

Articolo

Un prodotto a base di varietà di grano duro è efficace nel ridurre i sintomi nei pazienti non celiaci con sensibilità al glutine: una sperimentazione crossover randomizzata a doppio cieco.

Gianluca Ianiro ¹, Gianenrico Rizzatti ¹, Marco Napoli ¹, Maria Valeria Matteo ¹, Emanuele Rinninella ¹, Vincenzina Mora ¹, Caterina Fanali ¹, Alessia Leonetti ¹, 

Stefano Benedettelli ²,  Maria Cristina Mele ¹, Giovanni Cammarota ¹ and Antonio Gasbarrini ¹

¹ Digestive Disease Center, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS - Università Cattolica del Sacro Cuore, 00143 Rome, Italy; gianluca.ianiro@hotmail.it (G.I.); gianenrico.rizzatti@gmail.com (G.R.); marco.napoli.md@gmail.com (M.N.); mariavaleria31191@gmail.com (M.V.M.); emanuele.rinninella@unicatt.it (E.R.); vincenzina.mora@gmail.com (V.M.); caterinafanali@gmail.com (C.F.); alessia.leonetti1@gmail.com (A.L.); MariaCristina.Mele@unicatt.it (M.C.M.); Giovanni.Cammarota@unicatt.it (G.C.); Antonio.Gasbarrini@unicatt.it (A.G.)

² Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali (DAGRI), Università degli Studi di Firenze, 50144 Firenze, Italy

* Correspondence: stefano.benedettelli@unifi.it

Ricevuto: 28 February 2019; Accettato: 23 March 2019; Pubblicato: 27 March 2019

Abstract: I pazienti non celiaci con sensibilità al glutine (non-celiac gluten sensitivity NCGS) non hanno la malattia celiaca, ma i loro sintomi migliorano dopo una dieta priva di glutine (GFD). Tuttavia, ad oggi, non è sicuro se il glutine o altri componenti del grano siano responsabili di questi sintomi. Lo scopo di questo studio era di confrontare gli effetti di una varietà di grano duro organico con quelli del grano commerciale standard in pazienti NCGS conclamati. Abbiamo eseguito uno studio cross-over randomizzato in doppio cieco su 42 pazienti (età media 45 anni, 8 uomini) non celiaci con sensibilità al glutine (NCGS) diagnosticato secondo i criteri di Salerno e che hanno seguito una dieta priva di glutine per almeno 12 settimane dallo screening. I soggetti iscritti sono stati assegnati in modo casuale a uno dei seguenti gruppi di trattamento: (A) una dieta di due settimane con pasta di varietà di grano Senatore Cappelli; (B) una dieta di due settimane con pasta commerciale standard. Quindi, dopo un periodo di sospensione di due settimane con dieta priva di glutine, ogni paziente si è trasferito all'altro gruppo di trattamento. I sintomi sono stati valutati attraverso una versione modificata della scala di valutazione dei sintomi gastrointestinale (Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS), personalizzata per NCGS. Tra aprile 2018 e luglio 2018, 42 pazienti non celiaci con sensibilità al glutine sono stati iscritti al progetto (70,6% femmine) e 34 pazienti hanno completato lo studio. I pazienti hanno riportato valori più bassi sui sintomi complessivi dopo aver mangiato pasta Senatore Cappelli rispetto alla pasta standard ($p = 0,03$) e anche valori significativamente più bassi per diversi sintomi gastrointestinali ed extra-intestinali dopo aver mangiato pasta Senatore Cappelli rispetto alla pasta standard, in particolare, gonfiore ($p = 0,04$), distensione addominale ($p = 0,004$), eruttazione ($p = 0,01$), flatulenza ($p = 0,02$), sensazione di evacuazione incompleta ($p = 0,001$), dermatite ($p = 0,01$) e intorpidimento degli arti ($p = 0,03$). Nel nostro studio, i pazienti NCGS hanno riscontrato valori più bassi dei sintomi gastrointestinali ed extra-intestinali dopo aver mangiato la varietà di frumento Senatore Cappelli rispetto a un grano commerciale standard. Se i nostri risultati preliminari dovessero essere confermati da ulteriori studi, potrebbero essere disponibili nuove alternative dietetiche per i pazienti NCGS, con conseguenti benefici sanitari, economici e sociali.

1. Introduzione

Diversi disturbi gastrointestinali sono provocati dal consumo di specifici alimenti presenti nelle diete alimentari, i più comuni sono allergie alimentari, intolleranza al lattosio e disturbi legati al glutine [1], tra cui la celiachia, l'allergia al grano e la sensibilità al glutine in assenza di celiaca NCGS (non-celiac gluten sensitivity).

La sensibilità al glutine in assenza di celiachia (*d'ora in avanti abbreviata con l'acronimo originale NCGS*) è una sindrome complessa caratterizzata dall'insorgenza di sintomi intestinali ed extra-intestinali correlati al consumo di cibi contenenti glutine in soggetti nei quali la celiachia e l'allergia al grano sono state escluse da un'appropriata procedura diagnostica.

Mentre il fulcro del trattamento della celiachia consiste nel rigido rispetto di una dieta priva di glutine, il ruolo del glutine nella patogenesi della NCGS non è stato ancora chiarito. Sebbene nei casi di NCGS sia consigliato evitare il glutine, le prove a supporto di questa pratica sono deboli e spesso contrastanti. [4-6]. In uno studio cross-over randomizzato a doppio cieco con pazienti segnalati affetti da NCGS, il glutine non ha avuto alcun effetto dopo la riduzione nell'alimentazione di carboidrati a catena corta, fermentabili a basso assorbimento. [5]. In un altro studio clinico randomizzato in doppio cieco, solo il 14% dei pazienti i cui sintomi sono migliorati dopo una alimentazione priva di glutine di tre settimane, ha mostrato una recidiva sintomatica durante una successiva reintroduzione del glutine. [6].

Sulla base di questa evidenza, si ritiene che altri componenti del grano, incluse agglutinine, fruttani o inibitori della tripsina amilasi, svolgano un ruolo nella patogenesi di questa condizione [7-10]. Di conseguenza, il termine "Sensibilità Non Celiaca al Grano - non celiac wheat sensitivity NCWS" viene sempre più spesso preferito a quello di NCGS. [11-13].

Inoltre, una rigorosa alimentazione senza glutine, potrebbe essere associate ad anomalie nutrizionali e metaboliche come : aumento di apporto calorico, basso consumo di fibre, eventuali carenze di micro e macronutrienti [1] ed alterazioni del microbiota intestinale, inclusa una sostanziale riduzione della quantità di batteri benefici [14]. Infine, il consumo di prodotti senza glutine potrebbe essere particolarmente costoso per questi pazienti.

Per questi motivi, l'identificazione di varietà di grano più tollerabili [15] per i pazienti con NCGS/NCWS potrebbe essere estremamente interessante, in quanto potrebbe rappresentare un'alternativa alimentare più adatta alla dieta senza glutine con effetti meno dannosi sullo stato nutrizionale, essendo anche più economica.

Tra le diverse varietà di grano, il Senatore Cappelli è una varietà antica di grano duro italiano che presenta caratteristiche nutrizionali più favorevoli, tra cui un maggior contenuto di fibre e micronutrienti e una ridotta contaminazione da pesticidi, come il glifosato [15-18].

Lo scopo del presente studio era di confrontare gli effetti della varietà di grano Senatore Cappelli con quelli di un prodotto di grano disponibile in commercio in soggetti con NCGS/ NCWS.

2. Metodologie

Pazienti

Sono stati selezionati tutti pazienti che hanno frequentato la clinica gastroenterologica della Fondazione Universitaria "A. Gemelli IRCCS da Marzo a Luglio 2018. I criteri di inclusione sono stati: età maggiore di 18 anni, diagnosi di NCGS secondo i criteri di Salerno, assenza di sintomi durante alimentazione senza glutine, aver seguito un'alimentazione senza glutine per almeno 12 settimane dallo screening. I criteri di esclusione sono stati: età pediatrica, diagnosi di celiachia o allergia al grano, gravidanza o allattamento al seno, comorbilità rilevanti (ad es. malattia infiammatoria intestinale, cirrosi epatica ecc.), impossibilità di aderire alle procedure di controllo del protocollo di studio. Tutti i soggetti iscritti hanno fornito il loro consenso informato per iscritto. Il protocollo di studio è stato approvato dal comitato etico della fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli" IRCCS.

Progettazione dello studio

Questo studio è stato progettato come un esperimento randomizzato cross over controllato in modalità doppio cieco. Nella fase preliminare, tutti i soggetti sono stati sottoposti a visita medica nutrizionale, durante la quale sono stati registrati i loro sintomi e le loro abitudini alimentari ed hanno ricevuto un piano alimentare da seguire per l'intero periodo di studio.

Successivamente, sono stati assegnati in maniera casuale ad uno dei seguenti gruppi di trattamento: (A) una dieta di due settimane con pasta ottenuta dalla varietà Senatore Cappelli; (B) una dieta di due settimane con pasta commerciale standard. In seguito al completamento di questo primo periodo, tutti i

soggetti sono tornati ad un'alimentazione senza glutine per un periodo di sospensione di due settimane. Quindi, ogni paziente si è trasferito all'altro gruppo di trattamento per altre due settimane. A tutti i soggetti è stato chiesto di compilare un questionario sintomatico giornaliero ed uno relativo al rispetto del regime alimentare per l'intero periodo di studio. Ai pazienti è stato chiesto di descrivere nel dettaglio qualsiasi altro cibo assunto al di fuori delle prescrizioni del programma alimentare e di riconsegnare le confezioni di pasta non consumate.

I sintomi gastrointestinali sono stati valutati dal partecipante che completato le schede del diario giornaliero utilizzando una versione modificata della scala di valutazione dei sintomi gastrointestinali (GSGS) adattata per pazienti NCGS (19). Questa scala include la valutazione dei sintomi intestinali come pure quelli extra-intestinali e possono essere assegnati fino a 10 punti per ciascun elemento su una scala analogica visiva (VAS)

Se i pazienti non erano in grado di continuare una dieta specifica a causa di manifestazioni di intolleranza, essi hanno interrotto il trattamento e la raccolta del punteggio relativo ai sintomi, sono stati sottoposti ad alimentazione senza di glutine fino al completamento del periodo ed hanno ricevuto il trattamento rimanente, ove necessario, dopo il periodo di sospensione.

I pazienti sono stati visitati dal team di gastroenterologia (G.I., G.R., M.N., M.V.M., A.G.) e dal team di dietologia (E.R., M.C.M.) all'inizio del progetto ed alla fine di ogni periodo di due settimane. Inoltre, i dietologi hanno seguito i pazienti settimanalmente tramite visite telefoniche per controllare la loro aderenza al regime alimentare.

Caratteristiche dell'alimento oggetto dello studio

Per ottenere la pasta oggetto della sperimentazione è stata utilizzata la varietà di grano duro (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) Senatore Cappelli. Come comparatore è stato utilizzato un tipo di pasta di semola standard disponibile in commercio, ottenuta da diverse varietà di cereali di origine italiana e di altri paesi europei ed extra europei e macinata in Italia. Entrambi i tipi di pasta sono stati forniti dalla Società Italiana Sementi (SIS) di Bologna, Italia. Ai pazienti era richiesto di consumare una quantità pari a 100 gr. di pasta al giorno. Le confezioni di entrambi i tipi di pasta erano identiche e non permettevano di riconoscerne il tipo. Le confezioni sono state spedite al nostro centro dalla SIS in contenitori diversi. Il team non bendato ha preparato i singoli pacchi di pasta etichettandoli. L'etichetta riportava il nome del ricercatore principale, il dipartimento affiliato e indicazioni generali su come preparare e conservare la pasta. Sull'etichetta, la lettera A o B permetteva al team non bendato di distinguere i due tipi di pasta. Né il ricercatore né i pazienti erano a conoscenza della associazione tra le lettere e il tipo di pasta. .

Esiti

L'obiettivo primario era la differenza nel punteggio complessivo dei sintomi, misurato su una scala analogica visiva, tra i due trattamenti.

Gli obiettivi secondari erano le differenze del punteggio di ogni singolo sintomo, misurati su una scala analogica visiva, alla fine di ogni periodo di trattamento, fra i due trattamenti..

Randomizzazione

La randomizzazione dei soggetti è stata eseguita da un membro del team non cieco. Il software generatore, fornito da www.sealedenvelope.com, ha generato blocchi permutati casuali, impostando una dimensione di blocco di 10 e un rapporto di allocazione uguale. L'elenco di randomizzazione è stato tenuto sigillato per i ricercatori fino alla fine dello studio; solo il team non cieco era autorizzato ad aprire la busta per assegnare le scatole di pasta corrette ai pazienti.

Analisi statistiche

Questo studio randomizzato controllato è stato concepito come una prova di fattibilità, in quanto non ci sono dati che suggeriscano quanto il consumo di pasta di Senatore Cappelli abbia modificato i punteggi dei sintomi rispetto alla pasta commerciale standard nei pazienti con NCGS. Seguendo studi simili precedenti [4,5], abbiamo deciso di iscrivere 21 pazienti per braccio di trattamento.

E' stata eseguita un'analisi per-protocollo. Solo i pazienti che hanno partecipato a entrambi i trattamenti di studio sono stati presi in considerazione per l'analisi. Il test del rango di Wilcoxon è stato utilizzato per confrontare i dati non parametrici. È stata applicata la correzione Bonferroni per confronti multipli. I valori p a due code <0.05 sono stati considerate statisticamente significativi. Le analisi

statistiche sono state eseguite con un calcolatore on-line (<http://www.graphpad.com/quickcalcs/>) e con Microsoft Excel per Mac (Microsoft Excel. Redmond, WA, USA: Microsoft, 2011).

3. Risultati

Popolazione di studio

Tra aprile 2018 e luglio 2018, 116 pazienti si sono rivolti al Centro Malattie dell'apparato digerente della Fondazione Policlinico "A. Gemelli" IRCCS e sono stati valutati per l'ammissibilità. Sono stati esclusi 74 soggetti per i seguenti motivi: 52 pazienti non soddisfacevano i criteri di inclusione, 16 pazienti erano inadeguatamente aderenti al regime alimentare senza glutine GFD nella fase preliminare e 16 pazienti non erano disposti a partecipare. I restanti 42 soggetti sono stati inclusi nello studio. Le loro caratteristiche demografiche e cliniche nella fase preliminare sono dettagliate nella Tabella 1.

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti nella fase preliminare.

| Caratteristiche | | |
|--|-----------|------------------|
| Sex, F (%) | | 24 (70.6%) |
| Età (media ± SD) | | 42.5 ± 13.4 anni |
| Anticorpi celiac sierici elevati (percentuale dei pazienti) | | |
| Transglutaminasi (IgA) | Tissutale | 0 |
| Transglutaminasi (IgG) | Tissutale | 0 |
| Endomisio (IgA) | | 0 |

Aderenza al trattamento di studio

Trentaquattro pazienti (81%) hanno ricevuto entrambi i trattamenti di studio, mentre otto pazienti (19%) hanno interrotto lo studio prematuramente a causa di sintomi di intolleranza e si sono rifiutati di assumere l'altro trattamento. Per quanto riguarda questi otto pazienti, cinque avevano preso la pasta commerciale standard e tre la pasta Senatore Cappelli. Tutti hanno abbandonato lo studio in media dopo tre giorni di consumo del primo trattamento alimentare.

Tra i 34 pazienti che hanno completato entrambi i trattamenti di studio, 30 hanno completato l'assunzione di due settimane della pasta di Senatore Cappelli e 25 hanno completato l'assunzione di due settimane di pasta commerciale standard. Tre pazienti hanno ritirato il consumo di pasta Senatore Cappelli dopo, rispettivamente, 4, 7 e 8 giorni di assunzione. Nove pazienti hanno smesso di mangiare la pasta commerciale standard dopo, rispettivamente, 1, 2, 4, 5, 7, 10, 10, 11 e 11 giorni di assunzione. Tutti i pazienti hanno aderito al programma alimentare prescritto durante lo studio. La durata complessiva del nostro studio era di cinque mesi (aprile-settembre 2018).

Effetti sui sintomi gastrointestinali ed extra-gastrointestinali

I pazienti hanno riportato punteggi significativamente più bassi dei sintomi generali e intestinali dopo aver mangiato pasta Senatore Cappelli rispetto alla pasta standard ($p = 0.03$ e $p = 0.02$, rispettivamente). I punteggi medi GSRS per i sintomi intestinali, extra-intestinali e generali sono riportati nella Figura 1.

La Figura 2 mostra i punteggi dei sintomi per ogni voce del questionario GSRS (i dati sono disponibili nella Tabella S1). I pazienti hanno sperimentato punteggi significativamente più bassi in diversi sintomi gastrointestinali ed extraintestinali specifici dopo aver mangiato pasta Senatore Cappelli rispetto alla pasta standard. In particolare, punteggi più bassi nel gonfiore (in media 3.99 vs. 2.26; $p = 0.04$), distensione addominale (in media 2.75 vs. 1.27; $p = 0.004$), eruttazione (in media 2.23 vs. 0.88; $p = 0.01$), flatulenza (in media 2.85 vs. 1.78; $p = 0.02$), e sensazione di evacuazione incompleta (in media 3.5 vs. 1.52; $p = 0.001$) sono stati segnalati dopo il consumo di pasta Senatore Cappelli rispetto alla pasta standard.

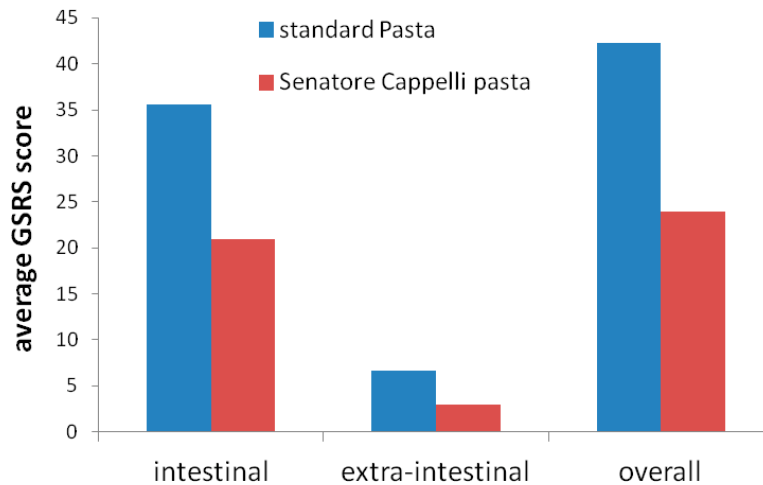


Figure 1. Punteggio medio della scala di valutazione del sintomo gastrointestinale (GPRS) per i sintomi intestinali, extra-intestinali e generali nei gruppi di pasta standard e Senatore Cappelli.

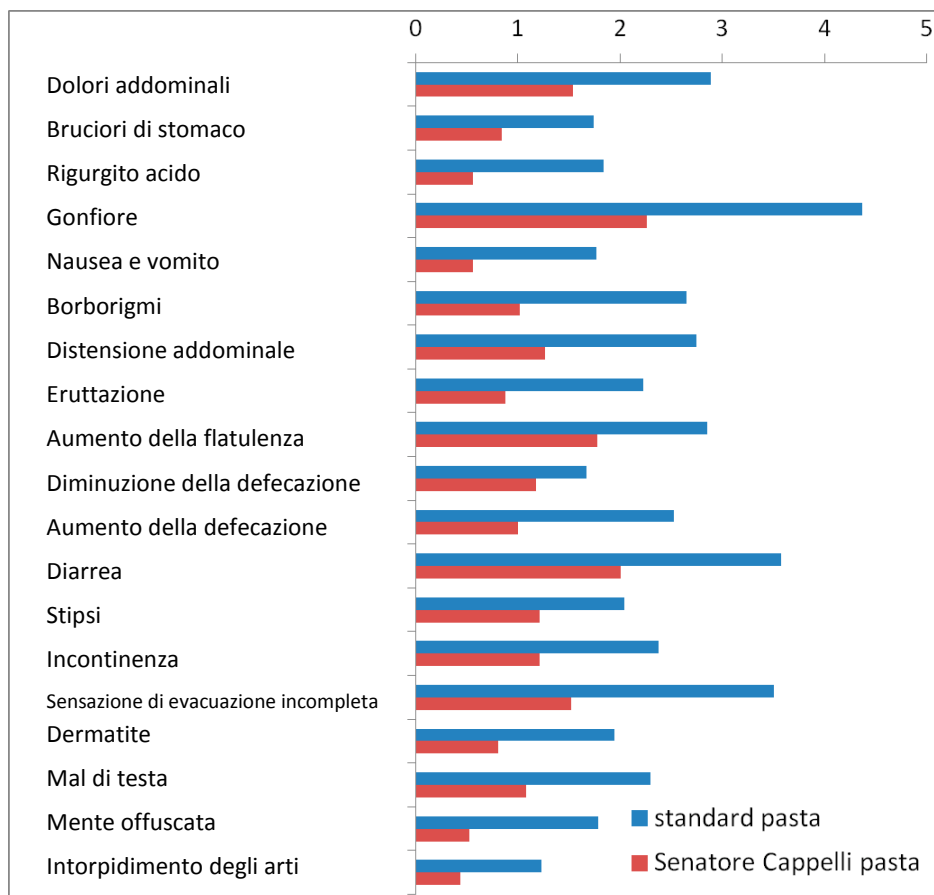


Figura 2. Punteggi per ogni elemento del questionario GSRS.

Allo stesso modo, i pazienti hanno avuto punteggi significativamente più bassi nei sintomi extra-intestinali, inclusa la dermatite (in media 1.94 vs. 0.81; $p = 0.01$) e intorpidimento degli arti (in media 1.23 vs. 0.44; $p = 0.03$) dopo aver mangiato pasta Senatore Cappelli rispetto alla pasta standard. Sebbene non statisticamente significativa, è stata osservata una tendenza verso punteggi più bassi, nel numero di evacuazioni ($p = 0.05$), nausea, vomito, borborigmi intestinali ($p = 0.06$), diarrea ($p = 0.07$), rigurgito acido e mal di testa ($p = 0.08$) dopo aver mangiato pasta Senatore Cappelli. Dopo la correzione di Bonferroni, è stata trovata una differenza significativa nella sensazione di evacuazione incompleta ($p = 0.019$) ed una tendenza alla riduzione della distensione addominale ($p = 0.076$).

Non sono stati segnalati eventi avversi in entrambi i bracci di trattamento.

4. Dibattito

Sebbene l'NCGS stia diventando sempre più popolare, la sua patogenesi è ancora poco conosciuta. Un consolidato corpus di conoscenze suggerisce che il glutine è il principale fattore scatenante alimentare per pazienti affetti da NCGS [19-21]

Tuttavia, recenti dimostrazioni hanno ridimensionato il ruolo del glutine nell'NCGS, dal momento che solo in una minoranza di pazienti si è riscontrata una recidiva dei sintomi dopo somministrazione in cieco di glutine [22]. Per questo motivo, si sospetta che altri componenti del frumento svolgano un ruolo nello sviluppo dei sintomi associati a NCGS, inclusi alfa amilasi e inibitori della tripsina [23], i carboidrati fermentabili, a catena corta scarsamente assorbibili (fermentabili, oligo-, di-, monosaccaridi e polioli (FODMAP) [5] e, più recentemente, i fruttani [8].

In questo studio clinico cross-over randomizzato in doppio cieco, abbiamo riscontrato che i pazienti affetti da NCGS hanno riportato punteggi più bassi sulla sintomatologia generale e su quella specifica extraintestinale e gastrointestinale dopo aver mangiato pasta fatta con varietà di grano Senatore Cappelli rispetto alla pasta standard ($p = 0.03$).

La varietà di grano Senatore Cappelli ha caratteristiche specifiche che potrebbero spiegare i punteggi inferiori relativi ai sintomi registrati dai pazienti. La varietà di grano duro Senatore Cappelli, derivata da una selezione di linee pure di un ecotipo di Jeann Rhetifah tunisino, è un'antica varietà di grano organico, mentre la pasta commerciale standard con cui è stata comparata, è una miscela di diversi grani coltivati a livello intensivo. La varietà Senatore Cappelli mostra quantità significativamente più elevate di metaboliti secondari, compresi isomeri polifenoli liberi e legati, rispetto ad altri grani [24]. Si è ipotizzato che, i drastici processi tecnologici applicati al grano, tra cui l'alta raffinazione, possano rendere i prodotti a base di grano meno digeribili attraverso la perdita dei composti antiossidanti e / o anti-infiammatori e quindi essere correlati ai sintomi della NCGS [25,26]. Inoltre, è stato dimostrato che le proprietà della varietà Senatore Cappelli sono meno influenzate dalle condizioni ambientali rispetto ad altre varietà e questo può avere effetto sul contenuto di gliadina e sul conseguente potenziale immunogenico [27]. Poiché entrambe le formulazioni di pasta includevano il glutine e la varietà Senatore Cappelli mostra un contenuto proteico più elevato nella cariosside (14-15% a peso secco) rispetto alle varietà più recenti, il nostro studio conferma dati precedenti che supportano il ruolo di altri componenti non glutinici nello sviluppo dei sintomi associati a NCGS. Come già suggerito da altri autori, il termine NCWS (sensibilità non celiaca al grano) sembra essere, quindi, più appropriato rispetto all'NCGS, poiché più di un singolo componente del grano è ragionevolmente implicato nello sviluppo dei sintomi associati alla malattia [28]

I nostri risultati suggeriscono anche che i pazienti con NCGS possono consumare una specifica varietà di grano duro, anche se con glutine, con diversi potenziali benefici tra cui l'eliminazione delle carenze nutrizionali e / o metaboliche [1], dello squilibrio del microbiota intestinale [14] e del costo elevato dei prodotti senza glutine. Tuttavia, il nostro studio non è stato progettato per valutare il microbiota e / o cambiamenti nutrizionali dopo il trattamento, né è stata eseguita un'analisi dei costi. Pertanto, sono necessari ulteriori studi specificamente progettati per valutare questi risultati.

Il nostro studio mostra diversi punti di forza. Innanzitutto, abbiamo applicato un progetto cross-over con un periodo di sospensione che riduce gli effetti del carry-over e dell'ordine ed è già stato utilizzato in studi precedenti simili [5,22,29,30]. Inoltre, come suggerisce la recente consensus conference di Salerno [31], abbiamo valutato i risultati attraverso una versione modificata del GSRS che, oltre ai sintomi gastrointestinali, include anche la valutazione dei sintomi extra-intestinali, che di solito sono presenti anche nell'NCGS [31,32].

Infine, è stata eseguita un'attenta valutazione nutrizionale, inclusa la valutazione relativa all'aderenza al regime alimentare da parte di esperti nutrizionisti in ogni fase di studio e a tutti i pazienti è stato assegnato un programma alimentare specifico per ridurre i fattori di confusione legati alla dieta.

Tuttavia, il nostro studio ha anche alcune limitazioni. La diagnosi di NCGS è stata eseguita applicando i criteri di Salerno e sono state escluse le allergie da celiachia e grano. La celiachia è stata esclusa sulla base della transglutaminasi negativa e degli anticorpi dell'endomisio in presenza di IgA sieriche totali normali, mentre i dati sullo stato di HLA e l'esame istologico duodenale non erano disponibili per tutti i pazienti. Inoltre, non è stata eseguita durante lo studio la valutazione periodica della sierologia della celiachia. Un'altra limitazione è l'assenza di punteggi relativi alla sintomatologia nella fase preliminare e dopo il periodo di sospensione, in quanto la presenza di sintomi durante queste due fasi dello studio potrebbe aver influenzato i risultati. Tuttavia, abbiamo incluso solo i pazienti con una diagnosi di NCGS che erano asintomatici nella fase preliminare, quando sottoposti ad alimentazione senza glutine. Infine, riconosciamo che si tratta di uno studio pilota, senza alcun calcolo della dimensione del campione, perché i dati sugli effetti della varietà di grano duro Senatore Cappelli sui sintomi correlati a NCGS non erano disponibili all'inizio dello studio. Tuttavia, abbiamo deciso di iscrivere 21 pazienti per braccio di trattamento, sulla base di precedenti studi simili [4,5]. Questi risultati consentiranno di progettare studi più ampi con una dimensione del campione appropriata.

In conclusione, nel nostro studio, i pazienti NCGS hanno riscontrato valori più bassi dei sintomi gastrointestinali ed extra-intestinali dopo aver mangiato la varietà di frumento Senatore Cappelli rispetto a un frumento commerciale standard. Se i nostri risultati preliminari dovessero essere confermati da ulteriori studi, potrebbero essere disponibili nuove alternative dietetiche per i pazienti NCGS, con conseguenti benefici sanitari, economici e sociali.

Materiali supplementari: Quanto segue è disponibile on-line <http://www.mdpi.com/2072-6643/11/4/712/s1>, Table S1: scores for each item of the GSRs questionnaire.

Contributi degli autori: Conceptualization, G.I., V.M., G.C., and A.G.; Data curation, G.I., G.R., M.N., M.V.M., E.R., C.F., A.L., and M.C.M.; Formal analysis, G.I., C.F., and A.L.; Investigation, G.R., M.N., M.V.M., and E.R.; Methodology, G.R., V.M., M.C.M., G.C., and A.G.; Project administration, V.M.; Supervision, G.I., S.B., M.C.M., G.C., and A.G.; Writing – original draft, G.I., G.R., S.B., G.C., and A.G.

Finanziamento: Questa ricerca non ha ricevuto finanziamenti esterni.

Conflitto di interessi: Gli autori dichiarano che non c'è conflitto d'interesse.

Riferimenti:

1. Elli, L.; Villalta, D.; Roncoroni, L.; Barisani, D.; Ferrero, S.; Pellegrini, N.; Bardella, M.T.; Valiante, F.; Tomba, C.; Carroccio, A.; et al. Nomenclature and diagnosis of gluten-related disorders: A position statement by the Italian Association of Hospital Gastroenterologists and Endoscopists (AIGO). *Dig. Liver Dis.* **2017**, *49*, 138–146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Catassi, C.; Bai, J.C.; Bonaz, B.; Bouma, G.; Calabro, A.; Carroccio, A.; Castillejo, G.; Ciacci, C.; Cristofori, F.; Dolinsek, J.; et al. Non-Celiac Gluten sensitivity: The new frontier of gluten related disorders. *Nutrients* **2013**, *5*, 3839–3853. [[CrossRef](#)]
3. Rubio-Tapia, A.; Hill, I.D.; Kelly, C.P.; Calderwood, A.H.; Murray, J.A.; American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: Diagnosis and management of celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.* **2013**, *108*, 656–676, quiz 677. [[CrossRef](#)]
4. Biesiekierski, J.R.; Newnham, E.D.; Irving, P.M.; Barrett, J.S.; Haines, M.; Doecke, J.D.; Shepherd, S.J.; Muir, J.G.; Gibson, P.R. Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: A double-blind randomized placebo-controlled trial. *Am. J. Gastroenterol.* **2011**, *106*, 508–514, quiz 515. [[CrossRef](#)]
5. Biesiekierski, J.R.; Peters, S.L.; Newnham, E.D.; Rosella, O.; Muir, J.G.; Gibson, P.R. No effects of gluten in patients with self-reported non-celiac gluten sensitivity after dietary reduction of fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates. *Gastroenterology* **2013**, *145*, 320–328.e3. [[CrossRef](#)]
6. Elli, L.; Tomba, C.; Branchi, F.; Roncoroni, L.; Lombardo, V.; Bardella, M.T.; Ferretti, F.; Conte, D.; Valiante, F.; Fini, L.; et al. Evidence for the Presence of Non-Celiac Gluten Sensitivity in Patients with Functional Gastrointestinal Symptoms: Results from a Multicenter Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Gluten Challenge. *Nutrients* **2016**, *8*, 84. [[CrossRef](#)]
7. Aziz, I.; Hadjivassiliou, M.; Sanders, D.S. The spectrum of noncoeliac gluten sensitivity. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2015**, *12*, 516–526. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Skodje, G.I.; Sarna, V.K.; Minelle, I.H.; Rolfsen, K.L.; Muir, J.G.; Gibson, P.R.; Veierod, M.B.; Henriksen, C.;

- Lundin, K.E.A. Fructan, Rather Than Gluten, Induces Symptoms in Patients With Self-Reported Non-Celiac Gluten Sensitivity. *Gastroenterology* **2018**, *154*, 529–539.e2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Priyanka, P.; Gayam, S.; Kupec, J.T. The Role of a Low Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides, and Polyol Diet in Nonceliac Gluten Sensitivity. *Gastroenterol. Res. Pract.* **2018**, *2018*, 1561476. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 10. Zevallos, V.F.; Raker, V.; Tenzer, S.; Jimenez-Calvente, C.; Ashfaq-Khan, M.; Russel, N.; Pickert, G.; Schild, H.; Steinbrink, K.; Schuppan, D. Nutritional Wheat Amylase-Trypsin Inhibitors Promote Intestinal Inflammation via Activation of Myeloid Cells. *Gastroenterology* **2017**, *152*, 1100–1113.e12. [[CrossRef](#)]
 11. Pinto-Sanchez, M.I.; Verdu, E.F. Non-coeliac gluten sensitivity: Are we closer to separating the wheat from the chaff? *Gut* **2016**, *65*, 1921–1922. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 12. Nijeboer, P.; Bontkes, H.J.; Mulder, C.J.; Bouma, G. Non-coeliac gluten sensitivity. Is it in the gluten or the grain? *J. Gastrointest. Liver Dis.* **2013**, *22*, 435–440.
 13. Carroccio, A.; Rini, G.; Mansueto, P. Non-coeliac wheat sensitivity is a more appropriate label than non-coeliac gluten sensitivity. *Gastroenterology* **2014**, *146*, 320–321. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 14. 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. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 15. Colomba, M.S.; Gregorini, A. Are ancient durum wheats less toxic to celiac patients? A study of alpha-gliadin from Graziella Ra and Kamut. *Sci. World J.* **2012**, *2012*, 837416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 16. Vu, L.D.; Verstraeten, I.; Stes, E.; Van Bel, M.; Coppens, F.; Gevaert, K.; De Smet, I. Proteome Profiling of Wheat Shoots from Different Cultivars. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 17. Padalino, L.; Mastromatteo, M.; Lecce, L.; Spinelli, S.; Conto, F.; Del Nobile, M.A. Effect of durum wheat cultivars on physico-chemical and sensory properties of spaghetti. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *94*, 2196–2204. [[CrossRef](#)]
 18. Prandi, B.; Tedeschi, T.; Folloni, S.; Galaverna, G.; Sforza, S. Peptides from gluten digestion: A comparison between old and modern wheat varieties. *Food Res. Int.* **2017**, *91*, 92–102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 19. Kabbani, T.A.; Vanga, R.R.; Leffler, D.A.; Villafuerte-Galvez, J.; Pallav, K.; Hansen, J.; Mukherjee, R.; Dennis, M.; Kelly, C.P. Celiac disease or non-coeliac gluten sensitivity? An approach to clinical differential diagnosis. *Am. J. Gastroenterol.* **2014**, *109*, 741–746, quiz 747. [[CrossRef](#)]
 20. Sapone, A.; Lammers, K.M.; Mazzarella, G.; Mikhailenko, I.; Carteni, M.; Casolaro, V.; Fasano, A. Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: Gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2010**, *152*, 75–80. [[CrossRef](#)]
 21. Carroccio, A.; Mansueto, P.; Iacono, G.; Soresi, M.; D'Alcamo, A.; Cavataio, F.; Brusca, I.; Florena, A.M.; Ambrosiano, G.; Seidita, A.; et al. Non-coeliac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: Exploring a new clinical entity. *Am. J. Gastroenterol.* **2012**, *107*, 1898–1906, quiz 1907. [[CrossRef](#)]
 22. Zanini, B.; Basche, R.; Ferraresi, A.; Ricci, C.; Lanzarotto, F.; Marullo, M.; Villanacci, V.; Hidalgo, A.; Lanzini, A. Randomised clinical study: Gluten challenge induces symptom recurrence in only a minority of patients who meet clinical criteria for non-coeliac gluten sensitivity. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2015**, *42*, 968–976. [[CrossRef](#)]
 23. Junker, Y.; Zeissig, S.; Kim, S.J.; Barisani, D.; Wieser, H.; Leffler, D.A.; Zevallos, V.; Libermann, T.A.; Dillon, S.; Freitag, T.L.; et al. Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* **2012**, *209*, 2395–2408. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 24. Dinelli, G.; Carretero, A.S.; Di Silvestro, R.; Marotti, I.; Fu, S.; Benedettelli, S.; Ghiselli, L.; Gutierrez, A.F. Determination of phenolic compounds in modern and old varieties of durum wheat using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 7229–7240. [[CrossRef](#)]
 25. Fardet, A. Wheat-based foods and non celiac gluten/wheat sensitivity: Is drastic processing the main key issue? *Med. Hypotheses* **2015**, *85*, 934–939. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 26. Kucek, L.K.; Veenstra, L.D.; Amnuaycheewa, P.; Sorrells, M.E. A Grounded Guide to Gluten: How Modern Genotypes and Processing Impact Wheat Sensitivity. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2015**. [[CrossRef](#)]
 27. Graziano, S.; Marando, S.; Prandi, B.; Boukid, F.; Marmioli, N.; Francia, E.; Pecchioni, N.; Sforza, S.; Visioli, G.; Gulli, M. Technological Quality and Nutritional Value of Two Durum Wheat Varieties Depend on Both Genetic and Environmental Factors. *J. Agric. Food Chem.* **2019**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 28. Dieterich, W.; Schuppan, D.; Schink, M.; Schwappacher, R.; Wirtz, S.; Agaimy, A.; Neurath, M.F.; Zopf, Y. Influence of low FODMAP and gluten-free diets on disease activity and intestinal microbiota in patients with non-coeliac gluten sensitivity. *Clin. Nutr.* **2018**. [[CrossRef](#)]
 29. Gibson, P.R.; Shepherd, S.J. Food choice as a key management strategy for functional gastrointestinal symptoms. *Am. J. Gastroenterol.* **2012**, *107*, 657–666, quiz 667. [[CrossRef](#)]

30. Welch, R.W.; Antoine, J.M.; Berta, J.L.; Bub, A.; de Vries, J.; Guarner, F.; Hasselwander, O.; Hendriks, H.; Jakel, M.; Koletzko, B.V.; et al. Guidelines for the design, conduct and reporting of human intervention studies to evaluate the health benefits of foods. *Br. J. Nutr.* **2011**, *106* (Suppl. 2), S3–S15. [[CrossRef](#)]
31. Catassi, C.; Elli, L.; Bonaz, B.; Bouma, G.; Carroccio, A.; Castillejo, G.; Cellier, C.; Cristofori, F.; de Magistris, L.; Dolinsek, J.; et al. Diagnosis of Non-Celiac Gluten Sensitivity (NCGS): The Salerno Experts' Criteria. *Nutrients* **2015**, *7*, 4966–4977. [[CrossRef](#)]
32. Kulich, K.R.; Madisch, A.; Pacini, F.; Pique, J.M.; Regula, J.; Van Rensburg, C.J.; Ujszaszy, L.; Carlsson, J.; Halling, K.; Wiklund, I.K. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: A six-country study. *Health Qual. Life Outcomes* **2008**, *6*, 12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license



33. Zevallos, V.F.; Raker, V.; Tenzer, S.; Jimenez-Calvente, C.; Ashfaq-Khan, M.; Russel, N.; Pickert, G.; Schild, H.; Steinbrink, K.; Schuppan, D. Nutritional Wheat Amylase-Trypsin Inhibitors Promote Intestinal Inflammation via Activation of Myeloid Cells. *Gastroenterology* **2017**, *152*, 1100–1113.e12. [[CrossRef](#)]
34. Pinto-Sanchez, M.I.; Verdu, E.F. Non-coeliac gluten sensitivity: Are we closer to separating the wheat from the chaff? *Gut* **2016**, *65*, 1921–1922. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Nijeboer, P.; Bontkes, H.J.; Mulder, C.J.; Bouma, G. Non-coeliac gluten sensitivity. Is it in the gluten or the grain? *J. Gastrointest. Liver Dis.* **2013**, *22*, 435–440.
36. Carroccio, A.; Rini, G.; Mansueto, P. Non-coeliac wheat sensitivity is a more appropriate label than non-coeliac gluten sensitivity. *Gastroenterology* **2014**, *146*, 320–321. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. 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. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Colomba, M.S.; Gregorini, A. Are ancient durum wheats less toxic to celiac patients? A study of alpha-gliadin from Graziella Ra and Kamut. *Sci. World J.* **2012**, *2012*, 837416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Vu, L.D.; Verstraeten, I.; Stes, E.; Van Bel, M.; Coppens, F.; Gevaert, K.; De Smet, I. Proteome Profiling of Wheat Shoots from Different Cultivars. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Padalino, L.; Mastromatteo, M.; Lecce, L.; Spinelli, S.; Conto, F.; Del Nobile, M.A. Effect of durum wheat cultivars on physico-chemical and sensory properties of spaghetti. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *94*, 2196–2204. [[CrossRef](#)]
41. Prandi, B.; Tedeschi, T.; Folloni, S.; Galaverna, G.; Sforza, S. Peptides from gluten digestion: A comparison between old and modern wheat varieties. *Food Res. Int.* **2017**, *91*, 92–102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Kabbani, T.A.; Vanga, R.R.; Leffler, D.A.; Villafuerte-Galvez, J.; Pallav, K.; Hansen, J.; Mukherjee, R.; Dennis, M.; Kelly, C.P. Celiac disease or non-coeliac gluten sensitivity? An approach to clinical differential diagnosis. *Am. J. Gastroenterol.* **2014**, *109*, 741–746, quiz 747. [[CrossRef](#)]
43. Sapone, A.; Lammers, K.M.; Mazzarella, G.; Mikhailenko, I.; Carteni, M.; Casolaro, V.; Fasano, A. Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: Gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2010**, *152*, 75–80. [[CrossRef](#)]
44. Carroccio, A.; Mansueto, P.; Iacono, G.; Soresi, M.; D'Alcamo, A.; Cavataio, F.; Brusca, I.; Florena, A.M.; Ambrosiano, G.; Seidita, A.; et al. Non-coeliac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: Exploring a new clinical entity. *Am. J. Gastroenterol.* **2012**, *107*, 1898–1906, quiz 1907. [[CrossRef](#)]
45. Zanini, B.; Basche, R.; Ferraresi, A.; Ricci, C.; Lanzarotto, F.; Marullo, M.; Villanacci, V.; Hidalgo, A.; Lanzini, A. Randomised clinical study: Gluten challenge induces symptom recurrence in only a minority of patients who meet clinical criteria for non-coeliac gluten sensitivity. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2015**, *42*, 968–976. [[CrossRef](#)]
46. Junker, Y.; Zeissig, S.; Kim, S.J.; Barisani, D.; Wieser, H.; Leffler, D.A.; Zevallos, V.; Libermann, T.A.; Dillon, S.; Freitag, T.L.; et al. Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* **2012**, *209*, 2395–2408. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Dinelli, G.; Carretero, A.S.; Di Silvestro, R.; Marotti, I.; Fu, S.; Benedettelli, S.; Ghiselli, L.; Gutierrez, A.F. Determination of phenolic compounds in modern and old varieties of durum wheat using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 7229–7240. [[CrossRef](#)]
48. Fardet, A. Wheat-based foods and non celiac gluten/wheat sensitivity: Is drastic processing the main key issue? *Med. Hypotheses* **2015**, *85*, 934–939. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Kucek, L.K.; Veenstra, L.D.; Amnuaycheewa, P.; Sorrells, M.E. A Grounded Guide to Gluten: How Modern Genotypes and Processing Impact Wheat Sensitivity. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2015**. [[CrossRef](#)]
50. Graziano, S.; Marando, S.; Prandi, B.; Boukid, F.; Marmiroli, N.; Francia, E.; Pecchioni, N.; Sforza, S.; Visioli, G.; Gulli, M. Technological Quality and Nutritional Value of Two Durum Wheat Varieties Depend on Both Genetic and Environmental Factors. *J. Agric. Food Chem.* **2019**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Dieterich, W.; Schuppan, D.; Schink, M.; Schwappacher, R.; Wirtz, S.; Agaimy, A.; Neurath, M.F.; Zopf, Y. Influence of low FODMAP and gluten-free diets on disease activity and intestinal microbiota in patients with non-coeliac gluten sensitivity. *Clin. Nutr.* **2018**. [[CrossRef](#)]
52. Gibson, P.R.; Shepherd, S.J. Food choice as a key management strategy for functional gastrointestinal symptoms. *Am. J. Gastroenterol.* **2012**, *107*, 657–666, quiz 667. [[CrossRef](#)]

53. Welch, R.W.; Antoine, J.M.; Berta, J.L.; Bub, A.; de Vries, J.; Guarner, F.; Hasselwander, O.; Hendriks, H.; Jakel, M.; Koletzko, B.V.; et al. Guidelines for the design, conduct and reporting of human intervention studies to evaluate the health benefits of foods. *Br. J. Nutr.* **2011**, *106* (Suppl. 2), S3–S15. [[CrossRef](#)]
54. Catassi, C.; Elli, L.; Bonaz, B.; Bouma, G.; Carroccio, A.; Castillejo, G.; Cellier, C.; Cristofori, F.; de Magistris, L.; Dolinsek, J.; et al. Diagnosis of Non-Celiac Gluten Sensitivity (NCGS): The Salerno Experts' Criteria. *Nutrients* **2015**, *7*, 4966–4977. [[CrossRef](#)]
55. Kulich, K.R.; Madisch, A.; Pacini, F.; Pique, J.M.; Regula, J.; Van Rensburg, C.J.; Ujszaszy, L.; Carlsson, J.; Halling, K.; Wiklund, I.K. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: A six-country study. *Health Qual. Life Outcomes* **2008**, *6*, 12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)



