

Utvrđivanje glutena ELISA metodom u bezglutenskim obrocima prikupljenim duplikat dijetom u djece na striktnoj bezglutenskoj dijeti

Šarin, Valentina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:183899>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, listopad 2021.

Valentina Šarin

**UTVRĐIVANJE GLUTENA ELISA
METODOM U BEZGLUTENSKIM
OBROCIMA PRIKUPLJENIM
DUPLIKAT DIJETOM U DJECE
NA STRIKTNOJ
BEZGLUTENSKOJ DIJETI**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i biokemiju hrane na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Martine Bituh.

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Martini Bituh koja je svojim iskustvom i znanjem omogućila, pomogla i uvelike pridonijela izradi ne samo ovog diplomskog rada već i mog završnog rada par godina ranije. Zahvaljujem joj na svakog utrošenoj minuti bilo provedenoj na kameri, u laboratoriju ili na bilo koji drugi način. Zahvaljujem joj na angažmanu, pristupačnosti, a ponajviše na strpljenju tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem udruzi CeliVita-Život s celijakijom na doprinosu i mogućnosti koju su mi pružili za izradu ovog rada. Posebno im se zahvaljujem radi angažmana oko prikupljanja ispitanika koji su ujedno svi članovi iste te udruge. Zahvaljujem se roditeljima svih ispitanika koji su pristali biti dio mog istraživanja.

Zahvaljujem svim prijateljima uključujući i sve kolege s kojima sam zajedno koračala kroz fakultetske dane i koji su omogućili da ovaj tren kao i svi studentski dani budu posebni i nezaboravljivi – Iva, Bruno, Marin, Popovac, Marinković, Kata, Vlatka, Luca, Josipa T, Petra, Marija, Josipa V.

Zahvaljujem Ivanu na svakodnevnoj potpori i ljubavi te neizmjernom strpljenju tijekom pisanja diplomskog rada.

Zahvaljujem roditeljima i mlađoj sestri Marthi na pruženom razumijevanju, podršci, povjerenju, a najviše ljubavi kroz cijeli tok studiranja. Posebno zahvaljujem mami koja me, iako nije više tu, čuva, sluša, voli i ostaje najveća podrška i na nebu kao što je bila i na zemlji. Još jedna posebna zahvala tati i seki na svakodnevnom trudu koji su ulagali kako ne bih osjetila rupu koja je nastala i kako bi uspjela u svim svojim naumima. Zahvaljujem i ostatku svoje šire i uže obitelji koji su bili tu za mene uvijek kad je trebalo – strini Nini, striki, baki, didu, teti, rođacima.

Na kraju zahvaljujem i sama sebi što sam unatoč svim životnim nedaćama dogurala do ovdje, znala sam da to mogu i da nisam sama!

Veliko hvala svima!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kemiju i biokemiju hrane

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

UTVRĐIVANJE GLUTENA ELISA METODOM U BEZGLUTENSKIM OBROCIMA
PRIKUPLJENIM DUPLIKAT DIJETOM U DJECE NA STRIKTNOJ BEZGLUTENSKOJ DIJETI

Valentina Šarin, univ. bacc. nutr.

0058208525

Sažetak: Striktna bezglutenska dijeta osnovni je tretman za liječenje celijakije. Unos glutena uzrokuje oštećenja crijevnih resica kod takvih osoba, do kojeg može doći i zbog nenamjernog unosa glutena zbog česte kontaminacije namirnica glutenom. Cilj ovog rada je bio utvrditi nalazi li se gluten u cjelodnevnom obrocima djece s celijakijom koja provode bezglutensku dijetu te kakva je kakvoća njihove prehrane s obzirom na nacionalne preporuke. Uz pomoć roditelja metodom duplikat dijetete prikupljeni su cjelodnevni bezglutenski obroci (n=16) za djecu (dobi 2-18 godina) tijekom 2 odabrana dana uz vođenje dnevnika prehrane. ELISA metodom određeno je kako nijedan analizirani cjelodnevni obrok nije sadržavao glutena više od limita kvantifikacije metode (< 5ppm). Analizom dnevnika prehrane utvrđeno je da je bezglutenska prehrana djece s celijakijom neuravnotežena. Nedovoljan unos prehrambenih vlakana utvrđen je kod 75% ispitanika, previsoki unos natrija kod 63% ispitanika, a dnevni energijski udio masti veći od preporuka u 50% ispitanika. Analizirani bezglutenski obroci sigurni su za konzumaciju djece oboljele od celijakije obzirom da ne sadrže gluten, no potrebno je dodatno educirati roditelje kako bi prehrana djece bila i nutritivno zadovoljavajuća.

Ključne riječi: *celijakija, prehrana djece, gluten, bezglutenska prehrana, kontaminacija*

Rad sadrži: 52 stranice, 8 slika, 3 tablice, 114 literaturnih navoda, 1 prilog

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: izv. prof. dr. sc. Martina Bituh

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Ines Panjkota Krbavčić (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Martina Bituh (mentor)
3. prof. dr. sc. Zvonimir Šatalić (član)
4. prof. dr. sc. Nada Vahčić (zamjenski član)

Datum obrane: 5. listopada 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Chemistry and Biochemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

DETERMINATION OF GLUTEN BY ELISA METHOD IN GLUTEN-FREE MEALS
COLLECTED BY DUPLICATE DIET IN CHILDREN ON A STRICT GLUTEN-FREE DIET

Valentina Šarin, univ. bacc. nutr.

0058208525

Abstract: A strict gluten-free diet is the basic treatment for the celiac disease. Gluten intake causes damage to the intestinal villi in such people. This kind of damage can occur because of the unintentional intake of gluten due to the increasing contamination of foods with gluten. The aim of this study was to determine whether gluten is found in whole-day meals of children with celiac disease on a gluten-free diet, and to determine the quality of their diet compared with national dietary recommendations. With the help of parents of the participants using the duplicate diet method, childrens (2-18 years) whole-day gluten-free meals (n=16) for 2 days combined with the food diary were collected. Using the ELISA method it was determined that none of the analyzed whole-day meals contained gluten more than the prescribed permissible levels (<5 ppm). The analyzed food diaries showed that the gluten-free diet of the children was unbalanced. Insufficient dietary fiber intake was found in 75% of subjects, high intake of sodium in 63% of subjects, and the daily energy content of fat higher than recommended in 50% of subjects. The analyzed gluten-free meals are safe for consumption by children with cealiac disease due to the minimal detected amount of gluten in them but it is necessary to further educate parents so that the diet of children becomes richer in nutrients.

Keywords: *celiac disease, childrens diet, gluten, gluten-free diet, glueten contamination*

Thesis contains: 52 pages, 8 figures, 3 table, 114 references, 1 supplement

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Martina Bituh, PhD, Associate professor

Reviewers:

1. Ines Panjkota Krbavčić, PhD, Full professor
2. Martina Bituh, PhD, Associate professor
3. Zvonimir Šatalić, PhD, Full professor
4. Nada Vahčić, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: 5 November 2021

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 2 |
| 2.1. PREHRANA U RANOJ FAZI RASTA I RAZVOJA | 2 |
| 2.2. GLUTEN | 4 |
| 2.3. CELIJAKIJA | 5 |
| 2.4. CELIJAKIJA KOD DJECE | 5 |
| 2.5. BEZGLUTENSKA DIJETA | 6 |
| 2.5.1. Zakonodavstvo | 6 |
| 2.5.2. Osnovna obilježja bezglutenske dijeta | 7 |
| 2.5.3. Makronutrijenti i mikronutrijenti kod bezglutenske dijeta..... | 8 |
| 2.5.4. Utjecaj bezglutenske dijeta na zdravlje | 10 |
| 2.6. BEZGLUTENSKI PROIZVODI | 11 |
| 2.7. DIJETOTERAPIJA CELIJAKIJE KOD DJECE | 12 |
| 2.8. KONTAMINACIJA BEZGLUTENSKE HRANE | 15 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 17 |
| 3.1. ISPITANICI I UZORCI | 17 |
| 3.1.1. Ispitanici | 17 |
| 3.2.2. Uzorci | 17 |
| 3.2.3. Kemikalije | 18 |
| 3.3. METODE RADA | 19 |
| 3.3.1. Opći upitnik..... | 19 |
| 3.3.2. Duplikat dijeta | 20 |
| 3.3.3. Dnevnik prehrane | 21 |
| 3.3.4. Određivanje suhe tvari..... | 21 |
| 3.3.5. ELISA metoda za određivanje glutena..... | 22 |
| 3.3.5.1. Priprema uzorka..... | 22 |
| 3.3.5.2. Ekstrakcija uzoraka | 22 |
| 3.3.5.3. Priprema testa | 23 |
| 3.3.5.4. Provođenje testa | 23 |
| 3.3.5.5. Očitavanje na čitaču i izrada baždarnog dijagrama..... | 24 |
| 3.3.6. Obrada rezultata | 24 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 25 |
| 4.1. OPĆI UPITNIK | 25 |
| 4.2. KAKVOĆA PREHRANE BEZ GLUTENA | 33 |
| 4.3. ODREĐIVANJE GLUTENA U CJELODNEVNIM UZORCIMA HRANE | 38 |
| 5. ZAKLJUČAK | 40 |

| | |
|----------------------------|-----------|
| 6. LITERATURA | 41 |
|----------------------------|-----------|

1. UVOD

Celijakija je autoimuni sistemski poremećaj nastao unosom glutena u osoba koje na njega imaju genetički predisponiranu osjetljivost (Fasano i Catassi, 2012). Celijakija je poznata još pod nazivom glutenska enteropatija. To je bolest koja kod takvih osoba uzrokuje oštećenje sluznice tankog crijeva kao posljedicu unosa glutena. Procjenjuje se kako, gledajući na svjetskoj razini, zahvaća 1 od 100 osoba (Celiac Disease Foundation, 2018). Gluten je protein koji se prirodno nalazi u pšenici, raži i ječmu, a unosom tih žitarica ili namirnica koje ih sadrže dolazi do imunološkog odgovora. Do oštećenja dolazi na vilima odnosno mikrovilima koji su zaslužni za apsorpciju hranjivih tvari u tankom crijevu, a njihovim oštećenjem se apsorptivna površina tankog crijeva smanjuje (Celiac Disease Foundation, 2018). Celijakija je nasljedna bolest koja se može razviti u bilo kojoj životnoj dobi, a trenutno je jedini tretman za ovu bolest stroga i doživotna bezglutenska prehrana koja uključuje izbjegavanje bilo kakve hrane koja sadrži gluten. S druge strane izbacivanjem hrane koja sadrži gluten i većom konzumacijom procesirane hrane može doći do neadekvatnog unosa hranjivih tvari poput smanjenog unosa prehrambenih vlakana, te prevelikog unosa masti i dodanog šećera (Suárez-González i sur., 2021). Otkrivanje celijakije na vrijeme kao i provođenje bezglutenske dijeta je osobito važno kod djece s obzirom na to da je to ključno razdoblje za njihov rast i razvoj. S jedne strane smanjenje apsorptivne površine tankog crijeva u djece s celijakijom nastavkom unosa glutena uzrokuje daljnje smanjenje apsorpcije raznih nutrijenata, ali i izbjegavanje unosa namirnica s glutenom može smanjiti unos nutrijenata potrebnih za razvoj djece. Time deficiti koje nosi bezglutenska prehrana, ali i kasno otkrivanje i tretman celijakije stvaraju brojne izazove koje mogu imati posljedice na razvoj djece. Kontaminacija namirnica koje su deklarirane kao bez glutena ili samih namirnica koje su prirodno bez glutena sve je češća što nam ukazuje na to da je strogu bezglutensku dijetu teško održavati. Kontaminacija tih namirnica stvara problem zato što već sam gluten u tragovima (>10 mg/dan) može uzrokovati probleme kod osoba s celijakijom (Montachesi i sur., 2021). Izloženost glutenu prilikom provođenja bezglutenske dijeta je nešto što je postalo uobičajeno i uglavnom je „neprimjetno“ što pokazuje koliko je teško ovu dijetu održavati (Silvester i sur., 2020).

Stoga je cilj ovog istraživanja bio ELISA metodom utvrditi jesu li cjelodnevni bezglutenski obroci za djecu, prikupljeni metodom duplikat dijeta, koja se pridržavaju stroge bezglutenske dijeta, kontaminirani glutenom. U ovom radu ispitano je i stajalište roditelja prema prehrani svoje djece kao i njihova uključenost u istu, te kakvoća same bezglutenske prehrane.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PREHRANA U RANOJ FAZI RASTA I RAZVOJA

Ključ za pravilan rast i razvoj djece i adolescenata nalazi se u održavanju pravilne, optimalne prehrane od najranijih dana. Adekvatan unos makronutrijenata (ugljikohidrata, masti i proteina vlakana itd) i mikronutrijenata (vitamina, mineralnih tvari) na dnevnoj bazi esencijalan je za očuvanje zdravlja (Alebić, 2008). Neadekvatna prehrana uz nedovoljnu tjelesnu aktivnost povećava rizik od raznih komorbiditeta kao dijabetes tip 2, dislipidemija, kardiovaskularne bolesti itd. (HHS/USDA, 2005). Ulogu u održavanju pravilne prehrane djece imaju prvenstveno roditelji. Kako bi se osigurao pravilan rast i razvoj postoje prehrambene smjernice koje su osnovni putokaz za to ostvariti i olakšati roditeljima. One bi trebale osigurati sve potrebno za rast, razvoj i održavanje zdravlja. Osnova prehrambenih smjernica počiva na tome kako je važno da izvor nutrijenata bude iz hrane, da je hrana pripremljena adekvatno te da mora biti uravnotežena i raznolika. Prema prehrambenim smjericama potrebno je povećati unos cjelovitih žitarica, smanjiti unos zasićenih masnih kiselina kao i transmasnih kiselina, paziti na odabir kvalitetnih izvora masti. Dnevni unos voća i povrća bi trebao biti 3-5 serviranja dnevno dok je to za mlijeko i mliječne proizvode 2-3 serviranja dnevno, ovisno o dobi djeteta (USDA, 2020). Dnevne energijske potrebe u razdoblju rasta i razvoja jako je važno pratiti, a ovise o fiziološkim potrebama, tjelesnoj aktivnosti, dobi, spolu, tjelesnoj masi i visini. Premalo ili previše energije djecu u toj dobi može zdravstveno ugrožavati (pretilost, pothranjenost). Makronutrijenti su potrebni za izgradnju tijela i osiguravaju energiju dok mikronutrijenti, ujedno neophodni za pravilan rast i razvoj djeteta, se unose u puno manjim količinama i nisu izvor energije, ali imaju brojne fiziološke i metaboličke funkcije. Najvažniji izvor energije predstavljaju ugljikohidrati, a naglasak je na unos cjelovitih žitarica i hrane bogate vlaknima i škrobom. Unos ugljikohidrata kod djece osnovnoškolske dobi (7 – 18 godina) bi trebao biti > 50 % dnevnog energijskog unosa (Capak i sur., 2013). Dodane šećere, gazirana slatka pića i sl. je potrebno izbjegavati. Vlakna pospješuju probavu, čuvaju probavni trakt i sprječavaju nastanak bolesti. Unos vlakana kod djece osnovnoškolske dobi bi trebao biti >10 g/1000 kcal (Capak i sur., 2013). Proteini su osnovni gradivni elementi mišića, kostiju, kože i ostalih tkiva i organa te opskrbljuju organizam aminokiselinama. Preporučuje se unos proteina kod djece osnovnoškolske dobi od 10-15 % dnevnog energijskog unosa (Capak i sur., 2013). Masti su izvor energije, važni su za apsorpciju određenih nutrijenata, a naglasak je na korištenje maslinovog ulja kao osnovni izvor masnih kiselina i to radi svog bogatstva nezasićenim masnim

kiselinama. Preporuke za unos masti kod djece osnovnoškolske dobi su 30-35 % dnevnog energijskog unosa (Capak i sur., 2013). U fazi rasta i razvoja djece potrebe za mikronutrijentima koji imaju važnu ulogu u svakodnevnom funkcioniranju organizma i zdravlju istoga su povećane. Naročito su povećane potrebe za željezom, cinkom, kalcijem i vitaminom D. U usporedbi s makronutrijentima potrebe za mikronutrijentima su daleko manje, ali to im ne umanjuje važnost. Njihov dugoročan nedovoljan unos dovodi do različitih poremećaja kao anemija, rahitis itd. Vitamini i mineralne tvari za kojima su povećane potrebe u fazi rasta i razvoja su vitamina A i beta-karoteni (žumanjak, mrkva, paprike), vitamini C (voće i povrće), E (orašasti plodovi), folna kiselina (zeleno lisnato povrće, jaja, riba), kalcij (mlijeko i mliječni proizvodi, tamno zeleno povrće), željezo (meso, mahunarke), jod (morski plodovi, morska sol, jogurt), cink (špinat, jogurt, mlijeko). Za normalnu funkciju organizma potreban je i stalan sadržaj vode koji se održava unosom iste u organizam bilo hranom ili pićem. Preporuka za djecu je oko 1,5 mL/kcal (Capak i sur., 2013). Porastom dobi raste i potreba za vodom kao i povećanjem tjelesne aktivnosti. Nedovoljan unos tekućine može utjecati na tjelesne i mentalne sposobnosti djeteta (Capak i sur., 2013). Prehrana u ranoj fazi života djetetu mora osigurati sve elemente za rast i razvoj, a osigurava se unosom hrane iz osnovnih skupina – žitarice, voće, povrće, mlijeko i mliječni proizvodi, meso i riba, masnoće (Alebić, 2008). Žitarice su izvor prehrambenih vlakana, esencijalnih masnih kiselina, antioksidansa, vitamina i mineralnih tvari, a preporuka je da se unose cjelovite žitarice s obzirom na to da je većina aktivnih tvari u ljusci i klici. Voće i povrće osim niske energijske vrijednosti ima i nizak udio proteina i masti te je bogato vlaknima, vitaminima K i C, vitaminom A i E itd. Skupina mlijeka je osobito važan izvor kalcija i vitamina D, fosfora, magnezija, cinka. Skupina mesa osigurava visokovrijedne proteine odnosno esencijalne masne kiseline koje su bitne za izgradnju tijela tijekom rasta i razvoja i vitamine B skupine. Kao dobar izvor masnih kiselina navodi se maslinovo ulje sa svojim antioksidativnim djelovanjem (Alebić, 2008). Studije su pokazale kako prehrana majke i unos folne kiseline ima velik utjecaj na pojavu raka kod djece, ali kako prehrana ima utjecaj i na mnoge komponente pedijatrijskih onkoloških bolesnika te da utječe na morbiditet i potencijalno na mortalitet. Mortalitet i morbiditet se povezuju s pretilošću i pothranjenošću kod onkoloških bolesnika odnosno malnutricijom koja ne dovodi samo do ovog stanja već i do drugih stanja kao kardiovaskularne bolesti, dijabetes tip 2, metabolički sindrom (Rogers, 2015). Pretilost koja nastaje unosom prevelike količine kalorija, unosom hrane bogate šećerom, mastima i soli, premalim unosom voća i povrća, manjkom tjelesne aktivnosti u dječjoj dobi dovodi do niza kroničnih bolesti u odrasloj dobi. Iz ovih razloga je edukacija i roditelja i djece

potrebna od ranijeg doba kako bi progresivno učila o pravilnim navikama kroz svoj rast i razvoj i te navike zadržala u odrasloj dobi (Ahuja, 2016).

2.2. GLUTEN

Pšenica, žitarica koja se koristi u velikim količinama na svjetskoj razini, sadrži 8 %-15 % proteina, a od toga gotovo 90 % čini sam gluten (Wieser, 2007). Pod nazivom pšenica se podrazumijevaju sve vrste *Triticum* vrsta pšenice (Pravilnik, 2010). Važnost pšenice kao hrane je njena nutritivna vrijednost, ali i dugotrajnost (Biesiekierski, 2017). Procijenjeno je da je zapadnjačkom prehranom unos glutena od 5 do 20 g na dan (Hoppe i sur., 2015). Gluten se definira kao mješavina proteina od čega glavčinu čine prolamin i glijadin koji su netopljivi u vodi, ali ih je moguće ekstrahirati etanolom (Wieser, 2007). Glijadin je glavna komponenta koja pridonosi otežanoj probavi radi visokih razina prolina i glutamina (aminokiselina) i manjka proteaza koje bi trebale te proteine razgraditi. Glijadin se u tom slučaju ne može degradirati u debelom crijevu te rezidue istoga vode do imunosne reakcije kod celijakije (Hausch i sur., 2002). Hidrofobni prolin u glijadinu omogućava viskoznost tijesta kao i njegovo dizanje. S druge strane glutenin je polimerni protein zaslužan za elastičnost i čvrstoću tijesta (Kucek i sur., 2015). Proteini slični glijadinu iz pšenice se nalaze i u ostalim žitaricama. Prema Codex Alimentariusu gluten se definira kao proteinska frakcija iz pšenice, raži, zobi, ječma ili njihovih križanih varijanti i derivata na koje su neki ljudi netolerantni i netopljiv je u vodi i 0,5M natrijevom kloridu (Codex Alimentarius, 2008). Tako se u raži nalazi sekalin, u zobi avenin i hordein u ječmu i na njih se referiramo kao na gluten. Gluten, bilo u pšenici, raži, zobi ili ječmu, je glavni okidač za pokretanje celijakije i pojavu simptoma koju ta bolest nosi. Osim pšenice, raži, ječma i zobi i proizvoda na bazi ovih žitarica gluten pronalazimo i u manje očitim izvorima koji ne sadrže gluten prirodno. Ti izvori su procesirana hrana kao procesirano meso, zamjene za meso namijenjene za vegetarijance, sladoled, umaci, dresinzi itd. (Biesiekierski, 2017). Gluten ima jedinstvene reološke značajke zahvaljujući kovalentnim i nekovalentnim vezama između proteina glutena. Značajke glutena kao poboljšanje viskoznosti, elastičnosti, snaga i rastezljivost tijesta ovisi o omjeru glutenina i glijadina (Wieser, 2007). Gluten je stabilan pri visokim temperaturama. Koristi se za poboljšanje teksture, ali i okusa te utječe na retenciju vlage. Gluten se ekstrahira iz pšenice te se koristi za poboljšanje strukture pekarskih proizvoda i proizvoda kao tjestenina, keksi, kolači itd. Različiti genotipi pšenice stvaraju različite tipove glutena, a na to utječu i uvjeti i okolina u kojoj raste i uzgaja se (Kucek i sur., 2015).

2.3. CELIJAKIJA

Celijakija je genetički predisponirana, multiorganska, kronična autoimuna bolest koja utječe na tanko crijevo unosom glutena. Unos glutena rezultira napadom imunskog sustava na tanko crijevo (Al-Toma i sur., 2019). Osobe kojima roditelj, brat, sestra ili dijete, dakle najbliža rodbina, imaju celijakiju imaju 10 % rizika za razvijanje celijakije (Celiac Disease Foundation, 2018). Celijakija je jedan od najčešćih uzroka raznih kroničnih malapsorpcija. Razlozi tome su smanjenje apsorptivne površine tankog crijeva unosom glutena, smanjenje broja enzima koji razgrađuju nutrijente, a ovim se smanjuje mogućnost apsorpcije vitamina topljivih u masti, folne kiseline, vitamina B₁₂ itd. (Rubio-Tapia i sur., 2013). Bitne karakteristike bolesti su da je to doživotna nepodnošljivost glutena, oštećenje sluznice tankog crijeva, bilo morfološko ili funkcijsko, različitog intenziteta kao i širok spektar simptoma ove bolesti (Votava-Raić i sur., 2006). Simptomi su proljev, smanjena apsorpcija nutrijenata koja vodi do gubitka tjelesne mase i malnutricije te do nadimanja i abdominalne boli, pojava plinova, povišeni jetreni enzimi, osteoporoza itd. (Rubio-Tapia i sur., 2013). Navedena oštećenja, odnosno klinički i histološki znakovi bolesti mogu nestati uklanjanjem glavnog uzroka nastanka bolesti, glutena, ali ponovno vraćanje istoga uzrokuje vraćanje histoloških promjena, a ne nužno i kliničkih simptoma (Votava-Raić i sur., 2006). Osobe s celijakijom imaju 2 puta veći rizik od obolijevanja od koronarnih bolesti i čak 4 puta veći rizik od razvoja karcinoma tankog crijeva. Celijakija koja nije otkrivena i netretirana vodi do razvitka raznih autoimunih bolesti kao multipla skleroza, dijabetes, anemija, niski rast, migrene, epilepsija itd. Rana dijagnoza smanjuje vjerojatnost razvitka gore navedenih bolesti (Celiac Disease Foundation, 2018). Prevalencija celijakije sve više raste s godinama, ali rastu i mogućnosti bolje dijagnoze sa sve boljim alatima i *screening* testovima. Unatoč tome jako velik broj pacijenata je neotkriven. Celijakija može zahvaćati sve dobne skupine, a više od 70 % novootkrivenih pacijenata ima više od 20 godina te su potencijalno celijakiju imali od djetinjstva, ali ju nisu otkrili (Al-Toma i sur., 2019).

2.4. CELIJAKIJA KOD DJECE

Od iznimne je važnosti testirati djecu odmah na prve znakove bolesti, a pogotovo ako je celijakija ranije bila prisutna u obitelji. Što djeca postaju starija to se sve češće javljaju atipične manifestacije bolesti. Kod dojenčadi i male djece pojavljuju se simptomi kao povraćanje,

nadutost, spori rast, proljev, malnutricija. Kod djece školske dobi smanjuje se povraćanje, a javljaju se simptomi kao konstipacija, abdominalna bol, problemi s dobivanjem i gubljenjem tjelesne mase. Kod tinejdžera javlja se zakašnjeli pubertet, gubitak tjelesne mase, bol u kostima, kronični umor, dermatitis herpetiformis itd. Također se pojavljuju česte promjene raspoloženja kao i napadaji panike (Celiac Disease Foundation, 2018). Jaka malnutricija, nutritivni deficiti i stanja kao rahitis pojavljuju se u slučajevima prekasnog otkrivanja celijakije kod djece. Moguća je i pojava „celijakičnih kriza“ koje uključuju eksplozivne vodene proljeve, dehidraciju, hipotenziju, ali i abnormalnosti elektrolita kao npr. hipokalemija. Danas je kod djece najčešće slučaj da se celijakija pojavljuje u nešto starijoj dobi, s nespecifičnim simptomima i nešto lakšim gastrointestinalnim simptomima kao abdominalna bol, periodični proljevi, usporen rast i konstipacija. Stanja povezana s celijakijom kod djece su dijabetes tip 1, Downov sindrom, autoimuni tireoiditis, Turnerov sindrom, Williamov sindrom. Djeca s celijakijom imaju povećanu prevalenciju autoimunih tiroidnih bolesti te oko 2 % djece s celijakijom imaju deficijenciju IgA. Preporuka za dijagnozu celijakije kod djece su provođenje serološkog testa, ali i intestinalna biopsija kao i probno razdoblje stavljanja djeteta na bezglutensku prehranu. Rizici kod djece s celijakijom koja se ne tretira su porast morbiditeta i mortaliteta, povećava se rizik od pojave ne-Hodgkinova limfoma u tankom crijevu, osteopenija (1-godišnjim tretmanom bezglutenskom dijetom je rješiva), zakašnjeli pubertet, neplodnost, spontani pobačaji. Osnovni tretman celijakije kod djece je striktna bezglutenska dijeta (Rodrigues i Jenkins, 2006).

2.5. BEZGLUTENSKA DIJETA

2.5.1. Zakonodavstvo

Codex Alimentariusom iz 2013-te godine izdan je standard za hranu koja je za posebnu upotrebu za osobe koje ne toleriraju gluten. Takva hrana sastavni je dio bezglutenske dijeta. Smatra se da je bezglutenska namirnica ona namirnica koja ne sadrži prirodno gluten te ona koja je procesirana, formulirana ili pripremljena tako da zadovoljava osnovne potrebe ljudi koji ne mogu gluten tolerirati.

Na temelju Pravilnika o hrani bez glutena iz 2010. popisana je sastav i označavanje hrane bez glutena kako bi bila sigurna za konzumaciju osoba s intolerancijom na gluten. Ako hrana koja je namijenjena osobama intolerantnim na gluten sadrži gluten koji je došao iz pšenice, raži, ječma, zobi ili njihovih hibrida ne smije sadržavati više od 100 mg/kg glutena u gotovom

proizvodu (Pravilnik, 2010). Takva hrana se označava s „vrlo mali sadržaj glutena“. Ako je količina glutena u gotovom proizvodu manja od 20 mg/kg ona se označava kao „bez glutena“ (Pravilnik, 2010). Da bi osobe intolerantne na gluten mogle konzumirati zob on se mora posebno proizvoditi i prerađivati kako bi se spriječila kontaminacija pšenicom, raži, ječmom te količina glutena mora biti manja od 20 mg/kg (Pravilnik, 2010).

2.5.2. Osnovna obilježja bezglutenske dijete

Bezglutenska dijeta je zasad „jedini lijek“ za osobe oboljele od celijakije. Trenutno ne postoji nijedan lijek koji bi mogao zaustaviti oštećenje mukoze tankog crijeva uzrokovano glutenom. Za pacijente je iznimno važna edukacija kako bi bili informirani što uopće mogu konzumirati stoga je za osobe oboljele od celijakije bitno da razvoj njihove bolesti prati i stručnjak (Simpson i Thompson, 2012). Eliminiranjem hrane koja sadrži gluten elimineramo i hranu koja je bogata vlaknima, željezom, vitaminima B skupine itd., a to može dovesti do nutritivnih deficita (Ohlund i sur., 2010; Mariani i sur., 1998). Nutricionist je zadužen za uspostavu nutritivne dijagnoze i plana nutritivne intervencije. Zadužen je procijeniti unos nutrijenata i hrane pacijenata što uključuje unos makronutrijenata i mikronutrijenata, specifično vitamina D, B, kalcija, željeza, korištene suplemente u prethodnoj prehrani, znanje i stavove pojedinaca o ovoj temi. Potrebno je svakom pacijentu napraviti vitaminski, mineralni, lipidni, renalni, anemijski i gastrointestinalni profil kako bi se procijenio rizik od malnutricije (Celiac Disease Guideline, 2009). Osim što nutricionist ima zadatak procijeniti štetnost odnosno korist bezglutenske prehrane kod oboljelih dužan je osobu motivirati, pratiti simptome bolesti i barijere kod držanja same bezglutenske dijete (Simpson i Thompson, 2012). Osnova ove dijete je izbjegavanje unosa žitarica kao pšenicu, ječam, raž i bilo kakvih proizvoda koji sadrže pšenicu, raž, ječam itd. (Al-Toma i sur., 2019). Već ranije spomenuta zob sigurna je za konzumaciju kod nekih pacijenata samo ako je proizvedena u izoliranim uvjetima i nekontaminirana (Pravilnik, 2010). S druge strane učinak bezglutenske dijete vidljiv je u smanjenju samih simptoma bolesti i popravku već načinjene štete na tankom crijevu. Izbjegavanjem ovog tretmana oboljele osobe riskiraju pojavu raznih pridruženih bolesti. Bolje rečeno, osoba koja ima celijakiju, bilo odrasla ili dijete, a provodi bezglutensku dijetu ima manji morbiditet i mortalitet (West i sur., 2004). Iako je to jedini lijek za oboljele od celijakije, ljudi su sve češće počeli prelaziti na bezglutensku dijetu bez medicinske osnove za to, a time ugrožavati svoj nutritivni status i zdravlje. U tom slučaju se zdrave osobe izlažu potencijalnom manjku vlakana, kalcija, brojnih vitamina, povećanom

unosu masti itd. Očito je da prelazak na bezglutensku dijetu ne dolazi bez nekakvog rizika (Diaz-Sampedro i sur., 2019). Kroz bezglutensku dijetu preporuke za pacijente su unos cjelovitih ili obogaćenih bezglutenskih žitarica kao smeđa riža, kvinoja, amarant itd. Ako se preporučeni dnevni unos nutrijenata ne može postići hranom tek onda se prelazi na dodatke prehrani. Pacijente je potrebno i educirati o mogućoj križnoj kontaminaciji prilikom pripreme bezglutenske hrane, ali i moguće kontaminacije tijekom proizvodnje hrane (Celiac Disease Guideline, 2009). Osobe na bezglutenskoj prehrani mogu jesti svu hranu koja je prirodno bez glutena odnosno meso, ribu, voće, povrće, rižu, krumpir itd. Mogu konzumirati i hranu koja je procesirana, ali onda kad je deklarirana kao bezglutenska, a time i sigurna za njih. Oboljelima je dopušteno konzumirati razne voćne sokove, vina, likere, gazirana pića itd. No problem se javlja kod pića koja mogu sadržavati gluten poput piva obzirom na to da se rade uz pomoć ječmenog ili pšeničnog slada. U zamjenu za ječmeno ili pšenično pivo na tržištu danas postoji i bez glutena (Coeliac UK, 2021).

Obično se preporučuje pacijentima da se koristi različiti kuhinjski pribor i kuhinjske podloge u kućanstvu kad se priprema bezglutenska hrana, osobito ako jedini konzumiraju bezglutensku prehranu. Ako se pribor i podloga čiste nakon upotrebe primjena drugog posuđa i površina nije potrebna (Al-Toma i sur., 2019).

2.5.3. Makronutrijenti i mikronutrijenti kod bezglutenske dijetе

Pridržavanje bezglutenske dijetе u osoba s celijakijom vodi do bolje apsorpcije nekih nutrijenata, ali ima i svoja ograničenja. Nutritivni deficiti koji se ispoljavaju kod celijakije mogu biti posljedica bolesti i/ili posljedica pridržavanja bezglutenske dijetе, a ti deficiti se pojavljuju kod 20-38 % pacijenata (Nestares i sur., 2020). Manjak mineralnih tvari se pokazuje kod pacijenata s tipičnom, ali i atipičnom celijakijom, te se kod oba slučaja daje preporuka za unos tih mikronutrijenata u formi dodataka prehrani (Botero-Lopez i sur., 2011). Kod pacijenata s celijakijom (netretiranom) se često javlja manjak željeza. Taj manjak je nadoknativ konzumiranjem hrane koja je bogata željezom kao i striktnom bezglutenskom dijetom (Al-Toma i sur., 2019). Istraživanja su pokazala da su za postizanje normalnih hematoloških vrijednosti ipak potrebni suplementi željeza (Academy of Nutrition and Dietetics, 2021). Pacijenti s netretiranom celijakijom također imaju manjak folata, a često se taj manjak nadoknađuje dodacima prehrani. Kod osoba s celijakijom vidljiv je i deficit vitamina B₁₂ koji je nadoknativ kroz bezglutensku dijetu, ali je preporuka da se taj problem riješi dodacima

prehrani. Manjak folata i vitamina B₁₂ vezan je uz povišene razine homocisteina, a time i rizik od kardiovaskularnih bolesti (Melini i Melini, 2019). Folat je važan kod trudnica i za razvoj fetusa stoga bi trudnice oboljele od celijakije trebale osobito pripaziti na manjak ovog vitamina (Welstead, 2015). S Obzirom na malapsorpciju masti kod osoba s celijakijom smanjena je apsorpcija i vitamina D. Preporuka za svaku novodijagnosticiranu osobu je da se testira ima li deficite koji su česti kod oboljelih, a to su već gore navedeni deficiti folne kiseline i željeza (Tikkakoski i sur., 2007; Howard i sur., 2002), vitamina B₁₂ (Dickey, 2002) i bakra (Halfdarson i sur., 2009). Razine selena i magnezija su niže kod osoba oboljelih od celijakije nego kod zdravih osoba (Melini i Melini, 2019). Kod osoba s celijakijom se javlja i manjak cinka koji može dovesti do usporavanja rasta kod djece. Manjak cinka je kod osoba s celijakijom nadoknativ pridržavanjem bezglutenske dijete (Al-Toma i sur., 2019). Istraživanja su pokazala kako osobe koje se pridržavaju bezglutenske dijete uglavnom imaju nedovoljan unos ugljikohidrata, niacina, kalcija, fosfora i vlakana (Academy of Nutrition and Dietetics, 2021). Unos vlakana je uglavnom nizak kod osoba s celijakijom što lako vodi do konstipacije. Pacijente bi se trebalo educirati o tome da povećaju unos npr. riže i krumpira koji su bogati vlaknima. Pokazalo se da djeca s celijakijom u većoj mjeri unose jednostavne šećere, masti i proteine kao i da imaju veći energijski unos nego zdrava djeca (Al-Toma i sur., 2019). Hallert i sur. (2002) pokazali su kako gotovo pola njihovih ispitanih pacijenata oboljelih od celijakije, a provode bezglutensku dijetu nekoliko godina, imaju loš vitaminski status. Generalno se pokazalo kako provođenje bezglutenske dijete uzrokuje niži unos ugljikohidrata i vlakana, a viši unos proteina i masti (Kreutz i sur., 2020; Bardella i sur., 2000). U slučaju adolescenata držanje striktno bezglutenske dijete je također pokazalo pogoršanje nutritivnog statusa u smislu povećanog unosa masti i proteina, nižeg unosa ugljikohidrata te niskog unosa kalcija, vlakana i željeza (Mariani i sur., 1998). Kod adolescenata se pokazuje i visok unos zasićenih masnih kiselina (Hopman i sur., 2006). Istraživanja pokazuju kako i djeca oboljela od celijakije koja su na bezglutenskoj prehrani imaju povišen unos zasićenih masnih kiselina i sukroze, a nizak unos vlakana (Ohlund i sur., 2010). Francesco i sur. (1996) su otkrili kako se kod djece od trena dijagnoze do provođenja bezglutenske dijete godinu dana popravljaju statusa željeza, cinka, triglicerida, kalcija itd. Također to dovodi do poboljšanja tjelesne kompozicije djece što je važno za rast i razvoj (Francesco i sur., 1996).

2.5.4. Utjecaj bezglutenske dijete na zdravlje

Istraživanja su pokazala kako trudnice s nedijagnosticiranom celijakijom imaju puno veći rizik od komplikacija i pobačaja nego one s dijagnosticiranom celijakijom koje se pridržavaju bezglutenske dijete (Martinelli i sur., 2000). Kod osoba s dijagnosticiranom celijakijom koje se drže bezglutenske prehrane dolazi do poboljšanja statusa mukoze tankog crijeva kao i smanjenja samih simptoma i abnormalnosti koju ova bolest donosi (Newnham i sur., 2016). Kod netretirane celijakije često dolazi do smanjene gustoće kostiju, a taj problem je rješiv promjenom prehranbenih navika tih osoba provođenjem bezglutenske dijete i kod odraslih i kod djece (Mora i sur., 2001). Do smanjene gustoće kostiju dolazi radi manjka vitamina D i kalcija, a njihovim unosom kroz hranu ili dodatke prehrani može se poboljšati gustoća kostiju, ali ne i u potpunosti normalizirati (Academy of Nutrition and Dietetics, 2021). Manjak bakra kod osoba s celijakijom dobiva sve više na pažnji, a može rezultirati trombocitopenijom, anemijom i mijeloneuropatijom. Halfdarson i sur. (2009) svojim su istraživanjem na 5 pacijenata s celijakijom otkrili kako su svi imali neurološke komplikacije koje se vezuju na manjak bakra. Kod 3 pacijenta se uz tu dijagnozu pokazala i prisutnost hematoloških abnormalnosti (Halfdarson i sur., 2009). Pokazalo se kako strogo vođenje bezglutenske dijete poboljšava status atrofije mukoze, gustoće kostiju, anemije itd. (Academy of Nutrition and Dietetics, 2021). Celijakija se smatra potencijalni uzrokom sekundarne deficijencije karnitina koji je važan za stvaranje energije u mišićima, ali je i važan za prijenos dugolančanih masnih kiselina i acil-CoA u membranu mitohondrija. Zaključilo se kako postoji mogućnost da manjak karnitina postoji radi oštećene mukoze tankog crijeva. Istraživanje je pokazalo kako je koncentracija serumskog karnitina bila znatno niža kod djece oboljele od celijakije (Lerner i sur., 1993). Bezglutenska dijeta pomaže kod smanjenja rizika od spontanih pobačaja, neplodnosti i preranih porođaja (Choi i sur., 2011; Khashan i sur., 2010). Istraživanja su pokazala oprečne rezultate vezane uz rizik osobe s celijakijom za razvitak metaboličkog sindroma i hepatičke steatoze, no važno je pacijente upozoriti na mogući rizik, pravilnu prehranu i aktivan život koji taj rizik smanjuju (Al-Toma i sur., 2019). Loš vitaminski status oboljelih od celijakije na bezglutenskoj dijeti može voditi do porasta homocisteina, a time se povećava rizik od kardiovaskularnih bolesti (Hallert i sur., 2002). Uzimanje dodataka vitamina B ukazuje na bolje zdravstveno i vitaminsko stanje osoba koje su oboljele od celijakije, a provode tretman bezglutenske dijete (Hallert i sur., 2009). Ukazuje se i na to kako bi pretilu odnosno djecu s prekomjernom tjelesnom masom trebali pregledati za prisutnost celijakije. Razlog tome su brojni dokazi o višem unosu kalorija, masti i proteina kod djece s celijakijom

koji se ne bi trebali zanemariti, a takav nutritivni unos povezan je s pretilošću (Diamanti i sur., 2014).

2.6. BEZGLUTENSKI PROIZVODI

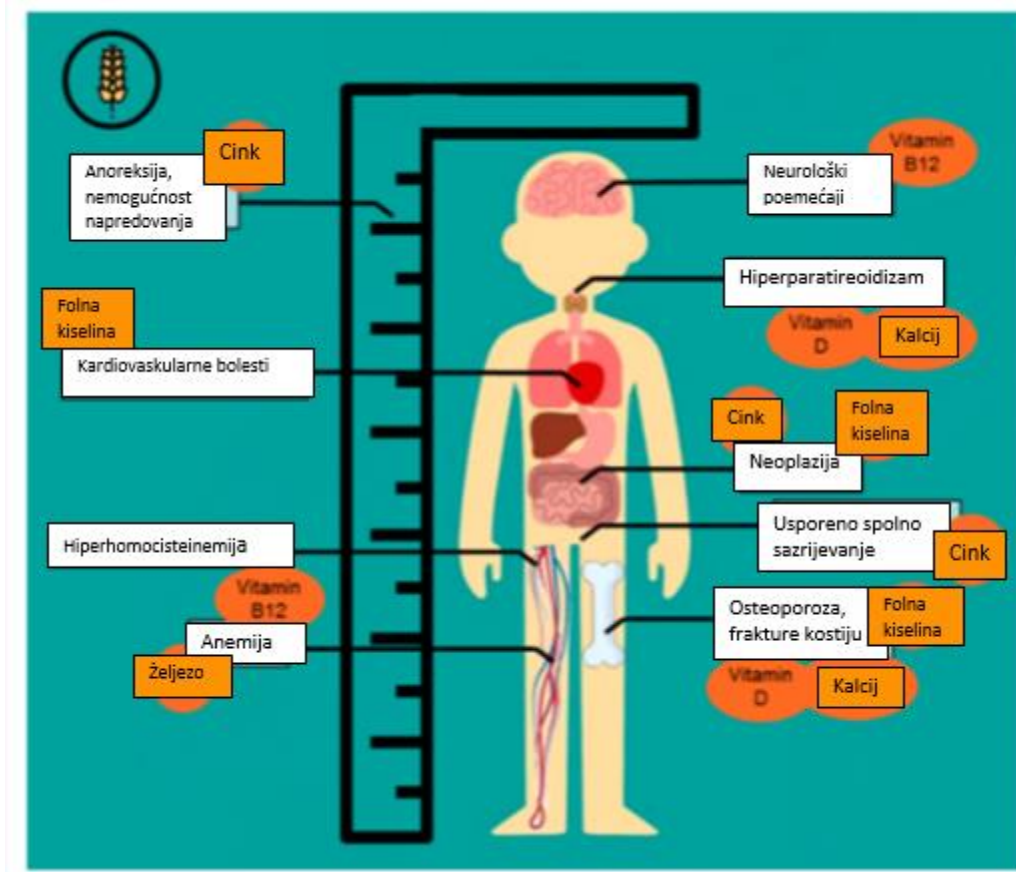
Porastom prevalencije celijakije u svijetu kao i trenda vođenja bezglutenske dijeta među zdravim ljudima bezglutenski proizvodi se sve više konzumiraju na globalnoj razini. Procjenjuje se da je u 2020-toj tržišna vrijednost bezglutenskih proizvoda dosegla oko 5,6 milijardi USD. Smatra se da će ta vrijednost do 2025-te doseći oko 8,3 milijardi USD (Markets and Markets, 2020). Najveća potražnja je za bezglutenskim pekarskim proizvodima kao kruh, keksi, krekeri, vafli, brašna, torte i dr. Ostali vrlo česti proizvodi na tržištu su dresinzi, pizze, tjestenine i dr. Forma u kojoj se nalaze su tekuće ili čvrsto stanje, a kupiti ih se može u ljekarnama, online kupovinom, supermarketima, pekarama itd. (Markets and Markets, 2020). Pokazalo se kako ljudi i prijašnjih godina, ali i sada imaju poteškoća s pronalaženjem bezglutenskih proizvoda te da su ti proizvodi manje dostupni (Demirkesen i Ozkaya, 2020; Estevez i Araya, 2016; Do Nascimento i sur., 2014; Lee i sur., 2007). Također se pokazalo kako ljudi imaju poteškoće s razumijevanjem deklaracija bezglutenskih proizvoda te najčešće pogrešno shvaćaju proizvode koji sadrže npr. glukozni sirup, pšenični škrob, zob jer smatraju da radi tog sastava sadrže gluten (Gutowski i sur., 2020). Kao bezglutenski proizvodi se smatraju i hrana koja prirodno ne sadrži gluten, a to su voće, povrće, morski plodovi, meso, leguminoze itd. Takvi proizvodi, iako prirodno bez glutena, mogu sadržavati skriveni gluten. Stoga je vrlo važno pratiti deklaracije kao i liste sastojaka proizvoda (Markets and Markets, 2020). Bezglutenska dijeta nije nužno optimalna dijeta za svakoga. Najčešće korištene žitarice kod bezglutenski proizvoda, a to su riža i ječam, su siromašne vlaknima, proteinima i folatom (Hager i sur., 2012). S obzirom na to da su vlakna u ljudskom tijelu važna za zdravlje probavnog sustava sve više se radi na obogaćivanju bezglutenskih proizvoda vlaknima. Takvi proizvodi su npr. bezglutenska brašna koja se koriste za pravljenje pizze, kruha i sličnih proizvoda (Markets and Markets, 2020). U mnogim istraživanjima se pokazalo i kako je udio masti u bezglutenskoj hrani gotovo dvostruko veći, kao i količina šećera (Melini i Melini, 2019). Kako bi se dočarao okus glutenskog proizvoda često se u bezglutenske proizvode koji su lošije teksture i okusa komponiraju dodatne količine šećera i masti što lako vodi do zdravstvenog problema (Markets and Markets, 2020). Uloga glavnih dijelova glutena, glutenina i glijadina, je stvaranje mreže koja utječe na samu kakvoću i formu proizvoda. Glijadin utječe na viskoznost dok glutenin ima

utjecaj na elastičnost tijesta (Wrigley i sur., 2006). Glavni sastojak koji je zaslužan za „dulji životni vijek“ glutenskih proizvoda je upravo gluten. Stoga proizvodi bez glutena imaju kraći rok trajanja, a time i lošiju teksturu. Otkrivena je tehnologija mikroenkapsulacije kojom se zadržava vlaga u bezglutenskom proizvodu kao što se i održava tekstura te sve to vodi do duljeg roka trajanja proizvoda. Ta tehnologija se koristi kod smrznutih muffina, tijesta za kekse itd. (Markets and Markets, 2020). Ljudi se teško adaptiraju na bezglutensku prehranu radi drugačijeg okusa, arome, teksture. S obzirom na sve navedeno zaključilo se kako je najveći izazov proizvođača bezglutenskih proizvoda pronaći formulu koja će bezglutenske proizvode u teksturi, okusu i konzistenciji što više približiti glutenskim. Proizvođači veliku pozornost moraju pružiti križnoj kontaminaciji koju moraju izbjeći kroz sve faze proizvodnje, ali pozornost moraju pridodati i samom izgledu proizvoda koji se ne smije puno razlikovati od onog glutenskog (Markets and Markets, 2020). Jedna od mogućih strategija kako poboljšati bezglutenske proizvode, njihov okus, je kombinacija glukoze i prolina. Ta kombinacija je prekursor hlapljivih komponenti koji se nalaze u pšeničnim proizvodima (Pacyński i sur., 2015). Sastojci koji potencijalno mogu zamijeniti gluten su škrobovi, brašna od pseudocerealia i hidrokoloidi, a enzimi i emulgatori pomažu pri jačanju samog tijesta i teksture kruha (Aguilar i sur., 2015).

2.7. DIJETOTERAPIJA CELIJAKIJE KOD DJECE

Osobe s celijakijom moraju prijeći na doživotnu bezglutensku dijetu što je i osnovni i jedini tretman ove bolesti dostupan u kliničkoj praksi. Ta dijeta uključuje striktno izbjegavanje svih proizvoda koji sadrže gluten, a osobito pšenicu, rižu i ječam (Rubio-Tapia i sur., 2013). Zob je žitarica koja je, iako sadrži oblik glutena, tolerirana od strane većine pacijenta. Unatoč tome ona se uvodi u prehranu s velikim oprezom i strogim praćenjem. Pacijentima oboljelim od celijakije se preporučuje odlazak kod stručnjaka kako bi im se procijenio nutritivni status te ih se educiralo o samoj bolesti i bezglutenskoj prehrani. Također svaka novootkrivena osoba s celijakijom bi se trebala testirati na deficijencije mikronutrijenata kao vitamin D, vitamina B₁₂, željezo, folnu kiselinu itd. Redovito bi se trebali pratiti simptomi bilo dotadašnji ili novi, prilagodljivost na bezglutensku dijetu, pojave komplikacija i dr. Kod djece se osobito pažnja usmjerava na praćenje rasta i razvoja. Posjeti doktoru i nutricionistu bi trebali biti redoviti (Rubio-Tapia i sur., 2013). U trenutku dijagnoze celijakije kod djece visoka je prevalencija mogućih nutritivnih deficita (Kreutz i sur., 2020). Slika 1 pokazuje do kakvih potencijalnih

komorbiditeta može doći u slučaju nutritivnih deficita kod djece s celijakijom. Sami nutritivni problemi se mogu javiti zbog upalnog procesa u tankom crijevu, ali i radi samog pridržavanja stroge bezglutenske dijeta.



Slika 1. Komorbiditeti povezani s nutritivnim deficitom kod djece s celijakijom (prema Kreutz i sur., 2020)

Vitamin B₁₂ i/ili folat jedan su od mogućih uzroka anemije kod djece s celijakijom, a njihov manjak vodi i do manjkave sinteze DNA što rezultira megaloblastičnom anemijom. Manjak vitamina B₁₂ vodi i do neuroloških problema (O'Leary i Samman, 2010). Manjak vitamina B₆ također može utjecati na pojavu anemije (Ahmad i sur., 2013). Manjak B vitamina vodi do povišenih razina homocisteina, a time i do raznih kardiovaskularnih bolesti, osteoporoze itd. (Kreutz i sur., 2020). Deficit vitamina D i kalcija kod djece oboljele od celijakije vodi do slabljenja kostiju (Charoenngam i sur., 2019). Pokazalo se kako deficit cinka utječe na pojavu anoreksije (Tran i sur., 2011). S obzirom na brojne komorbiditete koju su mogući kod djece

oboljele od celijakije evidentno je da je potrebna dijetoterapija koja bi deficite regulirala i time smanjila rizike. Na zdravlje kostiju djece s celijakijom će pozitivno utjecati sam prelazak na bezglutensku dijetu kod gotovo svih. Preporuke struke u tom slučaju su veći unos hrane bogate kalcijem, vitaminom D, ali i pojačana tjelesna aktivnost (Rea i sur., 1996). Uvođenjem bezglutenske dijetе djeci s celijakijom često dolazi do rješavanja problema s hepatitisom odnosno jetrom koji se povezuje sa samom celijakijom (Snyder i sur., 2016).

U cijelom procesu bolesti i provođenja ove dijetе važno je kod djeteta pratiti antropometrijske vrijednosti kao visinu, tjelesnu masu, indeks tjelesne mase itd. Ovakvo praćenje se vrši kako bi se evidentirao tijek rast i razvoj djece na bezglutenskoj dijeti, a vrši ga nutricionist (Snyder i sur., 2016). Uloga nutricionista je ključna da bi tretman djece s celijakijom pomoću bezglutenske dijetе bio uspješan. Osim već spomenutih antropometrijskih vrijednosti oni moraju napraviti nutritivnu procjenu koja uključuje prehrambene navike djeteta, preferencije, količinu hrane koju dijetе unosi, koju hranu dijetе ne smije unositi, financijsko stanje roditelja, ali iz tog svega generalno dobiti podatak o kakvoći hrane, odnosno makronutrijenata i mikronutrijenata koje dijetе unosi (Reilly i sur., 2012). Kako bezglutenska hrana nije uvijek obogaćena nutrijentima koji joj „fale“ takva bezglutenska prehrana ne osigurava djeci dovoljno vlakana, kalcija, željeza itd. (Wild i sur., 2010). Iz ovih razloga dolazi do spomenutih deficita i tijekom provođenja ove dijetе. S obzirom na ove podatke preporučuje se dodatan unos multivitamina (Reilly i sur., 2012). Neka djeca imaju problema i s tolerancijom laktoze s obzirom na oštećeno tanko crijevo stoga je preporuka na neko vrijeme iz prehrane izbaciti laktozu (Ojetti i sur., 2005). Djecu s celijakijom s normalnim tjelesnim indeksom na bezglutenskoj dijeti treba pratiti u razvoju, a razlog tome je visok unos masti kroz ovakvu dijetu koji lako može voditi do prekomjerne tjelesne mase i pretilosti (Ferrara i sur., 2009). U istraživanju Suárez-González -a i sur. (2021) djeci s celijakijom i njihovim roditeljima su za početak dane upute i educiralo ih se o optimalnoj bezglutenskoj dijeti i zdravim životnim navikama. Prije početka istraživanja predani su uzorci stolice i krvi djece zajedno s nutritivnom procjenom svakog pacijenta. Nakon 6 mjeseci ponovno su roditelji predali uzorke stolice svoje djece uz 3-dnevne dnevnikе prehrane. Upute dane roditeljima služile su kao vodilja u narednih 6 mjeseci provođenja bezglutenske dijetе njihovog djeteta. U tim uputama je npr. unos procesirane hrane (slatkiši, sokovi, procesirano meso itd.) bio manji kao i unos mliječnih proizvoda i crvenog mesa i takav unos je imao pozitivan utjecaj na zdravlje djece. Tim uputama usmjerava se na povećan unos bijele ribe, jaja, nezaslađenih jogurta kao i voća, povrća, krumpira, riže i orašastih plodova, a ujedno se pokazalo da se unos takvih proizvoda i povećao.

Povećan je bio i unos vlakana pacijenata kako bi se poboljšala stolica i smanjila konstipacija što je također bila preporuka. Pozitivnom promjenom nutritivnih navika djece došlo je sveukupno do povećanog unosa složenih ugljikohidrata, vitamina C, vlakana i folne kiseline, magnezija, selena. Pacijenti nisu uspjeli dosegnuti preporuke za željezo, kalcij, vitamin E i D. Zaključeno je kako je kod djece s celijakijom najvažniji dio razgovor s nutricionistom koji će ovisno o potrebama djeteta svojim preporukama i praćenjem dijete osigurati djetetu pravilan rast i razvoj (Suárez-González i sur., 2021). Poseban naglasak je i na edukaciju vezanu za samo čitanje deklaracija proizvoda kako bi se izbjegli oni koji sadrže gluten odnosno u svom sastavu sadrže pšenicu, raž, ječam. Zbog moguće kontaminacije bezglutenskih proizvoda prilikom pripreme u kućanstvu preporuka je da se bezglutenska hrana namijenjena za dijete s celijakijom radi u potpuno drugom posuđu i na drugoj kuhinjskoj površini koja mora biti dobro oprana (Reilly i sur., 2012).

2.8. KONTAMINACIJA BEZGLUTENSKE HRANE

Strogu bezglutensku dijetu je teško održavati, a dokaz tome je i da minimalni tragovi glutena (>10 mg/dan) mogu oštetiti sluznicu tankog crijeva osoba oboljelih od celijakije. Gluten, osim u namirnicama u kojima se nalazi prirodno, se koristi i kao proteinski filer kod mnogih namirnica kao kobasica, juha, umak itd. Gluten može kontaminirati i hranu koja je prirodno bez glutena, ali hranu koja je deklarirana kao bezglutenska tijekom bilo kojeg dijela proizvodnje tih namirnica (Monachesi i sur., 2021). I na polju može doći do kontaminacije glutenom i to zaostatom glutena u tlu koji se žetvom prenosi u biljku koja ne sadrži gluten (Thompson i sur., 2010). Sve više se otkriva bezglutenskih proizvoda koji su kontaminirani glutenom. To uključuje zemlje kao Tursku, a kod nje posebno proizvodi od heljde (Atasoy i sur., 2019), Ameriku (Sharma i sur., 2015), Kanadu (Koerner i sur., 2011) itd. Vođeni time Verma i sur. (2017) su odabrali 200 proizvoda, i prirodno bez glutena i deklarirane bez glutena, s talijanskog tržišta i testirali razine kontaminacije glutenom. Kod skoro 86,5 % proizvoda razine glutena su bile manje od 10 ppm, 4,5 % proizvoda je sadržavalo između 10 i 20 ppm glutena, a više od 20 ppm glutena detektirano je kod 18 proizvoda odnosno 9 %. Kontaminirani proizvodi su uglavnom bili zob, leća, heljda, a skuplji proizvodi su bili rjeđe kontaminirani od jeftinijih. Također su zaključili i da je najveći rizik od kontaminacije u restoranima (Verma i sur., 2017). Raju i sur. (2020) su odabrali 160 proizvoda na bazi žitarica iz indijskih trgovina koji su bez glutena kao razni gotovi proizvodi, brašna od više vrsta žitarica, brašna od jedna vrste žitarica

(riža, ragi, sirak), mahunarke, proso, zob, proizvodi na bazi soje itd. Gotovo 10 % proizvoda deklariranih kao bezglutenski imali su više od 20 mg/kg glutena kao i 40 % proizvoda koji su proizvedeni od žitarica koje su prirodno bez glutena. Dakle namirnice koje su imale natpis da su bez glutena sadržavale su manje količine glutena od onih koje su prirodno bez njega. Ako gledamo na vrste proizvoda 35,9 % brašna je bilo kontaminirano glutenom, ali i 85 % uzoraka koji su sadržavali zob. Pokazalo se kako su uzorci koji su uzeti iz lokalnih trgovina i koji nisu brendirani ili uzeti direktno iz lokalnih mlinova sadržavali 20-400 mg/kg glutena što nije sigurno za konzumaciju osoba s celijakijom (Raju i sur., 2020). Silvester i sur. (2020) su na uzorku od 18 odraslih osoba s celijakijom i na bezglutenskoj dijete otkrili kako 12 od 18 njih nenamjerno unosi od 0,2 do <80 mg glutena na dan. Veći rizik od unosa namirnica koje su kontaminirane imaju adolescenti muškog spola (14-18 godina) i muškarci od 19 do 30 godina koji često unose gotove proizvode, a za procesiranu hranu se smatra da ima veći rizik od kontaminacije glutenom (La Vieille i sur., 2014). Kontaminacija glutenom moguća je i tijekom pripreme obroka u domu, ali rizik ne mora uvijek biti visok. Weisbrod i sur. (2019) su za primjer uzeli bezglutensku tjesteninu koju ako spremamo u istoj vodi kao i tjesteninu s glutenom ona sadrži više od 20 mg/kg glutena. Ako tu tjesteninu isperemo u vodi količina glutena će se smanjiti. Korištenjem odvojenog pribora i radnih površina smanjujemo mogućnost kontaminacije u kućanstvu (Weisbrod i sur., 2019). Stefanolo i sur. (2021) su na uzorcima stolice i urina osoba oboljelih od celijakije koji su na bezglutenskoj dijete istraživali izloženost glutenu kroz period od 4 tjedna i to isključivo vikendom kad ljudi češće jedu izvan kuće. Kroz istraživani period se pokazala visoka izloženost osoba s celijakijom glutenu (Stefanolo i sur., 2021). Na uzorku od 69 djece s celijakijom, skupljanjem uzoraka hrane koju su konzumirali uz dnevnik prehrane, otkriveno je kako je kontaminacija glutenom u tim slučajevima ekstremno rijetka. Samo 7 % djece je u periodu od 24 h unijelo tragove glutena koji su daleko ispod dopuštenih razina unosa glutena za osobe s celijakijom (Monachesi i sur., 2021). Drugo ranije provedeno istraživanje je s druge strane pokazalo da unos glutena kod djece na bezglutenskoj dijete iznosi 387 mg/dan (Syage i sur., 2018).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ISPITANICI I UZORCI

3.1.1. Ispitanici

Poziv na sudjelovanje u istraživanju objavljen je putem društvenih mreža Udruge CeliVita-život s celijakijom. Na poziv se odazvalo 10 roditelja djece u dobi od 2-18 godina koji imaju dijagnozu celijakije te se pridržavaju bezglutenske dijetae dulje od 6 mjeseci. Roditelji ispitanika popunili su opći upitnik vezan uz održavanje bezglutenske dijetae svog djeteta elektroničkim putem te su donirali uzorke hrane za 2 dana. Isključujući faktori za sudjelovanje su bili pridružene bolesti uz celijakiju, dob (2-18 godina), vrijeme provođenja bezglutenske dijetae (ne manje od 6 mjeseci) te klinički potvrđena dijagnoza celijakije. Roditelji ispitanika su svoj pristanak na istraživanje potvrdili u obliku potpisane suglasnosti o sudjelovanju u istom. Ovo istraživanje odobrilo je Etičko povjerenstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (ur.br. 251-69-11-21-36). Sudjelovanje ispitanika u ovom istraživanju bilo je dobrovoljno te su imali mogućnost da se bez ikakvih posljedica povuku u bilo koje vrijeme bez navođenja razloga što je dvoje roditelja i učinilo. Istraživanje je završilo ukupno 8 roditelja djece s celijakijom.

3.2.2. Uzorci

U ovom istraživanju analizirano je ukupno 16 uzoraka cjelodnevnih bezglutenskih obroka za djecu. Uzorci su uz pomoć roditelja prikupljeni metodom duplikat dijetae. Uzorci su u dogovoreno vrijeme u smrznutom obliku dostavljeni u laboratorij na analizu. Prije analize svaki uzorak je odmrznut, te homogeniziran uz pomoć blendera (model HGB2WTS3, Waring Commercial).

3.2.3. Kemikalije

Za određivanje glutena korišteni su reagensi iz RIDASCREEN® Gliadin (R7001) kita (RBiopharm AG, Njemačka). Reagensi koji se nalaze u kit-u:

- pufer (60 mL) koji je koncentriran 5x
- 6 glijadinskih standarda, svaka bočica sadrži 1,3 mL (0 ng/mL, 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL, 40 ng/mL, 80 ng/mL glijadina, spremno za uporabu)
- pufer za ispiranje (100 mL) koji je koncentriran 10x
- konjugat (1,2 mL) koji je koncentriran 11x
- supstrat (7 mL)
- kromogen (7 mL)
- stop otopina (14 mL)

Korišteni reagensi, a ne nalaze se u kit-u:

- destilirana voda
- Koktail (patentirana) otopina (R7006, 105 mL)
- 80 %-tni etanol

Laboratorijska oprema i pribor

Korišteni uređaji:

- Blender (model HGB2WTS3, Waring Commercial)
- analitička vaga (YMC Chyo, tip JK-180 Mikrotehna, Zagreb)
- vodena kupelj (INKO, Zagreb)
- tresilica (Four E's Scientific, tip MI0103002)
- centrifuga (Rotofix 32A, Hettich, Njemačka)
- vortex miješalica (VWR, tip VV3)
- ELISA Microplate reader s računalnim programom RIDA SOFT Win (Z9999)
- Eksikator

- Električna sušnica

Posuđe i pribor:

- plastične žličice
- metalna žlica
- staničevina
- mikrotitarska ploča s 96 jažica
- plastične epruvete
- automatska pipeta
- nastavci za pipetu
- eppendorf pipete
- staklena čaša od 250 mL
- aluminijska folija
- plastične vrećice
- plastične posudice s poklopcem
- aluminijske zdjelice s poklopcem (sa staklenim štapićem i kvarcnim pijeskom)

3.3. METODE RADA

3.3.1. Opći upitnik

Za potrebe ovog istraživanja osmišljen je kratki Opći upitnik vezan za osnovne informacije o ispitanicima koji provode bezglutensku dijetu i njihovim roditeljima. Upitnik je sastavljen od 16 pitanja. Prvih 7 pitanja obuhvaća informacije o imenima i prezimenima djece kao i njihovih roditelja, dob djece, spol djece, mjesto stanovanja te tjelesna masa i tjelesna visina. Antropometrijske parametre odnosno tjelesnu visinu i tjelesnu masu su roditelji sami naveli. Stupanj uhranjenosti ispitanika određen je temeljem percentilnih krivulja (WHO, 2021). Daljnja pitanja usmjerena su na samu celijakiju i na koji način je postavljena dijagnoza, koliko dugo se dijete drži bezglutenske dijetu. Od roditelja se tražilo da odaberu odgovor koji je

sukladan tome kakva je trenutna prehrana njihovog djeteta. Mogući odgovori su „bez ograničenja u prehrani“, „bez ograničenja glutena“, „ponekad bezglutenska prehrana“, „većinom bezglutenska prehrana“, „obično bezglutenska prehrana s povremenom konzumacijom glutena“, „pokušavam djetetu spremati bezglutenske obroke, ali u to nisam siguran“, „strogo bezglutenska prehrana“. Postavljeno je i pitanje tko djeci priprema bezglutenske obroke, koliko često dijete jede u vrtiću/školi ili restoranu, kako sami procjenjuju održavanje bezglutenske prehrane svog djeteta kad ga oni ne kontroliraju. Upitnik završava pitanjem provodi li još netko u obitelji bezglutensku dijetu, a ako provodi tko te koliko bezglutenskim smatraju obroke koje pripremaju svom djetetu. Odgovori su bili „smatram da su u potpunosti bezglutenski“, „smatram da može sadržavati male udjele glutena, ali ne mojom krivicom“, „smatram da nisam u stanju u potpunosti osigurati bezglutenski obrok“, „smatram da trebam pomoć oko pripreme bezglutenskog obroka“.

3.3.2. Duplikat dijeta

Duplikat dijetom prikupljeni su uzorci cjelodnevnih bezglutenskih obroka za djecu. Roditelji su za provođenje navedene metode dobili pisane upute kako odvajati identičnu količinu hrane i pića koju je dijete konzumiralo u toku jednog dana. Hrana koja se prikupi se smrzava da se izbjegne kvarenje, a potom se kemijski analizira (Lee i Nieman, 2003). Prije samog provođenja metode duplikat dijete ispitanici su zamoljeni da u svrhu istraživanja svom djetetu ne mijenjaju prehrabene navike za vrijeme sudjelovanja u ovom istraživanju. Hrana se prikupljala za 2 dana po izboru roditelja ispitanika s tim da je jedan dan morao biti od ponedjeljka do petka, a drugi dan dan vikenda (subota ili nedjelja). Nakon svakog obroka morali su izdvojiti u čistu plastičnu vrećicu istu količinu hrane koju je dijete pojelo. Ako je dijete konzumiralo samo 2 žlice nekog obroka onda je to bila količina koja se spremala u vrećicu, a ne čitava porcija koju su pripremili djetetu. Tijekom jednog dana hrana se skuplja u istu vrećicu i stavlja se u zamrzivač na -20 °C do donošenja u laboratorij. S obzirom na to da se određivala količina glutena u jestivom dijelu, sve nejestive dijelove (nejestiva kora, kosti itd.) su bili dužni ukloniti prije spremanja obroka u vrećice. Sva ostala hrana i piće koju je dijete konzumiralo se spremala u vrećice osim vode.

3.3.3. Dnevnik prehrane

Roditelji ispitanika vodili su dnevnik prehrane tako da su zapisivali svaku vrstu i količinu hrane i pića koje je njihovo dijete konzumiralo tijekom ista 2 dana. Također su zapisivali proizvođača hrane i pića te u koliko sati je dijete konzumiralo navedeni obrok. Količinu hrane su mogli vagati ili procjenjivati pomoću kuhinjskog posuđa i jedaćeg pribora. Uz obrasce za vođenje dnevnika prehrane roditeljima su bile priložene i detaljne upute za vođenje samog dnevnika uz vaganje. Osnovna svrha vođenja dnevnika prehrane je bila evidencija svega što se u predanim uzorcima hrane za 2 dana nalazilo i u kojoj količini. Prosječan dnevni unos energije i hranjivih tvari izračunat je računalnim programom Prehrana (Infosistem d.d., Zagreb). S obzirom na dobivene podatke o unosu nutrijenata rezultati ispitanika uspoređivali su se s podacima preporučenih dnevnih unosa energije, makronutrijenata i mikronutrijenata za određenu dobnu skupinu (Capak i sur., 2013; Program, 2002).

3.3.4. Određivanje suhe tvari

Suha tvar u uzorcima određena je sušenjem pri povišenoj temperaturi do konstantne mase. Svaki uzorak usitnjen je pomoću blendera i homogeniziran te je odvagano 3 g svakog uzorka. Prije same odvage aluminijske posudice s poklopcem osušene su na 105 °C u sušioniku 1 sat. U sušioniku uzorci se suše s otvorenim poklopcem također na 105 °C. Nakon isteka vremena sušenja uzorci se poklapaju poklopcem te prebacuju u eksikator na hlađenje do sobne temperature. Uzorci se zajedno s posudicom važu i vraćaju na sušenje sve dok ne dođe do konstantnog gubitka na masi ili do prvog povećanja na masi. Ostatak uzorka u posudici predstavlja suhu tvar, a gubitak predstavlja vodu. Iz razlike u masi prije i nakon sušenja izračuna se udio vode. Za izračun udjela suhe tvari koristi se sljedeća jednadžba.

$$\text{Račun: \% vode} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

Gdje je: m_1 - masa prazne aluminijske posudice (g)

m_2 - masa aluminijske posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m_3 - masa aluminijske posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

$$\% \text{ suhe tvari} = 100 - \% \text{ vode}$$

Ukupan udio glutena u svakom obroku biti će izražen s obzirom na udio suhe tvari svakog pojedinačnog uzorka.

3.3.5. ELISA metoda za određivanje glutena

3.3.5.1. Priprema uzorka

Proces pripreme uzoraka hrane se započinje odmrzavanjem uzoraka. Uzorci se prije svakog radnog dana vade iz zamrzivača kako bi se odmrznuli. Prije samog početka rada važno je sav pribor (blender, metalne i plastične žlice itd.) i radne plohe dezinficirati 80 %-tnim etanolom kako bi se osigurali što bolji uvjeti za provedbu analize. Šesnaest uzoraka je blendano u blenderu, a nakon svakog uzorka koji je izblendan temeljito je sav korišten pribor kao i radna površina opran, dezinficiran i osušen. Ako je uzorak suh dodaje se destilirana voda kako bi se dobila homogena smjesa potrebna za daljnje istraživanje. Nakon blendanja je svaki uzorak spremljen u plastičnu posudu s poklopcem te je označen odgovarajućim slovno-brojčanim oznakama. Potom je odvagano svaki uzorak od 0,25 g na analitičkoj vagi. Uzorci su izvagani u plastičnim epruvetama s čepom koje su označene na isti način kao i prethodno spomenute plastične posudice. Svaki uzorak rađen je u dvije paralele i dodan u plastičnu epruvetu pomoću plastične žličice gdje je kod svake paralele i svakog uzorka uzeta druga plastična žličica. Originalni uzorak koji je spremljen prethodno u plastičnu posudicu je čuvan u hladnjaku radi moguće kontaminacije i ponavljanja postupka određivanja glutena u tom uzorku.

3.3.5.2. Ekstrakcija uzorka

Dodavanjem 2,5 mL Coktail (patentirane) otopine u digestoru se provodi ekstrakcija glutena. Uzorak se potom lagano promiješa. Slijedi inkubacija u vodenoj kupelji na 50 °C na 40 minuta. Nakon inkubacije se uzorci ostavljaju 10 minuta na sobnoj temperaturi i potom se dodaje 7,5 mL 80 %-tnog etanola u svaki uzorak. Ovaj korak se također odvija u digestoru. Uzorci se promiješaju te stavljaju na tresilicu na 60 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon 60 minuta uzorci se stavljaju na centrifugu u trajanju od 10 minuta pri 2500 okretaja/minuti također pri sobnoj temperaturi. Odvaja se 80 µL uzorka te se dodaju u eppendorf pipetu u kojoj smo prethodno pripremili 920 µL pufera i uzorak je spreman za provođenje testa.

3.3.5.3. Priprema testa

Test je potrebno izvaditi na sobnu temperaturu barem 30 minuta prije upotrebe istoga. Prije provođenja testa je potrebno pripremiti otopine za testiranje koje su dane kao koncentracije. Pufer je dan kao koncentrat (5x) te ga je potrebno razrijediti destiliranom vodom u omjeru 1:5 (3 mL koncentrata + 12 mL destilirane vode). Konjugat je dan kao koncentrat (11x). Nakon razrjeđivanja je limitirane stabilnosti i treba ga se razrijediti samo onoliko koliko je potrebno za broj uzoraka koji testiramo. Razrjeđuje se s destiliranom vodom u omjeru 1:11 (200 μ L koncentrata + 2 mL destilirane vode). Potrebno ga je protresti prije upotrebe. Pufer za ispiranje je dan kao koncentrat (10x), a razrjeđuje se s destiliranom vodom u omjeru 1:10 (100 mL pufera + 900 mL destilirane vode). Razrijeđeni pufer stabilan je duže vremena na 20-25 °C.

3.3.5.4. Provođenje testa

Potrebno je prvo pripremiti dovoljan broj jažica u mikrotitarsku ploču (koju prethodno dezinficiramo) i za standarde i za uzorke. U zasebnu jažicu se dodaje 100 μ L otopine standarda ili uzorka u duplikatu i inkubirati 30 minuta na sobnoj temperaturi prekrivanjem aluminijskom folijom. Nakon 30 minuta tekućina iz jažica se izlije naglim okretanjem te se 3 puta snažno tapka mikrotitarskom pločicom gore-dolje o staničevinu. Svaka jažica se nakon toga ispiri s po 250 μ L razrijeđenog pufera za ispiranje i naglim okretanjem se izlije tekućina iz jažica van i tapka se mikrotitarskom pločicom o staničevinu. Ovaj proces s razrijeđenim puferom se ponavlja 3 puta. Potom se doda 100 μ L razrijeđenog konjugata u svaku jažicu i inkubira se se 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon 30 minuta se naglim okretanjem izlije tekućina iz jažica i 3 puta se snažno tapka o staničevinu. Svaka jažica se ispiri s po 250 μ L razrijeđenog pufera za ispiranje i naglim okretanjem se izlije tekućina iz jažica van i tapka se mikrotitarskom pločicom o staničevinu. Ovaj proces s razrijeđenim puferom se ponavlja 3 puta. Nakon toga se dodaje 50 μ L supstrata i 50 μ L kromogena u svaku jažicu. Mikrotitarska pločica se lagano protrese i inkubira na 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon 30 minuta se razvija plavo obojenje što je posljedica veze s detektorskim antitijelom, a intenzitet plave boje je proporcionalno povezan s količinom glutena u uzorcima. Nakon 30 minuta dodaje se stop otopina pri čemu će se plavo obojenje pretvoriti u žuto obojenje. Mikrotitarska pločica se lagano

protrese (kako ne bi zaostali mjehurići zraka) i očitaju se vrijednosti apsorbancija na čitaču mikrotitarskih pločica unutar 30 minuta.

3.3.5.5. Mjerenje apsorbancija na čitaču mikrotitarskih pločica i izrada baždarnog dijagrama

Nakon dodavanja stop otopine mjerenje apsorbancije se mora provesti unutar 30 minuta. Očitavanje se vrši na 450 nm, a na temelju apsorbancija dobivenih za standarde grafički se prikaže ovisnost apsorbancije o koncentraciji. Iz dobivene baždarne krivulje (polinomna krivulja) se očitavaju koncentracije glijadina u uzorcima (u ng/mL tj. ppb). Očitana vrijednost apsorbancije iz krivulje se množi s faktorom razrjeđenja koji mora biti najmanje 500 i rezultat se množi s 2 s obzirom na to da se smatra da glijadin čini 50 % proteina glutena. Kako su preporuke dane u ppm, poželjno je dobivene vrijednosti u ppb pretvoriti u ppm množenjem rezultata s 1000. Uzorak će se smatrati bezglutenskim ako je koncentracija glutena ispod 20 ppm. Oni uzorci koji pokazuju negativan rezultat također mogu sadržavati alergen, ali ispod limita detekcije ove konkretne metode (1 ppm glutena). Limit kvantifikacije ove metode prema specifikaciji proizvođača je do 5 ppm glutena.

3.3.6. Obrada rezultata

Obrada podataka dobivenih općim upitnikom napravljena je pomoću MS Office Excel. Rezultati su prikazani u obliku udjela (%). Rezultati analize uzoraka hrane ELISA metodom prikazani su kao srednja vrijednost koncentracije glutena izražena u ppm.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Gotovo neizbježan je slučajni unos glutena kod osoba koje provode bezglutensku dijetu (Coeliac Disease Foundation, 2018). Bezglutenska hrana može biti nenamjerno kontaminirana u bilo kojem dijelu proizvodnje kao i pripreme. To nam ukazuje na svakodnevni rizik u kojem se nalaze osobe oboljele od celijakije stoga je cilj ovog rada bio odrediti količine glutena koje se nalaze u cjelokupnim obrocima djece koja boluju od celijakije i provode bezglutensku dijetu. U ovom istraživanju koristio se opći upitnik kako bi došli do dodatnih informacija o djetetu, njegovoj bolesti, ali i informacija o roditeljima i njihovoj uključenosti te procjeni prehrane svog djeteta. Rezultati općeg upitnika prikazani su na slikama 2-7. Rezultati dnevnika prehrane prikazuju udio energije, makronutrijenata i mikronutrijenata u djetetovoj prehrani, odnosno samu kakvoću prehrane, na tablici 2 i slici 8. Udio glutena utvrđen ELISA testom prikazan je u tablici 3.

4.1. OPĆI UPITNIK

U istraživanju je sudjelovalo 8 ispitanika, djece od 2-18 godina koja boluju od celijakije, od kojih su roditelji svakog ispitanika donijeli na analizu 2 cjelodnevna uzorka hrane kako bi se odredila eventualna prisutnost glutena. Kratki opći upitnik služio je za prikupljanje dodatnih informacija od roditelja vezano za bolest i prehranu djeteta kako bi mogli što zornije procijeniti kakvoću ispitanikove prehrane. Celijakija ne utječe samo na kakvoću života djece koja su oboljela od te bolesti već i na kakvoću života njihovih roditelja (Abreu Paiva i sur., 2019). Roditelji imaju ključnu ulogu u održavanju bezglutenske dijetete svoje djece, te je ranijim istraživanjima dokazano kako ti roditelji imaju puno veće razine stresa radi kontrole bolesti i prehrane djeteta. Psihološki stres se javlja zbog ograničene mogućnosti praćenja svog djeteta, a još veća razina stresa se javlja ako dijete ima još neku pridruženu bolest (Abreu Paiva i sur., 2019). Većina ispitanika bila je ženskog roda odnosno 75 % (n=6), a 25 % (n=2) muškog roda. Incidencija celijakije pokazala se viša kod ženskog roda (King i sur., 2020; Lionetti i sur., 2020). Prosječna dob ispitanika iznosila je $10 \pm 4,5$ godine, pri čemu je najmlađi ispitanik imao 3 godina, a najstariji 15 godina (tablica 1). Od iznimne je važnosti celijakiju dijagnosticirati na vrijeme kako bi se djetetu osigurao pravilan rast i razvoj i kako bi se izbjegle bolesti vezane za

deficite koje celijakija donosi kao neplodnost, osteoporoza ili maligne bolesti (Reilly i sur., 2012). Svi ispitanici dolaze iz Zagreba i okolice Zagreba. Roditelji su sami naveli podatke o tjelesnoj masi i visini djece. U tablici 1 vidimo da samo 1 ispitanik ima prekomjernu tjelesnu masu dok su ostali ispitanici (n=7) normalnog stupnja uhranjenosti. Venkatasubramani i sur. (2010) svojim istraživanjem su otkrili kako 5 % ispitanika odnosno djece koja su oboljela od celijakije ima ITM > 95-tog percentila, te zaključili kako pretilost postaje sve češća kod djece oboljele od celijakije. Istraživanje Reilly i sur. (2011) pokazalo je kako povišen indeks tjelesne mase djece oboljele od celijakije u trenutku dijagnoze bolesti ima 19 % pacijenata (od toga 12,6 % imalo je prekomjernu tjelesnu masu, a 6 % bilo je pretilo). Također je 75 % pacijenata koji su u trenu dijagnoze imali povišen indeks tjelesne mase isti smanjili prebacivši se na bezglutensku dijetu, ali je i 13 % onih s prijašnje normalnom uhranjenošću prebacivanjem na bezglutensku dijetu počelo imati prekomjernu tjelesnu masu (Reilly i sur., 2011). S druge strane istraživanja ukazuju na to da su djeca oboljela od celijakije češće pothranjena u trenutku dijagnoze bolesti (Setavand i sur., 2021; Brambilla i sur., 2013; Koluglu i sur., 2009).

Tablica 1. Antropometrijske vrijednosti i stupanj uhranjenosti ispitanika (n=8)

| Ispitanik | Dob (godine) | Tjelesna masa (kg) | Tjelesna visina (cm) | Indeks tjelesne mase (ITM) (kg/m ²) | ITM-godine percentile | ITM-godine z-score | ITM opis kategorije |
|-----------|--------------|--------------------|----------------------|---|-----------------------|--------------------|---------------------------|
| 1 | 12 | 41 | 156 | 16,85 | 36,7 | -0,34 | Normalna masa |
| 2 | 3 | 14,5 | 98 | 15,1 | 40,5 | -0,24 | Normalna masa |
| 3 | 12 | 51,2 | 166 | 18,58 | 69 | 0,5 | Normalna masa |
| 4 | 15 | 50 | 162 | 19,05 | 33,4 | -0,43 | Normalna masa |
| 5 | 7 | 28,6 | 126 | 18,01 | 90,9 | 1,33 | Prekomjerna tjelesna masa |
| 6 | 3,5 | 16 | 98 | 16,66 | 82,5 | 0,93 | Normalna masa |
| 7 | 15 | 52 | 172 | 17,58 | 13,8 | -1,09 | Normalna masa |
| 8 | 11 | 38 | 152 | 16,23 | 35 | -0,39 | Normalna masa |

Na pitanje je li dijagnoza celijakije postavljena temeljem nalaza biopsije tankog crijeva 50 % ispitanika odgovorila je s DA, a ostalih 50 % odgovorilo je NE. Dijagnoza celijakije se može postaviti duodenalnom biopsijom čime je vidljiva intraepitelna limfocitoza, atrofija vila i hiperplazija. Serološki testovi su s druge strane korisni za identifikaciju pacijenata kojima je potrebna biopsija tankog crijeva. Smatra se da bi biopsiju trebao napraviti svaki pacijent za kojeg se sumnja da boluje od celijakije i to prije prelaska na bezglutensku dijetu (Reilly i sur., 2012). Prosječan broj godina pridržavanja dijete ispitanika bio je $3,5 \pm 3$ godine. Smatra se da se duljim dojenjem djeteta, a time i kasnijim početkom konzumacije glutena, postiže protektivan efekt od pokretanja simptoma celijakije iako nije jasno je li to samo odgađa pojavu bolesti i prvih simptoma ili smanjuje samu incidenciju bolesti (Scotta i sur., 1997). Autoantitijela specifična za celijakiju bi se trebala mjeriti 6 mjeseci nakon prelaska na bezglutensku dijetu, a potom svako 3-6 mjeseci kako bi se pratilo kliničko stanje djeteta i je li mu dijeta odgovara (Reilly i sur., 2012).

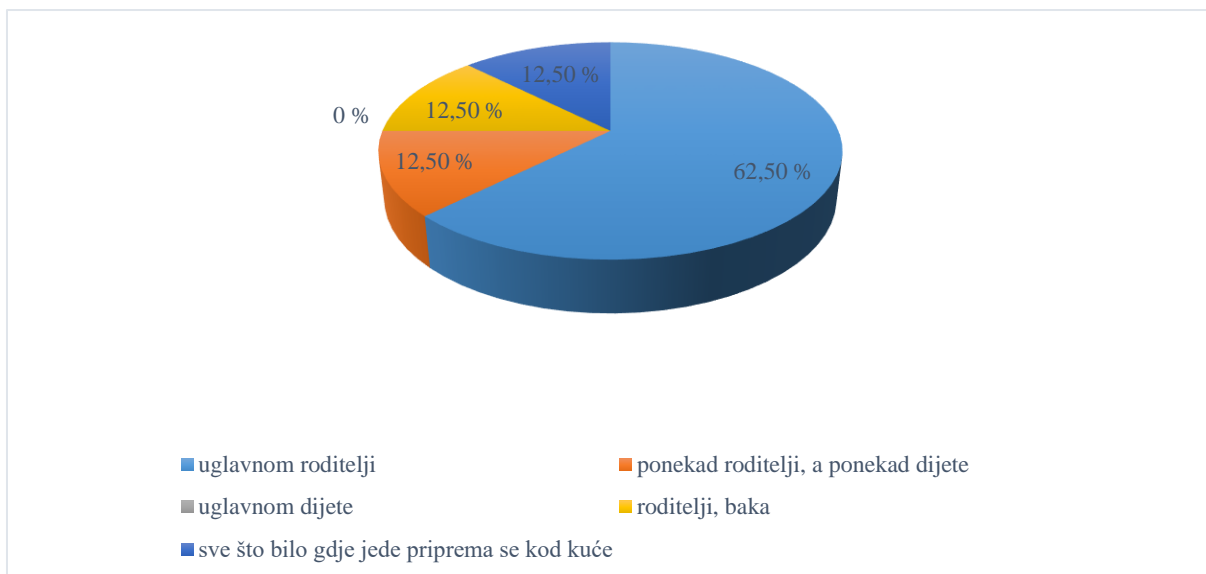
Na slici 2 prikazano je kako su roditelji opisali trenutnu prehranu svog djeteta. Zanimljivo je kako su svi roditelji (100 %) opisali prehranu svog djeteta kao strogo bezglutensku. Macedo i sur. (2015) zaključili su kako stroga bezglutenska dijeta često ima negativan utjecaj na kakvoću života ne samo oboljele djece, već i njihovih roditelja s obzirom na to da je održavanje

bezglutenske dijete izazov za svih. Istraživanje Kinos i sur. (2012) pokazalo je kako 71 % ispitanika provodi striktnu bezglutensku dijetu te 80 % je sposobno tu dijetu održavati.



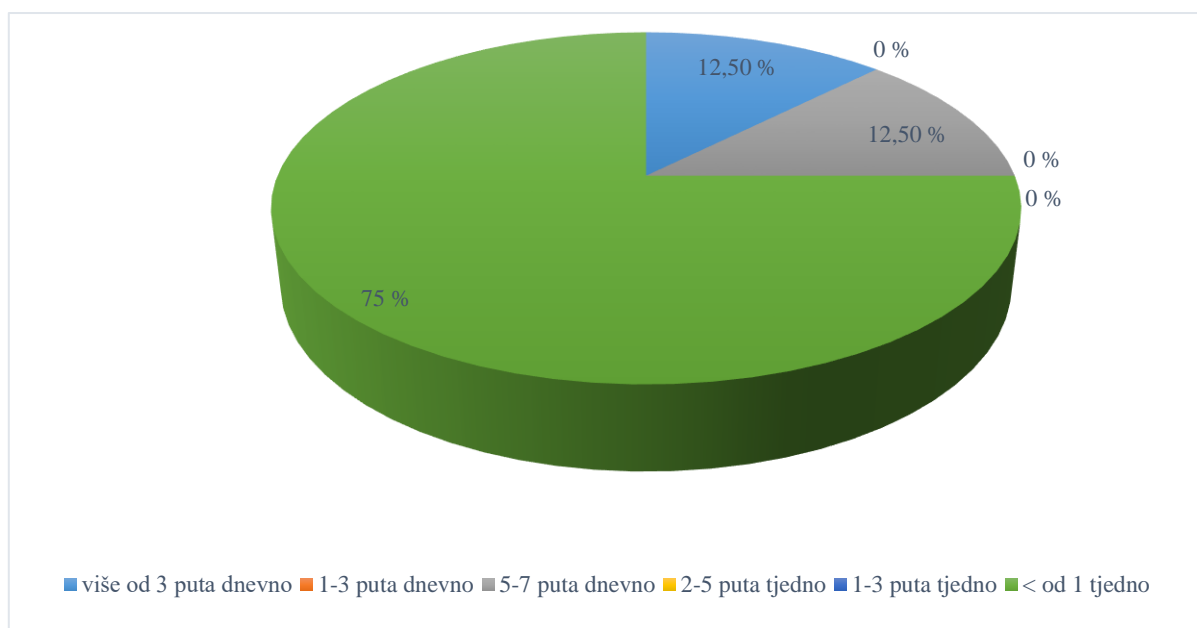
Slika 2. Prikaz odgovora na pitanje „Opišite trenutnu prehranu Vašeg djeteta.“ (n=8)

Na pitanje tko u kućanstvu priprema obroke 62,5 % (n=5) roditelja je odgovorilo da uglavnom oni pripremaju što je vidljivo na slici 3. Ostala 3 ispitanika su odgovorila kako obroke pripremaju uglavnom roditelji, roditelj ili baka te sve što dijete jede da se priprema kod kuće te iz nje nosi van. Ono što na samo održavanje bezglutenske dijete može utjecati su visoke cijene bezglutenskih proizvoda, manjkava edukacija o takvoj prehrani, sumnja u deklaracije proizvoda. Manjak sposobnosti vezan za pripremu hrane otežava samo održavanje bezglutenske dijete i iz tog razloga se za pripremu obroka većinom brinu roditelji odnosno skrbnici (Araújo i Araújo, 2011).



Slika 3. Prikaz odgovora na pitanje „Tko priprema obroke bez glutena Vašem djetetu?“ (n=8)

Na slici 4 prikazano je koliko često djeca jedu izvan kuće što uključuje obroke u školi, vrtiću ili restoranu. Da manje od jednom tjedno dijete jede izvan kuće je odgovorilo 75 % roditelja. Ostatak ispitanika jede više puta tjedno i više puta dnevno izvan kuće. Pokazalo se kako i hrana koja prirodno ne sadrži gluten kao i hrana koja je deklarirana kao hrane bez glutena može biti kontaminirana glutenom (Wieser i sur., 2021). Hrana iz restorana i škola predstavlja znatan rizik u smislu slučajne kontaminacije uzoraka (Wieser i sur., 2021). Na razini Republike Hrvatske organiziranu prehranu ima 84 % osnovnih škola, a obuhvat učenika koji konzumiraju školsku prehranu je 56,6 %. Gotovi školski obroci 1 do 4 puta godišnje se daju na analizu mikrobiološke ispravnosti, a energetska-nutritivni sastav gotovo da se ne analizira. Nacionalnim smjernicama dana je preporuka da se, gdje god je moguće, osiguraju odgovarajući obroci za djecu koja imaju zdravstvene poteškoće kao intolerancije, alergije, celijakiju itd. U slučaju celijakije potrebno je navesti popis hrane koja se mora izbjegavati, zamijeniti istu bezglutenskim proizvodima i dati upute za pripremu i kuhanje takve hrane (korištenje odvojenog pribora, posebno označavati jela itd.) (Capak i sur., 2013).



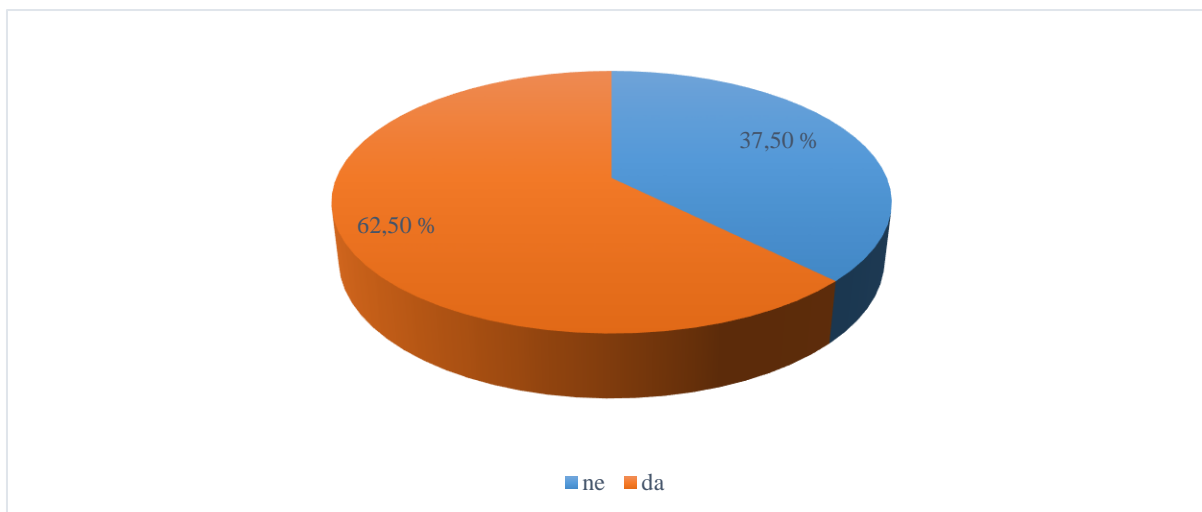
Slika 4. Prikaz odgovora na pitanje „Koliko često Vaše dijete ima obrok izvan kuće?“ (n=8)

Na slici 5 vidimo da su svi ispitanici (n=8) na pitanje kakvim procjenjuju održavanje bezglutenske dijete svog djeteta kad ga oni ne kontroliraju kao zadovoljavajuće te da smatraju da sigurno paze na unos glutena. Iako su roditelji svih ispitanika u ovom istraživanju bili zadovoljni vođenjem bezglutenske dijete svog djeteta pokazalo se kako djeca, obzirom na ubrzan stil života današnjice i manjak vremena roditelja, često biraju procesiranu hranu i *fast food* te ju jedu na dnevnoj bazi (Aguayo-Patrón i sur., 2017). Procesiranu i *fast food* hranu biraju češće nego tradicionalnu što može utjecati negativno na njihovo zdravlje (Aguayo-Patrón i sur., 2017). Mnogim studijama se zaključilo kako je potrebna konstantna edukacija djece o prehrani te da je to osnovni tretman i buđenje svijesti za kronične bolesnike od malih nogu (Suárez-González i sur., 2021). Istraživanja su pokazala manju zabrinutost očeva za zdravlje svog djeteta od zabrinutosti majki (Abreu Paiva i sur., 2019).



Slika 5. Prikaz odgovora na pitanje „Kako procjenjujete održavanje prehrane Vašeg djeteta kad ga Vi ne kontrolirate?“ (n=8)

Na pitanje je li osim njihovog djeteta itko drugi vodi bezglutensku dijetu na slici 6 je prikazano kako u 62,5 % (n=5) slučajeva je dijete jedino koje se pridržava ove dijetete, a 37,5 % (n=3) još netko u obitelji se pridržava ove dijetete. Ako je bio slučaj da još netko osim njihovog djeteta vodi bezglutensku dijetu morali su navesti tko. Kod jednog ispitanika cijela obitelj je prešla na bezglutensku dijetu radi dijagnoze bolesti (majka, otac, brat i sestra), drugi ispitanik je naveo oca kako vodi bezglutensku dijetu, a treći oba roditelja. Istraživanje Abreu Paiva i sur. (2019) koje je uključivalo 150 djece oboljele od celijakije i njihove roditelje pokazalo je da samo 14 % roditelja (22 roditelja) ima celijakiju. Pokazalo se da neovisno o tome koliko im dijete ima godina, ali i imaju li ili nemaju i sami celijakiju, to utječe na njihovu kakvoću života (Abreu Paiva i sur., 2019). Provođenje bezglutenske dijetete iziskuje, u slučaju djece, veliki trud roditelja, a ako se oni sami ne adaptiraju toj dijeti svakako takav režim utječe na njihove obroke u domu. Podrška obitelji nije samo vidljiva u dijelu vođenja dijetete bez glutena već i u mentalnom dijelu pomoći djetetu koje je oboljelo od celijakije (Ludvigsson i sur., 2015).



Slika 6. Prikaz odgovora na pitanje „Provodi li još netko u Vašem kućanstvu bezglutensku dijete?“ (n=8)

Odgovor na posljednje pitanje prikazano je na slici 7. U posljednjem pitanju se tražilo od roditelja da odaberu koliko bezglutenskim smatraju obroke koje spremaju djeci pri čemu je 50 % ispitanika odgovorilo da smatraju da su potpuno bez glutena, a 50 % da mogu sadržavati tragove glutena, ali ne njihovom krivicom. Loša svijest potrošača, nepravilno deklariranje proizvoda i netočna kvantifikacija količine glutena vrlo lako vode do slučajnog unosa glutena u primjetnim količinama što može negativno djelovati na zdravlje bolesnika. Pacijenti, u ovom slučaju roditelji pacijenata, moraju biti svjesni ne samo da bezglutenska hrana može biti kontaminirana glutenom već i proizvodi kao lijekovi, kozmetika. Najčešće u takvim proizvodima gluten je „skriven“ u obliku aditiva (Wieser i sur., 2021).



Slika 7. Prikaz odgovora na pitanje „Opišite koliko bezglutenskim smatrate obroke koje pripremate Vašem djetetu.“ (n=8)

4.2. KAKVOĆA PREHRANE BEZ GLUTENA

Prilikom prikupljanja hrane kroz metodu duplikat dijete roditelji ispitanika vodili su za svaki dan i dnevnik prehrane. U obrazac su upisivali svu hranu, piće, i dodatke prehrani koje je njihovo dijete konzumiralo zajedno s količinama, proizvođačem i vremenom konzumacije hrane. U dnevnike prehrane su upisivali sirove količine hrane koju je njihovo dijete konzumiralo. Podacima o konzumiranoj hrani ispitanika uspoređeni su s Nacionalnim smjernicama za prehranu djece u osnovnoj školi (Capar i sur., 2013) odnosno Programom zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima (Program, 2002). Prema istraživanju Hopman i sur. (2006) djeci i adolescentima vrlo često je teško provoditi bezglutensku dijetu i izbjegavati gluten, ali vođenje same dijete može dovesti do neadekvatnog unosa raznih nutrijenata i disbalansa u prehrani koji lako vodi do raznih komorbiditeta.

S obzirom na dob i spol preporučeni energijski unos hrane kreće se od 1740 kcal/dan za djevojčice od 7-10 godina sve do 2755 kcal/dan za dječake od 14-18 godina (Capak i sur., 2013). U slučaju djece vrtićke dobi preporučeni unos za djecu od 1-3 godine iznosi 1300 kcal, a djece od 4-6 godina iznosi 1800 kcal (Program, 2002). U tablici 2 prikazani su prosječni unosi energije za svakog ispitanika te je vidljivo da se unos energije u rijetkim slučajevima pokazao adekvatnim. Samo 3 ispitanika su imala unos približan adekvatnom, a ostatak je varirao.

Najveće odstupanje od preporuke bilo je kod ispitanika 2 koji je premašio preporuku za gotovo 1000 kcal. Kod 3 ispitanika energijski unos je bio ispod preporučenih vrijednosti, a kod 2 viši od preporučenih vrijednosti (tablica 2).

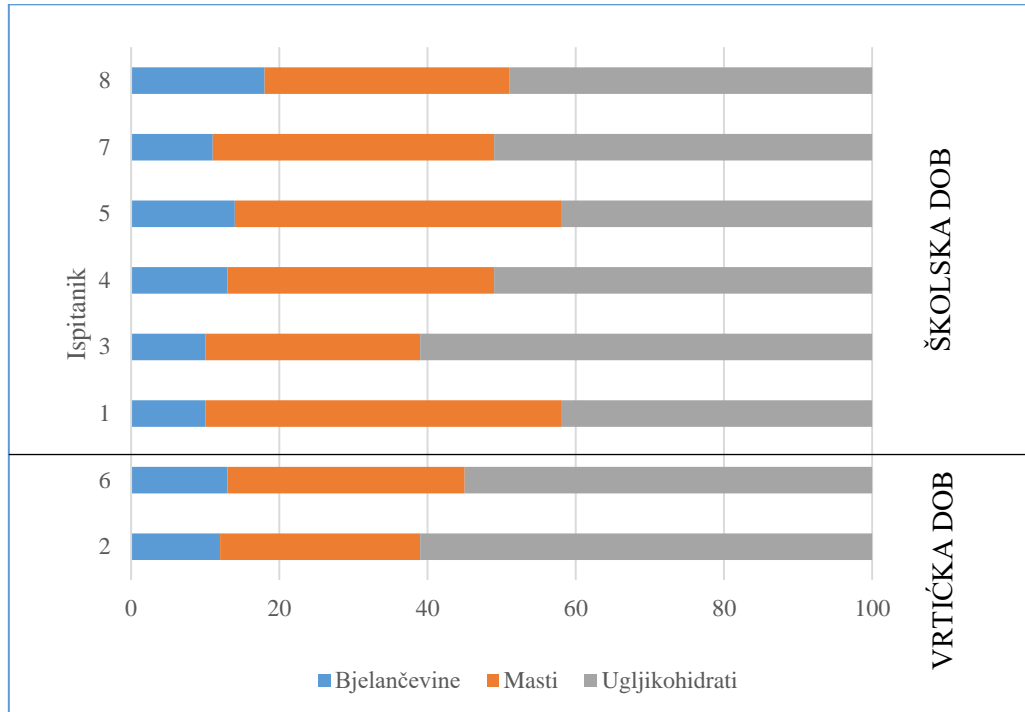
Tablica 2. Prosječan dnevni unos energije u djece s celijakijom utvrđen metodom dnevnika prehrane (n=8)

| Ispitanik | Dob (godine) | Prosječni dnevni unos energije (kcal)* | % preporuke |
|-----------|--------------|--|-------------|
| 1 | 12 | 2327 ± 203 | 104 % |
| 2 | 3 | 1975 ± 344 | 152 % |
| 3 | 13 | 3202 ± 298 | 144 % |
| 4 | 15 | 1458 ± 95 | 69 % |
| 5 | 7 | 790 ± 180 | 45 % |
| 6 | 3,5 | 1258 ± 94 | 97 % |
| 7 | 15 | 2254 ± 453 | 106 % |
| 8 | 11 | 1647 ± 158 | 89 % |

*vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

Istraživanje Mariani i sur. (1998) kojem je bio cilj evaluacija pridržavanja bezglutenskoj dijeti i procjena unosa makronutrijenata i mikronutrijenata pokazalo je kako su ispitanici oboljeli od celijakije imali normalan, preporučeni energijski unos. Unos energije osoba oboljelih od celijakije na strogoj bezglutenskoj dijeti pokazao se sličan unosu energije zdravih osoba i u istraživanju Wild i sur. (2010). S druge strane su studije pokazale kako je energijski unos osoba na bezglutenskoj dijeti niži od onog preporučenog (Soto i sur., 2019; Kinsey i sur., 2008). Taj podatak vidljiv je i u studiji Ohlund i sur. (2010) gdje je 13 od 25 djece na bezglutenskog dijeti imalo nizak unos energije.

Na slici 8 prikazan je prosječan udio makronutrijenata u ukupnom dnevnom energijskom unosu ispitanika.



Slika 8. Prikaz prosječnog doprinosa makronutrijenata za 2 dana u ukupnom dnevnom energijskom unosu

Prema Nacionalnim smjernicama preporučeni unos ukupnih masti za djecu od 7-18 godina bi trebao iznositi od 25-35 % ukupnog dnevno energijskog unosa (Capak i sur., 2013). U slučaju djece vrtićke dobi preporučeni unos masti iznosi 30-35 % ukupnog dnevno energijskog unosa (Program, 2002). U 50 % ispitanika (n=4) utvrđen je povećan unos masti s obzirom na preporuku. Ispitanika 1 imao je najviši prosječni unos masti (48 % dnevno energijskog unosa), pri čemu u jednom cjelodnevnom obroku mast je sačinjavala 59 % energijskog unosa koji je većinom bio unesen velikom porcijom čevapa. Istraživanja o kakvoći prehrane osoba s celijakijom koji slijede bezglutensku dijetu pokazala su također visok unos masti kod tih osoba (Taetzsch i sur., 2018; Miranda i sur., 2014; Zuccotti i sur., 2012; Ferrara i sur., 2009; Capristo i sur., 2000; Mariani i sur., 1998).

Preporučeni unos zasićenih masnih kiselina je <10 % ukupnog dnevnog energijskog unosa odnosno između 19,3 g i 30,6 g ovisno o dobi i spolu djece (Capak i sur., 2013). Pokazalo se kako je dnevni preporučeni unos zasićenih masnih kiselina prekoračen kod 8 cjelodnevni uzoraka hrane, odnosno kod 50 % cjelodnevni uzoraka. Najviši unos iznosio je 38,3 g. Kod djece i adolescenata je čest visok unos zasićenih masnih kiselina, a kod ove skupine oboljele od celijakije istraživanja potkrjepljuju ove rezultate koji ukazuju na visok unos zasićenih masnih kiselina (Pham-Short i sur., 2017; Ohlund i sur., 2010; Hopman i sur., 2006). Visok unos ukupnih masti kao i zasićenih masnih kiselina vodi do povećanja rizika za pojavu prekomjerne tjelesne mase i pretilosti u djece, gdje redukcija unosa masti vodi do poboljšanja zdravstvenog stanja (Koletzko i sur., 2000). Istraživanja su pokazala kako bi se celijakija trebala razmotriti kod djece koja rapidno dobivaju na tjelesnoj masi jer koegzistencija pretilosti i celijakije nije rijedak slučaj (Calcaterra i sur., 2020; Venkatasubramani i sur., 2010).

Prema Nacionalnim smjernicama preporučeni unos proteina za djecu od 7-18 godina iznosi 10-15 % ukupnog dnevnog energijskog unosa (Capak i sur., 2013). Za djecu vrtićke dobi, odnosno od 1-3 godine preporučeni unos je 18 g, a za djecu od 4-6 godina je 24 g proteina na dan (Program, 2002). S obzirom na dob preporučeni unos proteina ostvaren je u 10 od 16 cjelodnevni uzoraka hrane što pokazuje da većina djece unosi adekvatne količine proteina. S druge strane u 1 uzorku dnevni unos proteina nije zadovoljen, a kod ostalih 5 uzoraka je prekoračen. Od 5 prekoračenih uzoraka, čak 4 su pripadala djeci vrtićke dobi koja su time unijela više proteina od preporučenog. Neka istraživanja su pokazala da je kod osoba s celijakijom unos proteina često visok (Zuccotti i sur., 2012; Kinsey i sur., 2008; Mariani i sur., 1998).

Za dob od 7-18 godina preporučeni unos ugljikohidrata je > 50 % ukupnog dnevnog energijskog unosa (Capak i sur., 2013). Preporučeni unos ugljikohidrata za djecu od 1-6 godine iznosi 50-60 % ukupnog dnevnog energijskog unosa (Program, 2002). Ovim istraživanjem se pokazalo, gledajući prosječne vrijednosti energijskog unosa za oba dana, kako većina ispitanika (n=5) ima adekvatan unos ugljikohidrata. Ako uspoređujemo svaki cjelodnevni obrok odvojeno, u tom slučaju 44 % uzoraka (n=7) ima nižu energijsku vrijednost od preporučene. Kod osoba oboljelih od celijakije se često utvrđuje smanjeni unos ugljikohidrata (Capristo i sur., 2000; Mariani i sur., 1998).

Visok unos jednostavnih šećera pokazao se kod 10 od 16 obroka, a gledajući prosječni unos jednostavnih šećera kroz 2 dana visok unos je imalo 50 % ispitanika (n=4). Porast triglicerida povezuje se visokim unosom žitarica za doručak s dodanim šećerom kao i porast kolesterola

koji ne samo da se povezuje s visokim unosom dodanih šećera već i s visokim unosom zasićenih masnih kiselina (Suárez-González i sur., 2021). I neka ranija istraživanja pokazuju visok unos jednostavnih šećera kroz bezglutensku dijetu kod djece oboljele od celijakije (Ohlund i sur., 2010).

Preporučeni unos vlakana za djecu od 7-18 godina je 10 g/1000 kcal na dan (Capak i sur., 2013). Utvrđeno je kako većina ispitanika ima nizak unos vlakana. Neadekvatan unos pokazao se u 11 od 16 cjelokupnih obroka. Najniži unos iznosi je 2,16 g, a najviši 41,55 g. Studijama provedenim na osobama s celijakijom, odnosno studije o kakvoći njihove prehrane pokazalo se kako je njihov unos vlakana uglavnom nizak (Gladys i sur., 2021; Miranda i sur., 2014; Wild i sur., 2010; Ohlund i sur., 2010; Hopman i sur., 2006.; Grehn i sur., 2001, Mariani i sur., 1998). Nizak unos vlakana utječe na pojavu konstipacije, a većim unosom vlakana na dnevnoj bazi taj problem se povlači (Macêdo i sur., 2020). Nizak unos vlakana također povećava rizik od pojave raznih kroničnih bolesti kao koronarne bolesti srca, hipertenzija, dijabetes, pretilost itd. (Anderson i sur., 2009).

Preporučeni unos natrija za djecu od 7 do 13 godina iznosi 1380 mg, a za djecu od 14-18 godina 1600 mg (Capak i sur., 2013). Preporučeni unos natrija za djecu vrtićke dobi nije propisan u RH, no EFSA daje preporuke o adekvatnom unosu natrija u dobi od 1-3 do 1100 mg/dan, te od 4-6 godina do 1300 mg/dan (EFSA, 2019). U 6 od 16 cjelodnevnih obroka količina natrija je bila unutar preporuka. Ostatak imao je prevelik unos natrija svojim obrocima gdje je najviši unos natrija iznosio 435 % preporuke za unos natrija. Visok unos natrija kod osoba oboljelih od celijakije bilježe i druge studije (Soto i sur., 2019; Pham-Short i sur., 2017). Međutim veći broj studija utvrđuje kako je među ovom populacijom unos natrija smanjen (Gladys i sur., 2021; Kosendiak i sur., 2020; Taetsch i sur., 2018).

4.3. ODREĐIVANJE GLUTENA U CJELODNEVNIM UZORCIMA HRANE

Osnovni tretman za djecu oboljelu od celijakije je stroga bezglutenska dijeta, a pridržavanjem iste promoviraju se bolji zdravstveni ishodi, ali i sami simptomi bolesti (Jadrešin i sur., 2008). Međutim nenamjieran unos glutena ili izloženost glutenu postaje sve češća čak i kroz strogu bezglutensku dijetu (Silvester i sur., 2016). Teško je u potpunosti izbjeći gluten s obzirom na to da se koristi i radi svojih tehničkih svojstava (viskoznost, elastičnost) u širokom spektru prehrambenih proizvoda (Lanzini i sur., 2009). Da bi namirnica bila deklarirana kao hrana bez glutena ona mora sadržavati <20 mg/kg glutena te se smatra da je takav unos siguran za osobe oboljele od celijakije (Gibert i sur., 2013). Istraživanja su pokazala kako siguran dnevni unos glutena varira od pacijenta do pacijenta, no manje od 10 mg ne bi trebalo uzrokovati ikakve histološke abnormalnosti kod osoba oboljelih od celijakije (Akobeng i Thomas, 2008). Ta količina odgovara mogućoj nenamjernoj kontaminaciji bezglutenskih proizvoda koja postaje sve češća i neizbježna je, a to dokazuje da je toliki unos siguran za većinu osoba s celijakijom (Al-Toma i sur., 2019). S druge strane opetovani unos namirnica koje su kontaminirane tragovima glutena mogu uzrokovati oštećenje mukoze tankog crijeva te pogoršanje simptoma celijakije (Lanzini i sur., 2009). U slučaju djece s celijakijom koja su u fazi intenzivnog rasta i razvoja, važno je usmjeriti dodatnu pažnju na bezglutensku dijetu kako bi se izbjegli mogući nutritivni deficiti i usporen rast i razvoj, ali i radi prevencije bolesti i komplikacija kao neplodnost, maligne bolesti itd. (Reilly i sur., 2012). Kako bi se utvrdila eventualna prisutnost glutena, u ovom istraživanju je analizirano 16 cjelodnevni bezglutenskih uzoraka hrane od ukupno 8 ispitanika oboljelih od celijakije. Analizom uzoraka hrane utvrđeno je da niti nijedan uzorak hrane ne sadrži više glutena od limita kvantifikacije same metode (< 5 ppm) (Tablica 3). Time su bezglutenski obroci koje roditelji pripremaju svojoj djeci sigurni za prehranu i zdravlje njihove djece.

Tablica 3. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim cjelodnevnim uzorcima hrane

| Uzorak | Glijadin (mg/kg) | Gluten (mg/kg) |
|--------|------------------|----------------|
| GF1 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF2 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF3 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF3 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF5 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF6 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF7 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF8 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF9 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF10 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF11 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF12 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF13 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF14 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF15 | < 2,50 | < 5,00 |
| GF16 | < 2,50 | < 5,00 |

Istraživanje van der Fels-Klerx i sur. (2020) također iznosi podatke o prisutnosti glutena u bezglutenskoj dijeti u niskim koncentracijama (<10 mg/kg). Uzorci hrane su prikupljeni duplikat dijetom uz dnevnik prehrane od 27 pacijenata s celijakijom, a ukupno je analizirano 499 uzoraka hrane ELISA metodom od čega je u 6 % uzoraka detektiran gluten, ali u niskim koncentracijama (van der Fels-Klerx i sur., 2020). S druge strane u istraživanju Silvester i sur. (2020) 25 od 313 prikupljenih uzoraka hrane osoba s celijakijom na bezglutenskoj dijeti imala su mjerljive količine glutena i to 40 % uzoraka je imalo >20 ppm, a 20 % uzoraka čak >200 ppm glutena. S druge strane 12 od 18 pacijenata je u tom istom istraživanju samostalno procijenilo kako izvrsno održavaju svoju bezglutensku dijetu.

5. ZAKLJUČAK

U provedenom istraživanju koji je za cilj imao utvrditi jesu li bezglutenski obroci djece oboljele od celijakije kontaminirani glutenom te kakva je kakvoća prehrane takve djece, možemo zaključiti:

1. Niti u jednom cjelodnevnom uzorku hrane (n=16) nije utvrđena prisutnost glutena u koncentracijama koje bi bile štetne za osobe oboljele od celijakije odnosno količine glutena bile su niže od limita kvantifikacije same metode (< 5 ppm).
2. Analizom glutena, na razini promatrana dva dana, potvrđeno je mišljenje roditelja kako im djeca konzumiraju strogo bezglutensku prehranu.
3. Međutim, analiza dnevnika prehrane utvrdila je da bezglutenska prehrana djece s celijakijom sadrži manje prehrambenih vlakana, te da sadrži veći udio masti i soli u odnosu na preporuke. Unatoč tome što je analiza bezglutenskih obroka potvrdila kako su sigurni za konzumaciju djece oboljele od celijakije obzirom na minimalne detektirane doze glutena, potrebna je dodatna edukacija roditelja kako bi se više pažnje usmjerilo na samu kakvoću bezglutenske prehrane.

6. LITERATURA

Abreu Paiva LM, Gandoli L, Pratesi R, Uenishi RH, Puppini Zandonadi R, Nakano EY, i sur. (2019) Measuring Quality of Life in Parents or Caregivers of Children and Adolescents with Celiac Disease: Development and Content Validation of the Questionnaire. *Nutrients* **11**, 2302. <https://doi.org/10.3390/nu11102302>

Academy of Nutrition and Dietetics (2021) Celiac Disease (CD) Guideline (2009). <https://www.andean.org/topic.cfm?menu=5279&cat=3677>. Pristupljeno 11. kolovoza 2021.

Aguayo-Patrón SV, Calderón de la Barca AM (2017) Old Fashioned vs. Ultra-Processed-Based Current Diets: Possible Implication in the Increased Susceptibility to Type 1 Diabetes and Celiac Disease in Childhood. *Foods* **6**, 100. <https://doi.org/10.3390/foods6110100>

Aguilar N, Albanell E, Miñarro B, Capellas M (2015) Chickpea and tiger nut flours as alternatives to emulsifier and shortening in gluten-free bread. *LWT Food Sci Technol* **62**, 225-232. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.045>

Ahmad I, Mirza T, Qadeer K, Nazim U, Vaid FH (2013) Vitamin B6: Deficiency diseases and methods of analysis. *Pak J Pharm Sci* **26**, 1057–1069.

Ahuja S (2016) Importance of nutrition education in treating and preventing obesity in minority populations in the United States. *Agro Food Ind Hi Tec* **27**(1), 32-35.

Akobeng AK, Thomas AG (2008) Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* **27**, 1044-1052. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03669.x>

Alebić IJ (2008) Prehrambene smjernice i osobitosti osnovnih skupina namirnica. *Medicus* **17**(1), 37-46.

Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, Castillejo G, Sanders DS, Cellier C, i sur. (2019) European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United Eur Gastroent* **7**, 583-613. <https://doi.org/10.1177/2050640619844125>

Anderson JW, Baird P, Davis RH, Ferreri S, Knudtson M, Koraym A, i sur. (2009) Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev* **67**, 188-205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>

Araújo HMC, Araújo WMC (2011) Coeliac disease. Following the diet and eating habits of participating individuals in the Federal District, Brazil. *Appetite* **57**, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2011.04.007>

Atasoy G, Gokhisar OK, Turhan M (2019) Gluten contamination in manufactured gluten-free foods in Turkey. *Food Addit Contam A* **37**, 363-373. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1696021>

Bardella MT, Fredella C, Prampolini L, Molteni N, Giunta AM, Bianchi PA (2000) Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am J Clin Nutr* **72**, 937-939. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.4.937>

Botero-Lopez JE, Araya M, Parada A, Mendez MA, Pizarro F, Espinosa N, Canales P, Alarcon T (2011) Micronutrient deficiencies in patients with typical and atypical celiac disease. *J Pediatr Gastr Nutr* **53**, 265-270. <https://doi.org/10.1097/mpg.0b013e3181f988fc>

Biesiekierski JR (2017) What is gluten? *J Gastroen Hepatol* **32**, 78-81. <https://doi.org/10.1111/jgh.13703>

Brambilla P, Picca M, Meneghin F, Cravidi C, Tischer MC, Vivaldo T, i sur. (2013) Changes of body mass index in celiac children on a gluten-free diet. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* **23**, 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.10.002>

Calcaterra V, Regalbuto C, Manuelli M, Klersy C, Pelizzo G, Albetini R, i sur. (2020) Screening for celiac disease among children with overweight and obesity: toward exploring celiac iceberg. *J Pediatr Endocr Met* **33**, 995-1002. <https://doi.org/10.1515/jpem-2020-0076>

Capristo E, Addolorato G, Mingrone G, De Gaetano A, Greco AV, Tataranni PA, i sur. (2000) 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* **72**, 76-81. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.1.76>

Celiac Disease Foundation (2018) Celiac disease, <https://celiac.org/celiacdisease/understanding-celiac-disease-2/what-is-celiac-disease/>. Pristupljeno 7. kolovoza 2021.

Charoenngam N, Shirvani A, Holick MF (2019) Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know. *J Clin Orthop Trauma* **10**, 1082–1093. <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2019.07.004>

Choi JM, Lebwohl B, Wang J, Lee SK, Murray JA, Sauer MV, Green PH (2011) Increased prevalence of celiac disease in patients with unexplained infertility in the United States. *J Reprod Med* **56**(5-6), 199-203.

CODEX (2013) Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, Rome, Italy, STAN 234-1999.

Codex Alimentarius - Codex Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten – CODEX STAN 118-1979 – rev. 2008.

Coeliac UK (2021) The gluten free diet. <<https://www.coeliac.org.uk/information-and-support/living-gluten-free/the-gluten-free-diet/?&&type=rfst&set=true#cookie-widget>> Pristupljeno 11. kolovoza 2021.

Demirkesen I, Ozkaya B (2020) Recent strategies for tackling the problems in the gluten-free diet and products. *Crit Rev Food Sci*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1823814>

Diamanti A, Capriati T, Sole Basso M, Panetta F, di Commo Laurora VM, Bellucci F, i sur. (2014) Celiac Disease and Overweight in Children: An Update. *Nutrients* **6**, 207-220. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fnu6010207>

Diaz-Sampedro A, Olenick M, Maltseva T, Flowers M (2019) A Gluten-Free Diet, Not an Appropriate Choice without a Medical Diagnosis. *J Nutr Met*. <https://doi.org/10.1155/2019/2438934>

Dickey W (2002) Low serum vitamin B12 is common in coeliac disease and is not due to autoimmune gastritis. *Eur J Gastro Hepatol* **14**, 425–7. <https://doi.org/10.1097/00042737-200204000-00016>

Do Nascimento A, Fiates GMR., dos Anjos A, Teixeira E (2014) Gluten-free is not enough – perception and suggestions of celiac consumers. *Int J Food Nutr* **65**, 394-398. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.879286>

EFSA (2019) Dietary Reference Values for the EU. EFSA- European Food Safety Agency, <https://multimedia.efsa.europa.eu/drvs/index.htm>. Pristupljeno 11. listopada 2021.

Estevez V, Araya M (2016) Gluten-free diet and gluten-free foods. *Rev Chil Nutr* **43**, 428-433. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000400014>

Ferrara P, Cicala M, Tiberi E, Spadaccio C, Marcella I, Gatto A, i sur. (2009) High fat consumption in children with celiac disease. *Acta Gastro-ent Belg* **72**, 296-300.

Francesco R, Polito C, Marotta A, di Toro A, Iovene A, Collini R, i sur. (1996) Restoration of Body Composition in Celiac Children after One Year of Gluten-Free Diet. *J Pediatr Gastr Nutr* **23**, 408-412.

Gladys K, Dardzinska J, Guzek M, Adrych K, Kochan Z, Malgorzewicz S (2021) Expanded Role of a Dietitian in Monitoring a Gluten-Free Diet in Patients with Celiac Disease: Implications for Clinical Practice. *Nutrients* **13**, 1859; doi: 10.3390/nu13061859

Gibert A, Kruizinga AG, Neuhold S, Houben GF, Canela MA, Fasano A, Catassi C (2013) Might gluten traces in wheat substitutes pose a risk in patients with celiac disease? A population-based probabilistic approach to risk estimation. *Am J Clin Nutr* **97**, 109–116. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.047985>

Grehn S, Fridell K, Lilliecreutz M, Hallert C (2001) Dietary habits of Swedish adult coeliac patients treated by a gluten-free diet for 10 years. *Food Nutr Res* **45**, 178-182. <https://doi.org/10.3402/fnr.v45i0.1795>

Gutowski ED, Weiten D, Green KH, Rigaux LN, Bernstein CN, Graff LA, Walker JR, Duerksen DR, Silvester JA (2020) Can individuals with celiac disease identify gluten-free foods correctly? *Clin Nutr* **36**, 82-90. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2020.01.012>

Hager AS, Wolter A, Jacob F, Zannini E, Arendt EK (2012) Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *J Cereal Sci* **56**, 239–247. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2012.06.005>

Halfderson T, Kumar N, Hogan WJ, Murray JA (2009) Copper deficiency in celiac disease. *J Clin gastroenterol* **43**, 162-164. <https://doi.org/10.1097/mcg.0b013e3181354294>

Hallert C, Grant C, Grehn S, Hulten C, Midhagen G, Strom M, Svensson H, Valdimarsson (2002) Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment Pharmacol Ther* **16**, 1333-1339. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.2002.01283.x>

Hallert C, Svensson M, Tholstrup J, Hultberg B (2009) Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* **29**, 811-816. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.03945.x>

Hausch F, Shan L, Santiago NA, Gray GM, Khosla C (2002) Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *Gastrointestinal and liver physiology* **283**, 996-1003. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00136.2002>

HHS/USDA (2005) HHS-Department of Health and Human Services, USDA- Department of Agriculture, <https://health.gov/sites/default/files/2020-01/DGA2005.pdf>. Pristupljeno 15. kolovoza 2021.

Hopman EGD, Le Cessie S, von Blomberg BME, Mearin ML (2006) Nutritional Management of the Gluten-free Diet in Young People with Celiac Disease in The Netherlands. *J Pediatr Gastr Nutr* **43**, 102-108. <https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000228102.89454.eb>

Hoppe C, Gøbel R, Kristensen M, Vandelbo Lind M, Matthiessen J, Christensen T, i sur. (2015) Intake and sources of gluten in 20-to 75-year-old Danish adults: a national dietary survey. *Eur J Nutr* **56**, 107-117. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1062-3>

Howard MR, Turnbull AJ, Morley P, Hollier P, Webb R, Clarke A (2002) A prospective study of the prevalence of undiagnosed coeliac disease in laboratory defined iron and folate deficiency. *J Clin Pathol* **55**, 754-7. <https://dx.doi.org/10.1136%2Fjcp.55.10.754>

Jadrešin O, Mišak Z, Sanja K, Sonicki Z, Žižić V (2008) Compliance with gluten-free diet in children with coeliac disease. *J Pediatr Gastr Nutr* **47**, 344-348. <https://doi.org/10.1097/mpg.0b013e31816f856b>

Khashan AS, Henriksen TB, Mortensen PB, McNamee R, McCarthy FP, Pedersen MG, Kenny LC (2010) The impact of maternal celiac disease on birthweight and preterm birth: a Danish population-based cohort study. *Hum Reprod* **25**, 528-34. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep409>

- King JA, Jeong J, Underwood FE, Quan J, Panaccione N, Windsor JW, i sur. (2020) Incidence of Celiac Disease Is Increasing Over Time: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Gastroenterol* **115**, 507-525.
- Kinos S, Kurppa K, Ukkola A, Collin P, Lahdeaho M, Huhtala H, i sur. (2012) Burden of illness in screen-detected children with celiac disease and their families. *J Pediatr Gastr Nutr* **55**, 412-416. <https://doi.org/10.1097/mpg.0b013e31825f18ff>
- Kinsey L, Burden ST, Bannerman E (2008) A dietary survey to determine if patients with coeliac 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. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602856>
- Koerner TB, Cleroux C, Poirier C, Cantin I, Alimkulov A, Elamparo H (2011) Gluten contamination in the Canadian commercial oat supply. *Food Addit Contam Part A* **28**:705–710. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.579626>
- Koletzko B, Dokoupil K, Reitmayr S, Weimert-Harendza B, Keller E (2000) Dietary fat intakes in infants and primary school children in Germany. *Am J Clin Nutr* **72**, 1392-1398.
- Kreutz JM, Adriaanse MPM, van der Ploeg EM, Vreugdenhil ACE (2020) Narrative Review: Nutrient Deficiencies in Adults and Children with Treated and Untreated Celiac Disease. *Nutrients* **12**, 500. <https://doi.org/10.3390/nu12020500>
- Kucek LK, Veenstra LD, Amnuaycheewa P, Sorrells ME (2015) A Grounded Guide to Gluten: How Modern Genotypes and Processing Impact Wheat Sensitivity. *Compr. Rev Food Sci Food Saf* **14**, 285-302. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12129>
- Koluglu Z, Kirsaciloglu CT, Kansu A, Ensari A, Girgin N (2009) Celiac Disease: Presentation of 109 Children. *Yonsei Med J* **50**, 617-623.
- La Vieille S, Dubois S, Hayward S, Koerner TB (2014) Estimated levels of gluten incidentally present in a canadian gluten-free diet. *Nutrients* **6**, 881-896. <https://doi.org/10.3390/nu6020881>
- Lanzini A, Lanzarotto F, Villanacci V, Mora A, Bertolazzi S, Turini D, i sur. (2009) Complete recovery of intestinal mucosa occurs very rarely in adult coeliac patients despite adherence to gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* **15**, 1299–1308. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.03992.x>

Lee RD, Nieman DC (2003) *Nutritional Assessment*, 3. izd., McGraw-Hill Companies, Inc., New York.

Lee AR, Ng DL, Zivin J, Green PHR (2007) Economic burden of a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet* **20**, 423-430. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277x.2007.00763.x>

Lerner A, Gruener N, Iancu TC (1993) Serum carnitine concentrations in coeliac disease. *Gut* **34**, 933-935. <https://dx.doi.org/10.1136%2Fgut.34.7.933>

Lionetti E, Antonucci N, Marinelli M, Bartolomei B, Franceschini E, Gatti S, i sur. (2020) Nutritional status, dietary intake, and adherence to the mediterranean diet of children with CD on a gluten-free diet: A case-control prospective study. *Nutrients* **12**, 143; <https://doi.org/10.3390/nu12010143>

Ludvigsson JF, Card T, Ciclitira PJ, Swift GL, Nasr I, Sanders DS, Ciacci C (2015) Support for patients with celiac disease: A literature review. *United Eur Gastroenterol J* **3**, 146–159. <https://dx.doi.org/10.1177%2F2050640614562599>

Macedo EC, da Silva LR, Paiva MS, Ramos MNP, Macedo EC, da Silva LR, i sur. (2015) Burden and quality of life of mothers of children and adolescents with chronic illnesses: An integrative review. *Rev Lat Am Enferm* **23**, 769–777. <https://doi.org/10.1590/0104-1169.0196.2613>

Macêdo MIP, Albuquerque MFM, Tahan S, de Morais MB (2020) Is There Any Association between Overweight, Physical Activity, Fat and Fiber Intake with Functional Constipation in Adolescents? *Scand J Gastroenterol* **55**, 414–420.

Mariani P, Viti MG, Montouri M, La Vecchia A, Cipoletta E, Calvani L, Bonamico M (1998) The Gluten-Free Diet: A Nutritional Risk Factor for Adolescents with Celiac Disease? *J Pediatr Gastr Nutr* **27**, 519-523. <https://doi.org/10.1097/00005176-199811000-00004>

Markets and Markets (2020) *Gluten-free Products Market by Type (Bakery products, Snacks & RTE products, Condiments & dressings, Pizzas & pastas), Distribution channel (Conventional stores, Specialty stores and Drugstores & Pharmacies), Form & Region - Global Forecast to 2025*, <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/gluten-free-products-market-738.html>. Pristupljeno 16. kolovoza 2021.

Martinelli P, Troncone R, Paparo F, Torre P, Trapanese E, Fasano C, i sur. (2000) Coeliac disease and unfavourable outcome o pregnancy. *Gut* **46**, 332-335. <https://doi.org/10.1136/gut.46.3.332>

Melini V, Melini F (2019) Gluten-free diet: gaps and needs for a healthier diet. *Nutrients* **11**, 170. <https://doi.org/10.3390/nu11010170>

Miranda J, Lasa A, Bustamante MA, Churruga I, Simon E (2014) Nutritional Differences between a Gluten-Free Diet and a Diet Containing Equivalent Products with Gluten. *Plant Foods Hum Nutr* **69**, 182–187. <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0410-4>

Monachesi C, Verma AK, Catassi GN, Galeazzi T, Franceschini E, Perticaroli V, i sur. (2021) Quantification of Accidental Gluten Contamination in the Diet of Children with Treated Celiac Disease. *Nutrients* **13**, 190. <https://doi.org/10.3390/nu13010190>

Mora S, Barera G, Beccio S, Menni L, Proverbio MC, Bianchi C, Chiumello G (2001) A prospective, longitudinal study of the long-term effect of treatment on bone density in children with celiac disease. *J Pediatr* **139**, 516-521. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.116298>

Nestares T, Martin-Masot R, Labella A, Aparicio VA, Flor-Aleman M, Lopez-Frias M, Maldonado J (2020) Is a Gluten-Free Diet Enough to Maintain Correct Micronutrients Status in Young Patients with Celiac Disease? *Nutrients* **12**, 844; <https://doi.org/10.3390/nu12030844>

Newnham ED, Shepherd SJ, Strauss BJ, Hosking P, Gibson PR (2016) Adherence to the gluten-free diet can achieve the therapeutic goals in almost all patients with coeliac disease: A 5-year longitudinal study from diagnosis. *J Gastroent Hepatol* **31**, 342-349. <https://doi.org/10.1111/jgh.13060>

O’Leary F, Samman S (2010) Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients* **2**, 299–316. <https://doi.org/10.3390/nu2030299>

Ohlund K, Olsson C, Hernell O, Ohlund I (2010) Dietary shortcomings in children on a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet* **23**, 294-300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277x.2010.01060.x>

- Ojetti V, Nucera G, Mignecom A, Gabrielli M, Lauritano C, Danese S, i sur. (2005) High prevalence of celiac disease in patients with lactose intolerance. *Digestion* **71**, 106-10. <https://doi.org/10.1159/000084526>
- Pacyński M, Wojtasiak RZ, Mildner-Szkudlarz S (2015) Improving the aroma of gluten-free bread. *LWT Food Sci Technol* **63**, 706-713. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.lwt.2015.03.032>
- Pham-Short A, Donaghue KC, Ambler G, Garnett S, Craig ME (2017) Greater postprandial glucose excursions and inadequate nutrient intake in youth with type 1 diabetes and celiac disease. *Sci Rep* **7**, 45286, doi: 10.1038/srep45286
- Pravilnik (2010) Pravilnik o hrani bez glutena. *Narodne novine* **83**, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_83_2374.html. Pristupljeno 15. kolovoza 2021.
- Program (2002) Program zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima. *Narodne novine* **105**, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2002_09_105_1735.html. Pristupljeno 25. kolovoza 2021.
- Raju N, Joshi AKR, Vahini R, Deepika T, Bhaskarachari K, Devindra S (2020) Gluten contamination in labelled and naturally gluten-free grain products in southern India. *Food Addit Contam* **37**, 531-538. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1711970>
- Rea F, Polito C, Marotta A, Di Toro A, Iovene A, Collini R, i sur. (1996) Restoration of body composition in celiac children after one year of gluten-free diet. *J Pediatr Gastr Nutr* **23**(4), 408–412. <https://doi.org/10.1097/00005176-199611000-00007>
- Reilly NR, Aguilar K, Hassid BG, Cheng J, DeFelice AR, Kazlow P, Bhagat G, Green PH (2011) Celiac Disease in Normal-weight and Overweight Children Clinical Features and Growth Outcomes Following a Gluten-free Diet. *J Pediatr Gastr Nutr* **53**, 528-531. <https://doi.org/10.1097/mpg.0b013e3182276d5e>
- Reilly NR, Dixit R, Simpson S, Green PH (2012) Celiac disease in children: an old disease with new features. *Minerva Pediatr* **64**, 71-81.
- Rodrigues AF, Jenkins HR (2006) Coeliac disease in children. *Current Paediatrics* **16**, 317-321. <https://doi.org/10.1016/j.cupe.2006.07.010>
- Rogers PC (2015) Importance of nutrition in pediatric oncology. *Indian J Cancer* **52** (2), 176-178. <https://doi.org/10.4103/0019-509x.175830>

Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA (2013) AMERICAN COLLEGE OF GASTROENTEROLOGY CLINICAL GUIDELINE: DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF CELIAC DISEASE. *Am J Gastroenterol* **108**, 656-677. <https://dx.doi.org/10.1038%2Fajg.2013.79>

Scotta MS, Salvatore S, Salvatoni A, De Amici M, Ghiringhelli D, Broggin M, Nespoli L (1997) Bone mineralization and body composition in young patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol* **92**, 1331-4.

Setavand Z, Ekamzadeh M, Honar N (2021) Evaluation of malnutrition status and clinical indications in children with celiac disease: a cross-sectional study. *BMC Pediatrics* **21**, 147.

Sharma GM, Pereira M, Williams KM (2015) Gluten detection in foods available in the United States—a market survey. *Food Chem* **169**,120–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.134>

Silvester JA, Comino I, Rigaux LN, Segura V, Green KH, Cebolla A, i sur. (2020) Exposure sources, amounts and time course of gluten ingestion and excretion in patients with coeliac disease on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* **52**, 1469-1479.

Silvester JA, Graff LA, Rigaux L, Walker JR, Duerksen DR (2016) Symptomatic suspected gluten exposure is common among patients with coeliac disease on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* **44**, 612-619. <https://doi.org/10.1111/apt.13725>

Simpson S, Thompson T (2012) Nutrition assesment in celiac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am* **22**, 797-809. <https://doi.org/10.1016/j.giec.2012.07.010>

Snyder J, Butzner JD, DeFelice AR, Fasano A, Guandalini S, Liu E, Newton KP (2016) Evidence-Informed Expert Recommendations for the Management of Celiac Disease in Children. *Pediatrics* **138**(3):e20153147

Soto LG, Martin-Masot R, Nestares T, Maldonado J (2019) Analysis of the gluten-free menus served in school canteens: are they balanced? *Nutr Hosp* **36**, 912-918. <https://doi.org/10.20960/nh.02633>

- Stefanolo JP, Tálamo M, Dodds S, de la Paz Temprano M, Costa AF, Moreno M L, i sur. (2021) Real-World Gluten Exposure in Patients with Celiac Disease on Gluten-Free Diets, Determined from Gliadin Immunogenic Peptides in Urine and Fecal Samples. *Clin Gastroenterol H* **19**, 484-491. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.03.038>
- Suárez-González M, Bousoño-García C, Jiménez-Treviño S, Díaz-Martín JJ (2021) Gluten-Free Diet: Nutritional Strategies to Improve Eating Habits in Children with Celiac Disease: A Prospective, Single-arm Intervention Study. *Nutrients* **13**, 1108. <https://doi.org/10.3390/nu13041108>
- Syage JA, Kelly CP, Dickason MA, Ramirez AC, Leon F, Dominguez R, Sealey-Voyksner JA (2018) Determination of gluten consumption in celiac disease patients on a gluten-free diet. *Am J Clin Nutr* **107**, 201–207. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqx049>
- Taetzsch A, Das SK, Brown C, Krauss A, Silver RE, Roberts SB (2018) Are Gluten-Free Diets More Nutritious? An Evaluation of Self-Selected and Recommended Gluten-Free and Gluten-Containing Dietary Patterns. *Nutrients* **10**, 1881; <https://doi.org/10.3390/nu10121881>
- Thompson T, Roland Lee A, Grace T (2010) Gluten contamination of grains, seeds, and flours in the United States: a pilot study. *J Am Diet Assoc* **110**, 937-940. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2010.03.014>
- Tikkakoski S, Savilahti E, Kolho K (2007) Undiagnosed coeliac disease and nutritional deficiencies in adults screened in primary health care. *Scand J Gastroentero* **42**, 60-65. <https://doi.org/10.1080/00365520600789974>
- Tran CD, Katsikeros R, Manton N, Krebs NF, Hambidge KM, Butler RN, Davidson GP (2011) Zinc homeostasis and gut function in children with celiac disease. *Am J Clin Nutr* **94**, 1026–1032. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.018093>
- Van der Fels-Klerx HJ, Smits NGE, Bremer MGEG, Schultink JM, Nijkamp MM, Castenmiller JJM, de Vries JHM (2020) Detection of gluten in duplicate portions to determine gluten intake of coeliac disease patients on a gluten-free diet. *British Journal of Nutrition*, doi:10.1017/S0007114520002974
- Venkatasubramani N, Telega G, Werlin SL (2010) Obesity in Pediatric Celiac Disease. *J Pediatr Gastr Nutr* **51**, 295-297. <https://doi.org/10.1097/mpg.0b013e3181d1365a>

Verma AK, Gatti S, Galeazzi T, Monachesi C, Padella L, Del Baldo G, i sur. (2017) Gluten Contamination in Naturally or Labeled Gluten-Free Products Marketed in Italy. *Nutrients* **9**, 115. <https://doi.org/10.3390/nu9020115>

Votava-Raić A, Raić F, Tješić-Drinković D, Vranešić Đ, Dujšin M, Vuković J, Senečić-Čala I, Omerza L (2006) Celijakija- bolest djece i odraslih. *Paediatr Croat* **50**, 17-31.

Weisbrod VM, Silvester JA, Raber C, McMahon J, Coburn SS, Kerzner B (2019) Preparation of gluten-free foods alongside gluten-containing food may not always be as risky for celiac patients as diet guides suggest. *Gastroenterology* **158**, 273-275. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.09.007>

Welstead L (2015) The Gluten – Free in the 3rd millennium: rules, risks and opportunities. *Diseases* **3**, 136 – 149. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fdiseases3030136>

West J, Logan RF, Smith CJ, Hubbard RB, Card TR (2004) Malignancy and mortality in people with coeliac disease: population based cohort study. *Brit Med J* **329**, 716-9. <https://doi.org/10.1136/bmj.38169.486701.7c>

WHO (2021) Growth reference data for 5-19 years. WHO-World Health Organization, <https://www.who.int/tools/growth-reference-data-for-5to19-years>. Pristupljeno 20. listopada 2021.

Wieser H (2007) Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol* **24**, 115-119. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>

Wieser H, Segura V, Ruiz-Carnicer A, Sousa C, Comino I (2021) Food safety and cross-contamination of gluten-free products:a narrative review. *Nutrients* **13**, 2244; <https://doi.org/10.3390/nu13072244>

Wild D, Robins GG, Burley VJ, Howdle PD (2010) Evidence of high sugar intake, and low fibre and mineral intake, in the gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* **32**, 573-81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04386.x>

Zuccotti G, Fabiano V, Dilillo D, Picca M, Cravidi C, Brambilla P (2012) Intakes of nutrients in Italian children with celiac disease and the role of commercially available gluten-free products. *J Hum Nutr Diet* **26**, 436-444. <https://doi.org/10.1111/jhn.12026>

PRILOZI

Dnevnik prehrane i upute za vođenje dnevnika prehrane

Upute za vođenje dnevnika uz **vaganje** (dovoljno je koristiti kuhinjsku vagu):

1. Zabilježite konzumiranje odmah nakon obroka. **Navedite svu konzumiranu hranu.**
2. U svakom retku navedite samo po jednu namirnicu ili po jedno jelo.
3. Detaljno opišite svaku namirnicu i način termičke obrade, a za jela navedite recept.
4. Navedite naziv proizvođača, ako je moguće.
5. Navedite samo količinu koja je pojedena, npr. kod povrća s puno nejestivog dijela.
6. Bilježite količinu **pomoću kuhinjske vage** a ako niste u mogućnosti onda uz pomoć kuhinjskog posuđa - žlica, čajna žličica, šalica, komadi, kriške, npr. 1 šalica *light* mlijeka, 2 kriške kruha, jedna jabuka.
7. Navedite način termičke obrade: svježe, smrznuto, sirovo, pečeno (u pećnici), prženo (u tavi), kuhano (lešo), pirjano, pohano, konzervirano.
8. Za konzervirane namirnice navedite tekućinu u kojoj se nalaze, npr. marelice (kompot) u soku, tuna u ulju.
9. Tijekom vođenja dnevnika nemojte mijenjati prehrambene navike.
10. Navedite dodane masti (ulje, maslac, margarin i sl.) korištene kao začin ili pri kuhanju.
11. Navedite sve napitke (i vodu) i dodatke prehrani.
12. Posebno naglasite da se radi o bezglutenskoj namirnici (npr. bezglutenska tjestenina, kupovni bezglutenski kruh, domaći bezglutenski kruh itd.).
13. **Ako bezglutenski kruh sami pripremate navedite recepturu i koju vrstu brašna upotrebljavate.**

Ako Vam je zgodnije za ispunjavanje možete zatražiti elektronsku verziju (word dokument) dnevnika prehrani.

Dnevnik prehrane (*retke po potrebi možete dodavati ili brisati*)

Ime i prezime djeteta: _____ **Datum:** _____

| Namirnica | Količina | Način pripreme | Napomena |
|--|-----------------|-----------------------|-----------------------------------|
| <i>Zajutrak (prvi obrok nakon buđenja)</i> | | | <i>Vrijeme:</i> <i>Mjesto:</i> |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| <i>Užina</i> | | | <i>Vrijeme:</i> <i>Mjesto:</i> |
| | | | |
| | | | |

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja VALENTINA ŠARIN izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis