua reintroduzione (Fasano and Catassi, 2001). Tale patologia è caratterizzata da una combinazione variabile di sintomi clinici glutine-dipendenti, positività degli aplotipi HLA-DQ2 e/o DQ8, enteropatia di grado variabile e presenza nel sangue di autoanticorpi specifici (anti-transglutaminasi tissutale/anti-endomisio). Tale aspetto ha indotto molti a considerare la celiachia una malattia autoimmune a tutti gli effetti. Il progredire della malattia determina l'apoptosi degli enterociti che causa l'atrofia dei villi intestinali. La mucosa viene dunque danneggiata in modo persistente e non è più in grado di assorbire i nutrienti come di consueto (Haines et al., 2008).

Nei bambini, nei primi 6-24 mesi di vita, in seguito all'introduzione del glutine nella dieta con il divezzamento, si possono verificare i classici sintomi caratterizzati da manifestazioni gastrointestinali come diarrea cronica e recidivante con dolori addominali, alterata digestione dei grassi con steatorrea concomitante o sintomi di carenza vitaminica, disturbi della crescita (Fasano and Catassi, 2005). Più tardivamente, in età scolare, possono manifestarsi anche sintomi aspecifici della malattia con inconsueti disturbi intestinali (ad esempio, dolori addominali ricorrenti, nausea, vomito, gonfiore e stitichezza) o manifestazioni extraintestinali (ad esempio, bassa statura, ritardo puberale, carenza di ferro, difetti dello smalto dentale, anomalie nel test di funzionalità epatica, dermatite erpetiforme) (Fasano, 2005).

Negli adulti si assiste a decorsi diversi della malattia, che possono essere caratterizzati sia dai sintomi classici sia da sintomi aspecifici come anemia, dolori addominali, osteoporosi, neuropatie, calo ponderale o spossatezza (Niewinski, 2008). Un'associazione molto frequente (1,3-16,4%) è stata riscontrata anche fra la malattia celiaca e il diabete di tipo 1.

1.1 EPIDEMIOLOGIA

Fino ad alcuni anni fa la patologia celiaca era considerata una malattia rara, prevalente in età infantile e con le manifestazioni classiche della sindrome da malassorbimento (Dubè et al., 2005; Lee et al., 2009).

Lo scenario epidemiologico della celiachia è cambiato radicalmente con l'introduzione di test sierologici altamente sensibili e specifici come gli anticorpi anti-endomisio (EMA) ed anti-transglutaminasi (anti-tTG) che hanno permesso uno screening di popolazione e l'identificazione di svariate forme di presentazione della malattia (Green et al., 2005a; Haines et al., 2008; McGough and Cummings, 2005). In Italia la sua prevalenza è di 1 caso ogni 100 e colpisce lo 0.5-1% della popolazione generale sia in Europa sia in altre aree del mondo (Catassi, 2007). E' dunque una patologia diffusa in tutto il mondo, anche se rara in Cina e in Giappone e sottodiagnostica in molti altri paesi dell'America meridionale, India, Africa del nord e Asia (Farrell et al., 2002).

Gli studi epidemiologici basati sui nuovi test anticorpali hanno anche dimostrato che la diagnosi di celiachia viene sempre più effettuata in età adulta con un'attuale età media di presentazione di circa 45 anni, due picchi tra 1-5 anni e 20-50 anni, ed un 20% di diagnosi oltre i 60 anni (Fasano et al., 2003).

In generale comunque la malattia colpisce maggiormente la razza caucasica e le donne con un rapporto femmine/maschi di 2:1. La frequenza della malattia è maggiore in alcuni gruppi di popolazione, definiti "a rischio", quali i familiari di primo grado di pazienti celiaci (10-20%), i pazienti affetti da altre patologie di tipo autoimmune come il diabete di tipo I o la tiroidite di Hashimoto (5-10%) e i soggetti con patologie genetiche quali la sindrome di Down (10%), il deficit di IgA e la sindrome di Turner (Catassi, 2007).

La maggior parte degli studi presenti in letteratura pone l'accento sul carattere silente della malattia, spesso non diagnosticata o individuata tardivamente, alludendo alla possibile sottostima del tasso di prevalenza. La malattia celiaca è estremamente versatile: il paziente può presentarsi asintomatico, con sintomi gastrointestinali, o con sintomi extra-intestinali. Spesso la presentazione clinica della malattia celiaca viene paragonata ad un iceberg, il cosiddetto "iceberg celiaco" (Figura 1), ad indicare che solo una percentuale dei casi di celiachia viene attualmente diagnosticata e trattata, mentre una buona parte è sommersa e non viene riconosciuta, per il fatto che i sintomi di presentazione possono essere atipici, imprecisi o assenti (Maki and Collin, 1997; Fasano and Catassi, 2005). L'approccio ai casi silenti di celiachia, i quali costituiscono la parte preponderante dell'iceberg sommerso, rappresenta uno dei problemi più rilevanti, di cui ancora si discute in ambito scientifico. In uno studio condotto in bambini finlandesi i casi silenti o asintomatici erano da sette ad otto volte più frequenti dei casi sintomatici di celiachia (Maki et al., 2003).

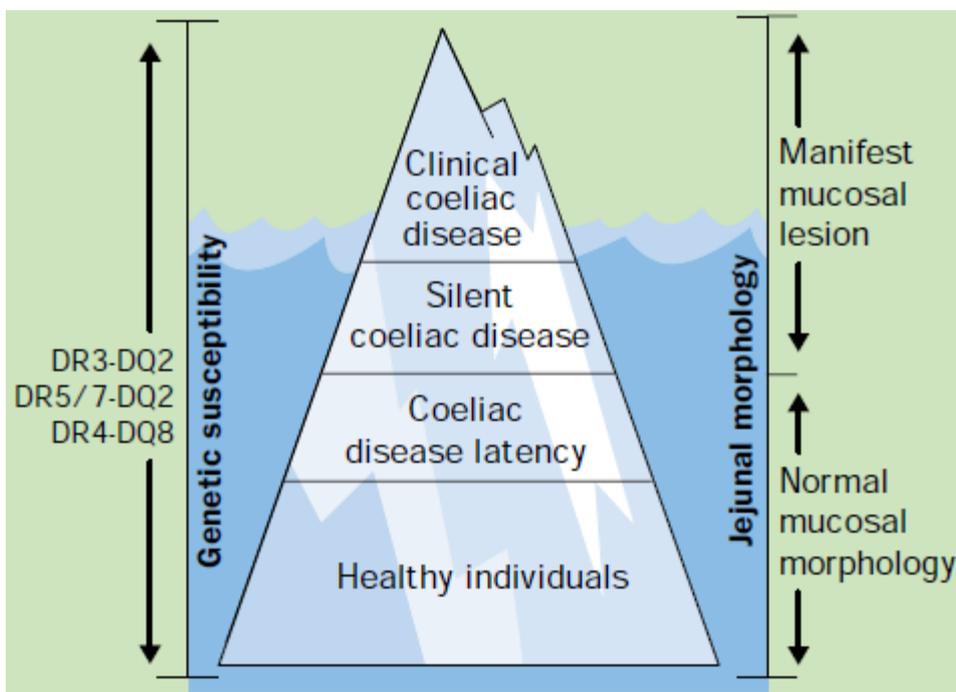


Figura 1: Iceberg della sindrome celiaca

1.2 DIAGNOSI

Il protocollo di diagnosi prevede l'indagine sierologica con determinati marcatori anticorpali seguita, in caso di positività, dalla biopsia intestinale (Husby et al., 2012).

La mucosa intestinale normale è generalmente costituita da un sottile strato di tessuto muscolare (*muscularis mucosae*) ricoperto dalla lamina basale; verso la parte luminale sono presenti i villi intestinali, mentre verso la parte basale le cripte o avvallamenti. In condizioni normali il rapporto villi:cripte è maggiore o uguale a 3:1, mentre in seguito alla comparsa della celiachia si osserva un progressivo appiattimento della mucosa fino ad arrivare alla completa atrofia dei villi associata a ipertrofia delle cripte, con infiltrazione di cellule infiammatorie (plasmacellule, linfociti, ecc.) a livello della lamina propria e aumento della presenza di immunoglobuline (IgA, IgG ed IgM) (Husby et al., 2012). Un altro effetto correlato allo sviluppo della malattia prevede una modificazione a livello delle giunzioni strette (*tight junctions*) tra gli enterociti della mucosa intestinale: in condizioni normali queste giunzioni impediscono il passaggio di macromolecole verso la lamina propria fungendo da barriera impermeabile, mentre nello stato di malattia si nota un'alterazione della permeabilità epiteliale con una modificazione citoscheletrica degli enterociti che favorisce la migrazione dei linfociti verso le cellule presentanti l'antigene (APC) che in questo modo possono attivarsi (Clemente et al., 2003). E' solo a causa della modificazione delle giunzioni strette che la gliadina riesce a trovare il passaggio per arrivare alla lamina propria dove ha luogo la risposta immunitaria. E' proprio a livello della lamina propria, dunque, che la t-TG catalizza i legami covalenti tra glutammina e lisina e i peptidi così deamminati creano epitopi (parti dell'antigene che si legano all'anticorpo specifico), con un aumentato potenziale immunostimolatore. Con questa modifica viene ad aumentare l'affinità degli antigeni, presentati dalle APC (*Antigen-presenting Cell*) ai macrofagi, ai linfociti B e T CD4+ (*linfociti helper*), con il sistema HLA II (*Human Leukocyte Antigen II*) e quindi con i due geni o molecole proteiche DQ2 e DQ8 da essi prodotti.

La classificazione dell'alterazione della mucosa più utilizzata è quella di Marsh che individua:

1. stadio I o lesione infiltrativa: villi normali, ma incremento patologico del numero dei linfociti intraepiteliali (> 25/100 cellule epiteliali);
2. stadio II o lesione iperplastica: in cui all'incremento del numero dei linfociti intraepiteliali si associa anche un'iperplasia delle cripte ghiandolari;
3. stadio III o lesione distruttiva: l'atrofia dei villi va da parziale a totale. Gli enterociti hanno altezza ridotta e l'orletto a spazzola è irregolare; all'incremento del numero dei linfociti intraepiteliali ed all'iperplasia delle cripte ghiandolari, si associa un'atrofia dei villi di grado variabile;
4. stadio IV: è una condizione molto rara caratterizzata da mucosa atrofica e piatta con lesioni irreversibili (Ciclitira and Moodie, 2003; Dewar and Ciclitira, 2005; Green, 2005 b).

I test di screening utilizzati per la diagnosi della celiachia sono: gli anticorpi anti-tTG di classe IgA e IgG, gli EMA di classe IgA, e gli anticorpi antigliadina (AGA) di classe IgA e IgG. Gli anti-tTG e gli EMA, presentano una sensibilità e specificità diagnostica praticamente sovrapponibili e molto elevata. Gli anti-tTG presentano il vantaggio di essere identificati mediante la tecnica ELISA automatizzata, non operatore dipendente, a differenza della ricerca degli EMA che avviene mediante immunofluorescenza (Hill, 2005). Esiste inoltre la possibilità di ricercare gli anticorpi anti-peptidi deamidati della gliadina (IgA e IgG) che, nei casi di malattia celiaca in soggetti giovanissimi, sono rilevabili ancora più precocemente rispetto agli anti-tTG e agli AGA tradizionali (Volta et al., 2008). Come già ricordato, nei casi positivi, la diagnosi deve essere tuttavia confermata dalla biopsia intestinale. Quest'ultima risulta poco gradita dal paziente e dai suoi familiari, poiché richiede l'esecuzione di una esofagogastroduodenoscopia, esame invasivo, costoso e non del tutto immune da possibili rischi. Secondo le recenti linee guida pubblicate dall'ESPGHAN (Husby, 2012), questa procedura potrebbe essere omessa in soggetti con sintomatologia tipica, elevati titoli di anti-tTG e IgA (almeno 10 volte superiori al limite massimo di normalità) e predisposizione genetica (aplotipo HLA).

1.3 TERAPIA

Attualmente l'unico trattamento previsto per la malattia celiaca è una rigorosa e permanente eliminazione del glutine dalla dieta (Ohlund et al., 2010). Il

trattamento dietetico della malattia celiaca determina la graduale scomparsa dei sintomi e la normalizzazione del quadro istologico della mucosa intestinale. La dieta priva di glutine deve essere mantenuta per tutta la vita. Tale cura, specie se avviata precocemente in età pediatrica, riduce notevolmente il rischio di complicanze tardive. Le motivazioni per cui il soggetto celiaco deve osservare attentamente la dieta aglutinata sono molteplici: il rischio di complicanze, infatti, aumenta nei pazienti in cui viene ritardata la diagnosi e in quelli in cui c'è scarsa aderenza (compliance) dietetica (Jadresin et al., 2008).

2. LA DIETA SENZA GLUTINE

La conduzione di un regime dietetico senza glutine comporta l'esclusione dall'alimentazione quotidiana di tutti gli alimenti contenenti proteine del frumento (farro, spelta, triticale, kamut®), della segale e dell'orzo.

Per quel che concerne l'avena, diversi studi sembrano dimostrare che tale cereale non presenta effetti tossici e/o immunogenici per i pazienti celiaci, anche a lungo termine (Kaukinen et al., 2013; Cooper et al., 2013); tuttavia alcuni dati sono piuttosto contraddittori ed una sua eventuale inclusione nell'alimentazione di soggetti affetti da malattia celiaca è tuttora oggetto di discussione.

Alcuni dei motivi che generano preoccupazione riguardo l'inclusione dell'avena nella dieta celiaca sono riconducibili ai risultati di due studi che hanno dimostrato un'infiltrazione linfocitaria nell'epitelio rettale e una stimolazione specifica in cellule T isolate dall'intestino di pazienti celiaci in seguito a instillazione rettale di proteine dell'avena (Mayer et al., 1999; Arentz-Hansen et al., 2004). Esistono dunque persistenti preoccupazioni riguardo il possibile contenuto di sequenze aminoacidiche nocive nell'avena (Parnell et al., 1998). Due ragioni supportano tale preoccupazione: 1) la cross-reattività della prolamina dell'avena con anticorpi anti-gliadina di frumento 2) la capacità delle prolamine dell'avena di attivare una risposta immunitaria *in vitro* in campioni biotici intestinali (Parnell et al., 1998).

Ulteriori reticenze sono dovute ai limiti metodologici citati da alcuni ricercatori come l'inadeguatezza della dimensione del campione o l'insufficiente durata dello studio (Parnell et al., 1998; Branski et al., 1996). Di conseguenza, alcune indagini potrebbero non aver incluso nei propri studi soggetti sensibili a piccole quantità di prolamine nocive (Parnell et al., 1998) e l'avena potrebbe non essere stata consumata per periodi di tempo sufficienti ad influenzare negativamente la mucosa intestinale (Branski et al., 1996). Inoltre, altro fattore che da adito a preoccupazione è l'eventualità che l'avena possa essere contaminata da frumento, segale o orzo durante la raccolta, il trasporto, la conservazione e la lavorazione dei cereali (Parnell et al., 1998). Purtroppo, la misura in cui si verifica una contaminazione di avena nei prodotti commerciali non è noto.

In opposizione a quanto sopra, studi molto recenti sembrano dimostrare che l'avena non determina alcun effetto tossico per il soggetto celiaco.

Cooper et al. (2013), ad esempio, hanno di recente condotto uno studio per accertare e confermare la sicurezza del consumo di avena in soggetti celiaci. Nel corso di un intero anno è stata somministrata avena a 46 soggetti celiaci adulti e sono state analizzate le risposte fisiologiche legate alla manifestazione di un suo potenziale effetto immunogeno o tossico. I soggetti sono stati oggetto di un rigoroso monitoraggio clinico e nessuno di loro ha mostrato effetti negativi, nonostante i 286 g di avena consumati in media ogni settimana, come previsto dal programma di studio, e anche l'analisi istologica di routine delle biopsie intestinali ha rivelato o un miglioramento o nessun cambiamento nel 95% dei campioni esaminati. Inoltre, l'espressione della transglutaminasi tissutale nei campioni biopsici, è rimasta invariata. Ricorrendo all'immunoistochimica, i ricercatori hanno potuto constatare che l'ingestione di avena non era associata a cambiamenti nel numero di linfociti intraepiteliali o con la proliferazione degli enterociti. Simili risultati sono stati osservati anche da Kaukinen et al. (2013) in uno studio osservazionale. In tale studio sono stati arruolati 106 adulti celiaci. Sono stati valutati il consumo quotidiano di avena e fibre, la morfologia della mucosa del piccolo intestino e, attraverso un questionario, i sintomi gastrointestinali. Settanta (66%) su 106 pazienti celiaci hanno consumato una media di 20 g di avena (range 1-100 g) al giorno per un totale di otto anni; i restanti soggetti hanno preferito seguire una dieta senza glutine evitando anche il consumo di avena. L'assunzione giornaliera e il consumo a lungo termine di avena non hanno comportato danno ai villi della mucosa del piccolo intestino, infiammazioni o sintomi gastrointestinali. Il quadro clinico della malattia celiaca al momento della diagnosi e per la durata della dieta senza glutine non differivano tra i pazienti che hanno deciso di non assumere avena e tra coloro che hanno acconsentito ad una dieta priva di glutine contenente avena. Inoltre è stato osservato che i consumatori di avena ingerivano giornalmente una quantità significativamente maggiore di fibra rispetto a quelli che non l'avevano assunta. I risultati ottenuti dai due studi citati hanno dimostrato che il consumo a lungo termine di avena risulta sicuro per i pazienti con malattia celiaca; inoltre il consumo di avena permette di variare la dieta priva di glutine e migliora la sua qualità nutrizionale, aumentando l'assunzione di fibre alimentari. Un aumento nell'introduzione di fibra attraverso l'avena è stato osservato anche da Storsrud et

al. in uno studio del 2003 che ha misurato l'intake di alimenti, i valori ematici, i sintomi gastrointestinali e il peso corporeo di 15 pazienti celiaci a dieta senza glutine con introduzione di 93 g/die di avena per due anni. La dieta con avena ha determinato un aumento nell'intake di fibra, ferro, tiamina e zinco rispetto a quanto stimato all'inizio dello studio.

Non vi sono invece limitazioni all'uso di alimenti naturalmente privi di glutine, quali cereali (riso, mais, grano saraceno, miglio, sorgo, teff, amaranto, quinoa) o altri alimenti sia amidacei (patate, castagne, legumi, ecc.) che d'altra natura (latte e derivati, frutta, verdura, carne, pesce, ecc.). A questi alimenti si possono affiancare alimenti prodotti appositamente dall'industria alimentare, detti senza glutine, e normati dal Regolamento CE 41/2009 del 20 Gennaio 2009 relativo alla composizione e all'etichettatura dei prodotti alimentari adatti alle persone intolleranti al glutine.

2.1 Compliance e impatto della dieta senza glutine sulla vita del celiaco

La dieta senza glutine rappresenta il trattamento terapeutico risolutivo ed efficace per la cura della celiachia, che tuttavia presenta alcune importanti limitazioni che la rendono difficile da rispettare, oltre alla necessità di cambiare le abitudini alimentari e alla difficoltà nelle relazioni sociali che seguire questo regime alimentare comporta (Di Sabatino e Corazza, 2009). E' ormai ampiamente riportato che la dieta aglutinata viene considerata dai soggetti celiaci come complessa, restrittiva, costosa e difficile da seguire (Hall et al., 2009). Dopo la diagnosi, la celiachia cessa di essere una malattia, ma diviene una condizione caratterizzata dalla necessità di seguire permanentemente una precisa indicazione dietetica. Il prezzo che il celiaco deve "pagare" per mantenere il proprio benessere psico-fisico è quello della costante attenzione all'alimentazione quotidiana sia perché il glutine è una componente proteica largamente diffusa nella dieta della popolazione sia perché minime contaminazioni della dieta possono risultare deleterie per il paziente. L'impatto psico-sociale della dieta priva di glutine non è dunque banale. Nella vita quotidiana, il celiaco è esposto continuamente al rischio di provare imbarazzo o disagio causato, dalla sensazione di essere "diverso" dagli altri, dalla paura della contaminazione, e così via (Zarkadas, 2006). Di conseguenza la compliance alla dieta non è sempre

soddisfacente. I bambini celiaci sono seguiti nelle scelte alimentari dai genitori, quindi la loro compliance è strettamente correlata alla consapevolezza della famiglia circa la malattia. I problemi principali di aderenza alla dieta insorgono però nel periodo dell'adolescenza: i ragazzi che hanno accettato per lungo tempo la dieta senza glutine spesso si ribellano in questa fase e una consistente percentuale interrompe o comunque non segue strettamente la dieta aglutinata (Errichiello et al., 2010).

2.1.2 Celiachia e diabete: il ruolo della dieta senza glutine

L'associazione tra celiachia e diabete è nota da tempo: fu descritta per la prima volta nel 1969 (Saadah et al., 2004). Alterazioni intestinali sono frequenti nei diabetici all'esordio. Infatti si riscontrano frequentemente sintomi gastro-intestinali come nausea, vomito, dolori addominali, diarrea e costipazione.

Diversi studi compiuti su popolazioni hanno cercato di valutare l'associazione tra queste due malattie autoimmuni. Come già ricordato, è risultata un'alta prevalenza della malattia celiaca ed una maggiore predisposizione a sviluppare la malattia in pazienti con diabete ad esordio precoce.

E' vero anche viceversa: i pazienti celiaci possono sviluppare nel tempo, soprattutto se non sottoposti a trattamento, il diabete (Pocecco, 1995).

Le due patologie hanno un comune substrato genetico dato dagli stessi HLA (DR3/DR4, DQ2 e DQ8). La predisposizione genetica determina rischio anche nei parenti di soggetti celiaci e di diabetici (Ide et al., 2003).

Il background genetico simile non è la sola caratteristica che hanno in comune le due malattie. Si ipotizza infatti un ruolo causale dell'intolleranza al glutine nello sviluppare la reazione autoimmunitaria contro il pancreas. Il glutine è ritenuto perciò uno dei fattori ambientali in grado di influenzare il rischio di sviluppare il diabete. Quest'affermazione si basa su diverse osservazioni:

- anticorpi anti-pancreas, se presenti in pazienti celiaci, tendono a scomparire in seguito a dieta senza glutine (Ventura et al., 2000)
- regioni geografiche (Giappone, Corea, Polinesia) con basso consumo di farina di grano hanno una minor incidenza di diabete (Funda et al., 1999)

- nei soggetti diabetici si assiste spesso ad una tarda positivizzazione agli anticorpi anti-tTG ad indicare l'insorgenza di un'intolleranza nei confronti del glutine.

L'identificazione di una risposta autoimmune contro la tTG a livello mucosale in soggetti diabetici costituisce quindi un fattore di rischio per lo sviluppo di malattie autoimmuni come appunto la celiachia.

La diagnosi precoce di celiachia potrebbe ridurre il rischio di sviluppare il diabete mellito insulino dipendente e la dieta aglutinata in soggetti predisposti al diabete di tipo 1 sembra preservare la funzionalità delle beta cellule.

La cura della celiachia ha quindi un effetto positivo sul diabete sia perché aiuta a migliorare il controllo metabolico, ed eventualmente a ridurre il fabbisogno insulinico, sia perché aiuta a prevenire possibili complicanze "silenziose" quali l'anemia e l'osteoporosi.

2.1.3 Celiachia e parametri antropometrici e biologici: il ruolo della dieta senza glutine

In questi ultimi anni, diversi studi hanno valutato l'influenza della dieta senza glutine nel soggetto celiaco su parametri antropometrici quali peso e massa corporea, sul metabolismo basale e su parametri biologici, quali il profilo lipidico, al fine di capire come questo trattamento dietetico seguito per tutta la vita possa influenzare la salute di questi soggetti.

La stretta aderenza alla dieta priva di glutine è risultata associata, in taluni studi, ad un'aumentata prevalenza di sovrappeso ed obesità (Kupper, 2005, Dickey et al., 2006). Secondo uno studio condotto nel 2006 da Dickey et al. la dieta priva di glutine ha comportato nei soggetti con sovrappeso affetti da celiachia un ulteriore incremento ponderale. Tale dato è stato ottenuto confrontando l'indice di massa corporea (IMC) alla diagnosi e dopo 2 anni di trattamento in 370 soggetti con celiachia e adeguata compliance dietetica. E' stato ipotizzato che la dieta priva di glutine, portando alla risoluzione del quadro di malassorbimento tipico della malattia in fase di attività, determini un'aumentata disponibilità di nutrienti, favorendo di conseguenza l'incremento del peso. Inoltre, la scarsa palatabilità che caratterizza alcuni alimenti privi di glutine può spostare la preferenza del

consumatore verso cibi di sapore più gradevole, ma a maggior contenuto calorico, determinando in questo modo un aumento dell'introito calorico e un conseguente eccessivo guadagno ponderale (Kupper, 2005).

Tuttavia, non tutti gli studi concordano su questo incremento ponderale e di IMC nel soggetto celiaco a dieta senza glutine. In un recente studio prospettico (Cheng et al., 2010) sono stati esaminati gli effetti della dieta senza glutine seguita per una media di 2,8 anni sull'IMC di soggetti celiaci in cura presso il Celiac Disease Centre della Columbia University di New York dal 1981 al 2007. Lo studio ha incluso 369 persone, che alla diagnosi di celiachia erano per la maggior parte normopeso (60,7%), il 17,3% sottopeso, il 15,2% sovrappeso e il 6,8% obeso. In genere, le persone sottopeso presentavano uno stadio più avanzato di atrofia dei villi ed erano maggiormente soggette a diarrea. Dalla ricerca è emerso che, in gran parte dei casi, la dieta senza glutine aveva un impatto positivo sull'IMC, in quanto i soggetti sottopeso ingrassavano e, generalmente, quelli sovrappeso e obesi dimagrivano (Cheng et al., 2010). Tali risultati sono parzialmente in accordo con quanto osservato da Reilly et al., (2011). In tale studio, infatti, è stato valutato l'IMC di 142 bambini celiaci (di età compresa tra i 13 mesi e i 19 anni) alla diagnosi. Quasi il 19% dei pazienti della coorte considerata presentava un IMC elevato al momento della diagnosi (12,6% sovrappeso, 6% obeso), mentre il 74,5% dei pazienti presentava un IMC normale. Dopo circa 36 mesi di follow-up è stato valutato l'impatto della dieta senza glutine sull'IMC ed è stato osservato che i pazienti, obesi alla diagnosi, avevano perso peso mentre quelli sottopeso ne avevano guadagnato. Tuttavia, circa il 13% dei soggetti celiaci con IMC normale alla diagnosi era diventato obeso dopo il trattamento dietetico. Lo sviluppo di sovrappeso in molti bambini diagnosticati con IMC normale merita attenzione. Aumenti di IMC, desiderati o indesiderati, dopo il trattamento dietetico sono probabilmente di origine multifattoriale. Gli autori suggeriscono che il miglioramento dell'assorbimento di nutrienti così come lo stile di vita e le scelte alimentari giocano probabilmente un ruolo importante nell'incremento di peso.

Capristo et al. (2000) hanno valutato i cambiamenti della composizione corporea e del metabolismo energetico in un gruppo di pazienti celiaci alla diagnosi e dopo un anno di dieta senza glutine. La composizione corporea, valutata tramite antropometria e diluizione isotopica, il metabolismo basale (resting metabolic

rate) e l'ossidazione dei substrati valutati tramite calorimetria indiretta, sono stati misurati in 39 celiaci ed in 63 soggetti sani selezionati opportunamente per peso ed età. I pazienti con malattia celiaca sia in trattamento dietetico che non presentavano un peso corporeo più basso rispetto ai controlli così come più bassi valori di massa magra e grassa. La percentuale di massa magra è risultata significativamente maggiore nei pazienti celiaci non trattati sia di genere maschile che femminile rispetto ai controlli, a differenza della percentuale di massa grassa che è stato osservato essere significativamente più bassa nei pazienti non trattati, indipendentemente dal genere, e nei pazienti maschi trattati rispetto ai soggetti di controllo. Nei pazienti celiaci di entrambi i sessi, il trattamento dietetico senza glutine ha comportato un aumento percentuale di massa grassa e una diminuzione percentuale di massa magra rispetto a quanto osservato al momento della diagnosi. L'aumento percentuale di massa grassa è risultato significativo rispetto ai controlli solo nel caso delle donne celiache ma non degli uomini. Inoltre prima del trattamento dietetico i pazienti con sindrome celiaca, sia uomini che donne, presentavano un'elevata ossidazione dei carboidrati. La maggiore ossidazione dei carboidrati è stata correlata ad un malassorbimento dei lipidi e ad un elevato introito di carboidrati nei soggetti celiaci non diagnosticati. A un anno come l'introito lipidico è stato osservato essere più alto rispetto al momento della diagnosi in ambedue i sessi. Questo studio longitudinale ha dimostrato che la dieta aglutinata aumenta in maniera significativa le riserve corporee di grassi, nonché l'utilizzazione dei lipidi come substrato poiché, con il miglioramento del danno della mucosa intestinale, ne aumenta l'assorbimento.

Un altro studio condotto da Barera et al. (2000) su giovani celiaci, ha valutato la composizione corporea in soggetti con malattia celiaca al momento della diagnosi e dopo dieta aglutinata. In questo studio è stata utilizzata l'assorbiometria a doppio raggio X (Dexa) per valutare la composizione corporea in 29 pazienti al momento della diagnosi di malattia celiaca e 20 di questi sono stati sottoposti di nuovo a Dexa ad un anno di dieta; inoltre è stata valutata la composizione corporea di 23 soggetti con età media di 21 anni in dieta senza glutine da circa 10 anni. Questi pazienti sono stati confrontati con una popolazione di controllo sana, con stessa età e genere. Si è visto che i pazienti non trattati avevano un peso inferiore rispetto ai controlli e anche la massa grassa e il contenuto minerale

erano significativamente più bassi rispetto ai controlli sani. Dopo 1 anno di dieta senza glutine, non erano presenti differenze significative nella composizione corporea dei 23 pazienti celiaci e dei rispettivi controlli. Inoltre i valori della composizione corporea dei soggetti a dieta da molti anni erano comparabili a quelle dei soggetti sani. Questo studio conferma che al momento della diagnosi vi sono differenze significative nella composizione corporea dei bambini celiaci, rispetto ai controlli sani, ma suggerisce che un appropriato trattamento dietetico riesce a ripristinare velocemente la normale composizione corporea e questi benefici legati alla dieta senza glutine sono persistenti.

La leptina è un ormone principalmente sintetizzato e secreto dagli adipociti che regola l'assunzione di cibo a livello ipotalamico e la cui sintesi è direttamente correlata con il grasso corporeo e l'indice di massa corporea. Si ritiene che questo ormone sia un sensore dei depositi energetici e che la sua alterazione determini disordini alimentari e ritardo puberale. Questo ormone è coinvolto anche nella stimolazione della produzione di ormoni della crescita e sessuali quali ormone della crescita, ormone follicolo stimolante (FSH) e ormone luteinizzante (LH). Di recente è stata studiata la relazione tra la malattia celiaca e i livelli di leptina in 14 pazienti celiaci clinicamente asintomatici in età puberale (7,5-13,8 anni) (Maggio et al., 2007). I livelli di leptina, di FSH e di LH sono stati misurati sia prima dell'inizio della dieta che dopo 12 mesi dall'inizio della terapia dietetica. Prima dell'inizio della dieta il livello di leptina era inferiore in tutti i pazienti, soprattutto in quelli con una grave atrofia della mucosa, e non vi era nessuna correlazione significativa tra i livelli basali di FSH e LH e la leptina, contrariamente a quanto osservato nei soggetti normali, dimostrando una compromissione dei livelli ormonali e dell'inizio della pubertà legata alla malattia. Un aumento significativo di leptinaemia era osservato in 13/14 pazienti dopo 6-12 mesi di dieta priva di glutine probabilmente perché la rimozione del glutine riducendo la produzione di citochine determina un miglioramento del tessuto adiposo.

Per quanto riguarda il profilo lipidico, recenti studi hanno suggerito che i pazienti affetti da celiachia presentano alla diagnosi livelli ematici più bassi di colesterolo totale rispetto alla popolazione generale per effetto di un malassorbimento globale dei nutrienti (West et al., 2003; Rosenthal et al., 1990). Si riteneva inizialmente

che l'ipocolesterolemia potesse rappresentare un fattore protettivo in termini di rischio cardio-vascolare in questi pazienti e che la dieta priva di glutine, responsabile di un rialzo dei livelli sierici di colesterolo, potesse peggiorare il rischio di questa patologia (Brar et al., 2006). Attualmente è invece noto che la bassa concentrazione di colesterolo HDL, frequentemente osservata nei pazienti con celiachia alla diagnosi, rappresenta un fattore di rischio cardiovascolare significativo. La dieta priva di glutine sembra normalizzare in questi soggetti il profilo lipidico, incrementando sia i livelli di colesterolo totale sia i livelli di colesterolo HDL e determinando una riduzione del rapporto LDL/HDL (Guo et al., 2000; Capristo et al., 2009). Il recente studio condotto da Lewis et al. (2009) ha evidenziato un rapido incremento del colesterolo HDL in soggetti celiaci ad un anno di distanza dall'introduzione della dieta priva di glutine, senza però riportare un aumento del colesterolo totale.

I pazienti con celiachia a dieta priva di glutine mostrano inoltre una minor prevalenza di ipertensione rispetto alla popolazione generale, come evidenziato dal lavoro di West et al. pubblicato nel 2004.

Accanto alle manifestazioni cliniche più conosciute di un'intolleranza al glutine, esistono alcune nuove associazioni morbose, come, ad esempio, quella relativa alle malattie cardiovascolari, che sono state evidenziate recentemente nei soggetti celiaci. Infatti, nonostante l'assenza apparente di fattori di rischio delle malattie cardiovascolari, come i bassi livelli di colesterolo e la minor prevalenza di ipertensione e di fumatori, osservati nelle persone con malattia celiaca rispetto alla popolazione generale, alcuni studi hanno dimostrato che i pazienti affetti da sindrome celiaca non sembrano avere un ridotto rischio di cardiopatia ischemica o ictus (Ludvigsson et al., 2011). Tuttavia, non tutte le evidenze scientifiche vanno nello stesso verso. Alcuni studi suggeriscono infatti, un aumento del rischio di ictus ischemico e di malattia al cuore in questa popolazione. Ad esempio, Ludvigsson et al. (2011) hanno di recente osservato un aumento del 27% di rischio di infarto del miocardio e del 35 % di rischio di ictus ischemico in una coorte di celiaci svedesi durante il follow-up rispetto al gruppo di riferimento. Lo studio ha confrontato i dati di infarto del miocardio o angina pectoris dai registri nazionali svedesi a quelli delle biopsie condotti da 28 reparti di patologia

su 3658 soggetti con malattia celiaca latente (quelli che hanno avuto sierologia positiva ma mucosa normale).

In disaccordo con quanto osservato da Ludvigsson et al. (2011) un altro studio recente condotto su 3790 pazienti affetti da malattia celiaca ha osservato una diminuzione del rischio di ipertensione e ipercolesterolemia, evidenziando, inoltre, un diminuito rischio di infarto del miocardio, ma anche un lieve aumento di rischio di ictus (West et al., 2004).

Un altro studio ha esaminato 187 pazienti, 110 con insufficienza cardiaca e 77 con aritmie, diagnosticati con miocardite autoimmune. Il 4,4% di loro è risultato positivo al dosaggio degli anticorpi EMA ed anti-tTG. Cinque dei nove soggetti con nuova diagnosi di celiachia, caratterizzati da insufficienza cardiaca, sono stati trattati con una dieta priva di glutine associata ad una terapia immunosoppressiva; la dieta senza glutine ha rappresentato l'unico trattamento per i restanti 4 pazienti celiaci con miocardite autoimmune e con extrasistole. Il risultato è stato un evidente miglioramento clinico cardiovascolare e un risultato negativo al dosaggio degli anticorpi per la celiachia in tutti i nove pazienti, dopo il trattamento (8-12 mesi) (Frustaci et al., 2002). L'azione positiva esplicita da una dieta priva di glutine evidenzia che il miglioramento della funzionalità cardiaca potrebbe essere dovuto ad un migliorato assorbimento di nutrienti e oligoelementi che svolgono un ruolo importante sulla funzione contrattile del miocardio. Infatti, la tipica espressione di atrofia dei villi intestinali, che caratterizza la malattia celiaca, può limitare l'assorbimento di differenti nutrienti come la tiamina, la riboflavina, il magnesio, il calcio, il selenio, la carnitina, attivi nel metabolismo del miocardio. Un incremento di carnitina potrebbe risultare efficace per la "performance cardiaca" come è stato osservato da alcuni autori in pazienti affetti da sindrome celiaca (Frustaci et al., 2002; Curione et al., 2002).

Il coinvolgimento della patologia celiaca nelle patologie cardiache è emerso in due studi (Not et al. 2003, De Bern et al., 2006) Nel primo studio retrospettivo effettuato su 238 soggetti affetti da cardiomiopatia dilatativa, su 28 loro familiari con iniziali alterazioni elettrocardiografiche o ecocardiografiche e su 393 familiari sani, è stata evidenziata positività al dosaggio degli anticorpi anti-tTG in 6 soggetti malati. Tutti i soggetti sono risultati positivi per l'HLA DQ2-DQ8 e la biopsia intestinale ha evidenziato in ognuno di loro le tipiche lesioni della

malattia celiaca. Inoltre, sono risultati positivi al dosaggio degli anticorpi specifici per la celiachia il 7% dei 28 familiari caratterizzati da alterazioni strumentali suggestive per cardiomiopatia dilatativa e solo lo 0,7% dei familiari sani (Not et al., 2003). Nell'altro studio si è valutata la prevalenza della malattia celiaca in 74 pazienti brasiliani affetti da grave cardiopatia dilatativa: il 2.63% degli individui è risultato positivo agli anticorpi EMA di classe IgA, mentre sono risultati sierologicamente positivi al dosaggio degli anticorpi anti-tTG di classe IgA ben 5 dei pazienti esaminati (6.75%) (De Bern et al., 2006).

L'associazione tra la malattia celiaca e quelle cardiovascolari è minore rispetto a quella con altre malattie endocrine, quali anemia e malattie mieloproliferative. In letteratura, infatti, vi sono pochi studi e con casistiche spesso limitate. Tuttavia, in alcuni casi, è stato dimostrato che il trattamento dietetico privo di glutine potrebbe rappresentare uno strumento adatto a prevenirne lo sviluppo o a migliorarne la manifestazione.

2.1.4 Celiachia e microbiota intestinale: ruolo della dieta glutine

In generale, la dieta influenza la composizione e la funzione della microbiota intestinale e quindi la salute dell'organismo ospite, anche in pazienti affetti da malattie legate all'alimentazione quali la celiachia. Studi recenti hanno osservato che pazienti celiaci trattati e non con una dieta priva di glutine presentavano un microbiota alterato che può giocare un ruolo patogenico o costituire un fattore di rischio per questa patologia. Parte dei cambiamenti microbici rilevati potrebbero non essere dovuti solo alla patologia celiaca, ma anche alla stessa dieta senza glutine.

Uno studio recente (De Palma, 2009) è stato condotto per stabilire gli effetti di una dieta priva di glutine sulla composizione del microbiota intestinale e per indagare la possibile relazione tra questa terapia dietetica e la salute dell'intestino. Al riguardo sono stati arruolati 10 soggetti sani (di età media pari a 30 anni), 80 % femmine e 20 % maschi che hanno seguito una dieta senza glutine per 1 mese raccogliendo campioni fecali prima e dopo il trattamento dietetico. Lo studio, attraverso l'analisi di campioni fecali, ha evidenziato una riduzione delle popolazioni batteriche generalmente considerate benefiche per la salute umana, quali il *Bifidobacterium* ed il *Lactobacillus*, e un aumento di quelli

patogeni opportunisti come *Escherichia coli* e le Enterobacteriaceae. Questi cambiamenti potrebbero essere spiegati dalla significativa riduzione dell'intake di polisaccaridi riportata durante la dieta senza glutine. Tali composti, infatti, di solito raggiungono la parte distale del colon parzialmente indigeriti costituendo una delle principali fonti di energia per i componenti benefici del microbiota intestinale (De Graaf and Venema, 2008). Anche se questo è uno studio d'intervento preliminare effettuato su un numero esiguo di soggetti sani, simili risultati erano stati rilevati anche in uno studio precedente dove il microbiota intestinale di bambini celiaci non trattati e di bambini celiaci sottoposti a trattamento dietetico senza glutine è stato studiato e confrontato con quello di bambini sani (Nadal et al., 2007). Lo studio ha dimostrato un'alta incidenza di Gram negativi (*Bacteroides* e *Escherichia coli*), batteri potenzialmente proinfiammatori, nei bambini celiaci non a dieta suggerendo un contributo di questi al processo patogenico. L'aderenza alla dieta senza glutine ha determinato una riduzione di tutta la popolazione batterica compreso i Gram negativi, e un miglioramento del rapporto tra *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e i Gram negativi anche se questo è comunque risultato significativamente più basso rispetto a quello dei controlli. Tali risultati indicano dunque che questa terapia alimentare può contribuire a migliorare il microbiota intestinale nel soggetto affetto da celiachia senza però riuscire a normalizzare completamente il loro ecosistema intestinale (Nadal et al., 2007).

L'aderenza rigorosa alla dieta senza glutine, nella maggior parte dei soggetti affetti da celiachia, permette la remissione in pochi mesi dei sintomi e il miglioramento delle lesioni intestinali associate alla malattia. Questa dieta, come riportato, può esercitare un effetto su alcuni parametri antropometrici, biologici e anche su alcune patologie come il diabete. Come si evince dai diversi studi citati, nella maggior parte dei casi sembra migliorare molti dei parametri compromessi dalla malattia. Tuttavia i benefici dell'esclusione del glutine dalla dieta sono evidenti e persistenti se la malattia celiaca è diagnosticata soprattutto in età pediatrica. Pertanto l'adolescenza rappresenta un periodo durante il quale alcuni parametri, soprattutto quelli riguardanti la composizione corporea, possono ancora essere recuperati dopo un lungo periodo di dieta senza glutine, al contrario di ciò che

avviene con una dieta aglutinata di minor durata, come nel caso dei soggetti a cui la malattia è diagnosticata in età adulta. Resta, comunque, ancora non del tutto chiara la relazione della dieta priva di glutine con l'adiposità ed i principali fattori di rischio cardiovascolari nella popolazione celiaca pediatrica e adulta.

E' comunque fondamentale che i pazienti con celiachia vengano seguiti durante tutto il follow up da un'equipe multidisciplinare, che si ponga come principale obiettivo, accanto alla stretta osservanza della dieta priva di glutine, l'educazione alimentare del soggetto possibilmente mediante la creazione di un programma dietetico individuale basato sulle caratteristiche antropometriche presenti alla diagnosi.

2.2 QUALITA' DELLA DIETA SENZA GLUTINE

Come già ricordato, la dieta senza glutine è l'unico trattamento terapeutico per la patologia celiaca che i pazienti devono seguire tutta la vita. Al di là dell'esclusione dei prodotti contenenti glutine la domanda che la comunità scientifica si pone è se questa dieta è adeguata dal punto di vista nutrizionale. Questa problematica emerge da diversi studi compiuti negli ultimi 10 anni che hanno messo in evidenza come la popolazione celiaca possa non introdurre le quantità raccomandate di alcuni importanti nutrienti quali fibra (Grehn, 2001; Thompson, 2005; Hopman, 2006), minerali (Grehn, 2001; Thompson, 2005; Kinsey, 2008; Dall'Asta et al., 2012) e vitamine (Hallert et al., 2002). Tali deficienze potrebbero, a lungo termine, predisporre allo sviluppo di patologie quali la stipsi, l'obesità e l'ipercolesterolemia (See and Murray 2006). Tuttavia un'analisi attenta della letteratura presente sull'argomento ha fatto emergere dati contrastanti riguardo la qualità e l'adeguatezza nutrizionale della dieta di pazienti celiaci che rendono complicato trarre delle conclusioni definitive.

Uno dei primi studi condotti sulla valutazione della qualità della dieta senza glutine risale agli anni 2000 dove alcuni ricercatori italiani (Bardella et al., 2000) hanno valutato lo stato nutrizionale di pazienti adulti con malattia celiaca a dieta senza glutine da lungo tempo in remissione clinica, biochimica ed istologica. Sono stati arruolati 71 pazienti (51 donne e 20 uomini con età media di 21 anni) e 142 soggetti sani di controllo selezionati con le stesse caratteristiche (età e genere). Entrambi i gruppi hanno compilato un questionario dietetico per 3 giorni, da cui è stata calcolata l'introduzione giornaliera di energia e l'introito di grassi, carboidrati e proteine. Peso, altezza e IMC dei maschi celiaci ed il peso ed l'IMC delle femmine celiache sono risultati essere significativamente più bassi rispetto ai controlli sani. La dieta dei pazienti celiaci risultava significativamente diversa da quella della popolazione sana di confronto poiché caratterizzata da un'introduzione energetica giornaliera significativamente inferiore, da una più elevata percentuale di energia proveniente da grassi e da una più bassa percentuale di energia proveniente da carboidrati. I risultati di questo studio sono probabilmente imputabili al fatto che i pazienti affetti da sindrome celiaca, commentano gli autori, consumano meno pasta, pane e pizza rispetto alla popolazione generale, per la bassa qualità sensoriale di questi prodotti, tendendo

a preferire uova, carne e formaggi. In conclusione, i pazienti con malattia celiaca benché in dieta e con remissione di malattia, in tale studio hanno mostrato differenze nell'introito dietetico rispetto ai controlli.

In un'altra indagine alimentare, condotta successivamente da Grehn e colleghi (2001) sono state valutate le abitudini alimentari di 49 soggetti celiaci svedesi (di cui 32 donne) di età compresa tra i 45-64 anni attraverso un diario alimentare di 4 giorni, incluso un giorno festivo. In questo studio i risultati sono stati confrontati non con un gruppo di controllo con simili caratteristiche ma con i risultati di un'indagine nutrizionale svedese svolta su 498 soggetti sani (50% donne) di età compresa tra i 45 e i 64 anni a cui è stato chiesto di compilare un diario alimentare di 7 giorni. Tale confronto ha dimostrato che l'introito energetico, così come quello proteico, lipidico e glucidico nei soggetti celiaci era molto simile a quello della popolazione svedese sana in contrasto con quanto osservato nello studio precedentemente citato (Bardella et al., 2000). Considerando i due gruppi separati, l'introduzione di nutrienti delle donne celiache mostravano maggiori differenze rispetto agli uomini celiaci quando paragonate alla controparte sana. Infatti, per quanto riguarda l'intake di macro e micronutrienti, le donne celiache rispetto al gruppo di controllo hanno riportato una più alta introduzione di energia da carboidrati, un più alto intake di vitamina E, vitamina C e vitamina B1. Per quanto riguarda i micronutrienti, avevano una più bassa introduzione di niacina, vitamina B12, folati, calcio, fosforo, zinco e selenio rispetto ai controlli. In questo studio, i soggetti celiaci mostrano un'introduzione di fibra significativamente più bassa del gruppo di controllo. In generale, in relazione ai valori di nutrienti raccomandati dal Paese di riferimento, ambedue i gruppi studiati, celiaci e controlli, non raggiungevano i livelli di nutrienti raccomandati per ciò che concerne l'introduzione di fibra, folati, vitamina E e selenio.

Come si evince da questo studio la dieta della popolazione celiaca può risultare anche carente di vitamine. In particolare, uno studio svedese (Hallert et al., 2002), attraverso un'indagine alimentare di 4 giorni, ha osservato che l'introduzione di vitamine in 30 pazienti con sindrome celiaca (60% donne) di età compresa tra i 45 e i 64 anni a dieta senza glutine da 8-12 anni, era significativamente più bassa di quella dei controlli anche in questo caso i dati

erano ottenuti da un'indagine alimentare nazionale condotta nel 1989 su 504 soggetti (50% donne) di età compresa tra i 45 e i 64 anni. In particolare, i celiaci hanno dimostrato un'introduzione di folati e vitamina B12, ma non di vitamina B6, significativamente più bassa del gruppo di controllo. L'intake di vitamine B6 e B12 risultava in entrambi i gruppi studiati in eccesso rispetto ai livelli raccomandati (Nordic Nutrition Recommendations, 1996), mentre l'introduzione giornaliera di folati è risultata ben al di sotto delle raccomandazioni, come già osservato da Grehn et al. (2001), sia nel caso del gruppo di celiaci sia della popolazione generale.

Similmente, Thompson (2005), in un'indagine alimentare condotta negli Stati Uniti su 47 celiaci adulti (83% donne) di età compresa tra i 18 e i 73 anni tramite un diario alimentare di 3 giorni, ha messo in luce una diversa introduzione di tutti i nutrienti studiati (energia, percentuale di energia da carboidrati, fibra, calcio e ferro) rispetto alla popolazione generale e un' inadeguata introduzione rispetto alle raccomandazioni nutrizionali di riferimento della popolazione americana (American Dietetic Association, 2002). In particolare, l'intake di tutti i nutrienti, eccezion fatta per il ferro, risultava più alto nei soggetti con sindrome celiaca rispetto alla popolazione generale, contrariamente a quanto osservato sia da Grehn et al., (2001) sia da Bardella et al., (2000). Inoltre è stato stimato che l'88% dei maschi e il 46% delle donne celiache rispettava o addirittura eccedeva i target nutrizionali raccomandati di fibra (20-35 g/die) (American Dietetic Association, 2002). Per quanto riguarda il ferro, tutti gli uomini celiaci avevano adeguati intake giornalieri, mentre solo il 44% delle donne celiache ne introduceva quantità raccomandate. L'autore attribuisce tale risultato al fatto che la maggior parte dei prodotti americani senza glutine non sono fortificati con ferro come invece lo sono i prodotti convenzionali, per cui la popolazione celiaca studiata tende ad introdurne meno. Anche per quanto riguarda l'introduzione di calcio più della metà degli uomini celiaci (63%) ne introduceva quantità adeguate a differenza di solo il 31% delle donne celiache (1000-1200 mg/die, dipendenti dal genere e età). Questi risultati sono preoccupanti soprattutto per le donne celiache poichè la carenza di calcio e vitamina D sono state associate a malattie ossee, tra cui l'osteoporosi.

L'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine è stata valutata anche in uno studio olandese (Hopman, 2006). I ricercatori hanno riportato, attraverso l'utilizzo di un diario alimentare di 3 giorni, in 111 adolescenti e giovani adulti celiaci di età compresa tra i 12 e i 25 anni e nella popolazione generale, simili introduzioni di energia e simili percentuali di energia da grassi totali; le percentuali da proteine e da grassi saturi così come l'introduzione di fibra, in accordo con quanto osservato da Grehn (2001), sono però risultate più basse nella popolazione celiaca oggetto di studio rispetto alla popolazione generale olandese. Tuttavia in tale studio è stata stimata una maggiore introduzione di energia proveniente da carboidrati da parte dei celiaci rispetto al gruppo di controllo. Per quanto riguarda l'introduzione di micronutrienti sono stati stimati simili introiti di vitamina B1, calcio e ferro tra celiaci e popolazione generale. Nonostante siano stati osservati apporti di nutrienti molto simili tra i due gruppi di confronto, alcuni di questi non risultavano essere in linea con le raccomandazioni nutrizionali olandesi. Infatti, l'introduzione di energia, in tutti e due i gruppi studiati, è risultata essere più bassa rispetto ai valori raccomandati a differenza della percentuale di grassi saturi che supera i target di riferimento. L'introduzione giornaliera di tutti i micronutrienti come la vitamina B2, la vitamina B6 e il ferro, ad eccezione del calcio e della vitamina B1, risultavano essere ben al di sotto delle raccomandazioni in entrambe le popolazioni studiate (Hopman et al., 2006) contrariamente a quanto osservato precedentemente da Thompson (2005). I risultati di tale studio mostrano nella popolazione celiaca studiata un intake di nutrienti inadeguato rispetto ai livelli raccomandati anche se comunque è risultato molto simile a quanto osservato nella popolazione generale. Una particolare attenzione da parte del personale medico, suggeriscono gli autori, dovrebbe essere posta riguardo l'introduzione di grassi saturi, fibra e ferro nella popolazione celiaca al fine di prevenire complicazioni a lungo termine e garantire una dieta bilanciata nei soggetti celiaci.

Altri autori (Kinsey et al., 2008), attraverso un'indagine alimentare condotta su 49 soggetti celiaci inglesi (di cui 35 donne) di età compresa tra i 19 e i 65 anni tramite un diario alimentare di 3 giorni, hanno osservato un'introduzione di carboidrati, ma non di energia, paragonabile a quella della popolazione sana inglese (1711 persone selezionate per genere ed età). Tuttavia, i celiaci

assumevano significativamente più proteine ed energia da proteine (18%) rispetto alla popolazione di confronto (16%), ma meno energia da grassi (31% *vs* 35%) contrariamente a quanto osservato in precedenti studi dove è stato osservato una maggiore o uguale introduzione di energia da grassi rispetto alla popolazione di confronto (Bardella et al., 2000; Grehn et al., 2001; Hopman et al., 2006). Gli autori attribuiscono tale risultato alla probabile maggiore attenzione alla dieta da parte dei soggetti celiaci arruolati in tale studio rispetto alla popolazione generale. In antitesi a quanto osservato precedentemente (Grehn, 2001), l'introduzione di fibra è risultata paragonabile nelle due popolazioni studiate. I ricercatori commentano che tale differenza potrebbe essere imputabile al recente utilizzo da parte delle aziende produttrici di prodotti senza glutine di diverse varietà di fibra nella produzione di pane. Inoltre sia negli uomini che nelle donne celiache i micronutrienti risultavano abbastanza confrontabili con quelli della popolazione sana, fatta eccezione per i folati che erano più bassi nelle donne celiache. Similmente a quanto osservato per i grassi, l'introduzione di vitamina D, soprattutto nelle donne celiache è risultata essere significativamente più bassa rispetto al gruppo di controllo probabilmente in seguito a un minor consumo da parte delle donne celiache di pesce, uova, margarina, yogurt e cereali per colazione. Dal confronto tra i risultati di intake ottenuti in questa indagine nutrizionale sui celiaci e la popolazione generale e le raccomandazioni inglesi di riferimento è emerso che entrambi i gruppi considerati consumano meno energia, fibra, vitamina D e calcio, ma più proteine.

Un successivo studio inglese, condotto su 93 pazienti celiaci (di cui 62 donne) di età compresa tra i 18 e 79 anni, ha valutato le abitudini alimentari attraverso un diario alimentare di 5 giorni, 4 giorni feriali e uno festivo. In questo studio sono emerse differenze di abitudini alimentari nel campione dei celiaci in funzione del genere. Infatti, è emersa, in generale, una differenza significativa nell'introduzione di nutrienti, sia macro che micro, tra gli uomini e le donne celiache quando confrontate con la popolazione generale costituita da 195 maschi e 256 donne di età compresa tra i 18 e i 64 anni. L'introito energetico, proteico, lipidico e glucidico così come quello di magnesio e calcio è risultato significativamente più alto nelle donne celiache rispetto alle donne sane. Al contrario, le uniche differenze significative osservate tra gli uomini celiaci e la popolazione generale

sana hanno riguardato valori più alti di energia, grassi e carboidrati (Wild et al., 2010). Rispetto alle raccomandazioni nutrizionali nazionali il campione di celiaci rispettava l'intake di macronutrienti, fatta eccezione per la fibra che risulta essere ben al disotto di queste. Tuttavia, similmente a quanto osservato da Grehn (2001), l'introduzione di micronutrienti come il magnesio, il manganese, il ferro, lo zinco, il selenio e i folati nella popolazione celiaca risultava fortemente carente rispetto a quanto previsto dalle raccomandazioni. Inoltre, complessivamente per questi micronutrienti, il campione di celiaci rispettava le raccomandazioni meno di quanto lo faccia la popolazione generale inglese presa a confronto.

Di recente Dall'Asta e colleghi (2012), attraverso la valutazione delle abitudini alimentari con un diario di 7 giorni, hanno osservato un'introduzione di macronutrienti molto simile tra 40 soggetti celiaci (85% donne) (età media = 40) a dieta senza glutine da più di due anni e 40 rispettivi controlli opportunamente selezionati per genere ed età. In particolare simili intake di energia, proteine, carboidrati, inclusi amido e zuccheri, e colesterolo sono stati osservati nei due gruppi a confronto. In controtendenza a quanto osservato da Grehn (2001), ma in accordo con Kinsey et al. (2008), l'intake di fibra era confrontabile nei due gruppi di studio. Tuttavia, l'introito medio giornaliero di grassi totali e saturi così come la percentuale di energia da grassi totali e saturi sono risultati essere significativamente più alti nel gruppo di soggetti celiaci studiato come osservato precedentemente da Bardella (2000). Per quanto riguarda i micronutrienti i pazienti a dieta senza glutine consumavano significativamente meno vitamina E, β -carotene, folati e ferro rispetto ai controlli. Tutti gli altri micronutrienti come il sodio, il calcio, la vitamina C era confrontabili tra i due gruppi. Sebbene non sono state osservate differenze con il gruppo di controllo per quello che riguarda il calcio, meno della metà dei partecipanti (33% celiaci e 38% controlli) consumava le quantità di calcio raccomandate dalla Società Italiana di Nutrizione (1996) e solo 19 su 40 celiaci rispettava le attuali raccomandazioni sull'intake di fibra. Tale studio mostra in entrambi i gruppi studiati un'introduzione di ferro non adeguata rispetto ai livelli raccomandati per la popolazione italiana. Tale risultato, suggeriscono gli autori, è la conseguenza di un generale basso consumo di alimenti vegetali.

Molto recentemente uno studio tedesco ha analizzato le abitudini alimentari di 114 pazienti celiaci (32 ragazze, 9 ragazzi, 55 donne e 18 uomini) di età compresa tra i 18 e gli 80 anni a dieta senza glutine da più di 10 anni (Martin et al., 2013). Le abitudini alimentari dei pazienti celiaci sono state rilevate tramite un diario alimentare di 7 giorni e i dati nutrizionali ottenuti sono stati confrontati con quelli di un'indagine alimentare nazionale condotta nel 2005/2006 su 20000 individui tedeschi di età compresa tra i 18 e gli 80 anni. I risultati di questo studio hanno messo in luce delle differenze significative riguardo l'intake di macro-nutrienti nelle donne e negli uomini celiaci a confronto con quello della popolazione sana, con differenze di genere, come già emerso in uno studio inglese (Wild et al., 2010). In particolare, mentre gli uomini non mostravano differenze significative con la popolazione sana in termini di introduzione di energia e macronutrienti, le donne introducevano significativamente più energia, proteine, grassi e energia da grassi ma meno energia da carboidrati rispetto ai controlli. Per quanto riguarda la fibra, in tale studio si è osservato un introito significativamente minore negli uomini, ma non nelle donne rispetto alla popolazione generale di confronto. Per quanto riguarda i micronutrienti sia gli uomini che le donne celiaci introducono significativamente meno vitamine B1, B2, B6, acido folico, ferro e magnesio rispetto al gruppo di controllo, al contrario è stata osservata una maggiore introduzione di vitamina C nelle donne celiache rispetto alle donne sane. Considerando le raccomandazioni del Paese di riferimento per i macronutrienti, nel caso degli uomini non vi sono differenze tra il numero di celiaci e dei controlli che le rispettano. Al contrario un'alta percentuale di donne celiache rispetto alla controparte sana (77,9% vs 56,2 %) assume una quantità di carboidrati al di sotto dei livelli raccomandati; l'86,8 % delle donne celiache rispetto al 76,1% dei controlli assume più energia da grassi rispetto alle raccomandazioni e per quanto riguarda le proteine il 92,6% delle donne celiache eccede i livelli giornalieri raccomandati. In generale, sia il gruppo di uomini che di donne con sindrome celiaca non raggiunge i livelli raccomandati di fibra. Sebbene l'introduzione di vitamine B1, B2, e B6 così come quella di ferro e magnesio sia risultata più bassa negli uomini e nelle donne celiaci rispetto ai gruppi di controllo, nessuna differenza significativa è stata osservata per la percentuale di soggetti che nei due gruppi soddisfacevano le raccomandazioni tedesche correnti.

In tendenza opposta a quanto visto finora, una recentissima indagine alimentare condotta in Australia su 55 pazienti celiaci a dieta senza glutine da più di due anni e su 50 pazienti di recente diagnosi (di età compresa tra i 18-71 anni, 24% maschi), attraverso la compilazione di un diario alimentare di 7 giorni, ha dimostrato che entrambi i gruppi di pazienti celiaci oggetto di studio introducevano maggiori quantità di nutrienti (energia, proteine, folati, vitamina C, ferro, calcio, magnesio e zinco) rispetto alla popolazione generale (Shepherd and Gibson, 2013). Unica eccezione era rappresentata dall'intake di tiamina da parte delle donne celiache di recente diagnosi che è risultata essere più bassa rispetto al gruppo di controllo. Inoltre, la maggior parte dei dati di intake dei pazienti celiaci ottenuti in questo studio eccede i target nutrizionali raccomandati dal Paese di riferimento. Uniche eccezioni sono rappresentate dalla fibra, il cui intake nelle due coorti celiache studiate risultava conforme alle linee guida del Paese di riferimento così come quello dei folati nelle donne con recente diagnosi di celiachia. Tali dati sono in disaccordo con quanto osservato negli studi precedentemente citati.

I diversi studi effettuati sulla valutazione dell'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine in termini di macro e micro -nutrienti, come si evince, presentano risultati contrastanti. Di conseguenza, nonostante la relativa abbondante letteratura sulle abitudini alimentari dei soggetti celiaci è tuttora difficile trarre una conclusione definitiva sulla qualità nutrizionale di questa dieta.

Riassumendo, per quanto riguarda l'assunzione di macro-nutrienti, diversi autori hanno riportato tra pazienti celiaci e controlli, simili introduzioni di energia (Grehn et al., 2001; Kinsey et al., 2008; Wild et al., 2010; Dall'Asta et al., 2012), grassi (Grehn, 2001; Shepherd and Gibson, 2013), proteine (Grehn et al., 2001; Dall'Asta et al., 2012), carboidrati (Grehn, 2001; Kinsey et al., 2008; Dall'Asta et al., 2012; Martin et al., 2013) compreso amido e zuccheri, fibre e colesterolo.

Viceversa, altri autori, nei pazienti celiaci rispetto alla controparte sana hanno osservato un intake energetico (Bardella et al., 2000; Kinsey et al., 2008) e di fibra (Grehn et al., 2001; Wild et al., 2010) significativamente inferiore. Tuttavia altri studi hanno dimostrato una maggiore assunzione di grassi totali e saturi (Wild et al., 2010; Dall'Asta et al., 2012) nella dieta dei pazienti celiaci rispetto ai soggetti sani. In relazione all'introduzione di micronutrienti, la maggior parte degli

studi ha mostrato bassi livelli di acido folico, niacina, vitamina B12, vitamina E, vitamina A, fosforo, calcio, zinco e selenio nei soggetti celiaci rispetto ai controlli (Thompson et al., 2005; Dall'Asta et al., 2012; Grehn et al., 2001; Wild et al., 2010; Shepherd and Gibson, 2013; Hallert et al., 2002).

Una maggiore concordanza tra gli studi si osserva quando i dati ottenuti sono paragonati ai livelli di nutrienti raccomandati dal Paese in questione. La maggior parte dei dati ottenuti in questi studi suggerisce che le persone affette da celiachia introducono meno fibra (Grehn et al., 2001; Hopman et al., 2006; Kinsey et al., 2008; Wild et al., 2010; Dall'Asta et al., 2012; Martin et al., 2013) folati (Grehn et al., 2001; Hallert et al., 2002; Wild et al., 2010; Dall'Asta et al., 2012), calcio (Grehn, 2001; Kinsey, 2008; Dall'Asta et al., 2012), ferro (Hopman et al., 2006; Wild et al., 2010; Dall'Asta et al., 2012) e una quantità superiore di proteine (Kinsey, 2008; Shepherd and Gibson, 2013; Martin et al., 2013;) e energia da grassi totali e grassi saturi (Bardella et al., 2000, Hopman et al., 2006; Dall'Asta et al., 2012; Martin et al., 2013), avanzando l'ipotesi che la dieta priva di glutine possa risultare, a lungo termine, non equilibrata.

Da un'analisi generale di tutti gli studi citati si evince che la dieta dei celiaci non si differenzia molto da quella della popolazione generale soprattutto in termini di macronutrienti e sia la popolazione sana che quella celiaca, da quel che si evince nella maggior parte dei lavori presenti in letteratura, non rispettano le raccomandazioni nutrizionali vigenti del Paese di riferimento. Tuttavia, in diversi lavori è emerso che i celiaci rispettano meno le raccomandazioni nutrizionali della popolazione generale soprattutto per quanto riguarda l'introduzione di grassi e micronutrienti.

Nonostante i diversi studi che indagano la qualità nutrizionale della dieta senza glutine, i metodi applicati in queste ricerche, differiscono molto l'uno dall'altro presentando diversi limiti che rendono complicato trarre delle conclusioni definitive.

I limitati dati esistenti sulla composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine, rappresentano una delle più prevedibili cause di discrepanza tra gli studi.

Altri potenziali limiti della maggior parte degli studi considerati potrebbero essere rappresentati dall'utilizzo di un diario alimentare di soli 3 o 4 giorni per la registrazione delle abitudini alimentari. Un lasso di tempo così breve potrebbe

risultare inadeguato per dare una valutazione generale della qualità nutrizionale della dieta celiaca poiché l'intake nutrizionale può variare di giorno in giorno in seguito a diversi fattori come il giorno della settimana piuttosto che la stagione dell'anno (Thompson, 2005). Altro potenziale limite potrebbe essere rappresentato dall'ampiezza del campione considerato per lo studio. Infatti, in diversi studi, il ridotto campione di soggetti considerato potrebbe non essere rappresentativo della popolazione celiaca generale.

2.2.1 Qualità della dieta senza glutine nei bambini

Pochi studi sulla valutazione dell'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine sono stati condotti sulla popolazione dei bambini e degli adolescenti celiaci.

Uno dei primi studi condotti su una popolazione di pazienti celiaci adolescenti italiani è stato pubblicato più di 10 anni e ha valutato le abitudini alimentari in corso di terapia dietetica (Mariani et al., 1998). In particolare, attraverso l'utilizzo di un diario alimentare di 3 giorni, incluso un giorno festivo, sono state valutate le abitudini alimentari di 47 adolescenti con sindrome celiaca (37 ragazze e 10 ragazzi) di età compresa tra i 10 e i 20 anni. I dati nutrizionali sono stati poi confrontati con quelli ottenuti da un gruppo di controllo opportunamente selezionato per genere ed età. Simili intake di energia, di percentuale di energia proveniente da grassi, fibra, ferro e calcio sono stati osservati nella popolazione celiaca e in quella sana. Diversamente, l'intake di energia proveniente da proteine è risultato significativamente inferiore negli adolescenti celiaci studiati. Rispetto ai livelli nutrizionali raccomandati (LARN, 1996), il gruppo di adolescenti celiaci aveva una dieta sbilanciata caratterizzata da un'introduzione giornaliera di energia, di energia da carboidrati, ferro, calcio e fibra significativamente inferiore; al contrario, l'introduzione di energia percentuale proveniente da grassi e proteine eccedeva i livelli raccomandati.

Un'elevata introduzione di grassi è stata osservata anche da Ferrara e colleghi in uno studio del 2009. L'intake calorico e il consumo di grassi sono stati stimati in 100 bambini: di cui 50 celiaci (32 femmine) di età compresa tra i 6 e i 16 e 50 bambini sani (33 femmine) di età compresa tra i 6 e i 17 anni. Quantità totale di cibo consumato, tipo di cibo e distribuzione temporale dei pasti durante un

singolo giorno sono stati confrontati tra i due gruppi attraverso l'utilizzo di un questionario. Una più alta e significativa introduzione giornaliera di grassi è stata osservata nei giovani celiaci rispetto al gruppo di controllo (72,5g/100g di alimento *vs* 52,9g/100g di alimento rispettivamente). Tale osservazione risultava essere più marcata nelle bambine celiache rispetto ai bambini celiaci. Per quanto riguarda l'intake energetico, non sono state osservate differenze significative nei due gruppi al momento del pranzo e della cena, tuttavia i giovani celiaci consumano più snacks dei ragazzi sani durante la mattina e il pomeriggio. In linee generali i risultati di questo studio suggeriscono che il gruppo di pazienti celiaci, pur avendo un comparabile intake calorico rispetto al gruppo di controllo, ingerisce una quantità di grassi significativamente più alta rispetto a questo. Tali risultati sono molto preoccupanti poiché una prolungata ed eccessiva introduzione di alimenti ricchi di grassi nella dieta può determinare un'eccessiva introduzione di colesterolo e acidi grassi saturi che potrebbero influenzare profondamente il metabolismo lipidico e le funzioni del sistema endocrino. I cambiamenti del profilo lipidico causati da una più alta introduzione di grassi potrebbero dunque portare ad un ampio spettro di manifestazioni cliniche con possibili conseguenze a lungo termine nell'età adulta (Ferrara et al., 2009).

Un'altra ricerca sulle abitudini alimentari di bambini/adolescenti celiaci è stata condotta da alcuni ricercatori svedesi nel 2010 (Ohlund et al., 2010). In questo studio sono stati arruolati 25 ragazzi celiaci di età compresa tra i 4-17 anni. L'intake dietetico è stato calcolato attraverso l'utilizzo di un diario alimentare di 5 giorni. L'adeguatezza della dieta senza glutine è stata confrontata con i dati di intake nutrizionali ottenuti da un'indagine alimentare condotta su ragazzi svedesi sani nel 2003. In generale, i pazienti celiaci avevano un regime dietetico simile ai soggetti sani caratterizzato da un'elevata introduzione di grassi saturi e zuccheri, ma bassi introiti di fibra, vitamina D e magnesio. Unica differenza tra il gruppo di controllo e il gruppo celiaco era nella più alta e significativa introduzione di zuccheri da parte di questi ultimi. Tredici su venticinque ragazzi celiaci introducevano meno energia rispetto alle raccomandazioni nutrizionali vigenti (Nordic Nutrition Recommendations, 2004); al contrario, la maggior parte dei soggetti celiaci ripartiva correttamente la percentuale di energia tra i vari macronutrienti. L'introduzione di zuccheri e di acidi grassi saturi nel gruppo di

soggetti celiaci eccedeva però i livelli raccomandati a differenza degli acidi grassi polinsaturi, della fibra e di alcuni micronutrienti come il selenio, il magnesio e la vitamina D il cui intake, in più della metà dei bambini e degli adolescenti celiaci, risultava ben al di sotto dei livelli raccomandati.

Recentemente, un altro studio è stato condotto al fine di valutare le abitudini nutrizionali di bambini celiaci in terapia dietetica e il possibile ruolo di prodotti industriali privi di glutine negli apporti di macro e micronutrienti. In questo studio sono stati arruolati 18 bambini celiaci di età compresa tra 4 e 10 anni, in dieta aglutinata da almeno 6 mesi (Zuccotti et al., 2012). Le abitudini alimentari dei soggetti sono state valutate attraverso la compilazione di un diario alimentare settimanale, in cui sono state annotate frequenza, distribuzione giornaliera dei pasti e porzioni abituali consumate, e un recall alimentare delle 24 ore, in cui i soggetti hanno annotato gli alimenti consumati nell'arco della giornata precedente. Ai pazienti è stato inoltre richiesto di identificare gli alimenti privi di glutine di produzione industriale consumati, indicandone con precisione nome commerciale e marca. I dati ottenuti dai pazienti sono stati quindi messi a confronto con quelli di un gruppo di soggetti sani e anche valutati rispetto ai Livelli di Assunzione Raccomandata di energia e Nutrienti in Italia (LARN, 1996). Sono stati osservati: un apporto calorico significativamente maggiore nei bambini celiaci rispetto ai soggetti del gruppo di controllo; un maggior consumo di carboidrati nel gruppo dei bambini celiaci, che tuttavia, al contrario di quanto osservato nei soggetti sani, è risultato adeguato rispetto ai LARN; un introito lipidico nei soggetti celiaci inferiore rispetto a quanto osservato nei soggetti sani, ma comunque al di sopra dei LARN; un consumo proteico ed un introito di zuccheri semplici superiori a quanto consigliato dai LARN in entrambi i gruppi di soggetti e una non differente introduzione di fibra tra i due gruppi. Considerando gli apporti di micronutrienti, non sono state evidenziate differenze significative tra bambini celiaci e sani, fatto salvo per l'introito di vitamina D, risultato inferiore nei primi, e lo zinco superiore nei celiaci. Gli apporti di calcio e ferro sono risultati insufficienti rispetto alle raccomandazioni dei LARN in entrambi i gruppi di soggetti. Inoltre, l'indice glicemico degli alimenti naturalmente privi di glutine consumati nei bambini affetti da sindrome celiaca è risultato significativamente più elevato rispetto a quanto osservato nei soggetti sani.

Nello stesso studio (Zuccotti et al., 2012) è stato valutato anche il contributo dei prodotti privi di glutine di preparazione industriale consumati dai bambini celiaci all'introduzione calorica e di nutrienti: è stato rilevato che ben il 36% dell'introito calorico totale e circa il 50% del totale dei carboidrati derivavano dal consumo di tali alimenti, che pertanto potrebbero aver avuto un ruolo importante nel determinare l'elevato introito calorico e glucidico osservato nei pazienti.

Un recentissimo studio (Kautto et al., 2013) condotto in Svezia nel 2006-2007 ha valutato le abitudini alimentari di 37 adolescenti (23 ragazze) di 13 anni con malattia celiaca. Le abitudini alimentari sono state valutate attraverso un questionario di frequenza alimentare riferito ai consumi delle 4 precedenti settimane. I risultati sono stati poi confrontati con quelli ottenuti su un gruppo di controllo caratterizzato da 805 adolescenti (430 ragazze) selezionati per età. I risultati dimostrano che i soggetti con sindrome celiaca introducevano meno proteine e fibre rispetto al gruppo di controllo, ma più grassi totali, come osservato già da Ferrara et al., (2009), acidi grassi polinsaturi, ma meno micronutrienti (tiamina equivalenti, riboflavina, niacina e vitamina B6, B12, folati, zinco, selenio e magnesio). Inoltre, in entrambi i gruppi, rispetto alle raccomandazioni è stato osservato un ridotto intake di fibra, un'elevata introduzione di acidi grassi saturi e un ridotto intake di vitamina D e vitamina C. Le osservazioni effettuate, sebbene tra loro spesso differenti e pertanto non conclusive, hanno permesso di avanzare l'ipotesi che anche la dieta aglutinata nei bambini/adolescenti celiaci possa risultare nutrizionalmente non ottimale. In generale, nei diversi studi, la dieta dei bambini celiaci se confrontata con quella dei bambini sani risulta caratterizzata da simili introduzioni energetiche (Mariani et al., 1998; Ferrara et al., 2009) ma da un eccessivo consumo di zuccheri semplici e grassi (Ferrara et al., 2009; Ohlund et al., 2010; Kautto et al., 2013) e da un ridotto introito di fibre (Ohlund et al., 2010; Kautto et al., 2013). In generale, rispetto ai livelli di nutrienti raccomandati dal Paese di riferimento i bambini e gli adolescenti celiaci hanno osservato maggiori introduzioni di grassi totali (Zuccotti et al., 2012) e saturi (Kautto et al., 2013), di energia da grassi saturi (Mariani et al., 1998; Ohlund et al., 2010) ma bassi intake di fibra (Mariani et al., 1998; Ohlund et al., 2010; Kautto et al., 2013), ferro (Mariani et al., 1998;

Zuccotti et al., 2012), calcio (Mariani et al., 1998; Zuccotti et al., 2012) e vitamina D (Ohlund et al., 2010; Kautto et al., 2013).

Similmente a quanto osservato per la dieta dei celiaci adulti, la qualità della dieta dei bambini celiaci non si presenta molto diversa da quella dei bambini sani; negli studi citati, in generale, sia i bambini celiaci che quelli sani mostrano una dieta sbilanciata, caratterizzata da elevate introduzioni di grassi e zuccheri e da basse introduzioni di micronutrienti, soprattutto ferro e calcio che non risultano conformi alle raccomandazioni nutrizionali nazionali vigenti.

In conclusione, non essendo ancora del tutto chiara l'adeguatezza nutrizionale della dieta priva di glutine e la sua relazione con l'adiposità ed i principali fattori di rischio cardiovascolari nella popolazione pediatrica e adulta, alla luce di queste evidenze, risulta fondamentale proporre e attuare nel bambino, fin dai primi anni di vita, così come nell'adulto, un adeguato modello alimentare al fine di prevenire o ridurre l'insorgenza di importanti patologie.

3. PRODOTTI SENZA GLUTINE

L'assenza di glutine in alimenti naturali e trasformati rappresenta un aspetto fondamentale della sicurezza alimentare della dieta priva di glutine. Il termine "senza glutine" è stato introdotto sulle etichette alimentari diversi anni fa.

L'attuale norma del Codex per gli alimenti senza glutine è stata adottata dalla Commissione del Codex Alimentarius, dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e dell'Organizzazione per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO) nel 1976 e modificata nel 1983 (Codex Alimentarius Commission, 1983).

Il 21 gennaio 2009 è stato pubblicato il nuovo regolamento della CE (2009/41), in applicazione del *Codex Alimentarius* europeo, relativo alla composizione e all'etichettatura dei prodotti alimentari adatti ai celiaci. Il nuovo regolamento definisce "senza glutine" i prodotti con contenuto di glutine inferiore ai 20 ppm consentendo la definizione "senza glutine" non solo ai prodotti distribuiti attraverso il canale delle farmacie, ma anche a quelli destinati al consumatore generale, che rispettino comunque il limite di 20 ppm. Infine, riguardo le materie prime consentite per la produzione di alimenti senza glutine, il regolamento europeo ha sancito che possono essere definiti "senza glutine" anche i prodotti ottenuti con l'impiego di materie prime derivanti da cereali vietati all'origine, come l'amido di frumento per il pane, purchè si garantisca un contenuto in glutine < 20 ppm nel prodotto finito.

Nell'articolo 7 del decreto dell'8 Giugno 2001 (*"Assistenza sanitaria integrativa relativa ai prodotti destinati ad una alimentazione particolare"*) è stabilito che presso la direzione generale della Sanità pubblica veterinaria degli alimenti e della nutrizione è istituito il registro nazionale dei prodotti destinati ad un'alimentazione particolare erogati nelle singole regioni a carico del Servizio Sanitario Nazionale con le indicazioni delle modalità scelte dalle regioni stesse. Queste ultime insieme alle Aziende Sanitarie locali attivano adeguati sistemi di controllo sull'appropriatezza delle prescrizioni dei prodotti erogati sul proprio territorio e sul conseguente andamento della spesa. L'elenco riportato nel registro viene aggiornato periodicamente dal Ministero ed i prodotti che ne fanno parte sono facilmente identificabili grazie ad un logo ministeriale ufficiale (Figura 2), che le aziende possono apporre sulle confezioni.



Figura 2: Logo ministeriale per identificare i prodotti senza glutine

3.1. IL PRONTUARIO

Il Prontuario è una pubblicazione edita annualmente da parte dell'Associazione Italiana Celiachia (AIC) che raccoglie, a seguito di valutazione, tutti quei prodotti che, seppur non pensati specificamente per una dieta particolare, risultano comunque idonei al consumo da parte del soggetto celiaco. A tal fine, viene distribuita a tutti gli iscritti all'associazione, ai servizi di ristorazione e a tutti coloro che ne facciano richiesta.

Le aziende produttrici che sono incluse nell'elenco, dichiarano l'idoneità dei propri prodotti ad essere consumati anche dai celiaci (in quanto il glutine eventualmente presente è sempre inferiore a 20 ppm) e ciò tenendo conto non solo degli ingredienti, ma anche delle possibili contaminazioni durante tutte le fasi di produzione (stoccaggio, lavorazione, confezionamento, ecc.). La dicitura "senza glutine" è di natura volontaria, pertanto, il numero di prodotti alimentari del libero commercio che riporteranno questa scritta dipenderà molto dall'interesse delle aziende verso il consumatore celiaco. Attualmente il Prontuario è uno strumento indispensabile per identificare i prodotti del libero commercio idonei alla dieta dei celiaci e rappresenta un riferimento e una garanzia aggiuntiva per il consumatore celiaco o il ristoratore.

Il marchio Spiga Barrata (Figura 3), di proprietà dell'AIC (registrato nel 1995), è costituito da un disegno di fantasia richiamante una spiga di grano tagliata da un segmento ed è per il consumatore celiaco simbolo di identificazione immediata di sicurezza ed idoneità alla propria dieta. Il marchio Spiga Barrata, viene concesso

previa la sottoscrizione di un contratto tra AIC e l'Azienda interessata e la successiva verifica da parte di AIC dell'idoneità dei prodotti.



Figura 3: Marchio spiga barrata

3.2 COMPOSIZIONE DEI PRODOTTI SENZA GLUTINE

Un aspetto importante, ma ad oggi ancora scarsamente considerato nella valutazione dell'adeguatezza nutrizionale della dieta del soggetto celiaco, è quello relativo al qualità nutrizionale dei prodotti privi di glutine di produzione industriale. Questi prodotti dedicati ai soggetti celiaci disponibili sul mercato sono attualmente numerosi, ma la valutazione di alcuni di questi, effettuata all'inizio dello scorso decennio da un gruppo americano, ne ha evidenziato la bassa qualità e lo scarso valore nutrizionale, da attribuirsi in primis all'inadeguato contenuto di fibra, ferro e folati (Thompson, 2005), o all'insufficiente integrazione vitaminica, di fibra e di alcuni micronutrienti rispetto agli stessi prodotti convenzionali presenti sul mercato americano (Thompson, 1999).

Tuttavia, più recentemente, alcuni studi hanno evidenziato come l'attuale qualità di questi prodotti dietetici stia complessivamente migliorando, non solo dal punto di vista organolettico e tecnologico, ma anche nutrizionale, grazie all'utilizzo di nuovi ingredienti (de la Barca et al., 2010; Alvarez-Jubete et al., 2009), e alla fortificazione di vitamine ed oligoelementi. Attualmente, nella formulazione dei prodotti senza glutine si impiegano diverse materie prime. Oltre alle farine (riso, mais, sorgo, grano saraceno, amaranto, quinoa) troviamo amidi (mais, patate, manioca), fonti di proteine (soia, lupino, pisello, cece), enzimi (transglutaminasi e glucosio ossidasi), fibre alimentari e additivi in prevalenza appartenenti alle categorie degli addensanti ed emulsionanti (Marco and Rosell, 2008). Le

combinazioni tra i vari ingredienti hanno contribuito a migliorare il gusto e gli aspetti nutrizionali degli alimenti senza glutine oltre a prolungarne la shelf-life.

3.2.1 Materie prime utilizzate nella produzione di prodotti senza glutine

Nella produzione di prodotti senza glutine, la farina di frumento, orzo e segale, viene sostituita con farine di cereali non contenenti glutine (mais, riso, miglio e altre) o farine di semi oleaginosi sgrassate (soia, arachidi) e svariate tipologie di amidi (mais, riso, patata, manioca). Le farine di più comune utilizzo nella produzione di prodotti senza glutine (quella di mais e di riso) sono anche quelle con il più basso valore nutrizionale perché caratterizzate da un basso contenuto di fibra, folati, proteine e ferro quando confrontate con la farina di frumento (Hager et al., 2012).

Le diverse tipologie di amidi senza glutine commerciali utilizzati nella produzione di prodotti da forno sono per lo più quelli di riso, manioca, patate e mais (Houben et al., 2012). Accanto agli amidi nativi, vengono utilizzati nell'industria alimentare anche gli amidi modificati. Essi sono prodotti a partire da amidi nativi mediante trattamento chimico, enzimatico, meccanico e/o termico (Houben et al., 2012). Nella produzione di pane senza glutine, la funzione degli amidi è quella di trattenere l'acqua, e di influenzare la temperatura di gelatinizzazione e la viscosità dell'impasto. Sono utilizzati anche come agenti addensanti in quanto stabilizzano la struttura dell'impasto e possono diminuire il processo di retrogradazione dell'amido (Houben et al., 2012).

Nella formulazione dei prodotti senza glutine trovano largo impiego anche le gomme e altri polimeri che per le loro caratteristiche chimico-fisiche si comportano come idrocolloidi. Questi ingredienti sono composti di natura polisaccaridica e si ottengono per estrazione da piante, alghe o da microorganismi. Gli idrocolloidi hanno una spiccata affinità per l'acqua e il loro impiego è finalizzato a migliorare alcune caratteristiche organolettiche del prodotto senza glutine, quali la palatabilità, oltre a prolungarne la shelf-life. L'aggiunta di questi additivi alimentari, detti addensanti, a basse concentrazioni (0.5%) permette di ottenere una buona consistenza dell'impasto e migliori qualità organolettiche dei prodotti. A questo proposito, è stato dimostrato che le gomme e

i composti idrocolloidi più efficaci sono la idrossipropilmetilcellulosa, la gomma di carruba, quella guar, la carragenina e la gomma xantana (Mariotti et al., 2009).

Altri ingredienti importanti nella formulazione di prodotti senza glutine sono gli oli e i grassi, composti principalmente da trigliceridi degli acidi grassi, ottenuti da fonti vegetali e animali. Essi svolgono numerose e importanti funzioni tecnologiche nei prodotti alimentari (aerazione degli impasti, ritenzione dei gas, azione anti-raffermamento), grazie all'instaurarsi di interazioni chimiche e fisiche con gli altri ingredienti (es. amido, proteine), fin dalle prime fasi di lavorazione dell'impasto. Il risultato macroscopico di queste interazioni è rappresentato dall'ottenimento di prodotti con caratteristiche di texture e palatabilità desiderate. Oltre agli addensanti e gelificanti, anche i lipidi polari ed gli emulsionanti sono molecole in grado di simulare le proprietà funzionali del glutine attraverso la formazione di legami tra amido e proteine, e di aumentare il volume dell'impasto e la ritenzione dei gas. Defloor et al. (1991) hanno dimostrato che un aumento del volume del pane senza glutine, un cambiamento della viscosità dell'impasto e una diminuzione del processo di essiccazione della mollica sono raggiungibili con l'uso di glicerolo monostearato.

Poiché i prodotti senza glutine sono ottenuti in prevalenza con farine raffinate o amidi, il loro apporto in fibra è molto ridotto. Infatti, nella produzione di farina di riso bianco, la lolla e la crusca, ricche di fibra e micronutrienti, vengono rimosse dal risone. Pertanto il prodotto risultante contiene solo quantità trascurabili di fibra (0,4 g/100g) (Hager et al., 2012). La fibra alimentare è comunemente suddivisa in fibra solubile e insolubile. La solubile è legata alla riduzione dei livelli di colesterolo nel siero e ad una riduzione della risposta glicemica postprandiale. Hager e colleghi (2012) hanno dimostrato che la farina di mais pur essendo caratterizzata da un'elevata percentuale di fibra solubile (24%) il suo contenuto risulta comunque inferiore rispetto alla farina di frumento (39%).

In considerazione del basso contenuto di fibra delle materie prime utilizzate per la produzione degli alimenti senza glutine, da diversi anni sono stati introdotti nella formulazione di questi degli ingredienti come le fibre estratte da diverse matrici vegetali (es. piselli e barbabietola) o inulina. Gallagher et al. (2002), ad esempio, hanno incorporato l'inulina all'8% in una formulazione di pane privo di glutine a base di amido di frumento. Il contenuto di fibra è incrementato dall'1,4%

(controllo) al 7,5% (controllo + inulina) e anche il colore della crosta si è intensificato. L'aggiunta di fibra di pisello (5%, 7,5%, 10%) ad una formulazione di pane senza glutine ha determinato un aumento del contenuto di fibra (190-450% superiore a quello del pane di controllo) e una mollica più morbida durante un periodo di conservazione pari a 4 giorni. Recentemente, uno studio brasiliano (Capriles e Areas, 2013) ha valutato l'effetto dell'aggiunta di diverse percentuali (4, 8, 10 e 12%) di frutto-oligosaccaridi (inulina e oligofruuttosio) nell'impasto di pani senza glutine sulla qualità nutrizionale e sensoriale del prodotto finale. Nel formulato, costituito da fibre aggiunte in concentrazioni tra il 4 e il 12%, è stato dimostrato, rispetto ai pani commerciali senza glutine, un contenuto molto più elevato di fibra con valori osservati che oscillavano dall'11 al 20% di sostanza secca *vs* l'1,2-7,2% di fibra presente nei pani senza glutine commerciali. Inoltre, ogni formulazione ha determinato un aumento del volume specifico dei prodotti finali rispetto al pane controllo (0% frutto-oligosaccaridi). Pertanto, i dati suggeriscono che queste fibre possono conferire struttura e mostrano capacità di ritenzione di CO₂ durante la cottura allo stesso modo di alcuni idrocolloidi che sono usati come agenti strutturanti in formulazioni di pani senza glutine quali la gomma di xantano e l'idrossipropilmetil metilcellulosa (HPMC).

I risultati di questo studio concordano con quelli riportati da Korus e Grzelak, (2006) che hanno sostituito, nella ricetta di pani senza glutine, gli amidi con il 3, 5 e l'8 % di inulina. Essi hanno osservato un graduale aumento di volume (fino al 9 %) in base ai livelli di inulina nella formulazione. In generale, il colore della crosta di tutti i pani arricchiti era più scuro rispetto a quello del pane di controllo. Questo risultato è dovuto al fatto che la miscela di fibre aggiunte conteneva zuccheri ridotti che possono partecipare alla reazione di Maillard determinando un incurimento della crosta. Inoltre, l'idrolisi di frutto-oligosaccaridi a basso peso molecolare, verificatasi durante la cottura, ha determinato un aumento della quantità di zucchero (specialmente fruttosio), favorendo nuovamente la reazione di Maillard.

Nella formulazione dei prodotti senza glutine troviamo anche frazioni proteiche vegetali (es. proteine della soia) o di origine animale (es. proteine del latte o uova). Le proteine del latte hanno un elevato valore nutrizionale e sono molto impiegate nella produzione di prodotti senza glutine per la loro struttura chimica molto

simile a quella delle proteine del glutine. Le principali proteine del siero sono l' α -lattoalbumina (quattro ponti disolfuro) e la β -lattoglobulina che hanno una struttura globulare e idrofoba. Vengono impiegate perché, formando strutture porose durante l'impasto, trattengono l'acqua, conferiscono stabilità all'impasto e al prodotto finale e aumentano la shelf-life del prodotto finale. L'aggiunta di proteine del latte e aminoacidi essenziali come la lisina, metionina e triptofano aumenta anche la qualità nutrizionale dei prodotti da forno senza glutine (Houben et al., 2012). Nel pane senza glutine, si è inoltre osservato un aumento del volume e un miglioramento della consistenza, del sapore, del colore, della crosta e della shelf-life (Houben et al., 2012). Tuttavia, esistono alcuni svantaggi nell'impiego di queste proteine. Infatti, le persone con malattia celiaca sono spesso intolleranti al lattosio (Ortolani et al., 2006). La seconda ragione è che le proteine del latte, così come quelle delle uova, possono provocare reazioni allergiche.

Accanto alle proteine del latte, le proteine di surimi, della soia e delle uova possono essere utilizzate nella produzione di prodotti da forno senza glutine (Houben et al., 2012). E' stato osservato che il surimi ha un'elevata funzionalità e mostra un buon comportamento gelificante (Whitehead, 1992).

Infine, le proteine della soia, per l'alto contenuto in lisina, trovano impiego nella produzione dei prodotti senza glutine sotto forma di farina ad alto contenuto proteico o come isolato proteico determinando un aumento del volume e della consistenza della mollica del pane (Houben et al., 2012).

Molti enzimi sono naturalmente inclusi nelle materie prime per l'impiego di prodotti senza glutine per migliorare le proprietà dell'impasto e aumentare la qualità finale del prodotto senza glutine. A seconda dell'attività enzimatica, la capacità di legare l'acqua, la retrogradazione dell'amido e la morbidezza della mollica possono essere influenzati positivamente nella produzione di pane senza glutine (Houben et al., 2012). Gli enzimi che vengono spesso utilizzati nella produzione di pane senza glutine sono l'amilasi e la ciclodestrina glicosiltransferasi. Inoltre, glucosio-ossidasi, lattasi e proteasi possono essere presenti in diverse formulazioni (Houben et al., 2012).

3.2.2 Materie prime alternative nella produzione di prodotti senza glutine

Con l'obiettivo di migliorare gli aspetti nutrizionali e tecnologici dei prodotti senza glutine, quali pane, pasta e cracker, gli ultimi anni sono state studiate nuove materie prime, quali farine ottenute da risi pigmentati, da sorgo, da legumi (lupino, pisello, cece, soia) o da castagne. Il loro impiego è motivato dal ruolo nutrizionale e funzionale che possono svolgere, oltre alla possibilità di sostituire con successo le proteine animali. Tali farine sono impiegate come additivi per la loro capacità di legare l'acqua durante l'impasto dei prodotti senza glutine, creando una struttura impermeabile ai gas (Houben et al., 2012).

Di recente, Yamsaengsung e colleghi (2011) hanno studiato diverse formulazioni di biscotti senza glutine con l'utilizzo della farina di cece. In tale studio, l'aggiunta di farina di cece al 60-80% nella produzione di biscotti senza glutine, formulati anche con farina di amaranto e grano saraceno, ha determinato la massima accettabilità da parte del consumatore, nonché un incremento del profilo nutrizionale di tale prodotto. Il cece (*Cicer arietinum*) infatti, è una fonte importante di proteine (23-27%), carboidrati, lipidi (5,8-6,2%) e vitamine del gruppo B. Anche Ergin e colleghi (2012) hanno utilizzato la farina di ceci per la formulazione di biscotti senza glutine. In particolare, sono state utilizzate la farina di riso, di patate, di mais e quella di ceci in otto diverse formulazioni e i prodotti finali sono stati valutati per le loro proprietà sensoriali, chimiche e fisiche. Il prodotto senza glutine risultato migliore per i parametri considerati (colore, gusto, odore e consistenza) era così formulato: farina di riso (35%), amido di mais (35%), farina di patate (10%), farina di ceci (10%) e amido di patata (10%). E' stato inoltre osservato che l'inclusione di farina di ceci nell'impasto, non solo aumenta il contenuto minerale e lipidico di questa, ma contribuisce anche a ridurre la risposta glicemica in soggetti sani (Goni e Valentin-Gamazo, 2003). Di recente, è stata impiegata anche la farina di lupino nella produzione di biscotti senza glutine. Il valore nutrizionale del lupino è distintivo rispetto alle farine di cereali senza glutine (riso e mais) tradizionalmente utilizzate in quanto contiene elevate quantità di proteine (36-52%), fibre (30-40%) e vitamine come la tiamina, riboflavina, niacina, acido folico e vitamina E (Maghaydah et al., 2013). Il lupino inoltre è anche molto ricco di fitoestrogeni, fitosteroli e antiossidanti. In questo studio, sono state utilizzate otto diverse miscele di farine senza glutine (lupino,

riso, farina di mais e amido di mais). In base alle condizioni di prova studiate, i biscotti risultati migliori, sia dal punto di vista nutrizionale che organolettico, sono stati 2: il primo preparato con il 50 % di farina di lupino e il 50% di amido di mais e l'altro preparato con farina di lupino (20%), farina di mais (30%), farina di riso (20%) e amido di mais (30%).

Tra le varie materie prime utilizzate nella produzione di prodotti senza glutine è stata di recente impiegata anche la farina di palma. Vieira e colleghi (2006) hanno riferito che la farina di palma, ottenuta dal residuo della lavorazione della palma, contiene alti livelli di fibra alimentare e di sali minerali, soprattutto calcio, magnesio e potassio, e potrebbe essere, per esempio, un'interessante alternativa per la produzione di biscotti senza glutine (de Simas et al., 2009). E' stato infatti valutato l'effetto di miscele di diverse farine (farina di palma, di riso e amido di mais) sulle caratteristiche chimiche e fisiche di biscotti senza glutine (De Simas et al., 2009). I biscotti preferiti dai consumatori celiaci in questo studio sono stati quelli contenenti concentrazioni di farina di palma pari al 10 e 20%.

Per le loro interessanti proprietà nutrizionali un'attenzione crescente è rivolta anche ai cereali minori quali fonio (bianco e nero), teff, miglio e sorgo, agli pseudo-cereali (grano saraceno, quinoa e amaranto) e alle farine da essi ottenuti. E' stato dimostrato che tali cereali rappresentano una buona fonte di carboidrati, fibra alimentare, minerali, vitamine e folati (Krauss et al., 2001).

Il grano saraceno, ad esempio, fatta eccezione per il calcio, è una fonte molto più ricca di minerali rispetto ad altri cereali come il riso, il sorgo, il miglio e il mais (Hager et al., 2012); il contenuto totale di minerali in amaranto, quinoa e avena è circa il doppio di quello di altri cereali (Dyner et al., 2007; Sadiq-Butt et al., 2008); nel teff, il contenuto di ferro e di calcio (11-33 mg/100 g e 100-150 mg/100 g, rispettivamente) è superiore a quello di grano, orzo, sorgo e riso.

L'elevato contenuto di calcio nella quinoa è stato trovato essere più alto che in tutte le altre farine senza glutine (Hager et al., 2012). Un'elevata concentrazione di acido folico è stata trovata in alcuni pseudo-cereali come quinoa (78 µg/100g) e amaranto (102 µg/100g) rispetto al grano (40 µg/100 g). Sia l'amaranto che la quinoa sono buone fonti di riboflavina, vitamina C e vitamina E (Sadiq-Butt et al., 2008, Fabjan et al., 2003). Il profilo lipidico dell'amaranto è interessante anche perché caratterizzato da un'elevata quantità di acidi grassi insaturi, con un livello

molto elevato di acido linoleico (Berghofer and Schoenlechner, 2002). Le farine ottenute dall'amaranto, dalla quinoa e dal grano saraceno sono già state utilizzate nella produzione di alimenti senza glutine con significativo miglioramento dell'apporto in proteine, fibra e minerali. Gambus et al. (2002), nella produzione di pane senza glutine, ad esempio, hanno sostituito l'amido di frumento con la farina di amaranto (10%) osservando un incremento di proteine e di fibre del 32% e del 152%, rispettivamente, rispetto al controllo. Anche Tosi et al. (1996) hanno descritto l'uso della farina di amaranto in questi prodotti. Questi autori hanno formulato un insieme di prodotti senza glutine usando alimenti interamente fatti con farina di amaranto, con un aumento del contenuto proteico di questi prodotti.

3.3 QUALITA' NUTRIZIONALE DEI PRODOTTI SENZA GLUTINE

Come già osservato nei paragrafi precedenti, pochi sono gli studi che hanno valutato la composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine, soprattutto in termini di micronutrienti (Anderson e Holdoway, 2011).

Uno dei più recenti studi che ha indagato la composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine è quello di Matos-Segura et al. (2011). In tale studio spagnolo è stata valutata la composizione nutrizionale di 11 diversi tipi di pane commerciale senza glutine. Con tale analisi è emerso un contenuto molto variabile sia lipidico che proteico nei pani analizzati. Nel caso della fibra, la maggior parte dei pani senza glutine valutati ne conteneva una elevata quantità (> 3 g/100 g) e in molti casi la fibra solubile era superiore alla frazione insolubile. La presenza di idrocolloidi, necessari nella formulazione di questi prodotti, hanno commentato gli autori, potrebbe essere parzialmente responsabile di questo risultato.

Un altro studio è quello Yazynina et al. (2008) che ha esaminato la composizione nutrizionale di alcuni pani senza glutine (un panino e due pani croccanti) e di alcuni ingredienti (farina di riso, farina di mais e amido di mais). E' stato osservato che gli amidi e le proteine contenute nelle materie prime di questi prodotti avevano un basso contenuto in folati (≤ 6 $\mu\text{g}/100$ g di peso fresco). Tuttavia, il contenuto di folati dei prodotti ottenuti da tali ingredienti è risultato

essere più alto (15,1-35,8 µg/100 di peso fresco) rispetto a quanto osservato nell'analisi delle materie prime iniziali, probabilmente per l'utilizzo di lieviti, ma comunque più basso rispetto al contenuto di omologhi prodotti convenzionali. Gli autori suggeriscono che l'aggiunta di pseudo-cereali come la quinoa, il grano saraceno, il miglio e l'amaranto nella formulazione di tali prodotti potrebbe essere interessante per aumentarne il contenuto in folati.

3.3.1 *Indice glicemico*

La letteratura scientifica ha dimostrato un aumento del rischio di cardiopatia ischemica in pazienti con malattia celiaca, anche in assenza di fattori comuni di rischio, come l'alto BMI, il fumo e l'ipertensione (Emilsson et al., 2013). Tale rischio potrebbe essere attribuito all'infiammazione sistemica, con livelli elevati di varie interleuchine, e al fattore di necrosi tumorale (Manavalan et al., 2010). Dal momento che una dieta con alto indice glicemico determina livelli più elevati del fattore di necrosi tumorale e di interleuchina rispetto ad una dieta con basso indice glicemico (Bullò et al., 2011), nello sviluppo di prodotti senza glutine, dovrebbe essere considerato anche il loro effetto sulla risposta glicemica.

E' stato suggerito da Jenkins et al. (1987) che la risposta glicemica di alimenti ricchi in carboidrati potrebbe aumentare in seguito alla rimozione del glutine che, costituendo una maglia glutinica, limita, soprattutto nella pasta, il rigonfiamento e la gelatinizzazione dei granuli di amido rallentandone la digestione. La presenza però nelle formulazioni dei prodotti senza glutine di idrocolloidi e di altri ingredienti come grassi e proteine potrebbe influenzare la digeribilità dei carboidrati e determinare una diversa risposta glicemica. E' stato dimostrato, ad esempio, che l'aggiunta di fibre solubili, come gomma guar, arabinoxilani ad alto peso molecolare, β -glucani o psyllium, nella produzione di pane è in grado di ridurre la risposta glicemica postprandiale (Scazzina et al., 2013). Analogamente, l'alto contenuto di proteine e lipidi negli alimenti possono influenzarne la risposta glicemica, per esempio, mediante una modulazione dello svuotamento gastrico. Tuttavia, a tutt'oggi, pochi sono gli studi che hanno valutato l'indice glicemico di prodotti senza glutine e, dai dati pubblicati ad oggi, i risultati sembrano piuttosto discordanti tra loro.

Nel 1987, l'indice glicemico di pani senza glutine era risultato maggiore rispetto a quello d un pane bianco tradizionale. Risultati simili sono stati trovati da Berti et al. (2004): l'indice glicemico del pane e della pasta senza glutine erano molto superiori rispetto ai loro analoghi contenenti glutine. Tuttavia, Packer et al. (2000) hanno per primi riportato che l'indice glicemico di alcuni prodotti senza glutine, come biscotti, pasta, pane bianco e pane integrale, era paragonabile all'indice glicemico dei rispettivi prodotti convenzionali.

Certamente, la modifica di alcuni ingredienti nella formulazione dei prodotti senza glutine e l'applicazione di differenti tecnologie produttive potrebbero rappresentare una buona strategia per modulare l'indice glicemico degli alimenti senza glutine.

Uno studio recente ha indagato l'effetto dell'aggiunta di diverse percentuali di frutto-oligosaccaridi (0, 4, 8, 10 e 12%) sulla risposta glicemica di pane senza glutine (Capriles et al., 2013). La risposta glicemica è stata valutata in due fasi. Preliminarmente, è stato condotto uno studio *in vitro* per valutare l'effetto delle varie percentuali di frutto-oligosaccaridi aggiunte alla formulazione dei prodotti senza glutine sulla digeribilità dell'amido. Successivamente, uno studio *in vivo* è stato condotto in un gruppo di volontari sani. I risultati hanno dimostrato che l'aggiunta di fibre al 12% diminuito era in grado di diminuire sia l'indice glicemico (da 71 a 48) dei pani arricchiti che il carico glicemico (da 12 a 8). I risultati di questo studio confermano quanto osservato precedentemente dagli stessi autori sulla valutazione dell'indice glicemico di due snack a base di mais (Capriles et al., 2009). In tale studio, al fine di sviluppare uno spuntino sano, il grasso vegetale parzialmente idrogenato, è stato sostituito da una miscela arricchita con inulina e oligofruuttosio. Gli effetti di questa sostituzione sono stati valutati sulla digeribilità dell'amido *in vitro* e sull'indice glicemico. Il prodotto ottenuto dalla parziale sostituzione di grasso con fibra presentava bassi livelli di grassi (0,1%) e un contenuto di fibra sette volte più alto dei prodotti analoghi tradizionali. Inoltre l'arricchimento dei prodotti con fibre prebiotiche ha determinato una riduzione dell'indice glicemico (pari al 25%) rispetto al prodotto iniziale, confermando che la fibra alimentare può contribuire efficacemente a ritardare la risposta glicemica *in vivo* (Capriles et al., 2009). Inoltre, di recente è stato osservato che l'aggiunta di farine ottenute da avena e teff nella formulazione

di pasta all'uovo senza glutine può ridurre l'indice glicemico del prodotto finale oltre che conferirgli un maggiore valore nutrizionale rispetto ai prodotti analoghi formulati con farina di frumento (Hager et al., 2013). Tali risultati sono probabilmente imputabili al più elevato contenuto di fibra (1,0 e 0,6 g/100 g nell'avena cruda e nella pasta teff, rispettivamente, rispetto a <0,1 g/100 g nella pasta di frumento) e minerali nel teff e nell'avena rispetto alla farina bianca che agiscono in modo diverso sulle proprietà collanti e sulla temperatura di gelatinizzazione determinando una riduzione dell'indice glicemico del prodotto finale. Un'altra possibile spiegazione è il livello più elevato di albume in polvere. E' stato precedentemente riportato che la presenza di proteine nella matrice alimentare influenza la velocità di digestione dell'amido (Kim et al., 2008). La quantità di proteine più elevata può incrementare infatti il network proteico, riducendo così la disponibilità dell'amido all'attacco enzimatico. Tali risultati sono in disaccordo con quanto osservato precedentemente da Berti et al. (2004) dimostrando che l'indice glicemico degli alimenti è dipendente dalle materie prime impiegate.

Di recente, l'approccio maggiormente studiato per migliorare la qualità del pane senza glutine prevede l'uso dell'impasto acido, sebbene questa metodica rappresenti uno dei più antichi processi di produzione dei prodotti lievitati. Nell'impasto acido la maggior parte del microbiota, ovvero l'insieme delle specie microbiche presenti, è costituito da batteri lattici. E' stato osservato che l'uso dell'impasto acido nel pane senza glutine ha effetti positivi sulla consistenza del prodotto e nel ritardare il raffermaimento del pane. I vantaggi dell'uso dell'impasto acido riguardano principalmente la conservabilità ed il profilo nutrizionale del prodotto che ne deriva. Il prodotto lievitato ha una più lunga self-life a causa della marcata acidità che inibisce lo sviluppo di muffe, dell'azione enzimatica (pullulanasi) che rallenta la riaggregazione degli amidi (raffermimento) e della produzione di esapolisaccaridi (destrano, levano ecc.) da parte di alcuni batteri lattici, che rendono il prodotto più stabile. L'aspetto nutrizionale è ancora più interessante dal momento che l'uso dell'impasto acido comporta una riduzione dell'indice glicemico, specie se il prodotto contiene fibra solubile ed insolubile (Zannini et al., 2012).

Recentemente è stata studiata l'influenza dell'impasto acido sull'indice glicemico di pane senza glutine cotto precotto e congelato (Novotni et al., 2012). Uno starter commerciale di *Lactobacillus fermentus* è stato aggiunto all'impasto del pane in quattro diverse percentuali (7,5, 15, 22,5 e 30%). L'indice glicemico è stato valutato cottura sul prodotto finale. Tutti i tipi di pane sono stati arricchiti con inulina e presentavano un elevato contenuto di fibre (>6g/100g). Il pane di controllo, che è stato preparato senza impasto acido, presentava un indice glicemico medio di 68. L'aggiunta dell'impasto acido ha determinato una riduzione dell'indice glicemico dei pani. Tuttavia, solo i pani con il 15 e il 22,5% di impasto acido presentavano un basso indice glicemico. I risultati di questo studio supportano l'ipotesi che l'applicazione combinata di impasto acido con tecnologie di surgelazione può determinare una riduzione dell'indice glicemico e migliorare la qualità e la shelf-life di pani senza glutine.

3.1.2 Gradimento e accettabilità

Nonostante la presenza di diversi studi sulle proprietà tecnologiche dei prodotti senza glutine, poca attenzione è stata loro rivolta dal punto di vista sensoriale. Ciò sorprende se si considera che l'aspetto, l'aroma, il gusto e la texture giocano un ruolo chiave nell'apprezzamento del cibo e quindi del suo consumo (Laureati et al., 2012). Inoltre è stato dimostrato che l'insoddisfazione generata sia dal gusto che dall'aspetto visivo dell'alimento senza glutine può avere un impatto negativo sull'aderenza alla dieta senza glutine (Olsson et al., 2008). Questo potrebbe rappresentare un aspetto preoccupante soprattutto nell'età adolescenziale, riportata come il periodo in cui l'aderenza alla dieta senza glutine risulta essere più difficile (Errichiello et al., 2010). Le tecniche e i metodi usati per incrementare le proprietà sensoriali dei prodotti senza glutine rappresentano ancora una sfida per i produttori. Al riguardo, il coinvolgimento di persone celiache nei test sensoriali potrebbe essere considerato strategico. In tale contesto è ragionevole assumere che il seguire una dieta senza glutine, soprattutto dalla nascita, può avere un diverso impatto sulla percezione edonistica e sensoriale del cibo. La valutazione del gradimento di prodotti senza glutine nella popolazione celiaca, e soprattutto in quella dei bambini celiaci, risultano tuttavia scarsi.

Tra gli studi che hanno indagato le proprietà sensoriali di prodotti senza glutine in pazienti celiaci adulti vi è quello di Ciacci e colleghi (2007). In particolare, tali ricercatori hanno valutato il gradimento e l'accettabilità di 3 prodotti senza glutine a base di sorgo (pane, biscotti e torta). Il gradimento, valutato attraverso una scala edonistica a 10 punti, è risultato alto per tutti i prodotti senza glutine formulati (circa 7). Lo stesso test è stato ripetuto dopo 5 giorni e il gradimento di questi prodotti è risultato ancora circa 7 sia per i biscotti che per il pane. Il gradimento di tali prodotti è confermato dal fatto che i soggetti celiaci, partecipanti a tale studio, hanno dichiarato di voler inserire nella propria dieta prodotti a base di sorgo.

Un altro degli studi che ha indagato le proprietà sensoriali, intese come apparenza, aroma, gusto e texture, di pani senza glutine (a base di farina di mais) sempre in soggetti celiaci è quello di Laureati et al. (2012). La percezione edonistica e sensoriale, valutata attraverso una scala di 100 mm, derivante dall'assaggio di 5 tipologie di pane commerciale senza glutine, è stata valutata nei soggetti celiaci e confrontata con quella di individui sani. I risultati non hanno dimostrato differenze significative tra i due gruppi studiati riguardo la percezione sensoriale dei pani senza glutine e che la preferenza dei prodotti senza glutine indagati, in entrambi i gruppi, era positivamente correlata con il gusto dolce e la sofficità e negativamente correlata con la sapidità e le proprietà adesive e gombose dei prodotti. I risultati di questo studio rappresentano un contributo per la creazione di nuove formulazioni di prodotti da forno per celiaci che interpretano al meglio le esigenze e gli atteggiamenti di questo target di consumatori sempre più in aumento.

3.1.3 Micotossine

La contaminazione da micotossine nel mais, riso, sorgo, miglio, grano saraceno, cereali comunemente utilizzati nelle formulazioni dei prodotti senza glutine, è stata ampiamente riportata da molti autori (Bresler et al., 1995; Ayalew et al., 2006; Reddy et al. 2009).

Il termine micotossina viene dal greco "micos" che significa fungo e dal latino "toxicum" che significa veleno. Esso designa le sostanze chimiche tossiche prodotte da alcune muffe che si sviluppano su alcuni prodotti alimentari, tra cui i

cereali in determinate condizioni di pH, temperatura ed umidità. Le micotossine sono generalmente composti termostabili che non vengono distrutti durante la maggior parte dei processi alimentari, comportando la possibilità di contaminazione del prodotto finale. Gli effetti nocivi delle micotossine per l'uomo sono stati ampiamente documentati (SCF 2000) e comprendono effetti cancerogeni (IARC 2002), immunotossici, nefrotossici, epatotossici e teratogeni. Sebbene la Comunità Europea abbia fissato i livelli massimi di contaminazione da micotossine negli alimenti, i limiti indicati dal Regolamento Europeo sono basati sul consumo medio di questi cereali nella popolazione generale europea e non tengono conto di gruppi particolari come quello dei soggetti celiaci, che introducono tendenzialmente una quantità di alcuni cereali, tra cui il mais, superiore alla media. La maggior parte dei prodotti senza glutine dunque, caratterizzata da farine aglutate come la farina di mais, può risultare particolarmente ricca di micotossine.

Uno studio italiano (Dall'Asta et al., 2012) ha di recente valutato la concentrazione di micotossine, in particolare di fumonisine, in 118 prodotti a base di mais di frequente consumo. I risultati relativi all'analisi sul contenuto in micotossine dei 118 prodotti senza glutine mostrano una diffusa contaminazione. In particolare, 8 prodotti su 118 risultano contaminati con valori al di sopra dei limiti legali; tra questi la farina di mais, i cornflakes e alcuni snacks.

Inoltre in tale studio è stata valutata l'esposizione a fumonisine in 40 soggetti celiaci di età compresa tra i 18 e i 70 anni. Tale esposizione è stata valutata attraverso la stima delle fumonisine totali ingerite attraverso la dieta. Le abitudini alimentari sono state valutate con un diario alimentare di 7 giorni e i dati ricavati sono stati confrontati con quelli ottenuti da un gruppo di controllo selezionato per genere ed età. L'eventuale esposizione alimentare a fumonisine è stata valutata combinando i dati relativi alle abitudini alimentari con i dati di fumonisine nei prodotti senza glutine analizzati. I risultati hanno mostrato una maggiore introduzione di fumonisine da parte dei celiaci rispetto al gruppo di controllo. Tali dati "allarmanti" potrebbero avere serie implicazioni sulla salute della popolazione celiaca poiché la diffusa presenza di fumonisine nella maggior parte dei prodotti senza glutine potrebbe portarli a una continua esposizione a questi xenobiotici.

BIBLIOGRAFIA

- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E.K., Gallagher, E. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *J. Food Nutr.* **2009**, 60(4), 240-257.
- Anderson, J., Holdoway, A. Limited micronutrient data for gluten-free bread products prevents accurate dietary analysis. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2011**, 24, 375–407.
- Arentz-Hansen, H., Fleckenstein, B., Molberg, O., Scott, H., Koning, F., Jung, G., Roepstorff, P., Lundin, K.E., Sollid, L.M. The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease. *PLoS Med.* **2004**, 1, 84-92.
- Ayalew, A., Fehrmann, H., Lepschy, J., Beck, R., Abate, D. Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. *Mycopathologia* **2006**, 162(1), 57–63.
- Bardella, M.T., Fredella, C., Prampolini, L., Molteni, N., Giunta, A.M., Bianchi, P.A. Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, 72, 937-939.
- Barera, G., Mora, S., Brambilla, P., Ricotti, A., Menni, L., Beccio, S., Bianchi, C. Body composition in children with celiac disease and the effects of gluten-free diet: a prospective case-control study. *Am J. Clin. Nutr.* **2000**, 72, 71-75.
- Berghofer, E., Schoenlechner, R. Amaranth. In: *Pseudocereals and Less Common Cereals* (edited by P.S. Belton & R.N. Taylor). New York: Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York. **2002**, 225–228.
- Berti, C., Riso, P., Monti, L. D., Porrini, M. In vitro starch digestibility and in vivo glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts. *Eur. J. Nutr.* **2004**, 43, 198–204.
- Branski, D., Shine, M. Oats in celiac disease [letter to the editor]. *N. Engl. J. Med.* **1996**, 334, 865-866.
- Brar, P., Kwon, G.Y., Holleran, S., Bai, D., Tall, A.R., Ramakrishnan, R., Green, P.H. Change in lipid profile in celiac disease: beneficial effect of gluten-free diet. *Am. J. Med.* **2006**, 119(9), 786-790.
- Bresler, G., Brizzio, S.B., Vaamonde, G. Mycotoxin-producing potential of fungi isolated from amaranth seeds in Argentina. *Int. J. Food Microbiol.* **1995**, 25(1), 101–108.

- Bulló, M., Casas, R., Portillo, M.P., Basora, J., Estruch, R., García-Arellano, A., Lasa, A., Juanola-Falgarona, M., Arós F., Salas-Salvadó J. Dietary glycemic index/load and peripheral adipokines and inflammatory markers in elderly subjects at high cardiovascular risk. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2013**, 23(5), 443-550.
- Capriles, V.D, Areas, J.A.G. Effects of prebiotic inulin-type fructans on structure, quality, sensory acceptance and glycemic response of gluten-free breads. *Food Funct.* **2013**, 4, 104-110.
- Capriles, V.D., Soares, R.A.M., Pinto, M.E.M., Areas, J.A.G. Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *International J. Food Sci. Technol.* **2009**, 44, 1895–1901.
- Capristo, E., Addolorato, G., Mingrone, G., De Gaetano, A., Greco, A.V., Tataranni, P.A., Gasbarrini, G. Changes in body composition, substrate oxidation, and resting metabolic rate in adult celiac disease patients after a 1-y gluten-free diet treatment. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, 72, 76-81.
- Capristo, E., Malandrino, N., Farnetti, S., Mingrone, G., Leggio, L., Addolorato, G., Gasbarrini, G. Increased serum high-density lipoprotein-cholesterol concentration in celiac disease after gluten-free diet treatment correlates with body fat stores. *J. Clin. Gastroenterol.* **2009**, 43(10), 946-949.
- Catassi, C., Fabiani, E., Iacono, G., D'Agate, C., Francavilla, R., Biagi, F. A prospective, doubleblind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, 85, 160-166.
- Cheng, J., Brar P.S., Lee, A.R., Green, P.H. Body mass index in celiac disease: beneficial effect of a gluten free diet. *J. Clin. Gastroenterol.* **2010**, 44, 267-271.
- Ciacci, C., Maiuri, L., Caporaso, N., Bucci, C., Del Giudice, L., Massardo, D.R., Pontieri, P., Di Fonzo, N., Bean, S.R., Ioerger, B., Londei, M. Celiac disease: In vitro and in vivo safety and palatability of wheat-free sorghum food products. *Clin. Nutr.* **2007**, 26, 799–805.
- Ciclitira, P.J., Moodie, S.J. Coeliac disease. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **2003**, 17(2), 181-195.

- Clemente, M.G., De Virgiliis, S., Kang, J.S., Macatagney, R., Musu, M.P., Di Pierro, M.R., Drago, S., Congia, M., Fasano, A. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut* **2003**, 52(2), 218-223.
- Cooper, S.E.J., Kennedy, N.P., Mohamed, B.M., Abuzakouk, M., Dunne, J., Byrne, G., McDonald, G., Davies, A., Edwards, C., Kelly, J., Feighery, C.F. Immunological indicators of coeliac disease activity are not altered by long-term oats challenge. *Clin. Exp. Immunol.* **2013**, 171, 3, 313-318.
- Curione, Z., Barbato, M., Viola, F., Francia, P., De Biase, L., Cucchiara, S. Idiopathic dilated cardiomyopathy associated with coeliac disease: the effect of gluten free diet on cardiac performance. *Digest. Liver. Dis.* **2002**, 38, 867-871.
- Dall'Asta, C., Scarlato, A.P., Galaverna, G., Brighenti, F., Pellegrini, N. Dietary exposure to fumonisins and evaluation of nutrient intake in a group of adult celiac patients on a gluten-free diet. *Mol. Nutr. Food Res.* **2012**, 56, 632-640.
- De Bem, R.S., Da Ro Sa Utiyama, S.R., Nisihara, R.M., Fortunato, J.A., Carmes, E.R., Souza, R.A., Pisani, J.C., Amarante, H.M. Celiac disease prevalence in Brazilian dilated cardiomyopathy patients. *Dig. Dis. Sci.* **2006**, 51, 1016-1019.
- De Graaf, A.A., Venema, K. Gaining insight into microbial physiology in the large intestine: a special role for stable isotopes. *Adv. Microb. Physiol.* **2008**, 53, 73-168.
- de la Barca, A.M., Rojas-Martínez, M.E., Islas-Rubio, A.R., Cabrera-Chávez, F. Gluten-free breads and cookies of raw and popped amaranth flours with attractive technological and nutritional qualities. *Plant. Foods Hum. Nutr.* **2010**, 65, 241-246.
- De Palma, G., Nadal, I., Collado, M.C., Sanz, Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *Br. J. Nutr.* **2009**, 102, 1154-1160.
- de Simas, K.N., Vieira, L.D.N., Podesta, R., Muller, C.M.O. Vieira, M.O., Beber, R.C., Reis, M.S., Barreto, P.L.M., Amante, E.R., Ambon, R.D.M.C. Effect of king palm (*Archontophoenix alexandrae*) flour incorporation on physicochemical and textural characteristics of gluten-free cookies. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2009**, 44, 531-538.

- Defloor, I., De Geest, C., Schellekens, M., Martens, A., Delcour, J.A. Emulsifiers and/or extruded starch in the production of breads from cassava. *Cereal Chem.* **1991**, 68, 323–327.
- Dewar, D.H., Ciclitira, P.J. Clinical features and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology* **2005**, 128 (1), 19-24.
- Di Sabatino, A., Corazza, G.R. Coeliac disease. *Lancet* **2009**, 373, 1480-1493.
- Dickey, W., Kearney, N. Overweight in celiac disease: prevalence, clinical characteristics, and effect of a gluten-free diet. *Am. J. Gastroenterol.* **2006**, 101, 2356-2359.
- Dubè, C., Rostom, A., Richmond, S., Cranney, A., Saloojee, N., Garritty, C., Sampson, M., Zhang, L., Yazdi, F., Mamaladze, V., Pan, I., Macneil, J., Mack, D., Patel, D., Moher, D. The Prevalence of Celiac Disease in Average-Risk and At-Risk Western European Populations: A Systematic Review. *Gastroenterology* **2005**, 128, 57–67.
- Dyner, L., Drago, S.R., Piñeiro, A., Sánchez, H., González, R., Villaamil, E., Valencia, M.E. Composition and potential contribution of iron, calcium and zinc of bread and pasta made with wheat and amaranth flours. *Arch. Latinoam. Nutr.* **2007**, 57, 69-77.
- Emilsson, L.R., Carlsson, M., Holmqvist, S., James, J., Ludvigsson, F. The characterisation and risk factors of ischaemic heart disease in patients with coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2013**, 37(9), 905-914.
- Ergin A., Nur Herken, E. Use of various flours in gluten-free biscuits. *J. Food Agric. Environ.* **2012**, 10(1), 128-131.
- Errichiello, S., Esposito, O., Di Mase, R., Camarca, M.E., Natale, C., Limongelli, M.G., Marano, C., Coruzzo, A., Lombardo, M., Strisciuglio, P., Greco, L. Celiac disease: predictors of compliance with a gluten-free diet in adolescents and young adults. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2010**, 50, 54-60.
- Fabjan, N., Rode, J., Košir, I.J., Wang, Z., Zhang, Z., Kreft, I. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercetin. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 6452-6455.
- Farrell, R.J., Kelly, C.P. Celiac sprue. *N. Engl. J. Med.* **2002**, Vol. 346, No. 3.
- Fasano, A. Clinical Presentation of Celiac Disease in the Pediatric Population. *Gastroenterology* **2005**, 128, 68–73.

- Fasano, A., Berti, I., Gerarduzzi, T., Not, T., Coletti, R., Drago, S., Elitsur, Y., Green, P.H.R., Guandalini, S., Hill, I.D., Pietzak, M., Ventura, A., Thorpe, M., Kryszak, D., Fornaroli, F., Wasserman, S.S., Murray, J.A., Horvath, K. Prevalence of celiac disease in at-risk and 'not at-risk' groups on the United States: a large multicenter study. *Arch. Intern. Med.* **2003**, 163, 286-292.
- Fasano, A., Catassi, C. Coeliac disease in children. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **2005**, 19, 467-478.
- Fasano, A., Catassi, C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* **2001**, 120, 636-651.
- Ferrara, P., Cicala, M., Tiberi, E., Spadaccio, C., Marcella, L., Gatto, A., Calzolari, P., Castellucci, G. High fat consumption in children with celiac disease. *Acta Gastro-Ent. Belg.* **2009**, 72(3), 296-300.
- Frustaci, A., Cuoco, L., Chimenti, C., Pieroni, M., Fioravanti, G., Gentiloni, N., Maseri, A., Gasbarrini, G. Celiac disease associated with autoimmune myocarditis. *Circulation* **2002**, 105, 2611-2618.
- Funda, D.P., Kaas, A., Bock, T., Tlaskalova-Hogenova, H., Buschard, K. Gluten-free diet prevents diabetes in NOD mice. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **1999**, 15(5): 323-327.
- Gallagher, E., Polenghi, O., Gormley, T.R. Improving the quality of gluten-free breads. *Farm and Food* **2002**, 12, 8-13.
- Gambus, H., Gambus, F., Sabat, R. The research on quality improvement of gluten-free bread by amaranthus flour addition. *Zywnosc* **2002**, 9, 99-112.
- Gonçá, I., Valentín-Gamazo, C. Chickpea flour ingredients slows glycemic response to pasta in healthy volunteers. *Food Chem.* **2003**, 81, 511-515.
- Green, P.H., Rostami, K., Marsh, M.N. Diagnosis of coeliac disease. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **2005a**, 19(3), 89-400.
- Green, P.H. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology* **2005b**, 128(4 Suppl 1), 74-78.
- Grehn, S., Fn'dell, K., Lilliecreutz, M., Hallert, C. Dietary habits of Swedish adult coeliac patient treated by a gluten-free diet for 10 years. *Scand. J. Nutr./Naringsforskning* **2001**, 45, 178-182.

- Guo, S.S., Huang, C., Demerath, E., Towne, B., Chumlea, W.C., Siervogel, R.M. Body mass index during childhood, adolescence and young adulthood in relation to adult overweight and adiposity: the Fels Longitudinal Study. *Int. J. Obes.* **2000**, 24, 1628-1635.
- Hager, A.S., Czerny, M., Bez, J., Zannini, E., Arendt, E.K. Starch properties, in vitro digestibility and sensory evaluation of fresh egg pasta produced from oat, teff and wheat flour. *J. Cereal Sci.* 58, **2013**, 156-163.
- Hager, A.S., Wolter, A., Jacob, F., Zannini, E., Arendt, E.K. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *J. Cereal Sci.* **2012**, 56, 239-247.
- Haines, M.L., Anderson, R.P., Gibson, P.R. Review Article: the evidence base for long term management of celiac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2008**, 28, 1042-1066.
- Hall, N.J., Rubin, G., Charnock, A. Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with celiac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2009**, 30, 315-330.
- Hallert, C., Grant, C., Grehn, S., Grännö, C., Hultén, S., Midhagen, G., Ström, M., Svensson, H., Valdimarsson, T. Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2002**, 16, 1333-1339.
- Hill, I.D. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* **2005**, 128, 25-32.
- Hopman, E.G.D., Le Cessie, S., von Blomberg, M.E., Mearin, M.L. Nutritional management of the gluten-free diet in young people with celiac disease in the Netherlands. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2006**, 43, 102-108.
- Houben, A., Hochstötter, A., Becker, T. Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *Eur. Food Res. Technol.* **2012**, 235, 195-208.
- Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabó, I.R., Mearin, M.L., Phillips, A., Shamir, R., Troncone, R., Giersiepen, K., Branski, D., Catassi, C., Leigeman, M., Maki, M., Ribes-Koninckx, C., Ventura, A., Zimmer, K.M. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for

the diagnosis of coeliac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2012**, 54(1), 136-160.

- Ide, A., Eisenbarth, G.S. Genetic susceptibility in type 1 diabetes and its associated autoimmune disorders. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2003**, 4(3), 243-253.
- International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs, 2002, 82, 301–366 <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82-7B.pdf>
- Jadresin, O., Misak, Z., Sanja, K., Sonicki, Z., Zizic, V. Compliance with gluten-free diet in children with celiac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2008**, 47, 344-348.
- Jenkins, D.J.A., Thorne, M.J., Wolever, T.M.S., Jenkins, A.L., Venketschwer, R., Thompson, L.U. The effect of starch-protein interaction in wheat on the glycemic response and rate of in vitro digestion. *Am. J. Clin. Nutr.* **1987**, 45, 946–951.
- Kaukinen, K., Collin, P., Huhtala, H., Mäki, M. Long-Term Consumption of Oats in Adult Celiac Disease Patients. *Nutrients* **2013**, 5, 4380-4389.
- Kautto, E., Ivarsson, A., Norstrom, F., Hogberg, L., Carlsson, A., Hornell, A. Nutrient intake in adolescent girls and boys diagnosed with coeliac disease at an early age is mostly comparable to their non-coeliac contemporaries. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2013**, doi:10.1111/jhn.12125.
- Kim, E.H.J., Petrie, J.R., Motoi, L., Morgenstern, M.P., Sutton, K.H., Mishra, S., Simmons, L.D. Effect of structural and physicochemical characteristics of the protein matrix in pasta on in vitro starch digestibility. *Food Biophys.* **2008**, 3(2), 229-234.
- Kinsey, L., Burden, S.T., Bannerman, E. A dietary survey to determine if patients with celiac disease are meeting current healthy eating guidelines and how their diet compares to that of the British general population. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2008**, 62, 1333–1342.
- Korus, J., Grzelak, K., Achremowicz, K., Sabat, R. Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides, *Food Sci. Technol. Int.* **2006**, 12, 489–495.
- Krauss, M.R., Eckel, R.H., Howard, B., Appel, J.L., Daniels, S.R., Deckelbaum, R.J., Erdman, J.W., Kris-Etherton, P., Goldberg, I.R. AHA Scientific Statement:

AHA Dietary Guidelines Revision 2000: A Statement for Healthcare Professionals From the Nutrition Committee of the American Heart Association. *J. Nutr.* **2001**, 131, 132-146.

- Kupper, C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology* **2005**, 128 (1), 121-127.
- Laureati, M., Giussani, B., Pagliarini, E. Sensory and hedonic perception of gluten-free bread: Comparison between celiac and non-celiac subjects. *Food Res. Int.* **2012**, 326-333.
- Lee, A.R., Ng, D.L., Dave, E., Ciaccio, E.J., Green, P.H.R. The effect of substituting alternative grains in the diet on the nutritional profile of the gluten-free diet. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2009**, 22, 359-363.
- Lewis, N.R., Sanders, D.S., Logan, R.F., Fleming, K.M., Hubbard, R.B., West, J. Cholesterol profile in people with newly diagnosed coeliac disease: a comparison with the general population and changes following treatment. *Br. J. Nutr.* **2009**, 102(4), 509-513.
- Ludvigsson, J.F., James, S., Askling, J., Stenestrand, U., Ingelsson, E. Nationwide cohort study of risk of ischemic heart disease in patients with celiac disease. *Circulation* **2011**, 123(5), 483-490.
- Maggio, M.C, Corsello, G., Iacono, G. Teresi, S., Guicciardino, E., Terrana, S., Liotta, A. Gluten-Free Diet Impact on Leptin Levels in Asymptomatic Coeliac Adolescents: One Year of Follow-Up. *Horm. Res.* **2007**, 67, 100-104.
- Maghaydah, S., Abdul-hussain, S., Ajo, R., Tawalbeh, Y., Elsahoryi, N. Effect of Lupine Flour on Baking Characteristics of Gluten Free Cookie. *Adv. J. Food Sci. Technol.* **2013**, 5(5), 600-605.
- Maki, M., Collin, P. Coeliac disease. *Lancet* **1997**, 349, 1755-1759.
- Maki, M., Mustalahti, K., Kokkonen, J., Kulmala, P., Haapalahti, M., Karttunen, T., Ilonen, J., Laurila, K., Dahlbom, I., Hansson, T., Hopfl, P., Knip, M. Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N. Engl. J. Med.* **2003**, 348, 2517-2524.
- Manavalan, J.S., Hernandez, L., Shah, J.G., Konikkara, J., Naiyer, A.J., Lee, A.R., Ciaccio, E., Minaya, M.T., Green, P.H., Bhagat, G. Serum cytokine elevations in celiac disease: association with disease presentation. *Hum. Immunol.* **2010**, 71(1), 50-57.

- Marco, C., Rosell, C.M. Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, 227, 1205-1213.
- Mariani, P., Viti, M.G., Montuori, M., La Vecchia, A., Cipolletta, E., Calvani, L., Bonamico, M. The gluten-free diet: a nutritional risk factor for adolescents with celiac disease? *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **1998**, 27, 519–523.
- Mariotti, M., Mara Lucisano, M., Pagani, A., Perry, K.W. The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate, and Psyllium flour on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs. *Food Res. Int.* **2009**, 42, 963–975.
- Martin, J., Geisel, T., Maresch, C., Stein, K.K.J. Inadequate Nutrient Intake in Patients with Celiac Disease: Results from a German Dietary Survey. *Digestion* **2013**, 87, 240–246.
- Matos Segura, M.E., Rosell, C.M. Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2011**, 66, 224-230.
- Mayer, M., Troncone, R., Mazzarella, G., Pogna, N., De Vincenzi, M., Esposito, V., Greco, L., Auricchio, S. Oats prolamines induce lymphocytic infiltration when instilled in the coeliac rectal mucosa. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **1997**, 24, 3-7.
- McGough, N., Cummings J.H. Coeliac disease: a diverse clinical syndrome caused by intolerance of wheat, barley and rye. *P. Nutr. Soc.* **2005**, 64, 434–450.
- Nadal, I., Donat, E., Ribes-Koninckx, C., Calabuig, M., Sanz, Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *J. Med. Microbiol.* **2007**, 56, 1669–1674.
- Niewinski, M.M. Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet. *J. Am. Diet. Assoc.* **2008**, 108, 661-672.
- Not, T., Faleschini, E., Tommasini, A., Repetto, A., Pasotti, M., Baldas, V., Spano, A., Sblattero, D., Marzari, R., Campana, C., Gavazzi, A., Tavazzi, L., Biagi, F., Corazza, G.R., Ventura, A., Arbustini, E. Celiac disease in patients with sporadic and inherited cardiomyopathies and in their relatives. *Gastroenterology Eur. Heart J.* **2003**, 24,1455-1461.

- Novotni, D., Cukelj, N., Smerdel, B., Bituh, M., Curic, F.D.D. Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough. *J. Cereal Sci.* **2012**, 55, 120-125.
- Ohlund, K., Olsson, C., Hernell, O., Ohlund, I. Dietary shortcomings in children on a gluten-free diet. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2010**, 23, 294–300.
- Olsson, C., Hornell, A., Ivarsson, A., Sydner, Y.M. The everyday life of adolescent coeliacs: Issues of importance for compliance with gluten-free diet. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2008**, 21(4), 359–367.
- Ortolani, C., Pastorello, E.A. Food allergies and food intolerances. *Best Pract Res. Clin. Gastroenterol.* **2006**, 20(3), 467–483.
- Packer, S.C., Dornhorst, A., Frost, G.S. The glycaemic index of a range of gluten-free foods. *Diabet. Med.* **2000**, 17(9), 657-660.
- Parnell, N., Ellis, H.J., Ciclitira, P. Absence of toxicity of oats in patients with dermatitis herpetiformis [letter to the editor]. *N. Engl. J. Med.* **1998**, 338, 1470-1471.
- Pocecco, M., Ventura, A. Coeliac disease and IDDM: a causal association? *Acta Paediatr.* **1995**, 84, 1432-1433.
- Reddy, K.R.N., Abbas, H.K., Abel, C.A., Shier, W.T., Oliveira, C.A.F., Raghavender, C.R. Mycotoxin contamination of commercially important agricultural commodities. *Toxin Rev.* **2009**, 28(2–3), 154–168.
- Reilly, N.R, Aguilar, K., Hassid, B.G., Cheng, J., DeFelice, A.R., Kazlow, P., Bhagat, G., Green, P.H. Celiac Disease in Normal-weight and Overweight Children: Clinical Features and Growth Outcomes Following a Gluten-free Diet. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2011**, 53(5), 528-531.
- Rosenthal, E., Hoffman, R., Aviram, M., Benderly, A., Erde, P., Brook, J. Serum lipoprotein profile in children with celiac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **1990**, 11(1), 58-62.
- Saadah, O. I., Zacharin, M., O' Callaghan, A., Oliver, M.R., Catto-Smith, A.G. Effect of gluten-free diet and adherence on growth and diabetic control in diabetics with coeliac disease. *Arch. Dis. Child* **2004**, 89(9), 871-876.
- Sadiq Butt, M., Tahir-Nadeem, M., Khan, M.K., Shabir, R., Butt, M.S. Oat: unique among the cereals. *Eur. J. Nutr.* **2008**, 47, 68-79.

- Scazzina, F., Siebenhandl-Ehn, S., Pellegrini, N. The effect of dietary fibre on reducing the glycaemic index of bread. *Br. J. Nutr.* **2013**, 109(7), 1163-1174.
- See, J., Murray, J.A. Gluten-free diet: the medical and nutrition management of celiac disease. *Nutr. Clin. Pract.* **2006**, 21, 1-15.
- Sette, S., Le Donne, C., Piccinelli, R., Mistura, L., Ferrari, M., Leclercq, C., and on behalf of the INRAN-SCAI 2005–06 study group. The third National Food Consumption Survey, INRAN-SCAI 2005–06: major dietary sources of nutrients in Italy. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2013**, 64(8), 1014-1021.
- Shepherd, S.J., Gibson, P.R. Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2013**, 26, 349–358.
- Størsrud, S., Hulthe´n, L.R., Lenner, R.A. Beneficial effects of oats in the gluten-free diet of adults with special reference to nutrient status, symptoms and subjective experiences. *Br. J. Nutr.* **2003**, 90, 101–107.
- Thompson, T. Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten free diet. *J. Am. Dietetic Assoc.* **1999**, 100, 1389-1396.
- Thompson, T., Dennis, M., Higgins, L.A., Lee, A.R., Sharrett, M.K. Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium, and grain foods ? *J. Hum. Nutr. Diet.* **2005**, 18, 163-169.
- Tosi, E.A., Ciappini, M.C., Monasciarelli, R. Utilizacion de la harina integral de amaranto (*Amaranthus cruentus*) en la fabricacion de galletas para celiacos. *Alimentaria*, **1996**, 49, 49–51.
- Ventura, A., Neri, E., Ughi, C., Leopaldi, A., Città, A., Not, T. Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J. Ped.* **2000**, 137(2), 263-265.
- Vieira, M.A. Caracterizaco de farinhas obtidas dos resı´duos da produco de palmito da palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae*) e desenvolvimento de biscoito fibroso. Master Thesis. Florianop´olis, Santa Catarina, Brazil: Federal University of Santa Catarina **2006**.
- Volta, U., Granito, A., Fiorini, E., Parisi, C., Piscaglia, M., Pappas, G., Muratori, P., Bianchi, F.B. Usefulness of antibodies to deamidated gliadin peptides in celiac disease diagnosis and follow-up. *Dig. Dis. Sci.* **2008**, 53, 1582-1588.

- West, J., Logan, R.F., Card, T.R., et al. Risk of vascular disease in adults with diagnosed coeliac disease: a population-based study. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2004**, 20, 73–79.
- West, J., Logan, R.F., Hill, P.G., Loyd, A.L., Lewis, S., Hubbard, R., Reader, R., Holmes, G.K.Y., Khaw, K.T. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut* **2003**, 52(7), 960-965.
- Whitehead, P.A. Surimi. *Food Sci. Technol. Today* **1992**, 9, 15–18.
- Wild, D., Robins, G.G., Burley, V.J., Howdle, P.D. Evidence of high sugar intake, and low fibre and mineral intake, in the gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2010**, 32, 573–581.
- Yamsaengsung, R., Berghofer, E., Schoenlechner, R. Physical properties and sensory acceptability of cookies made from chickpea addition to white wheat or whole wheat flour compared to gluten-free amaranth or buckwheat flour. *International J. Food Sci. Technol.* **2012**, 47, 2221–2227.
- Yazynina, E., Johansson, M., Jägerstad, M., Jastrebova, J. Low folate content in gluten-free cereal products and their main ingredients. *Food Chem.* **2008**, 111, 236–242.
- Zannini, E., Pontonio, E., Waters, D.M., Arendt, E.K. Applications of microbial fermentations for production of gluten-free products and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, 93(2), 473-485.
- Zarkadas, M., Cranney, A., Case, S., Molloy, M., Switzer, C., Graham, I.D., Butzner, J.D., Rashid, M. The impact of a gluten-free diet on adults with coeliac disease: results of a national survey. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2006**, 19, 41–49.
- Zuccotti, G., Fabiano, V., Dilillo, D., Picca, M., Cravidi, C., Brambilla, P. Intakes of nutrients in Italian children with celiac disease and the role of commercially available gluten-free products. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2013**, 26(5), 436-444.

Scopo

Attualmente l'unico trattamento previsto per la malattia celiaca è una rigorosa e permanente eliminazione del glutine dalla dieta. La domanda che la comunità scientifica si pone è se questo regime alimentare sia adeguato dal punto di vista nutrizionale. Questa problematica emerge dai diversi studi compiuti negli ultimi 10 anni che hanno evidenziato un'introduzione non adeguata di alcuni importanti nutrienti quali fibra, minerali, vitamine così come energia e proteine nella popolazione celiaca. Tali carenze potrebbero, a lungo termine, predisporre allo sviluppo di patologie dismetaboliche. Tuttavia, un'analisi attenta della letteratura presente sull'argomento ha fatto emergere dati contrastanti riguardo la qualità e l'adeguatezza nutrizionale della dieta di pazienti celiaci che rendono complicato trarre delle conclusioni definitive. I limitati dati esistenti sulla composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine potrebbero spiegare in parte i risultati contrastanti emersi tra gli studi.

Con lo scopo di valutare l'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine, questa tesi di dottorato si è focalizzata principalmente sulla stima delle abitudini alimentari di un gruppo di soggetti celiaci italiani e sul confronto con un gruppo di controllo sano, opportunamente selezionato. Per la realizzazione di questo obiettivo è stato necessario costruire preliminarmente una banca dati di composizione nutrizionale degli alimenti senza glutine più rappresentativi della dieta celiaca italiana.

La crescente diffusione della malattia celiaca ha spinto gli operatori del settore alimentare a rispondere alle esigenze dei celiaci offrendo una grande varietà di alimenti commerciali senza glutine. Nonostante la presenza di diversi studi sulle proprietà tecnologiche dei prodotti senza glutine, poca attenzione è stata rivolta sulla loro qualità sensoriale. Dal momento che l'insoddisfazione generata sia dal gusto che dall'aspetto visivo dell'alimento senza glutine può avere un decisivo impatto negativo sull'aderenza alla dieta senza glutine, la scarsità di studi sull'argomento rappresenta un fattore preoccupante. Inoltre, è ragionevole assumere che il seguire una dieta senza glutine, fin da piccoli, può avere un diverso impatto sulla percezione edonistica e sensoriale del cibo rispetto alle persone sane o rispetto a quelle persone la cui diagnosi di malattia celiaca è stata effettuata in età adulta. A tutt'oggi, tuttavia, nessuno studio ha valutato il

gradimento e l'accettabilità di prodotti senza glutine in una popolazione di bambini celiaci.

Un ulteriore obiettivo di questa tesi di dottorato è stato dunque quello di determinare la qualità, intesa come gradimento, di 3 prodotti commerciali senza glutine in un gruppo di bambini celiaci a dieta senza glutine da almeno 2 anni e quindi potenzialmente meno influenzato dal ricordo del consumo di alimenti convenzionali contenenti glutine.

Parte sperimentale

STUDIO 1

The development of a composition database of gluten free products

Teresa Mazzeo¹, Silvia Cauzzi², Furio Brighenti², Nicoletta Pellegrini^{2*}

¹SITEIA.PARMA Interdepartmental Centre, University of Parma, Parma, Italy

²Department of Food Science, University of Parma, Parma, Italy

Submitted for publication

Abstract

Objective: The development of a database of composition of a number of foods representing the main sources of intake of gluten free (GF) products in the Italian diet.

Design: The database was built using the nutritional composition of the products taking into consideration both the ingredients composition and the nutritional tables claimed in the product label.

Setting: The nutrient composition of each ingredient was obtained by the two Italian databases (European Institute of Oncology and the National Institute for Food and Nutrition).

Subjects: This study developed a food composition database including a total of 60 foods representative of different categories of GF products sold in the Italian market. The composition of the products included in the database is given in terms of quantity of macro and micronutrients per 100 grams of product as sold, and includes the full range of nutrient data present in the traditional databases of non-GF foods.

Results: Based on these findings, we can stated that the most of GF products considered, although all cereal-based goods, generally provide lower amounts of carbohydrates and proteins than their gluten-containing counterpart, but a higher content of lipids, which are used as emulsifiers or to make products more palatable.

Conclusions: This database provides a first useful tool for future nutritional surveys on dietary habits of celiac people.

Keywords: celiac disease, gluten free products, gluten free diet, food composition database

Introduction

Celiac disease is an immune-mediated systemic disorder occurring in genetically susceptible individuals. It is elicited by gluten and related prolamines and characterized by the presence of a variable combination of gluten-dependent clinical manifestations⁽¹⁾. Several studies have brought to light an increase in the occurrence of such disease, with an estimated prevalence worldwide of approximately 1%⁽²⁻⁴⁾. Celiac disease is currently treated with a lifelong exclusion of gluten from the diet. The celiac diet is characterized by a combination of naturally GF foods, such as meat, fish, fruit, vegetables, legumes, eggs and dairy products, with GF substitutes of bread, cookies, pasta and other cereal-based foods. The GF foods are made by either ingredients that do not include gluten-containing cereals, i.e. wheat, spelt, rye, barley, oats, or by ingredients from such cereals, which have been specially processed to remove gluten⁽⁵⁾. Because derivatives of gluten-rich grains are important sources of nutrients in the general diet⁽⁶⁾, their exclusion from the diet of celiac patients could potentially have a major effect on their nutritional status if such foods are not replaced with balanced alternatives.

In the previous years, a large amount of research has been made on the development of GF products. Starches, dairy products, gums and hydrocolloids, non-gluten proteins, prebiotics and combinations thereof, have been explored as alternatives to gluten to improve the structure, mouthfeel, acceptability and shelf-life of GF bakery products⁽⁷⁾. However, little information is available on the nutritional composition of these GF products. Composition data useful to evaluate the adequacy of nutrient intake of celiac patients, on which the debate is still open⁽⁸⁻¹¹⁾ are therefore strongly needed. In this work, we built a database of composition of a number of foods representing the main sources of intake of GF products in the Italian diet. To this purpose, we estimated the nutritional composition of the products taking into consideration both the ingredients composition and the nutritional tables claimed in the product label.

Methods

Five commercial brands of GF foods were selected based on the results of a nutritional survey carried out on 40 celiac subjects⁽¹¹⁾, the Italian National Register of GF products (2010) and the data from Italian market share of GF products⁽¹²⁾. The GF products selected in the portfolio of such brands were grouped according to categories of non-GF foods reported in two Italian food databases made by the European Institute of Oncology (IEO)⁽¹³⁾ and the National Institute for Food and Nutrition⁽¹⁴⁾.

The categories considered were the following: cookies, breakfast products, sweet products, breads and pizzas, savory snack, pasta dishes and flours. The products included in each category were those most consumed in Italy by celiac individuals on a market share basis. Each food category included different foods, further grouped in sub-categories according to common dietary habits. As an example, the five brands selected included in their portfolios a total of 36 types of bread-type products, which were grouped in 8 sub-categories: sliced white bread (sandwich type); bread prepared with olives; white table bread of different size (i.e., loaf of 250 g and loaf of 50 g); whole-meal bread; bread prepared with oil; flat breads (ciabatta and piadina). The nutritional values of each reference food representing any given subcategory were calculated as the average of the nutritional values for all the single similar foods from each brand included in that subcategory.

To estimate the full nutrient composition of single GF foods, we used the data on nutrient composition of the ingredients reported on the label and the nutrition information of each product. Firstly, the nutrient composition of each ingredient was obtained by the two Italian databases cited above, integrated when necessary by data of the National Nutrient Database for Standard References of the United States of Department of Agriculture⁽¹⁵⁾. For each ingredient, we ordered in a Microsoft Excel worksheet the composition in macro and micronutrients per 100 grams of the raw ingredient. As a second step, we estimated for each GF product the quantity of each ingredient (as the percentage on the final recipe) based on its rank order reported in the label. Then, after calculating the theoretical nutrient composition of the product based on the ingredient data, we compared the results with those present in the nutrition labeling, which, at least in its short form (i.e. macronutrients and energy) is mandatory for GF products. Finally, the process

was reiterated by changing the percentage of the different ingredient until results appeared consistent with the values of macronutrients reported in the nutrition label.

In the case of special food additives, such as gums and protein isolates, the purity, quantity and nutrient composition of those generally used in GF products were figured out with the help of experts in the industrial production of GF foods.

Results

This study developed a food composition database including a total of 60 foods representative of different categories of GF products sold in the Italian market. The composition of the products included in the database is given in terms of quantity of macro and micronutrients per 100 grams of product as sold, and includes the full range of nutrient data present in the traditional databases of non-GF foods.

Tables 1 and 1 A report the macro- and micro-nutrients composition of cookies. All food samples showed comparable values of energy and carbohydrate, whereas large variations were observed in term of fat content. As expected, the whole-meal biscuits provided the highest value of fiber, but the lowest amount of protein and sugar. With regard to the micronutrient content, large differences were observed among the cookies considered. In this food category only the ladyfinger biscuits exhibited a low sodium content (< 120 mg/100 g)⁽¹⁶⁾. For vitamins, the main differences among GF biscuits were the content of vitamin E and folate. In particular, the whole-meal biscuits showed the lowest folate content, but the highest value of vitamin E, while the ladyfinger biscuits had an reverse content of these vitamins.

The Tables 2 and 2 A show the macro- and micro-nutrients composition of GF breakfast products, respectively. The two foods included in this category, Melba toast and muesli, had similar energy and fat content. The Melba toast had a higher carbohydrate amount, but a lower sugar and protein content compared to muesli. With regard to micronutrients, the muesli provided generally a higher content in comparison to the Melba toast, with the exception of the sodium content, which was estimated high (> 500 mg/100 g) in Melba toast, and the vitamin E content.

Tables 3 and 3 A show, respectively, the composition in macro and micronutrients of the eighteen sweet products grouped under this food category. The macronutrient composition was largely different among the sweet products. As expected, most of the samples included in this category showed a very high content of fat, sugar and cholesterol. With respect to micronutrients, the content of calcium of Panettone and Pandoro cakes was higher than in any other sweet products. Regarding sodium, the GF brioches showed the highest content and is classified as a food with a high (> 500 mg/100 g) sodium content, whereas the pastry with cream filling, showing the lowest content, is classified as a food with a low (< 120 mg/100 g) sodium content⁽¹⁶⁾. As regards vitamins, the “Panettone” and “Pandoro” cakes had a relatively higher content of vitamin A when compared to the other samples. Concerning folate content, there was a great variability among the samples considered.

The Tables 4 and 4 A present the macro- and micro-nutrient composition of bread and pizza products, respectively. Regarding carbohydrates, as expected, all the products had a high content of available carbohydrates and sugar and most of them could be labeled as a source of fiber (> 3 g/100 g) ⁽¹⁶⁾. All the breads and pizzas considered showed similar iron amount, with the exception of the frozen pastry pockets with cheese that exhibited the highest value. It's interesting to observe that all GF products (14/15) belonging to this food category, with the exception of “Calzone”, showed a sodium content very high (> 400-500 mg/100 g). In particular, the sodium content of the frozen pastry pockets with cheese, pizza and the sliced white bread was the highest among the products considered. The calculated nutritional composition of the savory snacks is presented in Tables 5 and 5 A. Among food items, a similar amount of energy and carbohydrate was found, whereas there was a large range of fiber, protein, fat and cholesterol content. The saltine crackers exhibited the highest fat content followed by the bread sticks. Considering micronutrient content, the bread sticks and the salted crackers showed a higher calcium content than the cracotte and saltine crackers. As expected, all samples exhibited a high sodium content (> 500 mg/100 g).

The macronutrient content of pasta dishes was reported in Table 6. The energy and carbohydrate content of all foods was similar, with the exception of gnocchi,

pasta filled with meat and pasta filled with vegetables that had lower values because of a high content of water. The whole-meal pasta showed the highest fiber content followed by the fresh egg pasta. Concerning proteins, several differences were observed among the different types of GF pastas. The pasta filled with vegetables showed the highest fat amount.

The different types of GF pastas had a quite similar amount of iron, but a different calcium and sodium content (Table 6 A). In particular, the filled pastas and gnocchi showed the highest content of these minerals when compared to the dry pasta samples. Five GF pasta samples could be labeled as “without sodium content” ($\leq 5\text{mg}/100\text{g}$) and the egg pasta (fresh and dry) and the whole-meal pasta can be considered as foods with a low sodium content ($\leq 120\text{ mg}/100\text{ g}$)⁽¹⁷⁾. Regarding vitamins, among the GF pasta the highest differences concerned vitamin A, β -carotene and folate content.

The macro and micronutrient composition of flours is displayed in Tables 7 and 7 A, respectively. The flour samples displayed similar energy values and were a good source of fiber, with the exception of flour preparations for home-made cakes that showed a lower value. Large variations were observed in micronutrient contents and for calcium, sodium and folate, the flour for bread exhibited the highest content.

Discussion

The present study represents a systematic attempt to build a composition database of GF products based on the ingredients listed in the label. Having data on GF products at hand can allow a comparison between the GF products and their gluten-containing counterparts to highlight nutritional differences and to provide the basis for the improvement of the nutritional quality of GF foods, of paramount importance for the diet of celiac patients.

The GF products, which substitute important staple foods (e.g. flour, bread, pasta), should supply approximately the same amount of nutrients, mainly macronutrients, as the gluten foods they replace. Based on the recent survey conducted in Italy⁽¹⁸⁾, the food category including cereals, cereal products and substitutes is the main source of available carbohydrates, fiber and provides approximately the 29% of the protein intake. The estimate of the composition of

GF products indicates a lower amount of carbohydrate and protein when GF foods are compared to similar foods containing gluten. The low level of carbohydrates of GF products is mainly compensated by a higher content of lipids, since fats are used to a larger extent for technological reasons or to make products more palatable⁽¹⁹⁾. The low level of proteins of GF foods substituting for gluten containing carbohydrate rich foods might represent a problem mainly for children and adolescents, unless they make a higher use of protein-rich foods from other sources such as meat, fish, legumes, and eggs. Conversely, the majority of GF breads here considered contained a high amount of fiber (>3 g/100 g) (Table 4). This can be explained by the presence of hydrocolloids, such as xanthan gum, guar gum, carboxymethylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, pectin, or varied combinations of these hydrocolloids needed in the formulation of these products⁽²⁰⁾.

With regard to micronutrients, cereals, cereals products and substitutes are important contributors of minerals (i.e., potassium, phosphorus, calcium, iron and zinc) and vitamins (i.e., thiamine, riboflavin and vitamin B₆) in the Italian diet⁽¹⁸⁾. About one third of the iron contribution derives from bread in all age classes, except in infants⁽¹⁸⁾. Regarding the estimate micronutrient values of GF foods here considered several differences with the conventional foods were found, especially for breads and pasta. The content of potassium, phosphorus, calcium, iron and zinc of almost all types of GF bread and pasta samples considered in this study was lower than that in the conventional products. Particular attention should be paid to the high sodium content of some products, such as flours, bread substitutes, and breakfast products if these foods are consumed on a regular basis, because the prolonged consumption could significantly contribute to an excessive intake of sodium, resulting in an increased risk of hypertension⁽²¹⁾. As regards vitamins, the estimated B-group vitamin content of most GF breads and pastas analyzed was lower than that of gluten containing breads. The only exception regards the folate content of most GF breads that was higher than that of their gluten-containing counterparts. All types of GF breads showed a high vitamin E content, probably due to the use of mostly fat and pseudocereals. The pseudocereals, such as amaranth, quinoa and buckwheat, represent important sources of vitamin E⁽²²⁾.

The overall results on the nutritional composition of 60 foods representative of different categories of GF products sold in the Italian market are in agreement with those of previous studies^(9,23), in which it has been demonstrated that GF products contained a good amount of dietary fiber^(9,20), due to the presence of hydrocolloids in their formulation, but are a poor sources of minerals (i.e. iron)⁽⁹⁾ and vitamins^(9,24).

In developing food composition databases, there are several issues that need to be considered. Among these, some limitations related to our data should be taken into account. First of all, the nutritional composition of GF represents an estimate only and cannot substitute direct analysis. Moreover, the composition data of the ingredients were taken from food composition databases, which in some cases report approximate data and are related to raw ingredients. However, it is already allowed also for generic foods to produce the nutritional labeling based on the ingredient used for the recipe, thus our data are likely to be not less accurate than the majority of data reported for any kind of food product present on the market. Finally, it must be highlighted that the nutrient composition regards GF products sold in Italy, even though more than 50% of them are produced by companies that distribute their products all over the Europe.

Several studies have been carried out in different countries on the nutritional adequacy of the GF diet in terms of macro- and micro-nutrients, mostly presenting conflicting results. In fact regarding the macro-nutrient intake, several authors have reported similar intakes of energy^(6,11,25,26), fat⁽²⁵⁾, proteins, carbohydrates^(11,25), including starch and sugars, fiber and cholesterol between celiac patients and controls. Conversely, other authors showed a significantly lower caloric^(6,8) and fiber intake^(25,26), but a higher intake of total and saturated fat⁽⁶⁾ in the diet of celiac patients compared to healthy control subjects. In relation to micro-nutrient intakes, the majority of studies showed lower levels of folate, niacin, vitamin B₁₂, vitamin E, vitamin A, phosphorus, calcium, zinc and selenium in celiac individuals than control subjects^(10,11,25-28). As a consequence, despite the relative abundant literature on the dietary habits of celiac subjects, it is still difficult to draw a conclusion on the nutritional adequacy of GF diet. This discrepancy among the studies could be partly linked to the limited data of GF

foods in the food databases. The present study on the nutrient composition of GF products will facilitate the researches on the nutritional quality of the GF diet. Nowadays there is a lack of data on the nutritional adequacy of the celiac diet. Despite the limitations, this database provides a first attempt to increase the accuracy of the tool used for dietary assessment to be employed for future nutritional surveys on dietary habits of celiac people.

References

- (1) Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR *et al.* (2012) European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **54**, Suppl. (1), S136-S160.
- (2) Lohi S, Mustalahi K, Kaukinen K *et al.* (2007) Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther* **25**, 1217-1225.
- (3) Fasano A, Araya M, Bhatnagar S *et al.* (2008) Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Consensus Report on Celiac Disease. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* **47**, 214-219.
- (4) Ludvigsson JF & Green PH (2011) Clinical management of coeliac disease. *J Int Med* **269**, 560-571.
- (5) Moroni AV, Dal Bello F & Arendt EK (2009) Sourdough in gluten free bread making: an ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiol* **26**, 676-684.
- (6) Kinsey L, Burden ST & Bannerman E (2008) A dietary survey to determine if patients with celiac disease are meeting current healthy eating guidelines and how their diet compares to that of the British general population. *Eur J Clin Nutr* **62**, 1333-1342.
- (7) Gallagher E, Gormley TR & Arendt EK (2004) Recent advances in the formulation of gluten free cereal based products. *Trends Food Sci Tech* **15**, 143-152.
- (8) Bardella MT, Fredella C, Prampolini L *et al.* (2000) Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten free diet. *Am J Clin Nutr* **72**, 937-939.
- (9) Thompson T (2000) Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten free diet. *J Am Diet Assoc* **100**, Suppl. (11), S1389-S1396.
- (10) Thompson T, Dennis M, Higgins LA *et al.* (2005) Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J Hum Nutr Diet* **18**, 163-169.

- (11) Dall'Asta C, Scarlato AP, Galaverna G *et al.* (2012) Dietary exposure to fumonisins and evaluation of nutrient intake in a group of adult celiac patients on a gluten-free diet. *Mol Nutr Food Res* **56**, 632-664.
- (12) Finco A, Galeotafore A, Palomba TN *et al.* (2011) Il Celiaco: Una Persona, Un Paziente, Un Target, "Una Vita Senza Glutine". Programma Scienziati in Azienda, XI Edizione. link: http://www.istud.it/up_media/pw_scientiati/celiachia.pdf (accessed on January 2012).
- (13) Food Composition Database for Epidemiological Studies in Italy. Version 2008. Retrieved July 2012 from Nutrient Homepage: <http://www.ieo.it/bda> (accessed on December 2012).
- (14) National Institute for Food and Nutrition. Food Composition database (2004) Retrieved on September 2012 from Nutrient HomePage: [http://www.inran.it/646/tabelle di composizione degli alimenti.html](http://www.inran.it/646/tabelle_di_composizione_degli_alimenti.html) (accessed on December 2012).
- (15) U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2007) USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 20. Retrieved on September 2012 from Nutrient Data Laboratory HomePage: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp> (accessed on December 2012).
- (16) Regolamento (CE) N. 1924/2006 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 20 dicembre 2006 relativo alle indicazioni nutrizionali e sulla salute fornite sui prodotti alimentari.
- (17) Gibert A, Espadaler M, Canelab MA *et al.* (2006) Consumption of gluten-free products: should the threshold value for trace amounts of gluten be at 20, 100 or 200 p.p.m.? *Eur J Gastroen Hepat* **18**, 1187-1195.
- (18) Sette S, Le Donne C, Piccinelli R *et al.* (2007) and on behalf of the INRAN-SCAI 2005–06 study group. The third National Food Consumption Survey, INRAN-SCAI 2005–06: major dietary sources of nutrients in Italy. *Int J Food Sci Nutr* doi:10.3109/09637486.2013.816937.
- (19) Ferrara P, Cicala M, Tiberi E *et al.* (2009) High fat consumption in children with celiac disease. *Acta Gastroenterol Belg* **72**, 296-300.
- (20) Matos Segura ME & Rosell CM (2011) Chemical composition and starch digestibility of different gluten-free breads. *Plant Foods Hum Nutr* **66**, 224–230.
- (21) Karppanen H & Mervaala E (2006) Sodium intake and hypertension. *Prog Cardiovasc Dis* **49**, 59-75.

- (22) Alvarez-Jubete L, Holve M, Hansen E *et al.* (2009) Impact of baking on vitamin E content of pseudocereals amaranth, quinoa, and buckwheat. *Cereal Chem* **86**, Suppl. (5), S511–S515.
- (23) Thompson T (1999) Thiamin, riboflavin, and niacin contents of the gluten free diet: Is there cause for concern? *J Am Diet Ass* **99**, Suppl. (7), S858-S862.
- (24) Yazynina E, Johansson M, Jägerstad M *et al.* (2008) Low folate content in gluten-free cereal products and their main ingredients. *Food Chem* **111**, 236-242.
- (25) Grehn S, Fn'dell K, Lilliecreutz M *et al.* (2001) Dietary habits of Swedish adult coeliac patients treated by a gluten-free diet for 10 years. *Scand J Nutr* **45**, 178-182.
- (26) Wild D, Robins GG, Burley VJ *et al.* (2010) Evidence of high sugar intake, and low fibre and mineral intake, in the gluten free diet. *Aliment Pharmacol Ther* **32**, 573-581.
- (27) Shepherd SJ & Gibson PR (2013) Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *J Hum Nutr Diet* **26**, 349–358 doi:10.1111/jhn.12018.
- (28) Hallert C, Grant C, Grehn S *et al.* (2012) Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment Pharmacol Ther* **16**, 1333–1339.

Table 1 Macronutrient composition of commercial GF cookies. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Energy kcal	Energy kJ	H₂O g	CHO* g	<i>of which sugar g</i>	Fiber g	Protein g	Fat g	<i>of which saturates g</i>	Cholesterol g
Chocolate biscuits	463	1939	2.5	68.0	25.3	2.5	6.2	20.5	7.9	44.0
Biscuits filled with chocolate	489	2045	4.4	61.9	34.1	2.4	5.1	26.0	10.6	35.0
Biscuits plain	453	1894	3.0	72.9	17.8	1.8	5.5	17.3	6.9	30.0
Chocolate coated biscuits	484	2026	4.2	63.6	32.8	2.0	5.7	24.6	13.4	15.0
Ladyfinger biscuits	367	1536	11.8	74.9	30.7	2.5	5.8	6.5	1.2	176.0
Breakfast cookies	451	1885	4.1	72.3	21.3	1.6	5.3	17.5	7.1	63.0
Whole-meal biscuits	456	1908	5.2	69.1	16.3	5.1	3.9	18.9	3.8	0.0

*CHO, carbohydrate

Table 1 A Micronutrient composition of commercial GF cookies. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Fe	Ca	Na	K	P	Zn	D	E	A	β_Car*	B1	B2	B3	B9	C
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	µg	mg	µg	µg	mg	mg	mg	µg	mg
Chocolate biscuits	1.8	34.0	250.0	290.0	104.0	1.0	0.1	4.7	49.0	130.0	0.1	0.1	0.7	11.0	0.0
Biscuits filled with chocolate	1.7	81.0	200.0	216.0	107.0	0.8	0.4	4.3	54.0	90.0	0.1	0.1	0.5	8.0	0.0
Biscuits plain	0.8	20.0	140.0	105.0	60.0	0.5	0.1	5.1	25.0	119.0	0.1	0.1	0.7	5.0	0.0
Chocolate coated biscuits	2.1	68.0	213.0	284.0	105.0	0.7	0.0	2.8	35.0	93.0	0.1	0.1	0.6	9.0	0.0
Ladyfinger biscuits	1.1	23.0	92.0	66.0	90.0	0.7	0.6	0.4	74.0	29.0	0.1	0.1	0.3	18.0	0.0
Breakfast cookies	1.1	37.0	313.0	157.0	78.0	0.7	0.2	4.2	53.0	138.0	0.1	0.1	0.9	17.0	0.0
Whole-meal biscuits	1.0	7.0	164.0	52.0	40.0	0.4	0.0	7.2	0.0	52.0	0.0	0.0	0.7	2.6	0.0

*β_Car, beta carotene

Table 2 Macronutrient composition of commercial GF breakfast products. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Energy	Energy	H ₂ O	CHO*	<i>of which</i>	Fiber	Protein	Fat	<i>of which</i>	Cholesterol
	kcal	kJ	g	g	<i>sugar</i>	g	g	g	<i>saturates</i>	g
					g				g	
Melba toast	403	1688	4.7	78.8	6.4	4.5	3.7	9.1	2.9	0.0
Muesli	374	1567	13.0	60.0	29.8	6.0	13.1	10.7	4.0	0.0

*CHO, carbohydrate

Table 2 A Micronutrient composition of commercial GF breakfast products. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Fe	Ca	Na	K	P	Zn	D	E	A	β _Car*	B1	B2	B3	B9	C
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	μ g	mg	μ g	μ g	mg	mg	mg	μ g	mg
Melba toast	0.5	13.0	513.0	390.0	33.0	0.5	0.0	3.2	0.0	0.0	0.1	0.1	0.5	46.0	0.0
Muesli	3.1	95.0	131.0	731.0	204.0	1.6	0.0	2.3	0.0	43.0	0.4	0.3	3.0	136.0	1.0

* β _Car, beta carotene

Table 3 Macronutrient composition of commercial GF sweet products. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Energy kcal	Energy kJ	H₂O g	CHO* g	<i>of which sugar g</i>	Fiber g	Protein g	Fat g	<i>of which saturates g</i>	Cholesterol g
Margherita cake	431	1804	16.3	53.6	29.7	2.5	5.1	22.8	4.7	176.0
Sponge cake	458	1914	17.0	52.3	25.5	1.7	5.4	26.3	12.2	146.0
Panettone cake	336	1407	26.5	51.1	22.9	3.1	5.8	13.6	5.45	243.0
Pandoro cake	337	1411	28.7	47.3	16.4	2.1	6.4	15.4	6.1	347.0
Tiramisu cake	184	771	63.3	22.3	16.6	0.9	4.7	8.9	3.9	146.0
Plum cake	390	1633	22.2	47.2	22.3	1.5	5.0	21.1	7.4	153.0
Plum cake with chocolate	423	1768	19.5	50.3	27.2	2.2	5.3	23.3	8.9	135.0
Brioche bread	340	1423	35.1	52.5	12.2	2.2	3.1	7.4	2.8	50.0
Brioches	352	1471	34.7	42.2	6.9	2.6	3.6	18.9	3.8	23.0
Croissant with jam	331	1384	36.3	45.5	11.6	2.2	2.8	16.1	3.3	10.0
Croissant with chocolate	365	1527	30.2	45.6	14.1	2.9	3.3	19.5	5.3	10.0
Pastry with chocolate filling	397	1660	19.3	53.2	31.3	3.5	5.3	19.1	5.3	87.0
Pastry with jam filling	367	1536	19.7	58.5	25.3	3.5	5.2	13.1	3.7	111.0
Pastry with cream filling	452	1891	5.4	70.8	41.8	1.5	4.9	18.3	8.5	0.0
Cereal bars	389	1627	7.9	67.1	26.6	5.3	5.9	11.4	5.6	4.0
Muffin	391	1636	17.2	60.7	29.4	0.8	5.5	15.6	6.6	136.0
Puff pastry	404	1688	39.3	29.7	4.1	12.6	2.3	28.8	5.8	0.0
Chocolate ice cream	307	1353	45.4	35.2	21.8	4.7	3.7	16.4	5.3	10.0

*CHO, carbohydrate

Table 3 A Micronutrient composition of commercial GF sweet products. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Fe	Ca	Na	K	P	Zn	D	E	A	β_Car*	B1	B2	B3	B9	C
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	µg	mg	µg	µg	mg	mg	mg	µg	mg
Margherita cake	1.1	21.0	230.0	370.0	84.0	0.8	0.6	7.3	74.0	29.0	0.0	0.1	0.1	28.0	0.0
Sponge cake	1.1	17.0	160.0	65.0	81.0	0.6	0.5	7.6	61.0	65.0	0.1	0.1	0.4	15.0	0.0
Panettone cake	1.8	115.0	282.0	538.0	186.0	1.3	0.8	0.8	150.0	68.0	0.1	0.3	0.8	110.0	0.0
Pandoro cake	1.8	104.0	157.0	475.0	210.0	1.5	1.1	0.9	192.0	80.0	0.1	0.2	0.7	105.0	0.0
Tiramisu cake	0.8	21.0	77.0	58.0	69.0	0.5	0.5	1.8	72.0	35.0	0.0	0.1	0.1	16.0	0.0
Plum cake	1.0	22.0	250.0	156.0	80.0	0.6	0.5	6.2	65.0	33.0	0.0	0.1	0.2	19.0	0.0
Plum cake with chocolate	1.6	25.0	264.0	208.0	100.0	0.8	0.5	6.1	57.0	31.0	0.0	0.1	0.3	19.0	0.0
Brioche bread	0.5	10.0	331.0	45.0	47.0	0.4	0.2	1.9	21.0	8.0	0.0	0.1	0.4	18.0	0.0
Brioches	0.5	9.0	514.0	37.0	32.0	0.2	0.1	7.1	10.0	4.0	0.1	0.1	0.5	53.0	0.0
Croissant with jam	0.5	9.0	335.0	56.0	25.0	0.2	0.0	6.2	5.0	63.0	0.0	0.0	0.5	27.0	1.0
Croissant with chocolate	1.0	20.0	418.0	73.0	48.0	0.3	0.0	5.7	5.0	6.0	0.1	0.1	0.5	46.0	0.0
Pastry with chocolate filling	1.3	66.0	190.0	191.0	110.0	0.8	0.3	4.3	41.0	22.0	0.0	0.1	0.3	13.0	0.0
Pastry with jam filling	0.9	20.0	158.0	72.0	69.0	0.5	0.4	3.6	47.0	68.0	0.1	0.1	0.4	12.0	2.0
Pastry with cream filling	0.3	7.0	43.0	45.0	35.0	0.3	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	3.0	0.0
Cereal bars	2.6	75.0	338.0	162.0	101.0	0.6	0.0	1.9	5.0	6.0	0.4	0.7	6.6	104.0	0.0
Muffin	0.9	17.0	236.0	67.0	82.0	0.6	0.5	4.3	57.0	23.0	0.0	0.1	0.4	15.0	0.0
Puff pastry	0.2	4.0	265.0	16.0	17.0	0.1	0.0	11.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0
Chocolate ice cream	0.6	84.0	53.0	144.0	84.0	0.5	0.0	3.1	28.0	23.0	0.0	0.1	0.3	7.0	0.0

Table 4 Macronutrient composition of commercial GF breads and pizzas. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Energy kcal	Energy kJ	H ₂ O g	CHO* g	of which sugar g	Fiber g	Pro g	Fat g	of which saturates g	Cholesterol g
<i>Breads</i>										
Sliced white bread (sandwich type)	248	1039	45.2	42.1	3.5	4.7	4.2	5.5	1.1	0.0
Bread prepared with olives	227	951	51.6	32.2	2.0	3.5	5.4	8.7	1.0	0.0
Bread white (loaf 250g)	247	1034	40.6	47.4	3.6	5.6	3.6	5.1	1.0	0.0
Breadcrumbs	403	1686	7.0	73.7	6.3	4.5	5.0	11.0	3.2	10.0
Whole-meal bread	230	963	43.6	40.7	3.5	6.4	4.1	5.3	1.0	0.0
Bread. white (loaf 50g)	277	1157	37.9	54.1	3.8	3.8	2.5	4.4	1.1	0.0
Bread prepared with oil	246	1030	42.1	46.1	2.4	5.7	3.0	5.5	0.9	0.0
Ciabatta bread	307	1283	43.6	45.3	2.4	5.4	3.1	3.6	0.9	0.0
Piadina bread	330	1380	23.9	56.4	5.8	4.4	4.6	10.2	2.0	5.0
<i>Pizzas</i>										
Focaccia	293	1225	35.4	49.8	2.6	4.3	2.8	8.0	1.6	0.0
Pizza with tomato	198	829	56.0	38.2	2.4	4.8	3.3	3.7	0.4	0.0
Pizza with tomato and mozzarella	235	982	51.6	32.1	5.1	4.4	6.6	8.8	2.6	10.0
Calzone	284	1187	40.1	39.2	5.0	2.8	6.9	11.5	4.1	11.0
Pizza dough	367	1534	31.8	57.1	3.0	2.9	2.8	5.3	1.1	0.0
Frozen pastry pockets with cheese	169	707	64.8	25.2	6.0	4.4	4.5	5.6	2.3	25.0

*CHO, carbohydrate

Table 4 A Micronutrient composition of commercial GF breads and pizzas. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Fe	Ca	Na	K	P	Zn	D	E	A	β_Car*	B1	B2	B3	B9	C
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	μg	mg	μg	μg	mg	mg	mg	μg	mg
<i>Breads</i>															
Sliced white bread (sandwich type)	0.4	5.0	706.0	86.0	34.0	0.3	0.0	2.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.7	49.0	0.0
Bread prepared with olives	0.5	10.0	539.0	158.0	31.0	0.4	0.0	2.4	0.0	31.0	0.1	0.1	0.7	43.0	2.0
Bread white (loaf 250g)	0.4	6.0	514.0	89.0	36.0	0.4	0.0	1.4	0.0	0.0	0.1	0.0	0.7	33.0	0.0
Breadcrumbs	0.7	15.0	504.0	204.0	55.0	0.5	0.0	3.2	4.0	4.0	0.1	0.1	0.7	49.0	0.0
Whole-meal bread	0.6	14.0	515.0	116.0	46.0	0.5	0.0	1.9	0.0	1.0	0.1	0.0	0.5	32.0	0.0
Bread. white (loaf 50g))	0.4	8.0	498.0	129.0	40.0	0.3	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.9	53.0	0.0
Bread prepared with oil	0.4	9.0	573.0	41.0	32.0	0.3	0.0	1.7	0.0	0.0	0.1	0.0	0.5	28.0	0.0
Ciabatta bread	0.4	6.0	437.0	46.0	36.0	0.3	0.0	1.1	0.0	20.0	0.1	0.1	0.8	37.0	0.0
Piadina	0.4	52.0	415.0	111.0	73.0	0.6	0.0	3.2	13.0	8.0	0.1	0.1	0.7	7.0	0.0
<i>Pizzas</i>															
Focaccia	0.6	20.0	590.0	51.0	35.0	0.3	0.0	2.1	0.0	23.0	0.1	0.1	0.6	33.0	0.0
Pizza with tomato	0.3	6.0	594.0	95.0	30.0	0.3	0.0	1.3	0.0	178.0	0.0	0.0	0.6	23.0	6.0
Pizza with tomato and mozzarella	0.6	85.0	710.0	249.0	83.0	1.2	0.0	2.4	28.0	223.0	0.1	0.2	1.0	50.0	7.0
Calzone	0.6	97.0	351.0	61.0	79.0	1.2	0.0	2.4	32.0	219.0	0.1	0.1	0.8	24.0	6.0
Pizza dough	0.4	10.0	462.0	103.0	36.0	0.4	0.0	1.4	0.0	0.0	0.1	0.0	0.6	28.0	0.0
Frozen pastry pockets with cheese	2.3	123.0	1021.0	161.0	63.0	0.8	0.1	2.2	23.0	406.0	0.1	0.1	0.8	12.0	6.0

*β_Car, beta carotene

Table 5 Macronutrient composition of commercial GF savory snacks. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Energy kcal	Energy kJ	H₂O g	CHO* g	<i>of which sugar g</i>	Fiber g	Protein g	Fat g	<i>of which saturates g</i>	Cholesterol g
Salted crackers	401	1676	4.6	80.1	3.1	2.7	3.5	9.2	2.9	10.0
Cracotte (creaspbread)	348	1457	8.3	79.0	3.4	1.6	7.4	2.6	0.9	0.0
Saltine crackers	459	1919	7.5	72.3	3.1	0.1	0.5	20.6	9.4	0.0
Bread sticks	414	1732	7.0	78.3	3.9	2.0	3.4	10.5	2.5	14.0

*CHO, carbohydrate

Table 5 A Micronutrient composition of commercial GF savory snacks. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Fe	Ca	Na	K	P	Zn	D	E	A	β_Car*	B1	B2	B3	B9	C
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	µg	mg	µg	µg	mg	mg	mg	µg	mg
Salted crackers	0.6	15.0	1067.0	269.0	41.0	0.5	0.0	3.0	4.0	22.0	0.1	0.0	0.6	15.0	1.0
Cracotte (creasbread)	0.8	6.0	790.0	201.0	79.0	0.8	0.0	0.5	0.0	130.0	0.1	0.0	1.3	5.0	0.0
Saltine crackers	0.4	9.0	1190.0	352.0	12.0	0.3	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	12.0	0.0
Bread sticks	0.7	27.0	716.0	267.0	66.0	0.6	0.0	3.8	8.0	18.0	0.1	0.1	1.0	72.0	0.0

*β_Car, beta carotene

Table 6 Macronutrient composition of commercial GF pasta dishes. Values are expressed per 100 g of product

FOOD	Energy	Energy	H ₂ O	CHO*	<i>of which</i>	Fiber	Protein	Fat	<i>of which</i>	Cholesterol
	kcal	kJ	g	g	<i>sugar</i>	g	g	g	<i>saturates</i>	g
					g				g	g
Egg pasta (fresh)	274	1148	45.9	57.6	0.5	3.9	5.4	3.3	0.7	76.0
Egg pasta (dry)	351	1470	10.9	76.3	1.2	1.9	7.4	3.5	0.9	119.0
Whole-meal pasta	381	1595	9.3	80.3	0.9	4.8	7.6	2.9	0.6	0.0
Pasta made with different flours	333	1392	12.4	75.7	0.7	2.1	7.4	2.0	0.2	0.0
Corn Pasta	336	1405	15.3	75.0	1.4	2.4	8.0	2.5	0.3	0.0
Rice pasta	337	1410	11.5	79.9	0.0	1.0	6.6	1.2	0.1	0.0
Pasta for broth	333	1392	12.4	75.7	0.7	2.1	7.4	2.0	0.2	0.0
Pasta filled with meat	219	916	51.6	33.7	2.0	2.4	7.3	6.6	2.5	50.0
Pasta filled with vegetables	262	1096	43.8	36.4	2.9	2.2	11.2	8.5	3.0	94.0
Gnocchi	153	642	59.1	36.5	0.5	3.3	3.0	0.5	0.1	10.0
Cous cous	339	1420	11.9	75.8	1.4	2.4	8.1	2.5	0.3	0.0

*CHO, carbohydrate

Table 6 A Micronutrient composition of commercial GF pasta dishes. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Fe	Ca	Na	K	P	Zn	D	E	A	β_Car*	B1	B2	B3	B9	C
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	μg	mg	μg	μg	mg	mg	mg	μg	mg
Egg pasta (fresh)	0.9	13.0	26.0	74.0	75.0	0.6	0.3	0.4	32.0	93.0	0.1	0.1	0.7	9.0	0.0
Egg pasta (dry)	1.0	38.0	97.0	115.0	79.0	0.6	0.4	0.3	52.0	123.0	0.1	0.1	0.2	14.0	0.0
Whole-meal pasta	2.1	12.0	9.0	303.0	354.0	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.1	6.7	17.0	0.0
Pasta made with different flours	1.0	7.0	5.0	241.0	69.0	0.8	0.0	0.0	0.0	190.0	0.2	0.1	1.2	6.0	0.0
Corn pasta	1.7	6.0	1.0	120.0	91.0	0.9	0.0	0.00	0.0	370.0	0.3	0.1	1.7	0.0	0.0
Rice pasta	0.4	6.0	4.0	95.0	82.0	0.7	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	4.0	0.0
Pasta for broth	1.0	7.0	5.0	241.0	69.0	0.8	0.0	0.0	0.0	190.0	0.2	0.1	1.2	6.0	0.0
Pasta filled with meat	0.7	151.0	483.0	115.0	111.0	0.8	0.1	0.7	70.0	132.0	0.1	0.1	0.6	11.0	1.0
Pasta filled with vegetables	1.2	94.0	985.0	155.0	156.0	1.6	0.4	0.7	39.0	63.0	0.1	0.1	1.6	13.0	0.0
Gnocchi	0.7	24.0	482.0	440.0	65.0	0.4	0.0	0.1	4.0	2.0	0.0	0.0	1.4	6.0	3.0
Cous cous	1.7	6.0	1.0	121.0	92.0	0.9	0.0	0.0	0.0	374.0	0.3	0.1	1.8	0.0	0.0

*β_Car, beta carotene

Table 7 Macronutrient composition of commercial GF flours. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Energy	Energy	H ₂ O	CHO*	<i>of which</i>	Fiber	Protein	Fat	<i>of which</i>	Cholesterol
	kcal	kJ	g	g	<i>sugar</i>	g	g	g	<i>saturates</i>	g
					g				g	
Mixed flours	336	1405	10.1	82.7	4.3	4.4	3.1	0.5	0.1	1.0
Flour for cake	344	1437	9.3	86.8	22.9	1.8	2.0	0.7	0.1	0.0
Flour for bread	329	1378	11.3	79.4	3.3	4.5	3.6	0.9	0.2	2.0

*CHO, carbohydrate

Table 7 A Micronutrient composition of commercial GF flours. Values are expressed per 100 g of product.

FOOD	Fe	Ca	Na	K	P	Zn	D	E	A	β _Car*	B1	B2	B3	B9	C
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	μ g	mg	μ g	μ g	mg	mg	mg	μ g	mg
Mixed flours	0.4	26.0	17.0	271.0	34.0	0.4	0.0	0.0	2.0	33.0	0.1	0.0	0.2	8.0	0.0
Flour for cake	0.5	7.0	8.0	153.0	27.0	0.4	0.0	0.0	0.0	40.0	0.1	0.0	0.4	5.0	0.0
Flour for bread	0.3	45.0	290.0	216.0	55.0	0.5	0.0	0.1	5.0	3.0	0.1	0.1	0.4	9.0	0.0

* β _Car, beta carotene

STUDIO 2

Nutritional evaluation of the gluten free diet

Teresa Mazzeo¹, Leda Roncoroni², Carolina Tomba², Luca Elli², Carlo Agostoni³,
Gianni Galaverna¹, Furio Brighenti¹, N. Pellegrini¹

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Parma;

²Centro per la Prevenzione e Diagnosi della Malattia Celiaca, Fondazione IRCCS –
Ospedale Maggiore Policlinico, Milano,

³Fondazione IRCCS - Ospedale Maggiore Policlinico, Università di Milano

Abstract

Background: Uncertainty still exists whether celiac patients living on a gluten-free diet for several years are ensured by a nutritionally balanced diet.

Objective: To elucidate the nutritional adequacy of the GF diet, this study was focused on the assessment of nutrient intake in a group of celiac patients comparing to that obtained from a control group. For this purpose, the dietary habits of celiac patients and control subjects were recorded using a 7-day weighed food record and the data of a developed composition database of GF products sold in Italy were used.

Design: The intake of nutrients and foods was assessed in 60 Italian celiac patients (46 women) aged 18-70 years with diagnosis of celiac disease from more than two years. The data were then compared to those obtained for a matched group of healthy subjects with comparable characteristics, such as age, gender, lifestyle, social status and place of origin.

Results: The celiac patients introduced the same energy as controls, but had a significant higher intake of total and saturated fats, energy from total and saturated fats, vitamin C, vitamin E and potassium. Conversely they had a significant lower intake of energy from carbohydrate and protein than healthy peers. In terms of food categories, celiac subjects consumed a higher amount of flours, other cereals (i.e. rice, corn, buckwheat and quinoa) and sweets, but the consumption of breads in celiac patients was significantly lower than in controls. In relation to recommended intakes of nutrients, this study reveals the inadequate intakes of fiber, calcium, iron, and folate in both groups studied.

Conclusion: The dietary assessments in celiac patients are crucial from the nutritional point of view because a long-life inadequate diet contributes to the development of chronic diseases and, to achieve this goal, a database of GF products is an important prerequisite.

Keywords: celiac disease, gluten free diet, dietary assessment, food composition database

1. Introduction

Celiac disease (CD) is a chronic immune-mediated disease of the small intestine, triggered by the gluten-containing cereals, such as wheat, barley and rye, in genetically susceptible individuals (Husby *et al.*, 2012). Following the ingestion of gluten and related prolamines, the immunological process damage the mucosa and leads to the reduction of villi to the point of a villous atrophy and a crypt hyperplasia, thus causing nutrient malabsorption (Husby *et al.*, 2012). CD is unique amongst chronic disorders in which the diet is the only recognized treatment. It is expected that, after the initiation of a gluten free (GF) diet the enteropathy will improve (Fasano and Catassi, 2001) and the restoration of absorptive surface area will enable the normal absorption of nutrients to occur. A strict compliance to a GF diet is considered to be an essential part of patient management and is advocated in all patients with CD (Hill *et al.*, 2005).

The GF diet means many staple foods such as bread, flour and pasta, which are important sources of energy, protein, carbohydrate, iron, calcium, niacin and thiamin, have to be excluded (Kinsey *et al.*, 2008). Removing the staple cereals and their associated products from the diet can be restrictive and may impact on the nutritional status of celiac patients. The literature results suggest that people with CD consume less than the recommended amounts of fiber (Grehn *et al.*, 2001; Hopman *et al.*, 2006; Kinsey *et al.*, 2008; Wild *et al.*, 2010; Dall'Asta *et al.*, 2012; Martin *et al.*, 2013), folate (Grehn *et al.*, 2001; Hallert *et al.*, 2002; Wild *et al.*, 2010; Dall'Asta *et al.*, 2012), iron (Hopman *et al.*, 2006; Wild *et al.*, 2010; Dall'Asta *et al.*, 2012) and calcium (Grehn, 2001; Kinsey, 2008; Dall'Asta *et al.*, 2012), but they exceed in the consumption of total and saturated fat (Bardella *et al.*, 2000, Hopman *et al.*, 2006; Dall'Asta *et al.*, 2012; Martin *et al.*, 2013). Despite the relative abundant literature on the dietary habits of celiac subjects, the judgment on the nutritional adequacy of GF diet cannot be considered conclusive, because these studies, conducted in different countries, report conflicting results. These different results could be partly explained by the differences in the foods consumed (and available) in different countries and by the limited nutritional data of GF foods in the food composition database. In fact, the micro-nutrient content of GF products is rarely available in the food composition databases and it is not declared in the label of these products.

Moreover, in some countries, such as Germany, there is no obligation for manufacturers to declare the macro- and micro-nutrient content on their products on packaging and as a result, complete nutritional analyses of food products are rarely available (Martin *et al.*, 2013). Finally, the formulation of several GF products has been recently improved (Matos Segura *et al.*, 2011), enhancing the content of some nutrients, such as fiber, and integrating alternative grains, such as buckwheat, quinoa and amaranth, in their formulation. As a consequence, several studies conducted a few years ago regarding the nutritional adequacy of the GF diet should be reconsidered, as well as the conclusions drawn to date. Therefore, with the aim to elucidate the nutritional adequacy of the GF diet, this study was focused on the assessment of nutrient intake in a group of celiac patients comparing to that obtained from a control group. For this purpose, the dietary habits of celiac patients and control subjects were recorded using a 7-day weighed food record and the data of a developed composition database of GF products sold in Italy (Mazzeo *et al.*, submitted) were used.

2. Materials and Methods

2.1 Participants and study design

A total of 120 subjects (60 celiac patients with histologically confirmed CD and 60 non-celiac subjects) were recruited in this study. The exclusion criteria for celiac patients were: (1) diagnosis of CD of less than 2 years, (2) age under 18 or over 70, (3) metabolic or chronic diseases (diabetes mellitus, etc.), (4) pregnancy or lactation, (5) being vegetarian or vegan. Exclusion criteria for the control subjects were the same with the exception of the diagnosis of CD. All subjects were recruited in the Lombardy region (Italy). The celiac patients were recruited at the Center for Prevention and Diagnosis of CD at the University of Milan. The protocol was approved by the local Ethical Committee for Human Research of the City of Milan and all patients gave their written informed consent. They were asked to fill in a questionnaire and a 7-day food diary. The questionnaire collected data regarding the age, the date of birth and the anthropometric parameters (weight, height).

2.2 Dietary records

Total food and beverage consumption was assessed by means of a questionnaire filled in everyday for a total of 7 days. All participants were trained by a dietitian to record all food consumed. Patients were asked to record everything they ate and drank immediately after consumption (if possible), including the amounts consumed (in household measures), methods of preparation and cooking, and the brand names of any GF products used.

Data from the diaries were analyzed for energy and macro- and micro-nutrient intake, using a Microsoft Access application linked to the food database of the European Institute of Oncology (EIO), covering the nutrient composition of more than 900 Italian foods (<http://www.ieo.it/bda2008>) plus the nutrient composition of 60 commercial GF foods (Mazzeo *et al.*, submitted). The computer output consisted of the mean daily intake of macro- and micro-nutrients for each subject. Food items consumed were also retrieved and collapsed into food categories: pasta, breads (including crackers and salty snacks), potatoes, flours, other cereals (including corn, quinoa, buckwheat and rice), fruit, vegetables, pulses, meat, preserved meat, milk (including yogurt and cream), cheese, eggs, fish, oils and fats, sweets (including biscuits, sweet snacks, breakfast cereals, ice cream, candies and chocolates), soft drinks, juices and alcoholic beverages. For each subject, the mean daily intake of each food category was then calculated. The results were compared to both the healthy subjects and the Italian recommendations of nutrients and energy (LARN, 2012).

2.3 Statistical analysis

Data were processed using the statistical program SPSS statistics 20.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL). The nutritional data collected from the celiac patients and the control group were checked for normality using the Kolmogorov-Smirnov test. Differences between groups were tested with Student's *t*-test ($\alpha = 0.05$) when variables were normally distributed, and the Mann-Whitney U-test when they were not. Data are presented as the mean (\pm SE) and median (25th–75th percentiles).

3. Results

All participants completed the study. The characteristics of celiac patients and control group are reported in Table 1. There were no significant differences between two participant groups concerning the gender distribution, the mean age and BMI.

Based on self-reported heights and weights, 50 (83%) healthy patients had a BMI in the healthy range (18.5 to 24.9), 5 (8.3%) were in the overweight range (25.0 to 29.9), 3 (5.3%) were in the obese range (30.0 or more) and 2 (3.3%) were in the underweight range (less than 18.5). Forty-five out of 60 (75%) celiac patients had a BMI in the healthy range, 8 (13.3%) were in the overweight range, 2 (3.3%) was in the obese range and 5 (8.3%) were in the underweight range.

The intake of macronutrients by both groups, as calculated from the 7-days food diaries, is shown in Table 2. The mean daily intake of energy, protein, carbohydrate, sugar, and fiber were similar between celiac patients and control group. Conversely, the intake of total and saturated fats, and the percentage of energy from total and saturated fats were significantly higher for celiac patients than for healthy group. However, the percentage of energy from protein and carbohydrates were significantly lower in patients with CD than in control group. Regarding the dietary intake of micronutrient (Table 3), the celiac patients reported a significant higher intake of vitamin C ($p < 0.029$), vitamin E ($p < 0.001$) and potassium ($p < 0.001$) than controls. The mean daily intake of other micronutrients was comparable between the two groups.

In terms of food categories (Table 4), the celiac patients consumed significantly less bread ($p < 0.001$) and flours ($p < 0.019$), but more other cereals ($p < 0.001$) and sweets ($p < 0.002$) and marginally more fruit ($p = 0.053$) and preserved meat ($p = 0.051$) when compared to healthy peers (Table 4).

4. Discussion

The overall results of the present study suggest that the diet of celiac group differed from controls in terms of macro- and micro-nutrient intake as well as in terms of food selection. Such differences between the celiac patients and their matched control subjects were already reported in other studies in different populations (Bardella *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 2005; Dall'Asta *et al.*, 2012).

Concerning to the macro-nutrients, the volunteers on a GF diet consumed a significantly higher amount of total and saturated fats than the control group, in agreement with recent studies on adults with CD (Wild *et al.*, 2010; Dall'Asta *et al.*, 2012). Such differences were probably due to a significant higher consumption of sweets by celiac patients in comparison to healthy participants, confirming our previous findings (Dall'Asta *et al.*, 2012).

The diet of patients with CD resulted, moreover, in a significantly higher percentage of energy from total and saturated fats and in a significantly lower percentage of energy from carbohydrates and proteins as compared to controls, despite a comparable caloric intake in the two groups. These results confirmed previous findings (Bardella *et al.*, 2000; Dall'Asta *et al.*, 2012). Moreover, celiac patients ate less pasta and bread than did control subjects and tended to prefer foods, such as eggs, meat, cheese and sweets, with a high content of total and saturated lipids, as already observed (Bardella *et al.*, 2000). Furthermore, these results could be explained by our previous observations on the composition of Italian GF products (Mazzeo *et al.*, submitted). In fact, although such foods are all cereal-based goods, they generally provide a lower amount of carbohydrates and proteins than their gluten-containing counterpart, but a higher content of lipids, which are used as emulsifiers or to make products more palatable. Besides, the celiac patients introduced too much energy from total fats also considering the reference intake range for such macronutrient recommended by the Italian Society of Nutrition (between 20 and 35%) (LARN, 2012).

In agreement with the previous findings (Kinsey *et al.* 2008; Dall'Asta *et al.*, 2012), the results of this study showed a similar intake of fiber in both groups considered. Kinsey *et al.* (2008) suggested that, in the recent years, the fiber content has been increased in breads and flour mixes by manufacturers. Furthermore, this statement is confirmed by our previous study (Mazzeo *et al.*,

2013 submitted), in which it has been demonstrated that GF products considered contained a good amount of dietary fiber, due to the presence of hydrocolloids in their formulation. However, despite the comparable intake of fiber, celiac patients consumed significantly more other cereals, mainly rice and corn, and a slightly higher amount of fruit, even though not significant, than controls, resulting in a significant higher intake of vitamin C and potassium.

With regard to the micronutrient intake, there were no significant differences between the two groups in terms of folate, β -carotene, sodium, iron and calcium. Concerning the folate intake, the present results are not in agreement to Grehn *et al.* (2001), who studying adults with long-standing disease, found a significant lower intake of folate than that of controls. This finding was due to a lower consumption of fresh fruits in celiac subjects than controls, whereas they ate more greens and root vegetables.

Considering the recommended folate intake for Italian population (400 $\mu\text{g}/\text{day}$) (LARN, 2012), less than half of the celiac patients (28%) and 17% of healthy peers meet it. This result was consistent with previous findings (Grehn, 2001; Hallert, 2002; Dall'Asta *et al.*, 2012). In fact, Grehn *et al.* (2001) found that the celiac patients (mainly the men) and control subjects had an intake of folate below the recommended level for Nordic people. Hallert *et al.* (2002), in another Swedish dietary habits survey on celiac patients, showed a mean daily intake of folate in celiac patients ($184 \pm 54 \mu\text{g}$) and controls ($206 \pm 60 \mu\text{g}$) below the Nordic Nutrition Recommendations (300 $\mu\text{g}/\text{day}$). Recently, Dall'Asta *et al.* (2012) found that only 19 out of 40 celiac patients met the current recommendation.

Although, there were not significant differences between the two groups in term of calcium intake, it was notable that the intake of calcium by both groups was below the recommended level for the Italian population (1000 g/day) (LARN, 2012) as previously found (Grehn *et al.*, 2001; Kinsey *et al.*, 2008; Dall'Asta *et al.*, 2012). This result is particularly concerning for celiac patients because a deficiency in calcium can lead to long-term problems such as bone disease, including osteoporosis (Farrell and Kelley, 2002). Grehn *et al.* (2001) also found the intake of calcium to be an area of concern for this population and osteoporosis is one of the most common complications of CD, with approximately 75% of newly diagnosed patients having some degree of bone loss. Therefore, the

National Osteoporosis Foundation has set the recommended intake for calcium higher for patients with CD than that for the general population (Kinsey *et al.*, 2008).

Regarding the iron, the mean daily intake of this mineral was similar in the two groups studied, even though the celiac patients consumed a significant lower amount of bread than controls. In the Italian diet, one third of the iron contribution derives from bread in all age classes (Sette *et al.*, 2013). However, in the celiac group compared to healthy participants a higher, even though not significant, consumption of meat and preserved meat was observed. Conversely, Dall'Asta *et al.* (2012) found a lower intake of iron in the celiac group than in controls suggesting that the difference was probably due to the consumption of lower amounts of whole grains, pulses and iron-containing vegetables. In the present study, it is important to highlight the consumption of iron by both groups was below the recommended level for the Italian population (10 mg for male and postmenopausal women and 18 mg for premenopausal women) (LARN, 2012). In fact, only the 25% of celiac patients and of control group consumed daily recommended amounts of iron (LARN, 2012) during the 7-day recording period of this survey. These results are consistent with Thompson *et al.* (2005), who found that less than half (44%) of the celiac female respondents consumed daily-recommended amounts of iron during the 3-day recording period.

Similarly to vitamin C and potassium, the celiac patients showed a significant higher intake of vitamin E than controls. This finding disagreed with our previous study (Dall'Asta *et al.*, 2012), but it is in agreement with Grehn *et al.* (2001), who observed a higher intake of vitamin E in celiac patients, especially in celiac women, than controls. The significant higher intake of other cereals, including quinoa and buckwheat, in the celiac patients may explain this finding, since such pseudocereals represent an important source of vitamin E (Alvarez-Jubete *et al.*, 2009). In relation to recommended Italian intake, an adequate level of vitamin E were seen in both celiac patients and controls in disagreement with Grehn *et al.* (2001), who observed a low level of vitamin E in the two groups studied.

The present study demonstrates the celiac patients tend to prefer fatty foods such as sweets and preserved meat with respect the healthy counterpart. However, in disagreement with our previous observations in a group of celiac patients

similarly recruited in north Italy, these celiac patients introduced more vegetables and fruit than the healthy peers and the celiac patients previously recruited did. It's interesting to observe that both groups studied in this survey reported a higher consumption of fruit and vegetables (545 g/die and 476 g/die for celiac and control subjects, respectively) than that of the Italian adults (418 g/die) recorded by the Italian National Food Consumption Survey INRAN-SCAI (2005-2006) (Leclercq *et al.*, 2008). This positive finding was probably the result of the education of these celiac patients received by a dietitian at the Center for Prevention and Diagnosis of CD. This study supports the need for a frequent reinforcement and accurate explanation of dietary recommendations (Kupper *et al.*, 2005).

The main strength of the present study is the use of a composition database of GF foods for calculating the dietary habits of celiac patients. In this database, the micro-nutrient content was calculated for 60 GF products, allowing a more precise estimation. The use of this database could explain the different findings on micro-nutrient intake, especially vitamin E, folate and iron, found in the present study with respect to our previous one (Dall'Asta *et al.*, 2012). Moreover, the dietary habits were recorded using an accurate tool, which is considered the gold standard in the dietary food record. However, these data only describe dietary intake during one week and do not take into account the seasonal variation in food consumption.

In conclusion, the dietary assessments in celiac patients are important from the nutritional point of view because a long-life inadequate diet contributes to the development of chronic diseases and, to achieve this goal, a database of GF products is an important prerequisite.

References

- Alvarez-Jubete L., Arendt E.K., Gallagher E. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *J. Food Nutr.* **2009**, 60(4), 240-257.
- Bardella M.T., Fredella C., Prampolini L., Molteni N., Giunta A.M., Bianchi P.A. Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, 72, 937-939.
- Dall'Asta C., Scarlato A.P., Galaverna G., Brighenti F., Pellegrini N. Dietary exposure to fumonisins and evaluation of nutrient intake in a group of adult celiac patients on a gluten-free diet. *Mol. Nutr. Food Res.* **2012**, 56, 632-640.
- Farrell R.J., Kelley C.P. Celiac Sprue. *N. Engl. J. Med.* **2002**, 346, 180-188.
- Fasano A., Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* **2001**, 120, 636-651.
- Food Composition Database for Epidemiological Studies in Italy. Version 2008. Retrieved July 2012 from Nutrient Homepage: <http://www.ieo.it/bda> (accessed on November 2013).
- Grehn S., Fridell K., Lilliecreutz M., Hallert C. Dietary habits of Swedish adult coeliac patient treated by a gluten-free diet for 10 years. *Scandinavian Journal of Nutrition/Naringsforskning* **2001**, 45, 178-182.
- Hallert C., Grant C., Grehn S., Grännö C., Hultén S., Midhagen G., Ström M., Svensson H., Valdimarsson, T. Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment Pharmacol. Ther.* **2002**, 16, 1333-1339.
- Hill I.D. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* **2005**, 128, 25-32.
- Hopman E.G.D., Le Cessie S., von Blomberg M.E., Mearin M.L. Nutritional management of the gluten-free diet in young people with celiac disease in the Netherlands. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2006**, 43, 102-108.
- Husby S., Koletzko S., Korponay-Szabó I.R., Mearin M.L., Phillips A., Shamir R., Troncone R., Giersiepen K., Branski D., Catassi C., Leigeman M., Maki M., Ribes-Koninckx C., Ventura A., Zimmer K.M. European

- Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2012**, 54(1), 136-160.
- Kinsey L., Burden S.T., Bannerman E. A dietary survey to determine if patients with celiac disease are meeting current healthy eating guidelines and how their diet compares to that of the British general population. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2008**, 62, 1333–1342.
 - Kupper C. Dietary Guidelines and Implementation for Celiac Disease. *Gastroenterology* **2005**;128, 121–127.
 - Leclercq C., Arcella D., Piccinelli R., Sette S., Le Donne C., Turrini, A on behalf of the INRAN-SCAI 2005–06 Study Group- The Italian National Food Consumption Survey INRAN-SCAI2005–06: main results in terms of food consumption. *Public Health Nutr.* **2009**, 12(12), 2504 –2532.
 - Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione italiana. Revisione **2012**. Società Italiana di Nutrizione Umana. http://www.sinu.it/documenti/20121016_LARN_bologna_sintesi_prefinale.pdf
 - Martin J., Geisel T., Maresch C., Stein K.K.J. Inadequate Nutrient Intake in Patients with Celiac Disease: Results from a German Dietary Survey. *Digestion* **2013**, 87, 240–246.
 - Matos Segura M.E., Rosell C.M. Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2011**, 66, 224-230.
 - Mazzeo T., Cauzzi S., Brighenti F., Pellegrini N. The development of a composition database of gluten free products. *Public Health Nutrition*, submitted.
 - Ohlund K., Olsson C., Hernell O., Ohlund I. Dietary shortcomings in children on a gluten-free diet. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2010**, 23, 294–300.
 - Sette S., Le Donne C., Piccinelli R., Mistura L., Ferrari M., Leclercq C., and on behalf of the INRAN-SCAI 2005–06 study group. The third National Food Consumption Survey, INRAN-SCAI 2005–06: major dietary sources of nutrients in Italy. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2013**, 64(8), 1014-1021.

- Thompson T., Dennis M., Higgins L.A., Lee A.R., Sharrett M.K. Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium, and grain foods ? *J. Hum. Nutr. Diet.* **2005**, 18, 163-169.
- Wild D., Robins G.G., Burley V.J, Howdle P.D. Evidence of high sugar intake, and low fibre and mineral intake, in the gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2010**; 32, 573–581.

Table 1 *The characteristics of celiac patients and control subjects^a.*

	Celiac patients n=60	Control subjects n=60
Females, n (%)	46 (77)	48 (80)
Age (year)	42.3 ± 1.7 (19-69)	38.2 ± 1.9 (18-66)
Height (cm)	165.4 ± 1.0 (150-182)	166.8 ± 0.9 (155-186)
Weight (kg)	61.4 ± 1.4 (39-90)	61.5 ± 1.3 (49-95)
BMI (kg/ m ²)	22.4 ± 0.4 (17-35)	22.0 ± 0.4 (17-37)

a) All values are expressed as mean ± SE, range value (min and max).

Table 2 *The macronutrient intake of celiac patients and control subjects^a.*

		Celiac patients (n=60)		Control subjects (n=60)		<i>p</i> -Value
		Mean ± SE	Range	Mean ± SE	Range	
Energy	(MJ)	8.9 ± 0.2	7.1-13.1	8.7 ± 0.1	7.8-8.9	0.428
Energy from protein	(%)	14.4 ± 0.3	9.9-21.9	15.3 ± 0.2	10.9-18.8	0.026
Energy from total fat	(%)	37.0 ± 0.7	20.8-48.6	33.9 ± 0.6	25.3-46.6	0.001
Energy from carbohydrate	(%)	47.7 ± 0.8	35.2-60.1	51.2 ± 0.5	41.4-60.1	<0.001
Energy from saturated fat	(%)	8.7 ± 0.2	6.3-15.8	7.5 ± 0.2	4.0-11.0	<0.001
Energy from sugar	(%)	18.3 ± 0.6	8.6-29.3	17.1 ± 0.6	9.1-29.6	0.123
Total fat	(g)	88.0 ± 2.4	45.6-125.4	79.2 ± 1.2	48.9-124.7	0.006
Saturated fat	(g)	20.6 ± 0.6	12.5-34.2	17.4 ± 0.5	8.8-29.4	<0.001
Cholesterol	(g)	282.8 ± 13.5	119.1-581.5	252.9 ± 10.3	66.5-447.0	0.080
Protein	(g)	76.2 ± 2.2	49.5-115.2	79.1 ± 1.7	51.4-111.3	0.289
Carbohydrate	(g)	253.1 ± 6.1	173.7-413.7	265.9 ± 5.0	195.4-353.0	0.110
Sugar	(g)	97.1 ± 3.2	42.9-169.5	88.9 ± 3.1	41.2-153.0	0.070
Fiber	(g)	20.8 ± 0.7	10.1-35.7	20.8 ± 0.8	9.9-39.5	0.987

^a All values are expressed as mean ± SE. The comparisons between the groups were performed by using the *t*-test.

Table 3 The micronutrient intake of celiac patients and control subjects^a.

	Celiac patients (n=60)		Control subjects (n=60)		p-Value
	Mean ± SE	Range	Mean ± SE	Range	
Vitamin C (mg)	142.6 ± 8.5	22.3-323.8	117.7 ± 7.4	22.1-238.4	0.029
Vitamin E (mg)	18.4 ± 0.5	9.0-29.8	13.5 ± 0.5	6.9-26.1	<0.001
β-carotene (μg)	5231.9 ± 331.7	973.6-12733.9	4692.8 ± 320.5	1254.6-10668.0	0.245
Folate (μg)	339.2 ± 14.3	151.0-704.6	328.8 ± 11.9	177.9-650.8	0.579
Sodium (mg)	3179.0 ± 151.6	999.7-6743.3	2954.5 ± 136.3	1392.8-5893.9	0.273
Iron (mg)	11.2 ± 0.5	6.1-33.6	11.3 ± 0.4	7.0-23.5	0.890
Calcium (mg)	855.1 ± 34.5	338.2-1477.0	805.6 ± 35.7	386.5-1784.8	0.321
Potassium (mg)	3339.9 ± 88.4	2224.3-5320.3	2958.7 ± 75.9	1727.3-4087.5	<0.001

^a All values are expressed as mean ± SE. The comparisons between the groups were performed by using the *t*-test.

Table 4 The daily intake of food groups by celiac patients and control subjects^a

		Celiac patients (n=60)		Control subjects (n=60)		p-Value
		Mean ± SE	Range	Mean ± SE	Range	
Pasta	(g)	52.7 ± 5.2	0.0-235.7	58.3 ± 4.0	0.0-142.9	0.394
Breads	(g)	83.9 ± 6.0	7.1-216.0	132.7 ± 6.9	17.1-287.1	<0.001
Potatoes	(g)	50.2 ± 5.1	0.0-202.9	42.7 ± 4.9	0.0-186.8	0.287
Flours	(g)	1.3 (0.0-3.6)*	0.0-31.4	3.2 (0.0-15.3)*	0.0-113.6	0.019*
Others cereals	(g)	47.1 (18.6-62.7)*	0.0-127.9	15.0 (0.0-32.7)*	0.0-108.6	<0.001*
Fruit	(g)	253.7 ± 17.5	17.9-562.9	206.3 ± 16.8	0.0-598.3	0.053
Vegetables	(g)	292.0 ± 18.2	29.3-599.4	270.2 ± 15.0	45.7-530.7	0.355
Pulses	(g)	14.3 (5.6-25.3)*	0.0-98.0	10.8 (0.0-20.7)*	0.0-84.7	0.182*
Meat	(g)	95.6 ± 7.3	7.1-232.9	82.3 ± 6.0	0.0-252.9	0.163
Preserved meat	(g)	29.9 ± 2.9	0.0-126.4	22.5-2.4	0.0-100.0	0.051
Milk	(g)	186.5 ± 16.3	0.0-500.0	161.2 ± 16.9	0.0-495.0	0.283
Cheese	(g)	47.8 ± 4.0	2.6-172.9	46.9 ± 3.4	6.2-108.6	0.855
Eggs	(g)	15.3 ± 1.8	0.0-68.6	13.8 ± 1.6	0.0-51.4	0.540
Fish	(g)	41.9 ± 5.6	0.0-245.7	41.0 ± 4.0	0.0-162.9	0.889
Oil and fats	(g)	34.6 ± 1.7	11.3-71.4	36.5 ± 1.6	16.5-71.4	0.405
Sweets	(g)	118.4 ± 10.9	33.6-266.4	86.8 ± 6.0	0.0-252.9	0.002
Soft drinks	(g)	0.0 (0.0-68.9)*	0.0-248.6	0.0 (0.0-46.1)*	0.0-385.7	0.224*
Juices	(g)	37.5 ± 7.4	0.0-228.6	22.7 ± 5.7	0.0-200.0	0.116
Alcoholic beverages	(g)	6.1 (0.0-522.1)*	0.0-522.1	30.1 (0.0-81.5)*	0.0-292.9	0.284*

^a All values are expressed as mean ± SE unless otherwise noted. * Data not normally distributed are expressed as medians (25-75 percentile). The comparisons were performed by using the *t*-test and Mann-Whitney U-test for paired samples for normal and not normal variables, respectively.

STUDIO 3

Evaluation of visual and taste preferences of some gluten free commercial products in a group of celiac children

Teresa Mazzeo¹, Francesca Brambillasca², Nicoletta Pellegrini³, Rossella Valmarana⁴, Fabiola Corti⁴, Carla Colombo⁴, Carlo Agostoni^{2,5}

¹SITEIA.PARMA Interdepartmental Centre, University of Parma, Parma, Italy

²Pediatric Clinic 2, IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy

³Department of Food Science, University of Parma, Parma, Italy

⁴Department of Pediatrics, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy

⁵Department of Clinical Sciences and Community Health, University of Milan, Milan, Italy

Published in International Journal of Food Science and Nutrition

Abstract

The purpose of this study was to investigate the visual and taste liking of three commercial gluten-free (GF) foods in a group of celiac children. Thirty celiac children, with diagnosis of celiac disease from more than 2 years, were recruited and 28 (21 females and 7 males, mean age 8.7 years) completed the study. Subjects performed individually six sensory tests, two for each product in different days separated by a week. In the test day, children had to evaluate the liking of the same type of product but of different four brands, before and after tasting them with a 5-point facial rating scale. Overall, the results showed that the majority of children appreciated more the appearance than the taste of all the GF products analyzed. The present study provides the first and useful indications on the hedonic perceptions of celiac children about some commercial GF products.

Keywords: gluten-free foods; children; visual liking; taste liking.

Introduction

Celiac disease (CD) is an immune-mediated systemic disorder elicited by gluten and related prolamines in genetically susceptible individuals and characterised by the presence of a variable combination of gluten-dependent clinical manifestations (Husby et al. 2012).

The prevalence of CD varies from 4.54% among first-degree relatives of CD affected patients to 0.5–1.0% in the general population (Fasano et al. 2003; Hoffenberg et al. 2003). In children, the incidence of CD is increasing (Fasano and Catassi, 2005; Telega et al. 2008). A Swedish screening study on 7567 12–14-year-old children showed that approximately 30 out of 1000 children (3%) are affected by this disease (Myleus et al. 2009). A strict life-long GF diet represents the only treatment currently available to prevent the recurrence of symptoms and other potential consequences (Ferrara et al. 2009). Nowadays, GF foods are widely diffused and in Italy GF products contribute significantly to the diet of adult and children celiac patients (Gibert et al. 2006; Zuccotti et al. 2012) and minimize the differences with the diet of healthy subjects. This is crucial during childhood and adolescence, widely documented as the most difficult stage to manage a strict GF diet (Gibert et al. 2006).

Children are more involved than ever in choosing which food items to purchase and which product to eat, and their food choices are highly related to their preferences (Kildegaard et al. 2011). Moreover, several studies have shown that children's food preferences are highly predictive of their intake (Cooke and Wardle, 2005). Sensory characteristics of foods, such as appearance and taste, have been reported to play an important role in controlling food intake (Sorensen et al. 2003). Kildegaard et al. (2011) have shown that visual appearance is an essential driver for children's food choices, as appearance is the first sensation to arouse interest in a given food (Kildegaard et al. 2011).

Although research on GF products has increased markedly in the last years, literature data on liking ratings of children, especially on celiac population, are lacking. Most research on liking ratings of children has mainly focused on the factors that are related with child's food preferences. For example in one of the few longitudinal studies in the field, Skinner et al. (2002) analysed young children's food preferences longitudinally from the age of 2 to 8 years and

identified factors that predicted their food preferences. Across the 5 years of the study, foods introduced after the age of 4 years were more likely to be disliked than liked. Furthermore mothers were found to influence children with their own preferences more than any other factors investigated (Skinner et al. 2002). Other studies examined age and gender differences in food preference (Cooke and Wardle, 2005; Perez-Rodrigo et al. 2003; Wardle et al. 2001). Perez-Rodrigo et al. (2003) reported few gender differences in the preferences of Spanish 2-24-year-old subjects. Cooke and Wardle (2005) found that boys have less healthful food preferences than girls at all ages. Among 4-5-year-old British children, girls liked vegetables more than boy did, but there were no gender differences in preferences in other food groups (Wardle et al. 2001).

As, to our knowledge, no study has examined the visual and taste liking for GF foods in celiac population, the aim of this study was to evaluate the visual and taste preferences of three commercial GF products in a group of celiac children.

Materials and Methods

Subjects

Thirty celiac children (22 females and 8 males, age range 6 to 12 years) with diagnosis of CD from more than 2 years formulated according to the European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN) criteria (Husby et al. 2012), regularly followed-up at the outpatient Paediatric Gastroenterology clinic of the Fondazione IRCCS, Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, (Italy), were recruited in the study. The protocol was approved by the local Ethical Committee and all parents gave their written informed consent.

Samples

Three commercial GF products (chocolate biscuit, breakfast biscuit and breadstick) of four different brands were used in this study. The brands were selected based on the results of a nutritional survey carried out on 40 adult celiac subjects (Dall'Asta et al. 2012), the Italian National Register of GF products (2010) and data from Italian market of GF products (Finco, 2011).

Products were divided into standardized portions of 15 g and packed in simple plastic packaging. In Tables 1-3 the formulation and nutritional composition of two sweet products (chocolate and breakfast biscuits) and a snack product (breadstick) of different brands (A,B,C,D) are reported. Among the four brands considered, the products tested had similar ingredients. However, some differences can be highlighted: the chocolate biscuit D contained sweeteners (i.e. maltitol) instead of sugar present in other chocolate biscuits, the breakfast biscuit C was prepared mainly with the GF wheat starch instead of the flour of rice and corn, the breadstick A contained 8% of extra virgin olive oil. In spite of the similar ingredients, the products differed in their manufacturing processes leading to a difference in physical thickness, form and colour.

Testing protocol

The two tests (i.e. visual appearance and taste) were performed at home with the help of parents. The order of different GF products (i.e., chocolate biscuit, breakfast biscuit and breadstick) and of different brands to be tested was randomised across the subjects. Parents received a clear description of the study including details on all the products to be tested. Moreover, they were instructed on how to manage their child during the tests. Subjects performed individually six sensory tests, two for each product in different days separated by a week. Each test was performed in the kitchen in a quiet situation. Parents read aloud the standard instructions to the child prior to performing the test and placed the products in front of the child without packaging, according to the assigned random order. All participants were instructed not to eat or drink anything (except water) 2 h prior to the test.

The first test was an overall appearance liking evaluation. On each test day, children had to evaluate the same type of product of 4 different brands.

Children's pre-consumption preferences were investigated by asking them whether they felt like eating that product just looking at it. Children were asked to look at each product and mark on a five-point hedonic facial scale ranging from 1= "would dislike very much", 2= "would dislike", 3= "would neither like nor dislike, 4= "would like", 5= "would like very much" rate how much they would like. Scores 1 and 2 were marked by sour-looking faces, score 3 by a neutral face

and scores 4 and 5 by smiling faces. After the liking evaluation of the first product, the participants received the same product but of different brand. Again they had to evaluate the visual appearance. The same procedure was followed by the child for the other two types of GF products of the three different brands considered for the liking test.

In the second test, an eating preference test took place and the same liking scale was used. The children were asked to taste the products and they had to indicate momentary perceived pleasantness of taste for each food item on a 5-category structured liking scale, ranging from 1 (not at all pleasant) to 5 (very pleasant); then they gave their liking ratings for each type of four different brands of celiac products. Although the children were asked to simply taste the GF products, they could eat all of the samples if they wanted. Accordingly to Sudre et al. (2012) a break of 1 min 30 was applied between the samples tested and the following one during which children rinsed their

mouth with natural water in order to cleanse their palate. Although the children were asked to simply taste the GF products, they could eat all of the samples if they wanted.

Statistical analysis

Preliminary data (Cooke and Wardle, 2005) were used for statistical power calculations (80% power and α has been set at 0.05), showing that 18 subjects had completed the study to obtain statistical significance.

Statistical analyses were performed by using SPSS (version 19.0; SPSS Inc, Chicago, IL). One-way analysis of variances (ANOVA) followed by LSD post-hoc test was used to obtain valid statistical significance ($p \leq 0.05$) among the same GF products but of different brands.

Results

Of the 30 children recruited, 28 (21 females and 7 males, mean age 8.7 ± 1.6 years (range 5.7-12.4 years; BMI percentile: 43.1 ± 28.9)) completed the study. The majority of children recruited (75%) was girls, which reflects the fact that twice as many girls than boys are diagnosed with CD (Ivarsson et al. 2003).

Figure 1 displays the mean liking ratings of the appearance and taste of products analysed before and after the consumption. The pre-consumption test showed that celiac children appreciated the appearance of chocolate biscuit C (Figure 1, Panel 1) and they preferred significantly ($p < 0.05$) this product to the B brand. For the other brands children showed similar preferences. With regard to the taste liking, no significant differences among the brands analyzed were found. It's interesting to observe that for B, C and D biscuits, the visual appearance scores were found to be higher than taste scores.

No significant differences between brands were observed in the case of breakfast biscuits for both tests (Figure 1, Panel 1). However the visual appearance score was slightly higher than the taste score for all brands considered.

As can be seen in Figure 1 (Panel 3), the breadsticks of brand B were the most appreciated in the visual test ($p < 0.05$) among the brands considered. As already seen for chocolate biscuits and breakfast biscuits, the visual liking score of breadsticks was higher than the taste liking one.

Discussion

Taste responses are influenced by a range of genetic, physiological, and metabolic variables. The impact of taste factors on food intake further depends on gender and age and is modulated by adiposity, eating disorders, and other abnormalities of eating behaviour (Drewnowski, 1997). Celiac patients consume several GF foods for better adhering to their strict GF diet. However, no scientific information is available on the liking ratings of these products. Thus, the present work firstly investigated the visual and taste liking of some GF commercial foods in a group of celiac children. The results of this study provide a preliminary insight on the preferences of celiac children regarding GF snacks.

Overall, the results indicate that the majority of children appreciated more the appearance than the taste of all the GF products analyzed. In fact, the visual tests always showed higher scores in the 5-point scale than the taste liking ratings. The preference for visual appearance was found to be significantly different only for breadsticks B with respect to the other brands analysed. This difference was probably due to the different colour and shape of this product that made it more comparable to its conventional wheat-containing counterpart. This

hypothesis was supported by Kildegaard et al. (2011), who showed that the colour of products has a high impact on visual preferences. In addition, the familiarity of the child with some of the products could play an important role in their preferences. In fact, it was observed that children prefer foods which they are familiar with, while unfamiliar foods are often rejected (Kildegaard et al. 2011).

On the other hand, the results of the taste test showed that the GF products did not meet the children's expectations. In fact, no significant differences were found in taste ratings among the GF products analysed (Figure 1: Panel 1, 2, 3). This is not surprising considering the ingredient formulation of three GF products tested (Tables 1, 2, 3). In fact, the basic ingredients of GF products are very similar among the four selected brands. For example, with regard to chocolate biscuits, corn or rice flours, starches from potato, corn, rice or tapioca, sugars and vegetable oil were the main ingredients common to all the selected brands.

To date, a wide variety of ingredients, including pseudocereals, sorghum and millet, has been studied with the aim of improving the organoleptic and nutritional properties of GF products. Unfortunately, among the products analysed, the inclusion of such new ingredients is very limited. Some innovative ingredients were found only in breadsticks A and B formulation. In particular, as displayed in Table 3, the breadstick A contained extra virgin olive oil (8%), which has improved its nutritional profile, being this breadstick with the lowest saturated fat content, but not its taste liking. The breadstick B formulation contained buckwheat flour, a good grain for ameliorating both sensory and nutritional aspects (Torbica et al. 2012). However, the percentage of buckwheat flour (3%) in the breadsticks B was probably too low to improve its taste liking score with respect to the other brands. Cookie formulations with 20 and 30% of buckwheat flour may improve the aroma, due to the polyphenolic content of this flour, thus going over the bland and neutral rice flour taste (Torbica et al. 2012). Other ingredients could be successfully used for increasing the organoleptic characteristics and acceptability of cookies as several GF flours are characterized by an excellent nutrient and sensory profile. For example, Ergin et al. (2012), with the aim of improving GF biscuit formulation, reported eight different GF formulations with rice, potato, corn and chickpea flours. Sensory evaluation

using a 7 point hedonic scale showed that the cookies containing 10% chickpea flour resulted the favourite sample in terms of acceptability, colour, taste, odour and texture (Ergin et al. 2012). In another study, the maximum sensory overall acceptability scores were found for cookies prepared from a combination of pearl millet (50%) and sorghum (50%) flours (Rai et al. 2011).

Conclusions

The results of the present study provide the first and useful indications on the hedonic perceptions of celiac children about some commercial GF products. Data obtained show that the GF snacks tested do not fully satisfy the taste of celiac children. This is an important indication, mainly for manufacturing companies that need to offer and propose new GF product formulations with better organoleptic and nutritional properties.

Acknowledgements

The authors would like to thank Nutrifree (a brand of Nuova Terra srl, Altopascio, LU - Italy) for providing the GF products and for financial support.

Declaration of interest

This work has been partly supported by Nutrifree company. The authors declare that there are no financial and/or personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence their work.

References

- Cooke LJ, Wardle J. (2005). Age and gender differences in children's food preferences. *Br J Nutr* 93:741-746.
- Dall'Asta C, Scarlato AP, Galaverna G, Brighenti F, Pellegrini N. (2012). Dietary exposure to fumonisins and evaluation of nutrient intake in a group of adult celiac patients on a gluten-free diet. *Mol Nutr Food Res* 56:632-640.
- Drewnowski, A. (1997). Taste preferences and food intake. *Annu Rev Nutr* 17:237-253.
- Ergin A, Herken EN. (2012). Use of various flours in gluten free biscuits. *J Food Agric Environ* 10(1):128-131.
- Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, Elitsur Y, Green PH, Guandalini S, Hill ID, Pietzak M, Ventura A, Thorpe M, Kryszak D, Fornoroli F, Wasserman SS, Murray JA, Horvath K. (2003). Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: A large multicenter study. *Arch Intern Med* 163:286-292.
- Fasano A, Catassi C. (2005). Coeliac disease in children. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 19:467-478.
- Ferrara P, Cicala M, Tiberi E, Spadaccio C, Marcella L, Gatto A, Calzolari P, Castellucci G. (2009). High fat consumption in children with celiac disease. *Acta Gastroenterol Belg* 72:296-300.
- Finco A, Galeotafiore A, Palomba TN, Prandoni V, Rinaldi C, Ventriglia A. (2011). Il Celiaco: Una Persona, Un Paziente, Un Target, "Una Vita Senza Glutine". Programma Scienziati in Azienda, XI Edizione Available at: http://www.istud.it/up_media/pw_scientiati/celiachia.pdf. Accessed on November 2012.
- Gibert A, Espadaler M, Canela MA, Sanchez A, Vaque C, Rafecas M. (2006). Consumption of gluten-free products: should the threshold value for trace amounts of gluten be at 20, 100 or 200 p.p.m.? *Eur J Gastroen Hepat* 18:1187-1195.
- Hoffenberg EJ, MacKenzie T, Barriga KJ, Eisenbarth GS, Bao F, Haas JE, Erlich H, Bugawan TIT, Sokol RJ, Taki I, Norris JM, Rewers M. (2003). A prospective study of the incidence of childhood in celiac disease. *J Pediatr* 143:308-314.

Table 1. Ingredient formulation and nutritional content per 100 g of chocolate biscuits of different commercial brands.

	Brand A	Brand B	Brand C	Brand D
Ingredients	rice flour, sugar, vegetable margarine (non-hydrogenated vegetable fats and oils, water, emulsifier: mono and diglycerides of fatty acids, salt, acidity regulator: citric acid, flavoring, vitamin A, vitamin D3), corn flour, pasteurized whole eggs, chocolate 10% (cocoa, sugar, emulsifier: soy lecithin, vanilla), corn starch, potato starch, dextrose, lupine proteins, raising agents (disodium diphosphate, sodium hydrogen carbonate), thickener: guar flour, spices, salt	corn flour, potato starch, sugar, non-hydrogenated vegetable margarine (vegetable oils and fats, water, salt, emulsifier: mono- and diglycerides of fatty acids, natural flavor), 5% dark chocolate (47% cocoa, sugar, cocoa butter, emulsifier: soy lecithin), cocoa powder 3%, butter, whole milk powder, eggs, modified corn starch, rice starch, raising agents: ammonium hydrogen carbonate and sodium hydrogen carbonate, salt, natural flavor	corn flour, sugar, tapioca starch, vegetable oil, butter, skimmed milk powder, chocolate (cocoa minimum 45%) (6%) (sugar, cocoa mass, cocoa butter, emulsifier: soya lecithin, flavorings), corn starch, eggs, lupine protein, cocoa, cream, baking powder: ammonium hydrogen carbonate, disodium diphosphate, sodium hydrogen carbonate, glucose syrup, flavorin	sweeteners: maltitol and maltitol syrup, corn starch, rice flour, eggs, vegetable oil, rice starch, cocoa powder (3%), rice starch pregelatinised, apple fiber, raising agents: sodium carbonates, calcium phosphate, salt, flavorings, thickener: guar gum, natural extract of cocoa (0.2%)
Energy	2073 kJ/494 kcal	1983 kJ/472 kcal	2022 kJ/482 kcal	1666 kJ/398 kcal
Protein (g)	6.1	4.8	7.9	4.6
Total Fat (g)	21.9	17.3	22.4	13.7
Of which saturates (g)	10.1	10.1	12.0	6.3
Carbohydrate (g)	68.2	72.9	62.3	72.6
Of which sugar (g)	26.3	24.1	25.7	1.6
Fiber (g)	3.0	2.8	2.8	2.4
Na (mg)	200	150	250	260

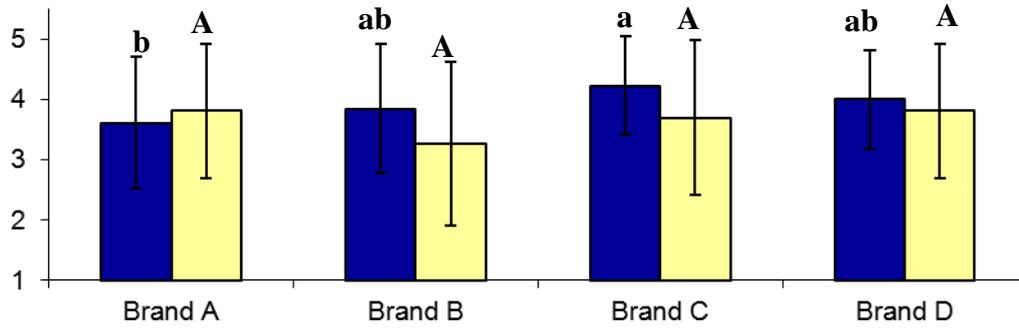
Table 2. Ingredient formulation and nutritional content per 100 g of breakfast biscuits of different commercial brands.

	Brand A	Brand B	Brand C	Brand D
Ingredients	rice flour, sugar, vegetable margarine (non-hydrogenated vegetable fats and oils, water, emulsifier: mono and diglycerides of fatty acids, salt, acidity regulator: citric acid, flavor, vitamin A, vitamin D3), corn flour, corn starch, potato starch, pasteurized whole eggs, 4% fresh pasteurized cream, butter, dextrose, egg yolk fresh pasteurized milk powder, lupine protein, raising agents, thickener: guar flour, flavorings	corn flour, sugar, no hydrogenated vegetable margarine (oils and fats, water, salt, emulsifiers: mono-and diglycerides of fatty acids and citric acid esters of mono-and diglycerides of fatty acids, natural flavor), eggs 9% starch potatoes, honey 2%, modified corn starch, raising agents, maltodextrin, salt, rice starch, natural flavor	gluten-free wheat starch, sugar, whole milk (13%), rice flour (11%), butter, eggs, margarine (oils and fat of palm and sunflower oil, water, emulsifier: mono- and diglycerides of fatty acids, salt, regulator of acidity: citric acid), skimmed powder milk (3%), glucose syrup, thickener: guar gum, fiber vegetable, baking powder, disodium diphosphate, carbonate sodium hydrogen, aromas	corn flour, butter (27%), sugar, whey powder, milk protein, salt, raising agent: ammonium hydrogen carbonate, flavorings
Energy	2014 kJ/480 kcal	1916 kJ/455 kcal	1946 kJ/463 kcal	2146 kJ/514 kcal
Protein (g)	4.6	5.4	3.9	5.4
Total Fat (g)	19.7	14.7	16.7	27.8
<i>Of which saturates (g)</i>	11.6	7.8	9.0	17.4
Carbohydrate (g)	71.0	75.2	73.2	58.4
<i>Of which sugar (g)</i>	22.3	21.0	26.4	24.6
Fiber (g)	2.3	0.3	2.2	4.3
Na (mg)	200	100	210	180

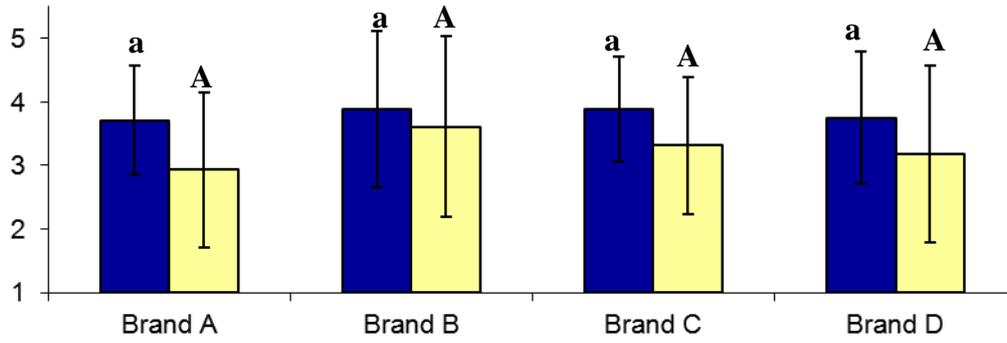
Table 3. Ingredient formulation and nutritional content per 100 g of breadsticks of different commercial brands.

	Brand A	Brand B	Brand C	Brand D
Ingredients	rice flour, corn starch, potato starch, potato flakes, corn flour, extra virgin olive oil 8%, salt, sugar, thickener: guar flour, yeast, lupine protein, baking powder: carbonate ammonium hydrogen and sodium hydrogen carbonate, emulsifier: mono and diglycerides of fatty acids and E472e, spices, yeast extract	potato starch, rice flour, modified corn starch, yeast, buckwheat flour 3.4%, no hydrogenated vegetable fat, glucose-fructose, sugar, salt, thickener: E-464, emulsifier: E-472nd, raising agent: ammonium hydrogen carbonate, natural flavor	corn starch, rice starch, potato starch, vegetable fat, yeast, dextrose, skimmed milk powder, thickener: hydroxypropyl methyl cellulose, salt, milk proteins, antioxidant: ascorbic acid, sodium pyrophosphate	corn starch, rice starch, eggs, corn oil, margarine (vegetable oils and fats, water, emulsifier: mono-and diglycerides of fatty acids, acidity regulator: citric acid), rice flour, baking powder, salt, milk cocoa powder, potato starch, dextrose, thickener: guar gum, psyllium fiber, raising agents: sodium bicarbonate
Energy	1771 kJ/420 kcal	1703 kJ/403 kcal	1738 kJ/411 kcal	1984 kJ/472 kcal
Protein (g)	4.3	3.4	2.7	3.8
Total Fat (g)	11.0	6.3	7.0	17.8
<i>Of which saturates (g)</i>	1.8	3.5	6.5	5.2
Carbohydrate (g)	75.8	82.1	84.3	72.9
<i>Of which sugar (g)</i>	0.9	2.7	3.3	0.9
Fiber (g)	2.6	2.0	1.5	2.9
Na (mg)	900	800	720	950

Panel 1



Panel 2



Panel 3

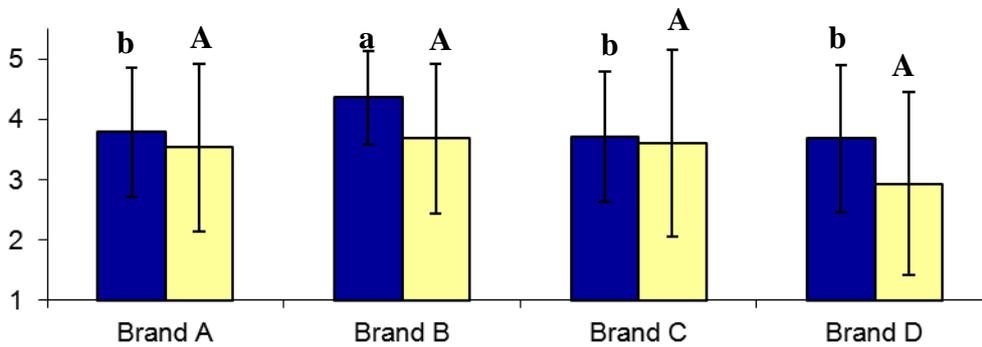


Figure 1. Mean liking scores (\pm SD) of visual appearance (dark bar) and taste (white bar) for GF products of different brands (A, B, C, D). Panel (1): chocolate biscuits, Panel (2): breakfast biscuits, Panel (3): breadsticks. Different lowercase letters in the same panel indicate significant differences ($p < 0.05$) among the brands considered for the visual appearance parameter. Different uppercase letters in the same panel indicate significant differences ($p < 0.05$) among the brands considered for the taste parameter.

Conclusioni

La terapia nutrizionale è l'unico trattamento universalmente accettato per la celiachia, una malattia sistemica autoimmune che si verifica in soggetti geneticamente predisposti. La terapia nutrizionale consiste nell'attuare una rigorosa e permanente dieta senza glutine. Oggi, in tema di qualità nutrizionale, ci si interroga sull'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine. Infatti, sebbene numerosi studi hanno documentato che questa malattia può avere un forte impatto sullo stato nutrizionale del celiaco dal momento della diagnosi fino ad alcuni anni di terapia dietetica mettendo in evidenza come la popolazione celiaca possa non introdurre le quantità raccomandate di alcuni importanti nutrienti quali fibre, minerali, vitamine così come energia e proteine; diversi studi sull'argomento presentano dati contrastanti. A tutt'oggi, quindi, la comunità scientifica non è unanime nel considerare la dieta senza glutine nutrizionalmente adeguata. Una delle motivazioni che può spiegare tale discrepanza riguarda la presenza di limitati dati sulla composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine.

Con lo scopo di valutare l'adeguatezza nutrizionale della dieta senza glutine, l'obiettivo principale di questa tesi di dottorato è stato quello di indagare le abitudini alimentari di un gruppo di soggetti celiaci italiani e confrontarle con quelle di un gruppo di controllo sano, opportunamente selezionato. Per la realizzazione di questo obiettivo è stato necessario costruire preliminarmente una banca dati di composizione nutrizionale degli alimenti senza glutine più rappresentativi della dieta celiaca italiana.

La costruzione di questa banca dati ci ha permesso di confrontare la composizione nutrizionale dei prodotti senza glutine con quella dei prodotti convenzionali.

Dalla stima della loro composizione si è osservato che questi prodotti sono caratterizzati da una minore quantità di carboidrati e proteine rispetto ai prodotti analoghi convenzionali contenenti glutine. Il basso livello di carboidrati dei prodotti senza glutine è compensato principalmente da un maggior contenuto di lipidi, poiché i grassi sono utilizzati in misura maggiore per ragioni tecnologiche o per rendere i prodotti più appetibili. Diversamente, la maggior parte dei prodotti senza glutine considerati nello studio (soprattutto pani) è caratterizzata da un elevato contenuto di fibra (> 3 g/100 g). Questo può essere spiegato dalla

presenza di idrocolloidi, come la gomma xantana, quella di guar, carbossimetilcellulosa, idrossipropilmetilcellulosa, pectina, o varie combinazioni di questi idrocolloidi necessari nella formulazione di questi prodotti. Riguardo ai micronutrienti, particolare attenzione deve essere posta all'elevato contenuto di sodio in alcuni prodotti senza glutine particolarmente utilizzati, quali la farina, i sostituti del pane, le brioche e i prodotti per la prima colazione, che possono contribuire notevolmente all'introduzione di questo micronutriente il cui eccesso porta a lungo andare a diverse patologie tra cui l'ipertensione.

La costruzione della banca dati di composizione degli alimenti senza glutine ci ha permesso dunque di indagare le abitudini alimentari di una popolazione celiaca del nord Italia e di confrontarle con quelle di una popolazione sana opportunamente selezionata. In generale, i risultati di questa indagine nutrizionale hanno dimostrato che i pazienti celiaci pur assumendo una quantità di energia simile ai controlli, la ripartiscono diversamente tra i vari macronutrienti. In particolare, i soggetti con sindrome celiaca introducono più energia da grassi totali e saturi, ma meno energia da carboidrati e proteine rispetto alla popolazione sana studiata. Questo risultato, come già osservato in precedenti indagini nutrizionali italiane (Bardella et al., 2000; Dall'Asta et al., 2012), può essere imputabile alla maggiore tendenza dei soggetti celiaci studiati a consumare più alimenti grassi come dolci e salumi rispetto al gruppo di controllo. Inoltre, l'alto contenuto in grassi e il basso contenuto in carboidrati e proteine della maggior parte dei prodotti senza glutine italiani potrebbero in parte spiegare tali risultati.

Per quanto riguarda i micronutrienti, i soggetti celiaci studiati hanno mostrato una maggiore assunzione di vitamina C, vitamina E e potassio rispetto ai controlli. Questo risultato potrebbe essere attribuibile a un più alto consumo di frutta, verdura e cereali minori, come il grano saraceno e la quinoa, osservato nei pazienti celiaci rispetto al gruppo di soggetti sani. E' interessante osservare che il gruppo di soggetti celiaci considerato nel presente studio assume una quantità superiore di frutta e verdura rispetto al gruppo di volontari sano. Inoltre, in entrambi i gruppi studiati il consumo di tali alimenti è maggiore rispetto a quanto riportato nella popolazione adulta italiana (Leclercq *et al.*, 2008).

Considerando le raccomandazioni nutrizionali italiane, i risultati ottenuti dimostrano che la dieta del nostro gruppo di celiaci, a parte un'eccessiva introduzione di grassi totali, non si discosta molto da quella del gruppo di soggetti sani. In entrambi i gruppi, infatti, in accordo con precedenti osservazioni (Grehn et al., 2001; Kinsey et al., 2008; Hallert et al. 2002, Dall'Asta et al., 2010), basse introduzioni di fibra, calcio, ferro e folati sono state osservate rispetto alle raccomandazioni.

In generale, i risultati ottenuti, in accordo con precedenti indagini nutrizionali sulla valutazione delle abitudini alimentari, dimostrano che la dieta senza glutine può risultare sbilanciata per quanto riguarda soprattutto la percentuale di energia da grassi totali, che dovrebbe rientrare nell'intervallo tra il 20 e 35 %, e alcuni micronutrienti. Questo potrebbe, a lungo andare, favorire l'insorgenza di patologie croniche tra cui diabete e le malattie cardiovascolari. E' quindi necessario che i pazienti con celiachia vengano seguiti da un'equipe multidisciplinare, che si ponga come principale obiettivo, accanto alla stretta osservanza della dieta priva di glutine, l'educazione alimentare del soggetto, possibilmente mediante la creazione di una programma dietetico individuale.

Oltre alla valutazione della qualità nutrizionale della dieta senza glutine, obiettivo di questa tesi di dottorato è stato anche quello di determinare la qualità, intesa come gradimento, di alcuni prodotti commerciali senza glutine in un gruppo di bambini celiaci.

Negli ultimi anni, con la diffusione della malattia celiaca, si è assistito a un crescente sviluppo di prodotti senza glutine da parte delle aziende produttrici con grande interesse, in ambito scientifico, all'aspetto tecnologico di questi. Tuttavia, poca attenzione è stata rivolta loro dal punto di vista sensoriale. Ciò sorprende se si considera che l'aspetto, l'aroma, il gusto e la texture giocano un ruolo chiave nell'apprezzamento del cibo e quindi nel suo consumo. Inoltre è stato dimostrato che l'insoddisfazione generata sia dal gusto che dall'aspetto visivo dell'alimento senza glutine ha un decisivo impatto sull'aderenza alla dieta senza glutine. Le tecniche e i metodi usati per incrementare le proprietà sensoriali dei prodotti senza glutine rappresentano ancora una sfida per i produttori. Al riguardo, il coinvolgimento di persone celiache nei test sensoriali potrebbe essere considerato

strategico. In tale contesto è ragionevole assumere che il seguire una dieta senza glutine, soprattutto dalla nascita, può avere un diverso impatto sulla percezione edonistica e sensoriale del cibo (Laureati et al., 2012).

Quindi, poiché la valutazione del gradimento di prodotti senza glutine nella popolazione celiaca e in particolare in quella dei bambini celiaci risulta scarsa, si è deciso di valutare la preferenza e il gusto di 3 tipologie di alimenti commerciali senza glutine (biscotti frollini, biscotti al cioccolato e grissini) in bambini celiaci di età compresa tra i 6 e i 12 anni.

I risultati di questo studio forniscono le prime utili indicazioni sulla percezione edonistica dei bambini celiaci circa alcuni prodotti commerciali senza glutine. Da un'analisi generale di tutti e 3 i prodotti senza glutine, i biscotti al cioccolato risultano essere i più graditi, seguiti dai grissini e dai frollini. Dal punto di vista visivo, come atteso, i prodotti che riscuotono il maggior punteggio sono quelli che più assomigliano ai prodotti convenzionali. E' inoltre interessante sottolineare che nessuno dei prodotti testati ha raggiunto il massimo gradimento e che nella maggior parte dei casi il gradimento visivo ha prevalso su quello gustativo. Questo dimostra che per tutti i prodotti, vi è margine di miglioramento sia sotto l'aspetto visivo, ma soprattutto sotto quello gustativo, senza tralasciare ovviamente l'aspetto nutrizionale.

In conclusione, i risultati dell'indagine nutrizionale ottenuti nel presente studio hanno messo in luce un'inadeguatezza della dieta celiaca confermando quanto visto in una nostra precedente indagine nutrizionale condotta su 40 soggetti celiaci del Nord Italia (Dall'Asta et al., 2012). L'utilizzo della banca dati sviluppata di prodotti senza glutine ci ha permesso di valutare l'introduzione di micronutrienti in modo più accurato rispetto a quanto fatto nella nostra precedente indagine. Come prospettiva futura sarebbe interessante confrontare i risultati di questo studio con quelli ottenuti da soggetti celiaci provenienti da altre regioni italiane.

I risultati ottenuti dallo studio sul gradimento di prodotti senza glutine in bambini celiaci rappresentano un utile contributo per approfondire gli aspetti sensoriali, attualmente completamente sottovalutati, dei prodotti alimentari

destinati ai consumatori celiaci. Infatti, la ricerca sulla percezione sensoriale di alimenti senza glutine in soggetti celiaci, che interpreti al meglio le esigenze e gli atteggiamenti di questo target di consumatori sempre più in aumento, rappresenta uno step fondamentale per l'aderenza alla dieta senza glutine, soprattutto in una fascia d'età critica come l'adolescenza.