

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA



Corso di Laurea Specialistica in Bioingegneria

Tesi di Laurea

Modellistica dell'errore di calibrazione di un sensore sottocutaneo per il monitoraggio in continua della glicemia

Relatore: prof. Giovanni Sparacino

Correlatore: Dr. Andrea Facchinetti

Laureando: Carlo Rojatti

Anno Accademico 2009/2010

Alla mia famiglia

CAPITOLO 1.....	1
<i>Il Monitoraggio Continuo del Glucosio</i>	1
1.1 Il Diabete	2
1.1.1 Monitoraggio della glicemia.....	3
1.2 I sensori CGM	5
1.1.2 I dispositivi non-invasivi	6
1.1.3 Dispositivi minimamente invasivi	7
1.3 Tecnologia FreeStyle Navigator	11
1.4 Pregi e limiti dei sistemi CGM.....	13
1.5 Il Pancreas Artificiale	15
1.6 Problemi aperti e scopo della tesi	16
1.6.1 Problemi legati all'interpretazione fisiologica	16
1.6.2 Errore di Calibrazione	16
1.6.3 Scopi della tesi.....	17
CAPITOLO 2.....	19
<i>Misura del segnale CGM e problematiche di calibrazione</i>	19
.....	
2.1 Differenza fra misure plasmatiche e misure CGM.....	20
2.2 Modello della cinetica plasma-interstizio.....	21
2.2.1 Descrizione del modello	21
2.3 Fattori di distorsione sulla misurazione CGM.....	25
2.4 Errore di calibrazione	27
2.4.1 Evoluzione temporale degli errori di calibrazione	28
CAPITOLO 3.....	31
<i>Modellistica dell'errore di calibrazione.....</i>	31
3.1 Data base.....	31
3.1.1 Scopi dello studio	32
3.1.2 Sede dello studio.....	32
3.1.3 Disegno dello studio	33

3.1.4	Protocollo di acquisizione	34
3.2	Pre-Elaborazione	35
3.2.1	Smoothing Bayesiano	35
3.3	Modellistica dell'errore di calibrazione	38
3.3.1	Considerazioni preliminari.....	38
3.3.2	Modello Polinomiale.....	42
3.3.3	Scelta del grado del Polinomio	43
CAPITOLO 4		49
<i>Identificazione del modello dell'errore di calibrazione...</i>		49
4.1	Introduzione	49
4.2	Risultati	50
4.3	Stima dei coefficienti del Polinomio.....	55
CAPITOLO 5		59
<i>Simulazione dell'errore di calibrazione.....</i>		59
5.1	Obiettivo.....	59
5.1.1	Primi passi.....	59
5.1.2	Random Walk	61
5.2	Progetto del simulatore	64
5.2.1	Componente Polinomiale.....	64
5.2.2	Componente Random.....	65
5.2.3	Errore di calibrazione simulato.....	66
5.3	Primo progetto del simulatore.....	66
5.4	Simulatore con Ri-calibrazione.....	68
CAPITOLO 6		71
<i>Conclusioni e Sviluppi Futuri.....</i>		71
6.1	Discussione	71
6.2	Sviluppi futuri	74
BIBLIOGRAFIA.....		77

Sommario

Il diabete mellito è una patologia cronica di grande rilievo sociale ed esercita un notevole impatto sulla salute pubblica. Questa malattia comporta una serie di disturbi metabolici accomunati dal fatto di presentare una persistente instabilità del livello glicemico del sangue, passando da condizioni di iperglicemia, a eventi di ipoglicemia. L'Organizzazione Mondiale della Sanità ritiene che nei paesi ricchi, a causa dell'incremento dell'attesa di vita, nonché dell'aumentata incidenza nella popolazione di sovrappeso e obesità, la prevalenza della malattia sia destinata ad aumentare nel prossimo futuro. Un'emergenza che rischia di estendersi anche nei paesi in via di sviluppo, a causa dell'acquisizione dello stile di vita occidentale. Le cifre diffuse parlano di una vera epidemia, con 246 milioni di malati nel mondo e 4 milioni in Italia.

La patologia del diabete è particolarmente rilevante per le complicanze a carico di numerosi organi e apparati (ad esempio complicanze micro e macrovascolari, neuropatia, insufficienza renale, cecità etc) e l'impatto sulla qualità della vita dei pazienti e, in generale, sulla salute pubblica è considerevole. È quindi di vitale importanza seguire una terapia che mantenga la situazione glicemica il più possibile vicina al comportamento di un pancreas sano.

Attualmente, la terapia del diabete si sostiene su tre cardini principali: dieta, esercizio fisico, somministrazione di insulina. Parte essenziale della cura del diabete è la pratica, introdotta nella seconda metà degli anni Settanta, dell'autocontrollo domiciliare della glicemia (SMBG, Self-Monitoring Blood Glucose), strumento fondamentale ai fini di un ragionevole miglioramento della terapia. Il modello terapeutico, oggi più frequentemente adottato, consiste nella cura insulinica intensiva, caratterizzata dalla somministrazione di più dosi di insulina. Tuttavia, a causa delle ampie variazioni glicemiche che si hanno in relazione all'attività fisica, alla dieta e alla terapia farmacologica somministrata, il metodo non è risultato sufficiente ad individuare i numerosi episodi di iperglicemia e soprattutto quelli di ipoglicemia che possono avere effetti letali se non curati tempestivamente.

Per tale motivo, lo sviluppo di dispositivi che permettono la misurazione del glucosio a livello interstiziale in maniera continua (CGM, Continuous Glucose Monitoring), promette un passo avanti molto importante nella cura del diabete. Tali dispositivi potrebbero, infatti,

consentire al paziente di gestire meglio la terapia tramite regolazioni della dieta, attività fisica e iniezioni di insulina.

I valori generati da dispositivi CGM possono avere numerose applicazioni, dalla semplice acquisizione in tempo reale del valore interstiziale per informare il paziente della sua corrente situazione glicemica, alla più avanzata ed attraente predizione del profilo glicemico finalizzato alla prevenzione dell'evento critico di ipo/iperglicemia. Dalle misurazioni interstiziali si può anche cercare di ricostruire il vero valore plasmatico di glicemia mediante tecniche di stima dell'ingresso. In ogni caso, tali dispositivi richiedono una procedura di calibrazione, che introduce sempre una componente d'errore nella misura. Questo errore ha una grande rilevanza, in quanto potrebbe fornire informazioni non corrette a scapito della terapia e, di conseguenza, della salute del paziente.

Questo lavoro di tesi rappresenta uno studio preliminare sull'errore di calibrazione introdotto nella misura di un sensore CGM. In letteratura, infatti, l'errore di calibrazione è considerato costante tra le successive procedure di calibrazione. In questo lavoro verrà prima dimostrata la tempo-varianza di tale errore e, in seguito, sarà fornito un modello per descriverne il trend temporale.

Altro obiettivo di questa tesi sarà quello di sviluppare un simulatore che generi segnali con le stesse caratteristiche del segnale analizzato. Lo scopo di questo simulatore sarà quello di integrare simulatori per testare in silico algoritmi di controllo per sistemi come il pancreas artificiale.

La tesi è strutturata nel seguente modo.

Il Capitolo 1 descriverà il diabete e le tecnologie CGM utilizzate al fine di migliorare la terapia di tale malattia. Verranno poi esposti i vantaggi e svantaggi di ciascun dispositivo CGM e le relative problematiche tuttora aperte.

Il Capitolo 2 si occuperà della generazione del segnale CGM ed in particolare illustrerà i vari studi presenti in letteratura volti a spiegare la relazione tra glucosio nel sangue e nell'interstizio attraverso il modello cinetico plasma-interstizio.

Il Capitolo 3 descriverà il data base che si andrà ad analizzare ed illustrerà la scelta del modello utilizzato per descrivere l'errore di calibrazione

Il Capitolo 4 descriverà la procedura di identificazione dei parametri del modello descritto nel capitolo precedente e mostrerà i risultati di tale operazione.

Il Capitolo 5 tratterà il progetto del simulatore ed il suo sviluppo illustrando,inoltre, i diversi modelli di simulatore proposto.

Il Capitolo 6 presenterà, infine, alcune conclusioni sul lavoro svolto e suggerirà la via per sviluppi futuri..

CAPITOLO 1

Il Monitoraggio Continuo del Glucosio

Negli ultimi anni il diabete sta affliggendo una porzione sempre più ampia di popolazione. Il fenomeno ricopre una notevole importanza per le conseguenze della patologia stessa che, nella sua naturale evoluzione, è causa diretta di molte complicanze. Nella terapia convenzionale del diabete si utilizzano, già da qualche decennio, dispositivi per l'auto-monitoraggio del glucosio nel sangue (SMBG).

Recentemente, per ovviare ai limiti di tali dispositivi sul controllo delle fluttuazioni della glicemia, sono state proposte nuove tecnologie che permettono il monitoraggio continuo del glucosio (CGM). Lo scopo di queste ultime consiste nell'ottimizzare la terapia e migliorare l'aspettativa e la qualità della vita del paziente.

In questo capitolo si presenterà, dapprima, una breve descrizione del diabete e delle problematiche ad esso associate. In seguito, si illustreranno alcuni sensori disponibili per il CGM, esponendo i vantaggi e svantaggi di ciascuna tipologia e le relative problematiche tuttora aperte. Infine verrà presentato lo scopo della tesi.

1.1 Il Diabete

Per gli esseri umani la principale fonte di energia per muscoli ed organi è il glucosio, per il cervello esso rappresenta addirittura l'unico sostentamento. A seguito della metabolizzazione dei nutrienti forniti attraverso l'alimentazione, il glucosio entra nel flusso sanguigno per raggiungere i tessuti, suoi utilizzatori finali.

In un soggetto non affetto da diabete, la concentrazione di glucosio nel sangue, detta glicemia, viene mantenuta entro livelli restrittivi da meccanismi fisiologici di controllo. In condizioni di digiuno, ad esempio al mattino, i valori della glicemia sono tipicamente attorno agli 80 - 90 mg/dl; dopo un pasto, tale concentrazione aumenta fino a raggiungere un livello di 120 - 140 mg/dl. Conseguentemente a tale incremento, intervengono meccanismi di controllo a feedback che riportano la glicemia ai valori del digiuno, normalmente entro un paio d'ore dai pasti.

L'insulina gioca un ruolo fondamentale nel meccanismo di controllo della glicemia: la sua azione consiste nel promuovere il passaggio del glucosio dal flusso sanguigno alle cellule dove viene utilizzato o, in alternativa, immagazzinato. Questa azione permette di mantenere la glicemia al di sotto di una certa soglia. In condizioni di digiuno il fegato provvede al mantenimento della concentrazione di glucosio al di sopra di un livello minimo attraverso la produzione di glucosio.

In condizioni patologiche, viene a mancare la corretta assimilazione delle sostanze nutrienti, a dispetto del fatto che queste ultime siano normalmente ingerite e digerite. A conseguenza di ciò, il livello glicemico cresce fino a superare i livelli di soglia normalmente rispettati: tale condizione è definita come *iperglicemia*.

Questa patologia prende il nome di Diabete Mellito, una malattia metabolica cronica che comporta un'alterazione del metabolismo dei carboidrati, dei lipidi e delle proteine. Tale alterazione è dovuta ad una carenza della secrezione di insulina da parte del pancreas e/o ad una diminuzione della sensibilità dei tessuti all'insulina stessa che va ad impedire un corretto utilizzo del glucosio. Il termine *diabete mellito* deriva dal greco *dia-bete* ovvero *passare attraverso* e da *mellitus*, dal latino significa *di miele, dolce come il miele*, con probabile riferimento al rilascio eccessivo del glucosio nelle urine, uno dei segni clinici più distintivi agli esordi della patologia già nel 1550 a.c., e al sapore dolce delle urine stesse che distingueva la malattia da altri tipi di diabete.

Il diabete mellito compare in due forme: il diabete di tipo I o *insulino-dipendente* conseguenza della distruzione delle β -cellule del pancreas che producono l'insulina ed il diabete di tipo II o *non insulino-dipendente* causato dalla diminuzione della sensibilità insulinica dei tessuti, quindi dalla resistenza all'insulina. Il diabete di tipo I colpisce soprattutto soggetti giovani e copre circa il 10% di tutti i casi di diabete mellito. Recentemente il diabete mellito, principalmente il diabete di tipo II, ha assunto un'importanza sociale mondiale per il progressivo aumento dell'incidenza della malattia. Ciò è legato anche ad uno stile di vita che è sempre più sedentario e caratterizzato da un'alimentazione eccessiva rispetto al fabbisogno energetico.

La patologia diabetica mostra una chiara tendenza, in tutti i paesi industrializzati, ad un aumento sia dell'incidenza, sia della prevalenza. Dalle ultime statistiche risulta che il numero di pazienti diabetici nel mondo in età adulta è salito da 150 milioni nel 2000 a 246 milioni; si prevede che il numero salirà a 350 milioni in meno di 20 anni. Negli Stati Uniti (dove il diabete rappresenta la settima causa di morte) si stimavano 1.6 milioni di diabetici nel 1958 e 8 milioni nel 1995, contro i 20.8 milioni odierni. Anche in Italia la salita non accenna a diminuire: il diabete colpisce il 5-6% della popolazione italiana mentre solo 10 anni fa interessava 4 persone su 100. È importante rilevare il fatto che almeno il 50% di tutta la popolazione diabetica è inconsapevole della sua condizione; in molti paesi questo dato raggiungere l'80% [9], [15].

Inoltre è necessario considerare che non sono rari i casi di decessi causati da complicazione dovute al diabete; ogni anno 3.8 milioni di decessi sono attribuiti a cause diabetiche ed, infatti, il diabete è considerato attualmente la quarta causa di morte nel mondo.

1.1.1 Monitoraggio della glicemia

La terapia del diabete ha come obiettivo quello di mantenere il livello della glicemia, il più possibile entro un *range* fisiologico, tipicamente tra gli 80 ed i 120 mg/dl, e di evitare quindi episodi di ipo e iperglicemia, dannosi per la salute del paziente.

Fino agli anni '50, non si teneva in considerazione il valore della glicemia e la cura era basata unicamente sul controllo dell'alimentazione e sulla somministrazione di insulina. Conseguentemente tanto il momento di somministrazione quanto la quantità di insulina era

stabilite approssimativamente. Con l'avvento di nuovi strumenti, quali i refllettometri, si è iniziato a prendere in considerazione il livello di glicemia e somministrare dosi di insulina che considerassero tale valore. Questi dispositivi per l'automonitoraggio del glucosio (Self Monitoring of Blood Glucose – SMBG) consistono in un pungidito, con il quale viene prelevato un campione di sangue da capillare, delle strisce sulle quali posizionare il campione e da un dispositivo di misurazione. Il monitoraggio viene in genere eseguito 3 - 4 volte al giorno sulla base del quale è possibile regolare le quattro somministrazioni giornaliere di insulina o farmaci ipoglicemizzanti; l'obiettivo è quello di ottenere una situazione il più possibile vicina al comportamento di un pancreas sano. Inoltre, grazie alle misurazioni fornite dai dispositivi SMBG, è possibile compiere delle variazioni terapeutiche nell'arco della giornata e prevenire così casi di crisi ipoglicemica o iperglicemica. In figura (Fig. 1.1) è rappresentato, profilo blu, un esempio di andamento temporale giornaliero della glicemia; i punti rossi rappresentano le misure SMBG.

Tuttavia, lo scarso numero di misure SMBG non permette di seguire le ampie fluttuazioni della glicemia che si hanno in relazione all'attività fisica, ai pasti ed alla terapia farmacologica somministrata. Di conseguenza episodi di iperglicemia post-prandiali e soprattutto quelli di ipoglicemia causati da un sovradosaggio di insulina non vengono individuati. Sempre in figura (Fig. 1.1) si può osservare come le fluttuazioni che non avvengono in prossimità di una misurazione SMBG vengano ignorate.

Inoltre, gli episodi di ipoglicemia, più pericolosi per il paziente, avvengono, tipicamente, in momenti in cui risulta difficile compiere una misurazione SMBG ovvero durante la notte o durante un'intensa attività fisica.

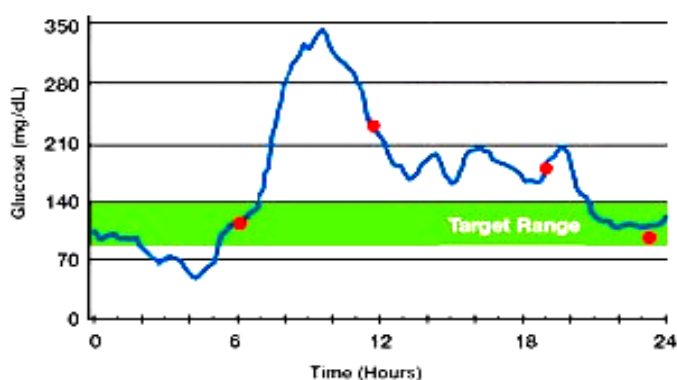


Figura 1.1 Profilo giornaliero della glicemia (blu) e SMBG (rosso)

L'ipoglicemia è una condizione molto gravosa, poiché può provocare, a breve termine, danni permanenti e, talvolta, persino letali al sistema nervoso centrale.

L'iperglicemia, sebbene meno pericolosa come condizione momentanea, ha delle gravi conseguenze a lungo termine: causa, infatti, complicanze a carico di vari organi, con l'insorgere di differenti patologie quali l'infarto cardiaco, l'insufficienza renale, la retinopatia, l'ipertensione arteriosa e la cecità.

1.2 I sensori CGM

Le tecniche standard di monitoraggio SMBG, attualmente utilizzate dalla maggior parte dei pazienti diabetici, possono essere dolorose e non precise, a causa della saltuaria frequenza di campionamento del dispositivo. Con tale metodologia, il controllo glicemico e la terapia intensiva, nonostante riducano le complicanze a lungo termine associate al diabete, incrementano il rischio di eventi ipoglicemici. I dispositivi per il monitoraggio continuo del glucosio (Continuous Glucose Monitoring – CGM) sono sistemi che, a differenza dei SMBG, permettono di individuare con un'ottima precisione gli episodi di ipo/iperglicemia. Infatti, grazie all'utilizzo di tecniche di misurazione minimamente invasive o non-invasive, essi consentono di misurare in maniera quasi-continua la concentrazione di glucosio nel sangue (tipicamente ogni 1–5 minuti) per un periodo che arriva fino a 7 giorni consecutivi. Sono quindi in grado di fornire le misurazioni del glucosio con una tempistica tale da dare informazioni on-line circa la direzione, l'ampiezza, la durata, la frequenza e le cause delle fluttuazioni della glicemia.

Un esempio di confronto tra l'informazione fornita da un dispositivo CGM e le misurazioni SMBG può essere ricavato dalla figura (Fig. 1.1): osservando il profilo blu della glicemia è lecito aspettarsi che un dispositivo CGM, che fornisce informazioni in maniera quasi continua, consenta di mettere in evidenza tutte le fluttuazioni ed, in particolar modo, eventi di ipo/iperglicemia. Per tali ragioni ci sono stati considerevoli investimenti e sviluppi sulla tecnologia per il monitoraggio continuo del glucosio, con più di un centinaio di aziende attualmente coinvolte nella ricerca.

1.1.2 I dispositivi non-invasivi

I dispositivi non-invasivi si basano su tecniche di irradiazione del tessuto, analisi delle radiazioni assorbite e di *scatter*, elaborazione di questa informazione e misurazione del glucosio dal tessuto cutaneo. Vi sono metodi ottici come ad esempio l'infrarosso, la spettroscopia Raman, la polarimetria, la luce scatter e la spettroscopia foto acustica. Purtroppo l'attraente non-invasività dei metodi ottici nasconde difficoltà sull'attendibilità a causa delle proprietà strutturali e fisiologiche della pelle [23]. È, infatti, noto il caso della Pendragon che nel 2000 mise in commercio, con l'approvazione della CE, un dispositivo che sfruttava le proprietà della spettroscopia di impedenza, ovvero l'applicazione della radiazione elettromagnetica attraverso la pelle sul vaso sanguigno. Dagli studi del 2004, fu dimostrato che al Pendra® era adatto solo per un piccolo gruppo di utenti. Infatti, il processo di calibrazione, che è cruciale per un corretto funzionamento dello strumento, era impegnativo a causa delle varie proprietà della pelle e la percentuale di pazienti che realizzavano con successo questo processo di calibrazione era troppo bassa [31].

Altra tecnologia non-invasiva è quella utilizzata dal GlucoWatch® G2 Biographer (Cygnus Inc, Redwood City, CA) che ha raggiunto l'approvazione da parte della FDA nel marzo 2001. Questo dispositivo, posizionato sul polso, sfrutta la ionoforesi inversa; si basa sull'applicazione di una bassa corrente elettrica che, trasformandosi in un movimento di ioni, permette l'estrazione di glucosio alla pelle con un flusso proporzionale alla concentrazione del glucosio a livello interstiziale. Nonostante il GlucoWatch fosse ben progettato dal punto di vista ergonomico, presentava problemi di accuratezza e provoca irritazioni cutanee e dolore da formicolio. Il dispositivo è stato ritirato dal mercato il 31 luglio 2007 [13].

In [4] è stato compiuto uno studio che dimostra come i numerosi problemi legati alla calibrazione dei sensori non invasivi siano dovuti alla variazione nella giornata di grandezze fisiologiche come la perfusione, la compattezza cutanea e le proprietà dielettriche del tessuto sottocutaneo. A tal proposito una soluzione sembra essere l'introduzione di un multisensore, in grado non solo di valutare il glucosio interstiziale, ma di andare a compiere una misura delle grandezze responsabili dei problemi di misurazione attraverso uno spettroscopio di impedenza, andando così a quantificare le cause e compensarle attraverso un modello che elabori queste informazioni collaterali.



Figura 1.2 Pendra e Gluco Watch

1.1.3 Dispositivi minimamente invasivi

Le tecnologie minimamente-invasive, invece, sono in grado di fornire una maggiore accuratezza rispetto ai dispositivi non-invasivi. Queste tecniche sono considerate minimamente-invasive in quanto non necessitano la penetrazione nel vaso sanguigno ma richiedono il posizionamento del sensore di misura nella sottocute, ossia nella zona interstiziale tra il capillare e le cellule.

In generale, i sistemi di monitoraggio continuo del glucosio minimamente-invasivi sono costituiti da:

- un sensore del glucosio impiantato sottocute
- un piccolo monitor che mostra il valore presente del glucosio
- un dispositivo di memorizzazione ed elaborazione
- un trasmettitore che manda il segnale elettrico al dispositivo di memorizzazione e al monitor (wireless o via cavo)

In generale, i sensori di cui sono provvisti i dispositivi CGM minimamente-invasivi sono dispositivi dotati di un sistema di rilevazione associato ad un sistema di trasduzione del segnale che consente pertanto di tradurre le variazioni prodotte dalle reazioni chimiche o movimenti fisici in elettroni, la cui intensità è proporzionale alla concentrazione di glucosio presente nel sito dove è stato inserito il biosensore. Tali sensori vengono generalmente posizionati a livello addominale o del polso, ed inseriti nello spazio interstiziale tra capillare e cellule, in modo da rilevare la concentrazione di glucosio nell'interstizio. Il segnale elettrico

ottenuto viene poi trasmesso ad un processore che elabora il segnale per tradurlo in un valore numerico che riflette la concentrazione di glucosio nell'interstizio. Il valore inviato al monitor è memorizzato con una frequenza che dipende dalle caratteristiche del singolo dispositivo (1-10 minuti), è il risultato della media delle misurazioni effettuate con una frequenza di qualche secondo.

I dispositivi CGM sono dotati inoltre di un dispositivo di elaborazione che riceve la misura e la converte in concentrazione di glucosio nel sangue, piuttosto che nell'interstizio. Infatti, secondo la fisiologia medica, la concentrazione del glucosio nel liquido interstiziale potrebbe essere un'approssimazione della concentrazione del glucosio nel sangue. Nel prossimo capitolo verrà ripreso questo argomento.

Per convertire il segnale elettrico in valore glicemico, è necessario eseguire la *calibrazione*. La procedura di calibrazione in genere prevede, dopo un tempo di rodaggio del sensore che dipende dal tipo di dispositivo, l'acquisizione di una o più misurazioni consecutive di glucosio nel sangue tramite auto monitoraggio; le coppie di misurazione interstizio-sangue vengono poi utilizzate per stimare i parametri della retta di regressione che andranno a definire la relazione di calibrazione [5], [16], [19].

A causa del degrado a cui va incontro il sensore, è necessario ripetere la calibrazione più volte durante il periodo di utilizzo del sistema; il numero e la frequenza con cui è necessario ripetere la calibrazione dipendono dal tipo di sensore utilizzato. In ogni caso, il sensore deve essere sostituito dopo un periodo di tempo che dipende dalla tipologia di dispositivo, e che in genere varia dai 2 ai 7 giorni. La maggior parte dei dispositivi CGM hanno modalità real-time, ovvero forniscono in tempo reale il valore di concentrazione di glucosio del paziente, e richiedono quindi a loro volta calibrazione in tempo reale; alcuni sistemi utilizzano invece la modalità retrospettiva, che prevede la memorizzazione di tutte le misurazioni nel sangue e del sensore CGM effettuate durante l'utilizzo del dispositivo ed una successiva calibrazione.

Come già accennato in precedenza, negli ultimi anni ci sono stati continui sviluppi sulla tecnologia per il monitoraggio continuo del glucosio, con più di 100 aziende correntemente coinvolte nella ricerca. Solo sette dispositivi sono stati approvati dalla U.S. Food and Drug Administration (FDA) per l'uso clinico e la commercializzazione negli Stati Uniti o ricevuto il marchio CE per l'Europa.

I dispositivi sono:

- Continuous Glucose Monitoring System ed il successivo CGMS® System Gold™ (Medtronic MiniMed, Northridge, CA), rispettivamente approvati dalla FDA nel giugno 1999 e nel marzo 2001
- GlucoWatch® G2 Biographer (Cygnus Inc, Redwood City, CA), approvato dalla FDA nel 2001
- Guardian® Telemetered Glucose Monitoring System e Guardian® Real Time Continuous Glucose Monitoring System (Medtronic MiniMed, Northridge, CA), approvati dalla FDA rispettivamente nel febbraio 2004 e giugno 2005
- GlucoDay® (Menarini Diagnostics, Florence, Italy) , approvato dalla CE nel 2001
- STS™ e STS-7™ Continuous Glucose Monitoring System (Dexcom, San Diego, CA)), rispettivamente approvati da FDA nel marzo 2006 e nel giugno 2007 [11]
- FreeStyle Navigator™ Continuous Glucose Monitor (Abbott Laboratories, Alameda, CA).

Le principali caratteristiche dei sensori appena elencati sono riportate nella tabella (Tab. 1.1) qui di seguito. Nel prossimo paragrafo verranno descritte le principali caratteristiche riguardanti la tecnologia FreeStyle Navigator con cui sono stati raccolti i dati utilizzati in questo lavoro di tesi. Inoltre verranno presentati i vantaggi e svantaggi ad essi legati.

Product	FDA Approved/ CE marked	Year first approved or marked	Sensor type	Sensor mechanism	Sensor location	Sensor warmup (h)	Calibrations per lifetime of sensor	Sensor lifetime (h)	Frequency of testing (min)	Time of blood glucose data display	Alarm
Continuous Glucose Monitoring System (CGMS) Gold (Medtronic MiniMed)	Yes/Yes	1999	Minimally invasive	Enzyme-tipped catheter	Subcutaneous abdomen	2	12	72	5	Retrospective	No
GlucoseWatch G2 Biographix (GW'IB) (Cyrus Inc)	Yes/Yes	2001/2002	Non- invasive	Reverse iontophoresis	External on arm or forearm	2	1	13	10	Real-time	Yes
Guardian Telemetered Glucose Monitoring System (Medtronic MiniMed)	Yes/Yes	2004	Minimally invasive	Enzyme-tipped catheter	Subcutaneous arm	2	12	72	5	Retrospective	Yes
GlucoseDay (Mesaaron Diagnostics)	No/Yes	2001	Minimally invasive	Microdialysis	Subcutaneous abdomen	2	1	48	3	Real time or retrospective	Yes
Pendra (Pendragon Medical)	No/Yes	2004	Non- invasive	Impedance spectroscopy	External on wrist	1	20	3 months	1	Real-time	Yes
FreeStyle Navigator Continuous Glucose Monitor (Abbott Laboratories)	No/Yes	2007	Minimally invasive	Enzyme-tipped catheter (Wired Enzyme)	Subcutaneous arm or abdomen	1	4	120	1	Real-time	Yes
Guardian RT Continuous Glucose Monitoring System (Medtronic MiniMed)	Yes/No	2005	Minimally invasive	Enzyme-tipped catheter	Subcutaneous abdomen	2	6	72	5	Real time	Yes
STS System (DexCom)	Yes/No	2006	Minimally invasive	Enzyme-tipped catheter	Subcutaneous abdomen	2	6	72	5	Real-time	Yes
STS 7 System (Dex-com)	Yes/No	2007						168		Real-time	Yes

Tabella 1.1 Caratteristiche dei Sistemi CGM approvati da FDA o CE.

1.3 Tecnologia FreeStyle Navigator

Il FreeStyle Navigator prodotto dalla Abbott è un dispositivo approvato nel giugno 2007 dalla CE per adulti, e dalla FDA nel marzo 2008 [1]



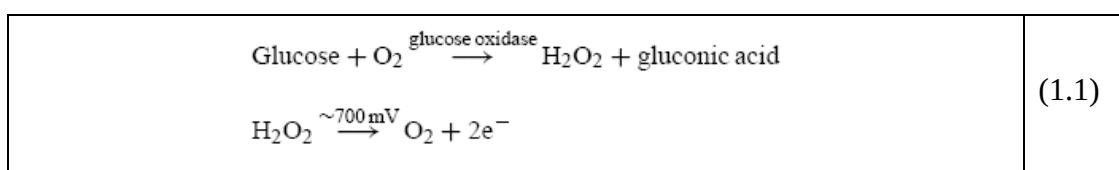
Figura 1.3 Abbott FreeStyle Navigator

È costituito da quattro componenti:

- un sensore elettrochimico miniaturizzato inserito nel tessuto adiposo sottocutaneo
- un trasmettitore a radiofrequenza che collega il sensore al ricevitore
- un ricevitore tascabile che riceve il segnale dal sensore
- un monitor che visualizza il valore del glucosio

Il sensore elettrochimico usato dal FreeStyle Navigator è simile al sensore amperometrico basato sulla glucosio-ossidasi che in genere viene utilizzato dalla Minimed Medtronic; il sensore della Abbott infatti non utilizza l'ossigeno per determinare il livello di glucosio interstiziale.

Il principio di misurazione dell'originale sensore amperometrico basato sulla glucosio-ossidasi si basa sulla generazione di perossido-idrogenato a partire da glucosio e ossigeno grazie all'enzima glucosio-ossidasi:



Un amperometro determina la corrente generata dall'ossidazione del perossido di idrogeno; quest'ultimo è infatti ossidato da uno specifico elettrodo che causa il movimento degli elettroni e ne permette così la misurazione. La corrente verrà poi convertita in glicemia dopo il passo di calibrazione. La limitazione dell'uso di questo tipo di sensore è legato alla reazione che richiede una molecola di ossigeno per ciascuna molecola di glucosio; il glucosio è presente nel corpo in grandi quantità superiori all'ossigeno che diventa quindi un reagente limitante. Per tale ragione, il sensore potrebbe misurare non tanto la concentrazione di glucosio, ma piuttosto la concentrazione di ossigeno. Per prevenire ciò, i sensori impiantabili di questo tipo devono in qualche modo fornire ossigeno in quantità superiori a quelle del glucosio [12].

L'elettrodo utilizzato dal Navigator si differenzia da quello appena descritto in quanto è costituito da una lunga catena di carbonio che contiene entrambi glucosio ossidasi e un mediatore all'osmio, chiamato Wired Enzyme™ (Therasense, Alameda, CA, acquistata dalla Abbott). Dopo che il glucosio ha ridotto la glucosio-ossidasi, l'enzima passa i suoi elettroni al mediatore all'osmio piuttosto che all'ossigeno. Il mediatore quindi passa gli elettroni all'elettrodo per la misurazione. Questo metodo è interessante perché evita l'utilizzo dell'ossigeno e quindi la saturazione della reazione. La tecnologia Wired Enzyme™ per il monitoraggio continuo del glucosio, oltre a risolvere il problema di saturazione dovuta all'ossigeno che funge da reagente limitante, offre i benefici di stabilità eccellente del sensore, di ridotta suscettibilità alle variazioni in vivo delle concentrazioni in ossigeno e minimizzazione di risposta alle comuni interferenze elettroattive [11].

Il sensore, inserito nel tessuto, misura il valore in *real time* della glicemia presente nel liquido interstiziale ogni minuto. Il sensore è sterile e monouso in quanto può essere utilizzato per 5 giorni durante i quali fornisce una misurazione ogni minuto. Il valore attuale viene visualizzato sul display con freccia che indica la direzione del trend e la velocità media di variazione degli ultimi 15 minuti. I dati ottenuti dal sensore vengono poi inviati al monitor attraverso una trasmissione wireless.

La tecnologia Navigator ha come particolarità la possibilità di predizione delle ipo/iperglicemie, che permette di generare allarmi prima che l'evento avvenga.

L'interfaccia della ricevente permette che la soglia degli allarmi sia regolata a livelli differenti di glucosio. Gli allarmi proiettati avvertono l'utente quando un valore di glucosio estrapolato è previsto attraversi la soglia di iperglicemia o di ipoglicemia. L'utente può selezionare la sensibilità degli allarmi proiettati con un tempo di previsione di 10, 20, o 30

min. La predizione utilizzata dalla Abbott è di tipo lineare: sfrutta una finestra di campioni precedenti per ottenere un'estrapolazione lineare.

Il ricevitore contiene inoltre un SMBG incorporato per la calibrazione del sensore di monitoraggio del glucosio. Il sensore richiede quattro calibrazioni durante i 5 giorni: dopo 10, 12, 24 e 72 ore dopo l'inserimento del sensore. I valori di calibrazione sono accettati in ingresso quando sono compresi tra 60-300 mg/dl e quando la velocità assoluta di variazione del glucosio determinato dal sensore è compreso tra -2 e 2 mg/dl/min. Il sistema non visualizza il valore corrente di glucosio fino a che non viene fatta la prima calibrazione. Prima di ciò, la velocità di variazione viene determinata tramite la misurazione grezza di corrente calibrata in vitro; quindi, prima dell'utilizzo del dispositivo è necessario aspettare 10 ore.

Per valutare l'accuratezza del FreeStyle Navigator, in uno studio di Weinstein [30], si è effettuato uno studio di 5 giorni su 58 diabeti di tipo I, con età compresa tra 18-64. Ogni soggetto ha portato simultaneamente due sensori. Le misure dal sistema FreeStyle Navigator sono state raccolte ad intervalli di 1 minuto e sono state confrontate con le misure venose prese ogni 15 minuti per 50 h durante il periodo di cinque giorni di usura del sensore in un centro di ricerca clinico. Le misure ottenute con il sistema FreeStyle Navigator sono risultate consistenti ed accurate rispetto alle misure venose ottenute in laboratorio, considerate come riferimento, per tutti i 5 giorni. Utilizzando la Error Grid Analysis [18] il 98.3% delle misure era nelle zone accettabili (zone A e B), di cui 82.5% nella zona di A il giorno 1 e 80.9% il giorno 5).

Sempre nel 2006 la DirecNet ha compiuto studi di monitoraggio continuo su 30 bambini di età media 11.2 ± 4.1 anni rilevando che l'accuratezza del FreeStyle Navigator non si avvicina ancora a quella dei tester domestici, ma può essere un aiuto importante al trattamento di giovani pazienti afflitti da diabete di tipo 1 [34].

1.4 Pregi e limiti dei sistemi CGM

I sensori per il monitoraggio continuo del glucosio hanno il grande vantaggio di poter dare al medico ed al paziente tutte le informazioni complete riguardo al profilo glicemico. Ciò permette non solo di avere una panoramica completa sulle condizioni fisiologiche del paziente, utile per l'aggiustamento della dieta e della terapia, ma, in molti dispositivi, anche di avere informazioni locali quali il valore glicemico in real-time e la direzione del trend. Grazie

alla portabilità dello strumento, il paziente, elaborando tali informazioni, diventa così più autonomo e in grado di gestire al meglio sia la terapia che eventuali eventi critici che potrebbero presentarsi. Questo però richiede un'adeguata preparazione da parte del paziente riguardo non solo il metodo di utilizzo del dispositivo ma anche la fisiologia. In ogni caso, nonostante il livello di preparazione del paziente, nessuno dei dispositivi CGM attualmente in commercio è stato approvato per la gestione autonoma della terapia; infatti, è sempre necessario, prima di ogni scelta decisionale suggerita dai dati CGM, fare un test SMBG in quanto l'accuratezza dei CGM non ha ancora raggiunto il livello di accuratezza dei SMBG. Andando ad analizzare più da vicino i problemi legati all'accuratezza, si osserva che spesso i sensori sono meno accurati in ipoglicemia e molto sensibili ad eventuali situazioni critiche dello strumento; ad esempio, nel GlucoDay® può accadere che, a causa di movimenti del paziente, avvenga la strozzatura della microfibra provocando nel tracciato uno *spike* che potrebbe segnalare un errato evento di iperglicemia. Inoltre i sensori, essendo perennemente a contatto con fluidi biologici, vanno incontro a degrado, e richiedono così la sostituzione entro 2 o 5 giorni di utilizzo. In questi ultimi mesi è stato approvato dalla FDA un dispositivo della DexCom, STS-7, in grado di funzionare per un periodo più lungo, attestato attorno ai 7 giorni. In ogni caso, il continuo degrado del sensore procede gradualmente ma ininterrottamente, per cui se non viene effettuata la calibrazione di frequente, i valori misurati dal sensore potrebbero non coincidere con quelli reali. Questi problemi di accuratezza sono stati affrontati in molti studi e riportati in numerosi articoli. Inoltre c'è da considerare il problema del ritardo strumentale, che aumenta quando il dispositivo CGM ha un sensore che porta il fluido interstiziale in un luogo extracorporeo. Ad esempio, il ritardo risulta molto più elevato nel caso di GlucoDay, dove il glucosio deve scorrere lungo tutta la fibra e quindi introduce un ritardo superiore rispetto alle altre tecnologie utilizzati per CGM. Il ritardo strumentale è stato spesso trascurato durante i confronti fra livello di glucosio nel sangue e nell'interstizio, provocando errate interpretazioni fisiologiche, che verranno discusse nel prossimo capitolo.

Infine, esiste il problema già accennato in precedenza sulle irritazioni cutanee che si verificano soprattutto nel GlucoWatch.

1.5 Il Pancreas Artificiale

L'avvento dei sensori CGM ha consentito la realizzazione dei primi dispositivi di Pancreas Artificiale. Il Pancreas Artificiale è una tecnologia che si prefigge come scopo quello di fornire a pazienti diabetici (diabete di tipo I) un dispositivo che mantenga automaticamente il livello della glicemia entro valori fisiologici: tale dispositivo deve, dunque, supplire alla funzione endocrina del pancreas.

Una rappresentazione schematica di un pancreas artificiale è riportata in Fig.1.4. Come si può notare, esso è costituito principalmente da:

- Un sensore CGM
- Una pompa per l'insulina
- Un algoritmo di controllo

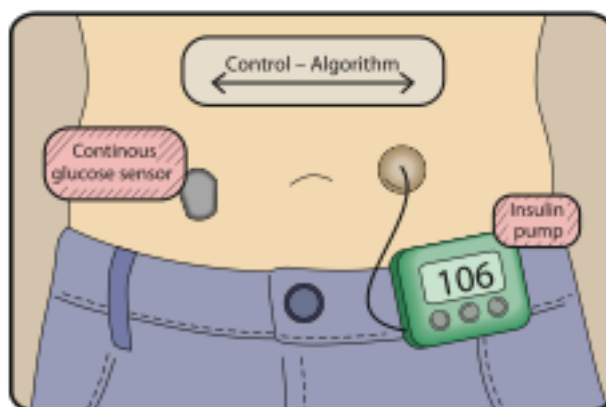


Figura 1.4 Pancreas Artificiale

L'algoritmo di controllo in catena chiusa comanda la pompa indicando l'esatta quantità di insulina da infondere e l'esatto istante in cui farlo. Per fare tutto ciò, l'algoritmo si basa sulle misure in tempo reale della glicemia ottenute dal sensore CGM. Risulta immediato comprendere l'importanza del ruolo del sensore del glucosio e dell'accuratezza delle sue misurazioni. Infatti, un sensore poco accurato, ovvero che sovrastima o sottostima il livello di glicemia, porta un'informazione non corretta all'algoritmo di controllo, il quale, a sua volta, calcolerà e suggerirà un dosaggio di insulina non ottimale. I principali motivi per cui i sensori CGM, talvolta, possono essere poco accurati sono essenzialmente legati a due fattori:

- Il ritardo di diffusione che lega la concentrazione plasmatica con quella interstiziale;

- La non corretta comparazione tra queste concentrazioni, che comporta un errore di calibrazione.

Nel paragrafo successivo verranno descritti in maggior dettaglio questi due aspetti.

[3], [6], [14].

1.6 Problemi aperti e scopo della tesi

1.6.1 Problemi legati all'interpretazione fisiologica

I sensori CGM minimamente-invasivi misurano la concentrazione di glucosio a livello interstiziale piuttosto che nel sangue per limitare l'invasività. Si suppone dalla fisiologia che le molecole di glucosio si diffondano dai capillari all'interstizio per poi penetrare nelle cellule. Questa diffusione è spesso stata ipotizzata costante, senza una significativa variazione di gradiente [22]. Perciò, quando si verificano lenti cambiamenti di glucosio (0.5/1 mg/dl al minuto), la relazione sangue-interstizio risulta costante nel tempo. È quindi intuitivo supporre che la concentrazione di glucosio nell'interstizio sia pari a quella misurata nel sangue, con un piccolo ritardo costante dovuto alla diffusione. Per tale motivo è ragionevole pensare che non ci sia una considerevole differenza, a meno del ritardo, tra la misurazione nel sangue effettuata con i SMBG e le misurazioni interstiziali eseguite dai CGM, e che sia sufficiente calibrare il sensore tramite una o più misurazione nel sangue confrontando direttamente i due valori. Tuttavia, tale confronto diretto conduce a vistosi errori di calibrazione.

1.6.2 Errore di Calibrazione

L'errore di calibrazione del sensore, come verrà esaurientemente spiegato nel capitolo successivo, dipende appunto dalla differente dinamica della glicemia nel plasma e nel liquido interstiziale. Il sensore misura una corrente, che corrisponde ad un valore glicemico incognito. Il processo di calibrazione consiste appunto nell'indicare al sensore quale livello di glicemia corrisponde alla corrente che sta misurando. Nell'impossibilità di conoscere il valore della

glicemia nel liquido interstiziale, è necessario compiere una misurazione della concentrazione del glucosio nel sangue ed assegnare tale valore al valore misurato dal sensore.

L'errore di calibrazione dipende da quanto i valori della glicemia nel sangue e nell'interstizio differiscono nell'istante di calibrazione. Questa differenza è molto piccola se ci si trova in prossimità di condizioni di stazionarietà, ma diventa non trascurabile quando la dinamica è ben presente, per esempio durante fronti di salita o discesa. Inoltre, si dimostrerà che tale errore ha una natura di tipo tempo-variante ed una sua dinamica.

1.6.3 Scopi della tesi

Lo scopo di questo lavoro di tesi consiste nel capire come si comporta questo errore di calibrazione e di descriverlo attraverso un modello. Una volta modellato l'errore, il passo successivo sarà quello di realizzare un simulatore che, sfruttando il modello, sia in grado di generare andamenti temporali di errori di calibrazione simili a quelli esaminati.

CAPITOLO 2

Misura del segnale CGM e problematiche di calibrazione

La descrizione del metabolismo del glucosio si basa sulla concentrazione di quest'ultimo nel sangue. I sistemi di misurazione CGM basati su dispositivi minimamente invasivi misurano la glicemia nel liquido interstiziale. Risulta facilmente comprensibile l'importanza della descrizione del modo in cui queste due grandezze sono correlate al fine di stabilire se le misure ottenute da dispositivi CGM possano, a tutti gli effetti, sostituire le misure plasmatiche.

Nei paragrafi successivi saranno presentati i risultati di alcuni studi, presenti in letteratura, in cui è stata analizzata e descritta la relazione tra la concentrazione di glucosio nel sangue e nel liquido interstiziale.

2.1 Differenza fra misure plasmatiche e misure CGM

Un primo passo nell'utilizzo di dispositivi minimamente invasivi per la misurazione CGM, consiste nello stabilire con quali attenzioni le misure da essi ottenute possano sostituire, nella terapia del diabete, i riferimenti plasmatici.

Innanzitutto, è necessario considerare l'ambiente in cui avviene la misurazione: usualmente, l'ago del sensore viene posizionato a contatto con il liquido interstiziale, tra il letto capillare ed i tessuti utilizzatori di glucosio (Fig. 2.1 tratta da [26]).

Il glucosio si muove per diffusione dal plasma verso i tessuti attraverso la parete del capillare. La diffusione del glucosio è resa possibile dalla presenza di un gradiente di concentrazione tra il plasma nel vaso ed il liquido interstiziale.

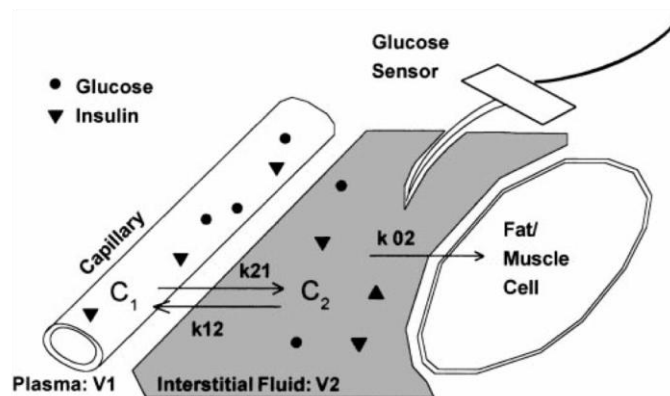


Figura 2.1 Flussi del glucosio attraverso il liquido interstiziale

Poiché la misurazione della glicemia da parte del dispositivo CGM non avviene direttamente nel plasma ma nel fluido interstiziale, è necessario investigare le possibili differenze di concentrazione di glicemia nei due siti. Nei paragrafi successivi sarà descritto nel dettaglio il modello utilizzato per caratterizzare la relazione tra glucosio plasmatico (blood glucose – BG) e glucosio interstiziale (interstitial glucose – IG).

2.2 Modello della cinetica plasma-interstizio

Per descrivere gli scambi di glucosio che intercorrono tra plasma e liquido interstiziale, è stato sviluppato un modello bi-compartimentale lineare tempo-invariante. I modelli compartimentali sono la classe di modelli strutturali maggiormente utilizzata per la descrizione di sistemi endocrino-metabolici. Tali modelli sono costituiti da un numero finito di variabili del tempo legate tra loro da equazioni differenziali ordinarie; queste equazioni vengono rappresentate graficamente attraverso un numero finito di compartimenti, intesi come un insieme di materia che per l'organismo si comporta in modo omogeneo, interconnessi tra di loro secondo delle specifiche modalità. Le connessioni rappresentano flussi di materia tra i compartimenti e possono descrivere un trasposto di sostanza da un sito ad un altro [28].

2.2.1 Descrizione del modello

Per descrivere la dinamica del glucosio nei vari tessuti sono stati spesso proposti modelli compartimentali di ordine elevato; nel caso della caratterizzazione del sito di misura CGM si è ritenuto sufficiente utilizzare un modello bi-compartimentale (Fig. 2.2). In questo modello, proposto per la prima volta da [28], i compartimenti rappresentano uno il plasma, l'altro l'interstizio separati dalla barriera capillare.

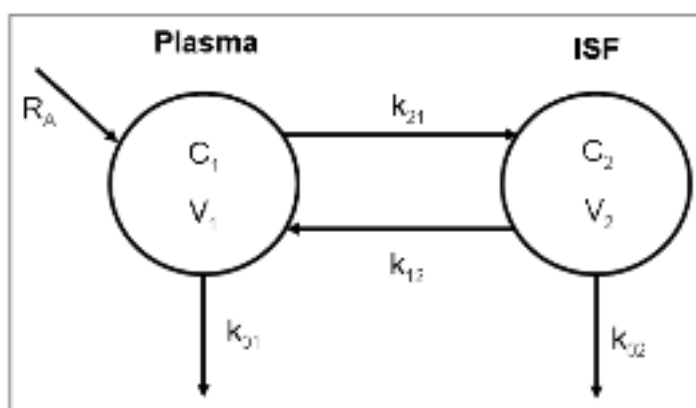


Figura 2.2 Modello bi-compartimentale degli scambi tra plasma (compartimento 1) e liquido interstiziale (compartimento 2).

Il compartimento 1 rappresenta il glucosio plasmatico BG (con concentrazione C_1 e volume V_1) mentre il compartimento 2 il glucosio interstiziale IG (con concentrazione C_2 e volume V_2). Il flusso di glucosio attraverso la barriera capillare è descritto dalle velocità di diffusione k_{21} , k_{12} , mentre la velocità di assorbimento del glucosio da parte delle cellule interstiziali è indicata con k_{02} . R_a (Rate of Appearance) rappresenta la velocità di comparsa del glucosio nel sangue e k_{01} indica la velocità di scomparsa del glucosio verso tutte le zone che non sono quella interstiziale. Dato che quest'ultimo flusso ha grandezza trascurabile rispetto agli altri, sarà considerato nullo d'ora in avanti. L'assorbimento dei tessuti sarà proporzionale alla concentrazione del glucosio interstiziale ed il coefficiente di diffusione sarà pari a :

$$D = k_{21} \cdot V_1 = k_{12} \cdot V_2 \quad (2.1)$$

L'equazione differenziale che descrive la relazione fra plasma ed interstizio è:

$$\frac{dC_2(t)}{dt} = -(k_{02} + k_{12})C_2(t) + k_{21} \frac{V_1}{V_2} C_1(t) \quad (2.2)$$

Il modello è ipotizzato tempo invariante (k_{02}, k_{12}, k_{21} costanti nel tempo) nonostante alcuni studi sostengano la tempo-varianza dei parametri [22].

In stato stazionario, non essendoci variazioni di massa, si ha $\frac{dC_2(t)}{dt} = 0$; l'equazione diventa quindi:

$$0 = -(k_{12} + k_{21}) \cdot C_2(t) + k_{21} \cdot \frac{V_1}{V_2} \cdot C_1(t) \quad (2.3)$$

Da ciò si ottiene la formulazione del gradiente di concentrazione definito come $g = \frac{C_1}{C_2}$ ottenendo:

$$C_2 = \frac{k_{21} \cdot \frac{V_1}{V_2}}{k_{12} + k_{02}} \cdot C_1 \quad (2.4)$$

Nell'ipotesi in cui l'assorbimento del glucosio da parte delle cellule interstiziali fosse nullo, allora le due concentrazioni coinciderebbero e g sarebbe uguale a 1.

Ciò significa che il gradiente dal plasma verso l'interstizio (o guadagno di sistema) è pari a 1 e la deviazione tra C_1 e C_2 esiste soltanto durante un cambiamento transitorio del glucosio. Se esiste una consistente eliminazione del glucosio dall'interstizio, il gradiente sarà diverso da 1. Tuttavia, è da considerare che, quando il segnale del sensore viene calibrato sul valore di glucosio nel sangue, viene imposto l'uguaglianza tra i due compartimenti $C_1 = C_2$ nel punto in cui viene fatta la calibrazione. Se il gradiente rimane costante, qualsiasi variazione di glucosio nel sangue riporterà poi, in stato stazionario, l'uguaglianza; se invece si verifica nel nuovo stato stazionario una divergenza tra il valore di glicemia misurato invasivamente ed il segnale misurato dal sensore, ciò potrebbe essere dovuto a :

- variazione di sensibilità del sensore, che potrebbe far pensare ad una variazione del gradiente;
- incremento dell'assorbimento da parte del tessuto k_{02} , che porta ad un aumento del gradiente (spiega il fenomeno *push – pull*);
- variazione della relazione $k_{21} \cdot V_1 \neq k_{12} \cdot V_2$ a causa di un'alterazione della barriera capillare che anch'essa modifica il gradiente.

Tempo di risposta

Nell'ipotesi di k_{02} costante, se c'è una variazione del glucosio C_1 nel sangue causato da acquisizione di zuccheri o da incremento dell'insulina, il sistema richiederà un tempo di risposta per raggiungere lo stato stazionario C_2 nell'interstizio (Fig. 2.3); questo tempo di comparsa nell'interstizio viene considerato un tempo di ritardo τ , definito come il tempo richiesto dal sistema per portare il glucosio interstiziale al 63% del nuovo stato stazionario.

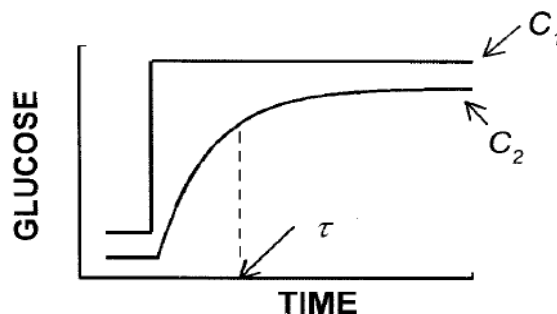


Figura 2.3 Tempo di risposta modello bi-compartimentale.

La comparsa del glucosio nell'interstizio è data dall'integrale di convoluzione:

$$C_2(t) = \int_{-\infty}^t h(t) \cdot C_1(t) \quad (2.5)$$

Dove $h(t)$ è la risposta impulsiva del sistema:

$$h(t) = k_{21} \cdot \frac{V_1}{V_2} \cdot e^{-\frac{t}{1/(k_{12}+k_{21})}} \quad (2.6)$$

La costante di tempo τ è dunque pari a:

$$\tau = \frac{1}{k_{12} + k_{02}} \quad (2.7)$$

Di conseguenza dipende anch'esso sia dalla diffusione che dall'assorbimento: un aumento della velocità di assorbimento e/o di diffusione, induce una diminuzione del ritardo. Se entrambe le variabili restano costanti, anche il ritardo rimane costante per ogni variazione di stato stazionario. In questa tesi si è supposto che le variabili siano costanti, in quanto, come già visto nella letteratura esposta nei paragrafi precedenti, le ipotesi sulla dipendenza di queste variabili da altri fattori (es. insulina) non sono state tuttora verificate.

Identificabilità a priori

A causa della non identificabilità a priori del modello (2.2), è necessario riparametrizzare l'equazione differenziale (2.2) dalle equazioni (2.4) e (2.7) ottenendo:

$$\frac{dC_2(t)}{dt} = -\frac{1}{\tau} C_2(t) + \frac{g}{\tau} C_1(t) \quad (2.8)$$

Da cui è possibile ottenere la funzione di trasferimento tramite trasformata di Laplace:

$$C_2(s) = H(s) \cdot C_1(s) \quad H(s) = \frac{g/\tau}{s + 1/\tau} \quad (2.9)$$

Che, nel dominio del tempo, diventa:

$$C_2(t) = h(t) * C_1(t) \quad h(t) = \frac{g}{\tau} \cdot e^{-t/\tau} \quad (2.10)$$

In diversi articoli di Rebrin e Steil viene, inoltre, considerata la sensitività del sensore; essendo il segnale amperometrico, ottenuto dal sensore, proporzionale alla concentrazione del glucosio nell'interstizio:

$$I_{sig}(t) = \alpha \cdot C_2(t) \quad (2.11)$$

Dove α è la sensitività intrinseca del sensore, il modello (2.8) viene sovente sostituito da :

$$\frac{dI_{sig}(t)}{dt} = -\frac{1}{\tau} \cdot I_{sig}(t) + \frac{g \cdot \alpha}{\tau} C_1(t) \quad (2.12)$$

Quest'ultimo modello (2.12), non è identificabile, ma necessita di una ulteriore riparametrizzazione $p = g \cdot \alpha$ che non permette singolarmente l'identificazione del gradiente o della sensitività, ma solamente quella del loro prodotto, che fornisce la sensitività apparente [26].

2.3 Fattori di distorsione sulla misurazione CGM

Come è stato descritto precedentemente, le misure fornite da dispositivi CGM sono affette da diverse problematiche dovute a molteplici fattori; risulta chiara l'importanza di compensare tali distorsioni o, quantomeno, di tenerne conto in fase di analisi ed elaborazione dei dati forniti dai sensori per fare in modo che le misure ottenute possano essere considerate attendibili e, di conseguenza, essere utilizzate con successo nella scelta di una opportuna terapia diabetica.

Il primo problema deriva, come già anticipato, dal fatto che il sensore effettui la misura in un sito, l'interstizio, differente dal plasma. Questo comporta un ritardo costante tra la concentrazione plasmatica BG e la concentrazione interstiziale IG dovuto ad un gradiente di concentrazione che permette la diffusione del glucosio. Tale ritardo dipende, chiaramente,

anche dai sensori utilizzati (maggiore nel caso di sensori a microdialisi) e può variare da 0 a 45 minuti.

Alcuni studi, tuttavia, hanno dimostrato che il ritardo fra plasma ed interstizio non risulta costante, bensì varia a seconda dell'andamento della glicemia. In particolare è stato riscontrato che durante un incremento della glicemia, un sensore CGM presenta un ritardo che varia tra 5 – 10 minuti; al contrario, nei fronti di discesa della glicemia, viene misurato un certo anticipo da parte del segnale fornito dal sensore. Questo è spiegato dal fenomeno di *push – pull*: durante un fronte di discesa, l'insulina stimola l'assorbimento del glucosio da parte delle cellule, inducendo quindi una diminuzione della glicemia che si nota prima nell'interstizio che non nel plasma. Durante un fronte di salita, al contrario, l'incremento della glicemia si avverte prima nel plasma - a causa di un pasto o di una produzione epatica di glucosio- e quindi l'interstizio segue l'andamento della glicemia plasmatica con un certo ritardo.

In uno studio di Boyne et al., [2] tuttavia, è stato dimostrato che l'andamento glicemico plasmatico anticipa quello interstiziale nell'88% dei fronti di salita e nel 75% dei fronti di discesa, inoltre i picchi ed i nadir plasmatici precedono quelli interstiziali nel 71% e nel 94% dei casi. Questi studi hanno dimostrato che l'insulina non influenzi il ritardo fra glicemia plasmatica e interstiziale al contrario di quanto si affermava nel lavoro di Wentholt [32].

Probabilmente, questi risultati contrastanti sono dovuti al fatto che, nei diversi studi, le misurazioni glicemiche sono state eseguite in siti differenti: se il sensore viene inserito in un tessuto insulino-dipendente allora si osservano dei ritardi e degli anticipi nei fronti di salita e discesa rispettivamente; se, al contrario, il tessuto è insulino-indipendente, allora non si osserva alcuna differenza sostanziale tra l'andamento della glicemia plasmatica e quella interstiziale.

Altri tipi di ritardo si sommano a quello dovuto alla dinamica plasma – interstizio, ad esempio quello dovuto ad operazioni di filtraggio che si effettuano sul segnale dopo la misurazione per eliminare il rumore di misura [25], ed il ritardo intrinseco della tecnologia del sensore utilizzato.

Come già anticipato, un altro problema sostanziale che affligge le misurazioni fornite dai sensori CGM è l'errore di calibrazione. Questo problema verrà descritto nel dettaglio nel paragrafo successivo.

2.4 Errore di calibrazione

I sensori dei dispositivi CGM forniscono segnali elettrici che vengono successivamente calibrati su valori di glucosio nel sangue, per esempio utilizzando le misurazioni effettuate tramite SMBG.

La calibrazione avviene in presenza di coppie di misurazioni simultanee nel sangue e nell'interstizio, che vengono utilizzati per stimare la retta di regressione:

$$G_s = CF \cdot (I_s - OS) \quad (2.13)$$

Dove G_s è il valore della glicemia, CF il fattore di calibrazione, I_s la corrente misurata dal sensore e OS l'offset della corrente del sensore [25]. Questo comporta che, non potendo calibrare il segnale in vitro o sul vero valore interstiziale, ma su quello plasmatico, il ritardo o il gradiente che si andrà a stimare con la misura del sensore CGM avrà una componente di distorsione [21].

Per questo è necessario che la calibrazione avvenga in stato stazionario, in quanto si suppone che in tale condizione ci sia, fisiologicamente, l'uguaglianza di concentrazione e, quindi, ritardo nullo. In particolare, la calibrazione ad un punto potrebbe portare ad errate supposizioni riguardo al gradiente, che portano a sovrastimare il segnale di sensore in ipoglicemia e sottostimare durante iperglicemia: la calibrazione rimuove qualsiasi informazione sul gradiente tra plasma ed interstizio nel punto in cui viene effettuata; quindi, se il glucosio scende per un'infusione di insulina, il nuovo stato stazionario porterà a leggere nel sensore un valore più basso di quello letto nel sangue.

Tale differenza potrebbe essere attribuita logicamente ad un effetto dell'insulina sul gradiente, ma ciò è vero solo se non esiste effettivamente un offset di corrente, poiché altrimenti la calibrazione potrebbe generare un'apparente variazione di gradiente [29].

Inoltre, a causa della degradazione a cui il sensore va incontro col passare del tempo, si rende necessaria una ri-calibrazione frequente per escludere eventuali distorsioni o *shift* verticali [10].

2.4.1 Evoluzione temporale degli errori di calibrazione

Da quanto osservato la differenza tra la glicemia plasmatica (BG) e la misura del sensore può essere di natura transitoria, causata dalla cinetica o da artefatti del sensore, oppure persistente, causata dall'errore di calibrazione (CE) del sensore. La componente transitoria della differenza tra i valori di glicemia dei due siti di interesse è stata presentata nei paragrafi precedenti. Per quanto riguarda l'errore di calibrazione, verranno presentati di seguito i risultati di uno studio di Wilinska [33].

In questo studio, il modello dell'errore di misura del glucosio è derivato da dati sperimentali. La concentrazione di glucosio interstiziale misurata dal sensore (subcutaneous glucose – SG) è stata calcolata come:

$$SG(t) = IG(t) \cdot (1 + CE) + D(t) \quad (2.14)$$

Dove $IG(t)$ è la concentrazione *noise-free* di glucosio interstiziale calcolata attraverso il modello e normalizzata in modo che, in stato stazionario, fosse uguale a BG; CE rappresenta l'errore di calibrazione del dispositivo *FreeStyle Navigator* (FSN) e $D(t)$ rappresenta la *dropout trace*. Con il termine *dropout* si indica un artefatto del segnale a media non nulla che il sensore talvolta presenta come conseguenza di una perturbazione meccanica: il risultato di tale artefatto consiste in una momentanea attenuazione della concentrazione glicemica misurata. In questo studio, tale artefatto è stato quantificato attraverso dati sperimentali di un altro studio nel quale 58 soggetti hanno indossato due sensori in parallelo per sessioni fino a cinque giorni [30]. I valori delle letture dei due sensori sono state confrontate ogni minuto e si è calcolata la differenza puntuale. Per tener conto di un eventuale errore di calibrazione residuo, il valore di tale differenza puntuale è stato normalizzato sottraendo la media.

L'errore di calibrazione CE del *FreeStyle Navigator* è stato definito come:

$$CE = (SG - IG) / IG \quad (2.15)$$

Nello Studio di Wilinska, si assume quindi che l'errore di calibrazione rimanga costante tra due sessioni di calibrazione.

Da quanto osservato durante un'analisi preliminare di alcuni dati CGM poi utilizzati in questa tesi, tale assunzione non può essere considerata del tutto corretta. Infatti, l'errore di

calibrazione presenta una forte tempo-varianza, come illustrato in Fig. 2.4, dove viene riportata una serie temporale ottenuta come differenza puntuale tra il valore misurato dal sensore CGM (affetto da errore di calibrazione) e la concentrazione “ideale” di glicemia interstiziale che, invece, avrebbe dovuto misurare.

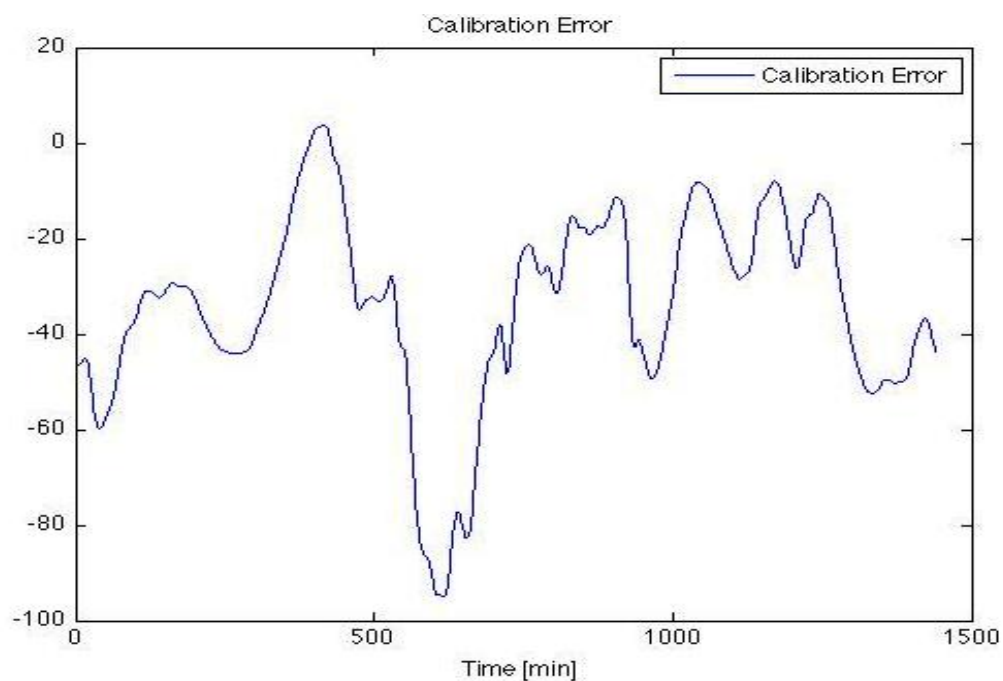


Figura 2.4 Errore di Calibrazione in una giornata di studio.

Il modo in cui è stato definito l’errore di calibrazione in questo lavoro di tesi verrà descritto nei capitoli successivi.

CAPITOLO 3

Modellistica dell'errore di calibrazione

3.1 Data base

Lo studio che ha fornito i dati clinici per questo lavoro di tesi è parte integrante di un Progetto Europeo che ha lo scopo di sviluppare un particolare strumento chiamato DIAdvisor™ in grado di aiutare i pazienti diabetici a gestire in modo migliore la terapia diabetica. Attraverso la predizione delle escursioni iperglicemiche, particolarmente importanti dopo l'assunzione di un pasto o di eventi stressanti, il DIAdvisor™ dovrebbe essere in grado di ridurre l'esposizione temporale all'iperglicemia. Il primo passo per raggiungere lo sviluppo di questo "sistema di predizione a breve termine della glicemia e di guida al trattamento della malattia" è quello di analizzare e costruire modelli delle interazioni tra insulina e glucosio assieme ad altri parametri biochimici coinvolti nel controllo glicemico. L'algoritmo finale così prodotto sarà in grado di integrare le informazioni in tempo reale fornite dalle concentrazioni misurate dei livelli glicemici e di segni vitali registrati da sensori indossabili. L'algoritmo, inoltre, comprenderà parametri

individuali come il fabbisogno insulinico o l'introito di cibo. Basandosi sulle informazioni precedentemente ottenute e su misurazioni effettuate in tempo reale, il sistema di predizione sarà in grado di identificare le reali necessità di ciascun paziente per ottenere un controllo glicemico ottimale.

3.1.1 Scopi dello studio

Scopo principale

Lo scopo dello studio è la raccolta di una ricca serie di informazioni e dati bio-clinici coinvolti direttamente o potenzialmente nel controllo glicemico del paziente diabetico. I dati acquisiti saranno successivamente centralizzati ed analizzati per la costruzione di modelli del sistema glucosio-insulina con lo scopo di identificare le relazioni tra insulina e glucosio e costruire adeguati algoritmi di controllo.

Obiettivi secondari

Un secondo obiettivo riguarda la possibilità di aumentare la conoscenza riguardo il controllo della glicemia e di conseguenza il diabete di tipo 1 e di tipo 2. La gran quantità dei dati raccolti contribuirà a conoscere le correlazioni esistenti tra le concentrazioni della glicemia ed i diversi parametri misurati (dose d'insulina, frequenza cardiaca, pressione arteriosa, attività fisica etc.).

3.1.2 Sede dello studio

Lo studio clinico, svolto nell'ambito del progetto DIAdvisor, è stato eseguito presso l'Unità Operativa di Malattie del Metabolismo dell'Azienda Ospedaliera di Padova.

3.1.3 Disegno dello studio

Questo studio è uno studio osservazionale a singolo gruppo con raccolta di dati biologici. Circa 30 pazienti saranno reclutati per partecipare allo studio. La durata dello studio è di 7 settimane al massimo (con 2 visite) per ciascun paziente con un periodo di screening e run-in fino a 4 settimane.

Il Flow Chart dello studio è presentata in Fig.3.1 .

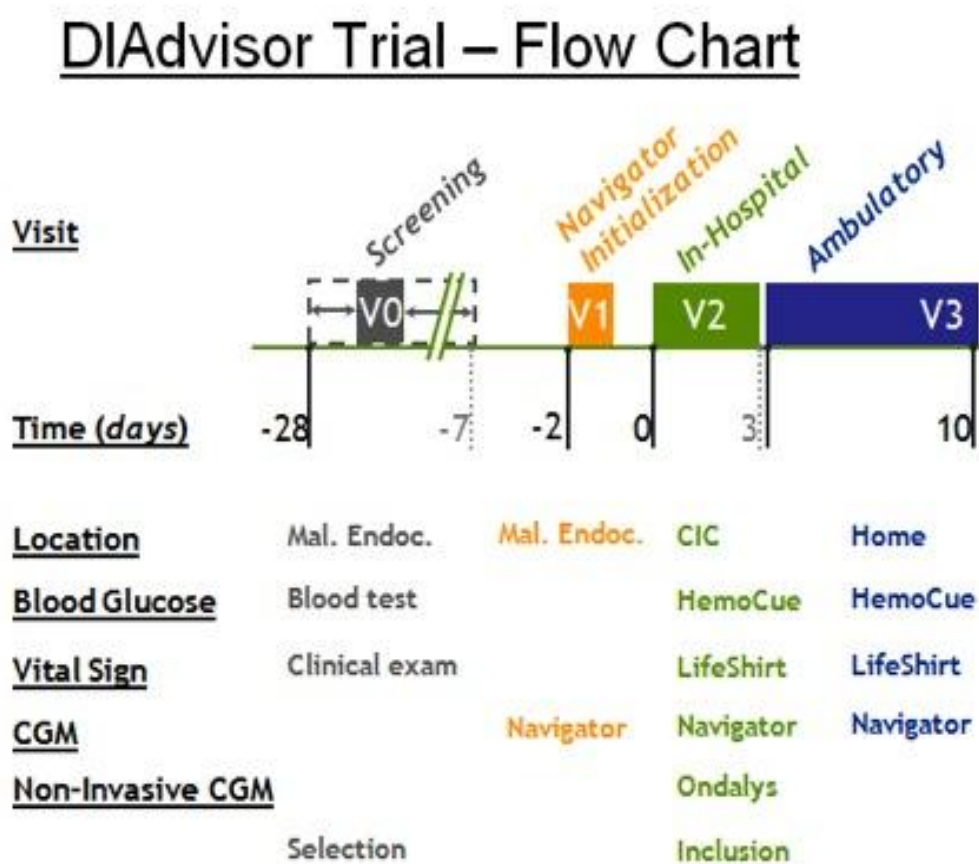


Figura 3.1 Flow-Chart dello studio

3.1.4 Protocollo di acquisizione

Per quanto riguarda questo lavoro di tesi, sono stati utilizzati i dati relativi ai tre giorni di ospedalizzazione dei pazienti.

Sono state considerate le misure plasmatiche (Blood Glucose - BG) 37 in totale in un giorno e per le quali si assume un coefficiente di variazione costante ($CV=2\%$).

Le misure ottenute dal sensore FreeStyle Navigator (CGM) 144 misure giornaliere. Il protocollo di acquisizione delle misure (Fig. 3.2) è qui riassunto:

- **BG**:
 - **Colazione** (08:00):
 - Una misura 30 minuti prima.
 - Dalle 08:00 fino alle 08:30 una misura ogni 10 minuti
 - Dalle 09:00 alle 11:00 una misura ogni 30 minuti
 - Dalle 11:00 una misura ogni ora
 - **Pranzo** (13:00):
 - Dalle 13:00 alle 15:00 una misura ogni 15 minuti
 - Dalle 15:00 alle 19:00 una misura ogni ora
 - **Cena** (19:00):
 - Dalle 19:00 alle 21:00 una misura ogni 15 minuti
 - Dalle 21:00 alle 07:00 una misura ogni 2 ore
- **CGM**:
 - Una misura ogni 10 minuti

DIAdvisor – Visit 2 : One Day sampling schedule

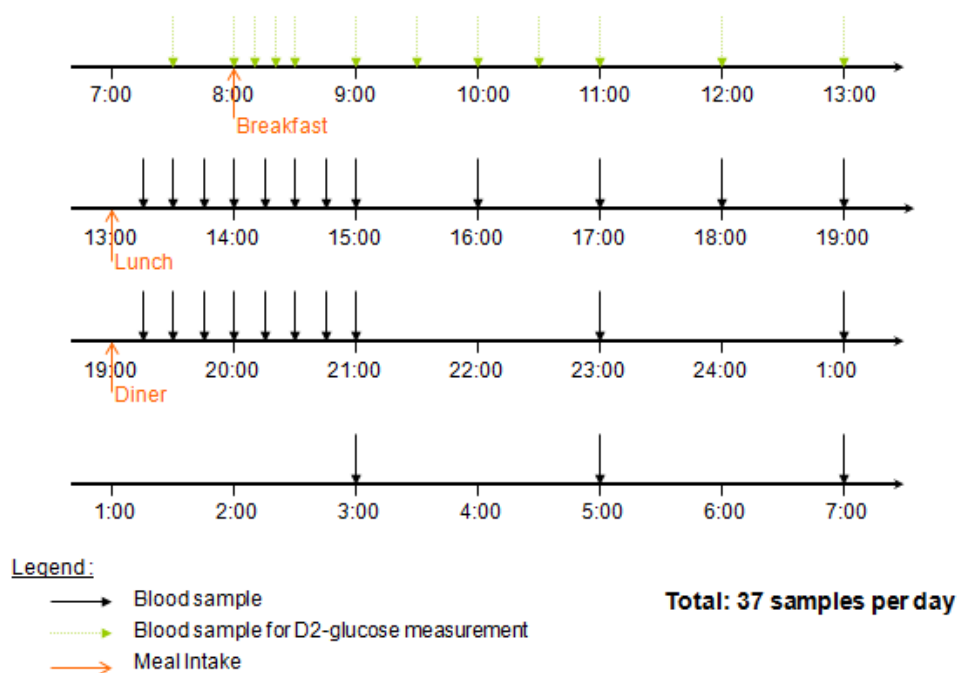


Figura 3.2 Sampling Schedule

3.2 Pre-Elaborazione

3.2.1 Smoothing Bayesiano

Ai fini dell'analisi che verrà svolta successivamente nel corso di questo capitolo, le misure (alquanto) sporadiche della glicemia plasmatica (BG) sono state sottoposte ad una operazione di ricostruzione con lo scopo di ottenere, per ogni minuto, una misura di riferimento.

Per fare ciò, è stata utilizzata una tecnica di approssimazione dei dati attraverso uno *smoothing* non parametrico detto *smoothing Bayesiano*. [24]

Brevemente, la procedura per ottenere la ricostruzione dei dati BG, laddove mancanti, è la seguente. L'ipotesi di partenza è che i valori BG, contenuti nel vettore

y , sono stati ottenuti tramite campionamento effettuato sulla griglia temporale Ω_s , non uniforme, definita nella sezione precedente. Il primo passo consiste, perciò, nel definire una griglia virtuale Ω_v , di dimensione N , che contenga quella di campionamento Ω_s di dimensione n , con $N \gg n$; tale griglia è quella sulla quale vogliamo ricostruire il segnale in analisi (cioè i dati BG). Nel nostro specifico caso, Ω_v sarà una griglia equispaziata non campionamento uniforme ad 1 minuto.

Il segnale obiettivo di questa operazione, che chiameremo $u(t)$, è stato ricavato costruendo un modello matriciale delle misure, in cui si è tenuto esplicitamente conto anche dell'incertezza sui dati mediante il termine di errore v .

Tale modello delle misure assume la forma:

$$y = Gu + v \quad (3.1)$$

dove, y e v hanno dimensione $n \times 1$, G è una matrice $n \times N$ ed u ha dimensione $N \times 1$.

G , matrice di trasferimento del sistema, è ottenuta da una matrice diagonale con valori unitari di dimensione $N \times N$ dalla quale sono state eliminate le righe corrispondenti agli istanti temporali in cui non vi è misurazione BG.

Si hanno, inoltre, delle altre informazioni, ovvero:

- $u(t)$ è un segnale di natura biologica, avrà quindi delle caratteristiche di *regolarità*;
- poiché i dati y sono rumorosi, $u(t)$ non deve onorarli, ma dovrà lasciare un *residuo*.

Ammettiamo di conoscere quanto debba valere la norma ε del vettore dei residui normalizzato. Il vettore u da trovare sarà quindi la soluzione di un problema di minimo:

$$\left\{ \begin{array}{l} \hat{u} = \arg \min_u \|Fu\|^2 \\ se : \\ \|y - G\hat{u}\|_{\Sigma_v^{-1}}^2 = \varepsilon \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} \hat{u} = \arg \min_u u^T F^T F u \\ se : \\ \|y - G\hat{u}\|_{\Sigma_v^{-1}}^2 = \varepsilon \end{array} \right. \quad (3.2)$$

dove $F = \Delta^m$, matrice quadrata $N \times N$ di Toeplitz triangolare inferiore. Nel nostro specifico caso si è utilizzato un valore $m = 2$ e, di conseguenza, prima colonna della matrice F risulterà essere pari a $[1, -2, 1, 0, \dots, 0]^T$. Fissato m , l'unico parametro incognito dell'algoritmo rimane ε . Sfruttando il metodo dei moltiplicatori di Lagrange (omesso), il problema ha la medesima soluzione di:

$$\hat{u} = \arg \min_u \left((y - Gu)^T \Sigma_v^{-1} (y - Gu) + \frac{1}{\lambda^2} u^T F^T F u \right) \quad (3.3)$$

In cui $1/\lambda^2$ è tale che $\|(y - G\hat{u})\|_{\Sigma_v^{-1}}^2 = \varepsilon$.

Il problema in analisi può essere messo in forma quadratica ed ha, quindi, soluzione in forma unica:

$$\hat{u} = \left(G^T \Sigma_v^{-1} G + \frac{1}{\lambda^2} F^T F \right)^{-1} G^T \Sigma_v^{-1} y \quad (3.4)$$

Se consideriamo $\Sigma_v = \sigma^2 B$, il problema di stima può essere riscritto come:

$$\hat{u} = \arg \min_u \left\{ (y - Gu)^T B^{-1} (y - Gu) + \frac{\sigma^2}{\lambda^2} u^T F^T F u \right\} \quad (3.5)$$

la cui risoluzione in forma chiusa è data da:

$$\hat{u} = \left(G^T B^{-1} G + \gamma F^T F \right)^{-1} G^T B^{-1} y \quad \gamma = \frac{\sigma^2}{\lambda^2} \quad (3.6)$$

A questo punto, essendo noto il valore σ^2 (varianza dell'errore di misura ricavata dalla conoscenza del coefficiente di variazione dei dati) è necessario ricercare il valore ottimale di γ , denominato γ^0 . Per fare questo si definiscono le variabili aleatorie $WRSS = (y - G\hat{u})^T B^{-1} (y - G\hat{u})$ e $WESS = \hat{u}^T F^T F \hat{u}$, dove $WRSS$ è la somma dei quadrati dei residui pesati e $WESS$ è definita come *regolarità* della stima. In ambito stocastico si calcola il valore atteso delle variabili aleatorie appena definite, supponendo $\gamma = \gamma^0$.

$$E[WRSS] = \sigma^2 \{n - q(\gamma^0)\} \quad (3.8)$$

$$E[WESS] = \lambda^2 q(\gamma^0) \quad (3.9)$$

Dove $q(\gamma^0)$ è definito come:

$$q(\gamma^0) = \text{trace} \left[G^{-1/2} G (G^T B^{-1} G + \gamma^0 F^T F)^{-1} G^T B^{-1/2} \right] \quad (3.10)$$

Per la definizione di γ^0 si ricorre ad una determinazione della consistenza attraverso il primo criterio di consistenza, in cui il parametro γ va determinato in modo che:

$$WESS(\gamma) = \lambda^2 q(\gamma) \quad \text{Con } \lambda^2 = \sigma^2 / \gamma \quad (3.11)$$

La ricerca del valore ottimo del parametro è quello che rende:

$$|WESS(\gamma) - \lambda^2 q(\gamma)| < \delta \quad (3.12)$$

in cui δ è un valore piccolo a piacere. Il calcolo viene fatto con una procedura iterativa: si assegna un valore arbitrario a γ e si calcolando la (3.12). Ad ogni iterazione si corregge il parametro.

3.3 Modellistica dell'errore di calibrazione

3.3.1 Considerazioni preliminari

A partire dai valori della concentrazione di glucosio nel plasma, ricostruiti con l'operazione di smoothing bayesiano, si è voluto calcolare quale fosse il valore glicemico previsto nell'interstizio. Per fare ciò è stato utilizzato il modello bicompartimentale presentato nel capitolo precedente (sezione 2.2.1) e riportato, di seguito, in figura (Fig. 3.3). Tramite convoluzione dei dati BG con la risposta impulsiva del modello si è ottenuta una concentrazione glicemica virtuale nel liquido interstiziale (IG).

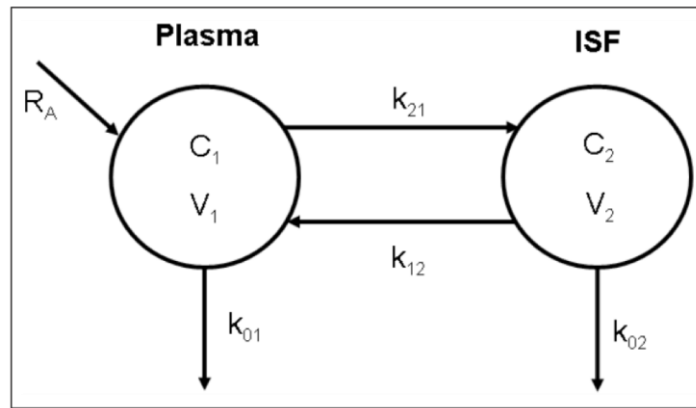


Figura 3.3 Modello bi-compartimentale della cinetica del glucosio tra Plasma (Compartmento 1) e liquido interstiziale (Compartmento 2).

La risposta impulsiva utilizzata nel calcolo ha la seguente forma:

$$H(s) = \frac{g/\tau}{s + 1/\tau} \quad (3.13)$$

Sulla base di altri studi, presenti in letteratura [10], [29], sono state fatte alcune assunzioni.

La prima riguarda il parametro g , definito come C_2/C_1 allo stato stazionario. Questa definizione ci porta a fare delle previsioni sul valore che il parametro può assumere: la fisiologia, infatti, suggerisce che g sia uguale a 1. In questo lavoro di tesi si è fatto riferimento in particolare allo studio di Facchinetti et al. [10] nel quale il parametro g è stato trattato come parametro sconosciuto ed il suo valore è stato stimato dai dati. Tale studio fornisce un valore di g pari a 0.996 (0.7), qui espresso come valor medio e coefficiente di variazione percentuale. La seconda assunzione riguarda il valore del parametro τ definito dall'equazione (3.14).

$$\tau = \frac{1}{k_{12} + k_{02}} \quad (3.14)$$

Sempre considerando lo studio di Facchinetti [10], in cui il parametro τ è stato stimato dai dati ottenendo un valore di 23.4 (2.49) minuti, espresso come media e coefficiente di variazione percentuale.

In questo modo si è ottenuta la concentrazione di glucosio che si presume esserci nell'interstizio; si è definita tale quantità IG.

Una volta ottenuto il profilo IG come output del modello (Fig 3.3), si è passati all'analisi dell'errore di calibrazione. Si è deciso di definire *errore di calibrazione* la differenza tra la misura del sensore sottocutaneo CGM e l'uscita predetta dal modello IG (Fig. 3.4). Teoricamente, tale differenza dovrebbe essere nulla poiché entrambe le grandezze dovrebbero indicare il valore glicemico nell'interstizio (a meno di eventuale errore di misura da parte del dispositivo). Assumendo che il modello utilizzato per predire la concentrazione glicemica nell'interstizio sia corretto, l'errore di calibrazione dovrebbe descrivere l'errore commesso dal sensore nel processo di misurazione dovuto ad un'errata calibrazione del sensore stesso. In realtà si sa che tale errore può contenere al suo interno diverse componenti d'errore dovute alle assunzioni che sono state fatte precedentemente, ovvero:

- Modello bi-compartimentale lineare tempo-invariante;
- Costante di tempo τ di popolazione;
- Errore nelle misurazioni BG sporadiche;
- Smoothing Bayesiano sulle misure BG;
- Errore di misura del sensore.

In figura (Fig. 3.4) sono rappresentati gli andamenti della concentrazione di glucosio nell'interstizio, misurata dal sensore (profilo rosso) e predetta dal modello (profilo blu).

In figura (Fig. 3.5) è invece rappresentato il profilo temporale dell'errore di calibrazione.

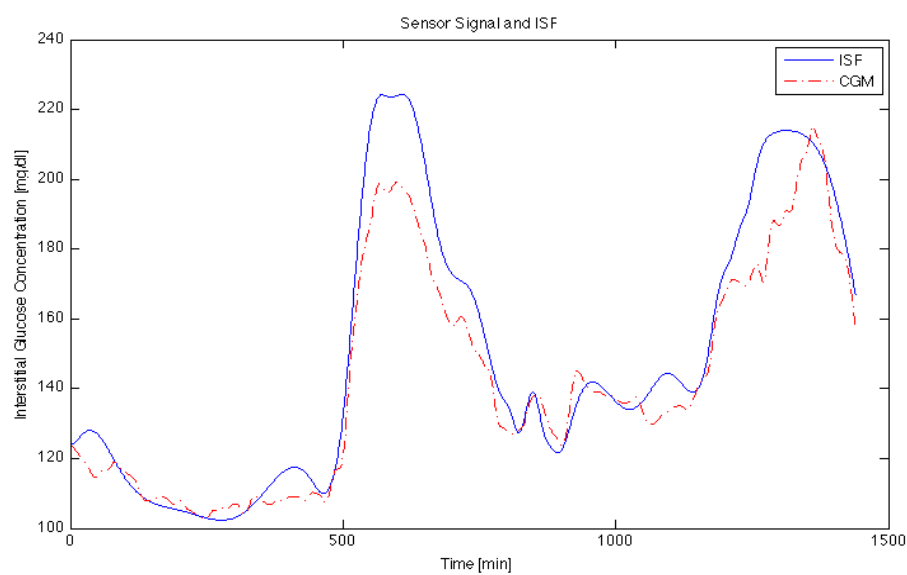


Figura 3.4 Profilo giornaliero glicemia interstiziale IG ottenuta dal modello (profilo blu) e misurata dal sensore CGM (profilo rosso)

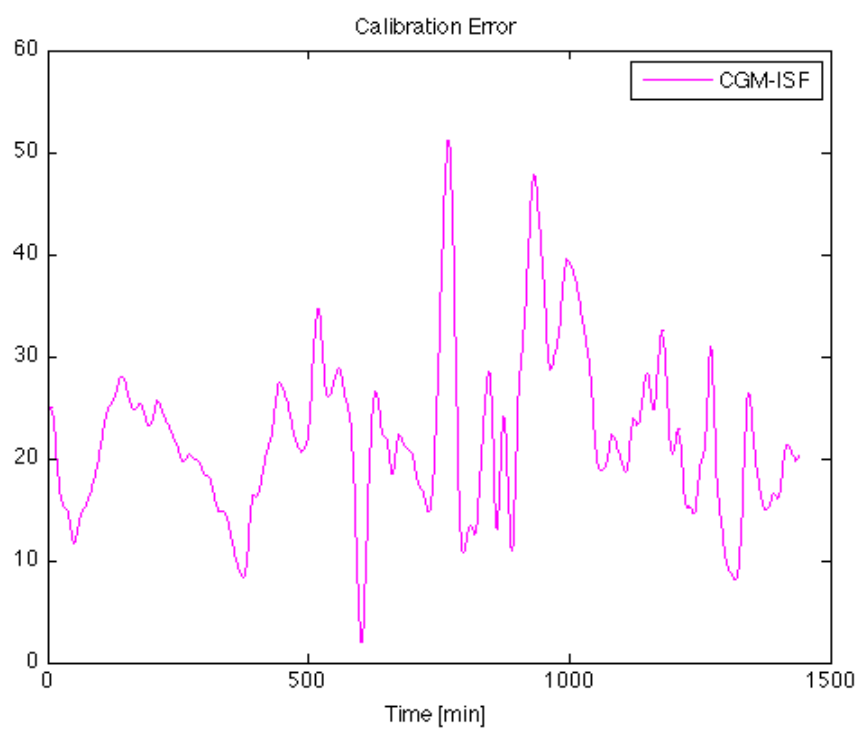


Figura 3.5 Segnale Differenza tra Misura del Sensore e Concentrazione Predetta dal modello.

3.3.2 Modello Polinomiale

Per la descrizione del segnale appena definito, si è deciso di utilizzare una tecnica di approssimazione polinomiale. Definiamo y il vettore degli n dati del segnale *Errore di Calibrazione*. Assumiamo che la funzione polinomiale approssimante, sia di natura parametrica $P(t) = P(t, a)$ di grado $(m-1)$ con $n \gg m$.

$$P(t, a) = a_1 t^{m-1} + a_2 t^{m-2} + \dots + a_{m-1} t + a_m \quad (3.16)$$

Il vettore dei parametri è:

$$a = [a_1, \dots, a_m]^T \quad (3.17)$$

Il vettore P contenente i valori della funzione approssimante $P(t_i)$ negli n tempi di campionamento t_i , è modellato come $P = Ga$, dove G è una matrice $n \times m$

$$\begin{bmatrix} P_1 \\ P_2 \\ \dots \\ \dots \\ \dots \\ \dots \\ \dots \\ P_m \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} t_1^{m-1} & t_1^{m-2} & \dots & t_1 & 1 \\ t_2^{m-1} & t_2^{m-2} & \dots & t_2 & 1 \\ t_3^{m-1} & t_3^{m-2} & \dots & t_3 & 1 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ t_n^{m-1} & t_n^{m-2} & \dots & t_n & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ \dots \\ a_{m-1} \\ a_m \end{bmatrix} \quad (3.18)$$

Tale sistema risulta sovra-determinato, ovvero, contiene più equazioni indipendenti che incognite, il che rende impossibile trovare alcun vettore $\hat{a}$ tale che $y = G\hat{a}$. Per determinare $\hat{a}$ minimizziamo la norma del vettore degli scarti. Misurando la standard deviation del segnale da approssimare, possiamo ricavare la matrice quadrata Σ_y di covarianza dei dati ed utilizzare uno stimatore ai minimi quadrati pesati:

$$\hat{a} = \arg \min_a \|y - Ga\|^2 = \arg \min_a (y - Ga)^T \Sigma_y^{-1} (y - Ga) \quad (3.19)$$

Il problema ha soluzione in forma esplicita:

$$\hat{a} = (G^T \Sigma_v^{-1} G)^{-1} G^T \Sigma_v^{-1} y \quad (3.20)$$

In tal modo è possibile ottenere i coefficienti di un polinomio di grado m che approssimi il segnale errore di calibrazione.

3.3.3 Scelta del grado del Polinomio

Nella scelta del grado del polinomio con cui descrivere l'andamento del segnale in analisi, si è fatto ricorso al criterio di parsimonia di Akaike (Akaike Information Criterion- AIC). Tale criterio permette di valutare l'ordine ottimo di un modello considerando la capacità del modello di descrivere i dati (somma dei residui quadrati) e la complessità del modello stesso (nel nostro caso, il grado del polinomio). Si considera ottimo, il più piccolo ordine per cui si abbia un buon compromesso tra questi due aspetti. La formulazione classica del criterio AIC è la seguente:

$$AIC = 2m + n \log(WRSS) \quad (3.21)$$

dove d è il numero dei parametri ed n il numero dei dati e WRSS (Weighted Residual Sum of Squares) è la somma dei residui pesati.

Nel nostro caso, essendo $N \gg m$, è stata utilizzata la seguente formulazione modificata:

$$AIC = \log \left(WRSS \left(1 + \frac{2m}{n} \right) \right) \quad (3.22)$$

Dato l'elevato numero dei dati e quello piccolo dei parametri, risulta difficile identificare un valore minimo di AIC, in quanto un incremento dell'ordine della funzione approssimante, ovvero un parametro in più, determina una piccola variazione nel coefficiente di Akaike. Per la scelta dell'ordine migliore ci si è basati su un'analisi visiva dei grafici del valore di AIC , tracciati rispetto al grado del polinomio: è stato identificato come ottimo l'ordine successivo a quello per cui si osservava una consistente riduzione del valore di AIC (Fig. 3.6). Nella tabella (Tab.

3.1) sono rappresentati i valori dell'ordine del polinomio approssimante, ottenuti secondo la procedura appena descritta per 15 soggetti nel secondo e terzo giorno di studio (scelta motivata esaustivamente nel capitolo successivo, nella sezione 4.1.1). Inoltre, è stata analizzata la frequenza di occorrenza dei vari ordini del polinomio: i risultati di tali analisi sono riportati nell'istogramma in figura (Fig.3.7).

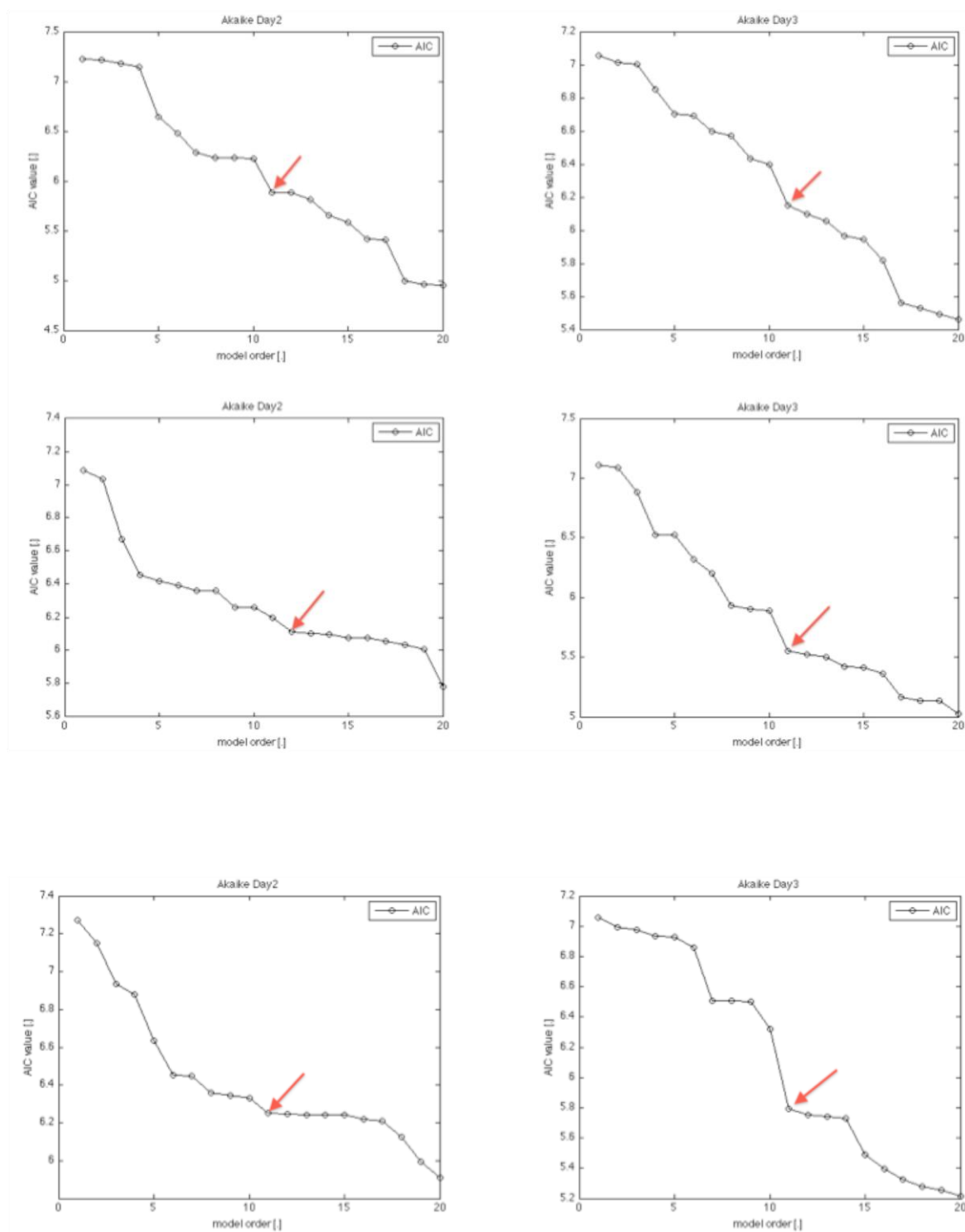


Figura 3.6 Plot valori di Akaike relativi ai diversi ordini polinomiali

Subject	Day 2	Day 3
SS0101	16	11
SS0102	16	14
SS0103	18	15
SS0104	14	13
SS0105	19	9
SS0106	16	13
SS0107	15	15
SS0108	13	14
SS0111	15	14
SS0115	11	14
SS0118	13	13
SS0119	14	16
SS0120	10	8
SS0121	16	16
SS0128	11	13

Tabella 3.1 Ordini ottimi per il polinomiale per i 15 soggetti selezionati nel secondo e terzo giorno di studio.

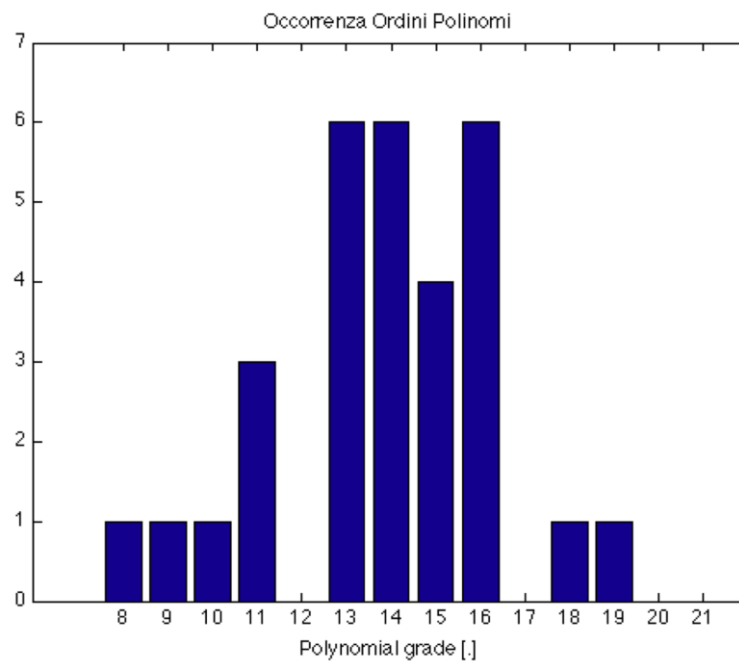


Figura 3.7 Istogramma della frequenza di occorrenza dei diversi ordini

CAPITOLO 4

Identificazione del modello dell'errore di calibrazione

4.1 Introduzione

Le misure ottenute dal sensore CGM, acquisite con un periodo di campionamento di 10 minuti, sono state interpolate per ottenere una misura ogni minuto (1440 misure giornaliere). Inoltre, è importante evidenziare che il FreeStyle Navigator esegue un'operazione di pre-filtraggio on board sui dati. Ogni filtro introduce intrinsecamente un ritardo nelle misurazioni. Poiché, però, il tipo di filtro utilizzato non è noto, non si è potuto quantificare e tenere in considerazione questo ritardo aggiuntivo.

Le misure ottenute attraverso campionamento plasmatico, dato il loro numero ridotto, sono state sottoposte ad una operazione di smoothing Bayesiano (descritto nel capitolo precedente nella sezione 3.2.2). In tal modo è stato possibile ottenere una misura ad ogni minuto (1440 misure giornaliere).

Inizialmente, è stata effettuata una scrematura dei data set a disposizione. Infatti, tra i 30 soggetti oggetto dello studio, ci si è limitati ad analizzarne 15, ovvero quelli per i quali si disponeva del set di dati completo.

Di tutto il protocollo di analisi si è preso in considerazione solo il periodo dei 3 giorni in cui il soggetto è stato tenuto in osservazione presso la clinica ospedaliera. Di questi tre giorni di studio si sono tenuti in considerazione solamente i giorni 2 e 3, poiché il primo giorno presentava un numero troppo limitato di dati.

4.2 Risultati

Come già introdotto nel capitolo precedente (paragrafo 3.4), si è deciso di adottare un approccio polinomiale per la descrizione dell'errore di calibrazione, definito come la differenza tra la misura del sensore CGM e la concentrazione di glucosio nel liquido interstiziale IG predetta dal modello della cinetica del glucosio plasma-interstizio (paragrafo 3.3).

Per la scelta dell'ordine del polinomio con cui approssimare i dati, ci si è affidati al criterio di parsimonia di Akaike (sezione 3.4.2 del capitolo precedente). Dapprima si è andati ad indagare quale fosse il punto di minimo del valore di Akaike rispetto all'ordine del polinomio approssimante. I valori del coefficiente di Akaike, AIC (Akaike Information Criterion), sono stati calcolati per diversi ordini della funzione approssimante: in figura (Fig. 4.1) sono riportati tali valori (in ordinata) rispetto agli ordini del polinomio (in ascissa) calcolati per un soggetto rappresentativo (SS0118) selezionato tra i 15 nel secondo giorno di studio.

Da quanto osservato, si è visto che, dato l'elevato numero di dati ed il ridotto numero di parametri, non era possibile identificare distintamente un punto di minimo. Per la maggior parte dei soggetti in analisi si è osservato che il coefficiente AIC assume valori minimi per ordini del polinomio elevati (Fig. 4.1), indicativamente 50-60. In figura (Fig. 4.2) è mostrato il segnale errore di calibrazione per un soggetto rappresentativo (SS0118) nel secondo giorno di analisi, approssimato con una funzione polinomiale di ordine 50, come suggerito dal criterio di Akaike: si può facilmente osservare che, oltre a comportare fenomeni di *overfitting*, la funzione approssimante vada a descrivere componenti del segnale in

analisi che esulano dal nostro interesse. Queste componenti ad alte frequenze, dette frequenze ultradiane e descritte nello studio di Rahaghi [20], sono dovute a fluttuazioni fisiologiche nella dinamica del glucosio.

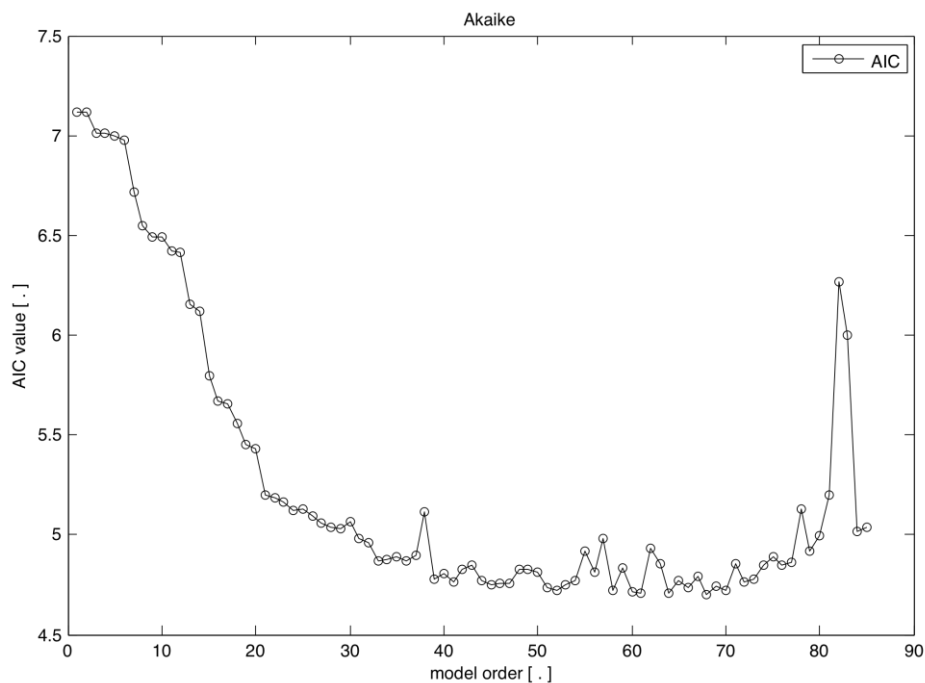


Figura 4.1 Valori del coefficiente di Akaike rispetto agli ordini del polinomio approssimante.

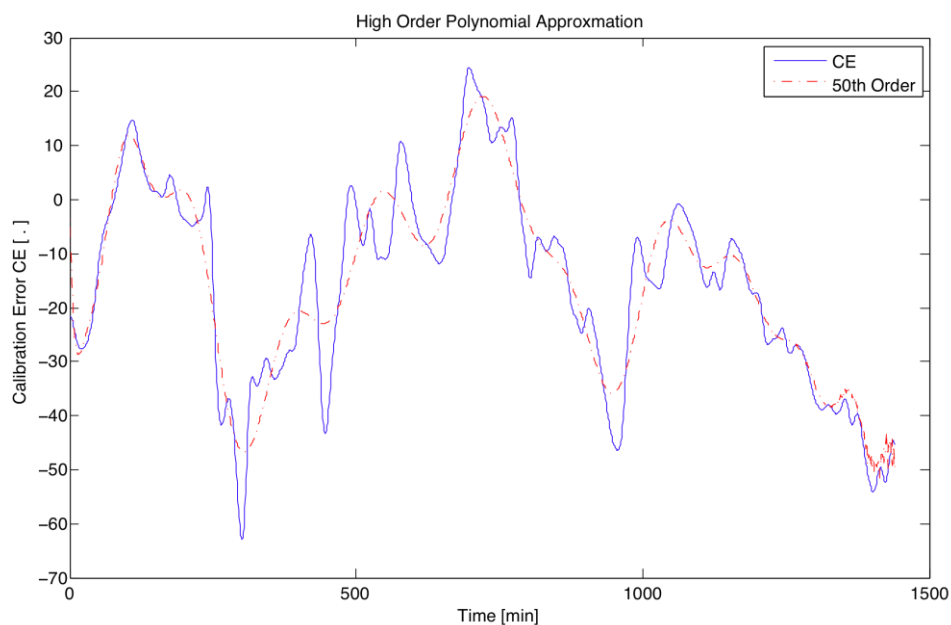


Figura 4.2 Segnale errore di calibrazione (blu) ed approssimazione con polinomio di ordine 50 (rosso).

Alla luce di queste ultime considerazioni e tenendo conto delle problematiche che l'utilizzo di un'approssimazione polinomiale di ordine alto comporta, ovvero la

comparsa di fenomeni di instabilità agli estremi dell'intervallo temporale in analisi, si è proceduto alla ricerca di un ordine adatto alle nostre esigenze.

Innanzitutto, l'ordine ricercato doveva essere tale che la funzione approssimante seguisse il *trend* temporale del segnale in analisi, ignorando le componenti dovute alle frequenze ultradiane; allo stesso tempo, non doveva comportare un eccessivo onere computazionale. Sono stati, quindi, analizzati i grafici dei valori di AIC, limitandoci ad ordini inferiori al ventesimo, e si è ricercato il primo ordine per il quale fosse possibile osservare una consistente riduzione del valore di Akaike e tale per cui un aumento dell'ordine non avrebbe comportato una ulteriore e significativa riduzione. Un esempio di tale analisi, su un soggetto rappresentativo (SS0118), è riportato in figura (Fig. 4.3): da questa figura si osserva come l'ordine indicato dalla freccia sia il più basso per il quale il valore del coefficiente AIC subisce una diminuzione consistente. Inoltre, è possibile notare che, all'aumentare dell'ordine, il valore del coefficiente di Akaike non vari di molto.

Da ciò si deduce che un modello più complesso (ordine più alto) non introduce un significativo vantaggio per lo scopo della nostra analisi.

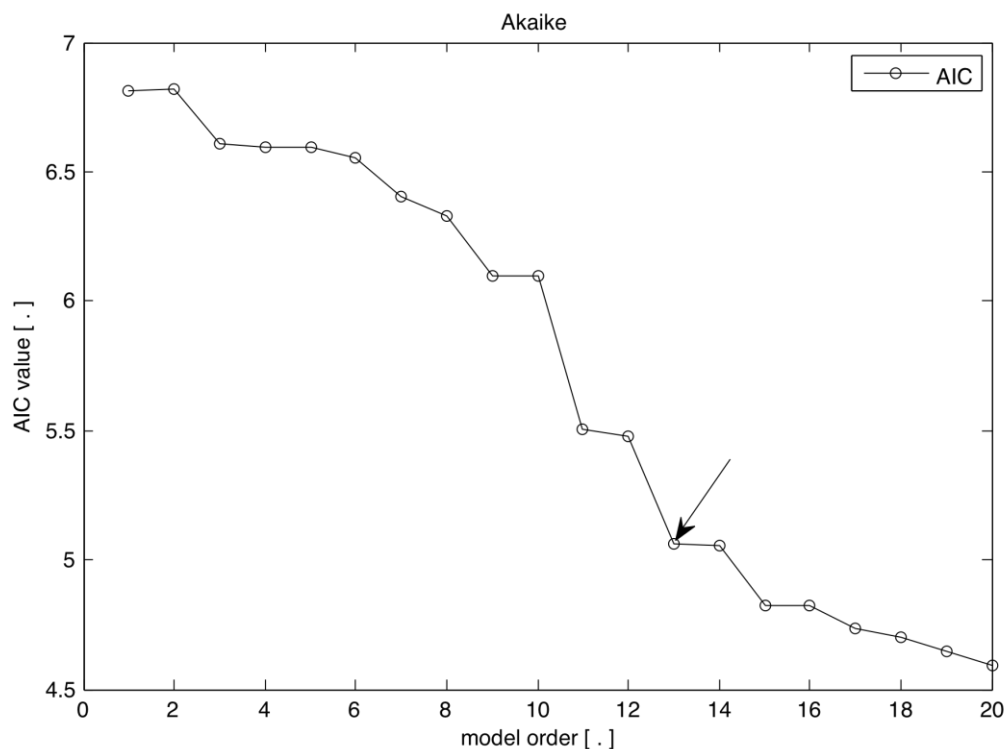


Figura 4.3 Ricerca dall'ordine della funzione polinomiale approssimante.

La figura qui di seguito (Fig. 4.4) mostra, sempre per il soggetto rappresentativo già utilizzato in precedenza, il segnale in analisi *fittato* con due funzioni polinomiali: la prima, in rosso, di ordine 50 (come suggerirebbe il criterio di Akaike) e la seconda, in magenta, di ordine 13, come suggerisce l'analisi utilizzata in questo lavoro. Osservando l'immagine si vede come il polinomio di grado 13 identifichi, effettivamente, il trend principale del segnale in analisi, tralasciando quelle oscillazioni che, come anticipato in precedenza, non si è interessati a riprodurre. Da quest'ultima considerazione si può dedurre che un'approssimazione con una funzione polinomiale con ordine ottenuto con il metodo descritto in precedenza sia la più adatta al nostro scopo.

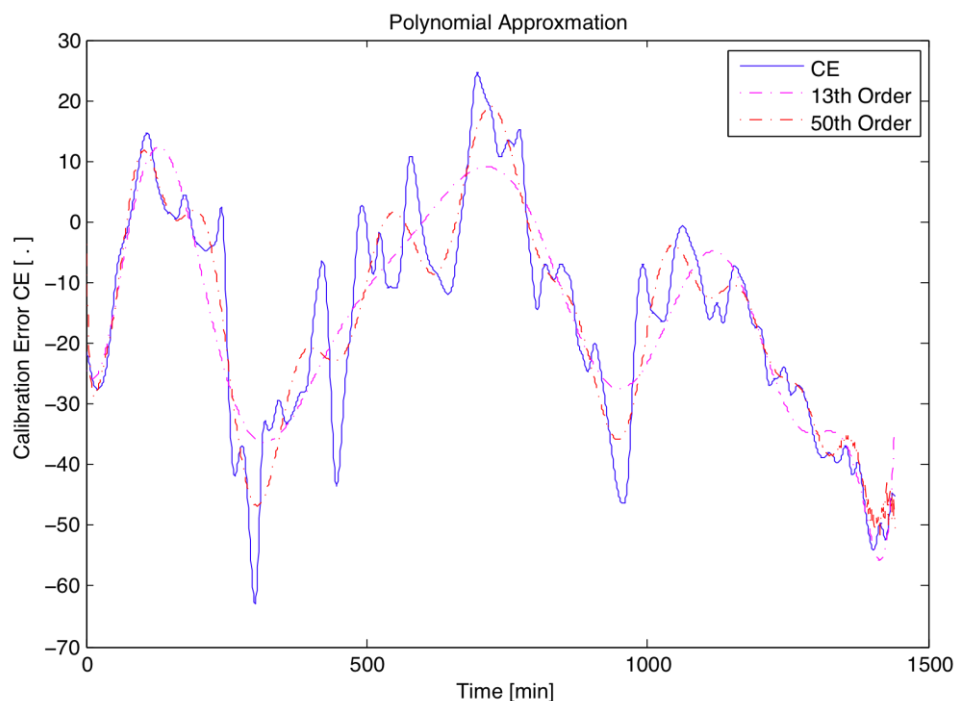


Figura 4.4 Segnale errore di calibrazione (blu), fit con polinomio di grado elevato (rosso), fit con polinomio con grado basso (magenta).

I risultati della ricerca dell'ordine ottimo per il polinomio approssimante sono riportati in tabella, per il secondo e terzo giorno dei 15 soggetti analizzati. Inoltre, nella figura (Fig. 4.5) è riportato l'istogramma della frequenza di occorrenza dei vari ordini di polinomio. Tale istogramma identifica l'ordine 13 come l'ordine più basso che compare con frequenza maggiore.

Per lo scopo di questa tesi, anche nell'ottica di progettare un simulatore che generi errori di calibrazione simili a quelli analizzati, si è osservato come fosse importante scegliere in unico ordine per tutti i soggetti. L'ordine 13 è sembrato essere il più adatto a questo scopo. In figura (Fig. 4.6) è rappresentato il segnale errore di calibrazione con la sua approssimazione mediante polinomio di ordine 13 per un soggetto rappresentativo (SS0118).

Subject	Day 2	Day 3
SS0101	16	11
SS0102	16	14
SS0103	18	15
SS0104	14	13
SS0105	19	9
SS0106	16	13
SS0107	15	15
SS0108	13	14
SS0111	15	14
SS0115	11	14
SS0118	13	13
SS0119	14	16
SS0120	10	8
SS0121	16	16
SS0128	11	13

Tabella 4.1 Ordini ottimi suggeriti dall'analisi del coefficiente di Akaike.

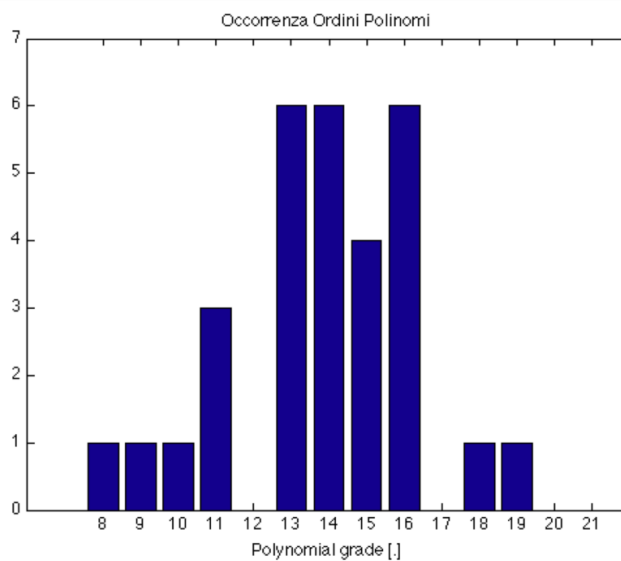


Figura 4.5 Istogramma della frequenza di occorrenza dei diversi ordini.

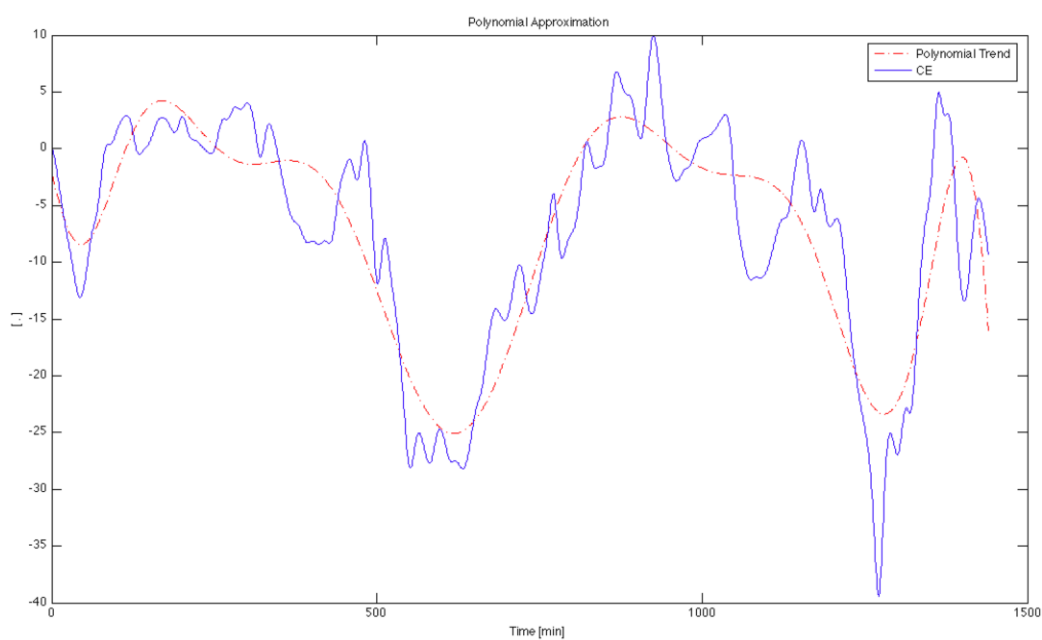


Figura 4.6 Approssimazione dell'errore di calibrazione (profilo Blu) con polinomio di grado 13 (profilo Rosso).

4.3 Stima dei coefficienti del Polinomio

I coefficienti della funzione approssimante, come anticipato nel capitolo precedente (sezione 3.4.1) sono stati calcolati mediante il metodo dei minimi quadrati pesati:

$$\hat{a} = \arg \min_a \|y - Ga\|^2 = \arg \min_a (y - Ga)^T \Sigma_v^{-1} (y - Ga) \quad (4.1)$$

I valori della precisione della stima dei parametri, per un soggetto rappresentativo (SS0119) nel secondo e terzo giorno di analisi, sono riportati in tabella in forma di coefficienti di variazione percentuali (Tab. 4.2). In tabella (Tab. 4.3) sono riportati, a titolo d'esempio, i coefficienti di variazione percentuale delle stime dei parametri per altri due soggetti rappresentativi (SS0128 e SS0102, rispettivamente).

Analizzando le precisioni delle stime, si osserva che la maggior parte dei coefficienti sono stimati in maniera sufficientemente precisa, mediamente i coefficienti di variazione sono inferiori al 20%. Per alcuni coefficienti, però, si osservano precisioni di fatto inaccettabili (talvolta fino a 3 - 4 coefficienti). Questo fatto non deve, però, meravigliare: le tecniche di approssimazione, infatti, non si preoccupano di onorare perfettamente i dati, ma lasciano, anzi, per costruzione dei residui. (Sparacino G., *"Approssimazione di dati"*, slide del corso *Analisi Dati Biologici* 2009).

Coefficienti	DAY 2	DAY 3
a_1	12.0629602	11.53432605
a_2	12.31629743	11.2521767
a_3	12.92473014	10.93228708
a_4	14.49076501	10.54233236
a_5	20.10916954	10.01625605
a_6	142.1857971	9.384641949
a_7	20.26621763	45.12282705
a_8	12.36833271	17.05781262
a_9	10.82894146	13.50465331
a_{10}	10.43492939	12.51644686
a_{11}	10.62810152	12.1097218
a_{12}	11.90628878	12.11298476
a_{13}	17.58938936	13.17661134
a_{14}	82.33890166	57.309092

Tabella 4.2 Precisioni delle stime dei coefficienti, espressi come cv percentuale per un soggetto rappresentativo

Coefficienti	DAY 2	DAY 3	Coefficienti	DAY 2	DAY 3
a_1	15.21063817	15.36487947	a_1	30.65521244	2.550879636
a_2	13.78108097	13.06049975	a_2	27.06735229	2.505026649
a_3	13.08418275	10.64350576	a_3	24.38663063	2.401234783
a_4	15.31409905	5.187923204	a_4	23.30466194	2.018423485
a_5	134.7101484	20.70630018	a_5	32.62687548	16.9536191
a_6	17.49567303	75.54934431	a_6	70.0925635	3.151605719
a_7	11.26096604	7.872968063	a_7	24.33585159	2.965677432
a_8	9.470632385	10.15046752	a_8	19.03689876	2.89234982
a_9	8.676723315	14.35992296	a_9	16.89947437	2.851627858
a_{10}	8.393071665	20.97030038	a_{10}	15.74767872	2.822825191
a_{11}	8.576715178	39.82027747	a_{11}	15.15431134	2.79758725
a_{12}	9.44090379	255.2405893	a_{12}	15.19817894	2.768959894
a_{13}	12.16869878	85.59184604	a_{13}	17.26769989	2.714672537
a_{14}	29.60018199	13.86210053	a_{14}	56.28376401	2.483280416

Tabella 4.3 Precisioni delle stime, espresse come cv percentuali, per due soggetti rappresentativi.

CAPITOLO 5

Simulazione dell'errore di calibrazione

5.1 Obiettivo

5.1.1 Primi passi

Una volta completata la descrizione dell'errore di calibrazione, primo obiettivo di questo lavoro, ci si è concentrati sulla possibilità di generare dei segnali che simulassero l'andamento di un errore di calibrazione (CE). Lo scopo di tale operazione è quello di fornire un simulatore che vada ad integrare altri simulatori già esistenti [17], [7], [8] per testare, *in silico*, algoritmi di controllo, simili a quello utilizzato per il progetto di *pancreas artificiale*, già descritto in precedenza (capitolo 1, paragrafo 1.5).

Per simulare un errore di calibrazione, si è partiti dai risultati ottenuti nel capitolo precedente, ovvero, dalla caratterizzazione attraverso funzioni polinomiali approssimanti l'andamento temporale del segnale CE.

Nel capitolo precedente, è stato dimostrato come un polinomio di grado 13 sia il più adatto a descrivere il trend temporale di tale errore: in figura (Fig. 5.1) un esempio di *fit* per un soggetto rappresentativo (SS0103).

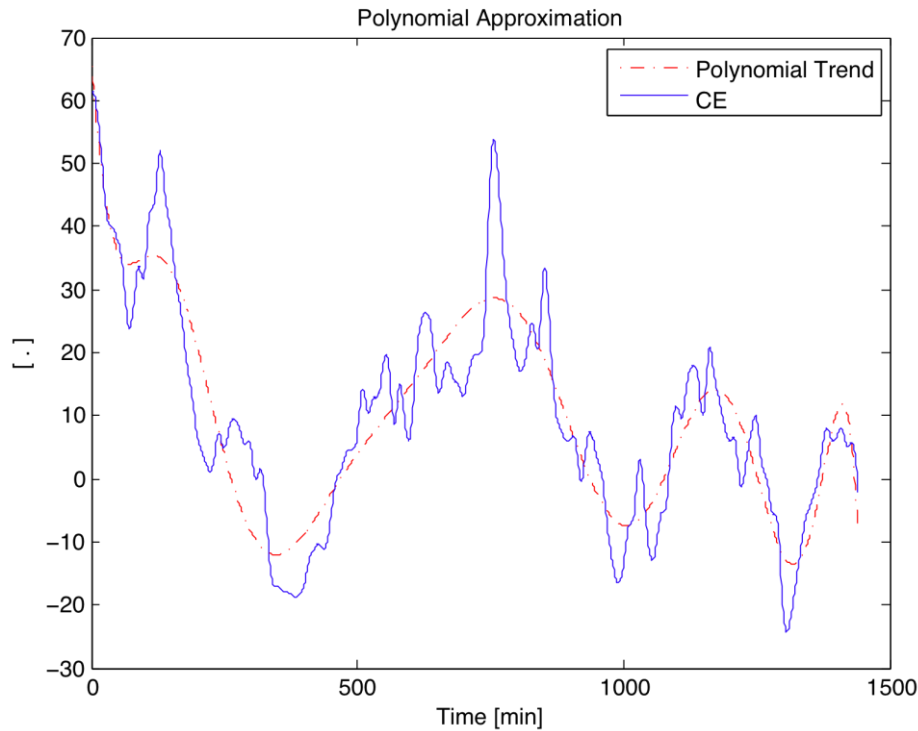


Figura 5.1 Profilo dell'errore di calibrazione (blu) e approssimazione con polinomio di grado 13 (rosso).

Sono dunque stati raccolti i *trend* polinomiali dei 15 soggetti nei due giorni di studio. Nonostante questi profili descrivano adeguatamente l'andamento temporale che caratterizza un errore di calibrazione, il loro numero limitato permette di simulare solo trenta profili: un numero insufficiente per una simulazione. Inoltre, la sola approssimazione polinomiale ignora una considerevole parte del segnale in analisi, che in fase di simulazione, sarebbe importante riprodurre.

Per ovviare a tale problema, si è pensato di aggiungere al profilo polinomiale, una componente variabile che tenesse conto anche di altri aspetti fino ad ora, messi in secondo piano. Nel paragrafo successivo verrà descritto il modello *Random Walk* e verrà giustificata la scelta di tale strumento per il nostro studio.

5.1.2 Random Walk

In questo paragrafo verrà fornita una descrizione del modello random walk, adottato in questo studio, per caratterizzare la componente residua che l'approssimazione mediante polinomio, trascura.

Innanzitutto, attraverso un'operazione di differenza puntuale, è stata calcolata questa componente residua. Si è, dunque, definito il segnale $s(t)$ come:

$$s(t) = CE(t) - P(t) \quad (5.1)$$

Dove $CE(t)$ è l'errore di calibrazione e $P(t)$ è la funzione polinomiale di grado 13 approssimante del segnale $CE(t)$ stesso.

Il segnale così ottenuto, è stato considerato come una realizzazione di random walk:

$$s(t) = s(t-1) + w(t) \quad (5.2)$$

Ovvero, il valore del segnale $s(t)$ in un istante è ottenuto sommando al valore del segnale all'istante precedente, un rumore $w(t)$, supposto bianco.

I valori del segnale $w(t)$ sono stati ricavati, noto $s(t)$ definito precedentemente, come:

$$w(t) = s(t) - s(t-1) \quad (5.3)$$

Su $w(t)$ è stata, successivamente, compiuta un'analisi sulla bianchezza attraverso ispezione visiva. In figura (Fig. 5.2), è riportato l'andamento del rumore $w(t)$ per un soggetto rappresentativo (SS0118). Tale analisi ha mostrato che le componenti di $w(t)$, a media praticamente nulla ed ampiezza, mediamente, limitata tra $[-1,1]$, presentano un certo livello di correlazione.

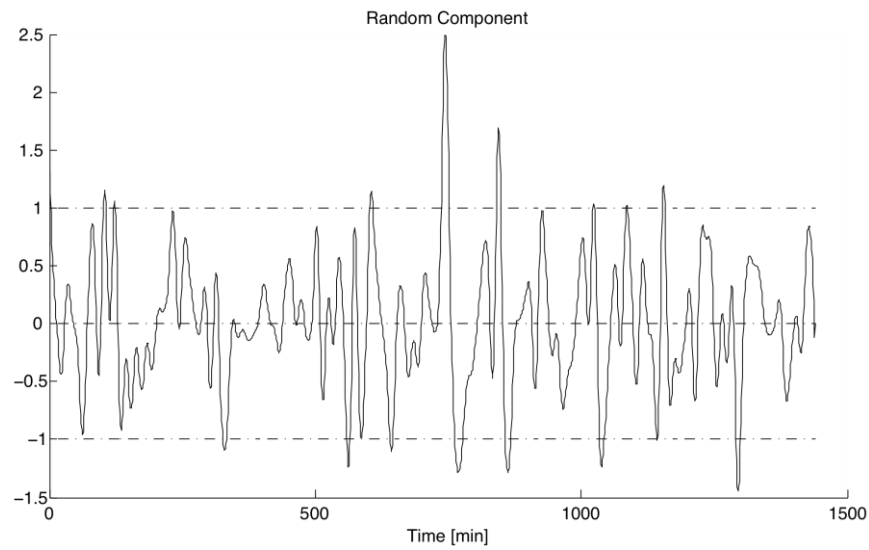


Figura 5.2 Componente di rumore della realizzazione di Random Walk.

Questa correlazione era attesa in quanto, per costruzione, il segnale residuo $s(t)$ è stato appunto definito come la differenza tra il segnale di errore di calibrazione del sensore e la funzione polinomiale che ne approssima l'andamento temporale (5.1). Il segnale $s(t)$ racchiude, dunque, in sé tutte le componenti che l'approssimazione polinomiale ignora, ovvero, le fluttuazioni glicemiche dovute alle frequenze ultradiane, già descritte nel capitolo precedente (sezione 4.1.2) e, per una completa trattazione, nello studio di Rahaghi [20]. Tali fluttuazioni hanno origine fisiologia e caratterizzano la dinamica del glucosio.

A questo punto, al fine di caratterizzare il rumore $w(t)$, sono stati calcolati i valori della *standard deviation* per tutti i quindici soggetti in entrambi i due giorni di studio, riportati in tabella Tab. 5.1) e presentati graficamente in figura (Fig. 5.3). Lo scopo di questa caratterizzazione è proprio quello di, conoscendo le proprietà statistiche di questo rumore (*standard deviation*), poter generare infinite realizzazioni di random walk con le stesse caratteristiche di quelle osservate dai dati in studio.

Subject	Day 2	Day 3
SS0101	0.538	0.528
SS0102	0.336	0.609
SS0103	0.753	0.560
SS0104	0.534	4.275
SS0105	0.538	0.508
SS0106	0.683	0.693
SS0107	0.369	1.528
SS0108	0.390	1.528
SS0111	0.801	0.501
SS0115	0.431	1.433
SS0118	0.615	0.661
SS0119	0.670	0.788
SS0120	0.399	0.581
SS0121	0.500	0.785
SS0128	0.557	0.545

Tabella 5.1 Valori standard deviation del rumore.

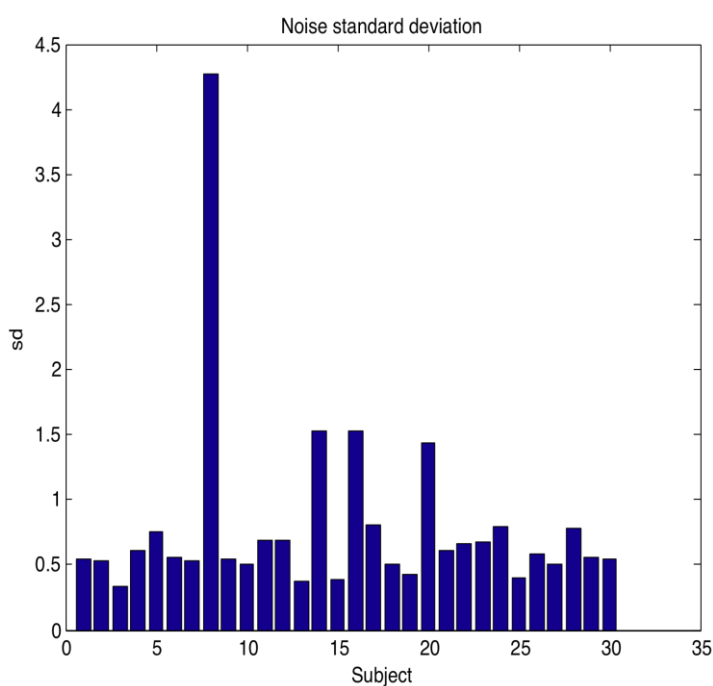


Figura 5.3 Istogramma dei valori della standard deviation del rumore.

Una volta caratterizzato l'errore di calibrazione, come somma di una componente polinomiale ed una generata con un modello random walk, si è voluto confrontare il valore del segnale misurato dal sensore CGM con la somma del

segnale della concentrazione glicemica interstiziale IG, predetta dal modello, e l'errore di calibrazione, modellizzato come descritto in precedenza CE_{virt} . In figura (Fig.5.4) sono riportati tali segnali per un soggetto rappresentativo (SS0103): segnale CGM, profilo blu, segnale $IG+CE_{virt}$. Dalla figura, si può osservare come il segnale di errore di calibrazione da noi modellizzato, si comporti effettivamente in modo simile a quello osservato dai dati.

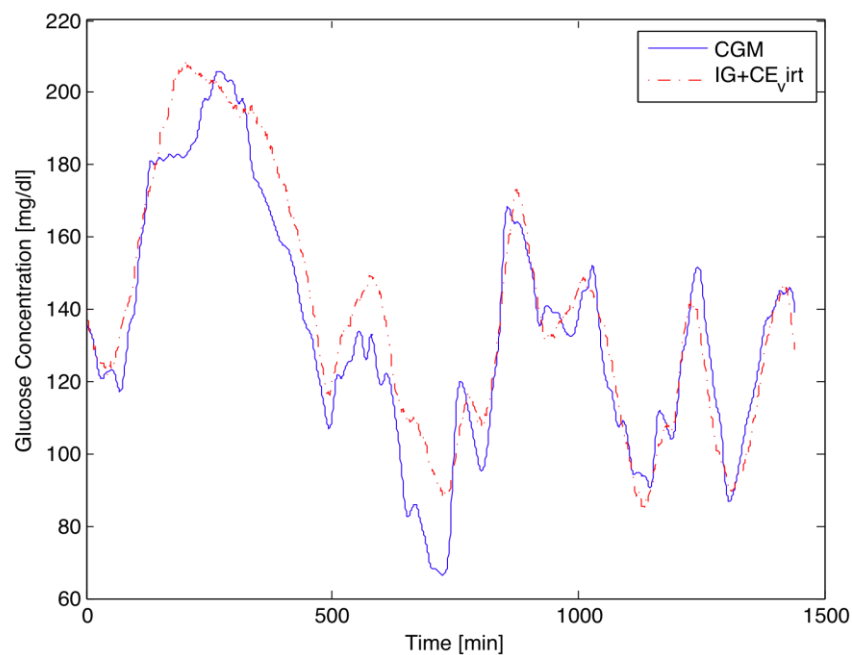


Figura 5.4 Confronto tra misura del sensore CGM, blu, e glicemia predetta dal modello IG + errore di calibrazione modellizzato CE (rosso).

5.2 Progetto del simulatore

In questo paragrafo saranno gli aspetti implementativi che hanno portato alla costruzione del data set del simulatore da progettare.

5.2.1 Componente Polinomiale

Il primo passo è stato quello di considerare la componente polinomiale. Per tutti i 15 soggetti e per entrambi i giorni dello studio, sono stati calcolati i coefficienti

delle funzioni polinomiali di grado 13 approssimanti (come descritto nel capitolo 4, sezione 4.1.3) e, attraverso la funzione *polyval* di Matlab™, sono stati ricavati i valori, uno per ogni minuto della giornata, di tali funzioni. Il risultato di questa operazione consiste in un vettore di 1440 componenti. Eseguendo l'operazione appena descritta per tutti i soggetti e per tutti i giorni, si sono ottenuti 30 vettori, salvati, in un secondo momento, in una matrice.

La matrice, così ottenuta, avrà di dimensione 30×1440 .

5.2.2 Componente Random

Partendo dalle considerazioni espone nel paragrafo precedente (sezione 5.1.2), sono state analizzate le realizzazioni di random walk, $s(t)$ ottenute come differenze prime tra il segnale dell'errore di calibrazione e la sua approssimazione lineare (5.1): sono stati ricavati, sempre per ogni soggetto e per entrambi i giorni, i segnali del rumore $w(t)$ delle realizzazioni di random walk. In seguito, sono state calcolate le *standard deviation* di tali segnali e salvate anch'esse in un vettore, di dimensione 30.

Da quest'informazione è risultato possibile, a questo punto, creare realizzazioni di random walk: dalla standard deviation si è ricostruito, innanzitutto, un rumore virtuale che avesse le stesse caratteristiche del rumore osservato e descritto (in sezione 5.1.2).

Moltiplicando la standard deviation dei rumori ricavati dall'analisi appena descritta, per un vettore, di dimensione 1440, contenente valori generati in maniera random e appartenenti ad una distribuzione normale a media nulla (attraverso il comando *randn* di Matlab™), è stato ottenuto un rumore virtuale.

Da questo vettore, è stata generata una realizzazione di random walk seguendo la procedura descritta in sezione 5.1.2. Si è utilizzata la (5.2) imponendo, come valore iniziale del segnale $s(t)$, il valore nullo. Il risultato di tale procedura, è un vettore di dimensione 1440 contenente i valori, uno per ogni minuto della giornata, di una realizzazione di random walk con le stesse caratteristiche di quelle analizzate dai dati.

5.2.3 Errore di calibrazione simulato

Sommando un profilo polinomiale con una realizzazione di random walk è stato ottenuto un segnale con comportamento simile ad un errore di calibrazione. In figura (Fig. 5.5) sono rappresentati, per un soggetto rappresentativo, il segnale errore di calibrazione (blu), la componente polinomiale (rosso) e il segnale ottenuto dalla somma di quest'ultimo con la realizzazione di random walk (nero).

Il vantaggio apportato dalla componente random consiste nell'avere una componente che contenga in sé anche il contributo di un eventuale errore di misura del sensore.

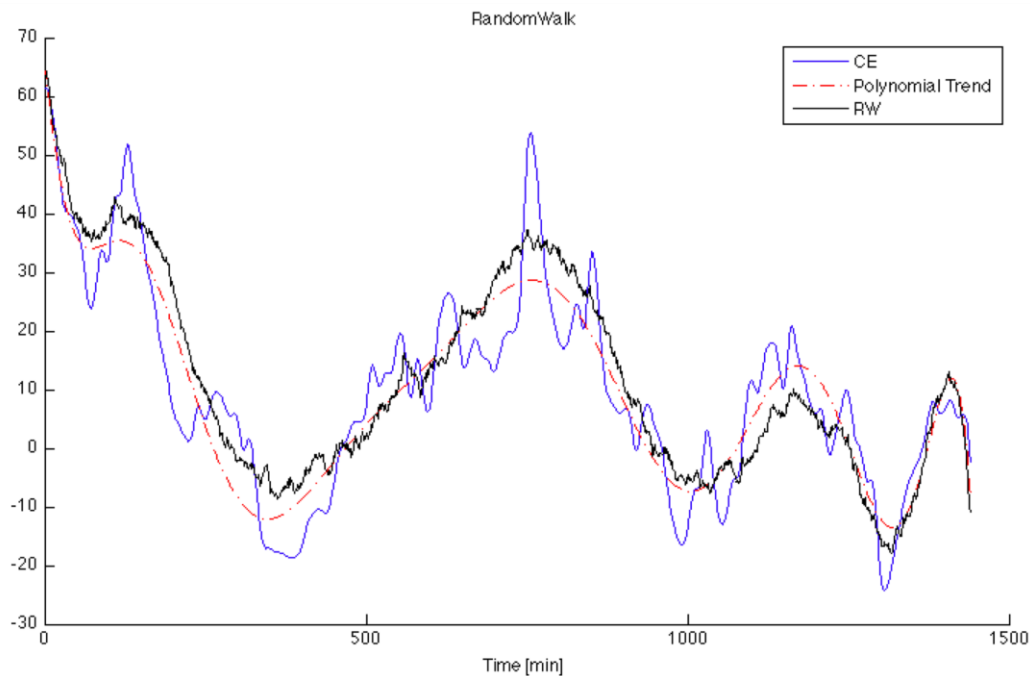


Figura 5.5 CE, profilo blu, approssimazione polinomiale, profilo rosso, CE simulato, profilo nero.

5.3 Primo progetto del simulatore

Il simulatore creato in questo lavoro di tesi, è stato sviluppato come una *function* di Matlab™.

Il data set, su cui si basa il simulatore, è composto da:

- Una matrice 30×1440 dei profili polinomiali giornalieri
- Una matrice 100×1440 contenente realizzazioni di random walk

La *fuction*, in modo random, seleziona uno dei profili polinomiali ed una delle realizzazioni di random walk. Va, successivamente, a sommare questi due profili, creando così un errore di calibrazione virtuale.

Inoltre, è stato aggiunto un parametro α con valori compresi tra $[0,1]$. Tale parametro funge da attenuazione, per far in modo che l'utilizzatore, in base alle sue esigenze, possa decidere la percentuale di errore, dovuto alla calibrazione, che desidera affligga la simulazione della misurazione del sensore. La componente polinomiale, moltiplicata per il parametro α , subisce appunto un'attenuazione, mentre la componente ottenuta dal random walk, resta invariata. La componente random walk, infatti, rappresenta quella parte dell'errore di calibrazione che non dipende esclusivamente dalla calibrazione: ha in sé il contributo di eventuali errori di misura del sensore che sono indipendenti dalla calibrazione.

Inoltre, poiché il simulatore così sviluppato era adatto alla simulazione di un errore di calibrazione giornaliero, si è pensato che sarebbe stato utile poter eseguire simulazioni di durata anche pari a diversi giorni. Per fare questo è stata creata una funzione *ad hoc* che possedesse specifiche caratteristiche. La funzione è stata definita in modo che partisse da un valore nullo e raggiungesse, dopo un transitorio di 45 minuti, il valore unitario, con andamento sigmoidale. Il valore unitario viene mantenuto fino a 45 minuti prima della fine della giornata. Da questo istante, la funzione ritorna al valore nullo, sempre con andamento sigmoidale. L'andamento della funzione appena descritta è mostrato in figura (Fig. 5.6).

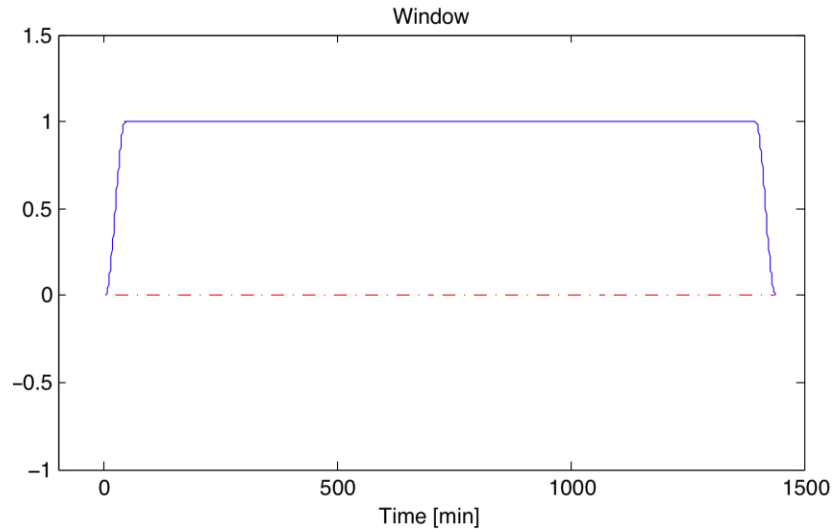


Figura 5.6 Funzione Finestra.

I vettori contenenti i profili polinomiali sono stati, in un secondo tempo, moltiplicati per tale funzione, nell'ottica di ottenere una versione *finestrata* del polinomio. In questo modo si è ottenuto un duplice vantaggio:

- La possibilità di concatenare diversi profili polinomiali in modo continuo
- Ovviare ai problemi di instabilità agli estremi dell'intervallo temporale, che una approssimazione polinomiale di ordine alto, comporta (descritti nel capitolo 4 in sezione 4.1.2).

Compiuta quest'operazione, si è sostituito, nel data set del simulatore, la matrice dei profili polinomiali, con quella dei profili polinomiali finestrati.

5.4 Simulatore con Ri-calibrazione

Durante il monitoraggio continuo del glucosio con dispositivi CGM, è necessario ripetere, a tempi prestabiliti, la procedura di calibrazione del sensore. L'effetto di tale operazione consiste nella drastica diminuzione dell'errore di calibrazione. Alla luce di questo fatto, si è ritenuto necessario includere anche questo fenomeno nella nostra simulazione.

Innanzitutto, si è stabilito che la ri-calibrazione andasse ad annullare la componente polinomiale dell'errore di calibrazione virtuale, lasciando immutata quella dovuta al modello random walk: la ragione di tale scelta è dovuta a quanto già anticipato nel paragrafo precedente, ovvero che la componente random abbia in sé il contributo di eventuali errori di misura del sensore che sono indipendenti dalla calibrazione.

E' stata dunque sviluppata una *function* che, ad un certo istante δ porti a zero, dopo un certo transitorio θ , il contributo del profilo polinomiale: in figura (Fig. 5.7) è riportato un profilo polinomiale generato dal simulatore, che subisce l'azione della ri-calibrazione. Sono stati sviluppati due simulatori simili in cui l'istante di calibrazione e la durata del transitorio fossero, in alternativa, o forniti dall'utente come parametri in ingresso, oppure generati in maniera random dalla function stessa. L'andamento con cui la ri-calibrazione annulla la componente polinomiale è stato assunto anch'esso sigmoidale.

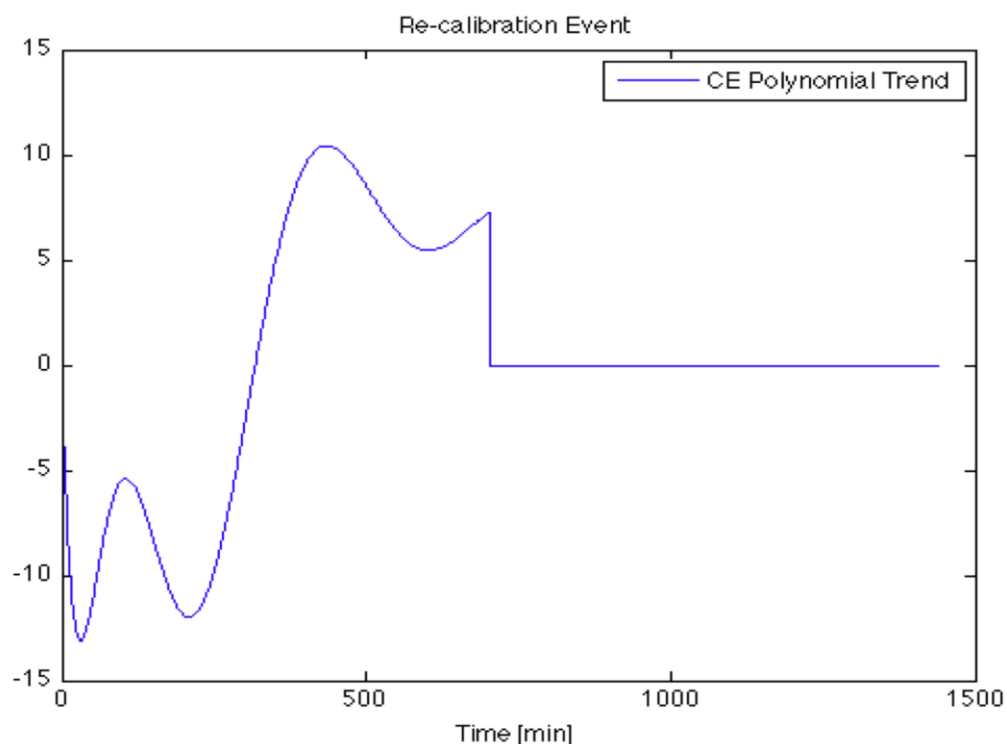


Figura 5.7 Effetto della ri-calibrazione sulla componente polinomiale.

CAPITOLO 6

Conclusioni e Sviluppi Futuri

6.1 Discussione

Questo lavoro di tesi rappresenta uno studio preliminare sull'errore di calibrazione di sensori minimamente invasivi per il monitoraggio in continua del glucosio. L'aspetto della calibrazione risulta uno dei fattori più importanti per l'utilizzo efficace di tali dispositivi. In letteratura, sull'argomento, era presente solamente lo studio di Wilinska [33] in cui, però, l'errore di calibrazione veniva considerato costante tra due procedure di calibrazione. Dalla nostra analisi, tale assunzione è risultata errata. L'errore di calibrazione, definito come differenza puntuale tra la misura del sensore e la concentrazione glicemica nell'interstizio calcolata attraverso il modello della cinetica plasma-interstizio, mostra un comportamento variabile nel tempo.

Alla luce di quest'ultima considerazione, il presente studio è stato svolto con l'obiettivo di descrivere il comportamento tempo-variante dell'errore di calibrazione e di sviluppare un simulatore in grado di generare segnali con le stesse caratteristiche di quelli analizzati. Tale simulazione riveste un importante ruolo nell'ambito dei test

in silico di algoritmi di controllo per progetti come il *Pancreas Artificiale* o il *DIAdvisor*.

Il data base utilizzato in questo studio è stato appunto fornito dal progetto DIAdvisor, un progetto europeo, di cui l'Università di Padova è partner, che si occupa di sviluppare un algoritmo di controllo per migliorare la terapia del diabete. Tale database era composto da misure plasmatiche BG (37 giornaliere) e misure ottenute dal sensore CGM (144 giornaliere), raccolte per trenta soggetti monitorati per un arco temporale di tre giorni. Le misure CGM sono state raccolte da un sensore FreeStyle Navigator, prodotto dalla Abbott Diabetes Care.

Le misure plasmatiche sono state poi sottoposte ad una operazione di *smoothing Bayesiano* al fine di ottenere un set completo di misure, e le misure ottenute dal sensore sono state interpolate per la stessa ragione. La sequenza fornita dalla procedura di smoothing è stata utilizzata per ottenere, attraverso un'operazione di convoluzione con la risposta impulsiva del sistema plasma-interstizio, la concentrazione di glucosio nell'interstizio. I parametri chiave del modello bi-compartimentale, utilizzato in questo studio, sono il guadagno del sistema ed il ritardo di tempo. Per entrambi, si sono utilizzati valori di popolazione ricavati dalla letteratura. Tra i due, il più critico risulta il ritardo di tempo: in un primo momento, sono stati utilizzati diversi valori e si sono osservati i risultati delle diverse risposte. Infine, si è scelto un valore unico per questo studio (18 minuti).

Si è scelto di definire come errore di calibrazione la differenza puntuale tra la misura fornita dal sensore e l'uscita del modello appena definito: si è quindi deciso di operare supponendo il modello senza errore.

Una volta definito l'errore di calibrazione, è stato modellizzato il suo comportamento tempo variante. Trattandosi di uno studio preliminare, si è deciso di adottare una tecnica semplicemente implementabile: si è optato per una tecnica di approssimazione polinomiale. Lo scopo di tale operazione era appunto quello di descrivere l'andamento temporale principale del segnale ignorando, per il momento, le altre componenti. Per la scelta dell'ordine del polinomio si è fatto ricorso al criterio di parsimonia di Akaike (Akaike Information Criterion, AIC) che ha suggerito come ordine ottimo, l'ordine 13. Dato l'elevato numero dei dati, rispetto ai parametri, è stata compiuta anche un'analisi dei residui pesati quadrati, la quale però

ha fornito gli stessi risultati. I parametri delle funzioni polinomiali sono stati stimati con la tecnica dei minimi quadrati pesati.

Secondo obiettivo di questo lavoro era quello di sviluppare un simulatore di segnali di errore di calibrazione. A questo fine, si è deciso di descrivere anche la parte del segnale residua che l'approssimazione polinomiale andava ad ignorare. E' stata calcolata la differenza puntuale tra il segnale di errore di calibrazione e la sua approssimazione polinomiale. Il segnale residuo è stato considerato come una realizzazione di random walk. Il rumore ricavato da queste analisi è caratterizzato attraverso la sua standard deviation. L'utilità di quest'analisi sussiste non solo nel descrivere la componente residua del segnale, ma anche nel ricavare informazioni utili per il simulatore da sviluppare: infatti, utilizzando le standard deviation ricavate, è stato possibile generare profili del rumore e, conseguentemente, realizzazioni di random walk paragonabili a quelle osservate.

Una prima versione del simulatore consiste in una function che seleziona uno tra i trenta profili polinomiali ricavati dai dati e lo somma ad un profilo ottenuto dal modello random walk con standard deviation ricavata anch'essa da quelle calcolate dai dati. Inoltre, è stato definito un parametro da fornire in ingresso alla function che rappresenta un fattore di attenuazione. Per permettere la simulazione per più giorni consecutivi, i profili polinomiali sono stati finestrati in modo che, agli estremi degli intervalli temporali, assumessero valore nullo.

La seconda versione del simulatore è stata sviluppata facendo fronte alla necessità di simulare anche eventuali procedure di ri-calibrazione del sensore. L'effetto di una procedura di calibrazione consiste nel ridurre drasticamente l'errore di calibrazione: questo aspetto è stato simulato con l'azzeramento della componente polinomiale del segnale, mentre la componente dovuta al random walk rimane invariata, essendo considerata indipendente dalla calibrazione. L'istante di ri-calibrazione e la durata del transitorio con cui si annulla la componente polinomiale possono essere tanto inseriti dall'operatore che generati dalla function stessa.

Entrambi i simulatori hanno mostrato di essere in grado di generare segnali comparabili con gli errori di calibrazione osservati sui pazienti in studio. Hanno mostrato, però, un forte legame con il protocollo dell'esperimento; l'errore di calibrazione da noi ricreato potrebbe non essere utilizzabile in simulazioni con un protocollo differente da quello dello studio in analisi.

6.2 Sviluppi futuri

Per una migliore descrizione e simulazione dell'errore di calibrazione sarebbe necessario, innanzitutto, un più fitto campionamento delle misure plasmatiche. Questo aspetto ridurrebbe l'errore introdotto dall'operazione di smoothing bayesiano, che va a confondersi con l'errore di calibrazione. Inoltre, sarebbero necessari degli studi per confermare la scelta del ritardo di tempo da noi scelto nel modello della dinamica plasma-interstizio.

Da quanto osservato in questo lavoro di tesi, l'obiettivo di futuri studi dovrebbe essere quello di fornire una descrizione dell'errore di calibrazione il più possibile slegata dal protocollo di acquisizione dei dati. Inoltre, sarebbe importante riuscire a sviluppare un simulatore che generasse dinamicamente un errore di calibrazione in modo indipendente dal tempo.

BIBLIOGRAFIA

1. abbottdiabetescare.com
2. Boyne M. S., et al., *Timing of Changes in Interstitial and Venous Blood Glucose Measured With a Continuous Subcutaneous Glucose Sensor*, DIABETES, VOL. 52, NOVEMBER 2003
3. Bruttomesso D, Farret A, Costa S, Marescotti MC, Vettore M, Avogaro A, Tiengo A, Dalla Man C, Place J, Facchinetti A, Guerra S, Magni L, De Nicolao G, Cobelli C, Renard E, Maran A. *Closed-Loop Artificial Pancreas Using Subcutaneous Glucose Sensing and Insulin Delivery and a Model Predictive Control Algorithm: Preliminary Studies in Padova and Montpellier*. J Diabetes Sci Technol. 2009;3(5):1014-21
4. Caduff A., et al., *Non invasive Glucose Monitoring using a Multisensor Concept based on Impedance Spectroscopy*, ADA 2007
5. Chee F., et al., *The Use of Minimed CGMS in real-time glucose monitoring*, Seventh Australian and New Zealand Intelligent Information System Conference, 18-21 November 2001, Perth, Western Australia
6. Clarke WL, Anderson S, Breton M, Patek S, Kashmer L, Kovatchev B. *Closed-Loop Artificial Pancreas Using Subcutaneous Glucose Sensing and Insulin Delivery and a Model Predictive Control Algorithm: The Virginia Experience*. J Diabetes Sci Technol. 2009;3(5):1031-8.
7. Dalla Man C, Raimondo DM, Rizza RA, Cobelli C. *GIM, simulation software of meal glucose - insulin model*. J Diabetes Sci Technol. 2007;1(3):323-30.
8. Dalla Man C, Rizza RA, Cobelli C. *Meal simulation model of the glucose-insulin system*. IEEE Trans Biomed Eng. 2007;54(10):1740-9.
9. diabetes.org
10. Facchinetti A., Sparacino G., Cobelli C. *Reconstructing by Deconvolution Plasma Glucose from Continuous Glucose Monitoring Sensor Data*, Proceedings of the 28th IEEE EMBS Annual International Conference New York City, USA, Aug 30- Sept 3, 2006

-
11. Feldman B, et al., *A Continuous Glucose Sensor Based on Wired EnzymeTM Technology - Results from a 3-Day Trial in Patients with Type 1 Diabetes*, Diabetes Technology & Therapeutics. 2003, 5(5): 769-779
 12. Ginsberg B.H., et al., *Blood Glucose Monitoring: Necessary and Sufficient?*, Journal of Diabetes Science and Technology, Volume 1, Issue 5, September 2007
 13. gluowatch.org
 14. Hovorka R, Allen JM, Elleri D, Chassin LJ, Harris J, Xing D, Kollman C, Hovorka T, Larsen AM, Nodale M, De Palma A, Wilinska ME, Acerini CL, Dunger DB. *Manual closed-loop insulin delivery in children and adolescents with type 1 diabetes: a phase 2 randomised crossover trial*. Lancet. 2010;375(9716):743-51.
 15. idf.org
 16. King C., et al., *Modeling of Calibration Effectiveness and Blood-to-Interstitial Glucose Dynamics as Potential Confounders of the Accuracy of Continuous Glucose Sensors during Hyperinsulinemic Clamp*, Journal of Diabetes Science and Technology, Volume 1, Issue 3, May 2007
 17. Kovatchev BP, Breton M, Dalla Man C, Cobelli C. *In Silico Preclinical Trials: A proof of concept in closed-loop control of type 1 diabetes*. J Diabetes Sci Technol. 2009;3(1):44-55.
 18. Kovatchev BP, Gonder-Frederick LA, Cox DJ, Clarke WL. *Evaluating the accuracy of continuous glucose-monitoring sensors: continuous glucose-error grid analysis illustrated by TheraSense Freestyle Navigator data*. Diabetes Care. 2004;27(8):1922-8
 19. Lodwig V., et al., *Continuous Glucose Monitoring with Glucose Sensors: Calibration and Assessment Criteria*, Diabetes Technology & Therapeutics, Volume 5, Number 4, 2003
 20. Rahaghi N., Gough A. *Blood Glucose Dynamics*, DIABETES TECHNOLOGY & THERAPEUTICS Volume 10, Number 2, 2008
 21. Rebrin K., et al., *Can Interstitial Glucose Assessment Replace Blood Glucose Measurements?*, Diabetes Technology & Therapeutics, vol.2, No.3, 2000
 22. Rebrin K., et al., *Subcutaneous Glucose Predicts Plasma Glucose Independent of Insulin: Implications for Continuous Monitoring*, the American Physiological Society 1999, 277: E561-E571
 23. Sieg A., et al., *Noninvasive and Minimally Invasive Methods for Transdermal Glucose Monitoring*, Diabetes Tecnology & Therapeutics, Vol. 7, No. 1, 2005
 24. Sparacino G., *“Approssimazione di dati”*, slide del corso Analisi Dati Biologici 2009

-
25. Steil G. M., et al., *Determination of Plasma Glucose During Rapid Glucose Excursions with a Subcutaneous Glucose Sensor*, Diabetes Technology & Therapeutics Volume 5, Number 1, 2003
 26. Steil G.M, et al., *Interstitial Fluid Glucose Dynamics During Insulin-Induced Hypoglycaemia*, Diabetologia (2005) 48: 1833–1840
 27. Steil G.M., et al., *Determination of Plasma Glucose During Rapid Glucose Excursions with a Subcutaneous Glucose Sensor*, Diabetes Technology & Therapeutics Volume 5, Number 1, 2003
 28. Steil, G.M., et al., *Role of Portal Insulin Delivery in the Disappearance of Intravenous Glucose and Assessment of Insulin Sensitivity*, Diabetes, vol 47, May 1998
 29. Voskanyan G., et al., *Putative Delays in Interstitial Fluid (ISF) Glucose Kinetics Can Be Attributed to the Glucose Sensing Systems Used to Measure Them Rather Than the Delay in ISF Glucose Itself*, Journal of Diabetes Science and Technology, Volume 1, Issue 5, September 2007
 30. Weinstein RL, et al., *Accuracy of the 5-days FreeStyle Navigator continuous glucose monitoring system: comparison with frequent laboratory reference measurements*. Diabetes Care. 2007 30(5):1125-30
 31. Wentholt I. M. E. Hoekstra J.B.L., Zwart A., DeVries J.H. *Pendra goes Dutch: lessons for the CE mark in Europe*, Diabetologia (2005) 48: 1055–1058
 32. Wentholt I. M. E., et al., *Relationship Between Interstitial and Blood Glucose in Type 1 Diabetes Patients: Delay and the Push-Pull Phenomenon Revisited*, DIABETES TECHNOLOGY & THERAPEUTICS Volume 9, Number 2, 2007
 33. Wilinska, et al., *Overnight Closed-loop Insulin Delivery with Model Predictive Control*, Journal of Diabetes Scince and Technology, Volume 3 Issue 5, 2009
 34. Wilson D.M., et al., *The accuracy of the FreeStyleNavigator Continuous glucose monitoring system in children with type 1 duabetes*, Diabetes Care 30:59-64, 2007