

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II**



**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**MEDICINA CLINICA E SPERIMENTALE**

*CURRICULUM IN SCIENZE MEDICHE TRASLAZIONALI*

**XXXIII Ciclo**

*(Anni 2018-2021)*

**Coordinatore: Prof. Francesco Beguinot**

**TESI DI DOTTORATO**

**Identificazione dei fattori nutrizionali e di variabilità intra ed interindividuale della glicemia postprandiale nel diabete di tipo 1, per la realizzazione di algoritmi di automazione della terapia insulinica.**

**TUTOR/RELATORE**

**Chiar.ma Prof.ssa  
Angela A. Rivellese**

**CANDIDATO/A**

**Dott.ssa Luisa Cavagnuolo**

## Indice

1. Introduzione	pag.1
2.0. Nutrienti e risposta glicemica postprandiale in pazienti con diabete tipo 1	pag.2
2.0.1. Il ruolo dei carboidrati: qualità e quantità	pag.2
2.0.2. Il ruolo delle proteine	pag.5
2.0.3. Il ruolo dei grassi: qualità e quantità	pag.5
2.0.4. Il ruolo delle fibre	pag.7
2.1. Algoritmi per la determinazione della dose pre-prandiale di insulina che tengono conto del contenuto in grassi e proteine e della qualità dei carboidrati del pasto	pag.7
2.2. Fattori che influenzano la variabilità interindividuale della risposta glicemica postprandiale	pag.9
2.2.1. Epigenetica	pag.9
2.2.2. Microbiota	pag.10
3. Scopo e linee di ricerca	pag.13
4.0. Protocolli sperimentali	pag.14
4.0.1. Le tecniche di lievitazione della pizza influenzano la risposta glicemica postprandiale: studio controllato randomizzato in pazienti con diabete mellito tipo 1	pag.14
4.0.2. La pasta di grano saraceno arricchita con fibre modifica la risposta glicemica rispetto alla pasta di mais in soggetti con diabete di tipo 1 e celiachia: studio in acuto controllato randomizzato	pag.21
4.0.3. Determinanti nutrizionali del controllo glicemico postprandiale in adulti con diabete tipo 1 in trattamento con un sistema ibrido ad ansa chiusa	pag.33
4.0.4. Determinanti nutrizionali e inter-individuali della risposta glicemica postprandiale in pazienti con diabete tipo 1	pag.50
7. Conclusioni e prospettive future	pag.63
8. Bibliografia	pag.65
9. Pubblicazioni	pag.81

## 1. Introduzione

La risposta glicemica postprandiale consiste nelle oscillazioni della glicemia successive all'assunzione del pasto. Essa è in grado di attivare processi patologici, quali stress ossidativo e infiammazione, che sono alla base delle malattie cardiovascolari, neoplastiche e degenerative. Nel diabete la mancata o alterata funzione dell'insulina causa alterazioni della glicemia postprandiale che inficiano la qualità di vita dei pazienti e determinano l'insorgenza e la progressione delle complicanze croniche. I fattori che influenzano la risposta glicemica postprandiale riguardano sia la composizione in macronutrienti del pasto che il contesto entro cui esso viene consumato (glicemia pre-prandiale, relazione con l'attività fisica, stato di salute, stress psicofisico, variazioni ormonali, assunzione di farmaci, effetto del secondo pasto, ecc.) ma anche da fattori di variabilità interindividuali (composizione della flora intestinale e presenza di alcuni polimorfismi genetici).

La variabilità della risposta glicemica postprandiale è una problematica ancora più rilevante nei pazienti con diabete tipo 1 in cui l'assenza di secrezione insulinica, dovuta all'aggressione autoimmune delle cellule beta, rende particolarmente complesso l'adeguamento delle dosi pre-prandiali di insulina (*Bell KJ, Diabetes Care 2015*). Questa difficoltà rimane anche con l'utilizzo delle moderne tecnologie che consistono in sistemi di monitoraggio in continuo della glicemia e pompe tascabili per la somministrazione continua di insulina (microinfusore) che grazie ad un algoritmo di controllo erogano le dosi di insulina necessarie a controbilanciare le oscillazioni della glicemia (pancreas artificiali). Infatti, con questi sistemi il bolo pre-prandiale è erogato in base alla quantità di carboidrati del pasto, inserita dal paziente, e a specifiche parametri predefiniti (sensibilità insulinica, target glicemico postprandiale, insulin on board, rapporto insulina/carboidrati). Benché questi sistemi assicurino l'euglicemia per la maggior parte del tempo in condizioni basali, essi non sono ancora in grado di ottimizzare

completamente il controllo glicemico in fase post-prandiale. Ciò è dovuto oltre che al lag time nella misurazione della glicemia e nell'infusione di insulina, che avvengono nel compartimento sottocutaneo e non direttamente nel sangue, anche al fatto che le decisioni degli algoritmi sono assunte in maniera reattiva alle variazioni della glicemia e non in maniera predittiva, tenendo conto di tutti i possibili fattori che in un orizzonte temporale più o meno lungo possono influenzare la risposta glicemica. Il perfezionamento degli algoritmi richiede, pertanto, che vengano innanzitutto riconosciuti i fattori che influenzano la glicemia in risposta ad un pasto. Attualmente la quantità dei carboidrati del pasto è l'unico fattore nutrizionale che viene preso in considerazione per l'adeguamento delle dosi pre-prandiali di insulina, vi sono tuttavia indicazioni che sia la qualità dei carboidrati che la qualità e quantità di grassi e proteine debbano essere prese in considerazione per il calcolo del bolo pre-prandiale. È possibile, inoltre che alcuni fattori di variabilità interindividuale, quale la composizione della flora intestinale, che si sono dimostrati fattori importanti nel determinare la risposta glicemica individuale in persone sane, svolgano un ruolo anche nel determinismo della variabilità glicemica postprandiale in persone con diabete tipo 1.

Verranno riportate di seguito le evidenze disponibili relative al contributo dei diversi nutrienti sulla risposta glicemica postprandiale in pazienti con diabete tipo 1 e sul ruolo di fattori interindividuali sulla risposta glicemica in persone sane.

## **2.0 Nutrienti e risposta glicemica postprandiale in pazienti con diabete tipo 1**

### *2.0.1 Il ruolo dei carboidrati: quantità e qualità*

Il contenuto in carboidrati è il principale determinante della risposta glicemica postprandiale e del fabbisogno insulinico ai pasti (*Gingras V, Diabetes Obes Metab 2108*). Un importante trial randomizzato e controllato condotto in soggetti adulti con DM1 ha dimostrato un significativo miglioramento del controllo glicemico e della qualità della vita in quei pazienti che effettuavano

il calcolo dei carboidrati e l'adeguamento delle dosi di insulina in base alla quantità di carboidrati assunti (*DAFNE Study Group, British Medical Journal, 2002*). L'accuratezza del calcolo dei carboidrati inoltre è associata a un miglioramento del controllo glicemico con una riduzione dei livelli di HbA1c pari a 0,8% (*Mehta SN, Diabetes Care, 2009*).

Il calcolo della quantità totale di carboidrati presenti nel pasto, ha, tuttavia, anche dei limiti importanti. Infatti, considerare solo la quantità totale dei carboidrati non permette di tenere conto della loro diversa qualità. Come è noto, i carboidrati costituiscono una famiglia molto eterogenea per cui gli alimenti ricchi in carboidrati si differenziano tra loro sia in termini di velocità di digestione che di assorbimento.

L'indice glicemico (IG) di un alimento contenente carboidrati, indica, infatti, l'incremento della glicemia rispetto al tempo e si esprime come rapporto percentuale tra la risposta glicemica di un determinato alimento e la risposta glicemica di un alimento di riferimento (pane o glucosio posto uguale a 100) a parità di carboidrati contenuti (*Kaye Foster-Powell, The American Journal of Clinical Nutrition, 2002*). Alimenti con alto IG producono un aumento del picco della risposta glicemica postprandiale e aumento nelle successive 2 ore rispetto ad alimenti a basso indice glicemico.

Nella pratica, gli alimenti contenenti carboidrati possono essere classificati in base al loro effetto sulla risposta glicemica in alimenti a basso (<55 IG) o ad alto indice glicemico (>75 IG) (valori di IG riferiti al glucosio). Numerosi trials randomizzati e controllati hanno riportato miglioramenti della HbA1c e della glicemia postprandiale in soggetti con DM1 che seguivano diete a basso IG (*Tonja R. Nansel, Diabetes Care, 2008; Alisha J, Journal of American Dietetic Association, 2009; mettere anche studio di Giacco?*), mentre studi recenti hanno dimostrato che un'alimentazione a basso IG si associa ad un minor numero di oscillazioni glicemiche (*Kawamura T, Pediatric Diabetes 2007; Hui LL, Diabetes Care 2005*).

E' importante però considerare che l'IG presenta un'ampia variabilità e ciò dipende dal fatto che molteplici sono i fattori che influenzano la risposta in vivo ai carboidrati e, quindi, l'IG di un alimento: 1) tipo di amido (diverso contenuto in amilosio ed amilopectina), 2) presenza di fibre, 3) stato fisico dell'alimento, 4) presenza di antinutrienti (fitati) o di fruttoligosaccaridi, e infine 5) quantità di carboidrati (*R. Giacco, British Journal of Nutrition 2001*). Anche la durata del tempo di cottura, l'aggiunta di zuccheri o di sostanze acide contribuiscono alla variabilità dell'IG di un alimento (*Py-Sunyer FX, The American Journal of Clinical Nutrition, 2002*). Nonostante le problematiche legate alla variabilità dell'indice glicemico, è ormai accettato che sia la qualità che la quantità dei carboidrati di un alimento influenzano la risposta glicemica. Pertanto, è importante cercare di considerare non solo l'IG ma anche la quantità totale di carboidrati di un alimento (*Sheard NF, Diabetes Care, 2004*). Il concetto teorico che ingloba questi due aspetti è il carico glicemico (CG). Esso non è altro che il prodotto della quantità di carboidrati presenti in una determinata porzione di alimento e l'IG dell'alimento stesso, diviso per 100. Maggiore è il CG maggiore sarà l'incremento della glicemia e l'effetto insulinogenico dell'alimento. L'iperglicemia postprandiale e l'iperinsulinemia compensatoria sono fattori strettamente connessi allo sviluppo di malattie croniche legate allo stile di vita (*Jiansong Bao, The American Journal of Clinical, 2011*).

Studi prospettici osservazionali a lungo termine hanno riportato che il CG è un fattore indipendente di rischio per il diabete tipo 2 negli uomini e nelle donne (*Halton TL, New England Journal of Medicine, 2006; McKeown NM, Diabetes Care, 2004; Brand JC, Diabetes Care, 1991; Willett W, The American Journal of Clinical Nutrition, 2002; McKeown NM, Journal of the American College of Nutrition, 2009; Halton TL, The American Journal of Clinical Nutrition, 2006; Schulze MB, Journal of the American Medical Association, 2004; Salmeron J, Journal of the American Medical Association, 1997*), per morbilità e mortalità cardiovascolare nelle donne e per alcuni tipi di cancro in entrambi i sessi (*Michaud DS, Journal of the National*

*Cancer Institute, 2002; Higginbotham S, Journal of the National Cancer Institute, 2004; Augustin LS, International Journal of Cancer, 2004).*

### *2.0.2. Il ruolo delle proteine*

In individui sani, le proteine non alterano la glicemia postprandiale, tuttavia stimolano una significativa risposta insulinica postprandiale, necessaria per l'assorbimento degli aminoacidi. Al fine di mantenere l'euglicemia, le proteine stimolano contemporaneamente la secrezione di glucagone, promuovendo così il rilascio di glucosio epatico e la regolazione dei valori di glicemia (*Paterson M, Curr Diab Rep, 2015*).

Al contrario, in soggetti con DM1, il consumo di proteine, è associato ad un aumento della risposta glicemica tardiva postprandiale e del fabbisogno di insulina. Smart et al. (*Smart CEM, Diabetes Care 2013*) hanno riferito che l'aggiunta di 35 g di proteine a 30 g di carboidrati ha aumentato significativamente i valori di glicemia di 2,6 mmol/L a 5 ore. Lo studio di Paterson et al. (*Paterson MA, Diabetes 2019*) è stato l'unico che ha esaminato l'effetto delle sole proteine (in assenza di carboidrati e grassi) e ha mostrato che l'aggiunta di 12,5-50 g di proteine non ha influenzato significativamente la risposta glicemica. Questi risultati suggeriscono che le proteine hanno effetti differenziati se consumate con e senza carboidrati. Ciò si riscontra anche nella forma della risposta glicemica, in particolare, quando le proteine sono state l'unico macronutriente consumato, le concentrazioni di glucosio iniziavano ad aumentare a partire da 100 minuti (*Paterson MA, Diabetes 2019*), invece, per i pasti in cui sono stati consumati anche i carboidrati, è stato osservato un aumento delle concentrazioni di glucosio dopo 3-4 ore (*Neu A, Pediatr Diabetes 2015; Smart CEM, Diabetes Care 2013; Winiger G, Horm Res, 1995*).

### *2.0.3. Il ruolo dei grassi: qualità e quantità*

A differenza delle proteine o dei carboidrati, i grassi sono raramente consumati come singolo macronutriente, quindi il loro impatto viene solitamente considerato in termini della loro capacità di modificare la risposta glicemica indotta dai carboidrati.

Studi condotti in persone sane e con DM1, hanno mostrato che l'aggiunta di grassi riduce la risposta glicemica nel periodo precoce postprandiale (1-3 h) ma aumenta quella tardiva a partire cioè dalle 3 ore fino anche alle 6-8 ore successive al pasto (*Paterson Curr Diab Rep, 2015*). Nel DM1, questa iperglicemia rappresenta un ostacolo per la completa ottimizzazione del compenso glicemico, soprattutto perché i pasti ricchi in grassi sono spesso consumati a cena quando l'iperglicemia prolungata può non essere rilevata fino al mattino successivo. Un recente studio sui fattori dietetici associati all'ipoglicemia notturna negli adulti ha mostrato infatti, un'associazione significativa con l'assunzione dei grassi dopo cena e tassi più elevati di insorgenza di iperglicemia notturna (*Desjardins K, Diabetes Res Clin Pract, 2014*).

Negli ultimi anni sono stati pubblicati diversi studi che dimostrano univocamente che, in acuto, l'aggiunta di grassi ad un pasto, determina una modifica della glicemia postprandiale (*Bell KJ, Diabetes Care 2015*). In particolare, è stato dimostrato che l'aggiunta di 35 g di grassi riduce inizialmente l'escursione glicemica fino a 90 minuti dopo il pasto ma poi aumenta significativamente la risposta glicemica postprandiale a partire dalle 3 ore (*Smart CE, Diabetes Care, 2013*). Inoltre, Wolpert et al. hanno evidenziato che un pasto ricco in grassi (50 g) provoca una significativa iperglicemia nell'arco delle 5 ore, anche con un'ulteriore infusione di insulina (*Wolpert HA, Diabetes Care 2013*).

Uno degli aspetti più rilevanti nella determinazione della risposta glicemica è rappresentata dalla diversa fonte di grasso aggiunto al pasto. I primi dati relativi al possibile effetto della qualità dei grassi sulla risposta glicemica postprandiale risalgono allo studio di Gatti et al. (*Gatti E, European Journal of Clinical Nutrition, 1992*), condotto nel 1992, che ha dimostrato come l'aggiunta al pasto di grassi monoinsaturi rispetto all'aggiunta di grassi saturi riduca significativamente la glicemia postprandiale in individui sani. A rafforzare tale evidenza, un recente studio ha dimostrato che nell'ambito di un pasto ad alto indice glicemico l'aggiunta di burro provoca un aumento della risposta glicemica sia precoce che tardiva, mentre l'olio

extravergine di oliva dà una risposta glicemica postprandiale più smussata. (*Bozzetto, Diabetes Care 2016*).

#### 2.0.4. Il ruolo delle fibre

Le fibre hanno un importante ruolo nella gestione della glicemia post-prandiale: diversi studi dimostrano che un più elevato consumo di fibre è associato ad una risposta glicemica significativamente inferiore in soggetti non diabetici (*González-Rodríguez M et al. 2019*).

Inoltre, studi effettuati su pazienti con DM1 hanno dimostrato che una dieta ad elevata quantità di fibre a lungo termine migliora il controllo glicemico e riduce il numero di eventi ipoglicemici. (*Giacco R et al. 2000*)

### **2.1 Algoritmi per la determinazione della dose pre-prandiale di insulina che tengono conto del contenuto in grassi e proteine e della qualità dei carboidrati del pasto.**

Una recente revisione della letteratura sottolinea che la modalità di erogazione dell'insulina con bolo a onda doppia mediante microinfusore di insulina, secondo cui la quantità di insulina è suddivisa in una prima quota da infondere rapidamente e in un'altra spalmata nelle ore successive, migliora il controllo glicemico postprandiale ad un pasto ricco in grassi, ricco in proteine e a basso indice glicemico. Tuttavia non sono ancora chiare la suddivisione ottimale e la durata di erogazione del bolo (*Metwally M, Diabetes Research and Clinical Practice, 2021*).

Recenti studi hanno osservato un miglioramento della glicemia postprandiale (*Lee SW, Diabetes Nutrit Metabol, 2004; Lindholm-Olinder A, Practical Diabetes International, 2009; Bell KJ, Diabetes Care, 2016; Kordonouri O, Pediatric Diabetes, 2012; Lopez PE, Diabet Med, 2018; Pan'kowska E, Diabetes Technol, 2012; De Palma A, Diabetes Technol Ther, 2011; Bell KJ, Diabetes Care 2020*) modificando, con modalità diverse, sia la dose totale di insulina che i pattern di erogazione. In dettaglio, Bell et al. (*Bell KJ, Diabetes Care 2020*) hanno sviluppato un modello predittivo di bolo secondo cui l'aggiunta di 20-40 g di grassi ad

un pasto con 45g di carboidrati rendeva necessario un aumento della dose insulinica del 6%, mentre l'aggiunta di 60 g di grassi determinava un aumento del 20% rispetto al conteggio dei carboidrati. Utilizzando lo stesso approccio, in un ulteriore studio, Bell et al. (*Bell KJ, Diabetes Care, 2016*) hanno aumentato in media la dose di insulina del 65% per un pasto ricco in grassi e proteine. Lopez et al. (*Lopez PE, Diabet Med, 2018*) hanno invece utilizzato il 50% del rapporto insulina: carboidrati per stimare il rapporto insulina: proteine e grassi aumentando la dose di insulina nella porzione estesa del bolo ad onda doppia, comportando un significativo miglioramento della glicemia da 5 a 14 ore.

Questi studi presuppongono che oltre al conteggio in grammi dei carboidrati, il paziente pratichi anche quello relativo a grassi e proteine, amplificando le sfide di chi convive quotidianamente con il DM1 e che pochi sarebbero in grado di sostenere.

Kordonouri et al. (*Kordonouri O, Pediatric Diabetes, 2012*), Lopez et al. (*Lopez PE, Diabet Med, 2018*) e Pankowska et al. (*Pankowska E, Diabetes Technol, 2012*) hanno invece confrontato il metodo del conteggio dei carboidrati con un nuovo algoritmo per il dosaggio dell'insulina. L'equazione di Pankowska postula che l'insulina richiesta per 10 g (40 kcal) di carboidrati sia equivalente all'insulina necessaria per 100 kcal di grassi (11 g) e/o proteine (25 g). Sebbene questi studi abbiano riportato una riduzione della risposta glicemica postprandiale, parallelamente è stato osservato anche un aumentato rischio di ipoglicemia. Quest'ultima è stata osservata anche ricorrendo al Food Insulin Index, un algoritmo per classificare gli alimenti sulla base della risposta insulinica postprandiale in seguito al consumo di porzioni pari a 1000 kJ in adulti sani (*Bell KJ, Eur J Clin Nutr. 2014*).

Inoltre, poiché il carico glicemico rappresenta la misura che meglio descrive l'impatto dell'alimento sulla risposta glicemica postprandiale, evidenze recenti mostrano che l'utilizzo del carico glicemico per il calcolo delle dosi di insulina in pazienti con DM1 ha effetti positivi in termini di riduzione della variabilità glicemica. (*Bozzetto L, Acta Diabetol, 2015*).

## **2.2 Fattori che influenzano la variabilità interindividuale della risposta glicemica postprandiale**

Come accennato, la risposta glicemica postprandiale può essere influenzata non solo dalla composizione del pasto ma anche da fattori propri del singolo individuo. Recenti studi, hanno focalizzato l'attenzione su tematiche quali la composizione del microbiota intestinale e il genotipo per definire il contributo di tali componenti nel determinare la risposta glicemica postprandiale.

### *2.2.1. Epigenetica*

Poiché lo studio del genotipo non è applicabile nella pratica clinica, informazioni importanti possono essere ricavate dallo studio delle modifiche epigenetiche, ovvero cambiamenti ereditabili nell'espressione genica che non alterano la sequenza di DNA e che derivano dall'interazione tra fattori genetici e fattori ambientali. Le principali modifiche epigenetiche sono la metilazione del DNA, associata al silenziamento genico, l'acetilazione degli istoni, associata all'attivazione della trascrizione, e i miRNA, anch'essi associati al silenziamento genico. Per quanto riguarda invece la metilazione degli istoni può avere differenti effetti in base alla posizione in cui vengono aggiunti i gruppi metilici, determinando l'attivazione o la repressione della trascrizione.

L'evidenza suggerisce che attraverso la complessa interazione di fattori genetici e ambientali, l'epigenetica svolge un ruolo nello sviluppo delle malattie autoimmuni, tra cui ritroviamo il DM1. (*Jerram ST, Curr Diab Rep, 2017*). Studi recenti hanno dimostrato che esiste una relazione dinamica tra i processi metabolici e l'espressione genetica. Quindi, metaboliti quali l'S-adenosilmetionina, l'acetil Co-A, ATP, agendo come substrato o cofattori di enzimi in grado di modificare la cromatina, possono indurre alterazioni tali da sconvolgere l'organizzazione cellulare e la struttura genetica, un fenomeno conosciuto come metaboloepigenetica (*Wang Z, Cell Mol Life Sci, 2018*).

### 2.2.2. Microbiota

Recenti prove suggeriscono che un importante regolatore del metabolismo è il microbiota intestinale. La composizione del microbiota può variare nel tempo in base a diversi fattori tra cui genetica, sesso, età, stato di salute e consumo di farmaci, in particolare di antibiotici. (Gérard C *Front Endocrinol*, 2019) Anche la dieta può alterarne la composizione favorendo o meno la colonizzazione da parte di specifiche specie batteriche (Singh R K J *Transl Med*, 2017). Le specie batteriche che compongono il microbiota sono state suddivise in cluster chiamati “enterotipi”. I principali enterotipi ad oggi conosciuti sono tre: Bacteroides, Prevotella e Ruminococcacee. Un aumento dell’enterotipo Prevotella è associato a diete ricche in fibre; al contrario, i Bacteroides sono associati a diete ricche in proteine animali e grassi saturi. Inoltre, sono state segnalate diverse associazioni tra enterotipi e fenotipi di malattie umane: un aumento dei Bacteroides, è stato collegato a NASH, cancro del colon-retto, celiachia, senescenza immunitaria e infiammazione di basso grado; l'aumento dell'abbondanza di Prevotella è stato collegato all'uso di antibiotici a lungo termine, artrite reumatoide, diabete di tipo II e HIV; l’enterotipo Ruminococcacee, è stato associato ad un aumento del rischio di aterosclerosi (Costea P I *Nat Microbiol*, 2018).

Un recente studio ha dimostrato che la genetica degli individui influenza la composizione del microbiota solo in misura limitata, sottolineando la natura personalizzata del microbiota intestinale, attribuibile a fattori non genetici. Questo studio ha evidenziato che la diversità del microbioma è legata, oltre che a caratteristiche personali e dieta abituale, a indici metabolici: IMC, grasso viscerale e steatosi epatica sono inversamente associati con la ricchezza di specie, mentre il colesterolo HDL è correlato positivamente alla ricchezza di specie. Diversi alimenti, gruppi di alimenti e indici dietetici generali hanno mostrato una correlazione con la composizione del microbiota: in generale, i Firmicutes sono associati ad una dieta sana, mentre il *Clostridium leptum* a una dieta meno sana. È emerso, inoltre, un forte legame tra microbioma

intestinale e surrogati della salute cardiometabolica, quali pressione arteriosa, trigliceridi, colesterolo totale, HDL, LDL, glucosio a digiuno ed emoglobina glicosilata. È stata individuata una tipica composizione microbica, indice della salute cardiometabolica, composta da circa 30 specie, e coerente con dieta e indicatori di rischio cardiometabolico, in cui ritroviamo i Firmicutes e i Clostridia associati, rispettivamente, a una buona ed una cattiva salute cardiometabolica (*Asnicar F Nat Med, 2021*).

Nell'ultimo decennio, un gran numero di pubblicazioni ha riportato un ruolo di primo piano del microbiota nelle malattie metaboliche: in particolare, un'associazione tra un microbioma intestinale disregolato e una compromissione del controllo glicemico, fino ad arrivare alla fisiopatologia del diabete (*Gérard C Front Endocrinol, 2019*).

Infatti, uno studio in particolare ha mostrato che circa il 14% della variabilità della risposta glicemica postprandiale è legato alle sole caratteristiche del microbiota intestinale. In particolare, l'associazione tra ricchezza di specie e risposta glicemica post-prandiale sembra avere un andamento bimodale: la ricchezza di specie, infatti, è correlata negativamente alla risposta glicemica postprandiale fino a un certo livello, oltre il quale presenta una correlazione positiva. Inoltre, la maggiore abbondanza di bifidobatteri ha mostrato un effetto benefico sulla risposta glicemica postprandiale (*Søndertoft NB PLoS One, 2020*).

Sono stati proposti vari meccanismi molecolari attraverso cui il microbiota intestinale modula e interferisce con il controllo glicemico: tra questi troviamo l'aumento della secrezione di incretine, rappresentate dagli ormoni GLP-1 e GIP, che stimolano la produzione di insulina, oltre ad avere altre funzioni, come la riduzione dell'appetito. In uno studio recente è stato dimostrato che l'azione di fermentazione del microbiota intestinale nel colon potrebbe influire sul numero di cellule enteroendocrine, responsabili della produzione delle incretine. Inoltre, alcuni batteri possono regolare direttamente la secrezione di incretina attraverso i composti metabolici che producono, come ad esempio l'idrogeno solforato (H<sub>2</sub>S), un metabolita

abbondantemente prodotto nel colon da batteri riducenti il solfato, e l'indolo, un metabolita derivante dalla decarbossilazione del triptofano da parte del microbiota. Un altro meccanismo con cui il microbiota modula il controllo glicemico è rappresentato dalla produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA), che avviene a seguito della fermentazione anaerobica di fibre alimentari non digeribili da parte dei batteri. Acetato, propionato e butirato rappresentano il 95% degli SCFA e sono tra i composti derivati dal microbiota più abbondanti. Oltre ad essere un'importante fonte di energia, gli SCFA contribuiscono al miglioramento della salute metabolica dell'ospite: in particolare, sono coinvolti nella salute intestinale influenzando la proliferazione, la differenziazione e l'infiammazione dei colonociti e migliorano il controllo glicemico stimolando la gluconeogenesi. Altro meccanismo che collega il microbiota e il controllo glicemico è la trasformazione degli acidi biliari, che sono coinvolti nella digestione e nell'assorbimento di lipidi e vitamine liposolubili agendo come emulsionanti. Gli acidi biliari primari sono sintetizzati negli epatociti a partire dal colesterolo; in seguito vengono coniugati alla glicina e alla taurina, conservati e concentrati nella cistifellea, e secreti nel lume intestinale in seguito all'assunzione di cibo. La maggior parte degli acidi biliari viene riassorbita nell'ileo terminale e restituita al fegato attraverso la circolazione portale; quelli che fuggono dal riassorbimento ileale entrano nel colon dove vengono trasformati in acidi biliari secondari dal microbiota intestinale. Gli acidi biliari sono coinvolti nel metabolismo del glucosio attraverso l'attivazione del recettore nucleare FXR e il recettore accoppiato alle proteine G di membrana TGR5. Infine, prove emergenti suggeriscono che il microbiota intestinale sia coinvolto nella regolazione glicemica anche attraverso la regolazione del tessuto adiposo: in particolare, un crescente corpo di prove suggerisce che il microbiota intestinale sia coinvolto nello sviluppo e nel mantenimento dell'infiammazione sistemica di basso grado del tessuto adiposo tramite l'LPS batterico, fattore infiammatorio responsabile dell'insorgenza di insulino-resistenza, obesità e diabete. Questo fenomeno è noto come endotossinemia metabolica. Sono stati descritti

diversi ceppi batterici probiotici in grado di prevenire o inibire l'infiammazione cronica di basso grado nel tessuto adiposo, portando all'attenuazione della resistenza all'insulina e dello stato di iperglicemia. (*Gérard C Front Endocrinol, 2019*).

Sulla base di queste evidenze un importante studio sperimentale ha indagato sulla relazione tra le abitudini alimentari, la composizione del microbiota e le modifiche epigenetiche, per comprendere meglio la loro influenza sulla variabilità glicemica individuale. Lo studio di *Zeevi et al.* ha coinvolto circa 800 individui israeliani sani e pre-diabetici, che hanno consumato pasti standardizzati identici: gli autori hanno dimostrato che le risposte glicemiche postprandiali variano considerevolmente tra i partecipanti allo studio e all'interno degli stessi, e hanno costruito un algoritmo in grado di prevedere accuratamente le risposte glicemiche postprandiali per una varietà di pasti, tenendo in considerazione una serie di caratteristiche, tra cui la composizione del microbiota intestinale. (*Zeevi D Cell, 2015*) L'algoritmo è stato poi testato in una popolazione statunitense, dimostrando che è applicabile anche a questa popolazione. (*Mendes-Soares H, Am J Clin Nutr, 2019*). Nessuno di questi studi è stato però effettuato in pazienti con DM1.

### **3. Scopo e linee di ricerca**

L'ottimizzazione del compenso glicemico in fase postprandiale è complessa anche con l'utilizzo di sistemi ad ansa chiusa ibridi. Ciò è dovuto al fatto che, il bolo pre-prandiale è erogato dal sistema in base alla sola quantità di carboidrati del pasto e non è completamente noto l'effetto degli altri fattori nutrizionali che influenzano il controllo della glicemia postprandiale in pazienti con DM1.

Pertanto, l'obiettivo di questa tesi di dottorato è stato chiarire l'effetto di alcuni fattori nutrizionali sulla risposta glicemica postprandiale in pazienti con diabete tipo1 mediante:

- 1) Studi nutrizionali in acuto, che hanno valutato gli effetti di:
  - a) Tipo e durata della lievitazione (Studio 1)

- b) Alimenti funzionali arricchiti in fibra (Studio 2)
- 2) Analisi databases di dati nutrizionali e metabolici ricavati da:
- a) Dati in real-life di pazienti utilizzatori di sistemi ad ansa chiusa ibridi (Studio 3)
  - b) Diversi studi nutrizionali con lo stesso disegno sperimentale (Studio 4)

## **4.0. PROTOCOLLI SPERIMENTALI**

### **4.0.1. Le tecniche di lievitazione della pizza influenzano la risposta glicemica**

**postprandiale: studio controllato randomizzato in pazienti con diabete mellito tipo 1 (pubblicato su Diabetes Care, 2019.) (Studio 1)**

#### **Background**

Il raggiungimento di un ottimale controllo della risposta glicemica postprandiale rappresenta un costante problema in persone con DM1 anche quando si utilizzano tecnologie innovative (*Gingras V, Obes Metab. 2018; Bozzetto L, Diabetes Care 2016*). Per questi pazienti, mangiare la pizza è spesso una sfida a causa dell'alto indice glicemico e della conseguente iperglicemia postprandiale prolungata (*Ahern JA, Diabetes Care 1993*). In individui sani o con ridotta tolleranza al glucosio, recenti evidenze hanno dimostrato che il pane lievitato con lievito madre piuttosto che con lievito di birra può ridurre la risposta glicemica postprandiale e che la durata della lievitazione potrebbe svolgere un ruolo benefico (*Stamataki NS, Br J Nutr. 2017*). Non è noto se ciò si osserva anche per la pizza e in pazienti con DM1.

#### **Scopo**

Valutare la risposta glicemica postprandiale in seguito al consumo di tre pizze che differiscono per tipo e durata della lievitazione, in pazienti con DM1 in trattamento con microinfusore d'insulina.

## **Materiali e metodi**

*Partecipanti:* Sono stati reclutati 16 pazienti (9 uomini/7 donne) con DM1 in trattamento con microinfusore d'insulina da almeno 6 mesi, e in buon compenso glicemico ( $HbA1c < 8\%$ ). I criteri di esclusione sono stati la gravidanza, celiachia, gravi complicanze microvascolari e macrovascolari del diabete e qualsiasi altra malattia cronica o acuta che comprometta gravemente lo stato di salute. Tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato prima di essere inclusi nello studio. Il protocollo sperimentale è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II" e registrato su ClinicalTrials.gov, numero identificativo NCT03619031.

*Disegno dello studio:* La fase di intervento dello studio è stata preceduta da una settimana di osservazione (run-in) durante la quale è stata ottimizzata la dose basale di insulina ed è stato calcolato il rapporto insulina/carico glicemico. Secondo un disegno crossover randomizzato, i partecipanti hanno consumato a casa, per cena, in tre giorni non consecutivi per 3 settimane, una pizza preparata con (a) lievito di birra e farina di frumento, lievitata per 5 ore (tempo di lievitazione normale) (Brew5); (b) lievito madre ed una miscela di farine, lievitata per 5 ore (Sour5); (c) lievito madre ed una miscela di farine, lievitata per 60 ore (Sour60). Le dosi di insulina pre-pasto sono state calcolate in base al rapporto insulina-carico glicemico individuale (Bozzetto L, *Diabetes Care* 2016), e per ciascun partecipante sono state le stesse nelle tre occasioni sperimentali, somministrate come bolo a onda doppia 80/20%, con l'ultima quota infusa per 4 ore. La risposta glicemica postprandiale è stata valutata mediante monitoraggio in continuo della glicemia. Dall'analisi dell'area incrementale sotto la curva della risposta glicemica a 3-8 ore sono stati esclusi sei pasti (2 per ogni tipo di pizza), a causa di eventi ipoglicemici verificatisi nella fase postprandiale tardiva.

*Composizione dei pasti sperimentali:* L'impasto e il condimento della pizza sono stati preparati in un'azienda specializzata (*Mediterranea Quality Food S.r.l., Praia a Mare (CS)*),

*Italia*). L'impasto-pizza (250 g) è stato cotto parzialmente e tenuto sottovuoto fino al momento del consumo. Il condimento, composto da passata di pomodoro (150 g) e olio extravergine di oliva (15 g), è stato fornito ai partecipanti in barattoli. I partecipanti hanno cotto la pizza in forno elettrico preriscaldato a 200°C per 4-5 minuti. L'impasto per Sour5 e Sour60 è stato preparato con farina di frumento raffinata (111 g), farina di soia (3,3 g), farina di riso (3,3 g), lievito madre (44 g), acqua (83 g), olio extravergine di oliva (1,7 g), sale (2,4 g) e agente lievitante secco (0,17 g); l'impasto per Brew5 è stato preparato con farina di frumento raffinata (157g), lievito di birra (1,6 g), acqua (86 g), olio extravergine di oliva (2,3 g) e sale (3,4 g). Le tre pizze erano molto simili per energia (724-752 kcal) e composizione in macronutrienti (carboidrati 120-127 g, totale grassi 19 g, saturi 2,8 g, monoinsaturi 12,5-12,8 g, polinsaturi 2,1-2,4 g, proteine 19,0-19,3 g, fibra 5,6-5,7 g).

*Analisi statistica:* I dati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard (M $\pm$ DS). Le aree incrementali della glicemia postprandiale (iAUC) sono state calcolate come area sottesa alla curva al di sopra del valore a digiuno, mediante metodo trapezoidale. Le differenze tra i tre pasti sperimentali sono state valutate mediante il test di Friedman e analisi *post hoc* a coppie, corretta per confronti multipli.

## **Risultati**

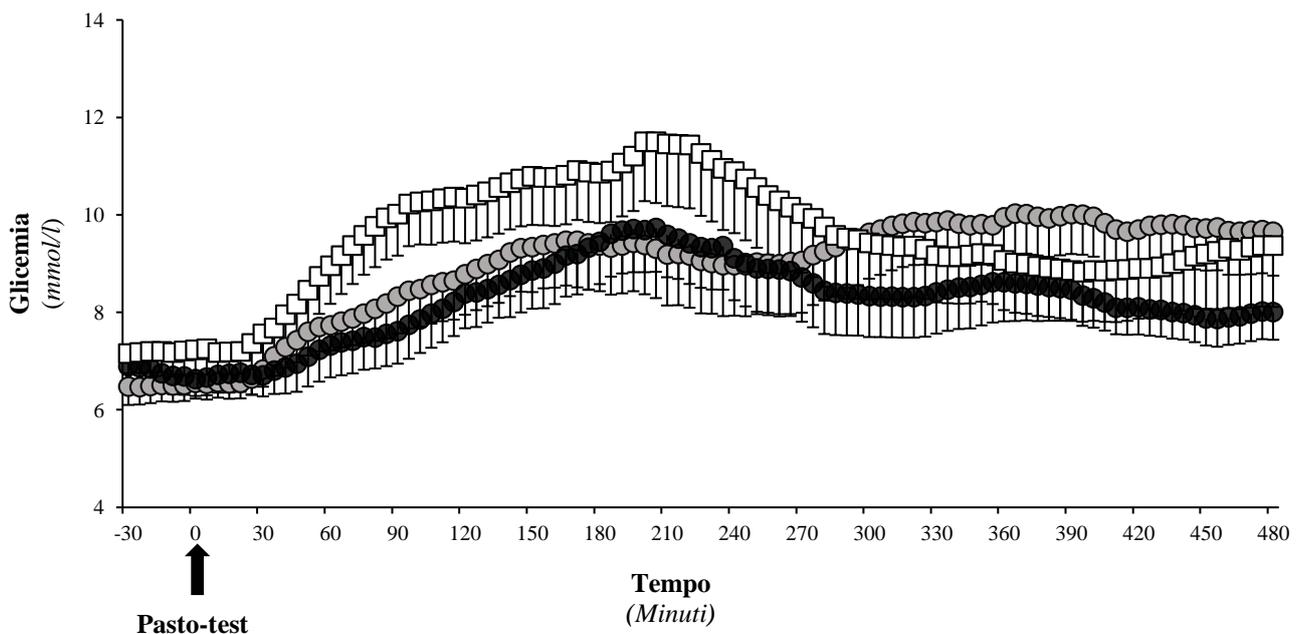
*Caratteristiche dei partecipanti:* I partecipanti allo studio avevano un'età media di 42 $\pm$ 3 anni, un indice di massa corporea di 25.5 $\pm$ 0.9 kg/m<sup>2</sup>, durata del diabete di 25 $\pm$ 3 anni e un buon compenso glicemico (HbA1c 7 $\pm$  0,5% [53 $\pm$ 3 mmol/mol]). Le dosi di insulina somministrate prima dei pasti variavano tra 6 e 14 UI (media, 9,6  $\pm$  2,1 UI).

*Glicemia:* I profili glicemici prima e dopo i tre pasti pizza sono mostrati in Figura 1. Nei 30 minuti precedenti ai pasti test, le concentrazioni di glucosio erano stabili e comparabili nelle tre occasioni. Dopo ciascun pasto la glicemia ha iniziato ad aumentare a partire da 30 minuti,

ha toccato il picco intorno alla 3a ora ( $304\pm150$ ,  $288\pm185$ ,  $310\pm165$  min, Brew5, Sour5 e Sour60 rispettivamente,  $p=0.814$ ) e raggiunto lo *steady state*, senza tornare al valore a digiuno, alla 4° ora.

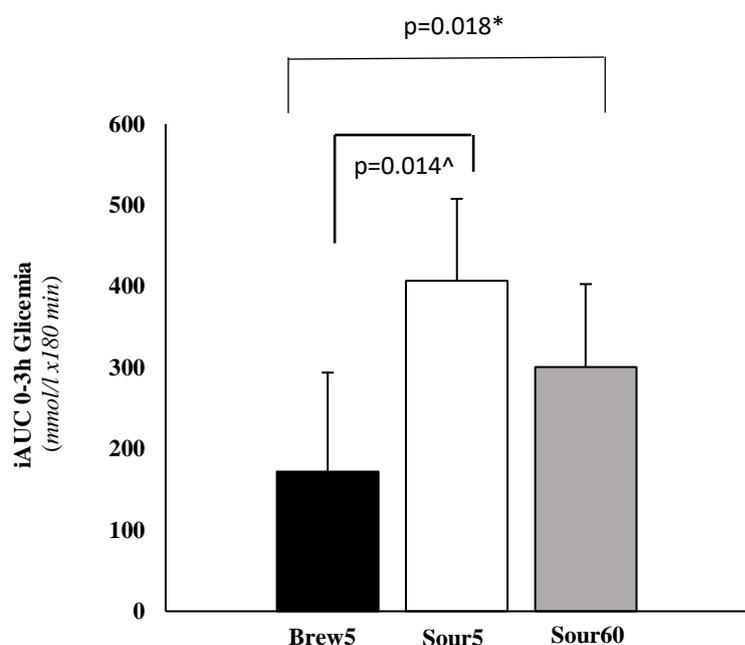
Tuttavia, la risposta glicemica è stata maggiore dopo Sour5 rispetto a Brew5 e Sour60. Infatti, il picco della risposta glicemica postprandiale precoce è stato più pronunciato per Sour5 ( $6.0\pm1.0$  mmol/l) rispetto a Brew5 ( $3.7\pm0.8$ ,  $p=0.040$ ) and Sour60 ( $4.5\pm0.9$ ,  $p=0.231$ ) ( $p=0.039$ ). Inoltre, l'area incrementale postprandiale iAUC 0-3h è stata significativamente più alta per Sour5 ( $407\pm101$  mmol/lx180min) rispetto a Brew5 ( $172\pm122$ ,  $p=0.014$ ) e Sour60 ( $301\pm102$ ,  $p=0.472$ ) ( $p=0.018$ , test di Friedman) (Figura 2). Nelle ore successive, il profilo glicemico postprandiale non differiva significativamente tra i tre pasti (3-8h iAUC:  $1073\pm279$ ,  $891\pm355$ ,  $1081\pm334$  mmol/lx300min, dopo Sour5, Brew5 e Sour60, rispettivamente,  $p=0.905$ ).

**Figura 1.** Profilo glicemico postprandiale determinato dal consumo delle tre pizze.



Pizza Brew5: cerchi neri; Pizza Sour5: quadrati bianchi; Pizza Sour60: cerchi grigi.

**Figura 2.** Area incrementale postprandiale del glucosio 0-3h dopo il consumo delle tre pizze.



I dati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard (M $\pm$ DS). \*Test di Friedman per misure ripetute. ^ Analisi *post-hoc* a coppie corretta per confronti multipli.

## Discussione

Questo studio condotto su pazienti con DM1 in trattamento con microinfusore, valuta per la prima volta gli effetti glicemici del tipo e della durata della lievitazione della pizza e ha dimostrato che una pizza con lievito madre induce una maggiore risposta glicemica postprandiale precoce rispetto ad una pizza con lievito di birra. L'impasto a lunga lievitazione ha controbilanciato la più alta risposta glicemica postprandiale, che non differiva tra le pizze Sour60 e Brew5.

Pertanto, con la pizza non siamo riusciti ad osservare gli effetti ipoglicemizzanti della pasta madre dimostrati con il pane in individui sani (*Scazzina F, J Cereal Sci 2009; Novotni D, J Cereal Sci 2012; Novotni D, Int J Food Sci Nutr 2011*) e con alterata tolleranza al glucosio (*Maioli M, Acta Diabetol 2008*). Questi effetti potrebbero essere influenzati dal tipo e dalla quantità di lievito madre aggiunto (*Novotni D, J Cereal Sci 2012; Novotni D, Int J Food Sci*

*Nutr 2011*). Tuttavia i nostri risultati sono in linea con recenti evidenze relative al consumo di pane croccante di segale lievitato con pasta madre in individui sani (*Zamaratskaia G, Br J Nutr. 2017*).

I fattori che potenzialmente spiegano la variabilità tra pane e pizza, quali le differenze di composizione, lievitazione, cottura, conservazione, struttura dell'impasto, e la disponibilità dei carboidrati alla digestione sono oggetto delle nostre ricerche.

I punti di forza del nostro studio sono il disegno controllato randomizzato, l'utilizzo del sistema di monitoraggio in continuo della glicemia, e la conduzione in un contesto di *real-life* in pazienti con DM1, che conferiscono affidabilità e rilevanza clinica. Una limitazione è che i risultati non sono estesi a tutte le pizze lievitate naturalmente a causa della variazione degli ecosistemi microbici del lievito. Inoltre, abbiamo testato una pizza italiana "sana" con una piccola quantità di grassi e proteine, due nutrienti che contribuiscono a rendere il consumo di quest'alimento così problematico.

In conclusione, ad oggi assistiamo ad un rinnovato interesse per la panificazione con lievito madre, per gli effetti favorevoli su gusto, consistenza, digeribilità e conservabilità. Con una pizza a lunga lievitazione con pasta madre, le persone con DM1 potrebbero non avere la necessità di modificare la quantità e la modalità di erogazione del bolo di insulina utilizzato per una pizza con lievito di birra, come invece potrebbe accadere per una pizza a breve lievitazione con pasta madre.

#### **4.0.2. La pasta di grano saraceno arricchita con fibre modifica la risposta glicemica rispetto alla pasta di mais in soggetti con diabete di tipo 1 e celiachia: studio in acuto controllato randomizzato (pubblicato su *Diabetes Research and Clinical Practice*, nel 2019). (Studio 2)**

##### **Background**

Il DM1 è spesso associato alla celiachia (enteropatia sensibile al glutine), un disturbo immuno-mediato innescato da una reazione avversa al glutine alimentare, un complesso proteico presente in quasi tutti i cereali (*M.M. Leonard, Diabetes Obes Metab, 2015*). La frequenza della celiachia in soggetti con DM1 è dell'1-16% rispetto allo 0,3-1% nella popolazione generale (*American Diabetes Association Standards of medical care in diabetes Diabetes Care, 2017*).

Ad oggi, l'unica terapia è la completa esclusione dalla dieta degli alimenti contenenti glutine (*G. Vici, Clin Nutr, 2016*). D'altra parte, la terapia nutrizionale è una pietra angolare per ottenere un buon controllo della glicemia e prevenire l'ipoglicemia nei soggetti diabetici di tipo 1 (*American Diabetes Association Standards of medical care in diabetes Diabetes Care, 2017; Authors/Task Force Members, Rydén L, Eur Heart J 2013*).

L'effetto degli alimenti senza glutine sulla risposta glicemica in persone con DM1 e celiachia è ancora controverso. È stato suggerito che il contenuto lipidico e l'alto indice glicemico di alcuni prodotti senza glutine possano avere un effetto dannoso sul controllo metabolico (*A.E. Scaramuzza, World J Diabetes, 2013*). Inoltre, la dieta priva di glutine può portare a una cattiva qualità della dieta e a carenze nutrizionali, soprattutto in termini di micronutrienti e assunzione di fibre (*G. Vici, Clin Nutr, 2016*). In questo contesto, alimenti naturalmente privi di glutine come gli pseudocereali (grano saraceno, amaranto e quinoa) sono stati proposti come una scelta più salutare rispetto ai prodotti commerciali senza glutine. Di fatto, questi alimenti sono buone fonti di micronutrienti (ferro, zinco, rame, manganese e magnesio) e

fibre alimentari (*L. Alvarez-Jubete, Int J Food Sci Nutr, 2009*). Inoltre, è ben noto che le fibre solubili influenzano positivamente le escursioni glicemiche postprandiali in individui con DM1 o di tipo 2 (DT2) (*M.J. Franz, J Acad Nutr Diet, 2017; J.W. Anderson, J Am Coll Nutr, 2004*). Pertanto, l'aggiunta di fibra solubile agli alimenti naturalmente privi di glutine potrebbe rappresentare una strategia nutrizionale per ottenere un migliore controllo glicemico in soggetti con DM1 e celiachia. A tal proposito, le industrie alimentari stanno sviluppando nuove tipologie di prodotti e, tra queste, è stata prodotta una pasta di grano saraceno arricchita in fibre.

### **Scopo**

Valutare l'effetto in acuto della pasta di grano saraceno arricchita in fibre sulla glicemia postprandiale rispetto alla pasta di mais, uno degli alimenti senza glutine più consumati, in soggetti con DM1 e celiachia.

### **Materiali e metodi**

*Partecipanti:* Sono stati reclutati dieci soggetti con DM1 e celiachia (8 donne e 2 uomini), in trattamento con microinfusore di insulina o terapia multi-iniettiva, che seguivano una dieta rigorosamente priva di glutine sin dalla diagnosi ( $18 \pm 7$  anni). I criteri di esclusione sono stati sierologia positiva per anticorpi anti-transglutaminasi tissutale ed anti-endomisio nei 6 mesi precedenti, gravidanza/allattamento, gravi complicanze microvascolari e macrovascolari del diabete e qualsiasi altra malattia cronica o acuta che comprometta gravemente lo stato di salute, escluso il diabete. Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università Federico II e registrato su ClinicalTrials.gov, numero identificativo NCT03380988. Tutti i partecipanti hanno sottoscritto il consenso informato alla partecipazione allo studio.

*Disegno dello studio:* Lo studio è stato preceduto da un periodo di run-in di 1 settimana durante il quale ciascun partecipante ha effettuato il monitoraggio in continuo della glicemia e ha compilato un diario alimentare di 7 giorni, allo scopo di calcolare il rapporto insulina

carboidrati. Lo studio è stato condotto secondo un disegno crossover randomizzato, pertanto, i partecipanti sono stati assegnati, in maniera casuale, ad una prima settimana in cui hanno consumato pasta di grano saraceno arricchita in fibre (FBP) oppure pasta di mais (CP), utilizzata come controllo, per poi proseguire durante la settimana successiva con l'altro trattamento. Durante il periodo sperimentale, i partecipanti sono stati sottoposti a monitoraggio in continuo della glicemia, indossando i loro sensori 7 giorni a settimana. Inoltre, per poter ottenere un livello adeguato di affidabilità dei risultati, è stato chiesto ai partecipanti di calibrare lo strumento 3 volte al giorno attraverso il sangue capillare utilizzato per la determinazione della glicemia pre-prandiale. Per limitare possibili bias dovuti all'effetto *second meal*, secondo cui la risposta glicemica di un pasto può influenzare quella del pasto successivo, la mattina del test, i pazienti hanno consumato una colazione standard (30 g di carboidrati) e hanno erogato il consueto bolo di insulina. Successivamente, hanno consumato il pasto test all'ora di pranzo. Qualora la glicemia non fosse entro il range di 5-8 mmol/L, e non fosse stabile (3.3 mmol/L) durante gli ultimi 60 minuti (verificabile attraverso il sistema di monitoraggio in continuo della glicemia), il consumo del pasto doveva essere posticipato. La dose di insulina pre-prandiale, somministrata poco prima del consumo del pasto, è stata calcolata sulla base del rapporto insulina/carboidrati di ciascun partecipante. Tale rapporto è stato determinato durante il precedente periodo di run-in. Per ciascun soggetto, la dose di insulina da praticare è stata la stessa nell'ambito dei due pasti. Inoltre, sono stati effettuati prelievi di sangue venoso a digiuno e durante le 3 ore dopo il consumo del pasto (30,60, 90, 120,150 e 180 minuti) per la valutazione delle concentrazioni plasmatiche di glucosio.

*Composizione dei pasti sperimentali:* I due pasti erano composti dai due tipi di pasta [contenenti 50 g di carboidrati (FBP: 100 g o CP: 60 g)] e salsa di pomodoro (100 g di passata di pomodoro, 5 g di olio extravergine di oliva). La principale differenza tra i pasti era

rappresentata dalla quantità di fibre (FBP: 26,5 g o CP: 3,84 g; Tabella 1) dovuta all'aggiunta di fibre di pisello alla pasta di grano saraceno durante il processo di produzione.

**Tabella 1.** Composizione in nutrienti dei due pasti test.

	<b>Pasto con pasta di controllo</b>	<b>Pasto con pasta di grano saraceno</b>
<b>Energia (Kcal)</b>	275	363
<b>Carboidrati (g)</b>	53.1	53.7
<b>Carboidrati solubili (g)</b>	3.14	3.61
<b>Fibre (g)</b>	3.84	26.5
<b>Proteine (g)</b>	5.15	10.7
<b>Grassi totali (g)</b>	5.59	7.60
<b>SFA (g)</b>	0.81	1.24
<b>MUFA (g)</b>	3.65	3.65
<b>PUFA (g)</b>	0.38	0.38

SFA: Acidi grassi saturi; MUFA: Acidi grassi monoinsaturi; PUFA: Acidi grassi polinsaturi

Altre piccole differenze erano relative all'energia totale, (per il differente contenuto di fibra alimentare), e all'assunzione di proteine e grassi riconducibile alla differente composizione in nutrienti dei due tipi di pasta (Tabella 2).

**Tabella 2.** Composizione dei due tipi di pasta (100g).

	<b>Pasta di controllo</b>	<b>Pasta di grano saraceno arricchita in fibre</b>
<b>Energia (Kcal)</b>	353	300
<b>Carboidrati (g)</b>	78.3	47.6
<b>Carboidrati solubili (g)</b>	0.24	0.61
<b>Fibre (g)</b>	3.90	25
<b>Proteine (g)</b>	6.42	9.40
<b>Grassi (g)</b>	0.66	2.40

I pasti sono stati preparati sotto la supervisione di un nutrizionista, seguendo modalità standardizzate (1L di acqua, 8g di sale, tempo di cottura dopo l'ebollizione: 5 minuti per FBP e 10 minuti dopo CP). I partecipanti sono stati invitati a consumare il pasto con 200ml di acqua, nell'ambito di 15-20 minuti.

*Metodi e procedure di laboratorio:* Per il monitoraggio in continuo della glicemia, 8 partecipanti hanno utilizzato i sensori Enlite Medtronic, mentre 2 partecipanti i sensori G4 Dexcom. La differenza media assoluta relativa (MARD%) stimata è stata del 17.8% e 13.9% rispettivamente (V. Matuleviciene, *Diabetes Technol Ther*, 2014). I partecipanti, hanno utilizzato il sistema di monitoraggio della glicemia integrato al proprio microinfusore di insulina, cioè quello a cui sono abituati. Al termine delle due settimane sperimentali, i dati registrati attraverso il sistema di monitoraggio in continuo ed attraverso il microinfusore di insulina relativi alle 6 ore dopo il consumo dei pasti test e prima del pasto successivo sono stati scaricati attraverso software dedicati.

Le concentrazioni plasmatiche di glucosio sono state valutate con metodi enzimatici - colorimetrici standard (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germania) sull'autoanalizzatore Cobas Mira (ABX Diagnostics, Montpellier, Francia).

*Analisi statistica:* La grandezza del campione (10) è stata calcolata in base alla risposta glicemica postprandiale (iAUC) che è l'outcome primario dello studio. Questa dimensione del campione fornisce l'80% del potere statistico in grado di individuare una differenza (in iAUC) di  $7 \pm 6$  mmol/L x 180 min nella risposta glicemica postprandiale tra i due pasti test con un livello di significatività del 5%, precedentemente osservata in soggetti con DM1 che hanno consumato due pasti sperimentali diversi solo per qualità dei carboidrati.

I dati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard (M $\pm$ DS) se non diversamente specificato. L'area incrementale della glicemia postprandiale è stata calcolata mediante metodo trapezoidale.

Le differenze tra i profili della risposta glicemica postprandiale dei due pasti sono state valutate attraverso il t-test per dati appaiati. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando la versione 21 del Software Statistical Package for Social Sciences (SPSS/PC; SPSS, USA).

## **Risultati**

*Caratteristiche dei partecipanti:* I partecipanti avevano un'età di  $32 \pm 8$  anni, un discreto compenso glicemico (HbA1c  $7,3 \pm 1,0\%$  [ $56 \pm 6$  mmol/mol]), durata del diabete di  $23 \pm 6$  anni, indice di massa corporea di  $22,7 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup> e non presentavano segni di altre malattie acute o croniche, ad eccezione del diabete. Per quanto riguarda la somministrazione d'insulina, 5 partecipanti erano in terapia con microinfusore e 5 in trattamento multi-iniettivo.

*Glicemia postprandiale:* Il profilo glicemico postprandiale nelle 6 ore ha mostrato un diverso andamento per i due pasti (Fig. 3). Più in dettaglio, dopo il pasto CP, la risposta glicemica era

più bassa nella prima parte della curva (da 60 a 220 min), con valori che sfioravano l'ipoglicemia (3,89 mmol/L). Infatti si sono verificati eventi ipoglicemici in quattro partecipanti e, in due casi, la riduzione dei valori glicemici ha provocato un'ipoglicemia sintomatica. Al contrario, nella seconda parte del periodo postprandiale (3–6h), la risposta glicemica è aumentata, con valori medi superiori a 8,89 mmol/L.

Dopo il pasto FBP è stato osservato un profilo postprandiale meno variabile, con una risposta glicemica più elevata nel primo periodo (da 60 a 220min), e valori più bassi nella seconda parte della curva (da 220 a 360min), con concentrazioni medie di glucosio non superiori a 8,89 mmol/L in tutto il periodo delle 6 ore.

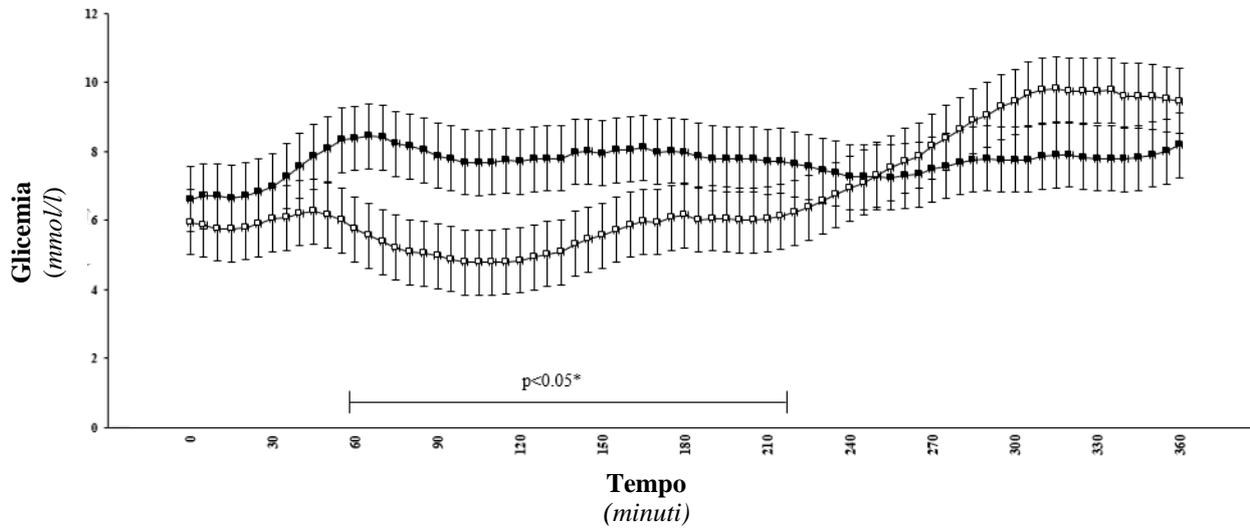
Le differenze nel profilo postprandiale tra i due pasti erano particolarmente evidenti valutando la risposta glicemica postprandiale come iAUC. Infatti, nelle prime 3 ore della risposta postprandiale (Fig. 4a) la iAUC del glucosio era significativamente più bassa dopo il pasto CP rispetto al pasto FBP (pasto CP:  $-38 \pm 158$  vs FBP:  $305 \pm 209$  mmol/L·180min,  $p=0.040$  dal test t di Student a due code per campioni appaiati). Nella seconda parte della curva (3–6h; Fig. 4b) la risposta glicemica si è invertita, con valori di glucosio significativamente più alti per il pasto CP rispetto al pasto FBP ( $432 \pm 153$  vs.  $308 \pm 252$  mmol/L·180min,  $p=0.030$ ).

Per quanto riguarda la risposta complessiva nelle 6 ore, la differenza tra i due pasti è stata meno marcata, anche se sono stati rilevati valori di iAUC inferiori per CP rispetto a FBP ( $425 \pm 24$  vs.  $597 \pm 33$  mmol/L·360min,  $p=0,017$ ; figura 4d).

La misurazione delle concentrazioni di glucosio plasmatico nelle prime 3 ore era analoga ai risultati del monitoraggio in continuo, con valori significativamente inferiori dopo CP rispetto a FBP a 90 minuti ( $p = 0,043$ ) e l'iAUC significativamente inferiore dopo il pasto CP rispetto al pasto FBP ( $217 \pm 208$  e  $545 \pm 236$  mmol/L·180min,  $p=0,026$ ).

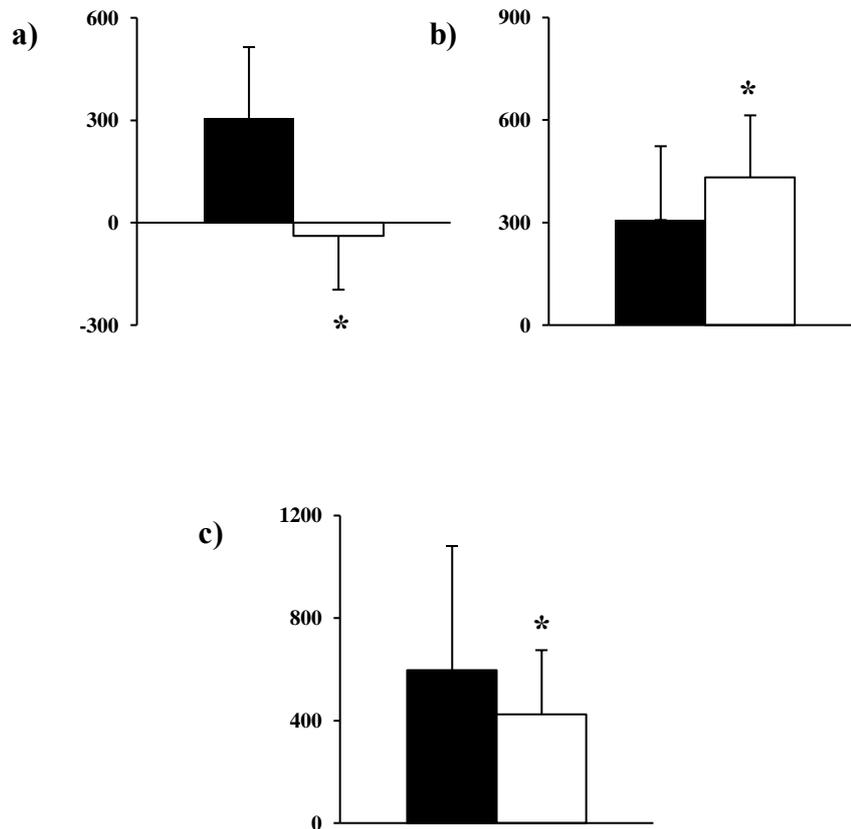
Tutti i risultati provenienti dal sistema di monitoraggio in continuo sono rimasti simili quando sono stati esclusi dalle analisi i due partecipanti interessati da eventi ipoglicemici sintomatici.

**Figura 3.** Profilo glicemico postprandiale dopo il consumo della pasta di mais e della pasta di grano saraceno arricchita in fibre.



Pasta di mais: quadrati bianchi; Pasta di grano saraceno arricchita in fibre: quadrati neri. Dati espressi come media  $\pm$  ESM; \* $p < 0.05$  da 60 a 220 minuti con t test di Student a due code per campioni appaiati.

**Figura 4.** Area incrementale postprandiale del glucosio 0-3h (a), 3-6h (b) e 6-h (c) dopo il consumo dei due pasti test.



Pasta di mais: quadrati bianchi; Pasta di grano saraceno arricchita in fibre: quadrati neri. Dati espressi come media  $\pm$  ESM; \*  $p < 0.05$  con t test di Student a due code per campioni appaiati.

## Discussione

Questo studio dimostra chiaramente che il consumo di pasta di grano saraceno arricchita in fibre rispetto alla pasta di mais, determina una RGP differente, dopo l'erogazione della stessa dose di insulina, in soggetti con DM1 e celiachia. Infatti, il profilo della risposta glicemica con la pasta di grano saraceno arricchita in fibre sembra essere più stabile, con un minor rischio di ipoglicemia durante le prime 2-3 ore e con valori medi costantemente inferiori a 8,89 mmol/L durante la fase postprandiale tardiva (3-6 ore).

Al contrario, dopo il consumo della pasta di mais il rischio di ipoglicemia era notevole. Infatti, quattro partecipanti hanno riscontrato valori glicemici inferiori a 3,89 mmol/L nella prima fase postprandiale, e due hanno presentato un'ipoglicemia sintomatica. Di conseguenza, con la pasta di mais si è avuto un maggior rimbalzo della risposta glicemica nel periodo postprandiale tardivo, con valori glicemici medi superiori a 8,89 mmol/L. Pertanto, sebbene la RGP a 6 ore fosse inferiore dopo il consumo della pasta di mais, si è evidenziata una maggiore stabilità nello *shape* determinato dalla pasta di grano saraceno arricchita in fibre e soprattutto un minor rischio di ipoglicemia nel primo periodo postprandiale. La riduzione della variabilità della risposta glicemica potrebbe significare, a lungo termine, un migliore controllo della glicemia in pazienti con diabete e celiachia. Inoltre, mentre la dieta priva di glutine è considerata un intervento terapeutico sufficiente per il trattamento della celiachia, al contempo, i pazienti sentono che è difficile rispettare una dieta rigorosa e priva di glutine. Questa consapevolezza si traduce in una scarsa qualità della vita e ad un peggiore controllo glicemico (*A. Pham-Short, J Pediatr, 2016*). Alla luce di quanto detto, avere più opzioni dietetiche aumenterebbe la compliance alimentare, migliorando così lo stato di salute e la qualità della vita (*M. Kurien, J Hum Nutr Diet, 2016*). D'altra parte, non sono stati evidenziati effetti negativi sul consumo di pasta di grano saraceno arricchita in fibre. La differente risposta glicemica osservata nel nostro studio può essere dovuta essenzialmente al tipo di pasta consumata, poiché i due pasti avevano la stessa quantità in carboidrati. Tuttavia, è da evidenziare una piccola differenza nel contenuto proteico (5,15 g nella pasta di mais e 10,7 g nella pasta di grano saraceno arricchita in fibre). Sebbene un maggiore apporto proteico possa indurre un aumento della secrezione di insulina, questo non spiegherebbe i nostri risultati, per la mancanza di secrezione di insulina in pazienti con DM1. Tuttavia, è stato dimostrato che le proteine alimentari possono ritardare la velocità

di svuotamento gastrico e ridurre il pH del chimo, rallentando così la digestione e l'assorbimento dei carboidrati in soggetti sani (A. Karamanlis, *Am J Clin Nutr*, 2007; J. Stanstrup, *J Proteome Res*, 2014), con diabete (J. Ma, *Diabetes Care*, 2009; K.J. Bell, *Diabetes Care*, 2015). Di conseguenza, anche se la differenza dell'intake proteico tra i due pasti era minima, non si può escludere totalmente un possibile effetto delle proteine sulla RGP.

Precedenti ricerche hanno dimostrato che il grano saraceno è una buona fonte di fibre alimentari e micronutrienti (cioè ferro, zinco, rame, manganese e magnesio) (L. Alvarez-Jubete, *Int J Food Sci Nutr*, 2009; S.Q. Li, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 41 2001). Pertanto, i prodotti a base di questo pseudocereale possono rappresentare uno strumento adatto per aumentarne l'assunzione, contribuendo così al miglioramento della qualità nutrizionale in soggetti con DT1 e celiachia.

Per quanto riguarda il metabolismo glucidico, è stato dimostrato che l'assunzione di alimenti a base di grano saraceno induce una risposta glicemica più bassa o più stabile in individui sani (V. Skrabanja, *J Agric Food Chem*, 2001; S.G. Gabriel, *Open Access Maced J Med Sci*, 2016) e diabetici di tipo 2 (S.G. Gabriel, *Open Access Maced J Med Sci*, 2016; D.M. Stringer, *Metabolism*, 2013; L. Su-Que, *Nutr J*, 2013). Tuttavia, non vi erano studi condotti su soggetti diabetici di tipo 1 con o senza celiachia. A tal proposito, è ben documentato l'effetto benefico di cibi ricchi in fibre o integratori arricchiti in fibre sulla risposta glicemica in soggetti sani e in soggetti diabetici. In particolare, l'aggiunta di fibra di pisello a un pasto misto ha determinato una più bassa e prolungata risposta glicemica postprandiale in volontari sani (C.E. Smith, *Br J Nutr*, 2012; R.C. Mollard, *Appl Physiol Nutr Metab*, 2014). Non vi erano evidenze sulla combinazione dei due componenti, grano saraceno e fibra di pisello, e, a nostra conoscenza, questo è il primo studio che valuta l'effetto di alimenti alternativi senza glutine arricchiti in fibra solubile, in soggetti celiaci con DM1.

A causa dell'elevata quantità di fibra aggiunta alla pasta di grano saraceno (26,5 g), ci saremmo aspettati una maggiore riduzione della risposta glicemica. Come riportato in studi precedenti, probabilmente, la lavorazione degli alimenti potrebbe aver influenzato lo stato fisico della fibra di pisello, riducendo così la sua attività ipoglicemizzante (*F. Scazzina, Br J Nutr, 2013; J.W. McRorie Jr, J Acad Nutr Diet, 2017; H. Meng, Am J Clin Nutr, 2017*).

Infatti, è stato dimostrato che la distruzione fisica e l'esposizione al calore sono i principali determinanti della degradazione delle fibre in alimenti contenenti fibre (*F. Scazzina, Br J Nutr, 2013*). Si può quindi ipotizzare che il processo di arricchimento della fibra possa aver profondamente modificato la forma fisica della fibra di pisello, riducendone il potenziale effetto biologico. D'altra parte, è possibile che le fibre derivate dai piselli non siano efficaci quanto quelle naturalmente contenute nell'alimento stesso. Infatti, è ben noto che la matrice alimentare influenza l'attività biologica dei composti bioattivi (*P.J. Aggett, Eur J Nutr, 2005*).

Il nostro studio è stato condotto in acuto, pertanto i partecipanti hanno consumato la pasta di grano saraceno arricchita in fibre in una sola occasione; di conseguenza, i nostri risultati dovrebbero essere confermati da ulteriori studi clinici condotti a medio/lungo termine.

Naturalmente, i nostri risultati non possono essere trasferiti direttamente ad altre popolazioni (cioè individui sani, pazienti con malattia celiaca senza DM1 e pazienti con DM1 senza malattia celiaca) a causa di alcune caratteristiche specifiche del nostro gruppo di studio (pazienti con DM1 e celiachia) che potrebbero aver influito sulla risposta glicemica. In particolare, l'aumento della permeabilità intestinale ai carboidrati è uno dei principali fattori correlati alla variabilità della glicemia postprandiale in pazienti con DM1 (*T. Damci, Eur J Clin Invest., 2003*) e, ancora di più, in pazienti con DM1 e celiachia (*R. Uibo, Cell Mol Immunol, 2011*).

Inoltre, i pazienti con DM1 o celiachia rispetto ai controlli sani, hanno mostrato differenze nella composizione del microbiota intestinale (A. Cohn, *Curr Diab Rep*, 2014) associate a un peggior controllo glicemico (M. Murri, *BMC Med*, 2013).

Tuttavia, non ci sono studi che confrontino la composizione del microbiota tra individui con DM1 o celiachia e quelli che presentano entrambe le malattie e non abbiamo eseguito alcuna misurazione della composizione del microbiota e della permeabilità intestinale. Dunque, non abbiamo informazioni su come questi due fattori potrebbero aver influenzato i nostri risultati.

In conclusione, il consumo di pasta di grano saraceno arricchito in fibre può rappresentare una strategia utile per indurre una risposta glicemica più stabile nel periodo postprandiale in soggetti con DM1 e celiachia. Sono però necessari ulteriori studi per valutare gli effetti a medio/lungo termine e indagare sui possibili meccanismi alla base di questi effetti.

#### **04.0.3 Determinanti nutrizionali del controllo glicemico postprandiale in adulti con diabete tipo 1 in trattamento con un sistema ibrido ad ansa chiusa (pubblicato su *Diabetologia*, 2021). (Studio 3)**

##### **Background**

Il controllo ottimale della glicemia è un obiettivo difficile da raggiungere per i soggetti con DM1, in particolare nel periodo postprandiale (*American Diabetes Association 2019; Ceriello A, Diabet Med, 2008*). I carboidrati (CHO) sono i principali determinanti della risposta glicemica postprandiale (*American Diabetes Association 2019*). Tuttavia, numerose evidenze hanno dimostrato gli effetti sulla glicemia dopo il pasto degli altri componenti della dieta, quali le proteine e i grassi. Elevate assunzioni di proteine alimentari possono aumentare la risposta glicemica postprandiale secondo una relazione dose-risposta (*Bell KJ, Diabetes Care, 2015; Paterson MA Diabet Med 2017; Wolpert HA, Diabetes Care 2013*), probabilmente a causa della conversione degli amminoacidi in glucosio (*Evert AB, Diabetes Spectr, 2020*).

Inoltre, la quantità e la qualità dei grassi possono influenzare la forma e l'entità della risposta

glicemica postprandiale nei pasti contenenti la stessa quantità di CHO, agendo attraverso il rallentamento dello svuotamento gastrico e la riduzione della sensibilità all'insulina (*Evert AB, Diabetes Spectr, 2020; Campbell MD, Diabetes Care 2016; Bozzetto L, Diabetes Care 2016*). Un ulteriore meccanismo che determina un aumento della risposta glicemica è la stimolazione del glucagone da parte delle proteine e dei grassi (*Markova M, Am J Clin Nutr 2018; Bozzetto L, Clin Nutr 2018*). Alla luce di quanto detto, è lecito interrogarsi sull'efficacia del solo conteggio dei carboidrati per la stima dell'insulina prandiale (*Bell KJ, Lancet Diabetes Endocrinol, 2014*).

D'altra parte, il conteggio dei carboidrati è essenziale per il funzionamento della modalità più avanzata di somministrazione di insulina ad oggi disponibile per persone con DM1, ovvero il sistema ibrido ad ansa chiusa (HCLS). Sebbene l'HCLS offra un migliore controllo della glicemia e un ridotto rischio di ipoglicemia (*Weisman A, Lancet Diabetes Endocrinol 2017; Bekiari, BMJ 2018*), i pazienti riscontrano ancora grandi escursioni glicemiche postprandiali a causa di una fallimentare attenuazione della risposta glicemica dopo i pasti (*Gingras V, Diabetes Obes Metab, 2018*). Pertanto, anche avvalendosi del pancreas artificiale, il controllo della glicemia dopo il pasto rimane un rilevante problema da affrontare.

Gli HCLS erogano automaticamente l'insulina basale secondo un algoritmo basato sul monitoraggio in continuo del glucosio. Il bolo pasto, invece, è erogato dal paziente dopo essere stato stimato dall'HCLS in base alla quantità di CHO del pasto, inserita dal paziente stesso, e a specifiche caratteristiche predefinite (sensibilità insulinica, target glicemico postprandiale, insulin on board, rapporto insulina/CHO).

Ci sono pochissime evidenze relative ai fattori nutrizionali che influenzano il controllo della glicemia postprandiale in pazienti con DM1 in HCLS. In questi pazienti, un recente studio ha mostrato un migliore controllo giornaliero della glicemia con un apporto di carboidrati più basso rispetto ad uno più alto (*Lehmann V, Diabetes Care, 2020*), mentre non ci sono studi

che hanno esplorato gli effetti della composizione in nutrienti del pasto sul controllo glicemico giornaliero e postprandiale.

Questa informazione potrebbe essere clinicamente rilevante per ridurre le escursioni glicemiche postprandiali, identificando i determinanti nutrizionali e migliorando le prestazioni degli algoritmi dell'HCLS.

Pertanto, abbiamo studiato l'associazione tra la composizione in nutrienti del pasto e il controllo della risposta glicemica postprandiale in pazienti con DM1 in trattamento con HCLS, in condizioni di vita reale.

### **Scopo**

Valutare la relazione tra i nutrienti del pasto e la glicemia postprandiale in individui con DM1 in HCLS.

### **Materiali e metodi**

*Partecipanti:* Sono stati reclutati tutti i pazienti di età >18 anni con DM1 in HCLS (MiniMed 670G®) che frequentavano l'Ambulatorio Diabetologico dell'Ospedale Universitario Federico II (Napoli, Italia), che avessero compilato almeno un diario alimentare di 7 giorni, con un'assunzione giornaliera di cibo > 3350 kJ (800 kcal) e un tempo trascorso in modalità automatica HCLS >97%, durante il periodo di osservazione. I diari alimentari inclusi nelle analisi sono stati compilati da gennaio 2019 a settembre 2020, contando 1264 pasti (398 colazioni, 441 pranzi e 425 cene).

I diari alimentari e i dati relativi all'HCLS inclusi nelle analisi sono riferiti a 25 partecipanti, 12 uomini e 13 donne, di età media di  $40\pm 12$  anni, con una durata del diabete di  $15\pm 11$  anni e un tempo trascorso in modalità automatica in media di  $157\pm 138$  giorni. Inoltre, avevano un compenso glicemico soddisfacente, come mostrato dai valori di HbA1c ( $6,9\pm 0,2\%$ ,  $51\pm 10$  mmol/mol) e dai parametri glicemici giornalieri derivati dalle metriche del monitoraggio in continuo del glucosio (*Battelino T, Diabetes Care, 2019*) (intervallo time-in-target, [TIR] 3,9–

10,0 mmol/L,  $75 \pm 15\%$ ; tempo al di sopra dell'intervallo target, [TAR]  $> 10,0$  mmol/L,  $19,4 \pm 11\%$ ; TAR  $> 13,9$  mmol/L  $4,5 \pm 6,2\%$ ; tempo al di sotto dell'intervallo target, [TBR]  $< 3,9$  mmol/L,  $1,2 \pm 2,1\%$ ; TBR  $< 3,0$  mmol/L,  $0,3 \pm 1,2\%$ ).

Per l'utilizzo dei propri dati, ciascun partecipante ha espresso il proprio consenso informato previa approvazione del Comitato Etico dell'Università Federico II.

*Disegno dello studio:* Tutti i partecipanti hanno completato uno o più diari alimentari di sette giorni dopo aver ricevuto tutte le informazioni per identificare gli alimenti consumati e linee guida per il calcolo della porzione del pasto. È stato chiesto loro di registrare tutti i cibi e le bevande consumati, compresi i condimenti, riportando le porzioni in base alle misure casalinghe (tazza, cucchiaini, ecc.) o al peso e fornendo quanti più dettagli possibili (ad esempio metodi di cottura, marche degli alimenti). Le registrazioni degli alimenti sono state discusse con un dietista esperto per verificare potenziali errori e informazioni mancanti. L'apporto energetico, la composizione in nutrienti, l'indice glicemico e il carico glicemico sono stati calcolati utilizzando il software MetaDieta (Meteda s.r.l., Ascoli-Piceno, Italia). Ai pazienti non è stato richiesto di riportare nei loro diari alimentari o nelle registrazioni del monitoraggio in continuo informazioni sull'attività fisica. Ciononostante, durante i giorni di osservazione, non abbiamo rilevato alcun utilizzo di target glicemici temporanei che indichino una sessione di esercizio fisico.

Secondo il funzionamento dell'HCLS, l'insulina è stata somministrata come bolo pre-pasto sulla base del conteggio dei CHO, microboli post-pasto erogati automaticamente dalla pompa e boli di correzione eventualmente erogati dal paziente su suggerimento dell'HCLS.

I dati sulle concentrazioni di glucosio e sull'infusione di insulina sono stati ottenuti da registrazioni elettroniche disponibili sul cloud Medtronic (CareLink™, <https://carelink.medtronic.eu/>). Per l'analisi di ciascun pasto (colazione, pranzo o cena), sono stati raccolti i dati di glicemia ed insulina a partire da 30 minuti prima del bolo di insulina

preprandiale e per oltre 6 ore dopo il pasto. È stato generalmente osservato un intervallo tra i pasti di almeno 6 ore, sebbene nell'analisi siano state incluse 38 colazioni (9,5%) con un'osservazione postprandiale di sole 5,5 ore. Sono state raccolte le concentrazioni di glucosio ad intervallo di 5 minuti per la valutazione dell'area incrementale sotto la curva (iAUC), calcolata con il metodo trapezoidale, mentre il controllo glicemico è stato valutato mediante le metriche del monitoraggio in continuo del glucosio.

*Analisi statistica:* I dati sono espressi come media $\pm$ DS se non diversamente indicato. Per ogni pasto, i dati relativi alle concentrazioni di glucosio e infusione di insulina sono stati valutati come risposta totale (oltre 6 ore dopo il pasto), risposta precoce (nelle prime 3 ore) e risposta tardiva (nelle ultime 3 ore). Le differenze per la glicemia o l'infusione di insulina tra la fase postprandiale precoce e quella tardiva sono state valutate mediante un modello di regressione lineare a effetti misti considerando il numero identificativo dei partecipanti come effetto casuale e il giorno come effetto casuale *nested*. Le differenze tra i pasti (colazione, pranzo e cena) nella composizione della dieta, iAUC della glicemia, dosi di insulina e metriche del monitoraggio in continuo sono state analizzate utilizzando un modello a effetti misti. In tutte le analisi il tempo è stato considerato come una variabile categoriale. Le differenze significative sono state analizzate con il test *post hoc* di Bonferroni per confronti a coppie. Le associazioni tra le diete, la composizione e le metriche del monitoraggio in continuo del glucosio sono state valutate mediante regressione a effetti misti considerando il numero identificativo del partecipante come effetto casuale. I modelli a effetti misti sono stati eseguiti separatamente per ciascun pasto, per stimare i principali effetti della composizione del pasto. Per tutte le analisi, è stato considerato significativo una  $p < 0.05$ . Le analisi statistiche sono state eseguite secondo metodi standard utilizzando il software SPSS versione 26 (SPSS/PC; SPSS, Chicago, IL, USA) e il framework statistico R versione 4.0.3. Per adattarsi ai modelli a effetti misti, è stata utilizzata la funzione lmer nel pacchetto lme4 R.

## Risultati

*Composizione dei pasti:* Sono stati analizzati un totale di 1264 pasti, composti da 398 colazioni, 441 pranzi e 425 cene. I tre pasti erano significativamente diversi per il contenuto energetico, infatti, la colazione mostrava l'energia più bassa (900 kJ, 215 kcal) rispetto al pranzo (2426 kJ, 579 kcal) e alla cena (2550 kJ, 609 kcal) (Tabella 3). Inoltre, essi differivano significativamente per il contributo in percentuale dei componenti della dieta sull'energia totale del pasto. In particolare, la colazione ha mostrato la più alta percentuale di carboidrati, zuccheri semplici e acidi grassi saturi. Il pranzo ha mostrato il più alto apporto di proteine vegetali. La cena ha mostrato il più alto indice glicemico e carico glicemico. Il pranzo e la cena erano ugualmente più ricchi della colazione in acidi grassi monoinsaturi (MUFA) e fibre. Le quantità di CHO del pasto registrate nel diario alimentare di 7 giorni erano coerenti con i valori di CHO riscontrati nei report dei monitoraggi in continuo/pompa d'insulina, inseriti dai pazienti per il calcolo del bolo pre-pasto ( $p < 0,001$ ).

*Glicemia postprandiale:* Il profilo glicemico postprandiale differiva in base al tipo di pasto (Fig. 5). La regressione a effetti misti ha mostrato che le iAUC del glucosio differivano tra la fase postprandiale precoce (0-3 ore) e tardiva (3-6 ore) a colazione ( $p < 0,001$ ), pranzo ( $p < 0,001$ ) e cena ( $p < 0,001$ ). In dettaglio, dopo la colazione, si è verificato un aumento precoce della glicemia con un picco dopo appena 1 h, con una iAUC0-3 h superiore all'iAUC3-6 h ( $165 \pm 408$  vs  $-9,6 \pm 468$  mmol/l $\times$  180 min). Al contrario, a cena, le concentrazioni medie di glucosio sono aumentate lentamente fino a 4 ore dopo il pasto, con una iAUC3-6 ore superiore all' iAUC0-3 ore ( $237 \pm 534$  contro  $101 \pm 382$  mmol/l $\times$  180 min). Il controllo della glicemia postprandiale valutato mediante metriche del monitoraggio in continuo era generalmente adeguato dopo ogni tipo di pasto, con un TIR  $> 70\%$  e un TBR  $< 2,5\%$  (Fig. 6). Il controllo della glicemia postprandiale era migliore a colazione (TIR  $79,3 \pm 22,2\%$ ) rispetto al pranzo ( $71,3 \pm 23,9\%$ ) o alla cena ( $70,0 \pm 25,9\%$ ) ( $p < 0,001$ ). Una severa iperglicemia

(TAR >13,9 mmol/l) era più frequente a cena piuttosto che pranzo e a colazione. Il TIR giornaliero era significativamente associato al TIR della colazione (coefficiente stimato dal modello di regressione a effetto misto [EST] = 0,258,  $p < 0,001$ ), al TIR del pranzo (Est = 0,290,  $p < 0,001$ ) e al TIR della cena (Est = 0,194,  $p < 0,001$ ).

**Tabella 3.** Energia totale giornaliera e composizione in nutrienti della colazione, pranzo e cena ottenuti con diari alimentari di 7 giorni

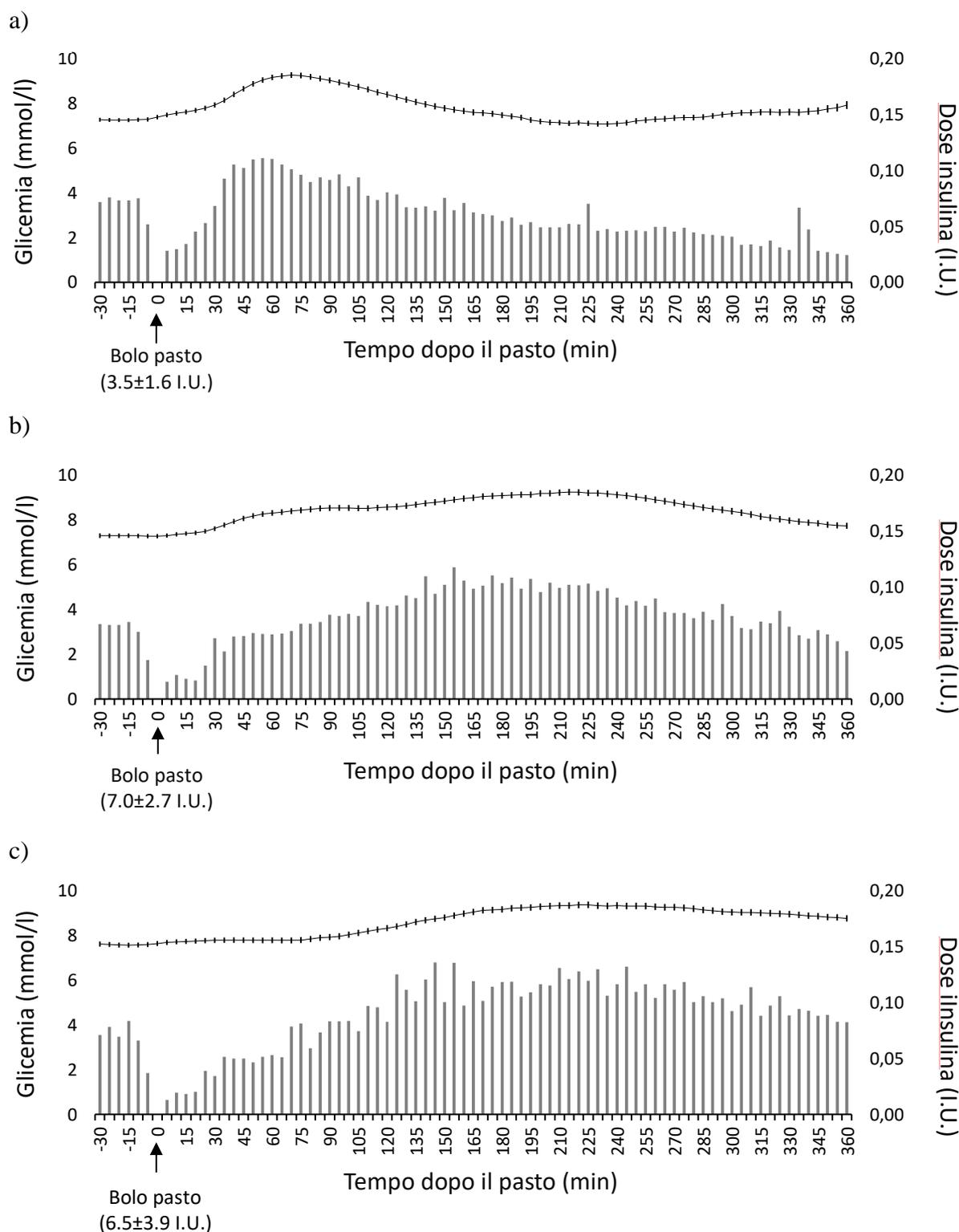
Composizione del pasto	Colazione	Pranzo	Cena
<b>Energia, KJ</b>	900±440	2426±820*	2550±1021*
<b>(Kcal)</b>	(215±105)	(579±196)	(609±244)
<b>Proteine, %TEI</b>	17.7±7.4	16.4±6.6*	20.8±9.3*
<b>Proteine animali</b>	14.5±8.1	6.9±7.7*	14.2±9.7†
<b>Proteine vegetali</b>	2.4±4.5	8.7±3.6*	5.9±3.2*†
<b>CHO, %TEI</b>	55.6±12.3	51.4±13.1*	45.4±15.6*†
<b>Zuccheri solubili, %TEI</b>	29.0±14.0	10.2±8.1*	11.0±8.4*
<b>Grassi, %TEI</b>	26.9±9.3	32.3±10.8*	33.9±13.4*
<b>SFA</b>	12.2±5.4	6.9±4.8*	8.4±5.2*
<b>MUFA</b>	7.9±4.0	16.3±6.5*	15.9±7.4*
<b>PUFA</b>	3.2±2.6	4.5±2.9*	4.2±2.8*
<b>Colesterolo, mg</b>	21.4±20.9	58.9±86.0*	89.1±95.4*
<b>Fibre, g</b>	1.6±1.8	8.1±5.0*	7.8±4.6*
<b>Indice Glicemico, %</b>	51.4±11.7	52.8±11.4	63.1±11.6*†
<b>Carico Glicemico, unità</b>	16.6±8.8	39.4±14.4*	46.4±30.1*†

I dati sono espressi come media±DS; \*p < 0.05 vs colazione; † p < 0.05 vs pranzo (modello a effetti misti con test *post-hoc* di Bonferroni per confronti multipli).

MUFA, acidi grassi monoinsaturi; PUFA, acidi grassi polinsaturi; SFA acidi grassi saturi; TEI, apporto di energia totale.

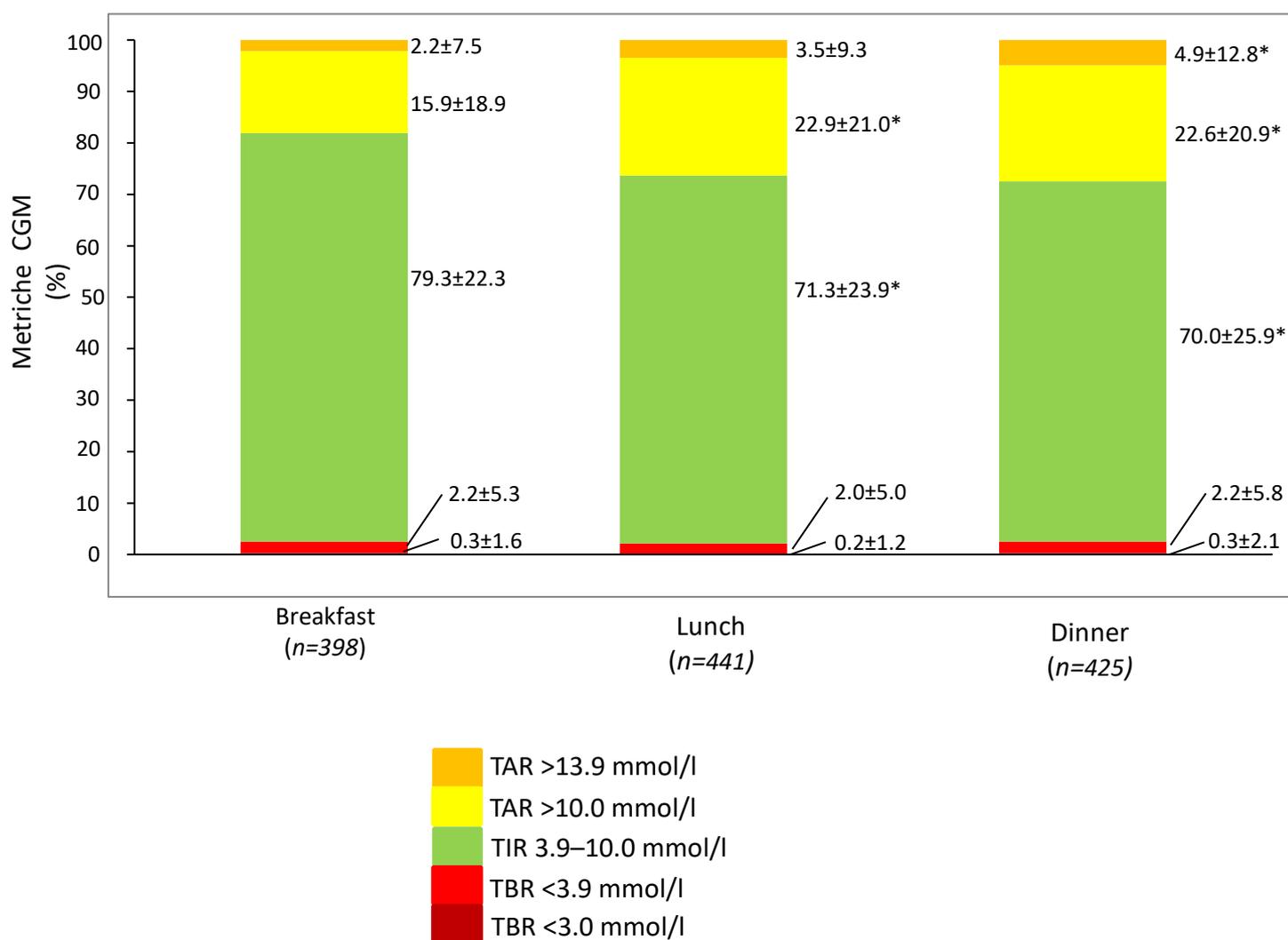
*Dosi di insulina:* I boli di insulina somministrati prima della colazione erano più bassi rispetto a quelli del pranzo e della cena ( $p < 0,001$ ) (Figura 8). La modalità di infusione di insulina dopo il pasto differiva significativamente per il tipo di pasto ( $p < 0,001$ , interazione *tempo x pasto*). Le dosi di insulina dopo la colazione erano più alte durante le prime 3 ore ( $2,7 \pm 1,8$  UI) rispetto alle ultime 3 ore ( $1,7 \pm 1,9$  UI;  $p = < 0,001016$ ); al contrario, erano inferiori durante le prime 3 ore dopo il pranzo ( $2,6 \pm 2,1$  vs  $2,9 \pm 2,1$  UI,  $p = 0,014005$ ) e la cena ( $2,8 \pm 2,2$  vs  $3,8 \pm 2,4$  UI,  $p < 0,001009$ ).

**Fig. 5 Profili glicemici e dosi d'insulina postprandiali erogate a colazione (n=398) (a), pranzo (n=441) (b), e cena (n=425) (c).**



Profili glicemici: linea continua (M±ES); Dosi d'insulina postprandiali erogate dal microinfusore (microboli infusi in automatico o boli di correzione selezionati dal paziente su suggerimento dell'HCLS): barre verticali.

**Figura 6.** Metriche del CGM a colazione, pranzo e cena.



Medie ± DS; \*p < 0,05 vs colazione (modello ad effetto misto con test post-hoc di Bonferroni per confronti multipli).

*Relazione tra composizione del pasto e controllo della glicemia postprandiale: Le*

associazioni tra time-in-range (TIR) della glicemia e composizione del pasto sono riportate in Tabella 4. A colazione, il TIR era significativamente e inversamente associato all'assunzione di energia (p = 0,01), all'assunzione in percentuale di proteine totali (p = 0,02) e acidi grassi monoinsaturi (p = 0,02), al carico glicemico (p = 0,004) alle quantità di colesterolo (p = 0,01), CHO (p = 0,005) e zuccheri semplici (p < 0,001) del pasto. A pranzo non sono state rilevate

associazioni significative tra composizione del pasto e TIR. A cena, il TIR era significativamente e direttamente associato alla percentuale di assunzione di proteine di origine vegetale ( $p = 0,04$ ) e inversamente al carico glicemico ( $p = 0,03$ ), all'assunzione in percentuale di zuccheri semplici ( $p = 0,002$ ) e quantità di CHO del pasto ( $p = 0,04$ ).

A colazione, la somministrazione di insulina in fase precoce (0-3 h) era inversamente associata al contenuto energetico del pasto (Est = -0,003,  $p = 0,03$ ), all'assunzione di proteine (Est = -0,07 per la percentuale dell'apporto energetico totale,  $p = 0,04$ ) e CHO (Est. = -0,02 per l'assunzione assoluta [g],  $p = 0,04$ ) e al carico glicemico (Est = -0,03), mentre era inversamente associata all'indice glicemico (Est. = -0,04,  $p = 0,002$ ) e carico glicemico (Est = -0,04,  $p = 0,03$ ). A pranzo, la somministrazione di insulina in fase precoce (0-3 h) era inversamente associata con l'assunzione di acidi grassi polinsaturi (Est. = -0,07,  $p = 0,04$ ). La somministrazione di insulina tardiva (3-6 h) a pranzo è stata direttamente associata all'energia del pasto (Est. = 0,001,  $p = 0,04$ ) e al contenuto di zuccheri semplici (g) (Est. = 0,02,  $p = 0,02$ ), mentre vi era un'associazione inversa con l'indice glicemico (Est. = -0,02,  $p = 0,047$ ). A cena, non è stato identificato alcun predittore significativo per la somministrazione di insulina in fase precoce. Al contrario, la somministrazione tardiva (3-6 h) di insulina era inversamente associata all'energia del pasto (Est = 0,002,  $p < 0,001$ ) e al contenuto in CHO (g) (Est = 0,01,  $p = 0,001$ ) e di zuccheri semplici (g) (Est. = 0,02,  $p = 0,006$ ) e al carico glicemico (Est. = 0,01,  $p = 0,002$ ).

**Tabella 4.** Associazioni tra composizione in nutrienti del pasto e controllo glicemico (TIR 3.9–10.0 mmol/l) a colazione, pranzo e cena

Composizione pasto	TIR colazione		TIR pranzo		TIR cena	
<b>Energia, Kcal</b>	-0.04	0.01*	-0.001	0.90	-0.009	0.08
<b>Proteine, %TEI</b>	-0.99	0.02*	0.13	0.16	0.02	0.84
<b>Proteine animali</b>	-0.17	0.40	0.12	0.43	0.21	0.10
<b>Proteine vegetali</b>	0.23	0.41	0.27	0.39	0.80	0.04*
<b>CHO, %TEI</b>	0.02	0.85	-0.13	0.15	-0.13	0.09
<b>CHO, g</b>	-0.29	0.005*	-0.03	0.54	-0.07	0.04*
<b>Zuccheri solubili, %TEI</b>	0.02	0.79	-0.30	0.06	-0.38	0.02*
<b>Zuccheri solubili, g</b>	-0.717	<0.001*	-0.04	0.73	-0.300	0.002*
<b>Grassi, %TEI</b>	-0.04	0.77	0.06	0.55	0.08	0.41
<b>SFA</b>	-0.36	0.15	-0.07	0.78	0.0002	0.99
<b>MUFA</b>	-0.75	0.02*	0.03	0.88	0.28	0.09
<b>PUFA</b>	-0.43	0.33	0.60	0.14	0.54	0.22
<b>Colesterolo, mg</b>	-0.17	0.01*	0.001	0.93	-0.006	0.65
<b>Fibre, g</b>	-0.07	0.93	0.16	0.50	0.16	0.60
<b>Indice Glicemico, %</b>	-0.06	0.65	0.009	0.93	-0.07	0.56
<b>Carico Glicemico, unità</b>	-0.52	0.004*	-0.08	0.31	-0.09	0.03*

\*p < 0.05

MUFA, acidi grassi monoinsaturi; PUFA, acidi grassi polinsaturi; SFA, acidi grassi saturi; TEI, apporto di energia total

## Discussione

Questo studio è il primo a valutare la relazione tra la composizione in nutrienti del pasto e la risposta glicemica postprandiale in soggetti con DM1 in trattamento con HCLS. I nostri risultati dimostrano, in un'ampia serie di osservazioni condotte in condizioni di vita reale, che anche altri fattori nutrizionali, diversi dalla quantità dei CHO, influenzano significativamente il controllo della glicemia postprandiale. Questi effetti variano tra colazione, pranzo e cena, influenzando in modo diverso la forma della risposta glicemica dopo il pasto. I partecipanti allo studio avevano un controllo glicemico ottimale (TIR  $75 \pm 15\%$ ) secondo i valori raccomandati (*Battelino T, Diabetes Care 2019*) o riportati in altre popolazioni (*Messer LH, Diabetes Care 2018; Bergenstal RM, Lancet, 2021*). Inoltre, essi avevano mostrato un'aderenza ottimale al conteggio dei CHO, come si evidenzia da una buona corrispondenza tra l'assunzione di CHO riportata nel diario alimentare e la quantità di CHO riportata nei report del microinfusore. Ciò si è tradotto in una buona gestione del contenuto in CHO del pasto, facendo emergere più facilmente il ruolo degli altri nutrienti sul profilo glicemico postprandiale.

A colazione c'erano relazioni significative tra fattori nutrizionali e controllo della glicemia postprandiale; un carico glicemico più elevato era predittore di una diminuzione del TIR postprandiale, e questa relazione era dovuta essenzialmente al contributo degli zuccheri semplici. Ciò potrebbe indicare che l'algoritmo dell'HCLS non sia stato in grado di compensare la qualità dei CHO, come suggerito dal significativo valore predittivo della quantità di zuccheri semplici consumati. Questo è in linea con l'associazione inversa tra carico glicemico e dosi di insulina somministrate dopo il pasto, che erano inferiori a quelle effettivamente necessarie, probabilmente perché l'algoritmo ha tenuto conto dell'insulina attiva originata dal bolo di insulina preprandiale. Le dosi di insulina somministrate dal sistema in risposta all'assunzione di zuccheri semplici non controllava in modo efficace le fluttuazioni

di glucosio, come dimostrato dal mancato aumento di somministrazione di insulina in relazione all'assunzione di zuccheri semplici, determinando una risposta inadeguata al forte e precoce aumento dei valori della glicemia. Pertanto, adattando la dose d'insulina preprandiale e il *timing* di somministrazione al carico glicemico del pasto piuttosto che al contenuto di CHO (*Bozzetto L, Acta Diabetol 2015*), si potrebbe aiutare l'algoritmo a fornire boli correttivi in grado di rispondere adeguatamente all'assunzione di alimenti ad alto indice glicemico. D'altra parte, da un punto di vista nutrizionale, questa evidenza indica fortemente che, tenendo conto dei limiti degli algoritmi per la somministrazione di insulina, potrebbe essere saggio modificare la composizione della colazione riducendo gli zuccheri semplici e aumentando l'apporto di fibra alimentare.

La cena ha mostrato il peggiore controllo postprandiale rispetto agli altri pasti, con una risposta glicemica in aumento a 6 h dopo il pasto. Questo era generalmente il pasto più ricco in proteine e grassi; pertanto, le nostre osservazioni sono in linea con precedenti evidenze che dimostrano che pasti ricchi in grassi e/o proteine ritardano l'aumento della glicemia postprandiale (*Bell KJ, Diabetes Care 2015; Bozzetto L, Diabetes Care 2016; Smart CE, Diabetes Care 2013*). Dato che la cena era anche il pasto con il più alto indice e carico glicemico, possiamo ipotizzare che gli aumenti tardivi della glicemia postprandiale sono più evidenti nel contesto dei pasti grassi/proteici in cui i CHO hanno un alto indice glicemico, poiché tutte queste caratteristiche del pasto contribuiscono ad un aumento della risposta glicemica. A tal proposito, è da notare che l'unico predittore positivo significativo del TIR della cena era l'assunzione di proteine vegetali, probabilmente a causa di un aumento dell'assunzione di alimenti a basso indice glicemico (legumi o cereali integrali).

Non abbiamo osservato alcuna relazione tra il TIR post-pranzo e composizione del pasto. La maggiore varietà di alimenti utilizzati per questo pasto può aver amplificato le possibili interazioni tra i diversi componenti della dieta, celando l'influenza dei singoli nutrienti.

È da notare che l'assunzione totale di energia ha predetto un alterato controllo della glicemia postprandiale. Pertanto, nel prevedere la risposta glicemica postprandiale, oltre alla composizione in nutrienti del pasto, è necessario considerare anche il ruolo della porzione del pasto stesso.

Nel nostro studio, il TIR postprandiale ha influenzato significativamente il controllo glicemico espresso dal TIR giornaliero, confermando così la rilevanza clinica del controllo glicemico postprandiale nel contesto dell'HCLS. Ciò può riguardare in particolare il pranzo e la cena, considerando le diverse forme della curva della risposta glicemica dopo i diversi tipi di pasto (l'aumento del glucosio è durato fino a 6 ore dopo il pranzo e la cena, mentre generalmente cessava 3 ore dopo la colazione).

Le implicazioni cliniche dei risultati di questo studio ci riferiscono una migliore gestione del contributo della quantità dei CHO sul controllo glicemico postprandiale da parte di coloro che sono ben addestrati al conteggio dei CHO, tra gli utenti dell'HCLS.

Tuttavia, l'impatto precoce degli zuccheri semplici o gli effetti ritardati dei grassi e delle proteine sono eventi ancora troppo impegnativi a causa delle forme peculiari delle risposte postprandiali non gestibili dall'approccio reattivo tipico degli algoritmi degli HCLS di prima generazione. Non è noto se i nuovi sistemi più avanzati, con algoritmi che includono boli di correzione automatica, possano agire in modo più efficiente sulla composizione complessiva del pasto. Per il momento, al di là di un accurato conteggio CHO/carico glicemico, l'educazione nutrizionale dovrebbe concentrarsi sulla limitazione dell'assunzione di alimenti ricchi di zuccheri semplici e grassi e sull'aumento dell'assunzione di alimenti a basso indice glicemico e ad alto contenuto di fibre.

Il nostro studio ha diversi punti di forza, compreso il gran numero dei pasti valutati. Inoltre, le informazioni nutrizionali sono state ottenute utilizzando i diari alimentari di 7 giorni che rappresentano il gold standard per valutare la composizione della dieta a livello individuale

(Biró G, *Eur J Clin Nutr*, 2002). Inoltre, i diari alimentari sono stati raccolti all'interno di un ampio intervallo di tempo e in condizioni di vita reale, riportando così un'enorme varietà nelle scelte alimentari legate ai cambi di stagione e ai giorni lavorativi/festivi.

Una limitazione nel nostro studio è che le informazioni riguardano le abitudini alimentari italiane, caratterizzate da una colazione “dolce” di piccole dimensioni e due pasti principali. Tuttavia, l'analisi separata dei pasti permette di tradurre le informazioni per i pasti con composizione simile indipendentemente da quando vengono consumati. Un'altra limitazione è la possibile sottostima, comune a tutti i tipi di registrazione degli alimenti. Tuttavia, tutti i diari sono stati vagliati da un dietista esperto per verificare potenziali errori.

In conclusione, il presente studio fornisce la prova che non solo la quantità di CHO ma anche l'intera composizione del pasto modula il controllo della glicemia in individui con DM1 nell'ambito di un HCLS. Pertanto, l'educazione nutrizionale è un fattore chiave per ottimizzare il controllo della glicemia in pazienti con DM1 anche nell'era delle tecnologie avanzate. Inoltre, i nostri risultati evidenziano la necessità di algoritmi più performanti, basati sul rilevamento dei nutrienti che potrebbe consentire la previsione piuttosto che la somministrazione di insulina nell'immediato..

#### **4.0.4 Determinanti nutrizionali e inter-individuali della risposta glicemica postprandiale in pazienti con diabete tipo 1. (Studio 4 dati sottomessi per la pubblicazione su *Advanced Diabetes Technologies and Therapeutic*).**

##### **Background**

Il controllo della glicemia postprandiale rappresenta una grande sfida per persone con DM1, anche nell'era del pancreas artificiale (Vetrani C, *Diabetologia* 2021). Ciò è dovuto principalmente all'imprevedibilità degli effetti dei fattori che influenzano la risposta glicemica postprandiale e alla loro combinazione. Finora, gli sforzi per domare la variabilità della risposta glicemica postprandiale si sono concentrati principalmente sullo studio dei fattori

interindividuali quali i componenti nutrizionali del pasto. A parte la quantità dei carboidrati, il ruolo di diversi fattori nutrizionali, come la quantità di grassi e proteine (*Bell KJ, Diabetes Care, 2015; Smart CEM, Diabetes Care, 2013*) e la qualità dei carboidrati e dei grassi (*Bozzetto L, Diabetes Care 2016*) è stato riconosciuto come possibile determinante della risposta glicemica. Tuttavia, l'elevata variabilità della risposta individuale (*Smart CEM, Diabetes Care, 2013*) e l'ambiente sperimentale ben controllato in cui questi fattori sono stati esplorati, hanno impedito l'elaborazione di algoritmi per il dosaggio dell'insulina pre-pasto utili in contesti clinici.

Infatti, in condizioni di vita reale, oltre alla composizione del pasto, per la previsione della risposta glicemica si dovrebbe considerare una miriade di fattori individuali e contestuali. Tra questi vanno certamente inclusi la velocità di svuotamento gastrico (*Lupoli R, J Clin Endocrinol Metab, 2018*), la concentrazione e l'andamento della glicemia pre-pasto (*Bruttomesso*), "l'effetto secondo pasto" e ovviamente l'impatto dell'esercizio fisico e dello stress.

Dati recenti raccolti su grandi coorti di persone sane (*Zeevi D, Cell, 2015; Berry SE, Nature Medicine, 2020*) hanno apportato rilevanti approfondimenti utili a definire il contributo delle caratteristiche individuali nel determinare la risposta glicemica postprandiale.

In questi studi, pasti con la stessa composizione in macronutrienti hanno determinato un aumento della glicemia postprandiale di diversa forma ed estensione in persone con caratteristiche metaboliche simili. La composizione del microbiota intestinale è stata identificata come un importante fattore nell'ambito della variabilità interindividuale.

Sulla base di questo background abbiamo ipotizzato che le caratteristiche individuali possano influenzare anche la risposta glicemica postprandiale in persone con DM1.

**Scopo:** Determinare il contributo delle caratteristiche individuali e della composizione in macronutrienti del pasto sulla risposta glicemica postprandiale in pazienti con DM1 che

hanno consumato pasti standardizzati in diversi settings sperimentali. Questa valutazione preliminare fa parte di uno studio più ampio mirato ad evidenziare, tra l'altro, l'effetto del microbiota sulle caratteristiche individuali della risposta glicemica postprandiale in pazienti con DM1.

## **Materiali e metodi**

*Partecipanti:* Sono stati reclutati tra i pazienti con DM1 afferenti all'UOC di Diabetologia, AOU Policlinico "Federico II". Sono stati inclusi uomini e donne di età compresa tra i 18 e i 70 anni affetti da DM1. I criteri di inclusione sono stati il trattamento con infusione sottocutanea continua di insulina per almeno 6 mesi e l'utilizzo di un sensore per il monitoraggio in continuo del glucosio. I criteri di esclusione sono stati la gravidanza e la celiachia. I protocolli di studio sono stati approvati dal Comitato Etico dell'Ateneo Federico II e registrati presso il Clinical Trials.gov (NCT02330939).

*Materiali e metodi:* Sono stati combinati i risultati di 5 studi con un disegno simile in cui sono stati valutati gli effetti di diversi componenti dietetici sulla risposta glicemica postprandiale. L'intervento è stato preceduto da un periodo di run-in di 1 settimana durante il quale i partecipanti sono stati sottoposti a monitoraggio continuo del glucosio e hanno compilato un diario alimentare di 7 giorni per ottimizzare il rapporto insulina-carboidrati.

In tutti gli studi i partecipanti hanno consumato 3 pasti-test a pranzo (4 studi) o a cena (1 studio). In quattro studi su cinque i partecipanti hanno consumato i pasti-test a casa. Sono state date istruzioni rigorose su come preparare i pasti, con un'attenta standardizzazione per riscaldare, scongelare o cucinare.

Le 3 giornate sono state scelte in base alle attività lavorative e ricreative dei soggetti al fine di mantenere tali attività riproducibili e compatibili con il disegno dello studio. In caso di livelli di glucosio nel sangue prima dei pasti al di fuori dell'intervallo di 80-180 mg/dL o di una rapida diminuzione/aumento dei livelli di glucosio (più di 50 mg/dL) durante gli ultimi 60

minuti secondo la misurazione del monitoraggio continuo, il pasto di prova è stato posticipato. Nelle mattine che precedono i pasti-test, i pazienti hanno consumato la stessa colazione leggera per evitare un bias dell'effetto del secondo pasto; Inoltre, è stato chiesto loro di evitare attività fisica faticosa il giorno prima e la mattina del pasto di prova e di astenersi da qualsiasi attività fisica leggera/moderata o situazioni stressanti insolite oltre le 6 ore dopo il pasto. Per migliorare l'adesione al protocollo, i partecipanti hanno ricevuto frequenti telefonate, in particolare prima e oltre 6 ore dopo l'ingestione del pasto. Le dosi di insulina preprandiale si sono basate sul rapporto insulina-carboidrati individuale determinato durante le sessioni educative dei pazienti con il team di studio o dall'elaborazione dei diari alimentari. Al termine del periodo sperimentale, i dati relativi al monitoraggio continuo del glucosio e del microinfusore per l'insulina sono stati scaricati da piattaforme informatiche dedicate. Le aree incrementali della glicemia postprandiale sono state calcolate con il metodo trapezoidale come area sotto la curva al di sopra del valore di base (iAUC).

- **Studio 1: Facile 1 (Bozzetto L 2016)**

Secondo un disegno crossover randomizzato, tredici partecipanti hanno consumato due serie di pasti: tre pasti ad alto indice glicemico (HGI) e tre pasti a basso indice glicemico (LGI). Pasti HGI e pasti LGI erano simili per quanto riguarda la quantità di carboidrati (130 g) e proteine (34 g), mentre differivano sostanzialmente per indice glicemico (25 unità) e fibra alimentare (13 g).

In ciascuna serie (HGI o LGI), il contenuto energetico e la quantità totale di grassi erano simili per EVOO (988 kcal; 40,5 g) e Burro (982 kcal; 39,4 g); al contrario, il pasto a basso contenuto di grassi aveva un contenuto energetico inferiore (721 kcal), dovuto esclusivamente al minor contenuto di grassi (10,6 g). C'era una differenza sostanziale per i grassi saturi e monoinsaturi tra i pasti EVOO (6,5 g e 27,9 g), burro (22,1 g e 11,1 g) e a basso contenuto di grassi (2,2 g e 6,6 g), rispettivamente. Le dosi di insulina preprandiali si basavano sul rapporto individuale tra insulina e carico glicemico determinato durante le sessioni educative dei pazienti con il team di studio. Pertanto, per ogni paziente, le dosi di insulina erano le stesse per ogni serie, cioè prima dei pasti a base di burro, EVOO o a basso contenuto di grassi, ma differivano tra le due serie, cioè prima dei pasti HGI e LGI.

- **Studio 2: Facile 2 (Bozzetto L 2018)**

Undici partecipanti hanno consumato la stessa serie di pasti HGI secondo lo stesso disegno sperimentale dello studio 1, tranne per i pasti di prova nel reparto metabolico piuttosto che a casa.

- **Studio 3: Sourdough (Cavagnuolo L 2019)**

Sedici partecipanti hanno consumato a cena tre pizze molto simili in termini di energia (724-752 kcal) e composizione (carboidrati totali 120-127 g, grassi totali 19 g, grassi saturi 2,8 g, grassi monoinsaturi 12,5-12,8 g, grassi polinsaturi 2,1-2,4 g, proteine 19,0-19,3 g, fibre 5,6-

5,7 g) preparati nelle tre occasioni con modalità differenti: con lievito di birra e farina di frumento e 5 h di lievitazione (tempo di lievitazione normale) (Brew5); con impasto per lievito madre e farina e lievitazione 5 h (Sour5); con impasto per lievito madre e farina e lievitazione di 60 h (Sour60). Le dosi di insulina preprandiali, calcolate dal rapporto insulina-carico glicemico individuale, uguale per ciascun partecipante nelle tre occasioni, sono state somministrate come bolo a onda doppia 80/20% esteso per 4 h.

- **Studio 4: DOP**

Ventidue partecipanti hanno consumato due pasti composti da riso bianco (60 g), zucca (200 g), pane bianco (75 g), carne macinata (90 g) e banana (180 g), con aggiunta di EVOO (42 g) nel pasto-EVOO o olio di oliva (42 g) nel pasto-OO. I pasti avevano simile contenuto energetico (1033 kcal), indice glicemico (71%) carboidrati (129,5 g), grassi (45,9 g), proteine (33,6 g) e quantità di fibre (7 g), mentre differivano per la quantità di polifenoli, grassi saturi e monoinsaturi: 21 mg, 6,5 g e 27,9 g, per il pasto-EVOO; 1,26 mg 6,5 g e 27,9 g per il pasto-OO.

- **Studio 5: In-Deep**

Nell'ambito dello studio InDeep, che mira a valutare l'associazione tra abitudini alimentari, composizione del microbiota e caratteristiche della risposta glicemica postprandiale individuale in un'ampia coorte di pazienti con DM1, sono stati inclusi nell'analisi i primi 25 partecipanti. Essi hanno consumato lo stesso pasto-test costituito da un panino (120 g) con bresaola (60 g) e philadelphia (80 g) e una mela (150 g) a pranzo per tre giorni non consecutivi. Il pasto-test aveva un contenuto energetico di 717 kcal, e la seguente composizione in macronutrienti: carboidrati totali 92,2 g, grassi totali 23,7 g, grassi saturi 13,5 g, grassi monoinsaturi 7,4 g, grassi polinsaturi 1,2 g, proteine 36 g, fibre 7,6 g.

In questo sottogruppo è stata eseguita la valutazione delle abitudini alimentari mediante la somministrazione del questionario EPIC. (*Ocké MC, International journal of Epidemiology, 1997*).

*Analisi statistica:* Per la valutazione dell'impatto relativo del singolo individuo e della composizione in macronutrienti del pasto è stato applicato un modello di regressione lineare ad effetti misti. I pazienti sono stati inseriti come effetto random mentre il tipo di pasto e/o la composizione in nutrienti e altre variabili individuali quali l'età ed il sesso sono state incluse come effetto fisso. Gli outcomes presi in considerazione sono stati l'iAUC della glicemia tra 0-3 ore, tra 3-6 ore e tra 0-6 ore.

Le aree incrementali della glicemia postprandiale sono state calcolate con il metodo trapezoidale come area sotto la curva al di sopra del valore di base (iAUC).

## **Risultati**

*Caratteristiche dei partecipanti:* È stata analizzata la risposta glicemica postprandiale a 17 pasti consumati da 31 uomini e 29 donne di età media  $42 \pm 15$  anni, con IMC di  $25,5 \pm 3,2$  kg/m<sup>2</sup>, durata del diabete di  $18 \pm 11$  anni e controllo glicemico accettabile (HbA1c  $7,4 \pm 0,8\%$ ).

*Abitudini alimentari:* L'analisi delle abitudini alimentari mediante il questionario EPIC è stata effettuata sui partecipanti allo studio In-Deep, i quali hanno caratteristiche molto simili ai partecipanti degli altri studi (età:  $42 \pm 16$  anni; IMC di  $25,4 \pm 3,5$  kg/m<sup>2</sup>; durata del diabete di  $19 \pm 11$  anni; controllo glicemico accettabile HbA1c  $7,3 \pm 0,9\%$ ) e sono, pertanto, rappresentativi dell'intera popolazione di studio. L'analisi delle abitudini alimentari ha evidenziato un intake calorico medio di  $1984 \pm 544$  kcal con la seguente ripartizione in nutrienti: proteine totali  $18 \pm 2\%$ , grassi  $38 \pm 5\%$  di cui l' $11 \pm 2\%$  rappresentato da grassi saturi, il  $17 \pm 3\%$  dai monoinsaturi e il  $6 \pm 1\%$  dai polinsaturi, carboidrati  $43 \pm 6\%$  con valori minimi che arrivano al 29%. Gli zuccheri rappresentano il  $15 \pm 4\%$  delle calorie totali; l'apporto di

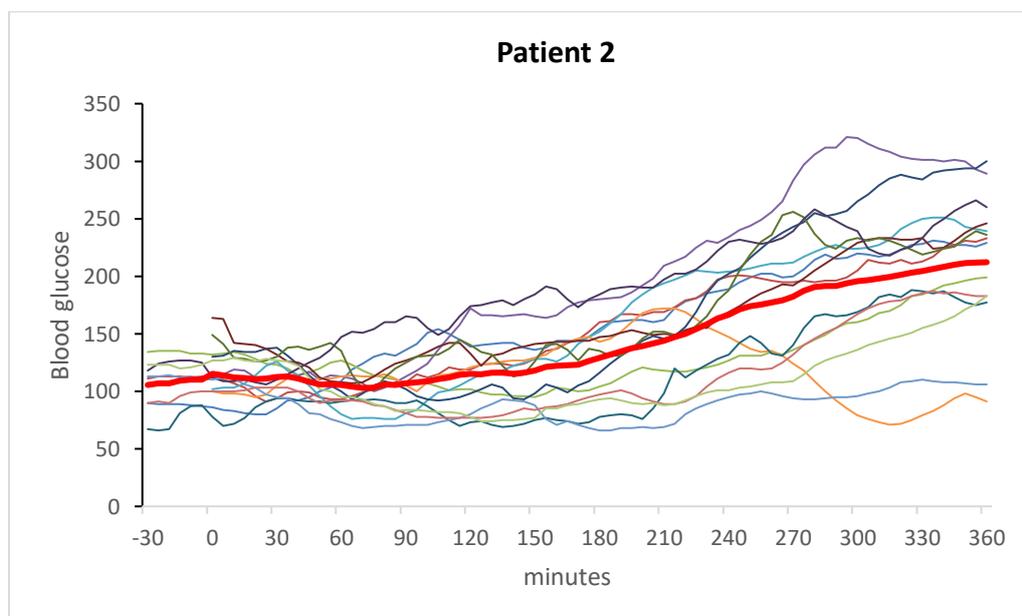
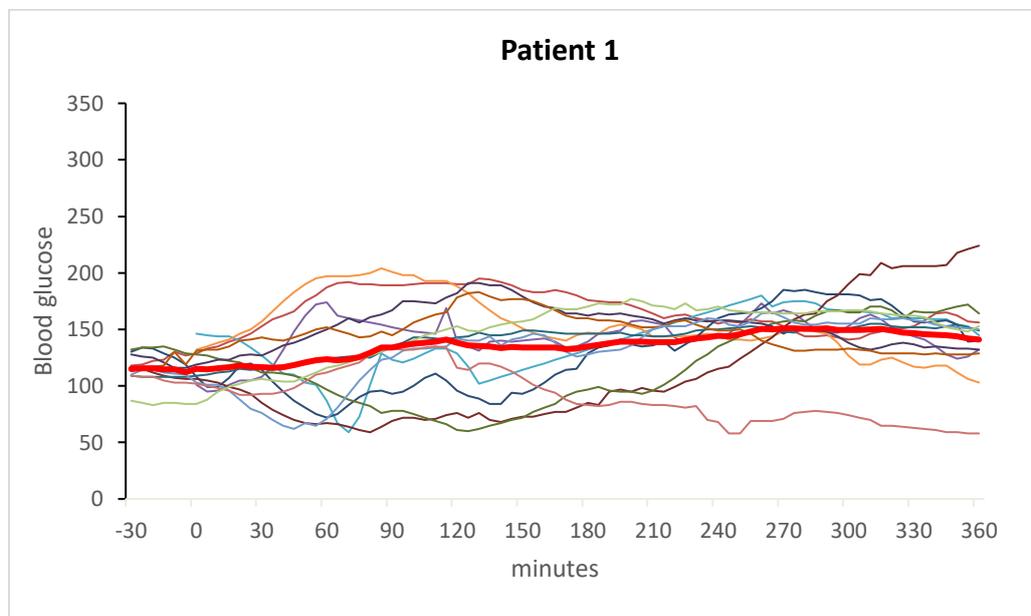
fibra è in media  $22 \pm 6$  g/die e quello di colesterolo  $298 \pm 85$  mg/die. Sia l'intake di grassi totali e saturi che di carboidrati si discosta dalle proporzioni raccomandate dalle linee guida, che suggeriscono una quantità di grassi totali inferiore al 35%, di saturi inferiore al 10% e di carboidrati totali tra 45 e 60%. (*ADI-AMD-SID 2013*).

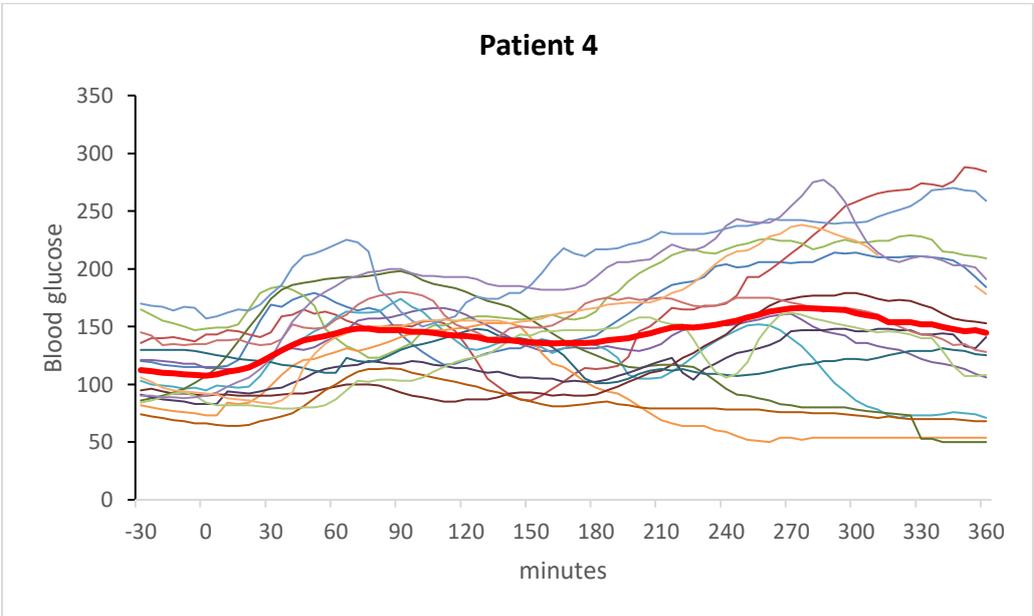
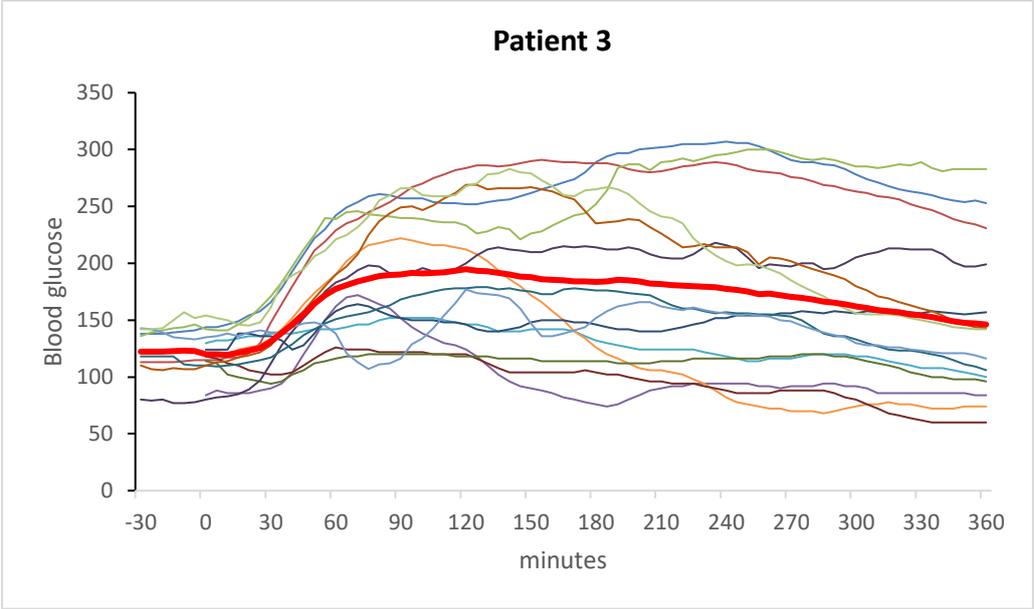
Per quanto riguarda gli alimenti, il consumo medio dei legumi è basso, in media  $32 \pm 16$  g, con una enorme variazione tra i vari partecipanti. Il consumo di cereali raffinati è nettamente superiore ( $82 \pm 50$  g) rispetto a quello dei cereali integrali ( $44 \pm 43$  g); il consumo di dolci è elevato, in media  $54 \pm 37$  g.

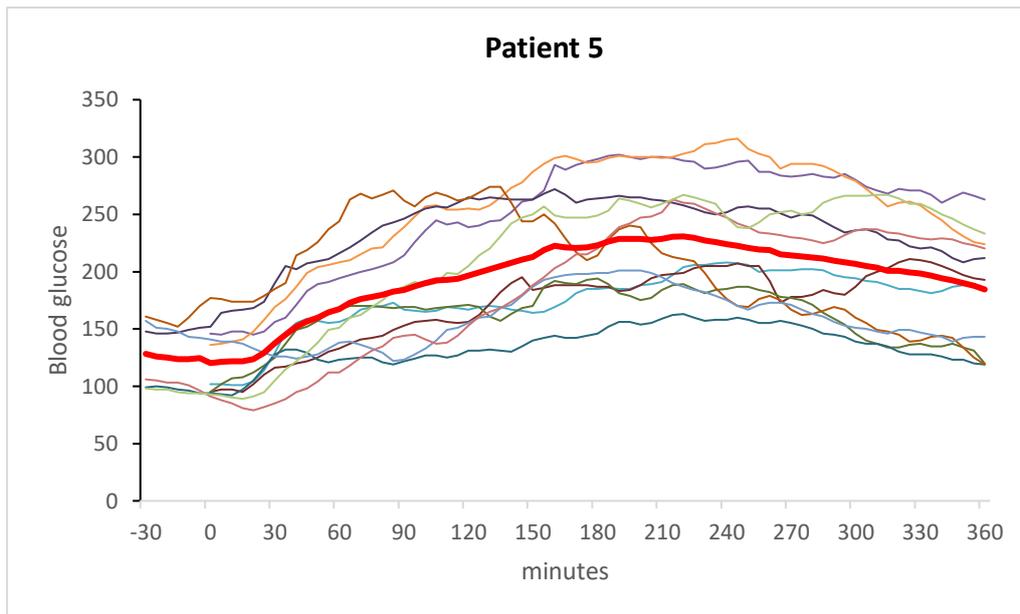
*Contributo delle caratteristiche individuali e della composizione del pasto sulla variabilità della risposta glicemica postprandiale:* Cinque dei sessanta pazienti inclusi nell'analisi hanno partecipato a tutti gli studi e hanno consumato in occasioni diverse pasti con differente composizione in macronutrienti.

Dalla valutazione descrittiva dei profili glicemici postprandiali (Figura 6) è possibile rilevare come la risposta sia molto riproducibile nell'ambito dello stesso soggetto ma vari tra soggetto e soggetto. Il paziente 2, per esempio, presenta una risposta precoce meno pronunciata rispetto a quella tardiva, mentre il paziente 3 presenta una più pronunciata risposta precoce ed una meno evidente risposta tardiva.

**Figura 6.** Valutazione descrittiva dei profili glicemici postprandiali dei 5 partecipanti a tutti gli studi.







L'analisi di regressione con modello misto ha consentito di definire in maniera quantitativa questa valutazione qualitativa.

Per tutti gli outcomes considerati ( $iAUC_{0-3}$ ,  $iAUC_{3-6}$ ,  $iAUC_{0-6}$ ) l'effetto random della variabile paziente era statisticamente significativo ( $p < 0.001$ , p-value calcolato con ANOVA rispetto ai modelli senza l'effetto random).

Gli effetti fissi dovuti al tipo di pasto o di macronutrienti era diverso per l' $iAUC_{0-3}$  e  $iAUC_{3-6}$ .

Le fibre predicevano inversamente e significativamente l'incremento precoce della glicemia **(Tabella 5)**.

**Tabella 5.** Modello di regressione lineare ad effetti misti: iAUC0-3

Incremental area under the blood glucose curve (iAUC) 0-3 h			
		Estimate	p-value
Sesso	1	-	-
	2	221.95	0.8503
Età		99.25	<b>0.0233</b>
Energia (kcal)		73.41	0.5483
Proteine (g)		723.84	0.1352
Carboidrati (g)		-299.20	0.5422
Zuccheri semplici (g)		-337.93	0.1027
Lipidi (g)		-317.91	0.7051
SAFA (g)		-909.82	0.4883
MUFA (g)		-1524.61	0.2545
PUFA (g)		6580.22	0.1212
Fibra (g)		-542.28	<b>&lt;0.001</b>

Gli zuccheri semplici predicevano inversamente la risposta glicemica tardiva. (**Tabella 6**).

**Tabella 6.** Modello di regressione lineare ad effetti misti: iAUC<sub>3-6</sub>

<b>Incremental area under the blood glucose curve (iAUC) 3-6 h</b>			
		<b>Estimate</b>	<b>p-value</b>
<b>Sesso</b>	<b>1</b>	-	-
	<b>2</b>	6159.23	<b>0.0021</b>
<b>Età</b>		70.42	0.3196
<b>Energia (kcal)</b>		186.89	0.3258
<b>Proteine (g)</b>		695.26	0.3584
<b>Carboidrati (g)</b>		-681.54	0.3719
<b>Zuccheri semplici (g)</b>		-683.71	<b>0.0371</b>
<b>Lipidi (g)</b>		-117.09	0.9280
<b>SAFA (g)</b>		-1852.41	0.3641
<b>MUFA (g)</b>		-1999.67	0.3353
<b>PUFA (g)</b>		2823.10	0.6670
<b>Fibra (g)</b>		-221.72	0.2976

## **Discussione**

I risultati dello studio mostrano che le caratteristiche individuali sono un predittore significativo della risposta glicemica postprandiale, indicando che la risposta ad uno stesso pasto è molto riproducibile per lo stesso individuo ma varia molto tra soggetto e soggetto. Tra i fattori di variabilità legati alla composizione del pasto vi sono le fibre e gli zuccheri che influenzano diversamente la risposta glicemica precoce e quella tardiva.

Tra i possibili fattori alla base della maggiore riproducibilità intra-individuale sono da considerare le caratteristiche genetiche e quelle del microbiota, verso il quale si sta sempre più orientando la ricerca, sebbene non siano ancora stati effettuati studi su pazienti con DM1.

Questi risultati sono in accordo con lo studio di *Berry et al (Berry SE, Nature Medicine 2020)* da cui è emerso che le risposte glicemiche postprandiali in persone sane sono altamente variabili tra gli individui, mentre la risposta di una persona agli stessi pasti è spesso simile e quindi prevedibile. Ogni individuo, infatti, risponde generalmente in modo comparabile a pasti diversi, con alcune persone che presentano grandi escursioni glicemiche in risposta ai pasti, mentre altre presentano costantemente risposte modeste. Queste osservazioni offrono spunti per l'approccio nutrizionale individualizzato, in quanto suggeriscono che l'individuazione dei fattori che determinano le caratteristiche individuali della risposta glicemica, consente di predire la risposta individuale a diversi pasti. *Zeevi et al (Zeevi D, Cell 2015)* hanno creato un algoritmo di predizione di questa risposta in persone sane che è stato poi validato in diverse popolazioni (*Mendes-Soares H, J Clin Nutr, 2019*).

## 6. Considerazioni conclusive

Lo scopo della mia tesi di dottorato è stato chiarire l'effetto di alcuni fattori nutrizionali sulla risposta glicemica postprandiale in pazienti con DM1. In particolare i risultati relativi al primo obiettivo di ricerca (studi nutrizionali condotti in acuto, che hanno valutato gli effetti di tipo e durata della lievitazione e di alimenti funzionali arricchiti in fibra) hanno mostrato che:

- a) La pizza con lievito madre induce una maggiore risposta glicemica postprandiale precoce rispetto ad una pizza con lievito di birra. Ciò suggerisce che la risposta glicemica postprandiale può essere influenzata da fattori che oltre al tipo e alla quantità di lievito utilizzato tengano anche conto della differenza in termini di composizione, lievitazione, cottura, conservazione, struttura dell'impasto e conseguente disponibilità dei carboidrati alla digestione.
- b) La pasta di grano saraceno arricchita in fibre rispetto alla pasta di mais, determina una risposta glicemica postprandiale più stabile, riducendo il rischio di ipoglicemie, in soggetti con DM1 e celiachia. Questo dimostra che l'aggiunta di fibra solubile agli alimenti naturalmente privi di glutine potrebbe rappresentare una strategia nutrizionale per ottenere un migliore controllo glicemico.

I risultati relativi al secondo obiettivo di ricerca (Analisi databases di dati nutrizionali e metabolici ricavati da dati in real-life di pazienti utilizzatori di sistemi ad ansa chiusa ibridi e diversi studi nutrizionali con lo stesso disegno sperimentale) hanno mostrato che:

- c) Non solo la quantità di carboidrati, ma l'intera composizione del pasto, modula il controllo della glicemia postprandiale.
- d) Le caratteristiche individuali sono un predittore significativo della risposta glicemica postprandiale, indicando che la risposta ad uno stesso pasto è riproducibile per lo stesso individuo ma varia tra soggetto e soggetto.

In definitiva, sulla base dei risultati ottenuti finora dai nostri studi possiamo affermare che in futuro sarà necessario creare algoritmi per il calcolo della dose prandiale di insulina che tengano in considerazione anche le altri componenti del pasto, offrendo la possibilità di modificare le modalità di erogazione del bolo prandiale proprio in relazione ad esse.

Inoltre l'individuazione dei fattori che determinano le caratteristiche individuali della risposta glicemica suggeriscono un approccio nutrizionale individualizzato, consentendo di predire la risposta individuale a diversi pasti.

## 6. Bibliografia

ADI-AMD-SID. Raccomandazioni 2013-2014 La terapia medica nutrizionale nel Diabete Mellito, 2013.

Aggett PJ, Antoine JM, Asp NG, Bellisle F, Contor L, Cummings JH, Howlett J, Müller DJ, Persin C, Pijls LT, Rechkemmer G, Tuijelaars S, Verhagen H. PASSCLAIM: consensus on criteria. *Eur J Nutr*, 2005;44 Suppl 1: i5-30.

Ahern JA, Gatcomb PM, Held NA, Petit WA Jr, Tamborlane WV. Exaggerated hyperglycemia after a pizza meal in well-controlled diabetes. *Diabetes Care*, 1993; 16:578-580.

Alisha J. Rovner, Tonja R. Nansel, and Lauren Gellar. The effect of a low glycemic diet versus a standard diet on blood glucose levels and macronutrient intake in children with type 1 diabetes. *Journal of American Dietetic Association*, 2009; 109:303-307.

Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *Int J Food Sci Nutr*, 2009; 60:240-257.

American Diabetes Association Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 2017; 40(Suppl. 1): S105–S113.

American Diabetes Association. Lifestyle Management: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 2019; 42(Suppl 1): S46-S60.

Anderson JW, Randles KM, Kendall CW, Jenkins DJ. Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: a quantitative assessment and meta-analysis of the evidence. *J Am Coll Nutr*, 2004; 23:5-17.

Asnicar F, Berry SE, Valdes AMV, Nguyen LH, Piccinno G, Drew DA, Leeming E, Gibson R, Le Roy C, Khatib HA, Francis L, Mazidi M, Mompeo O, Valles-Colomer M, Tett A, Beghini

F, Dubois L, Bazzani D, Thomas AM, Mirzayi C, Khleborodova A, Oh S, Hine R, Bonnett C, Capdevila J, Danzanvilliers S, Giordano F, Geistlinger L, Waldron L, Davies R, Hadjigeorgiou G, Wolf J, Ordovás JM, Gardner C, Franks PW, Chan AT, Huttenhower C, Spector TD, Segata N. Microbiome connections with host metabolism and habitual diet from 1,098 deeply phenotyped individuals. *Nat Med*, 2021; 27:321-332.

Augustin LS, Galeone C, Dal Maso L, Pelucchi C, Ramazzotti V, Jenkins DJ, Montella M, Talamini R, Negri E, Franceschi S, La Vecchia C. Glycemic index, glycemic load and risk of prostate cancer. *International Journal of Cancer*, 2004; 112:446-50.

Authors/Task Force Members, Rydén L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J*, 2013; 34:3035–3087.

Battelino T, Danne T, Bergenstal RM, Amiel SA, Beck R, Biester T, Bosi E, Buckingham BA, Cefalu WT, Close KL, Cobelli C, Dassau E, DeVries JH, Donaghue KC, Dovc K, Doyle FJ 3rd, Garg S, Grunberger G, Heller S, Heinemann L, Hirsch IB, Hovorka R, Jia W, Kordonouri O, Kovatchev B, Kowalski A, Laffel L, Levine B, Mayorov A, Mathieu C, Murphy HR, Nimri R, Nørgaard K, Parkin CG, Renard E, Rodbard D, Saboo B, Schatz D, Stoner K, Urakami T, Weinzimer SA, Phillip M. Clinical target for continuous glucose monitoring data interpretation: recommendations from the international consensus on time in range. *Diabetes Care*, 2019; 42:1593–1603.

Bekiari E, Kitsios K, Thabit H, Tauschmann M, Athanasiadou E, Karagiannis T, Haidich AB, Hovorka R, Tsapas A. Artificial pancreas treatment for outpatients with type 1 diabetes: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2018; 361: k1310.

Bell KJ, Barclay AW, Petocz P, Colagiuri S, Brand-Miller JC. Efficacy of carbohydrate counting in type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014; 2:133–140.

Bell KJ, Fio C, Twigg S, Duke S, Fulcher G, Alexander K. Amount and type of dietary fat, postprandial glycemia, and insulin requirements in type 1 diabetes: a randomized within-subject trial. *Diabetes Care*, 2020; 43:59-66.

Bell KJ, Gray R, Munns D, Petocz P, Howard G, Colagiuri S. Estimating insulin demand for protein-containing foods using the food insulin index. *Eur J Clin Nutr* 2014; 68:1055-9.

Bell KJ, Smart CE, Steil GM, Brand-Miller JC, King B, Wolpert HA. Impact of fat, protein, and glycaemic index on postprandial glucose control in type 1 diabetes: implications for intensive diabetes management in the continuous glucose monitoring era. *Diabetes Care*, 2015; 38:1008-15.

Bell KJ, Toschi E, Steil GM, Wolpert HA. Optimized mealtime insulin dosing for fat and protein type 1 diabetes: application of a model-based approach to derive insulin doses for open-loop diabetes management. *Diabetes Care*, 2016; 39: 1631-4.

Bergenstal RM, Nimri R, Beck RW, Criego A, Laffel L, Schatz D, Battelino T, Danne T, Weinzimer SA, Sibayan J, Johnson ML, Bailey RJ, Calhoun P, Carlson A, Isganaitis E, Bello R, Albanese-O'Neill A, Dovic K, Biester T, Weyman K, Hood K, Phillip M. A comparison of two hybrid closed-loop systems in adolescents and young adults with type 1 diabetes (FLAIR): a multicentre, randomised, crossover trial. *Lancet*, 2021; 397:208–219.

- Berry SE, Valdes AM, Drew DA, Asnicar F, Mazidi M, Wolf J, Capdevila J, Hadjigeorgiou G, Davies R, Khatib HA, Bonnett C, Ganesh S, Bakker E, Hart D, Mangino M, Merino J, Linenberg I, Wyatt P, Ordovas JM, Gardner CD, Delahanty LM, Chan AT, Segata N, Franks PW, Spector TD. Human postprandial responses to food and potential for precision nutrition. *Nature Medicine*, 2020; 26:964-973.
- Biró G, Hulshof K, Ovesen L, Amorim Cruz JA. Selection of methodology to assess food intake. *Eur J Clin Nutr*, 2002; 56: S25–S32.
- Bozzetto L, Alderisio A, Clemente G, Giorgini M, Barone F, Griffio E, Costabile G, Vetrani C, Cipriano P, Giacco A, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G. Gastrointestinal effects of extra-virgin olive oil associated with lower postprandial glycemia in type 1 diabetes. *Clinical Nutrition*, 2018; 38:2645-2651.
- Bozzetto L, Alderisio A, Giorgini M, Barone F, Giacco A, Riccardi G et al. Extra-virgin olive oil reduces glycemic response to a high-glycemic index meal in patients with type 1 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*, 2016; 39:518-24.
- Bozzetto L, Giorgini M, Alderisio A, Costagliola L, Giacco A, Riccardi G. Glycaemic load versus carbohydrate counting for insulin bolus calculation in patients with type 1 diabetes on insulin pump. *Acta Diabetol*, 2015; 52:865-71.
- Brand JC, Colagiuri S, Crossman S, Allen A, Roberts DC, Truswell AS. Low-glycemic index foods improve long-term glycemic control in NIDDM. *Diabetes Care*, 1991; 14:95–101.
- Campbell MD, Walker M, King D, Gonzalez JT, Allerton D, Stevenson EJ, Shaw JA, West DJ. Carbohydrate counting at meal time followed by a small secondary postprandial bolus injection at 3 hours prevents late hyperglycemia, without hypoglycemia, after a high-carbohydrate, high-fat meal in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2016; 39:e141–e142.

Cavagnuolo L, Bozzetto L, Franco L, Costabile G, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G. Pizza leavening technique influences postprandial glucose response: a randomized controlled trial in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2019; 42:e157-e158.

Ceriello A, Colagiuri S. International diabetes federation guideline for management of postmeal glucose: a review of recommendations. *Diabet Med*, 2008; 25:1151–1156.

Cohn A, Sofia AM, Kupfer SS. Type 1 diabetes and celiac disease: clinical overlap and new insights into disease pathogenesis. *Curr Diab Rep*, 2014 ;14:517.

Costea P I, Hildebrand F, Arumugam M, Bäckhed F, Blaser MJ, Bushman F D, de Vos WM, Ehrlich SD, Fraser CM, Hattori M, Huttenhower C, Jeffery IB, Knights D, Lewis JD, Ley RE, Ochman H, O'Toole PW, Quince C, Relman DA, Shanahan F, Sunagawa S, Wang J, Weinstock GM, Wu GD, Zeller G, Zhao L, Raes J, Knight R, Bork P. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat Microbiol*, 2018; 3:8-16.

DAFNE Study Group. Training in flexible, intensive insulin management to enable dietary freedom in people with type 1 diabetes: dose adjustment for normal eating (DAFNE) randomised controlled trial. *British Medical Journal*, 2002; 325:746-9.

Damci T, Nuhoglu I, Devranoglu G, Osar Z, Demir M, Ilkova H. Increased intestinal permeability as a cause of fluctuating postprandial blood glucose levels in type 1 diabetic patients. *Eur J Clin Invest*, 2003; 33:397-401.

De Palma A, Giani E, Iafusco D, Bosetti A, Macedoni M, Gazzarri A. Lowering postprandial glycemia in children with type 1 diabetes after Italian pizza “margherita” (TyBoDi2 Study). *Diabetes Technol Ther* 2011; 13:483.

Desjardins K, Brazeau AS, Strychar I, Leroux C, Gingras V, Rabasa-Lhoret R. Association between post-dinner dietary intakes and nocturnal hypoglycemic risk in adult patients with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014; 106:420-7.

Evert AB. Factors beyond carbohydrate to consider when determining meantime insulin doses: protein, fat, timing, and technology. *Diabetes Spectr*, 2020; 33:149-155.

Foster-Powell K, Holt SH, Brand-Miller JC. International table of glycemic index and glycemic load values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2002; 76:5-56.

Franz MJ, MacLeod J, Evert A, Brown C, Gradwell E, Handu D, Reppert A, Robinson M. Academy of nutrition and dietetics nutrition practice guideline for type 1 and type 2 diabetes in adults: systematic review of evidence for medical nutrition therapy effectiveness and recommendations for integration into the nutrition care process. *J Acad Nutr Diet*, 2017; 117:1659-1679.

Gabrial SG, Shakib MR, Gabrial GN. Effect of Pseudocereal-Based Breakfast Meals on the First and Second Meal Glucose Tolerance in Healthy and Diabetic Subjects. *Open Access Maced J Med Sci*, 2016; 4:565-573.

Gatti E, Noè D, Pazzucconi F, Gianfranceschi G, Porrini M, Testolin G, Sirtori CR. Differential effect of unsaturated oils and butter on blood glucose and insulin response to carbohydrate in normal volunteers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1992; 46:161-6.

Gérard C, Vidal H. Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019; 10:29.

Giacco R, Brighenti F, Parillo M, Capuano M, Ciardullo AV, Riviaccio A, Rivellese AA, Riccardi G. Characteristics of some wheat-based foods of the Italian diet in relation to their

- influence on postprandial glucose metabolism in patients with type 2 diabetes. *Br J Nutr*, 2001; 85:33-40.
- Giacco R, Parillo M, Rivellese A A, Lasorella G, Giacco A, D'Episcopo L, Riccardi G. Long term dietary treatment with increased amounts of fiber rich low glycemic index natural foods improves blood glucose control and reduces the number of hypoglycemic events in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*, 2000; 23:1461-6.
- Gingras V, Taleb N, Roy-Fleming A, Legault L, Rabasa-Lhoret R. The challenges of achieving postprandial glucose control using closed-loop systems in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 2018; 20:245-256.
- González-Rodríguez M, Pazos-Couselo M, García-López J M, Rodríguez-Segade S, Rodríguez-García J, Túnnez-Bastida C et al. Postprandial glycemic response in a non-diabetic adult population: the effect of nutrients is different between men and women. *Nutr Metab (Lond)*, 2019; 16:46.
- Halton TL, Willett WC, Liu S, Manson JE, Albert CM, Rexrode K, Hu FB. Low-carbohydrate-diet score and the risk of coronary heart disease in women. *New England Journal of Medicine*, 2006; 355:19.
- Halton TL, Willett WC, Liu S, Manson JE, Stampfer MJ, Hu FB. Potato and french fry consumption and risk of type 2 diabetes in women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2006; 83:284-90.
- Higginbotham S, Zhang Z-F, Lee IM, Cook NR, Giovannucci E, Buring JE, Liu S. Dietary glycemic load and risk of colorectal cancer in the Women's Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 2004; 96:229-33.

- Hui LL, Nelson EA, Choi KC, Wong GW, Sung R. Twelve-hour glyceic profiles with meals of high, medium, or low glyceic load. *Diabetes Care*, 2005; 28:2981-3.
- Jerram S T, Dang M N, Leslie R D. The Role of Epigenetics in Type 1 Diabetes. *Curr Diab Rep*, 2017; 17:89.
- Jiansong Bao, Fiona Atkinson, Peter Petocz, Walter C Willett, and Jennie C Brand-Miller. Prediction of postprandial glyceia and insulinemia in lean, young, healthy adults: glyceic load compared with carbohydrate content alone. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2011; 93:984-96.
- Karamanlis A, Chaikomin R, Doran S, Bellon M, Bartholomeusz FD, Wishart JM, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK. Effects of protein on glyceic and incretin responses and gastric emptying after oral glucose in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 2007; 86:1364-8.
- Kawamura T. The importance of carbohydrate counting in the treatment of children with diabetes. *Pediatric Diabetes*, 2007; 8 (Suppl. 6): 57-62.
- Kordonouri O, Hartmann R, Remus K, Blasing S, Sadeghian E, Danne T. Benefit of supplementary fat plus protein counting as compared with conventional carbohydrate counting for insulin bolus calculation in children with pump therapy. *Pediatric Diabetes*, 2012; 13:540-4.
- Kurien M, Trott N, Sanders DS. Long-term care for patients with coeliac disease in the UK: a review of the literature and future directions. *J Hum Nutr Diet*, 2016; 9:617-23.
- Lee SW, Cao M, Sajid S, Haies M, Choi M. The dual-wave bolus feature in continuous subcutaneous insulin infusion pumps controls prolonged post-prandial hyperglycaemia better than standard bolus in type 1 diabetes. *Diabetes Nutrit Metabol*, 2004;17:211-6.

Lehmann V, Zueger T, Zeder A, Scott S, Bally L, Laimer M, Stettler C. Lower daily carbohydrate intake is associated with improved glycemic control in adults with type 1 diabetes using a hybrid closed-loop system. *Diabetes Care*, 2020; 43:3102–3105.

Leonard MM, Cureton PA, Fasano A. Managing coeliac disease in patients with diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 2015; 17:3-8.

Lindholm-Olinder A, Runefors J, Smide B, Kernell A. Post-prandial glucose levels following three methods of insulin blousing. A study in adolescent girls and in- comparison with girls without diabetes. *Practical Diabetes International*, 2009; 26:110-5.

Li SQ, Zhang QH. Advances in the development of functional foods from buckwheat. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2001; 41:451-64.

Lopez PE, Evans M, King BR, Jones TW, Bell K, McElduff P. A randomized comparison of three prandial insulin dosing algorithms for children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabet Med* 2018; 35:1440-7.

Lupoli R, Creanza A, Griffo E, Nardone G, Rocco A, Bozzetto L, Annuzzi G, Riccardi G, Capaldo B. Gastric Emptying Impacts the Timing of Meal Glucose Peak in Subjects With Uncomplicated Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018; 103:2269-2276.

Markova M, Hornemann S, Sucher S, Wegner K, Pivovarova O, Rudovich N, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, Pfeiffer AFH. Rate of appearance of amino acids after a meal regulates insulin and glucagon secretion in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*, 2018; 108:279–291.

Matuleviciene V, Joseph JJ, Andelin M, Hirsch IB, Attvall S, Pivodic A, Dahlqvist S, Klonoff D, Haraldsson B, Lind M. A clinical trial of the accuracy and treatment experience of the

- Dexcom G4 sensor (Dexcom G4 system) and Enlite sensor (guardian REAL-time system) tested simultaneously in ambulatory patients with type 1 diabetes. *Diabetes Technol Ther*, 2014; 16:759-67.
- McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Rogers G, Yoshida M, Saltzman E, Jacques PF. Dietary carbohydrates and cardiovascular disease risk factors in the Framingham offspring cohort. *Journal of the American College of Nutrition*, 2009; 28:150-8.
- McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PWF, Jacques PF. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham offspring cohort. *Diabetes Care*, 2004; 27:538-46.
- Ma J, Stevens JE, Cukier K, Maddox AF, Wishart JM, Jones KL, Clifton PM, Horowitz M, Rayner CK. Effects of a protein preload on gastric emptying, glycemia, and gut hormones after a carbohydrate meal in diet-controlled type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2009; 32:1600-2.
- Maioli M, Pes GM, Sanna M, Cherchi S, Dettori M, Manca E, Farris GA. Sourdough-leavened bread improves postprandial glucose and insulin plasma levels in subjects with impaired glucose tolerance. *Acta Diabetol*, 2008; 45:91–96.
- McRorie JW Jr, McKeown NM. Understanding the Physics of Functional Fibers in the Gastrointestinal Tract: An Evidence-Based Approach to Resolving Enduring Misconceptions about Insoluble and Soluble Fiber. *J Acad Nutr Diet*, 2017; 117:251-264.
- Mehta SN, Quinn N, Volkening LK, Laffel LM. Impact of carbohydrate counting on glycemic control in children with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2009; 32:1014-16.
- Mendes-Soares H, Raveh-Sadka T, Azulay S, Ben-Shlomo Y, Cohen Y, Ofek T, Bachrach D, Stevens J, Colibaseanu D, Segal L, Kashyap P, Nelson H. Model of personalized postprandial

- glycemic response to food developed for an Israeli cohort predicts responses in Midwestern American individuals. *Am J Clin Nutr*, 2019; 110:63-75.
- Meng H, Matthan NR, Ausman LM, Lichtenstein AH. Effect of prior meal macronutrient composition on postprandial glycemic responses and glycemic index and glycemic load value determinations. *Am J Clin Nutr*, 2017; 106:1246-1256.
- Messer LH, Forlenza GP, Sherr JL, Wadwa RP, Buckingham BA, Weinzimer SA, Maahs DM, Slover RH. Optimizing hybrid closed-loop therapy in adolescents and emerging adults using the MiniMed 670G system. *Diabetes Care*, 2018; 41:789–796.
- Metwally M, Cheung TO, Smith R, Bell KJ. Insulin pump dosing strategies for meals varying in fat, protein or glycaemic index or grazing-style meals in type 1 diabetes: a systematic review. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2021;172: 108516.
- Michaud DS, Liu S, Giovannucci E, Willett WC, Colditz GA, Fuchs CS. Dietary sugar, glycemic load, and pancreatic cancer risk in a prospective study. *Journal of the National Cancer Institute*, 2002; 94:1293-1300.
- Mollard RC, Luhovyy BL, Smith C, Anderson GH. Acute effects of pea protein and hull fibre alone and combined on blood glucose, appetite, and food intake in healthy young men--a randomized crossover trial. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2014; 39:1360-5.
- Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, Queipo-Ortuño MI. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Med*, 2013; 11:46.

- Neu A, Behret F, Braun R, Herrlich S, Liebrich F, Loesch-Binder M, Schneider A, Schweizer R. Higher glucose concentrations following protein- and fat-rich meals - the Tuebingen Grill Study: a pilot study in adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*, 2015; 16:587-91.
- Novotni D, Cukelj N, Smerdel B, Bituh M. Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough. *J Cereal Sci*, 2012; 55:120-125
- Novotni D, Curić D, Bituh M, Colić Barić I, Skevin D, Cukelj N. Glycemic index and phenolics of partially-baked frozen bread with sourdough. *Int J Food Sci Nutr*, 2011; 62:26-33.
- Ocké MC, Bueno-de-Mesquita HB, Goddijn HE, Jansen A, Pols MA, van Staveren WA, Kromhout D. The Dutch EPIC food frequency questionnaire. I. Description of the questionnaire, and relative validity and reproducibility for food groups. *International journal of Epidemiology*, 1997; 26 Suppl 1:S37-48.
- Pankowska E, Blazik M, Groele L. Does the fat-protein meal increase postprandial glucose level in type 1 diabetes patients on insulin pump: the conclusion of a randomized study. *Diabetes Technol Ther* 2012; 14:16-22.
- Paterson M, Bell KJ, O'Connell SM, Smart CE, Shafat A, King B. The role of dietary protein and fat in glycaemic control in type 1 diabetes: implications for intensive diabetes management. *Curr Diab Rep*, 2015; 15:61.
- Paterson MA, King BR, Smart CEM, Smith T, Rafferty J, Lopez PE. Impact of dietary protein on postprandial glycaemic control and insulin requirements in type 1 diabetes: a systematic review. *Diabet Med*, 2019; 36:1585-1599.

Paterson MA, Smart CEM, Lopez PE, Howley P, McElduff P, Attia J, Morbey C, King BR.

Increasing the protein quantity in a meal results in dose-dependent effects on postprandial glucose levels in individuals with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*, 2017; 34:851–854.

Pham-Short A, Donaghue KC, Ambler G, Garnett S, Craig ME. Quality of life in type 1 diabetes and celiac disease: role of the gluten-free diet. *J Pediatr*, 2016; 179:131-138.e1.

Py-Sunyer FX. Glycemic index and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2002; 76 (suppl.):290S-8S.

Salmeron J, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Wing AL, Willett WC. Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *Journal of the American Medical Association*, 1997; 277:472-7.

Scaramuzza AE, Mantegazza C, Bosetti A, Zuccotti GV. Type 1 diabetes and celiac disease: the effects of gluten free diet on metabolic control. *World J Diabetes*, 2013; 4:130-134.

Scazzina F, Del Rio D, Pellegrini N, Brighenti F. Sourdough bread: starch digestibility and postprandial glycemic response. *J Cereal Sci*, 2009; 49:419-421.

Scazzina F, Siebenhandl-Ehn S, Pellegrini N. The effect of dietary fibre on reducing the glycaemic index of bread. *Br J Nutr*, 2013; 109:1163-74.

Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, et al. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *Journal of the American Medical Association*, 2004; 292:927-34.

Sheard NF, Clark NG, Brand-Miller JC, Franz MJ, Pi-Sunyer FX, Mayer-Davis E, Kulkarni K, Geil P. Dietary carbohydrate (amount and type) in the prevention and management of diabetes: a statement by the american diabetes association. *Diabetes Care*, 2004; 27:2266-71.

- Singh R K, Chang H-W, Yan D, Lee K M, Ucmak D, Wong K, Abrouk M, Farahnik B, Nakamura M, Zhu TH, Bhutani T, Liao W. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med*, 2017; 15:73.
- Skrabanja V, Liljeberg Elmståhl HG, Kreft I, Björck IM. Nutritional properties of starch in buckwheat products: studies in vitro and in vivo. *J Agric Food Chem*, 2001; 49:490-6.
- Smart CEM, Evans M, O'Connell SM, McElduff P, Lopez PE, Jones TW, Davis EA, King BR. Both dietary protein and fat increase postprandial glucose excursions in children with type 1 diabetes, and the effect is additive. *Diabetes Care*, 2013; 36:3897-902.
- Smith CE, Mollard RC, Luhovyy BL, Anderson GH. The effect of yellow pea protein and fibre on short-term food intake, subjective appetite and glycaemic response in healthy young men. *Br J Nutr*, 2012; 108 Suppl 1:S74-80.
- Søndertoft N B, Vogt J K, Arumugam M, Kristensen M, Gøbel R J, Fan Y, Lyu L, Bahl MI, Eriksen C, Ängquist L, Frøkiær H, Hansen TH, Brix S, Nielsen HB, Hansen T, Vestergaard H, Gupta R, Licht TR, Lauritzen L, Pedersen O. The intestinal microbiome is a co-determinant of the postprandial plasma glucose response. *PLoS One*, 2020; 15: e0238648.
- Stamataki NS, Yanni AE, Karathanos VT. Bread making technology influences postprandial glucose response: a review of the clinical evidence. *Br J Nutr*, 2017; 117:1001-12.
- Stanstrup J, Schou SS, Holmer-Jensen J, Hermansen K, Dragsted LO. Whey protein delays gastric emptying and suppresses plasma fatty acids and their metabolites compared to casein, gluten, and fish protein. *J Proteome Res*, 2014; 13:2396-408.

- Stringer DM, Taylor CG, Appah P, Blewett H, Zahradka P. Consumption of buckwheat modulates the post-prandial response of selected gastrointestinal satiety hormones in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2013; 62:1021-31. *Nutr J*, 2013; 12:64.
- Su-Que L, Ya-Ning M, Xing-Pu L, Ye-Lun Z, Guang-Yao S, Hui-Juan M. Effect of consumption of micronutrient enriched wheat steamed bread on postprandial plasma glucose in healthy and type 2 diabetic subjects. *Nutr J*, 2013; 12:64.
- Tonja R. Nansel, Lauren Gellar, Ches Adrienne McGill. Effect of varying glycemic index meals on blood glucose control assessed with continuous glucose monitoring in youth with type 1 diabetes on basal-bolus insulin regimens. *Diabetes Care*, 2008; 31:695-697.
- Uibo R, Panarina M, Teesalu K, Talja I, Sepp E, Utt M, Mikelsaar M, Heilman K, Uibo O, Vorobjova T. Celiac disease in patients with type 1 diabetes: a condition with distinct changes in intestinal immunity? *Cell Mol Immunol*, 2011; 8:150-6.
- Vetrani C, Calabrese I, Cavagnuolo L, Pacella D, Napolano E, Di Rienzo S, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G, Bozzetto L. Dietary determinants of postprandial blood glucose control in adults with type 1 diabetes on a hybrid closed-loop system. *Diabetologia*, 2021.
- Vici G, Belli L, Biondi M, Polzonetti V. Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clin Nutr*, 2016; 35:1236-1241.
- Wang Z, Long H, Chang C, Zhao M, Lu Q. Crosstalk between metabolism and epigenetic modifications in autoimmune diseases: a comprehensive overview. *Cell Mol Life Sci*, 2018; 75:3353-3369.

- Weisman A, Bai JW, Cardinez M, Kramer CK, Perkins BA. Effect of artificial pancreas systems on glycaemic control in patients with type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis of outpatient randomised controlled trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017; 5:501–512.
- Willett W, Manson J, Liu S. Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2002; 76(suppl):274S- 80S.
- Winiger G, Keller U, Laager R, Girard J, Berger W. Protein content of the evening meal and nocturnal plasma glucose regulation in type-I diabetic subjects. *Horm Res*, 1995; 44:101-4.
- Wolpert HA, Atakov-Castillo A, Smith SA, Steil GM. Dietary fat acutely increases glucose concentrations and insulin requirements in patients with type 1 diabetes: implications for carbohydrate-based bolus dose calculation and intensive diabetes management. *Diabetes Care*, 2013; 36:810-6.
- Zamaratskaia G, Johansson DP, Junqueira MA, Deissler L, Langton M, Hellström PM, Landberg R. Impact of sourdough fermentation on appetite and postprandial metabolic responses - a randomised cross-over trial with whole grain rye crispbread. *Br J Nutr*, 2017; 118:686-97.
- Zeevi D, Korem T, Zmora N, Israeli D, Rothschild D, Weinberger A, Ben-Yacov O, Lador D, Avnit-Sagi T, Lotan-Pompan M, Suez J, Mahdi JA, Matot E, Malka G, Kosower N, Rein M, Zilberman-Schapira G, Dohnalová L, Pevsner-Fischer M, Bikovsky R, Halpern Z, Elinav E, Segal E. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell*, 2015; 163:1079-1094.

## 9. Pubblicazioni

### Pubblicazioni di studi sperimentali oggetto della tesi di dottorato

1. **Cavagnuolo L**, Bozzetto L, Franco L, Costabile G, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G. Pizza leavening technique influences postprandial glucose response: a randomized controlled trial in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2019; 42: e157-e158.
2. Vetrani C, Bozzetto L, Giorgini M, **Cavagnuolo L**, Di Mattia E, Cipriano P, Mangione A, Todisco A, Inghilterra G, Giacco A, Annuzzi G, Rivellese AA. Fibre-enriched buckwheat pasta modifies blood glucose response compared to corn pasta in individuals with type 1 diabetes and celiac disease: Acute randomized controlled trial. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019; 149:156-162.
3. Vetrani C, Calabrese I, **Cavagnuolo L**, Pacella D, Napolano E, Di Rienzo S, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G, Bozzetto L. Dietary determinants of postprandial blood glucose control in adults with type 1 diabetes on a hybrid closed-loop system. *Diabetologia*, 2021.
4. Bozzetto L, **Cavagnuolo L**, Pacella D, Capuano M, Meglio I, Calabrese I, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G. Postprandial glucose response in type 1 diabetes: an individual phenomenon? (Dati sottomessi per la pubblicazione su *Advanced Diabetes Technologies and Therapeutic*).

### Altre pubblicazioni:

1. Franco L, Bozzetto L, Angelis R, Calabrese I, **Cavagnuolo L**, Gasparro T, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G. Beneficial effects on body weight of group vs individual care in adults with type 1 diabetes on advanced technologies. *Health Sci Rep*, 2021; 4:e385



UNIONE EUROPEA  
Fondo Sociale Europeo



Dottorando	<b>Dr.ssa Cavagnuolo Luisa</b>
Tutor	<b>Prof.ssa Angela Albarosa Rivellese</b>
Coordinatore	<b>Prof. Francesco Beguinot</b>
Corso di Dottorato	<b>Dottorato di Ricerca in Medicina Clinica e Sperimentale</b>
Ciclo	<b>33°</b>
Codice borsa	<b>DOT1318210 - Borsa 3</b>
CUP	<b>E62G17000000006</b>
Titolo Progetto	<b>Realizzazione di algoritmi per la gestione della variabilità intra ed interindividuale della risposta glicemica postprandiale in risposta a diversi fattori nutrizionali</b>

La borsa di dottorato è stata cofinanziata con risorse del  
Programma Operativo Nazionale Ricerca e Innovazione 2014-2020 (CCI 2014IT16M2OP005),  
Fondo Sociale Europeo, Azione I.1 "Dottorati Innovativi con caratterizzazione Industriale"



UNIONE EUROPEA  
Fondo Sociale Europeo

