

Alla Fondazione della Società Italiana di Diabetologia (SID)

“Diabete Ricerca ONLUS”

Presidente Prof. Stefano Del Prato,

in collaborazione con MSD Italia s.r.l.

Relazione Annuale del progetto di ricerca dal titolo: *Modelli alimentari, consumo di composti bioattivi (polifenoli) e profilo metabolico in una coorte di pazienti con diabete mellito tipo 2*
di

Dott.ssa Marilena Vitale, RD, PhD

Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia

Università “Federico II” di Napoli

Gli obiettivi specifici del progetto di ricerca svolto nell’anno 2016 sono stati i seguenti:

- 1) Caratterizzare la dieta abituale dei pazienti con diabete rispetto al contenuto in polifenoli totali e delle principali sottoclassi;
- 2) Studiare la relazione tra consumo di polifenoli, totali e delle principali sottoclassi, profilo di rischio cardiovascolare e marcatori di infiammazione subclinica;
- 3) Valutare, con tecniche analitiche innovative – metabolomica - il profilo metabolico dei pazienti che seguono un modello alimentare salutare o non salutare, definito secondo i criteri elencati in dettaglio di seguito.

Tutte le valutazioni, oggetto del progetto di ricerca, sono state condotte su 2573 soggetti (1535 uomini e 1038 donne) con diabete tipo 2, di età compresa tra 50 e 75 anni, reclutati in 57 centri per la cura del diabete distribuiti in tutta Italia, e partecipanti allo studio TOSCA.IT (*Thiazolidinediones Or Sulphonylureas and Cardiovascular Accidents Intervention Trial* - NCT00700856).

Informazioni dettagliate sulla dieta abituale degli ultimi 12 mesi (in termini di composizione in nutrienti ed alimenti) sono state ottenute utilizzando un questionario di frequenza alimentare semiquantitativo (questionario EPIC - *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*), validato ed utilizzato in diversi studi epidemiologici. Esso comprende 248 domande, con più possibilità di risposta, concernenti 188 diversi alimenti, suddivise in 15 sezioni. Ogni soggetto è invitato a indicare la frequenza di consumo di ciascun alimento e, per gli alimenti la cui quantità e frequenza di consumo influenza in maniera determinante il risultato della composizione della dieta, il soggetto è invitato ad indicare anche la quantità consumata, servendosi dell'aiuto di immagini rappresentanti le diverse porzioni dello stesso alimento.

Tutti i questionari alimentari sono stati sottoposti ad un controllo di qualità per verificarne la completezza e la correttezza della compilazione. Sono stati esclusi dall'analisi, i questionari con più di 20 domande lasciate senza risposta e quelli che riportavano un introito calorico giornaliero poco plausibile (<800 calorie o > 5000 calorie).

Il calcolo del contenuto di polifenoli della dieta è stato, invece, ottenuto tramite l'utilizzo delle tabelle di composizione degli alimenti "USDA Special Interest Databases on Flavonoids"⁽³³⁻³⁵⁾ ed il database di "Phenol Explorer (Versione 3.6)"⁽³⁶⁻³⁸⁾.

Inoltre, in tutti i partecipanti sono stati misurati con protocollo standard:

- Antropometria (peso, altezza, circonferenze vita e fianchi);
- Pressione arteriosa sistolica e diastolica;
- Biochimica (HbA1c, colesterolo totale, colesterolo HDL, trigliceridi, proteina c-reattiva; il colesterolo LDL è stato calcolato con la Formula di Friedewald); i campioni sono stati raccolti a digiuno e le determinazioni sono state effettuate in un laboratorio centralizzato.

Obiettivo 1: *Caratterizzare la dieta abituale dei pazienti con diabete rispetto al contenuto in polifenoli totali e delle principali sottoclassi*

Tale valutazione è stata di notevole interesse in quanto, nonostante l'importanza crescente dei polifenoli in campo nutrizionale, non erano disponibili dati riguardanti il consumo di polifenoli in pazienti con diabete. Pertanto, a partire dal questionario alimentare validato di frequenza di consumo degli alimenti (EPIC), è stato calcolato il contenuto di polifenoli totali e delle principali classi di polifenoli (flavonoidi, acidi fenolici, stilbeni, lignani e altri polifenoli) della dieta abituale della popolazione di studio tramite l'ausilio delle tabelle "USDA on Flavonoids" e "Phenol Explorer", come descritto precedentemente.

I risultati di tale analisi sono stati presentati al 26° Congresso Nazionale SID (Rimini, 4-7 Maggio 2016), al 34th International Symposium on Diabetes and Nutrition (DNSG Praga, 29 Giugno – 01 Luglio 2016), e pubblicati sull'*European Journal of Nutrition* (Vitale M, et al. *Eur J Nutr*, 2016 Dec 21. doi: [10.1007/s00394-016-1355-1](https://doi.org/10.1007/s00394-016-1355-1)).

I risultati più rilevanti sono stati i seguenti:

- Primo studio che riporta il contenuto di polifenoli della dieta abituale di pazienti con diabete rappresentativi della realtà clinica italiana;
- Gli alimenti che contribuiscono al contenuto totale di polifenoli sono caffè e tè, seguiti da frutta, vino rosso e verdure;
- Nella popolazione in studio, il contenuto medio di polifenoli della dieta abituale è più basso rispetto a quello osservato in popolazioni senza diabete, anche appartenenti alla stessa area geografica;
- Il pattern di consumo dei polifenoli della popolazione in studio è caratterizzato da una pari distribuzione di flavonoidi e acidi fenolici; invece, nelle popolazioni senza diabete, è prevalente un pattern caratterizzato principalmente da acidi fenolici.

Obiettivo 2: *Studiare la relazione tra consumo di polifenoli, totali e delle principali sottoclassi, profilo di rischio cardiovascolare e marcatori di infiammazione subclinica*

Il contenuto di polifenoli totali e delle principali sottoclassi è stato poi messo in relazione con il compenso glicemico, con i principali fattori di rischio cardiovascolare (profilo lipidico, pressione arteriosa) e con i markers infiammatori.

Per tale scopo, il contenuto di polifenoli totali e delle principali sottoclassi della dieta abituale è stato suddiviso in tertili di consumo.

I risultati più importanti di tale analisi sono stati i seguenti:

- Primo studio che valuta l'associazione tra il contenuto di polifenoli della dieta abituale ed il profilo di rischio cardiovascolare in pazienti con diabete rappresentativi della realtà clinica italiana;
- Il consumo elevato di polifenoli si associa ad un migliore profilo lipidico (con riduzione del colesterolo-LDL e trigliceridi, ed un aumento del colesterolo-HDL) e compenso glicemico (valutato tramite l'HbA1c), a valori più bassi di pressione arteriosa sistolica e diastolica e ad un miglioramento dei markers di infiammazione subclinica (valutata tramite la proteina C-reattiva). Tali risultati si confermano dopo aggiustamento per le principali variabili di confondimento (sesso, età, IMC, fumo e consumo di alcool).

I risultati di tale analisi sono stati presentati al 26° Congresso Nazionale SID (Rimini, 4-7 Maggio 2016), al 34th International Symposium on Diabetes and Nutrition (DNSG Praga, 29 Giugno – 01 Luglio 2016), e pubblicati su *Clinical Nutrition* (Vitale M, et al. Clin Nutr, 2016 Nov 14. pii: S0261-5614(16)31316-4. doi: 10.1016/j.clnu.2016.11.002).

Obiettivo 3: *Valutare, con tecniche analitiche innovative – metabolomica - il profilo metabolico di un sottogruppo di pazienti che seguono un modello alimentare salutare o non salutare, definito secondo i criteri elencati in dettaglio di seguito*

Questa parte del progetto è stata svolta su un campione di 230 soggetti con diabete tipo 2, estrapolati dalla coorte di pazienti con diabete reclutati nello studio TOSCA.IT secondo i criteri riportati di seguito.

Più in dettaglio, sulla base dei dati attualmente disponibili in letteratura e su quelli già pubblicati in tale coorte di pazienti con diabete, sono stati definiti due modelli alimentari, definiti “salutare” o “non salutare”, a partire dal consumo di 3 specifici componenti della dieta, quali fibra, polifenoli, e acidi grassi saturi. Per ciascuno di essi, la quantità giornaliera consumata è stata divisa in quintili di consumo ed i 2 gruppi sono stati così costruiti:

- *Modello salutare:* Alto consumo di fibra e polifenoli (Quintili 4 e 5), e basso consumo di acidi grassi saturi (Quintili 1 e 2);
- *Modello non salutare:* Basso consumo di fibra e polifenoli (Quintili 1 e 2), e alto consumo di acidi grassi saturi (Quintili 4 e 5).

Sono stati identificati, rispettivamente, 125 e 105 persone in ciascun gruppo, comparabili per età, sesso e IMC.

Sui campioni di plasma raccolti a digiuno è stato condotto lo studio del metaboloma presso il *Department of Clinical Nutrition* dell'*University of Eastern Finland*, con sede a Kuopio (Finlandia) sotto la supervisione della Dott.ssa Kati Hanhineva, attualmente coordinatore del LC-MS metabolomics platform del Biocenter Kuopio.

Più in dettaglio, il contenuto di metaboliti è stato valutato mediante tecniche cromatografiche accoppiate alla spettrometria di massa (non-targeted LC-MS metabolite profiling analysis), che hanno consentito la misurazione simultanea di migliaia di metaboliti, quali aminoacidi, acilcarnitine, acidi biliari, lipidi, betaine, TMAO (Trimethylamine N-oxide) e TMA (trimethylamine).

I dati ottenuti dall'analisi strumentale sono stati processati ed analizzati tramite il Mass Profiler Professional software. L'analisi dei cluster (K-means) e la costruzione delle heat-map, per consentire una migliore visualizzazione e normalizzazione dei dati, sono stati ottenuti tramite il Multi Experiment Viewer software (MeV; version 4.8.1).

Attualmente è in corso l'analisi per il confronto del profilo metabolomico tra i due gruppi.

A seguire, sarà analizzata la relazione con il compenso glicemico, il profilo lipidico ed i marcatori dell'infiammazione.

Napoli, 03 Aprile 2017



Dott.ssa Marilena Vitale



Prof.ssa Olga Vaccaro (TUTOR)