

MEDICAL AREA

Food elimination based on immunoglobulin G antibodies improves gastrointestinal discomfort symptoms and sport performance in professional athletes

L'eliminazione dei cibi in base agli anticorpi immunoglobuline G migliora i sintomi dei disturbi gastrointestinali e la prestazione sportiva negli atleti professionisti

Marija KOSTIC-VUCICEVIC ¹*, Danica MICHALICKOVA ², Nenad DIKIC ¹,
Tamara STOJMENOVIC ¹, Marija ANDJELKOVIC ¹, Ivan NIKOLIC ¹,
Milica VUKASINOVIC-VESIC ¹, Tatjana MALIC ¹

¹Sports Medicine Association of Serbia, Belgrade, Serbia; ²Institute of Pharmacology, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

*Corresponding author: Marija Kostic-Vucicevic, Sports Medicine Associations of Serbia, Palmoticeva 26, 11000 Belgrade, Serbia. E-mail: marijamkotic@yahoo.com

SUMMARY

BACKGROUND: Intensive and frequent physical activity causes increase of the gastrointestinal (GI) barrier permeability leading to food intolerance. The aim was to examine the impact of 3-month elimination diet on specific IgG antibodies level, GI discomfort intensity, body composition and sports performance of the athletes.

METHODS: 22 professional athletes participated in this longitudinal study: 12 males (mean age 25±7 years) and 10 females (mean age 25±4 years), were on a 3-month elimination diet based on the results of specific IgG food intolerance blood test. The Allergy Questionnaire for Athletes (AQUA) and Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) questionnaires, specific IgG food intolerance blood test, basic medical examination and cardiopulmonary testing were assessed prior to and after the study.

RESULTS: AQUA scores were significantly lowered (P=0.0009). There was a trend to a significant reduction in total GSRS score (P=0.05) and a significant reduction of indigestion syndrome score (P=0.01). The level of the specific IgG antibodies was significantly decreased for all athletes and all foods they were intolerant to. Fat percent (FAT%) of the athletes decreased significantly (P=0.0008) without change in weight (P=0.06). Heart rate (HR) at the second (P=0.02) and the third (P=0.006) minute recovery phase was significantly lower. The flexibility of athletes significantly increased (P=0.001). The most important result is a significant reduction of the self-assessed indigestion syndrome. The decrease of the IgG antibody level points out that 3-month elimination diet decreased chronic inflammation of GI tract. The diet had a significant influence on athletes' body composition and it is indirect improvement of their sports performance. Reduction of the HR at the second and the third minute recovery phase is a direct improvement of sports performance.

CONCLUSIONS: Elimination diet based on IgG food intolerance leads to a significant improvement of GI discomfort symptoms and sports performance.

(Cite this article as: Kostic-Vucicevic M, Michalickova D, Dikic N, Stojmenovic T, Andjelkovic M, Nikolic I, et al. Food elimination based on immunoglobulin G antibodies improves gastrointestinal discomfort symptoms and sport performance in professional athletes. Med Sport 2017;70:480-94. DOI: 10.23736/S0025-7826.17.03102-7)

KEY WORDS: Diet - Athletes - Malabsorption syndromes - Survey and questionnaires.

RIASSUNTO

OBBIETTIVO: L'attività fisica intensa e frequente aumenta la permeabilità della barriera gastrointestinale (GI) causando l'intolleranza alimentare. Lo scopo dello studio era di valutare l'influenza della dieta di eliminazione, della durata di

tre mesi, sul livello degli anticorpi specifici IgC nel sangue degli atleti, sull'intensità dei disturbi gastrointestinali, sulla composizione corporea e sulle capacità sportive.

METODI: Ventidue atleti professionisti hanno partecipato a questo studio longitudinale (12 maschi — età media 25±7 anni — e 10 femmine — età media 25±4 anni) e sono stati sottoposti alla dieta di eliminazione per un periodo di tre mesi, basata sull'esame del sangue specifico per l'intolleranza alimentare IgC. All'inizio e alla fine dello studio, i partecipanti hanno compilato i questionari AQUA (Allergy Questionnaire for Athletes) e GSRS (Gastrointestinal Symptom Rating Scale) e sono stati sottoposti all'esame del sangue specifico per l'intolleranza alimentare IgC, all'esame medico e alla valutazione cardio-polmonare.

RISULTATI: Il punteggio AQUA è risultato significativamente ridotto ($P=0,0009$). Si è osservata una tendenza ad una riduzione significativa del punteggio totale GSRS ($P=0,05$) e del punteggio della sindrome di indigestione ($P=0,01$). Il livello degli anticorpi specifici IgC era notevolmente diminuito nel sangue di tutti gli atleti e per tutti gli alimenti a cui erano intolleranti. Il percentuale di grassi (FAT%) degli atleti è diminuito in modo significativo ($P=0,0008$) senza variazioni di peso corporeo ($P=0,06$). La frequenza cardiaca (HR) al secondo ($P=0,02$) e al terzo ($P=0,006$) minuto della fase di recupero del test cardio-polmonare era notevolmente più bassa. La flessibilità degli atleti è notevolmente aumentata ($P=0,001$). Il risultato più importante dello studio è la notevole riduzione della sindrome di indigestione valutato dagli atleti stessi. La riduzione del livello degli anticorpi IgC nel sangue degli atleti ha mostrato che la dieta di eliminazione ha comportato ad una diminuzione della infiammazione cronica del tratto gastrointestinale. La dieta ha avuto una importante influenza sulla composizione corporea degli atleti, il che rappresenta, in maniera indiretta, il miglioramento delle loro prestazioni sportive. La riduzione del HR al secondo e al terzo minuto della fase di recupero del test cardiopolmonare rappresenta il miglioramento delle prestazioni sportive.

CONCLUSIONI: La dieta di eliminazione basata sui risultati dell'esame del sangue specifico per l'intolleranza alimentare IgC riduce notevolmente i disturbi GI e migliora le prestazioni sportive degli atleti.

PAROLE CHIAVE: Dieta - Atleti - Intolleranze alimentari - Sondaggi e questionari.

Food intolerance is a subject of discussion within the scientific community, due to a huge amount of contradicting results obtained in clinical studies.¹⁻³ Different trials show that food intolerance is present in 2-20% of the world population.⁴⁻⁶ The prevalence is up to 80% in patients experiencing irritable bowel syndrome.⁴ Therefore, food intolerance appears to be a significant problem of modern humans and can be the cause of many health problems, such as chronic iron deficiency, chronic rhinitis, obesity, irritable bowel syndrome, eczema, hypertension, diabetes type II, migraine, chronic fatigue, malabsorption syndrome, hypothyroidism, depression, asthma.^{1, 7-16} Yet it is still difficult to be recognized.

Generally, the term of food intolerance is used to describe a list of health discomforts related to food consumption.¹⁷ Food intolerance of functional origin could be both toxic and non-toxic, thus the latter is related to microorganism toxins or natural food contaminants. Furthermore, non-toxic reactions are divided in immunologically and non-immunologically mediated reactions. Specifically, immunologic hypersensitivity reaction to some foods can include IgE antibodies (Type I) and can be non-IgE mediated (Type III).¹⁸

Type I is a typical hypersensitivity reaction with a quick onset and dramatic development. Destruction of IgE sensitized cells causes specific gastrointestinal (GI), cutaneous, respiratory and cardiovascular symptoms.¹ The type III hypersensitivity reaction is mediated by immune (IgG antibodies-food antigen) complexes formed in the gastrointestinal tract (GIT). The existence of

L'intolleranza alimentare è un tema dibattuto all'interno della comunità scientifica per i tanti risultati contraddittori ottenuti negli studi clinici.¹⁻³ Diversi studio mostrano che tale intolleranza è presente in una percentuale che varia dal 2% al 20% della popolazione mondiale.⁴⁻⁶ La prevalenza raggiunge l'80% nei pazienti che soffrono della sindrome del colon irritabile.⁴ Quindi, quello dell'intolleranza alimentare appare come un problema significativo per gli uomini moderni e può essere la causa di molti problemi di salute, come carenza cronica di ferro, rinite cronica, obesità, sindrome del colon irritabile, eczema, ipertensione, diabete di tipo II, emicrania, stanchezza cronica, sindrome da malassorbimento, ipotiroidismo, depressione e asma.^{1, 7-16} Tuttavia, è ancora difficile da riconoscere.

In generale, il termine intolleranza alimentare è utilizzato per descrivere una serie di disturbi legati all'assunzione dei cibi.¹⁷ Quella di origine funzionale può essere sia tossica che non tossica, nell'ultimo caso è legata a tossine dei microrganismi o a contaminanti naturali degli alimenti. Inoltre, le reazioni non tossiche si dividono in immunologicamente e non immunologicamente mediate. Nello specifico, la reazione di ipersensibilità immunologica ad alcuni cibi può includere anticorpi IgE (Tipo I) e può essere non-IgE mediata (Tipo III).¹⁸

Il Tipo I è una tipica reazione di ipersensibilità con una rapida insorgenza e un marcato sviluppo. La distruzione delle cellule IgE-sensibilizzate provocano specifici sintomi gastrointestinali (GI), cutanei, respiratori e cardiovascolari.¹ Il tipo III di reazione di ipersensibilità è mediata da immunocomplessi (anticorpi IgG-antigene alimentare) che

increased GI barrier permeability is necessary for this type of hypersensitivity. The formed immune complexes enter the blood circulation and can cause different symptoms depending on the tissue where they deposit. There at the target tissue, immune complexes attract the phagocytes and release inflammatory mediators, leading to chronic inflammation development.² In addition, type III hypersensitivity reaction to food has been widely identified by popular diagnostic techniques measuring the presence of food-specific IgG antibodies in serum. Namely, it has been shown that IgG antibody serum level determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test is a useful indicator for adverse reactions to food and food hypersensitivity.¹⁹

On the other hand, it is known that moderately physical activity have positive effects on the immunity, such as increase of immune competence and reduction of the risk of infection compared to a sedentary lifestyle.²⁰ However, it is shown that very intensive and frequent physical activity, as in the case of professional athletes, can have negative effects on immunity.²¹ It appears that intensive exercise induces the reduction of blood flow and elevation of temperature in the GIT,²¹ resulting in disruption of tight junctions and increase of GI barrier permeability, bacterial translocation and systemic inflammation.²¹ This could be the reason of a greater susceptibility to food intolerance in the population of elite athletes.²²

For this study, we hypothesized that the 3-month elimination diet could:

- decrease the level of specific IgG antibodies in serum for all foods to which the athletes were intolerant;
- reduce GI discomfort intensity in athletes;
- improve the body composition and sport performance in athletes.

While there is an emerging amount of evidence of the elimination diet effectiveness in some chronic pathogenic conditions, the data in professional athletes remains to be scarce. The aim of this, to our knowledge, first clinical trial in professional athletes was to examine the impact of 3-month elimination diet based on specific IgG antibodies on level of specific IgG antibodies, GI discomfort intensity, body composition and sport performance in the athletes.

Materials and methods

This was an experimental longitudinal study conducted during the period from December

si formano nel tratto gastrointestinale (GIT). Per questo tipo di ipersensibilità è necessaria l'esistenza di un'aumentata permeabilità della barriera GI. Gli immunocomplessi formati entrano nella circolazione del sangue e possono causare diversi sintomi a seconda del tessuto su cui si depositano. Nel tessuto target, gli immunocomplessi attraggono i fagociti e rilasciano mediatori infiammatori conducendo allo sviluppo di un'inflammatione cronica.² Inoltre, la reazione di ipersensibilità ai cibi di tipo III è stata ampiamente rilevata tramite comuni tecniche diagnostiche volte alla valutazione della presenza di anticorpi IgG specifici per un alimento nel siero. In altre parole, è stato dimostrato che il livello nel siero di anticorpi IgG determinato attraverso il saggio immunoassorbente legato a un enzima (ELISA) è un utile indicatore di reazioni avverse al cibo e ipersensibilità agli alimenti.¹⁹

Dall'altro lato, è noto che una moderata attività fisica ha effetti positivi sull'immunità, come l'aumento della capacità immunitaria e la riduzione del rischio di infezioni, rispetto a uno stile di vita sedentario.²⁰ Tuttavia, è stato dimostrato che un'attività fisica intensa e frequente, come nel caso degli atleti professionisti, può avere effetti negativi sull'immunità.²¹ Sembra che un esercizio intenso comporti la riduzione del flusso sanguigno e l'aumento della temperatura nel GIT,²¹ determinando interruzione delle giunzioni strette e aumento della permeabilità della barriera GI, traslocazione batterica e infiammazione sistemica.²¹ Ciò potrebbe motivare una maggiore suscettibilità all'intolleranza alimentare nella popolazione degli atleti di élite.²²

Per questo studio, abbiamo ipotizzato che la dieta trimestrale con l'eliminazione di alcuni cibi potesse:

- ridurre il livello di anticorpi IgG specifici nel siero per tutti i cibi a cui gli atleti erano intolleranti;
- ridurre l'intensità dei disturbi GI negli atleti;
- migliorare la composizione corporea e la prestazione fisica degli atleti.

Anche se vi sono sempre più evidenze dell'efficacia della dieta di eliminazione in alcune condizioni patologiche croniche, i dati sugli atleti professionisti rimangono scarsi. Lo scopo di questo che ci risulta essere il primo studio clinico sugli atleti professionisti era quello di valutare l'impatto di una dieta di eliminazione di tre mesi basata sul livello di anticorpi IgG specifici, l'intensità dei disturbi GI, la composizione corporea e la prestazione fisica sugli atleti.

Materiali e metodi

Si è trattato di uno studio longitudinale sperimentale condotto da dicembre 2015 a maggio

2015 to May 2016. The athletes kept food diary and physical activity diary for a period of 3 days at baseline, before the new way of nutrition. They filled in the Allergy Questionnaire for Athletes (AQUA) and Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) at baseline and at the end of the study. Each athlete had to follow individual elimination diet based on the results of a specific IgG food intolerance test. The data regarding specific IgG food intolerance blood test, basic medical examination and cardiopulmonary testing were collected prior to and after a 3-month elimination diet. During the study all athletes had a steady training and competition regime. The only exception of their routine was the new way of nutritional habits.

Participants

Twenty-two professional Caucasian athletes participated in this study: 12 males (aged 25±7 years) and 10 females (aged 25±4 years), non-smokers, with training >11 hours/week (considered for high training load).²³ Inclusion criteria were: score ≥5 on AQUA and score ≥5 on GSRS, presence of sensitivity to at least one of the most common foodstuffs (defined as IgG level towards any foodstuff ≥12.5 µg/mL). Exclusion criteria were: diagnosis of celiac disease, gluten-free or vegetarian diet, chronic diseases and a recent surgical intervention.

The participants of the study were training: kick box, taekwondo, tennis, bicycling, badminton, alpinism, kayak, triathlon, fencing, volleyball, karate, savate. They were the winners of the national or European and world championships in their categories and sport.

Ethics approval for the study was obtained from the Ethics committee of Sports medicine association of Serbia (SMAS). All the experimental procedures in the study followed the guidelines laid down in Declaration of Helsinki. The participants were informed about the study procedure, benefits and risks of the investigation prior to inclusion and before signing the informed consent.

Questionnaires

GSRS

GSRS questionnaire is a 15-item questionnaire for the purpose of gastrointestinal problems measurement.^{24, 25} The athletes were required to numerically rate their subjective

2016. Gli atleti hanno tenuto un diario alimentare e uno sull'attività fisica per tre giorni al basale, prima della nuova alimentazione. Al basale e alla fine dello studio, hanno compilato l'Allergy Questionnaire for Athletes (AQUA) e la Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS). Ogni atleta ha dovuto seguire una dieta di eliminazione individualizzata sulla base dei risultati di un test per le intolleranze alimentari mediate da IgG specifici. Prima e dopo una dieta di eliminazione di tre mesi, sono stati raccolti i dati riguardanti tale test effettuato sul sangue e si è proceduto a una visita medica di base e a un test cardiopolmonare. Durante lo studio, tutti gli atleti si sono allenati costantemente e hanno seguito una dieta da gara. L'unica eccezione alla loro routine erano le nuove abitudini alimentari.

Partecipanti

Allo studio hanno partecipato 22 atleti caucasici professionisti, 12 maschi (età 25±7 anni) e 10 femmine (età 25±4 anni), non fumatori, con un allenamento >11 ore a settimana (considerando un elevato carico di allenamento).²³ I criteri di inclusione erano: un punteggio ≥5 nel questionario AQUA e un punteggio ≥5 sulla scala GSRS, presenza di sensibilità ad almeno uno degli alimenti più comuni (definita come livello di IgG per qualsiasi alimento ≥12,5 µg/mL). I criteri di esclusione erano: diagnosi di malattia celiaca, alimentazione vegetariana o senza glutine, malattie croniche e un recente intervento chirurgico.

I partecipanti allo studio si allenavano in: kick box, taekwondo, tennis, ciclismo, badminton, alpinismo, kayak, triathlon, scherma, pallavolo, karate e savate. Erano i vincitori dei campionati nazionali, europei o mondiali delle loro categorie e sport.

L'approvazione etica per lo studio è stata ottenuta dal Comitato etico dell'Associazione serba di medicina sportiva (SMAS). Tutte le procedure sperimentali hanno seguito le linee guida stabilite nella Dichiarazione di Helsinki. I partecipanti sono stati informati sul procedimento, i benefici e i rischi dello studio prima di essere inclusi e prima della firma del consenso informato.

Questionari

GSRS

Il questionario GSRS è composto da 15 item per la valutazione dei problemi gastrointestinali.^{24, 25} Gli atleti sono stati invitati a classificare dal punto di vista numerico i loro sintomi soggettivi su una

symptoms on a scale of 0 (no symptoms, or symptom occurs very rarely) to 3 (very high intensity and frequency of the symptom), in order to count the total GSRS score, abdominal pain score, reflux score, indigestion score, diarrhea score and constipation score. GSRS questionnaire was self-administered twice: before and at the end of the study.

AQUA

The AQUA is a questionnaire specifically designed for allergy symptoms measurement in athletes. It contains 25 questions scored from 1 to 5, according to their positive likelihood ratio. A total AQUA score ≥ 5 is considered to be a positive predictive value for allergy.²⁶

The athletes self-administered AQUA questionnaire at the beginning and at the end of the study.

Specific IgG food intolerance test 22

Blood samples for this test were taken from the antecubital vein, prior to the cardiopulmonary testing. The samples were collected twice: at the beginning and at the end of the study. Serum was separated by centrifugation at 3500×g for 10 minutes. IgG food intolerance test (R-Biopharm AG®, Specific IgG Foodscreen Prescreen 1) is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the quantitative determination of specific IgG against food allergens in human serum. This test was used to check the presence of intolerance in athletes for the 22 most common foodstuffs in the nutrition: rice, gluten, cow's milk, sheep's milk/cheese, goat milk/cheese, chicken eggs, lobster, soy, peas/string bean, carrot, sweet pepper, tomatoes, pineapple, banana, orange, hazelnut, almond, yeast, honey, garlic, vanilla and chicken. Briefly, the test was performed on 96-well micro titer plates, which were coated with food allergens. Participants' sera, standard and control sera were pipetted into the corresponding wells and incubated at room temperature (RT) for 90 minutes. For the analysis of food allergen-specific IgG, the participants' sera were diluted 100 times. Unbound material was removed by washing with phosphate buffered saline (PBS). Subsequently, anti-human IgG antibodies conjugated with alkaline phosphatase were added and incubated at RT for 90 minutes. Any unbound conjugate was removed by washing with PBS. Finally, the substrate (p-nitrophenyl

scala da 0 (nessun sintomo o sintomi molto rari) a 3 (elevatissima intensità e frequenza del sintomo) per conteggiare il punteggio totale e i punteggi relativi a dolore addominale, reflusso, indigestione, diarrea e stitichezza. Il GSRS è stato autosomministrato due volte: prima dello studio e alla fine di questo.

AQUA

L'AQUA è un questionario appositamente concepito per la valutazione dei sintomi allergici negli atleti. Contiene 25 domande a cui si risponde assegnando un punteggio da 1 a 5, a seconda del rapporto di verosimiglianza positivo. Un punteggio totale ≥ 5 è considerato un valore predittivo positivo per allergia.²⁶

Gli atleti si sono autosomministrati il questionario AQUA all'inizio e alla fine dello studio.

Test per le intolleranze alimentari mediate da IgG specifici 22

I campioni di sangue sono stati prelevati dalla vena anticubitale prima del test cardiopolmonare. I campioni sono stati raccolti due volte: all'inizio e alla fine dello studio. Il siero è stato separato tramite centrifugazione a 3500×g per 10 minuti. Il test per le intolleranze alimentari mediate da IgG è un saggio immunoassorbente legato ad un enzima (ELISA) per la determinazione quantitativa di IgG specifici contro gli allergeni alimentari nel siero umano. Tale test è stato usato per verificare la presenza di intolleranza ai 22 cibi più comuni nella dieta degli atleti: riso, glutine, latte di mucca, latte/formaggio di pecora, latte/formaggio di capra, uova, aragosta, soia, piselli/fagiolini, carota, peperone, pomodoro, ananas, banana, arancia, nocciola, mandorla, lievito, miele, aglio, vaniglia e pollo. In breve, il test è stato eseguito su piastre per microtitolazione da 96 pozzetti ricoperte di allergeni alimentari. I sieri dei partecipanti, quelli standard e quelli di controllo sono stati pipettati nei pozzetti corrispondenti e incubati a temperatura ambiente (RT) per 90 minuti. Per l'analisi degli IgG allergene-specifici, i sieri dei partecipanti sono stati diluiti 100 volte. Il materiale non legato è stato rimosso eseguendo un lavaggio con soluzione salina tamponata con fosfato (PBS). Successivamente, sono stati aggiunti anticorpi IgG anti-umani coniugati con fosfatasi alcalina e incubati a RT per 90 minuti. Tutti i coniugati non legati sono stati rimossi tramite un lavaggio con PBS. Infine, è stato aggiunto il substrato (p-nitrofenilfosfato) ed è stata sviluppata la reazione per 30 minuti. L'assorbanza è stata misurata a 405 nm dopo la

phosphate) was added and the reaction was developed for 30 minutes. Absorbance was measured at 405 nm after deduction of the reference wavelength of 620/630 nm by using ELISA plate reader (Ascent 6-384 Suomi, MTX Lab Systems Inc., Vienna, VA, USA). The results of the test were divided into five groups according to IgG level: no sensitivity (0-7.5 µg/mL), low sensitivity (7.5-12.49 µg/mL), increased sensitivity (12.5-19.99 µg/mL), high sensitivity (20.0-49.99 µg/mL), extremely high sensitivity (≥ 50 µg/mL). The athletes were diagnosed with the food intolerance if the IgG level towards any foodstuff was ≥ 12.5 µg/mL.

Basic medical examination

Clinical check-up included anthropometric and body composition measurements, 12-lead ECG at rest, blood pressure at rest, dynamometer test and flexibility test. Body composition: body weight, Body Mass Index (BMI), body fat percentage (FAT%), and free fat mass (FFM) were measured by Tanita® scale BC-418MA. It was measured by bioimpedance method each time under the same conditions in the morning.²⁷

Flexibility test was performed by Sit-And-Reach Test, version from Eurofit test.²⁸ The athletes sat on the floor with feet straight out and their heels were on the box. Both knees were pressed down to the floor. Their hands were on top of each other, with palms facing downward and then they reached as far as they could towards their toes over the box. The distance from their toes to finger tips was measured in centimeters. The test was performed twice and the better was considered.

Cardiopulmonary testing

The cardiopulmonary exercise test was performed on a treadmill (H-P-COSMOS®). Prior to each test, CPET system was calibrated. The athletes were wearing a facemask and ECG device (Quarck® T 12x, Wireless 12-lead ECG). They were running maximal progressive test. Oxygen uptake ($\dot{V}O_{2max}$) was measured breath-by-breath using Quark CPET system (Cosmed®). Heart rate (HR) was observed by ECG device (COSMED® Wireless HR Monitor). All athletes have reached the following parameters: they reached 90% or more of predicted maximal heart rate (HR_{max}) for age and gender, a respiratory exchange ratio (RER) was greater than 1.05,

sottrazione della lunghezza d'onda di riferimento di 620/630 nm utilizzando il lettore delle piastre ELISA (Ascent 6-384 Suomi, MTX Lab Systems Inc., Vienna, VA, USA). I risultati del test sono stati divisi in cinque gruppi in base al livello di IgG: assenza di sensibilità (0-7,5 µg/ml), scarsa sensibilità (7,5-12,49 µg/ml), aumentata sensibilità (12,5-19,99 µg/ml), elevata sensibilità (20,0-49,99 µg/ml), elevatissima sensibilità (≥ 50 µg/ml). Agli atleti è stata diagnosticata un'intolleranza alimentare se il livello di IgG verso qualsiasi alimento era $\geq 12,5$ µg/ml.

Visita medica di base

Il check-up clinico ha incluso misurazioni antropometriche e della composizione corporea, ECG a 12 derivazioni a riposo, pressione arteriosa a riposo, test del dinamometro e test della flessibilità. Per quanto riguarda la composizione corporea, peso, Indice di massa corporea (IMC), percentuale di grasso nel corpo (FAT%) e massa libera da grasso (FFM) sono stati misurati tramite la scala Tanita® BC-418MA. La valutazione è avvenuta di mattina tramite il metodo della bioimpedenza, ogni volta con le stesse condizioni.²⁷

Per valutare la flessibilità è stato eseguito il test Sit-And-Reach, versione Eurofit.²⁸ Gli atleti sedevano sul pavimento con i piedi dritti e i talloni appoggiati al box. Entrambe le ginocchia venivano premute verso terra. Le mani erano una sopra l'altra, con i palmi rivolti verso il basso, e si avvicinavano quanto più potevano alle dita dei piedi appoggiate al box. La distanza tra le dita dei piedi e la punta delle dita delle mani è stata misurata in centimetri. Il test è stato eseguito due volte ed è stato considerato il risultato migliore.

Test cardiopolmonare

Il test da sforzo cardiopolmonare è stato effettuato su un tapis roulant (H-P-COSMOS®). Prima di ogni test, si è proceduto alla calibrazione del sistema CPET. Gli atleti indossavano una maschera per il viso e un dispositivo ECG (Quarck® T 12x, ECG wireless a 12 derivazioni) ed eseguivano un test progressivo massimale. L'uptake di ossigeno ($\dot{V}O_{2max}$) è stato misurato respiro dopo respiro tramite il sistema Quark CPET (Cosmed®). La frequenza cardiaca (HR) è stata osservata grazie al dispositivo ECG (cardiofrequenzimetro wireless COSMED®). Tutti gli atleti hanno raggiunto i seguenti parametri: 90% o più della frequenza cardiaca massima (HR_{max}) prevista per età e sesso, rapporto di scambio respiratorio (RER) superiore a 1,05, raggiungimento di un plateau da

oxygen uptake (VO_{2max}) achieved a plateau despite increased workload, and they reached volitional exhaustion. Cardiopulmonary test was conducted twice (at the beginning and at the end of the study).

Elimination diet

The athletes kept a food diary and physical activity diary for a period of 3 days at baseline, before the elimination diet. The diaries were referred to their typical 3 days, in terms of training regime and nutrition. Estimation of nutrient and energy intake (EI) was evaluated by an original nutritional software made by SMAS (based on EuroFIR food database for Serbia). Energy expenditure (EE) was calculated according to the values of basal metabolism (determined by Tanita® scale BC-418MA) and coefficients of approximate energy cost of different activities (calculated as average value of 3×24 h EE).²⁹

The results of the food diary indicated that the participants weren't in the balance between EI and EE (2621 ± 570 kcal vs. 3241 ± 746 kcal), and the intake of macro- and micronutrients was not according to recommended dietary allowances (RDA) (Table I).

Elimination diet was based on the results of IgG food intolerance blood test, specific physi-

parte dell'uptake di ossigeno (VO_{2max}) nonostante un carico di lavoro aumentato e raggiungimento dell'esaurimento volontario. Il test cardiopolmonare è stato condotto due volte (all'inizio e alla fine dello studio).

Dieta di eliminazione

Gli atleti hanno tenuto un diario alimentare e uno sull'attività fisica per tre giorni al basale, prima della dieta di eliminazione. I diari si riferivano a loro tipiche tre giornate in termini di regime di allenamento e alimentazione. La stima dei nutrienti e dell'apporto di energia (EI) è stata effettuata grazie a un software originale per la nutrizione sviluppato dalla SMAS (sulla base del database alimentare EuroFIR per la Serbia). Il consumo energetico (EE) è stato calcolato in base ai valori del metabolismo basale (determinati attraverso la scala Tanita® BC-418MA) e dei coefficienti di costo energetico approssimativo delle diverse attività (calcolati come valore medio di 3×24 h EE).²⁹

I risultati del diario alimentare indicavano che i partecipanti non presentavano un equilibrio tra EI e EE (2621 ± 570 kcal vs. 3241 ± 746 kcal) e l'assunzione di macro- e micronutrienti non era conforme agli apporti nutrizionali consigliati (RDA) (Tabella I).

La dieta di eliminazione è stata basata sui risultati del test sul sangue per le intolleranze alimentari mediate da IgG, su specifiche esigenze fisiche e sulle abitudini alimentari. La dieta individualizzata soddisfaceva l'equilibrio energetico (EI=EE, 3241 ± 746 kcal vs. 3241 ± 746 kcal), l'assunzione di carboidrati (55-60% dell'EI totale), grassi totali (fino al 30% dell'EI totale) e proteine (15% dell'EI totale). L'assunzione di micronutrienti proposta era conforme agli RDA. Ogni atleta ha dovuto rispettare un regime alimentare a seconda del suo consumo di energia, ma senza i cibi a cui era risultato intollerante. I partecipanti hanno seguito una dieta per tre mesi e l'evoluzione dei sintomi GI è stata monitorata dai ricercatori due volte a settimana, mentre il peso è stato controllato due volte al mese.

Analisi statistica

Le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il software IBM SPSS v. 20.0. La normalità dei dati è stata verificata con il test di Shapiro-Wilk. Per controllare i cambiamenti dei dati durante lo studio ci si è serviti del t-test accoppiato o del test dei ranghi con segno di Wilcoxon per campioni appaiati. I risultati per le variabili normal-

TABLE I.—Macro- and micronutrient intake in the participants.

TABELLA I. — Assunzione di macro- e micronutrienti da parte dei partecipanti.

Nutrient	Intake (mean±SD)
Water, mL	2076±988
Proteins, %	19.7±5.9
Carbohydrates, %	40.2±12.1
Total fat, %	40.1±9.3
Cholesterol, mg	326.3±276.9
Dietary fibers, g	11.7±5.8
Lactose, mg	278.4±619.5
Beta-carotenoids, µg	1358±1703
Calcium, mg	1062±797
Iodide, µg	67.7±59.5
Iron total, mg	68.9±253.6
Selenium, µg	1142±3544
Sodium, mg	2688±1699
Zinc, mg	8.57±4.91
Magnesium, mg	353.7±161.4
Vitamin A, µg	2940±8835
Vitamin E, mg	11.3±6.9
Vitamin D, µg	2.1±2.4
Vitamin C, mg	83.0±64.06
Vitamin K, µg	33.2±45.9

cal requirements and nutritional habits. The individual diet satisfied energy balance (EI=EE, 3241±746 kcal vs. 3241±746 kcal), intake of carbohydrates (55-60% of total EI), total fat (up to 30% of total EI) and proteins (15% of total EI). The proposed intake of micronutrients was according to RDA. Each athlete had to respect a dietary regimen according to his energy consumption, but without the foodstuffs which he was found to be intolerant to. The athletes were on a diet for 3 months and their progress in GI symptoms was monitored by researches twice per week, while their weight was checked twice per month.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the IBM SPSS software v. 20.0. The data normality was checked by Shapiro-Wilk test. Paired *t*-test or Wilcoxon signed-rank test for paired samples were used for checking the changes of the data during the study. The results for normally distributed variables data are expressed as mean value and standard deviation. When distribution was not normal, medians and 95% confidence intervals (CI) are given. A *P* value <0.05 was considered statistically significant.

Results

GSRS and AQUA results

There was a trend to a significant change in total score for GSRS at the beginning and at the end of the study (*P*=0.05). A significant reduction of syndrome indigestion score was noted (0.5, 0.3 to 0.7 vs. 0.3, 0.08 to 0.52; median, 95% confidence interval, *P*=0.01).

AQUA scores lowered significantly after the diet (4.9, 3.7 to 6.1 vs. 3.1, 1.9 to 4.2, *P*=0.0009).

Analysis of specific IgG antibody levels

The level of specific IgG antibodies significantly decreased for all athletes and all foodstuffs they were intolerant to. The only exception was soy, where the level of IgG antibodies was not decreased substantially, but there was a large numeric difference (3.4, -0.8 to 7.6 vs. 2.1, -1.1 to 5.3 µg/mL) (Table II).

The biggest changes in level of IgG antibodies were observed for gluten (63.9, 42.2 to 85.5 vs. 25.8, 11.8 to 39.8 µg/mL, *P*=0.00001), cow's milk (105.6, 83.8 to 127.2 vs. 52.1, 28.3

mente distribuite sono espressi come valore medio e deviazione standard. Quando la distribuzione era non normale, sono stati forniti mediane e intervalli di confidenza (CI) al 95%. Un valore di *P* <0,05 è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

Risultati GSRS e AQUA

È stata osservata una tendenza a un significativo cambiamento nel punteggio totale del GSRS all'inizio e alla fine dello studio (*P*=0,05). Inoltre, è stata notata una significativa riduzione del punteggio relativo alla sindrome da indigestione (0,5, da 0,3 a 0,7 vs. 0,3, da 0,08 a 0,52; mediana, IC 95%, *P*=0,01).

I punteggi AQUA si sono significativamente ridotti dopo la dieta (4,9, da 3,7 a 6,1 vs. 3,1, da 1,9 a 4,2, *P*=0,0009).

Analisi dei livelli di anticorpi IgG specifici

Il livello degli anticorpi IgG specifici è significativamente diminuito in tutti gli atleti e per tutti i cibi a cui erano intolleranti. L'unica eccezione è stata rappresentata dalla soia, dove tale livello non è sceso in maniera sostanziale, ma è stata notata un'ampia differenza numerica (3,4, da -0,8 a 7,6 vs. 2,1, da -1,1 a 5,3 µg/ml) (Tabella II).

I più grandi cambiamenti nel livello degli anticorpi IgG sono stati osservati per glutine (63,9, da 42,2 a 85,5 vs. 25,8, da 11,8 a 39,8 µg/ml, *P*=0,00001), latte di mucca (105,6, da 83,8 a 127,2 vs. 52,1, da 28,3 a 75,9 µg/ml, *P*=0,0009), uova (102,0, da 66,7 a 137,3 vs. 41,3, da 20,04 a 62,56 µg/ml, *P*=0,0001), ananas (19,7, da -6,6 a 46,0 vs. 6,6, da -0,02 a 13,22 µg/ml, *P*=0,004) e vaniglia (82,9, da 42,6 a 123,2 vs. 43,8, da 9,9 a 77,7 µg/ml, *P*=0,00001) (Figura 1).

Visita medica di base

L'analisi statistica non ha mostrato differenze in HR a riposo (*P*=0,07), pressione sistolica (TAs) a riposo (*P*=0,2) e pressione diastolica (TAd) a riposo (*P*=0,1). Questi risultati erano attesi e si presentavano come outcome secondari dello studio.

Durante lo studio non è stato notato alcun cambiamento significativo nella forza muscolare totale (*P*=0,1).

L'analisi statistica ha rivelato che la flessibilità degli atleti è significativamente aumentata (11,1, da 7,3 a 14,9 vs. 15,9, da 12,3 a 19,5 cm, *P*=0,001) alla fine dello studio.

TABLE II.—Number of intolerant athletes and IgG level at baseline and at the end of the study.
TABELLA II. — Numero di atleti intolleranti e livello di IgG al basale e alla fine dello studio.

Foodstuff	Baseline		End of study	
	N. intolerant athletes	IgG level	N. intolerant athletes	IgG level
Rice	2	4.5 (1.1 to 7.9)	1	2.4 (0.5 to 4.3)*
Gluten	21	63.9 (42.2 to 85.5)	19	25.8 (11.8 to 39.8)*
Cow's milk	17	105.6 (83.8 to 127.2)	16	52.1 (28.3 to 75.9)*
Sheep's milk/cheese	11	18.2±7.5	8	12.6±6.9*
Goat milk/cheese	13	17.1 (9.9 to 24.3)	9	11.7 (6.3 to 17.1)*
Chicken eggs	19	102.0 (66.7 to 137.3)	17	41.3 (20.04 to 62.56)*
Lobster	0	—	0	—
Soy	1	3.4 (-0.8 to 7.6)	1	2.1 (-1.1 to 5.3)
Peas/string bean	5	7.0 (3.1 to 10.9)	0	4.2 (1.9 to 6.5)*
Carrot	2	5.1 (-0.1 to 10.3)	0	1.9 (-0.2 to 3.9)*
Sweet pepper	4	9.9 (-0.1 to 19.8)	2	4.4 (0.3 to 8.5)*
Tomatoes	2	4.7 (-0.7 to 10.1)	1	2.3 (-0.7 to 5.3)*
Pineapple	6	19.7 (-6.6 to 46.0)	3	6.6 (-0.02 to 13.22)*
Banana	1	3.3±9.1	2	2.9±6.5*
Orange	3	4.5 (-0.6 to 9.6)	0	2.1 (0.1 to 4.1)*
Hazelnut	10	25.3 (3.6 to 47.0)	7	19.1 (0.04 to 38.16)*
Almond	8	28.0 (2.5 to 53.5)	5	16.0 (0.01 to 31.9)*
Yeast	2	9.0 (-2.8 to 20.8)	1	5.4 (-1.1 to 11.9)*
Honey	9	10.8 (6.8 to 14.8)	1	5.1 (2.9 to 7.3)*
Garlic	13	21.5 (10.7 to 32.3)	6	13.5 (4.6 to 22.4)*
Vanilla	17	82.9 (42.6 to 123.2)	9	43.8 (9.9 to 77.7)*
Chicken	1	1.9±5.6	0	0.9±2.7*

Data are expressed as mean±SD or as median (95% CI).

*Statistically significant difference (P≤0.05) by paired t-test or Wilcoxon signed-rank test.

to 75.9 µg/mL, P=0.0009), chicken eggs (102.0, 66.7 to 137.3 vs. 41.3, 20.04 to 62.56 µg/mL, P=0.0001), pineapple (19.7, -6.6 to 46.0 vs. 6.6, -0.02 to 13.22 µg/mL, P=0.004) and vanilla (82.9, 42.6 to 123.2 vs. 43.8, 9.9 to 77.7 µg/mL, P=0.00001) (Figure 1).

Basic medical examination

Statistical analysis showed no difference in HR at rest (P=0.07), systolic blood pressure (TAs) at rest (P=0.2), diastolic blood pressure (TAd) at rest (P=0.1). These results were expected and were secondary outcomes of the study.

There was no significant change in the total muscular strength along the study (P=0.1).

Statistical analysis showed that flexibility of athletes significantly increased (11.1, 7.3 to 14.9 vs. 15.9, 12.3 to 19.5 cm, P=0.001) at the end of study.

Body composition

Fat percent (FAT%) of the athletes decreased significantly (14.9, 11.7 to 18.1 vs. 13.2, 9.6 to 16.7%, P=0.0008) without significant difference

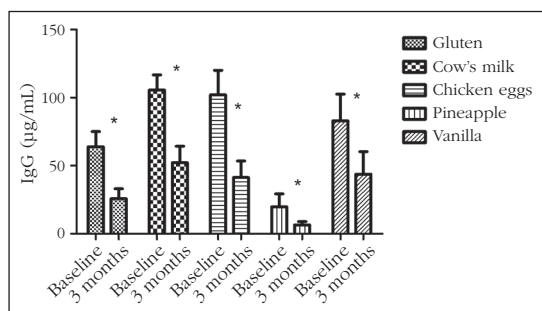


Figure 1.—The difference in IgG level for some foodstuffs at baseline and at the end of the study.

*P≤0.05.

Figura 1. — La differenza nel livello di IgG per alcuni cibi al basale e alla fine dello studio.

*P≤0,05.

Composizione corporea

La percentuale di grasso (FAT%) nel corpo degli atleti si è ridotta significativamente (14,9%, da 11,7% a 18,1% vs. 13,2%, da 9,6% a 16,7%, P=0,0008) senza essere accompagnata da una significativa differenza di peso (68,3±12,5 vs. 67,8±12,2 kg; P=0,06) (Figura 2).

This document is protected by international copyright laws. No additional reproduction is authorized. It is permitted for personal use to download and save only one file and print only one copy of this Article. It is not permitted to make additional copies (either sporadically or systematically, either printed or electronic) of the Article for any purpose. It is not permitted to distribute the electronic copy of the article through online internet and/or intranet file sharing systems, electronic mailing or any other means which may allow access to the Article. The use of all or any part of the Article for any Commercial Use is not permitted. The production of derivative works from the Article is not permitted. The production of reprints for personal or commercial use is not permitted. It is not permitted to remove, cover, overlay, obscure, block, or change any copyright notices or terms of use which the Publisher may post on the Article. It is not permitted to frame or use framing techniques to enclose any trademark, logo, or other proprietary information of the Publisher.

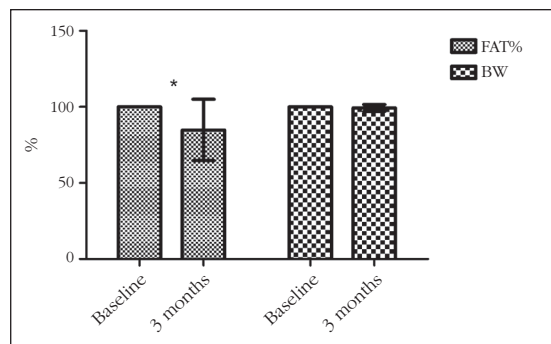


Figure 2.—The athletes' body composition at baseline and at the end of the study.

BW: body weight reported as percentage. * $P=0.0008$.
 Figura 2. — La composizione corporea degli atleti al basale e alla fine dello studio.

BW: peso corporeo riportato come percentuale. * $P=0,0008$.

of weight (68.3 ± 12.5 vs. 67.8 ± 12.2 kg; $P=0.06$) (Figure 2).

Cardiopulmonary testing

VO_{2max} did not significantly change from baseline (ranged from 42.3 to 75.8 mL/kg/min) to the end of the study (from 44.3 to 78.1 mL/kg/min) ($P=0.3$). There were no significant changes in HR maximal ($P=0.6$), duration of the test ($P=0.2$), TAs maximal at the end of test ($P=0.2$), as well as in TAd maximal ($P=0.4$) along the study.

HR at the second (136.7 ± 12.6 vs. 132.2 ± 12.5 bpm, $P=0.02$) and the third (124.1 , 119.5 to 128.7 vs. 119.8 , 115.2 to 124.4 bpm, $P=0.006$) minute recovery phase was significantly lowered (Figure 3).

Discussion

The positive effect of food elimination based on IgG antibodies was previously observed in migraine, irritable bowel syndrome, depressive disorders and other conditions.^{1, 7-16} However, it seems this is the first study to examine the effects of food elimination diet based on IgG antibodies on sport performance and GI symptoms in professional athletes. GI dysfunction is reported to be common (15-30%) among endurance athletes³⁰ and it can be connected with food intolerance.²² Specifically, the most important result of the study was a significant reduction of the self-assessed indigestion syndrome. In other words, the athletes experienced less borborygmus, abdominal distension, eructation

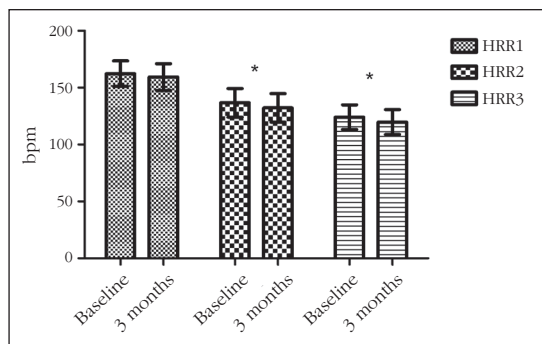


Figure 3.—Heart rate recovery (HRR) at the first 3 minutes' baseline and at the end of the study.

* $P \leq 0.05$.

Figura 3. — Recupero della frequenza cardiaca (HRR) nei primi tre minuti al basale e alla fine dello studio.

* $P \leq 0,05$.

Test cardiopolmonare

Non sono stati osservati cambiamenti significativi nel VO_{2max} dal basale (dove oscillava tra 42,3 e 75,8 mL/kg/min) alla fine dello studio (da 44,3 a 78,1 mL/kg/min) ($P=0,3$). Durante lo studio, non si è assistito a cambiamenti significativi in: HR massima ($P=0,6$), durata del test ($P=0,2$), TAs massima alla fine del test ($P=0,2$) e TAd massima ($P=0,4$).

L'HR al secondo ($136,7 \pm 12,6$ vs. $132,2 \pm 12,5$ battiti al minuto, $P=0,02$) e al terzo ($124,1$, da $119,5$ a $128,7$ vs. $119,8$, da $115,2$ a $124,4$ battiti al minuto, $P=0,006$) minuto della fase di recupero si è significativamente ridotta (Figura 3).

Discussione

L'effetto positivo della dieta di eliminazione in base agli anticorpi IgG è stato precedentemente osservato in emicrania, sindrome del colon irritabile, disturbi depressivi e altre condizioni.^{1, 7-16} Tuttavia, sembra che questo sia il primo studio ad aver esaminato gli effetti di tale dieta basata sugli anticorpi IgG sulla prestazione sportiva e i sintomi GI negli atleti professionisti. La disfunzione gastrointestinale viene segnalata come comune (15-30%) negli atleti di endurance³⁰ e può essere collegata all'intolleranza alimentare.²² Nello specifico, il risultato più importante dello studio è stata una significativa riduzione della sindrome da indigestione autovalutata. In altre parole, gli atleti hanno assistito a una diminuzione di borborigmi, distensione addominale, eruttazione e flatulenza in seguito alla nuova dieta. Inoltre, è stata osservata una tendenza a una significativa riduzione del punteggio totale nella GSRS. Infatti, i dati clinici e

and flatus reduction, due to the new diet inclusion. There was a trend to a significant reduction in total score for GSRS, too. Indeed, clinical and case-report data regarding gluten-free diet (GFD) adherence in athletes diagnosed with celiac disease report reducing of symptoms, such as abdominal bloating and fatigue.³¹

In 2015, Lis *et al.* ascertained that gluten-free diet had no overall effect on performance, GI symptoms and well-being in non-celiac endurance athletes.³² These results could be due to a very short period of the elimination diet, lasted for only 7 days, and a small number of participants. The optimal duration of the diet is 6 months. However, our findings are in accordance with the previous studies, showing the period of 3 months is long enough to observe the first improvement.⁹⁻¹⁴

Conversely to results of above mentioned study, a large survey in professional athletes showed that gluten removal from the diet was thought to be linked to alleviation of abdominal bloating, gas and diarrhea in 80.7% of the interviewed population.³² These beliefs were mainly subjective and were not confirmed by physician examinations. Yet this population keeps on avoiding certain foods, despite the lack of positive clinical evidences. In our study 21 athletes were intolerant to gluten, and only one athlete was not. According to this, maybe high presence of GFD in athletes is justifiable. However, this is highly speculative, since this study included a relatively small number of athletes. Interestingly, above mentioned survey among professional athletes showed their high adherence to GFD due to the belief of the body composition and the exercise performance improvement, too.³⁰ Saying it with professor Maughan, "If they [the athletes] said it helped, then it helps." In any case, it is reported that only 5-10% of the general population may benefit medically from a gluten-free diet.³³

The data from this study indicates that adherence to gluten-free diet only might not be enough for the GI problems improvement, but an individualized approach based on a quantitative analysis of food sensitivity should be included. These laboratory tests seem to be controversial and were reported to reflect only a history of exposure to a certain nutrient. In other words, the serum level of food-specific IgG antibodies may also be elevated in healthy individuals and depends on many factors, such as sex, region, age and presence of some GIT diseases. We do not agree on this because all

i case report sull'adesione a una dieta priva di glutine (GFD) da parte degli atleti celiaci segnalano una riduzione dei sintomi, come gonfiore addominale e affaticamento.³¹

Nel 2015, Lis et al. hanno accertato che una dieta priva di glutine non ha avuto effetti generali su prestazione, sintomi GI e benessere degli atleti di endurance non celiaci.³² Tali risultati potrebbero essere dovuti a un periodo molto breve di dieta di eliminazione, della durata di soli sette giorni, e a un ridotto numero di partecipanti. La durata ottimale della dieta è sei mesi. Tuttavia, i nostri risultati sono in linea con quelli degli studi precedenti, indicando che tre mesi sono abbastanza per osservare il primo miglioramento.⁹⁻¹⁴

In contrasto con i risultati dello studio sopra menzionato, un'ampia indagine che ha coinvolto atleti professionisti ha mostrato che l'eliminazione del glutine dalla dieta era considerata legata al sollievo di gonfiore addominale, gas e diarrea nell'80,7% della popolazione intervistata.³² Queste convinzioni erano principalmente soggettive e non sono state confermate dai medici con esami. Eppure, questa popolazione continua a evitare certi cibi, nonostante la mancanza di evidenze cliniche positive. Nel nostro studio, 21 atleti erano intolleranti al glutine e solo uno non lo era. In base a ciò, forse l'elevata presenza di GFD negli atleti è giustificabile. Tuttavia, è una questione altamente speculativa, poiché lo studio ha incluso un numero relativamente ridotto di atleti. Cosa interessante, l'indagine sugli atleti professionisti citata sopra ha rivelato che l'elevata adesione a una GFD era dovuta anche alla convinzione di un miglioramento della composizione corporea e della prestazione.³⁰ Per dirla con le parole del Professor Maughan, "Se [gli atleti] hanno dichiarato che è stata di aiuto, allora è così." In ogni caso, si segnala che solo il 5-10% della popolazione generale può beneficiare dal punto di vista medico di una dieta priva di glutine.³³

I dati del presente studio indicano che l'adesione a una dieta senza glutine potrebbe non bastare per migliorare i problemi GI, ma andrebbe incluso un approccio individualizzato basato su un'analisi quantitativa della sensibilità agli alimenti. Questi test di laboratorio sembrano essere controversi e riflettono solo una storia di esposizione a una data sostanza nutritiva. In altre parole, il livello nel siero di anticorpi IgG alimento-specifici può essere elevato anche in individui sani e dipende da molti fattori, tra cui sesso, regione di provenienza, età e presenza di alcune malattie GI. Noi non siamo d'accordo perché tutti gli atleti che hanno partecipato al nostro studio presentavano sintomi di disturbi gastrointestinali che sono mi-

athletes participated in our study had GI discomfort symptoms which decreased after the elimination diet. Here we suggest that food elimination based on IgG antibodies level in serum could be a part of such an individual approach.

There is high prevalence of allergic diseases and sensitization in the athletes.²⁶ Nevertheless, laboratory diagnosis tests are not included in sport medical examination. The allergic symptoms (measured by AQUA) were reduced in our study. The participants of this study have high susceptibility to food intolerance and other allergens, and the elimination of specific food allergens might have affected their general immunity.

The decrease of the IgG antibody level toward all the foodstuffs was observed, as we anticipated. That fact points out that 3-month elimination diet decreased chronic inflammation of GIT.²¹ Namely, that is a direct confirmation that diet based on IgG food intolerance, specifically for each athlete, had a lot of benefit for them.

It is known that the proper nutrition is very important for sports performance.^{34, 35} We show that diet had a significant influence on athletes' body composition. FAT% decreased significantly, without a significant change of weight. Strictly speaking, it means that the individual diet was precisely planned, with careful dosing of micro- and macronutrients, as well as daily energetic consumption of the all athletes. It is one of the most important benefits for the participants in this study. Lower fat percentage in the body is one of the predispositions for increasing aerobic capacity, higher speed and agility in the sports field.^{36, 37} This can be read as an indirect improvement in the performance of the professional athletes participated in the present study.

No significant increment was observed in VO_{2max} . This could be due to the small size of the examinee group, and/or to the relatively short period of elimination diet.

The post-exercise heart rate recovery (HRR) is a very important factor that indicates the sympathetic-vagal balance.³⁸ There are many studies showing a huge importance of rapid lowering HRR for athletes and their performances.^{38, 39} Also it is known that HRR depends on the age and level of training.³⁹⁻⁴¹ In this study HRR at the second (HRR_2) and HRR at the third minute (HRR_3) significantly lowered after inclusion of 3-month elimination diet. That is the direct im-

proved after the diet of elimination. *Qui suggeriamo che l'eliminazione di cibi in base al livello degli anticorpi IgG nel siero potrebbe essere parte di tale approccio individualizzato.*

Negli atleti vi è un'elevata prevalenza di malattie allergiche e sensibilità.²⁶ Ciò nonostante, gli esami di laboratorio non rientrano nella visita medica sportiva. I sintomi allergici (misurati tramite AQUA) si sono ridotti nello studio. I partecipanti presentavano un'elevata suscettibilità a intolleranza alimentare e altri allergeni e l'eliminazione di specifici allergeni alimentari potrebbe aver influito sulla loro immunità generale.

Come anticipato, abbiamo osservato la riduzione del livello degli anticorpi IgG verso tutti gli alimenti. Ciò indica che la dieta di eliminazione di tre mesi ha ridotto l'infiammazione cronica del tratto gastrointestinale.²¹ Vale a dire, questa è una conferma diretta che una dieta basata sulle intolleranze alimentari mediate dagli anticorpi IgG, specifica per ogni atleta, presentava molti benefici per i soggetti.

È noto che un'adeguata alimentazione è molto importante per la prestazione sportiva.^{34, 35} Abbiamo mostrato che la dieta ha avuto una significativa influenza sulla composizione corporea degli atleti. La FAT% si è ridotta significativamente, senza essere accompagnata da un significativo cambiamento di peso. In senso stretto, ciò significa che la dieta individuale è stata pianificata accuratamente, con un attento dosaggio di micro- e macronutrienti, nonché del consumo energetico giornaliero di tutti gli atleti. Si è trattato di uno dei più importanti benefici per i partecipanti allo studio. Una minore percentuale di grasso nel corpo è uno dei fattori che predispongono all'aumento della capacità aerobica e a una maggiore velocità e agilità sul campo.^{36, 37} Questo può essere interpretato come un miglioramento indiretto nella prestazione degli atleti professionisti che hanno partecipato al presente studio.

Non è stato osservato alcun incremento significativo nel VO_{2max} . Ciò può essere dovuto alla ridotta dimensione del gruppo esaminato e/o al periodo relativamente breve della dieta di eliminazione.

Il recupero della frequenza cardiaca (HRR) dopo sforzo è un fattore molto importante indicativo dell'equilibrio simpato-vagale.³⁸ Molti studi mostrano una grande importanza del rapido abbassamento dell'HRR per gli atleti e le loro prestazioni.^{38, 39} Inoltre, è noto che l'HRR dipende da età e livello di allenamento.³⁹⁻⁴¹ In questo studio, l'HRR al secondo (HRR_2) e al terzo minuto (HRR_3) è significativamente calato dopo l'inclusione della dieta di eliminazione trimestrale. È questo il miglioramento diretto della prestazione sportiva. Il

provement of sport performance. This result could be explained by a better physical status of the athletes, due to the proper nutrition, without foodstuffs they were intolerant to.

There are a lot of studies that examine different type of training for increasing flexibility.⁴²⁻⁴⁵ On the other hand, there are not any studies examining the specific diet on flexibility. The flexibility in athletes significantly increased in our study, probably due to a significant reduction of fat percentage and GI symptoms after elimination diet inclusion. It is clear that the athletes with GI symptoms (abdomen distension) cannot achieve the maximum in this test. Especially, if it is known that sit and reach test measures lower back and hamstring flexibility.²⁸

The limitation of the current study is a small group of examinees, as previously said. But the participants were the winners of the national or European and world championships in their categories and sport. The other weakness of the study could be heterogeneity of the athletes group, with respect to different sports they were training. Nonetheless, the aim of the study was to include only the elite athletes with high training loads, meaning over 11 hours of training per week.²³ On the other hand, it could be advantage of the study, considering their often competitions in Serbia and abroad, as well as difficulties in monitoring them for a period of 3 months. This study did not have a control group, and it is, for sure, another limitation. However, the present examination is a pilot study and the first of that kind. For that reason, future trials should include a parallel group design.

As previously said, this is apparently the first study to examine the effects of the elimination diet based on IgG antibodies on sport performance and athletes' GIT symptoms. Therefore, sport physicians might take food intolerance into consideration as a part of routine access in nutrition counseling, especially when solving GI problems. We believe that this is worthy of further research.

Conclusions

In the conclusions we would like to point out that the proper nutrition is one of the crucial factors for athlete's success at the competitions. The results of the current study show that elimination diet based on IgG food intolerance leads to a significant improvement of GI discomfort

risultato potrebbe essere spiegato da una migliore condizione fisica degli atleti a seguito di una corretta alimentazione, senza i cibi a cui erano intolleranti.

Molti studi esaminano diversi tipi di allenamento per migliorare la flessibilità.⁴²⁻⁴⁵ Invece, non esistono ricerche sugli effetti della dieta specifica sulla flessibilità.⁴²⁻⁴⁵ Nel nostro studio, la flessibilità negli atleti è aumentata significativamente, probabilmente grazie a una significativa riduzione della percentuale di grasso e dei sintomi GI dopo la dieta di eliminazione. È chiaro che gli atleti con sintomi GI (distensione addominale) non possono ottenere il massimo nel test, soprattutto se si sa che il test sit and reach misura la flessibilità della zona lombare e del tendine del ginocchio.²⁸

Come detto precedentemente, il limite del presente studio è la ridotta dimensione del gruppo esaminato. Ma i partecipanti erano i vincitori dei campionati nazionali, europei o mondiali nelle loro categorie e sport. L'altro punto debole potrebbe essere stato l'eterogeneità degli atleti per ciò che riguarda i diversi sport per cui si allenavano. Tuttavia, lo scopo dello studio era includere solo gli atleti di élite con elevati carichi di allenamento, ossia 11 ore a settimana.²³ D'altra parte, potrebbe essere un vantaggio dello studio stesso, considerando le loro frequenti competizioni in Serbia e all'estero e le difficoltà nel monitorarli per un periodo di tre mesi. Il presente studio non aveva un gruppo di controllo, e questo sicuramente è un altro limite. Tuttavia, si tratta di uno studio pilota ed è stato il primo del suo genere. Per questo motivo, i futuri trial dovrebbero includere anche un gruppo parallelo.

Come affermato in precedenza, apparentemente è il primo studio ad aver esaminato gli effetti della dieta di eliminazione basata sugli anticorpi IgG sulla prestazione sportiva e i sintomi GI degli atleti. Quindi, i medici dello sport dovrebbero considerare le intolleranze alimentari come parte di un accesso routinario al counseling in ambito nutrizionale, soprattutto quando devono risolvere problemi GI. Riteniamo che ciò meriti ulteriori ricerche.

Conclusioni

Nelle conclusioni, vorremmo evidenziare che la corretta alimentazione è uno dei fattori cruciali per il successo dell'atleta nelle competizioni. I risultati del presente studio mostrano che la dieta di eliminazione basata sulle intolleranze alimentari mediate da IgG conduce a un significativo miglioramento dei sintomi legati ai disturbi GI e

symptoms and sport performance. Sport physicians might take food intolerance into consideration when solving GI problems, in order to raise sport performance and achieve better results in the competitions.

della prestazione sportiva. I medici dello sport potrebbero tenere in considerazione le intolleranze alimentari quando devono risolvere problemi GI, per aumentare la prestazione sportiva e ottenere migliori risultati nelle competizioni.

References/Bibliografia

- 1) Pasha I, Saeed F, Sultan MT, Batool R, Aziz M, Ahmed W. Wheat allergy & intolerance; Recent updates and perspectives. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2016;56:13-24.
- 2) Vandenplas Y. Debates in allergy medicine: food intolerance does exist. *World Allergy Organization Journal* 2015;8:36.
- 3) Dreborg S, Debates in allergy medicine: food intolerance does not exist. *World Allergy Organization Journal* 2015;8:37.
- 4) Lomer MC. Review article: the etiology, diagnosis, mechanisms and clinical evidence for food intolerance. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;41:262-75.
- 5) Canani RB, Pezzella V, Amoroso A, Cozzolino T, Di Scala C, Passariello A. Diagnosing and Treating Intolerance to Carbohydrates in Children. *Nutrients* 2016;8:157.
- 6) Nelson M, Ogden J. An exploration of food intolerance in the primary care setting: The general practitioner's experience. *Soc Sci Med* 2008;67:1038-45.
- 7) Ahmad A, Mohanty P, Ghanim H, Abdo T, Tripathy D, Chaudhuri A, *et al.* Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 2004;79:682-90.
- 8) Wilders-Truschnig M, Mangge H, Lieners C, Gruber HJ, Mayer C, März W. IgG antibodies against food antigens are correlated with inflammation and intima media thickness in obese juveniles. *Exp Clin Endocrinol Diabet* 2008;116:241-5.
- 9) Kalliomäki MA. Food allergy and irritable bowel syndrome. *Curr Opin Gastroenterol* 2005;21:708-11.
- 10) Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, Whorwell PJ. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut* 2004;53:1459-64.
- 11) Bentz S, Hausmann M, Paul S, Falk W, Obermeier F, Schölmerich G, *et al.* Clinical relevance of IgG antibodies against food antigen in Crohn's Disease - A double blind cross over diet intervention study. *Digestion* 2010;81:252-64.
- 12) Arroyave Hernandez, CM, Echevarria Pinto, M, Hernandez Montiel, HL. Food allergy mediated by IgG antibodies associated with migraine in adults. *Rev Alerg Mex* 2007;54:162-8.
- 13) Pascual J, Oterino A. IgG-mediated allergy: a new mechanism for migraine attacks? *Cephalgia* 2010.
- 14) Alpay K, Ertas M, Orhan EK, Ustay DK, Lieners C, Baykan B. Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomized, cross-over trial. *Cephalgia*. January 2010;30:777-9.
- 15) Aydinlar EI, Dikmen PY, Tiftikci A, Saruc M, Aksu M, Gunsoy HG, *et al.* IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache* 2013;53:514-25.
- 16) Karakula-Juchnowicz H, Szachta P, Opolska A, Morylowska-Topolska J, Gałęcka M, Juchnowicz D, *et al.* The role of IgG hypersensitivity in the pathogenesis and therapy of depressive disorders. *Nutr Neurosci* 2017;20:110-8.
- 17) Zopf Y, Baenkler HW, Silbermann A, Hahn EG, Raithel M. The differential diagnosis of food intolerance. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106:359-69.
- 18) Stiefel GA, Roberts GR. How to use serum-specific IgE measurements in diagnosing and monitoring food allergy. *BMJ: Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2012;97:29-36.
- 19) Volpi N, Maccari F. Serum IgG responses to food antigens in the Italian population evaluated by highly sensitive and specific ELISA test. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry* 2008;30:51-69.
- 20) Karsten K, Frank-Christoph M, Christian P. The immunomodulatory effects of physical activity. *Curr Pharm Des* 2016;22:3730-48.
- 21) West NP, Pyne DB, Peake JM, Cripps AW. Probiotics, immunity and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2009;15:107-26.
- 22) Lambert GP. Intestinal barrier dysfunction, endotoxemia, and gastrointestinal symptoms: the 'canary in the coal mine' during exercise-heat stress? *Med Sport Sci* 2008;53:61-73.
- 23) Gleeson M, Bishop N, Oliveira M, Tauler P. Influence of training load on upper respiratory tract infection incidence and antigen-stimulated cytokine production. *Scand J Med Sci Sports* 2013;23:451-7.
- 24) Van Wijck K, Lenaerts K, Van Loon LJ, Peters WH, Buurman WA, Dejong CH. Exercise-induced splanchnic hypoperfusion results in gut dysfunction in healthy men. *PLoS One* 2011;6:e22366.
- 25) Dimenas E, Glise H, Hallerback B, Hernqvist H, Svedlund J, Wiklund I. Well-being and gastrointestinal symptoms among patients referred to endoscopy owing to suspected duodenal ulcer. *Scand J Gastroenterol* 1995;30:1046-52.
- 26) Bonini M, Braidò F, Baiardini I, Del Giacco S, Gramiccioni C, Manara M, *et al.* AQUA: Allergy Questionnaire for Athletes. Development and validation. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41:1034-41.
- 27) Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Manuel Gomez J, *et al.* Bioelectrical impedance analysis - part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr*, 2004;23:1430-53
- 28) Council of Europe, Committee for Development of Sport. Eurofit: Handbook for the European Test of Physical Fitness; 1988.
- 29) Gerrior SH, WenYen J, Basiotis P. An Easy Approach to Calculating Estimated Energy Requirements. *Prev Chronic Dis* 2006;3:A129.
- 30) Lis D, Stellingwerff T, Shing C, Kiran DK, Ahuja W, Fell J. Exploring the Popularity, Experiences, and Beliefs Surrounding Gluten-Free Diets in Nonceliac Athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2015;25:37-45.
- 31) Black KE, Skidmore P, Brown RC. Case study: nutritional strategies of a cyclist with celiac disease during an ultra-endurance race. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2012;22:304-31.
- 32) Lis D, Stellingwerff T, Kitic CM, Ahuja KD, Fell J. No Effects of a Short-Term Gluten-free Diet on Performance in Nonceliac Athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2015;47:2563-70.
- 33) Hadjivassiliou M, Sanders DS, Grunewald RA, Woodroffe N, Boscolo S, Aeschlimann D. Gluten sensitivity: from gut to brain. *Lancet Neurol* 2009;9:318-30.
- 34) Mitchell N, Hewitt EC, Jayakody S, Islam M, Adamson J, Watt I, *et al.* Randomised controlled trial of food elimination diet based on IgG antibodies for the prevention of migraine like headaches. *Nutr J* 2011;10:85.
- 35) Hansen M, Bangsbo J, Jensen J, Krause-Jensen M, Bibby M, Sollie O, *et al.* Protein intake during training sessions has no effect on performance and recovery during a strenuous training camp for elite cyclists. *J Int Soc Sports Nutr* 2016;13:9.
- 36) Ubago-Guisado E, Martinez-Rodriguez A, Gallardo L, Sánchez-Sánchez J. Bone mass in girls according to their BMI, VO2 max, hours and years of practice. *Eur J Sport Sci* 2016;6:1-11.
- 37) Malina RM. Body composition in athletes: assessment and estimated fatness. *Clin Sports Med* 2007;26:37-68.
- 38) Suzic Latic J, Dekleva M, Soldatovic I, Leischik R, Suzic S, Radovanovic D, *et al.* Heart rate recovery in elite athletes: the impact of age and exercise capacity. *Clin Physiol Funct Imaging* 2017;37:117-23.
- 39) Barak O, Ovcin Z, Jakovljevic DJ, Lozanov-Crvenkovic Z, Brodie D, Grujic N. Heart rate recovery after submaximal exercise in four different recovery protocols in male athletes and non-athletes. *J Sports Sci Med* 2011;10:369-75.
- 40) Thomas DT, Erdman KA, Burke LM. American College of Sports Medicine Joint Position Statement. Nutrition and Athletic Performance. *Med Sci Sports Exerc* 2016;48:543-68.
- 41) Schmitt L, Regnard J, Desmarests M, Many F, Mourt L, Fouillot P, *et al.* Fatigue Shifts and Scatters Heart Rate Variability in Elite Endurance Athletes. *PLoS One* 2013;8:e71588.
- 42) Cochrane DJ, Stannard SR. Acute whole-body vibration training increases vertical jump and flexibility performance in elite female field hockey players. *Brit J Sport Med* 2005;39:860-5.
- 43) George D, Vasilis K, Vasilis M, Giorgos P. Acute effect of whole-body vibra-

tion combined with stretching on bridge performance in artistic gymnasts. *J Biol Exer* 2012;8:47-57.

44) Despina T, George D, George T, Sotiris P, Alessandra DC, George K, *et al.*

Short-term effect of whole-body vibration training on balance, flexibility and lower limb explosive strength in elite rhythmic gymnasts. *Hum Movement Sci* 2014;33:149-58.

45) Dallas G, Kirialanis P. The effect of two different conditions of whole-body vibration on flexibility and jumping performance on artistic gymnasts. *Sci Gymnastics J* 2013;5:67-77.

Conflicts of interest.—The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

Congresses.—This manuscript was presented at the 34th World Congress of Sports Medicine, which was held on September 30th, 2016.

Acknowledgments.—The authors would like to thank the Analiza biochemical laboratory, in Belgrade, Serbia for generously supporting this study and providing laboratory analysis.

Manuscript accepted: November 3, 2017. - Manuscript received: March 20, 2017.