



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE**

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

**STUDIO IN SILICO DEGLI EFFETTI DELLA NON ADERENZA ALLA
TERAPIA INSULINICA IN PAZIENTI DIABETICI**

Relatore: Prof. Roberto Visentin

Laureando: Alessandro Minato

ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022

Data di laurea 22/09/2022

Indice

Abstract	1
Capitolo 1: Introduzione	3
1.1 Il diabete.....	3
1.2 La terapia insulinica multi-iniettiva nel trattamento del diabete.....	5
1.3 Scopo della tesi.....	6
Capitolo 2: I simulatori del soggetto diabetico di tipo 1 e tipo 2	9
2.1 Il simulatore del soggetto T2D.....	9
2.1.1 Schema del modello di simulazione.....	9
2.1.2 La popolazione virtuale T2D.....	11
2.1.3 Terapia MDI nel simulatore T2D.....	11
2.1.3.1 Implementazione dell'insulina lenta.....	12
2.1.3.2 Implementazione dell'insulina rapida.....	12
2.2 Il simulatore del soggetto T1D.....	13
2.2.1 Schema del modello di simulazione.....	13
2.2.2 La popolazione virtuale T1D.....	14
2.2.3 Terapia MDI nel simulatore T1D.....	14
Capitolo 3: Studio in silico	15
3.1 Scenari di simulazione.....	15
3.2 Metriche di controllo glicemico.....	16
3.3 Analisi statistica.....	17
3.3.1 I test di ipotesi.....	17
Test di Lilliefors.....	18
Test di student (T-test).....	19
Test di Wilcoxon.....	21
Capitolo 4: Risultati	23
4.1 Popolazione T2D.....	23
4.2 Popolazione T1D.....	26
4.3 Confronto T2D vs. T1D.....	30
Capitolo 5: Conclusioni	35
Appendice.....	37
Bibliografia.....	43

Abstract

I pazienti diabetici di tipo 1 (T1D) e tipo 2 (T2D) avanzato necessitano di una terapia sostitutiva, costituita da iniezioni multiple di analoghi di insulina al fine di mantenere il più possibile i livelli di glucosio plasmatico (glicemia) in condizioni di sicurezza. In questo contesto, un eventuale non aderenza alla terapia, consistente in una assenza di somministrazione di insulina prandiale (skip) o in una somministrazione ritardata rispetto all'inizio del pasto (delay), può portare ad un peggioramento del controllo glicemico, come già dimostrato per i soggetti T1D. In questa tesi ci si pone l'obiettivo di analizzare l'impatto della non aderenza alla terapia insulinica sul controllo glicemico nei soggetti T2D. A tale scopo sono stati condotti dei trial *in silico* utilizzando i simulatori dei soggetti T1D e T2D. Nello specifico, l'impatto sul controllo glicemico di diversi gradi di aderenza alla terapia insulinica è stato valutato in entrambe le popolazioni T1D e T2D sulla base delle comuni metriche di controllo glicemico.

I risultati ottenuti mostrano che anche nei soggetti T2D una non aderenza alla terapia insulinica si traduce in un peggioramento del controllo glicemico, in particolare verso valori iperglicemici. Tuttavia, tale peggioramento risulta minore se confrontato con le simulazioni ottenute nei soggetti T1D. Ciò potrebbe essere spiegato da una possibile secrezione insulinica endogena residua nei soggetti T2D, la quale potrebbe compensare la carenza di insulina esogena nei casi di non aderenza alla terapia, un aspetto da tenere in considerazione per analisi future.

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Il diabete

Il diabete è una malattia cronica caratterizzata da alte concentrazioni ematiche di glucosio (glicemia), ovvero la principale fonte di energia per l'uomo. Questo aumento di concentrazione è dovuto principalmente a una scarsa capacità del pancreas nel secernere in maniera adeguata l'ormone insulina, a un'alterata efficacia di quest'ultima nel controllare la concentrazione glicemica. Nello specifico, l'insulina agisce sul metabolismo del glucosio inibendone la produzione epatica e promuovendone l'utilizzazione da parte di muscoli e tessuto adiposo. Ha quindi un'azione ipoglicemizzante, ovvero di riduzione della glicemia.

Questa patologia è ormai una delle più diffuse in tutto il mondo, Italia inclusa. Secondo i dati ISTAT 2020 [1], infatti, il 5,9% degli italiani è affetto da diabete, nonché l'equivalente di 3,5 milioni di persone. La prevalenza aumenta all'aumentare dell'età, arrivando a raggiungere un valore del 21% nella fascia di popolazione con età maggiore di 75 anni. Il trend generale parrebbe essere in aumento negli ultimi anni; si stima infatti che nel 2025 il numero di soggetti affetti dalla patologia in Italia possa essere raddoppiato. Nel mondo sono invece 422 milioni le persone che ne soffrono, tra i quali circa 1,5 milioni di esse decedono. È infatti importante sottolineare come questa malattia rappresenti la quarta causa di morte in tutta Europa, nonostante sia molto diffusa e si sia a conoscenza di svariati metodi per contrastarla.

Il diabete si suddivide in due tipologie principali:

- Diabete di tipo 1 (T1D): È la forma più grave e aggressiva di diabete, che riguarda generalmente il 5-10% della popolazione colpita dalla malattia. È causata dalla lesione autoimmune delle cellule beta del pancreas, le quali, una volta danneggiate, non riescono più a produrre insulina. I sintomi classici di questa patologia sono l'aumento di sete, della minzione, dell'appetito e la riduzione di peso ingiustificata. Un soggetto colpito da questa malattia deve quindi seguire una terapia insulinica sostitutiva, che solitamente prevede la somministrazione di analoghi di insulina per via sottocutanea al fine di sopperire alla mancata secrezione pancreatica.

- **Diabete di tipo 2 (T2D):** È la forma di diabete più comune, che generalmente inizia a colpire a partire dai 35-40 anni, anche se negli ultimi anni il tasso d'insorgenza nei soggetti giovani ha registrato un aumento non trascurabile rispetto a quello di decenni fa [1]. I principali fattori di rischio legati alla patologia sono l'obesità e la sedentarietà, nonché l'invecchiamento, come già citato. Viene generalmente causato da due alterazioni: lo sviluppo di un'insulino-resistenza da parte delle cellule dell'organismo, le quali diminuiscono la propria sensibilità all'azione dell'insulina, ed il deficit progressivo ed inarrestabile di secrezione dell'insulina. La combinazione di queste due condizioni può portare al peggioramento dello stato di avanzamento della patologia in un soggetto. Per normalizzare l'eccessiva glicemia è fondamentale l'esercizio fisico e la messa in pratica di una dieta sana e bilanciata. In alcuni casi si può ricorrere anche a dei farmaci ipoglicemizzanti orali, che hanno come scopo proprio quello di abbassare la concentrazione glicemica. Nel peggiore dei casi si deve ricorrere alla terapia insulinica sostitutiva tipica dei soggetti T1D.

È fondamentale che i soggetti diabetici, sia T1D che T2D, non trascurino la malattia poiché essa può portare a complicanze via via sempre più gravi, che generalmente hanno per bersaglio il sistema cardiovascolare, il sistema nervoso, i reni e gli occhi.

La tabella sottostante riassume brevemente le principali caratteristiche che differenziano le due tipologie di diabete.

	Diabete di tipo 1	Diabete di tipo 2
Frequenza	5-10% dei soggetti diabetici	90-95% dei soggetti diabetici
Sintomatologia	Sempre presente Spesso eclatante ed a inizio brusco	Generalmente assente, spesso modesta
Peso	Generalmente normale	Generalmente in eccesso
Età all'esordio	Più comunemente <30 anni	Più comunemente >40 anni
Comparsa di complicanze croniche	Non prima di alcuni anni dopo la diagnosi	Spesso presenti al momento della diagnosi
Terapia	Insulina necessaria fin dall'esordio (MDI)	Dieta, esercizio fisico, farmaci orali, insulina

Tabella 1.1: Aspetti generali riguardanti il diabete di tipo 1 (T1D) e di tipo 2 (T2D)

1.2 La terapia insulinica multi-iniettiva nel trattamento del diabete

Come discusso precedentemente, i soggetti T1D devono seguire una terapia insulinica sostitutiva per il controllo glicemico. D'altra parte, generalmente per i soggetti T2D è sufficiente controllare lo stile di vita e la dieta, che dev'essere sana e bilanciata. Per questi ultimi si ricorre solitamente alle assunzioni di dosi di insulina in stadi avanzati della patologia o in alcune condizioni particolari (traumi, malattie pregresse, interventi chirurgici), anche se piuttosto si ricorre spesso a dei farmaci orali. Non si può però escludere l'ipotesi che anche in tali soggetti la terapia diventi fondamentale e periodica, soprattutto con l'avanzare dell'età.

Per sopperire al fabbisogno insulinico durante le varie fasi della giornata, il paziente diabetico necessita della cosiddetta terapia multiiniettiva (Multiple Daily Injection, MDI), che consiste in una serie di iniezioni di analoghi di insulina che, a differenza dell'insulina umana regolare (ovvero le riproduzioni esatte dell'insulina umana), sono creati tramite una forma sintetica dell'ormone simile a quella vera.

Esistono varie tipologie di analoghi, che si differenziano tra loro in base alla velocità e alla durata d'azione (Figura 1.1):

- 1) Insulina ultrarapida: entra in azione 10-15 minuti dopo l'iniezione, raggiunge il picco in 30-60 minuti e dura circa 4 ore. Solitamente vengono assunte prima dei pasti. Le più comuni sono le insuline lispro ed aspart.
- 2) Insulina rapida: entra in circolo in mezz'ora, raggiunge il picco in quattro ore e dispone di una durata di circa quattro-otto ore. Anch'esse vengono principalmente usate per controllare i pasti.
- 3) Insulina intermedia: È detta anche insulina NpH (Neutral Protamine Hagedorn) poiché contiene la protamina che ne rallenta l'azione, facendo sì che il picco si raggiunga in sei-otto ore e la durata complessiva raggiunga le 12-15.
- 4) Insulina a lunga durata: Comprende le lente e le ultralente e rende possibile la somministrazione di una o due dosi giornaliere per sopperire al fabbisogno insulinico basale (in assenza di perturbazioni esterne). Esempi di questa tipologia sono le insuline glargine e degludec.

Si capisce quindi come “la terapia insulinica multi-iniettiva (MDI) prevede la somministrazione di boli di insulina ad azione rapida o ultrarapida ai pasti per rispondere al fabbisogno insulinico prandiale (boli prandiali) e la somministrazione di singole o multiple iniezioni di insulina ad azione intermedia-lenta per rimpiazzare il fabbisogno insulinico basale (insulinemia basale)” [2].

I boli prandiali sono generalmente somministrati entro i 60 minuti precedenti al pasto. Tale finestra temporale dev'essere strettamente rispettata nel caso in cui l'insulina sia di tipo umano, in quanto viene utilizzata la tipologia rapida, che se assunta a ridosso di un pasto (<30 minuti) è in grado di generare un picco insulinico di ascesa lenta, esponendo così il paziente a due rischi: iperglicemia (alti livelli glicemici) in fase postprandiale immediata e ipoglicemia (bassi livelli glicemici) in fase postprandiale tardiva.

Nel caso in cui vengano impiegati analoghi di insulina, l'assorbimento risulta molto più rapido, producendo un picco insulinemico che inizia più precocemente, raggiunge valori più elevati e cessa più rapidamente. A differenza dell'insulina umana, non si presentano quindi le due situazioni precedentemente descritte. Inoltre, un vantaggio addizionale è quello di poter ridurre o addirittura annullare il lasso temporale che deve trascorrere tra l'iniezione e l'assunzione del pasto [2].

Per quanto riguarda l'insulina basale, che ha come scopo quello di mantenere quasi normale il valore di glicemia tra i pasti e nella fase notturna, si predilige l'utilizzo di insuline intermedie [2].

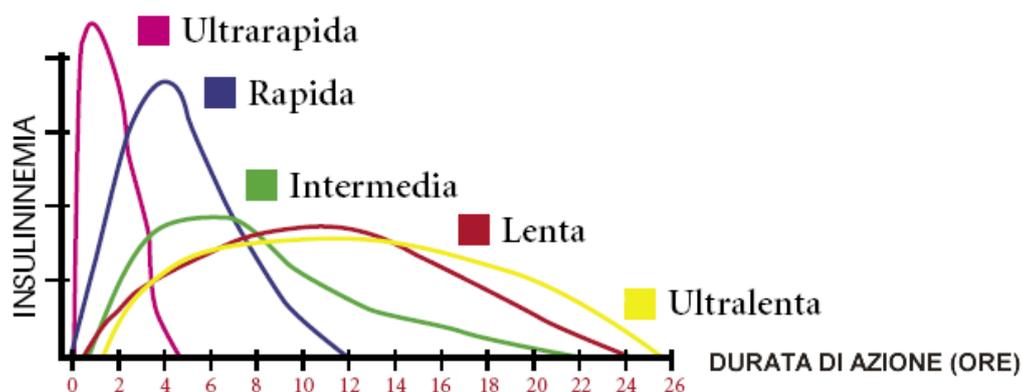


Figura 1.1 – I vari tipi di insulina distinte dalle loro durate d'azione

1.3 Scopo della tesi

Nei pazienti diabetici in terapia MDI è necessario seguire un rigoroso schema di iniezioni di insulina al fine di minimizzare le fluttuazioni glicemiche e controllare al meglio le possibili escursioni dovute ai pasti. È comprensibile quindi come una non aderenza alla terapia, sia intenzionale che accidentale, abbia un impatto negativo sul controllo glicemico. Tale aspetto è già stato studiato in soggetti T1D adolescenti [3] [4], mentre gli effetti nei pazienti T2D sono meno noti.

Lo scopo di questa tesi è pertanto studiare l'impatto sul controllo glicemico della non aderenza alla terapia MDI in soggetti T2D, e confrontarlo rispetto agli effetti osservabili in una popolazione T1D. A tale scopo, sono stati impiegati i simulatori del soggetto T1D e T2D, con cui sono stati condotti

trial *in silico* simulando diversi gradi di aderenza alla terapia MDI, permettendo quindi di valutare il relativo impatto sul controllo glicemico nelle varie condizioni sperimentali.

I capitoli che seguono sono così strutturati:

- Il Capitolo 2 fornisce una descrizione dei simulatori impiegati per la generazione dei dati *in silico*;
- Il Capitolo 3 descrive i protocolli e gli scenari sperimentali creati per valutare i diversi gradi di aderenza alla terapia MDI, nonché le metriche per valutare il controllo glicemico e i metodi impiegati per l'analisi statistica;
- Il Capitolo 4 fornisce una trattazione dei risultati ottenuti;
- Il Capitolo 5 presenta una discussione dei risultati e le relative conclusioni dal punto di vista clinico.

Capitolo 2

I simulatori del soggetto diabetico di tipo 1 e tipo 2

I trial *in silico* permettono di accelerare lo sviluppo delle tecnologie e dei farmaci per il diabete. Infatti, non è sempre possibile, appropriato, conveniente o desiderabile, eseguire esperimenti nell'uomo perché, per esempio, non sono fattibili, oppure sono troppo difficili, troppo pericolosi o non etici. In tali casi, la simulazione al computer offre una strada alternativa per eseguire esperimenti sul sistema. A partire dagli anni '60 sono stati pubblicati numerosi modelli di simulazione, ma il loro impatto nel campo della terapia del diabete è stato molto modesto. Il motivo è che tutti questi modelli sono modelli medi, e dunque la loro capacità predittiva è limitata alla media di popolazione che si sarebbe osservata durante un esperimento clinico. Tuttavia, data l'importante variabilità interindividuale della risposta glicemica, un approccio basato su un modello medio non può descrivere realisticamente l'effetto della terapia. In effetti, per realizzare un trial *in silico* realistico, è necessario disporre di un simulatore del diabete che contenga un insieme di “soggetti virtuali” che descrivano in maniera accurata la variabilità interindividuale osservata nei parametri metabolici più importanti di una popolazione di soggetti T1D o T2D [5].

In questa tesi sono stati impiegati i simulatori del soggetto T1D e T2D per testare l'impatto della non aderenza alla terapia insulinica nel controllo glicemico in soggetti diabetici. Tali simulatori permettono di simulare la risposta glicemica di uno o più soggetti in base a determinate perturbazioni (ad es., pasti e iniezioni esogene di insulina) fornite in input al sistema.

Entrambi questi simulatori si basano su modelli “massimi”, ovvero modelli dinamici, non lineari, di ordine elevato e con numerosi parametri. Di seguito ne vengono descritte le caratteristiche principali.

2.1 Il simulatore del soggetto T2D

Il simulatore del soggetto T2D (T2DS) permette di testare una serie di farmaci ed insuline utili alla terapia del T2D in diverse condizioni sperimentali, al fine di valutare quali possano essere gli eventuali effetti indesiderati prima di procedere alla sperimentazione al vivo [5].

2.1.1 Schema del modello di simulazione

Il modello del T2DS descrive il sistema di regolazione glucosio-insulina-C-peptide, in particolare il transito del glucosio esogeno attraverso il tratto gastrointestinale, l'azione di insulina e C-peptide e la loro produzione endogena; ed il controllo del glucosio sulla secrezione insulinica [6].

Ognuno di questi sottosistemi è definito da sistemi compartimentali descritti da un certo numero di equazioni differenziali, riportate nel dettaglio in Appendice A1.

La figura 2.1 descrive lo schema del modello preso in considerazione. In tale immagine le linee continue indicano i flussi metabolici, mentre le linee tratteggiate indicano le azioni di controllo messe in atto.

Il primo sottosistema, riguardante la cinetica del glucosio, è espresso tramite un modello bicompartimentale: il primo insulino-indipendente (plasma e tessuti a rapido raggiungimento dell'equilibrio, come fegato e reni) ed il secondo insulino-dipendente (tessuti periferici, quali muscoli e tessuti adiposi). La cinetica dell'insulina è descritta da un sistema tri-compartimentale (riguardante fegato (I_l), plasma (I_p) e spazio extra vascolare (I_{ev})), mentre quella riguardante il C-peptide è definita da un modello bicompartimentale.

Al fine di riprodurre la fisiologia del soggetto T2D, il T2DS include anche un modello di secrezione endogena di insulina, calcolata come somma dei contributi di secrezione statica (ISR_s), dinamica (ISR_d), e basale (ISR_b) delle beta cellule.

L'utilizzazione di glucosio viene distinta in due componenti, una insulino-indipendente da parte del cervello, e una insulino-dipendente da parte dei muscoli e dei tessuti adiposi [6].

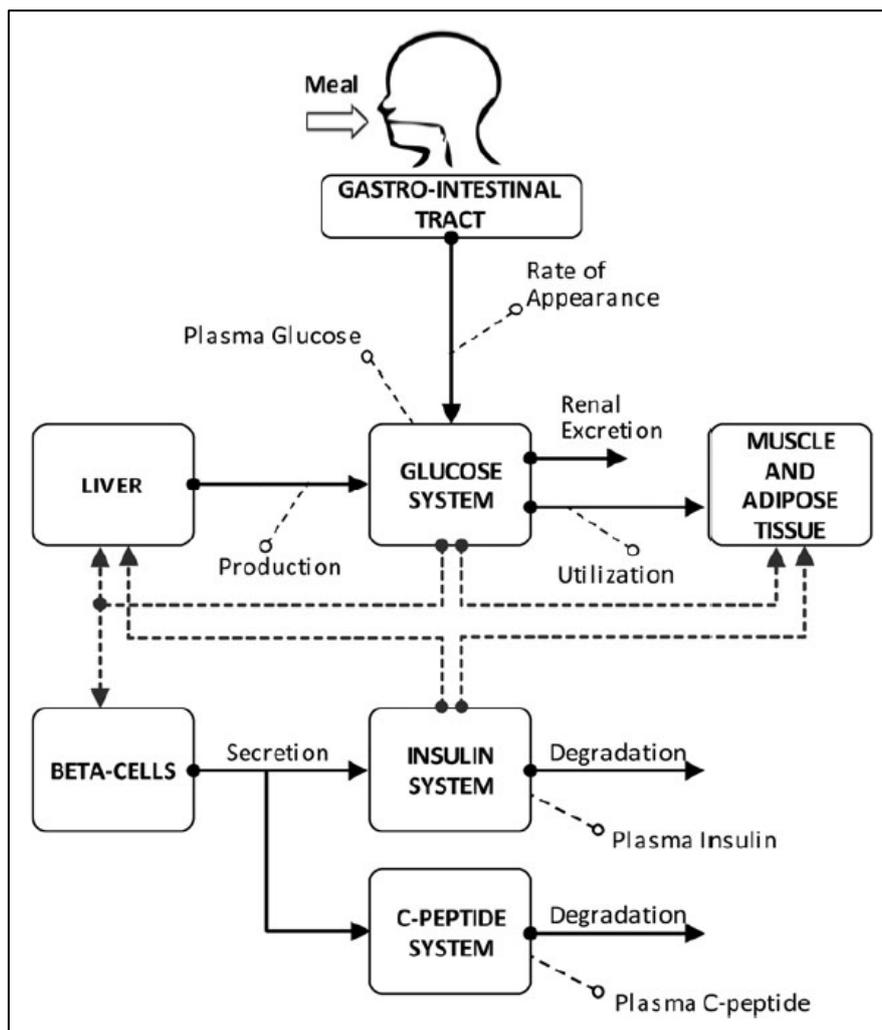


Figura 2.1 – Schema del modello T2D

2.1.2 La popolazione virtuale T2D

La popolazione utilizzata dal simulatore è composta da 100 soggetti virtuali T2D, ognuno dei quali è rappresentato da un differente set di parametri del modello. Nello specifico, il modello del T2DS è stato identificato su un dataset di 51 soggetti T2D reali sottoposti a uno studio con triplo tracciante, per cui è stato possibile disporre di una stima “modello-indipendente” di tutti i sottoprocessi fisiologici descritti nella sezione precedente. Ciò ha permesso di ottenere una distribuzione congiunta delle stime dei parametri, definita da un vettore medio μ_p ed una matrice di covarianza Σ_p :

$$\mu_p = [mean(\ln(p_1)), \dots, mean(\ln(p_{N_p}))]^T \quad (2.1)$$

$$\Sigma_p = \begin{bmatrix} var(\ln(p_1)) & \dots & cov(\ln(p_1), \ln(p_{N_p})) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ cov(\ln(p_{N_p}), \ln(p_1)) & \dots & var(\ln(p_{N_p})) \end{bmatrix} \quad (2.2)$$

Dove N_p è il numero dei parametri del modello.

La popolazione *in silico* è stata quindi generata andando ad estrarre in maniera randomica il numero desiderato di vettori dei parametri dalla distribuzione congiunta [6].

Per gli scopi di questa tesi è stata inoltre sviluppata una popolazione di soggetti T2D in fase avanzata. Tuttavia, non avendo a disposizione dati relativi a studi con traccianti multipli nella popolazione target, è stata adottata una procedura di cloning della popolazione a partire da soli dati di concentrazioni medie, disponibili dalla letteratura [7]. Ciò ha permesso di ottenere una nuova coorte di 100 soggetti adulti con T2D avanzato le seguenti caratteristiche:

Età [Anni]	Peso [kg]	MBI [kg/m ²]	FGP [mg/dL]	FPI [pmol/L]	FPCp [pmol/L]
55±18	87±15	31±5	241±31	33±13	435±133

Tabella 2.1 – Media ± deviazione standard delle caratteristiche dei soggetti virtuali T2D in fase avanzata

2.1.3 Terapia MDI nel simulatore T2D

La popolazione T2D avanzata è stata equipaggiata con parametri soggetto specifici che definiscono la terapia MDI. Nello specifico, sono stati introdotti i modelli di somministrazione e assorbimento di due diversi tipi di insuline: l’insulina lenta degludec (iDeg) e l’insulina rapida lispro (le equazioni sono riportate in dettaglio in Appendice A2.6-A2.9), le quali sono state adattate ad ogni soggetto in termini di dose e tempistiche.

2.1.3.1 Implementazione dell'insulina lenta

Per determinare il dosaggio ottimo ed il momento ottimo per l'assunzione dell'insulina iDeg, è stata seguita una procedura di due step. Per ogni soggetto è stato simulato un trial di 6 mesi, con l'assunzione di 3 pasti giornalieri (colazione, pranzo e cena) durante il quale è stato simulato l'utilizzo di insulina iDeg per la terapia MDI, partendo da una dose iniziale e modificandola di volta in volta secondo l'algoritmo descritto in tabella 2.2, al fine di raggiungere il range target di glucosio a digiuno (fasting plasma glucose, FPG) di [80-130]mg/dL. L'orario ottimo di assunzione viene selezionato tra la mattina (prima di colazione) e la sera (dopo cena) per ciascun soggetto e risulta essere quello che, in base alla glicemia della settimana precedente, minimizza il tempo trascorso in ipoglicemia (valori inferiori a 70mg/dL) e massimizza quello nel range ottimale [70-180]mg/dL.

Range ottimale di glucosio nel plasma [mg/dL]	Dose iniziale [U]
[80-130]	10
Glucosio nel plasma [mg/dL]	Modifiche alla dose [U]
<56	-4
[56-80)	-2
(130-180]	+2
(180-270]	+4
>270	+6

Tabella 2.2 – Algoritmo utilizzato per gli aggiustamenti di dose

2.3.2 Implementazione dell'insulina rapida

Al fine di determinare la dose ottima di assunzione di insulina prandiale (a colazione, pranzo e cena) è stato simulato, applicando l'algoritmo descritto in [8], un trial di 6 mesi con 3 pasti giornalieri, con la dose di insulina basale ottima determinata dalla sezione precedente. Le dosi da assumere ai pasti vengono invece aggiustate ogni tre giorni in base ai valori di glucosio postprandiale, ai valori rilevati prima del pasto successivo o al momento di coricarsi.

Nello specifico l'ottimizzazione di tale bolo insulinico è stata ottenuta regolando il rispettivo rapporto carboidrati/insulina (CR), ovvero il parametro che rappresenta il numero di unità di insulina ad azione rapida necessarie per coprire 1 grammo di carboidrati. La dose ottima di insulina viene poi determinata per ogni pasto in funzione dell'ammontare di carboidrati assunti (CHO):

$$Dose = \frac{CHO}{CR} \quad (2.3)$$

2.2 Il simulatore del soggetto T1D

Il simulatore del soggetto T1D (T1DS) si differenzia dal T2DS principalmente per le differenti caratteristiche che la malattia presenta tra le sue due forme. Come già noto, la lesione autoimmune delle beta cellule pancreatiche è tale da non garantire più la secrezione endogena di insulina nei soggetti T1D, i quali necessitano di una somministrazione insulinica per via esogena. Al fine di descrivere questa caratteristica, il T1DS include un modello di somministrazione di insulina sottocutanea.

Nel 2008 questo simulatore del soggetto T1D è stato accettato dall'agenzia regolatoria Food and Drug Administration (FDA) come sostituto della sperimentazione animale per il test preclinico delle strategie di controllo glicemico, segnando una rivoluzione nel campo della modellistica: per la prima volta, infatti, un modello implementato su un calcolatore è stato accettato da un'agenzia regolatoria come sostituto dei trial dell'animale per test insulinici [5].

2.2.1 Schema del modello di simulazione

Come discusso precedentemente, il modello di simulazione del T1DS, le cui equazioni sono riportate nel dettaglio in Appendice A2, condivide parte del modello del T2DS. A differenza di quest'ultimo, il modello del T1DS include una descrizione della cinetica del glucagone. La sua secrezione endogena da parte delle cellule alpha viene ottenuta come somma di una componente statica (SR^s_H) e dinamica (SR^d_H). Viene inoltre incorporato un modello che descrive l'assorbimento sottocutaneo di insulina esogena, e della sua velocità di comparsa nel plasma (Ra_I). Il T1DS descrive inoltre il cosiddetto "effetto alba" (dawn phenomenon), consistente in un aumento di produzione endogena di glucosio (EGP) nelle prime ore notturne in soggetti T1D. [9].

La figura sottostante descrive lo schema del modello del T1DS, dalla quale si deducono tutte le differenze dal T2DS appena descritte:

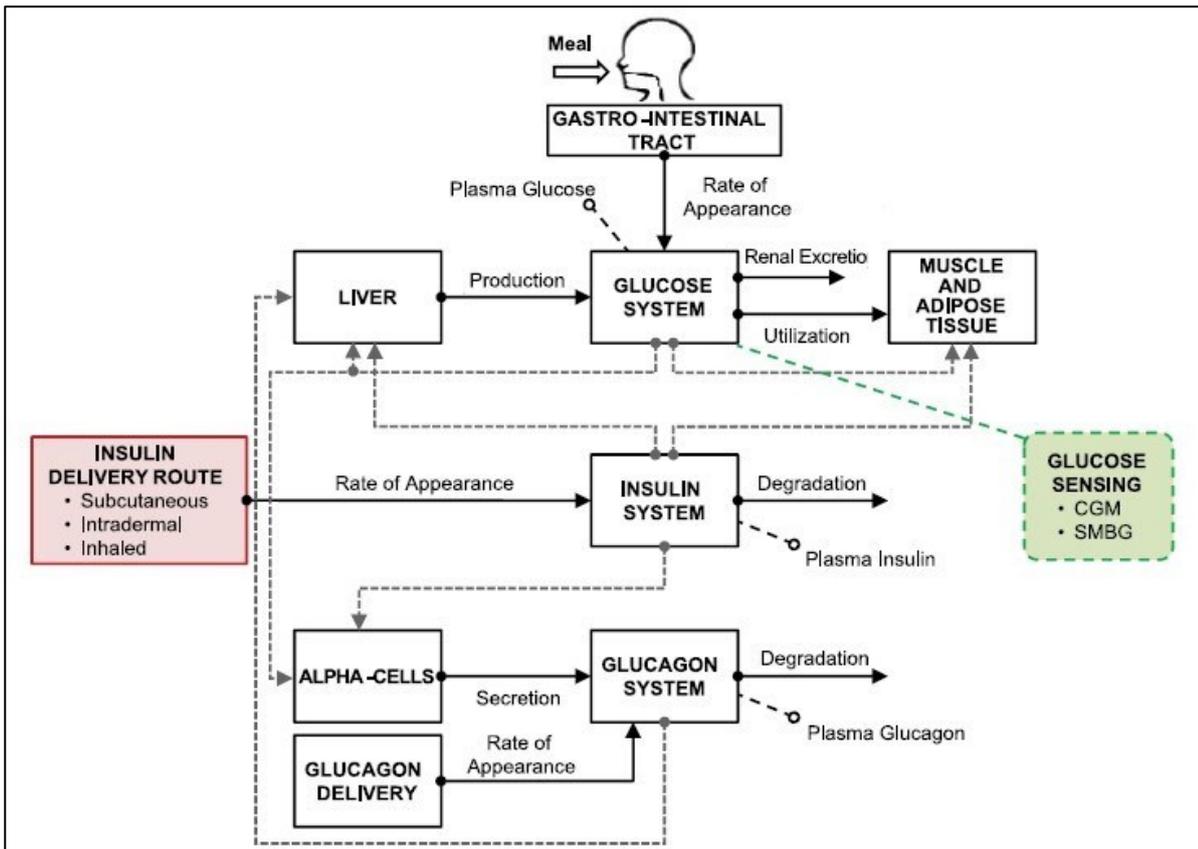


Figura 2.2 – Schema del modello T1D

2.2.2 La popolazione virtuale T1D

Il simulatore è equipaggiato con 300 soggetti virtuali: 100 adulti, 100 adolescenti e 100 bambini. Tali soggetti sono stati generati adottando la stessa strategia descritta nella sezione 2.1.2, andando a modificare opportunamente il vettore μ_p in modo da meglio ricalcare la fisiologia del soggetto T1D.

2.2.3 Terapia MDI nel simulatore T1D

Analogamente al simulatore T2D, T1DS è in grado di simulare la terapia MDI, incorporando i medesimi modelli di somministrazione esogena di insulina basale iDeg e prandiale lispro. I parametri di terapia sono stati ottimizzati in precedenza, come descritto in [9] e [10].

Capitolo 3

Studio in silico

Gli studi *in silico* sono diventati fondamentali al fine di fornire risultati preclinici credibili e sostitutivi degli esperimenti fatti sugli animali. Essi forniscono risultati in tempi significativamente più brevi rispetto a quelli richiesti dalle sperimentazioni *in vivo*, fornendo un aiuto fondamentale nello scartare scenari estremamente complessi o pericolosi [5]. In questo capitolo vengono presentati gli studi *in silico* condotti per generare i dati su cui valutare l'impatto della non aderenza alla terapia MDI nelle popolazioni T2D e T1D, andando a descriverne le caratteristiche principali in termini di durata, perturbazioni (pasti) e livelli di aderenza alla terapia.

3.1 Scenari di simulazione

Le popolazioni virtuali di soggetti T2D avanzato e T1D sono state sottoposte allo stesso studio, consistente in tre scenari di durata pari a 6 mesi (27 settimane), nei quali ogni soggetto virtuale ha assunto tre pasti giornalieri con diversi contenuti di carboidrati: colazione 58.2 ± 39 g (media \pm standard deviation), pranzo 77.7 ± 47 g e cena 83.9 ± 56 g.

Tutti i soggetti sono stati trattati con una terapia MDI che prevede un'assunzione basale di insulina degludec a colazione o al momento di coricarsi (come descritto nel capitolo 2.1.3) e, ad ogni pasto, una dose di insulina rapida lispro, il cui ammontare è funzione del contenuto di carboidrati del pasto e del CR del soggetto, come descritto in precedenza dalla formula 2.3:

$$Bolo = \frac{CHO}{CR}$$

A seconda dello scenario implementato, è stato simulato un diverso grado di aderenza alla terapia (Figura 3.1):

- 1) *Scenario 1 (ottimo)*: Ogni soggetto riceve un bolo ottimo di insulina in concomitanza di ogni pasto.
- 2) *Scenario 2 (delay/skip 80/20)*: Tra i 100 soggetti di ogni popolazione, 80 somministrano in maniera randomica il bolo di insulina pre-pasto con un ritardo compreso tra 30 e 60 minuti per tre pranzi durante i giorni lavorativi ed una cena durante il weekend; i restanti 20 soggetti saltano direttamente l'iniezione della dose in maniera randomica per tre pranzi durante la settimana e una cena durante il weekend.
- 3) *Scenario 3 (delay/skip 65/35)*: Simile allo scenario 2, con la differenza che il numero di soggetti che somministrano il bolo ritardato o lo saltano sono rispettivamente 65 e 35. Questo

scenario viene considerato come caso peggiore, secondo quanto osservato in un recente studio condotto in bambini e adolescenti [11].

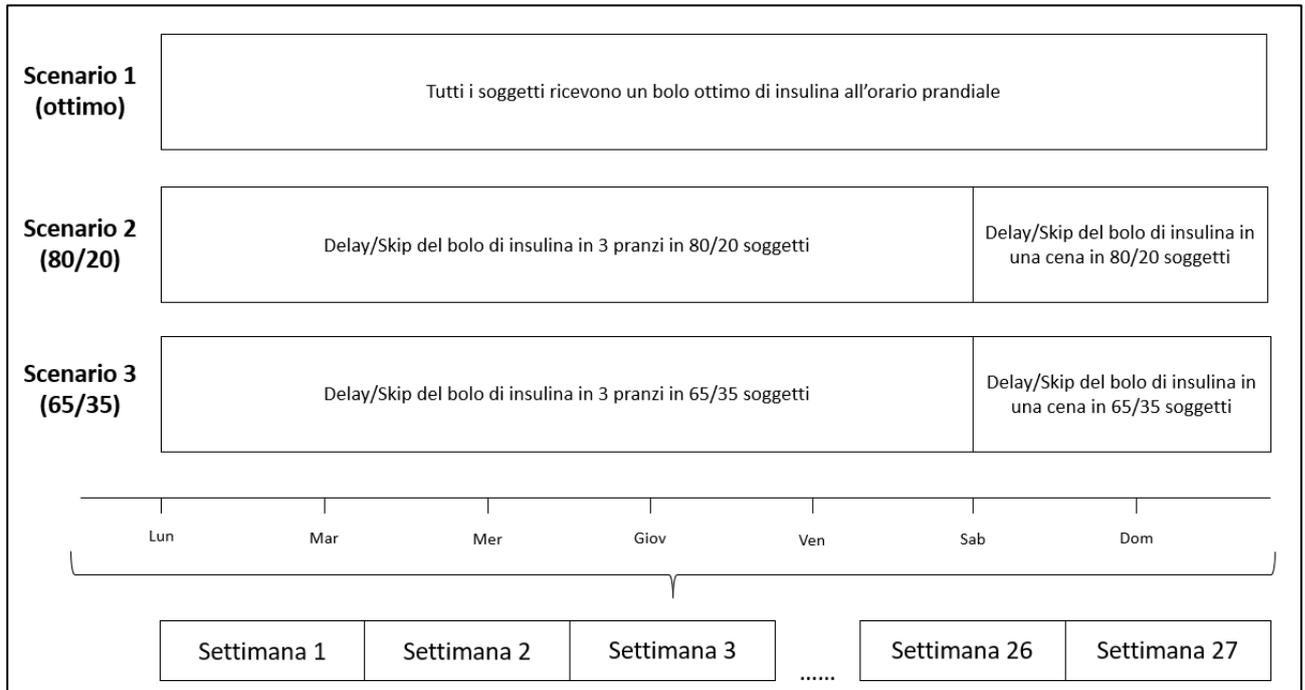


Figura 3.1: Design della sperimentazione in silico

3.2 Metriche di controllo glicemico

L'impatto dei diversi livelli di aderenza alla terapia MDI è stato valutato sulla base delle metriche di controllo glicemico comunemente impiegate [12]:

- Media: Valore medio della glicemia simulata [mg/dL];
- SD: Deviazione standard della glicemia simulata [mg/dL];
- CV: Coefficiente di variazione percentuale della glicemia simulata;
- $T_{t,70-180}$: Percentuale del tempo trascorso nel range glicemico di sicurezza (target) compreso tra 70 e 180 mg/dL;
- $T_{b,70}$: Percentuale del tempo trascorso in ipoglicemia, ossia per valori inferiori a 70 mg/dL;
- $T_{b,54}$: Percentuale del tempo trascorso in ipoglicemia severa, ossia per valori inferiori a 54 mg/dL;
- $T_{a,180}$: Percentuale del tempo trascorso in iperglicemia, ossia per valori superiori a 180 mg/dL;
- $T_{a,250}$: Percentuale del tempo trascorso in iperglicemia severa, ossia per valori superiori a 250 mg/dL;

- GMI: Glucose Management Index, indice percentuale utilizzato per stimare il valore di emoglobina glicata.

Tali metriche sono state calcolate sulla base dei valori di glucosio interstiziale misurati tramite sensore per il monitoraggio in continua della glicemia (continuous glucose monitoring, CGM), considerando tre differenti intervalli temporali:

- Durante tutte le 24 ore;
- Nelle 6 ore successive ad ogni pasto;
- Nelle 6 ore successive ad ogni pasto soggetto a una non aderenza alla terapia MDI, vale a dire bolo somministrato in ritardo (*delay*) o non dato (*skip*).

3.3 Analisi statistica

In questa tesi si fa largamente uso anche di alcune analisi di tipo statistico sia per determinare la distribuzione gaussiana dei dati, sia per valutare la significatività statistica dei confronti effettuati tra i diversi scenari. Nello specifico, per entrambe le popolazioni T2D e T1D, le metriche di controllo basate sui dati CGM degli scenari di aderenza non ottima (*delay/skip 80/20* e *delay/skip 65/36*) sono state confrontate con lo scenario ottimo, utilizzando i test di ipotesi di Student o di Wilcoxon, a seconda che le varie metriche esibissero o meno una distribuzione gaussiana, quest'ultima valutata con test di Lilliefors. Tali test vengono di seguito presentati nel dettaglio. Inoltre, al fine di valutare se un eventuale peggioramento nel controllo glicemico dovuto alla non aderenza alla terapia MDI sia più marcato in una delle due popolazioni, le stesse tecniche di analisi statistica sono state applicate per confrontare le popolazioni T2D e T1D sulla base delle deviazioni di ogni metrica di controllo calcolata nei casi di non aderenza (scenari 2 e 3) rispetto all'aderenza ottima (scenario 1). Ad esempio, nel caso del $T_{t,70-180}$, la deviazione ($\Delta T_{t,70-180}$) tra scenario 2 e scenario 1 viene calcolata come:

$$\Delta T_{t,70-180} = T_{t,70-180}^{Scenario2} - T_{t,70-180}^{Scenario1}$$

3.2.1 I test di ipotesi

I test di ipotesi sono dei test utili per aiutare a prendere una decisione su una qualche caratteristica di una popolazione. Per arrivare ad una risposta oggettiva a questa domanda si seguono solitamente una serie di step ben definiti [13]:

1. Si analizzano i dati a disposizione, ovvero si distingue il tipo di dati.
2. Si fanno alcuni assunti di base e si verificano. Per esempio, se si assume che le due popolazioni siano gaussiane lo si deve verificare.

3. Si imposta l'*ipotesi nulla*, ovvero si ipotizza una certa distribuzione tra le variabili aleatorie, la quale conferma o confutazione porterà alla risposta alla decisione da intraprendere.
4. Si costruisce la statistica, ovvero una variabile aleatoria, che verrà utilizzata per prendere la decisione sull'*ipotesi nulla*.
5. Si determina la distribuzione di tale variabile aleatoria nel caso in cui l'*ipotesi nulla* sia corretta.
6. Sulla base di una probabilità di errore si definisce la regola di decisione, ovvero si determinano le condizioni per le quali si accetta o meno l'*ipotesi nulla*.

Per il punto 6 è necessario fissare un livello di significatività statistica α definito come la probabilità di rifiutare l'*ipotesi nulla* quando questa è vera. Per accettare o rifiutare l'*ipotesi* si deve valutare se la misura t cade all'interno dell'intervallo di confidenza S , il quale può variare in base alla sua peculiarità di essere bilatero oppure unilatero (destro o sinistro); nel primo caso è definito come $S = [-\frac{\alpha}{2}; \frac{\alpha}{2}]$ mentre nel secondo come $S = [-\infty; \alpha]$ o, analogamente, come $S = [-\alpha; +\infty]$, come mostrato in figura 3.1.

Si dice in gergo che tutti i $t \in S$ sono statisticamente significativi.

In questa tesi si fa uso di tre test di ipotesi: test di Lilliefors, test di student ed il test di Wilcoxon.

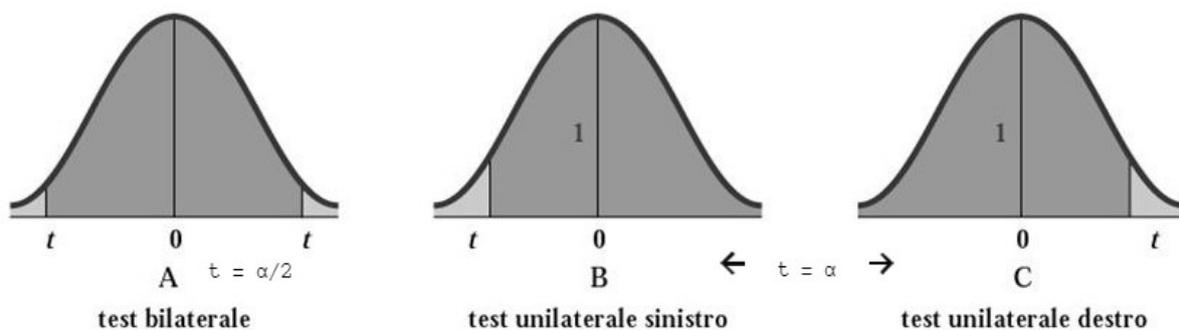


Figura 3.1 – I vari intervalli di confidenza

Test di Lilliefors

Il test di Lilliefors è un test di ipotesi che viene utilizzato nel caso in cui si sia interessati a dimostrare che il pool dei dati provenga da un certo tipo di distribuzione normale [14]. Nel nostro caso è stato utilizzato per identificare una distribuzione gaussiana nei dati.

Consiste in tre step fondamentali:

1. Stimare la media μ e la varianza σ^2 della distribuzione in base ai dati

2. Stimare il massimo scostamento L tra la funzione di distribuzione empirica $S_n(X)$ e la funzione di distribuzione della normale $F^*(X)$ con valore atteso μ e varianza σ^2 stimata al punto 1, come specificato dalla formula:

$$L = \max \{|F^*(X) - S_n(X)|\}$$

3. Studiarne la significatività statistica

Sulla base di questo test è stata verificata la distribuzione normale dei dati riguardanti il CGM nei soggetti simulati nello studio in silico.

Test di student (T-test)

Per i valori normalmente distribuiti è stato effettuato un t-test per valutare la significatività statistica dei confronti tra le varie metriche dei diversi scenari messi a confronto.

Un t-test è un test di ipotesi che valuta se due campioni di dati provengono dalla stessa popolazione o meno [13].

Per poter utilizzare il t-test è necessario prima accertarsi che i dati siano di tipo quantitativo e misurabili su una scala continua (step 1 specificato nella sezione 3.2.1), e che i campioni da confrontare estratti siano indipendenti, di dimensioni note e che provengano da popolazioni gaussiane di media e varianza conosciute (step 2).

Dopodiché si imposta l'ipotesi nulla H_0 , secondo la quale $m_1 = m_2$ (step 3) e si costruisce la variabile aleatoria volta a valutare la validità dell'ipotesi appena assunta (step 4). Per il t-test tale statistica è:

$$t = \frac{m_1 - m_2}{s_p \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}} \quad (3.1)$$

Dove m_1 e m_2 sono le medie delle due popolazioni; N_1 ed N_2 le loro cardinalità e s_p è definita come una media pesata delle varianze (s_1 e s_2), più nello specifico come:

$$s_p^2 = \frac{(N_1 - 1)s_1^2 + (N_2 - 1)s_2^2}{N_1 + N_2 - 2} \quad (3.2)$$

Segue poi la determinazione della distribuzione statistica (step 5), secondo la quale, sotto l'ipotesi H_0 , la variabile aleatoria segue una distribuzione nota, detta distribuzione di student (figura 3.2), la cui forma dipende unicamente di gradi di libertà df . Essi sono, per definizione, il numero di dati di una popolazione sottratti di un'unità. Ne segue:

$$df = (N_1 - 1) + (N_2 - 1) = N_1 + N_2 - 1 \quad (3.3)$$

Il valore di df, dipendente dal numero dei gradi di libertà, identifica la forma della curva: più grande è e più la curva tende ad assottigliarsi verso il valore medio $t = 0$, come mostrato in figura 3.2:

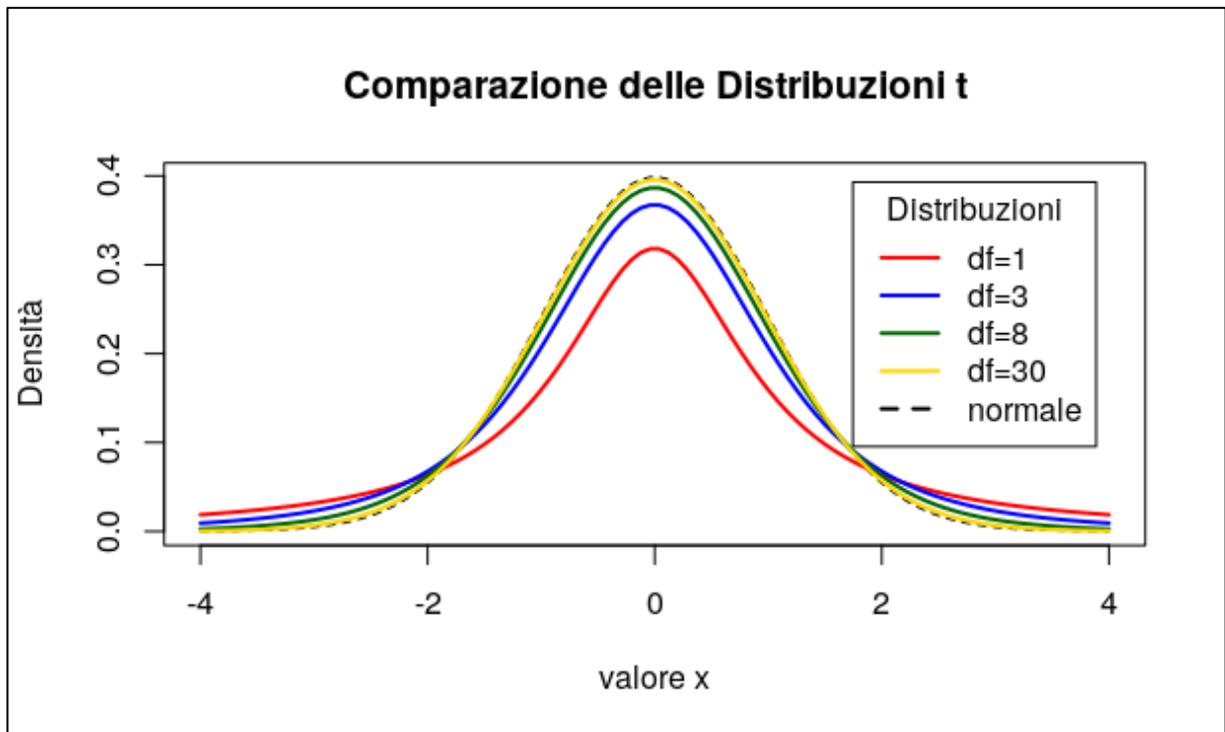


Figura 3.2 – Distribuzione di t al variare di df e confronti tra di esse e la distribuzione normale (linea nera tratteggiata)

Per concludere, si definisce una regola di decisione (step 6). Si fissa, ovvero, un livello di significatività α e si valuta l'intervallo di confidenza per quella variabile aleatoria.

Il test risulta concluso solo una volta presa una decisione riguardo l'ipotesi H_0 : la si può solo accettare o rifiutare. Per prendere questa decisione si possono utilizzare due criteri equivalenti:

Data un'estrazione di un campione $t_{\text{osservata}}$, la soglia di confidenza θ , il livello di significatività α , ed il p-value (ovvero la probabilità che un generico t sia in modulo maggiore o uguale alla $t_{\text{osservata}}$) si rifiuta l'ipotesi nulla H_0 se:

1. $|t_{\text{osservata}}| > \theta$
2. $p\text{-value} < \alpha$

Sono state definite delle tabelle contenenti i valori della t di student al variare di df e α , al fine di facilitare la scelta riguardante l'ipotesi H_0 . Esse variano in base al tipo di test utilizzato (bilatero, unilatero destro, unilatero sinistro).

Test di Wilcoxon

Il test di Wilcoxon è un test non parametrico basato sui ranghi che viene utilizzato per capire se due campioni statistici, provenienti entrambi da una distribuzione continua (non normale), provengono dalla stessa popolazione. Esso è utilizzabile nel caso in cui non sia possibile applicare il teorema del limite centrale per via della distribuzione della popolazione non normale o per via della scarsità di dati a disposizione [15].

I dati devono essere ordinabili in ranghi senza sovrapposizioni ed essere una distribuzione simmetrica. L'ipotesi nulla H_0 viene fatta sulle due mediane dei campioni estratti dalle due popolazioni: si ipotizza infatti che esse siano uguali.

Per poter accettare o meno l'ipotesi si ordinano i valori della variabile dipendente in ranghi dal più piccolo al più grande, senza tenere conto della suddivisione nelle due distribuzioni. Si effettua quindi la somma dei due ranghi dei due gruppi e si divide per il numero delle osservazioni presenti in ogni gruppo.

Il test confronta proprio le medie campionarie dei ranghi e ci si può ritrovare a dover valutare due differenti situazioni:

- Il rango medio è lo stesso, o sufficientemente simile nei due gruppi a far sì che si accetti l'ipotesi nulla H_0 .
- Vi è una differenza tale tra i due ranghi medi sufficientemente evidente da portare al rifiuto dell'ipotesi nulla H_0 .

Infine, il test ritorna anche il valore del p-value per valutare se la decisione presa sull'ipotesi nulla sia o meno statisticamente significativa in base al valore di α scelto.

Capitolo 4

Risultati

Sulla base degli scenari descritti e delle outcome analizzate, in questo capitolo verranno esposti i risultati ottenuti dallo studio in silico per poi essere interpretati al fine di valutare il raggiungimento o meno degli obiettivi predisposti all'inizio dello studio. Verrà posto sotto analisi l'impatto della non aderenza alla terapia MDI nei soggetti T2D prima e T1D poi, successivamente verranno comparate le distribuzioni delle outcome di controllo ottenute nelle due popolazioni (T2D vs. T1D) per evidenziare possibili differenze di performance tra le due popolazioni.

4.1 Popolazione T2D

La non aderenza alla terapia MDI in soggetti T2D ha un impatto negativo sul controllo glicemico, come mostrato nelle figure 4.1 e 4.2. Nello specifico, nei casi di non aderenza alla terapia si nota una progressiva tendenza a valori iperglicemici, maggiore nel caso di un aumento di soggetti che non somministrano il bolo prandiale (scenario 3).

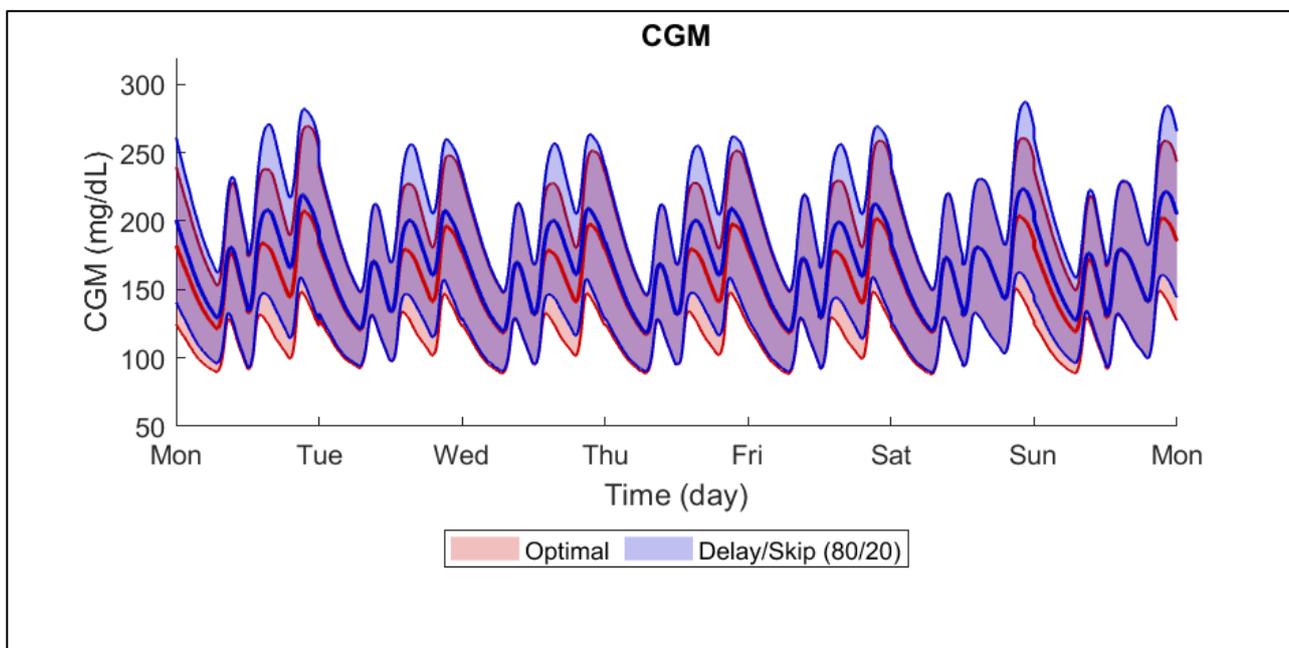


Figura 4.1 – Confronto dei profili settimanali di CGM ottenuti simulato la terapia ottima (linea rossa e area rosso chiaro) e lo scenario 2 (delay-skip 80/20, linea blu e area blu chiaro) in 100 soggetti T2D virtuali. I dati sono riportati come media (linea spessa continua) \pm standard deviation (area colorata).

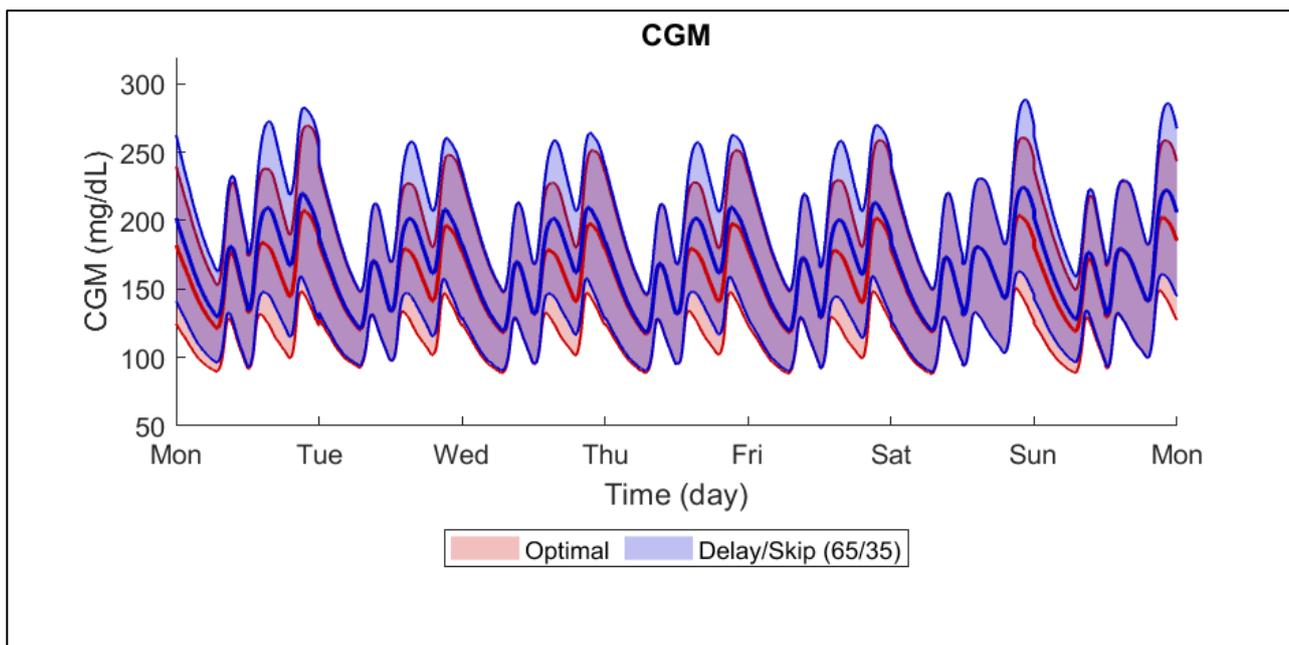


Figura 4.2 – Confronto dei profili settimanali di CGM ottenuti simulato la terapia ottima (linea rossa e area rosso chiaro) e lo scenario 2 (delay-skip 65/35, linea blu e area blu chiaro) in 100 soggetti T2D virtuali. I dati sono riportati come media (linea spessa continua) \pm standard deviation (area colorata).

Questo peggioramento, seppur molto leggero dal punto di vista clinico, viene confermato anche dalle distribuzioni delle outcome di controllo (tabella 4.1).

	Optimal bolus	Delay/Skip (80/20)	Delay/Skip (65/35)
Mean (mg/dL)	157.8 [146.1 - 168.4]	166.1 [155.9 - 176.1]*	166.1 [156.2 - 176.1]*
SD (mg/dL)	39.3 [34.8 - 45.6]	42.5 [37.8 - 47]*	42.5 [38.2 - 47.5]*
CV (%)	25.7 [22.5 - 27.9]	26.2 [23.8 - 28.2]*	26.2 [23.8 - 28.3]*
T_{t,70-180} (%)	69.2 [60.2 - 77.4]	63.6 [55.4 - 72.5]*	63.1 [55.1 - 72.4]*
T_{b,70} (%)	1.3 [0.9 - 1.9]	1 [0.7 - 1.5]*	1 [0.7 - 1.5]*
T_{b,54} (%)	0.3 [0.2 - 0.5]	0.2 [0.1 - 0.4]*	0.2 [0.1 - 0.4]*
T_{a,180} (%)	29.6 [20.4 - 38.4]	35.9 [26.9 - 43.5]*	36.1 [27.3 - 43.7]*
T_{a,250} (%)	2.9 [1.3 - 7.2]	5.4 [2.9 - 10.3]*	5.4 [3.1 - 10.7]*
GMI (%)	7.1 [6.8 - 7.3]	7.3 [7 - 7.5]*	7.3 [7 - 7.5]*

Tabella 4.1 – Scenario 1 (ottimo) vs scenario 2 (delay/skip 90/20) vs scenario 3 (delay/skip 65/35) del soggetto T2D, secondo le metriche del controllo glicemico già descritte, nell'arco temporale delle 24 ore. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Per il confronto tra T2D e T1D, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

Dalla tabella 4.1 si può notare come il tempo trascorso nel range glicemico di sicurezza ($T_{t,70-180}$) diminuisca con significatività statistica all'aumentare della non aderenza alla terapia. Parallelamente, il tempo trascorso nei range iperglicemici ($T_{a,180}$, $T_{a,250}$) aumenta significativamente; mentre i tempi trascorsi nei range ipoglicemici ($T_{b,70}$, $T_{b,54}$) si riducono significativamente, tuttavia con differenze poco apprezzabili dal punto di vista clinico. Questi sono tutti sintomi di una tendenza all'iperglicemia, confermata anche dal valore medio della concentrazione di glucosio significativamente più alto negli scenari 2 e 3.

Le tabelle 4.2 e 4.3 riportano le distribuzioni delle outcome di controllo glicemico ottenute considerando le porzioni di dati relative alle sei ore post-prandiali di tutte i pasti o dei soli pasti soggetti a non aderenza alla terapia MDI (vale a dire caratterizzati da un bolo ritardato o non somministrato).

	Optimal bolus	Delay/Skip (80/20)	Delay/Skip (65/35)
Mean (mg/dL)	167.7 [152.1 - 178.6]	174.9 [162.5 - 185.4]*	175.8 [162.8 - 186.5]*
SD (mg/dL)	36.5 [32.7 - 42.6]	40.3 [35.5 - 45.3]*	40.4 [36.0 - 45.3]*
CV (%)	22.3 [19.9 - 24.8]	23.2 [21.0 - 25.5]*	23.3 [21.2 - 25.4]*
$T_{t,70-180}$ (%)	62.2 [53.1 - 73.3]	55.5 [48.2 - 65.7]*	55.1 [48.2 - 65.7]*
$T_{b,70}$ (%)	0.8 [0.5 - 1.4]	0.6 [0.4 - 1.1]*	0.6 [0.4 - 1.1]*
$T_{b,54}$ (%)	0.2 [0.1 - 0.4]	0.1 [0.1 - 0.3]*	0.1 [0.1 - 0.3]*
$T_{a,180}$ (%)	37.3 [25.1 - 46.2]	43.6 [33.0 - 51.5]*	44.4 [33.0 - 51.5]*
$T_{a,250}$ (%)	3.8 [1.7 - 9.9]	7.4 [3.8 - 12.9]*	7.4 [4.2 - 13.7]*
GMI (%)	7.1 [6.8 - 7.3]	7.3 [7.0 - 7.5]*	7.3 [7.0 - 7.5]*

Tabella 4.2 – Scenario 1 (ottimo) vs scenario 2 (delay/skip 90/20) vs scenario 3 (delay/skip 65/35) del soggetto T2D, secondo le metriche del controllo glicemico già descritte, nell'arco temporale delle 6 ore postprandiali. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Per il confronto tra T2D e T1D, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

	Optimal bolus	Delay/Skip (80/20)	Delay/Skip (65/35)
Mean (mg/dL)	169 [154.3 - 181.5]	197.3 [186.8 - 210.3]*	197.9 [188.2 - 210.5]*
SD (mg/dL)	24.3 [20.2 - 28.1]	31.3 [27.4 - 36.6]*	31.7 [27.5 - 37.3]*
CV (%)	14.6 [12.7 - 15.8]	15.7 [14.0 - 17.4]*	15.8 [14.0 - 17.4]*
T_{t,70-180} (%)	61 [49.1 - 73.0]	36.9 [29.8 - 46.2]*	36.6 [29.1 - 46.0]*
T_{b,70} (%)	0.6 [0.3 - 1.3]	0.3 [0.1 - 0.6]*	0.3 [0.1 - 0.6]*
T_{b,54} (%)	0.1 [0.0 - 0.4]	0.1 [0.0 - 0.2]*	0.1 [0.0 - 0.2]*
T_{a,180} (%)	38.7 [25.0 - 49.9]	62.2 [53.5 - 69.8]*	62.9 [53.9 - 70.7]*
T_{a,250} (%)	3.7 [1.9 - 9.2]	15.8 [8.9 - 24.4]*	16.3 [9.3 - 24.4]*
GMI (%)	7.1 [6.8 - 7.3]	7.3 [7.0 - 7.5]*	7.3 [7.0 - 7.5]*

Tabella 4.3 – Scenario 1 (ottimo) vs scenario 2 (delay/skip 90/20) vs scenario 3 (delay/skip 65/35) del soggetto T2D, secondo le metriche del controllo glicemico già descritte, nell’arco temporale delle 6 ore successive ad un pasto soggetto ad un delay o uno skip. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Per il confronto tra T2D e T1D, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

Come si può notare, focalizzandoci sempre più sulle porzioni di dati affette da non aderenza alla terapia MDI, il peggioramento delle outcome diventa più marcato.

Dal confronto tra le tabelle 4.2 e 4.3 si evidenzia una tendenza più orientata all’iperlicemia nel caso delle sei ore postprandiali caratterizzate da uno skip o un delay. Questo comportamento indica che una mancata aderenza alla terapia può portare ad un peggioramento anche nel breve termine, ovvero nelle ore subito successive ad un pasto, oltre che nel lungo termine.

4.2 Popolazione T1D

Similmente a quanto accade per il soggetto T2D, anche nel caso del soggetto T1D si verifica un peggioramento dato dalla non aderenza alla terapia simulati negli scenari 2 e 3, come confermato dalle figure 4.3 e 4.4.

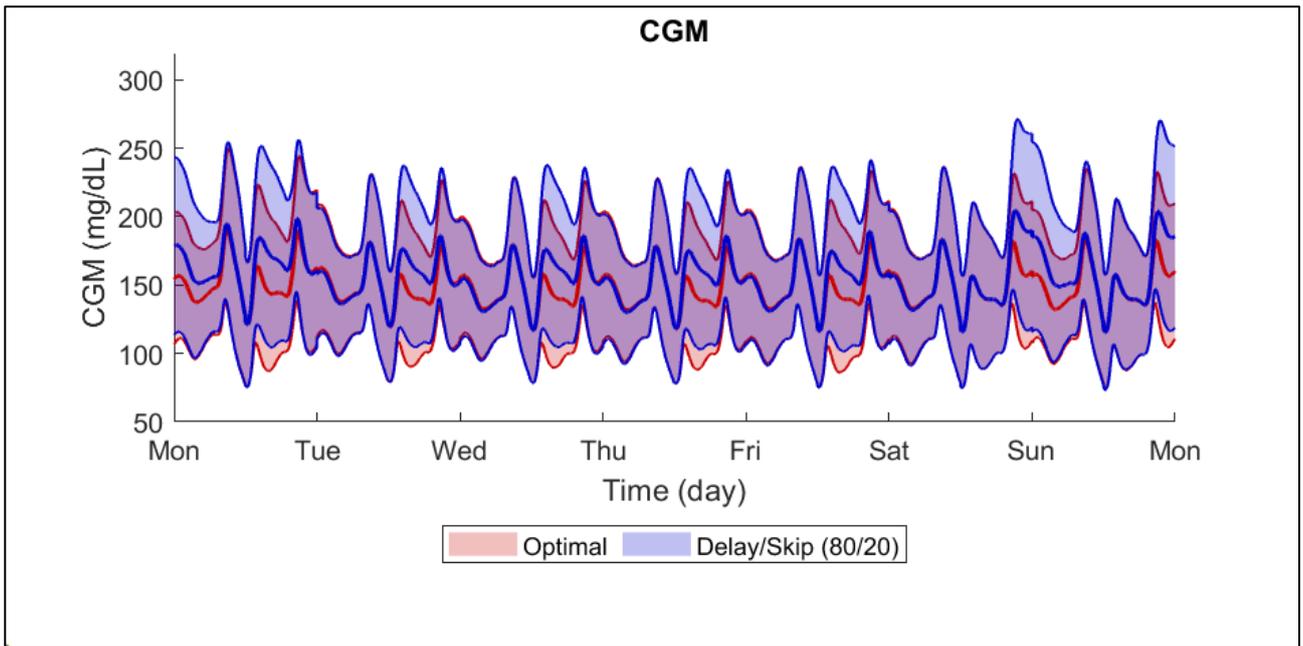


Figura 4.3 – Confronto dei profili settimanali di CGM ottenuti simulato la terapia ottima (linea rossa e area rosso chiaro) e lo scenario 2 (delay-skip 80/20, linea blu e area blu chiaro) in 100 soggetti T1D virtuali. I dati sono riportati come media (linea spessa continua) \pm standard deviation (area colorata).

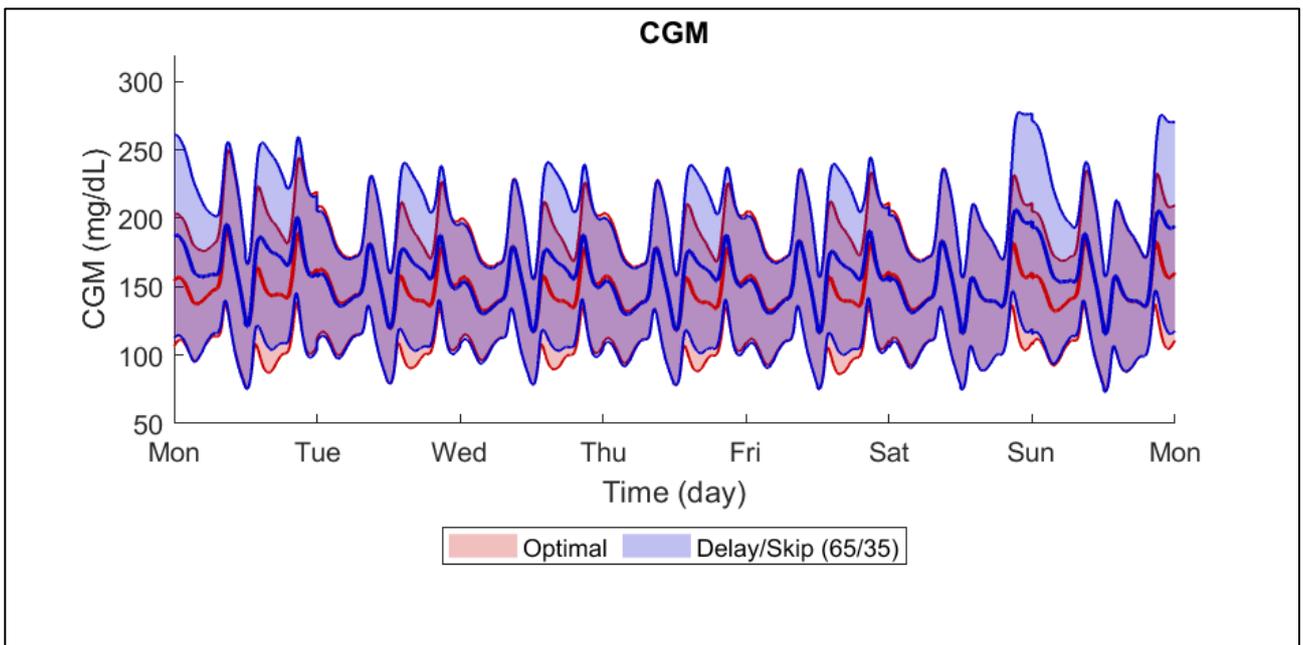


Figura 4.4 – Confronto dei profili settimanali di CGM ottenuti simulato la terapia ottima (linea rossa e area rosso chiaro) e lo scenario 3 (delay-skip 65/35, linea blu e area blu chiaro) in 100 soggetti T1D virtuali. I dati sono riportati come media (linea spessa continua) \pm standard deviation (area colorata).

La conferma viene data dai valori in tabella 4.4, dai quali si deduce che il tempo trascorso nel range glicemico di sicurezza diminuisce all'aumentare della non aderenza alla terapia, mentre i tempi trascorsi al di sopra di questo range aumentano. Tutti questi scostamenti sono statisticamente significativi secondo i test di ipotesi utilizzati.

	Optimal bolus	Delay/Skip (80/20)	Delay/Skip (65/35)
Mean (mg/dL)	148.3 [137.7 - 159.6]	154.4 [144.4 - 167.3]*	157.0 [144.6 - 168.4]*
SD (mg/dL)	39.3 [32.8 - 47.3]	44.6 [35.9 - 50.7]*	45.8 [36.2 - 52.5]*
CV (%)	26.8 [23.3 - 29.6]	27.6 [24.7 - 30.7]*	27.8 [24.8 - 31.3]*
T_{t,70-180} (%)	75.6 [68.1 - 85.3]	71.8 [63.7 - 81.6]*	70.4 [62.9 - 81.6]*
T_{b,70} (%)	2.0 [1.0 - 3.8]	1.8 [0.9 - 3.0]*	1.8 [0.9 - 3.0]*
T_{b,54} (%)	0.4 [0.2 - 1.0]	0.3 [0.2 - 0.9]*	0.4 [0.2 - 0.9]*
T_{a,180} (%)	21.3 [11.6 - 29.5]	25.5 [16.2 - 33.6]*	26.9 [16.2 - 35.8]*
T_{a,250} (%)	2.4 [1.0 - 5.1]	4.8 [1.8 - 8.4]*	5.7 [1.9 - 9.0]*
GMI (%)	6.9 [6.6 - 7.1]	7.0 [6.8 - 7.3]*	7.1 [6.8 - 7.3]*

Tabella 4.4 – Scenario 1 (ottimo) vs scenario 2 (delay/skip 90/20) vs scenario 3 (delay/skip 65/35) del soggetto T1D, secondo le metriche del controllo glicemico già descritte, nell'arco temporale delle 24 ore. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Per il confronto tra T2D e T1D, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

Anche dalla tabella 4.4 si possono notare le stesse caratteristiche notate per il soggetto T2D con tendenza all'iperglicemia: il tempo trascorso nel range glicemico di sicurezza ($T_{t,70-180}$) diminuisce con significatività statistica all'aumentare della non aderenza alla terapia, il tempo trascorso nei range iperglicemici ($T_{a,180}$, $T_{a,250}$) aumenta significativamente, mentre i tempi trascorsi nei range ipoglicemici ($T_{b,70}$, $T_{b,54}$) si riducono significativamente, tuttavia con differenze poco apprezzabili dal punto di vista clinico. Come ultima conferma si nota il valore medio della concentrazione di glucosio significativamente più alto negli scenari 2 e 3.

Anche nell'analisi circoscritta alle sei ore postprandiali nell'arco delle sei ore successive ad un pasto e nelle sei ore successive ad un pasto soggetto alla non aderenza alla terapia è confermata la presenza di questo fenomeno, come visibile dal confronto tra le metriche in tabella 4.5 e quelle in tabella 4.6.

	Optimal bolus	Delay/Skip (80/20)	Delay/Skip (65/35)
Mean (mg/dL)	151.8 [138.6 - 165.3]	159.7 [143.8 - 175.6]*	160.7 [145.5 - 176.1]*
SD (mg/dL)	39.7 [33.6 - 47.5]	44.6 [36.8 - 51.7]*	46.4 [37.2 - 53.2]*
CV (%)	25.9 [22.9 - 29.9]	26.8 [23.9 - 30.3]*	27.2 [24.1 - 31.4]*
T_{t,70-180} (%)	71.9 [61.1 - 82.7]	65.9 [56.7 - 78.1]*	65.3 [56.2 - 78]*
T_{b,70} (%)	2.1 [0.7 - 4.6]	1.7 [0.7 - 3.7]*	1.7 [0.7 - 3.7]*
T_{b,54} (%)	0.5 [0.1 - 1.4]	0.5 [0.1 - 1.1]*	0.5 [0.1 - 1.1]*
T_{a,180} (%)	24.2 [13.0 - 35.0]	30.8 [18.1 - 41.1]*	31.4 [18.2 - 42.5]*
T_{a,250} (%)	2.6 [1.0 - 6.7]	5.5 [1.9 - 10.3]*	7.0 [2.0 - 11]*
GMI (%)	6.9 [6.6 - 7.1]	7.0 [6.8 - 7.3]*	7.1 [6.8 - 7.3]*

Tabella 4.5 – Scenario 1 (ottimo) vs scenario 2 (delay/skip 90/20) vs scenario 3 (delay/skip 65/35) del soggetto T1D, secondo le metriche del controllo glicemico già descritte, nell’arco temporale delle 6 ore postprandiali. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Per il confronto tra T2D e T1D, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

	Optimal bolus	Delay/Skip (80/20)	Delay/Skip (65/35)
Mean (mg/dL)	144.4 [131.3 - 163.3]	178.9 [160.5 - 203.2]*	181.5 [161.6 - 214.2]*
SD (mg/dL)	25.4 [21.5 - 30.6]	33.3 [25.9 - 39.3]*	34.3 [26.5 - 40.7]*
CV (%)	17.9 [14.9 - 21.2]	17.7 [15.5 - 20.2]	17.7 [15.4 - 20.4]
T_{t,70-180} (%)	78.5 [61.4 - 85.5]	54.0 [38.0 - 69.4]*	51.9 [34.5 - 67.1]*
T_{b,70} (%)	1.5 [0.5 - 4.8]	0.4 [0.1 - 1.1]*	0.4 [0.1 - 1.1]*
T_{b,54} (%)	0.4 [0.1 - 1.1]	0.1 [0.0 - 0.2]*	0.1 [0.0 - 0.2]*
T_{a,180} (%)	17.4 [10.2 - 35.0]	44.8 [27.8 - 61.9]*	46.5 [29.1 - 65.0]*
T_{a,250} (%)	1.9 [0.6 - 5.7]	10.8 [4.2 - 18.9]*	11.7 [4.7 - 26.9]*
GMI (%)	6.9 [6.6 - 7.1]	7.0 [6.8 - 7.3]*	7.1 [6.8 - 7.3]*

Tabella 4.6 – Scenario 1 (ottimo) vs scenario 2 (delay/skip 90/20) vs scenario 3 (delay/skip 65/35) del soggetto T1D, secondo le metriche del controllo glicemico già descritte, nell’arco temporale delle 6 ore successive ad un pasto soggetto ad un delay o uno skip. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Per il confronto tra T2D e T1D, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

Anche per il soggetto T1D la non aderenza alla terapia porta ad un peggioramento più rilevante nelle sei ore postprandiali affette da skip o delay rispetto alle generiche sei ore successive ad un pasto, nonché rispetto alla media fatta sulle 24 ore.

4.3 Confronto T2D vs. T1D

Le variazioni nelle outcome di controllo glicemico sono state poste a confronto tra i soggetti T2D e T1D per valutare se il peggioramento dovuto alla non aderenza alla terapia MDI sia più marcato in una delle due popolazioni diabetiche.

I risultati ottenuti nelle 24 ore negli scenari 2 e 3 a confronto con quello ottimo sono descritti in tabella 4.7 e 4.8:

100 vs. 80:20	T2D	T1D
Δ Mean (mg/dL)	7.8 [5.1, 10.4]*	5.6 [3.2, 9.5]*
Δ SD (mg/dL)	2.9 [1.6, 4.7]	2.8 [1.1, 4.9]
Δ CV (%)	0.5 [-0.1, 1.4]	0.9 [0.1, 1.9]
Δ T _{t,70-180} (%)	-5.2 [-7.6, -3.1]*	-3.9 [-6.5, -1.7]*
Δ T _{b,70} (%)	-0.3 [-0.4, -0.1]*	-0.1 [-0.4, 0.0]*
Δ T _{b,54} (%)	-0.1 [-0.1, 0.0]*	0.0 [-0.1, 0.0]*
Δ T _{a,180} (%)	5.8 [3.2, 7.9]*	4.3 [1.9, 6.9]*
Δ T _{a,250} (%)	2.0 [1.2, 3.1]*	1.2 [0.5, 2.4]*
Δ GMI (%)	0.2 [0.1, 0.2]*	0.1 [0.1, 0.2]*

Tabella 4.7 – Metriche del controllo glicemico nelle 24h a confronto nello scenario 2 tra le popolazioni T1D e T2D. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Sia per il confronto tra T2D e T1D, che per il confronto con il bolo ottimo, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

100 vs. 65:35	T2D	T1D
Δ Mean (mg/dL)	7.9 [5.2, 11.0]	7.5 [4.1, 10.9]
Δ SD (mg/dL)	3.1 [1.7, 5.1]	3.6 [1.4, 6.9]
Δ CV (%)	0.6 [-0.1, 1.5]*	1.1 [0.2, 2.5]*
Δ T _{t,70-180} (%)	-5.6 [-7.7, -3.3]	-4.9 [-6.9, -2.5]
Δ T _{b,70} (%)	-0.3 [-0.4, -0.1]*	-0.1 [-0.4, 0.0]*
Δ T _{b,54} (%)	-0.1 [-0.1, 0.0]*	0.0 [-0.1, 0.0]*
Δ T _{a,180} (%)	6.1 [3.6, 8.1]	5.1 [2.8, 7.5]
Δ T _{a,250} (%)	2.1 [1.3, 3.1]	1.5 [0.7, 4.5]
Δ GMI (%)	0.2 [0.1, 0.3]	0.2 [0.1, 0.3]

Tabella 4.8 – Metriche del controllo glicemico nelle 24h a confronto nello scenario 3 tra le popolazioni T1D e T2D. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Sia per il confronto tra T2D e T1D, che per il confronto con il bolo ottimo, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

Dalla tabella 4.7 si nota che nello scenario 2 la mancata aderenza alla terapia porta ad un peggioramento statisticamente significativo più marcato nella popolazione T2D, rispetto a quella del T1D.

Infatti, il valore medio del controllo glicemico nella popolazione T2D aumenta in media (tendendo all'iperglicemia) di 7.8 mg/dL, contro i 5.6 mg/dL della popolazione T1D. Vi è quindi un aumento ritenuto statisticamente significativo maggiore nella popolazione T2D di 2.2mg/dL.

Tale peggioramento è seguito anche da una diminuzione più marcata dei tempi trascorsi nel range glicemico di sicurezza ($T_{t,70-180}$): si passa infatti da una diminuzione media di 3.9s nella popolazione T1D ad una di 5.2s nella popolazione T2D. Come ulteriori conferme statisticamente significative, anche i tempi trascorsi nei range iperglicemici ($T_{a,180}$, $T_{a,250}$) aumentano maggiormente nella popolazione T2D, mentre quelli trascorsi nei range ipoglicemici ($T_{b,70}$, $T_{b,54}$) al di sotto diminuiscono con più vigore.

Per quanto riguarda le deviazioni ottenute confrontando gli scenari 1 e 3, non è stata trovata una differenza statisticamente significativa, tra le due popolazioni. Le uniche eccezioni sono date dalle metriche riguardanti i tempi in ipoglicemia ($T_{b,70}$, $T_{b,54}$) che, per quanto statisticamente significative, non comportano una differenza rilevante dal punto di vista clinico visto il valore di partenza già di per sé modesto.

L'analisi nella fascia postprandiale ha pressoché confermato i risultati ottenuti nell'analisi delle 24 ore per ciò che riguarda sia il secondo che il terzo scenario, come visibile dai dati nelle tabelle 4.9 e 4.10 sottostanti:

100 vs. 80:20	T2D	T1D
ΔMean (mg/dL)	8.2 [5.6, 11.5]*	7.0 [4.1, 10.7]*
ΔSD (mg/dL)	3.2 [1.7, 5.1]	2.6 [1.1, 4.9]
ΔCV (%)	0.7 [0.1, 1.4]	0.7 [-0.1, 1.7]
$\Delta T_{t,70-180}$ (%)	-6.6 [-9.0, -3.6]*	-4.6 [-7.3, -2.0]*
$\Delta T_{b,70}$ (%)	-0.1 [-0.2, 0.0]	-0.1 [-0.6, 0.0]
$\Delta T_{b,54}$ (%)	-0.0 [-0.1, 0.0]	0.0 [-0.1, 0.0]
$\Delta T_{a,180}$ (%)	6.9 [3.6, 9.1]*	5.0 [2.6, 7.9]*
$\Delta T_{a,250}$ (%)	2.6 [1.6, 4.3]*	1.6 [0.6, 2.9]*
ΔGMI (%)	0.2 [0.1, 0.2]*	0.1 [0.1, 0.2]*

Tabella 4.9 – Metriche del controllo glicemico nelle sei ore postprandiali a confronto nello scenario 2 tra le popolazioni T1D e T2D. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Sia per il confronto tra T2D e T1D, che per il confronto con il bolo ottimo, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

100 vs. 65:35	T2D	T1D
Δ Mean (mg/dL)	8.4 [5.9, 12.2]	8.2 [4.9, 12.2]
Δ SD (mg/dL)	3.3 [1.9, 5.5]	3.4 [1.2, 6.9]
Δ CV (%)	0.7 [0.1, 1.5]	0.9 [-0.1, 2.3]
Δ T _{t,70-180} (%)	-6.8 [-9.2, -3.6]*	-5.5 [-8.1, -2.9]*
Δ T _{b,70} (%)	-0.1 [-0.2, 0.0]	-0.1 [-0.6, 0.0]
Δ T _{b,54} (%)	0.0 [-0.1, 0.0]	0.0 [-0.1, 0.0]
Δ T _{a,180} (%)	7.2 [3.7, 9.5]*	5.7 [3.4, 8.2]*
Δ T _{a,250} (%)	2.7 [1.7, 4.3]*	1.8 [0.8, 5.0]*
Δ GMI (%)	0.2 [0.1, 0.3]	0.2 [0.1, 0.3]

Tabella 4.10 – Metriche del controllo glicemico nelle sei ore postprandiali a confronto nello scenario 3 tra le popolazioni T1D e T2D. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Sia per il confronto tra T2D e T1D, che per il confronto con il bolo ottimo, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

La situazione cambia quando si analizzano le sei ore successive ad un pasto soggetto a skip o delay del bolo di insulina. Le tabelle 4.11 e 4.12, infatti, evidenziano un peggioramento più intenso nella popolazione T1D, al contrario di quanto ottenuto dalle due analisi sopra descritte.

Anche se sono poche le metriche che presentano una differenza ritenuta statisticamente significativa, se le si osserva una ad una pare che ci sia una tendenza, seppur leggera, che evidenzia un peggioramento più modesto nella popolazione T2D.

Si può pensare che questo fenomeno sia dovuto all'assenza di secrezione endogena di insulina nei pazienti T1D, con la conseguenza che la mancata aderenza alla terapia vada a gravare maggiormente sul controllo glicemico rispetto a quanto accada nei pazienti T2D.

100 vs. 80:20	T2D	T1D
ΔMean (mg/dL)	26.9 [16.1, 39.1]	30.2 [18.9, 43.5]
ΔSD (mg/dL)	5.8 [2.9, 11.4]	6.3 [3.3, 11.1]
ΔCV (%)	1.1 [-0.4, 3.1]	0.8 [-1.9, 3.3]
ΔT_{t,70-180} (%)	-20.3 [-30.8, -11.1]	-18.4 [-28.7, -9.7]
ΔT_{b,70} (%)	-0.2 [-0.5, -0.1]*	-0.8 [-2.7, -0.2]*
ΔT_{b,54} (%)	0.0 [-0.2, 0.0]*	-0.2 [-0.5, 0.0]*
ΔT_{a,180} (%)	21.2 [11.3, 32.3]	22.0 [12.2, 30.2]
ΔT_{a,250} (%)	9.5 [5.7, 15.6]*	7.8 [3.1, 12.7]*
ΔGMI (%)	0.2 [0.1, 0.2]*	0.1 [0.1, 0.2]*

Tabella 4.11 – Metriche del controllo glicemico nelle sei ore postprandiali affette da delay o skip a confronto nello scenario 2 tra le popolazioni T1D e T2D. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Sia per il confronto tra T2D e T1D, che per il confronto con il bolo ottimo, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

100 vs. 65:35	T2D	T1D
ΔMean (mg/dL)	28.3 [17.6, 40.4]*	35.3 [22.1, 48.5]*
ΔSD (mg/dL)	6.1 [2.9, 12.0]	7.3 [3.4, 13.0]
ΔCV (%)	1.1 [-0.4, 3.3]	0.6 [-1.7, 3.4]
ΔT_{t,70-180} (%)	-21.4 [-31.9, -11.1]	-21.6 [-30.4, -12.6]
ΔT_{b,70} (%)	-0.2 [-0.5, -0.1]*	-0.8 [-2.7, -0.3]*
ΔT_{b,54} (%)	0.0 [-0.2, 0.0]*	-0.2 [-0.5, 0.0]*
ΔT_{a,180} (%)	22.2 [11.3, 33.2]	23.4 [13.4, 31.9]
ΔT_{a,250} (%)	9.9 [5.9, 1.6]	8.4 [3.3, 21.5]
ΔGMI (%)	0.2 [0.1, 0.3]	0.2 [0.1, 0.3]

Tabella 4.12 – Metriche del controllo glicemico nelle sei ore postprandiali affette da delay o skip a confronto nello scenario 3 tra le popolazioni T1D e T2D. I valori in tutte le tabelle sono descritti da: media + [25°-75°] quartile. Sia per il confronto tra T2D e T1D, che per il confronto con il bolo ottimo, in caso di distribuzione normale dei dati, è stato effettuato un t-test, altrimenti il test di Wilcoxon. Il livello di significatività è $\alpha = 0.05$ e un asterisco indica significatività statistica (rimarcata dal testo in grassetto).

Capitolo 5

Conclusioni

I soggetti affetti da diabete di tipo 2 (T2D) avanzato devono seguire una terapia insulinica multiiniettiva (MDI) sostitutiva al fine di controllare le escursioni glicemiche dovute ai pasti assunti e altri possibili fattori esterni. In questo contesto, una mancata aderenza alla terapia MDI può portare ad un peggioramento sul controllo glicemico, come già osservato in pazienti diabetici di tipo 1 (T1D). L'obiettivo di questa tesi è stato valutare quantitativamente l'impatto della non aderenza alla terapia MDI nei pazienti T2D, e confrontarlo successivamente con l'effetto osservato in soggetti T1D.

Per questo scopo sono stati utilizzati i simulatori dei soggetti T2D (T2DS) e T1D (T1DS), validi strumenti di supporto al test di terapie farmacologiche per il trattamento della patologia diabetica. Tramite questi software è stato possibile condurre un trial *in silico* sottoponendo entrambe le popolazioni T2D e T1D a tre scenari che simulano un diverso grado di aderenza alla terapia MDI. I profili glicemici risultanti sono stati poi valutati sulla base delle comuni metriche di controllo glicemico, considerando tre intervalli temporali differenti: le 24 ore giornaliere, le sei ore postprandiali, e le sei ore successive ad un pasto affetto da non aderenza alla terapia, vale a dire non controllato (skip) oppure controllato con un bolo di insulina ritardato rispetto all'inizio del pasto (delay).

Nel complesso, lo studio ha evidenziato un peggioramento dei valori glicemici in entrambe le popolazioni T2D e T1D ed in tutti e tre gli archi temporali presi in esame.

Per quanto riguarda le 24 ore giornaliere, nei casi di non aderenza alla terapia si è osservato un aumento dei valori glicemici (figure 4.1-4.4) con una più marcata tendenza all'iperglicemia nei soggetti T2D rispetto ai T1D. Il peggioramento del controllo glicemico diventa più evidente in entrambe le popolazioni man mano che ci si focalizza alle porzioni di dati maggiormente interessate dalla non aderenza alla terapia MDI.

Volendo determinare quale popolazione risenta maggiormente della non aderenza alla terapia MDI in termini di peggioramento del controllo glicemico, sono state confrontate per ogni metrica di controllo glicemico le deviazioni rispetto alla condizione ottima di aderenza. I risultati hanno evidenziato una degradazione del controllo glicemico maggiore nei soggetti T1D rispetto ai soggetti T2D, con un trend peggiorativo in tutte le outcome, in alcuni casi anche statisticamente significativo. Ciò potrebbe essere dovuto alla diversa patofisiologia delle due forme diabetiche. Il T1D è caratterizzato da una lesione autoimmune delle beta-cellule, e quindi da una totale assenza di

secrezione insulinica endogena. Di contro, i soggetti T2D, seppur a uno stadio patologico avanzato potrebbero disporre di una secrezione insulinica endogena residua, che, seppur in minima parte, potrebbe compensare la carenza di insulina esogena nei casi di non aderenza alla terapia.

In tale direzione, un possibile sviluppo futuro riguardante questo studio potrebbe vertere su un ulteriore approfondimento delle cause principali che generano la differenza tra T2D e T1D legate alla risposta alla non aderenza alla terapia, andando per esempio ad analizzare le dinamiche di C-peptide e insulina nei soggetti T2D.

Un ulteriore approfondimento potrebbe riguardare lo sviluppo di nuove regole decisionali per ottimizzare le correzioni di insulina, al fine di migliorare il controllo glicemico durante le situazioni di non aderenza alla terapia MDI.

Appendice A1 – Equazioni del modello del simulatore T2D

Cinetica del glucosio

$$\begin{cases} \dot{G}_p(t) = EGP(t) + Ra_{meal}(t) - U_{ii}(t) - E(t) - k_1 G_p(t) + k_2 G_t(t) \\ \dot{G}_t(t) = -U_{id}(t) + k_1 G_p(t) - k_2 G_t(t) \\ \dot{G}(t) = \frac{G_p(t)}{V_G} \end{cases} \quad (A1.1)$$

$$\text{Con } \begin{cases} G_p(0) = G_{pb} \\ G_t(0) = G_{tb} \\ G(0) = G_b \end{cases}$$

Dove G_p è la quantità di glucosio nel plasma e nei tessuti a rapido raggiungimento dell'equilibrio [mg/kg] mentre G_t la quantità di glucosio nel plasma e nei tessuti a lento raggiungimento dell'equilibrio [mg/kg]; G indica la concentrazione di glucosio nel plasma [mg/dL]; EGP è la produzione endogena del glucosio; Ra_{meal} il tasso di presenza di glucosio nel plasma [mg/(kg*min)]; E l'escrezione renale [mg/(kg*min)]; U_{ii} , U_{id} indicano, rispettivamente, la quantità di glucosio insulino indipendente e dipendente; V_G è il volume di distribuzione [dL/kg]; k_1 e k_2 rate di interscambio tra plasma e tessuti [min^{-1}]; ed il suffisso b sta ad indicare lo stato basale.

Cinetica dell'insulina

$$\begin{cases} \dot{I}_l(t) = -(m_1 + m_3(t))I_l(t) + m_2 I_p(t) + \frac{ISR(t)}{BW} \\ \dot{I}_p(t) = -(m_2 + m_4 + m_5)I_p(t) + m_1 I_l(t) + m_6 I_{ev}(t) \\ \dot{I}_{ev}(t) = -m_6 I_{ev}(t) + m_5 I_p(t) \\ I(t) = \frac{I_p(t)}{V_I} \end{cases} \quad (A1.2)$$

$$\text{Con } \begin{cases} I_l(0) = I_{lb} \\ I_p(0) = I_{pb} \\ I_{ev}(0) = I_{evb} \\ I(0) = I_b \end{cases}$$

$$m_3(t) = \frac{HE(t) * m_1}{1 - HE(t)} \quad (A1.3)$$

$$HE(t) = -a_G * G(t) + a_{0G} \quad (A1.4)$$

Qui I indica la concentrazione di insulina nel plasma [pmol/L]; ISR il tasso di secrezione di insulina (e C-peptide) delle cellule beta [pmol/min]; HE l'estrazione epatica [adimensionale] derivato da (A1.2) come valore iniziale; m_1 , m_2 , m_4 , m_5 , m_6 sono rate di scambio o degradazione [min^{-1}]; a_G indica il controllo del glucosio nell'HE [dL/mg], mentre a_{0G} l'HE estrapolato a glucosio zero [adimensionale] derivato da (A1.4) come valore iniziale; V_I il volume di distribuzione [L/kg]; il suffisso b lo stato basale.

Cinetica del C-Peptide

$$\begin{cases} C\dot{P}_1(t) = -(k_{01} + k_{21})CP_1(t) + k_{12}CP_2(t) + \frac{ISR(t)}{V_C} \\ C\dot{P}_2(t) = -k_{12}CP_2(t) + k_{21}CP_1(t) \end{cases} \quad (A1.5)$$

$$\text{Con} \quad \begin{cases} CP_1(0) = CP_b \\ CP_2(0) = \frac{k_{21}}{k_{12}}CP_b \end{cases}$$

Dove CP_1 , CP_2 indicano la concentrazione di C-peptide, rispettivamente, nel compartimento accessibile ed in quello periferico [pmol/L]; k_{01} , k_{12} , k_{21} sono parametri di velocità [min^{-1}] fissati a valori standard per la popolazione come descritto in [17]; V_C è il volume di distribuzione (L) fissato a valore standard per la popolazione come descritto in [17]; ed il suffisso b indica lo stato basale.

Velocità di comparsa del glucosio

$$\begin{cases} Q_{sto}(t) = Q_{sto1}(t) + Q_{sto2}(t) \\ \dot{Q}_{sto1}(t) = -k_{max}Q_{sto1}(t) + D * \delta(t) \\ \dot{Q}_{sto2}(t) = -k_{empt}(Q_{sto})Q_{sto2}(t) + k_{max}Q_{sto1}(t) \\ \dot{Q}_{gut}(t) = -k_{abs}Q_{gut}(t) + k_{empt}(Q_{sto})Q_{sto2}(t) \\ Ra_{meal}(t) = \frac{f * k_{abs}Q_{gut}(t)}{BW} \end{cases} \quad (A1.6)$$

$$\text{Con} \quad \begin{cases} Q_{sto}(0) = 0 \\ Q_{sto1}(0) = 0 \\ Q_{sto2}(0) = 0 \\ Q_{gut}(0) = 0 \\ Ra_{meal}(0) = 0 \end{cases}$$

$$k_{empt}(Q_{sto}) = k_{min} + \frac{k_{max} - k_{min}}{2} * \{ \tanh[\alpha(Q_{sto} - \beta * D)] - \tanh[\beta(Q_{sto} - c * D)] + 2 \} \quad (A1.7)$$

$$\alpha = \frac{5}{2 * D * (1 - b)} \quad (A1.8)$$

$$\beta = \frac{5}{2 * D * d} \quad (A1.9)$$

Dove: Q_{sto} è l'ammontare di glucosio nello stomaco [mg] suddiviso in una componente solida, Q_{sto1} , e liquida, Q_{sto2} ; Q_{gut} è la massa di glucosio nell'intestino [mg]; BW è il peso corporeo [kg]; k_{abs} è la costante di assorbimento intestinale [min^{-1}]; k_{max} è il massimo tasso di svuotamento gastrico [min^{-1}]; k_{min} è il minimo tasso di svuotamento gastrico [min^{-1}]; b e d sono i punti di flesso della curva di svuotamento gastrico [adimensionale] fissato a 0.10[0.06-0.14]; f è il tasso di ritardo di azione dell'insulina [adimensionale] [18];

Produzione endogena di glucosio

$$EGP(t) = k_{p1} - k_{p2} * G_p(t) - k_{p3} * X^L(t) + k_{p4} * I_l(t) \quad (A1.10)$$

$$\dot{X}^L(t) = -k_i * [X^L(t) - I'(t)] \quad X^L(0) = I_b \quad (A1.11)$$

$$\dot{I}'(t) = -k_i * [I'(t) - I(t)] \quad I'(0) = I_b \quad (A1.12)$$

Dove X^L indica un'azione ritardata dell'insulina sul fegato; k_{p1} è la produzione endogena di glucosio rilevata a zero glucosio e zero insulina [mg/(kg*min)] derivato da (A1.10) come valore iniziale; k_{p2} è l'efficacia del glucosio a livello epatico [min^{-1}]; k_{p3} è la sensibilità all'insulina sulla produzione epatica di glucosio [mg/kg/min per pmol/L]; k_{p4} è la sensibilità insulinica portale [mg/kg/min per pmol/L]; k_i è un tasso di ritardo dell'azione insulinica [min^{-1}]

Secrezione endogena di insulina

$$ISR_d(t) = \begin{cases} V_c * \phi_d * \dot{G}(t), & \text{se } \dot{G}(t) \geq 0 \\ 0, & \text{se } \dot{G}(t) < 0 \end{cases} \quad (A1.13)$$

$$ISR_b(t) = CP_b * k_{01} * V_c \quad (A1.14)$$

$$\dot{ISR}_s(t) = -\alpha * [ISR_s(t) - V_c * \phi_s * (G(t) - h)] \quad ISR(0) = 0 \quad (A1.15)$$

$$ISR(t) = ISR_s(t) + ISR_d(t) + ISR_b(t) \quad (A1.16)$$

Dove: ISR è il tasso totale di secrezione dalle cellule-beta [pmol/min]; ISR_d il tasso dinamico di secrezione dalle cellule-beta [pmol/min]; ISR_s il tasso statico di secrezione dalle cellule-beta [pmol/min]; ISR_b il tasso di secrezione dalle cellule-beta basale [pmol/min]; G la concentrazione di glucosio nel plasma [mg/dL]; α il delay tra la secrezione di insulina e quella del glucosio [min^{-1}]; ϕ_s la responsività delle cellule beta al glucosio [10^{-9} min^{-1}]; ϕ_d la responsività delle cellule beta al tasso di variazione del glucosio [10^{-9} min^{-1}]; h è la soglia sulla secrezione del glucosio delle cellule beta [mg/dL]; il suffisso b indica lo stato basale.

Utilizzazione del glucosio

$$\begin{cases} U_{ii}(t) = F_{cns} \\ U_{id}(t) = \frac{[V_{m0} + V_{mx} * X(t) * (1 + r_1 * risk)] * G_t(t)}{K_{m0} + G_t(t)} \end{cases} \quad (A1.17)$$

Con:

$$\dot{X}(t) = -p_{2u} * X(t) + p_{2u} * [I(t) - I_b] \quad X(0) = 0 \quad (A1.18)$$

$$risk = \begin{cases} 0, & \text{se } G \geq G_b \\ 10 * [f(G)]^2, & \text{se } G_{th} \leq G \leq G_b \\ 10 * [f(G_{th})]^2, & \text{se } G \leq G_{th} \end{cases} \quad (A1.19)$$

$$f(G) = [\log(G)]^{r_2} - [\log(G_b)]^{r_2} \quad (A1.20)$$

Dove: U_{ii} , U_{id} indicano la quantità di glucosio utilizzata, rispettivamente, insulino-indipendente ed insulino-dipendente [mg/(kg*min)]; X l'azione dell'insulina nell'utilizzo del glucosio [pmol/L]; G_t è

la massa di glucosio nei tessuti [mg/dL]; G è la concentrazione di glucosio nel plasma [mg/dL]; F_{ens} indica l'utilizzo del glucosio insulino indipendente [mg/(kg*min)] fissato a 1 [18]; V_{mx} indica la sensibilità dell'insulina all'utilizzo del glucosio [mg/(kg*min) per pmol/L]; K_{m0} è la massa di glucosio che compare nella relazione di Michealis-Menten [mg/kg]; P_{2U} è la velocità di azione dell'insulina sull'utilizzo del glucosio [min^{-1}]; r_1, r_2 sono due parametri della funzione di rischio [adimensionali] [19]; il suffisso b indica lo stato basale.

Estrazione renale

$$E(t) = \begin{cases} k_{e1} * [G_p(t) - k_{e2}], & \text{se } G_p(t) > k_{e2} \\ 0, & \text{se } G_p(t) \leq k_{e2} \end{cases} \quad (\text{A1.21})$$

Dove: E è l'estrazione renale [mg/(kg*min)]; G_p è la massa di glucosio nel plasma [mg/kg]; k_{e1} è il tasso di filtrazione glomerulare [min^{-1}] fissato a 0.0005 min^{-1} [18]; k_{e2} è la soglia renale del glucosio [mg/kg] fissato a 339 mg/kg [18].

Appendice A2 – Equazioni del modello del simulatore T1D

Le equazioni (A1.1), (A.1.5-A1.9), (A.1.13-A1.16), (A.1.18-A1.21) dell'appendice A1 sussistono anche per l'appendice A2, con l'aggiunta di:

Cinetica della somministrazione esterna di glucagone

$$\dot{H}(t) = -n * H(t) + SR_H(t) + Ra_H(t) \quad H(0) = H_b \quad (\text{A2.1})$$

Dove H indica la concentrazione di glucagone nel plasma [ng/L]; n [min^{-1}] è la clearance; SR_H indica la secrezione di glucagone [ng/L/min]; Ra_H indica il tasso di presenza di glucagone nel plasma [ng/(Kg*min)]; b indica lo stato basale.

Cinetica della secrezione endogena di glucagone

$$SR_H(t) = SR^s_H(t) + SR^d_H(t) \quad (\text{A2.2})$$

Dove le due componenti sono:

$$\dot{SR}^s_H(t) = \begin{cases} -\rho * [SR^s_H(t) - SR^b_H], & \text{se } G(t) \geq G_b \\ -\rho * [SR^s_H(t) - \max(\frac{\sigma[G_{th}-G(t)]}{I(t)+1} + SR^b_H, 0)], & \text{se } G(t) < G_b \end{cases} \quad (\text{A2.3})$$

$$SR^d_H(t) = \delta * \max(-\frac{dG(t)}{dt}, 0) \quad (\text{A2.4})$$

Con: G e I concentrazioni di glucosio ed insulina nel plasma [mg/kg; pmol/L]; σ_2 e σ sono le responsabilità delle cellule alpha al livello di glucosio [ng/L/min per mg/dL·L/pmol]; ρ è il tasso di

velocità che tiene conto del ritardo tra la secrezione statica del glucagone e il glucosio nel plasma [min^{-1}]; il suffisso b indica lo stato basale; δ è la responsività al tasso di variazione del glucosio delle cellule alpha [$\text{ng/L} \cdot \text{mg/dL}$].

Cinetica della somministrazione di insulina esterna

$$Ra_I(t) = Ra_{Isc}(t) + Ra_{Iid}(t) + Ra_{Iih}(t) \quad (\text{A2.5})$$

Dove Ra_{Isc} è descritto da (A2.6); Ra_{Iid} è descritto da (A2.8); Ra_{Iih} è descritto da (A2.10).

Cinetica della somministrazione esterna di insulina di tipo rapido

$$Ra_{Isc}(t) = k_{a1} * I_{sc1}(t) + k_{a2} * I_{sc2}(t) \quad (\text{A2.6})$$

$$\begin{cases} \dot{I}_{sc1}(t) = -(k_d + k_{a1}) * I_{sc1}(t) + IIR(t) \\ I_{sc1}(0) = I_{sc1ss} \\ \dot{I}_{sc2}(t) = k_d * I_{sc1}(t) - k_{a2} * I_{sc2}(t) \\ I_{sc2}(0) = I_{sc2ss} \end{cases} \quad (\text{A2.7})$$

Dove I_{sc1} è la quantità di insulina non monomerica nello spazio sottocutaneo, mentre I_{sc2} indica la quantità monomerica nello spazio sottocutaneo [pmol/L]; IIR è il tasso di infusione di insulina esogena [pmol/kg/min]; k_d è parametro di velocità di dissociazione dell'insulina [min^{-1}]; k_{a1} e k_{a2} sono le costanti di velocità dell'assorbimento, rispettivamente, non monomero e monomero di insulina [min^{-1}].

Cinetica della somministrazione esterna di insulina di tipo intermedia

Nel caso di assunzione esterna di insulina di tipo intermedio, si introducono due nuovi parametri $idt_1(t)$ ed $idt_2(t)$ definiti rispettivamente dalle funzioni di trasferimento:

$$T_1(s) = \frac{L\{idt_1(t)\}}{L\{0.04 * I_{id1}(t)\}} \text{ e } T_2(s) = \frac{L\{idt_2(t)\}}{L\{k_a * I_{id1}(t)\}}.$$

La nuova cinetica diventa quindi:

$$Ra_{Iid}(t) = idt_1(t) + k_a * I_{id2}(t) \quad (\text{A2.8})$$

$$\begin{cases} \dot{I}_{id1}(t) = -(0.04 + k_d) * I_{id1}(t) + IIR(t) \\ I_{id1}(0) = I_{id1ss} \\ \dot{I}_{id2}(t) = -k_a * I_{id2}(t) + idt_2(t) \\ I_{id2}(0) = I_{id2ss} \end{cases} \quad (\text{A2.9})$$

Dove i parametri sono gli stessi dell'equazioni (A2.7) con la differenza che si riferiscono all'insulina inalatoria (individuabili dal pedice 'id') invece che a quella rapida (pedice 'sc').

Cinetica della somministrazione esterna di insulina assunta per via inalatoria

$$Ra_{I_{ih}}(t) = k_{aI_{ih}} * I_{ih}(t) \quad (A2.10)$$

$$\dot{I}_{ih}(t) = -k_{aI_{ih}} * I_{ih}(t) + F_{I_{ih}} * D \quad (A2.11)$$

Dove $k_{aI_{ih}}$ è parametro di velocità di assorbimento di insulina da parte dei polmoni [min^{-1}]; I_{ih} è la quantità di insulina negli alveoli [pmol/L]; $F_{I_{ih}}$ è la frazione di insulina inalatoria presente in quell'istante nel plasma; D è la quantità di dose assunta [pmol/kg/min].

Dawn phenomenon

$$EGP(t) = k_{p1} - k_{p2} * G_p(t) - k_{p3} * X^L(t) + \xi * X^H(t) \quad (A2.12)$$

$$\dot{X}^L(t) = -k_i * [X^L(t) - I'(t)] \quad X^L(0) = I_b \quad (A2.13)$$

$$\dot{I}'(t) = -k_i * [I'(t) - I(t)] \quad I'(0) = I_b \quad (A2.14)$$

$$\dot{X}^H(t) = -k_H * X^H(t) + k_H * \max\{(H(t) - H_b), 0\} \quad X^H(0) = 0 \quad (A2.15)$$

$$\begin{cases} U_{ii}(t) = F_{cns} \\ U_{id}(t) = \frac{k_{ir}(t) * [V_{m0} + V_{mx} * X(t) * (1 + r_1 * risk)] * G(t)}{K_{m0} + G_t(t)} \end{cases} \quad (A2.16)$$

Dove X^L indica un'azione ritardata dell'insulina sul fegato; X^H è l'azione ritardata del glucagone [ng/L]; ξ è la responsività del fegato al glucagone [$\text{mg/kg/min per ng/L}$]; k_{p2} è l'efficacia del glucosio a livello epatico [min^{-1}]; k_{p3} è la sensibilità all'insulina sulla produzione di glucosio [$\text{mg/kg/min per pmol/L}$]; k_i è un parametro di velocità che tiene conto del ritardo che intercorre tra il segnale insulinico e l'azione dell'insulina; k_H è un parametro di velocità che tiene conto del ritardo che intercorre tra la concentrazione di glucagone e la sua effettiva azione.

Bibliografia

- [1] Ministero della Salute, *Stato delle conoscenze e delle nuove acquisizioni in tema di diabete mellito*, pp.4-5, Dec 2021, https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_3229_allegato.pdf
- [2] A. Tiengo, D. Bruttomesso, *Trattamenti del diabete di tipo 1*, pp. 3-4, https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1218_ulterioriallegati_ulterioreallegato_3_allegato.pdf
- [3] R. P. Hoffman, *Adolescent adherence in type 1 diabetes*, *Compr. Ther.* 28 (2002) 128–133.
- [4] D. R. Chernavvsky et al., *Use of an artificial pancreas among adolescents for a missed snack bolus and an underestimated meal bolus*, *Pediatr. Diabetes*, vol. 17, no. 1, pp. 28–35, Feb 2016.
- [5] R. Visentin, C. Cobelli, C. Dalla Man, M. Schiavon, *I modelli massimi del metabolismo del glucosio nel diabete: perché, come e quando usarli*, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania, pp. 1-9, Mar 2017.
- [6] R. Visentin, C. Cobelli, C. Dalla Man, *The Padova Type 2 Diabetes Simulator from Triple-Tracer Single-Meal Studies: In Silico Trials Also Possible in Rare but Not-So-Rare Individuals*. *Diabetes Technol Ther.* 2020 Dec;22(12):892-903. doi: 10.1089/dia.2020.0110. Epub 2020 May 20. PMID: 32324063.
- [7] R. Visentin, M. Schiavon, and C. Dalla Man, *In Silico Cloning of Target Type 2 Diabetes Population for Treatments Development and Decision Support*, *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Int. Conf.*, vol. 2020, pp. 5111–5114, Jul. 2020, doi: 10.1109/EMBC44109.2020.9175271.
- [8] M. C. Riddle, G. B. Bolli, M. Ziemer, I. Muehlen-Bartmer, F. Bizet, and P. D. Home, *New Insulin Glargine 300 Units/mL Versus Glargine 100 Units/mL in People With Type 2 Diabetes Using Basal and Mealtime Insulin: Glucose Control and Hypoglycemia in a 6-Month Randomized Controlled Trial (EDITION 1)*, *Diabetes Care*, vol. 37, no. 10, pp. 2755–2762, Oct. 2014, doi: 10.2337/dc14-0991.

- [9] R. Visentin, E. Campos-Náñez, M. Schiavon, D. Lv, M. Vettoretti, M. Breton, B. P. Kovatchev, C. Dalla Man, C. Cobelli. *The UVA/Padova Type 1 Diabetes Simulator Goes From Single Meal to Single Day*. J Diabetes Sci Technol. 2018 Mar;12(2):273-281. doi: 10.1177/1932296818757747. Epub 2018 Feb 16. PMID: 29451021; PMCID: PMC5851236.
- [10] M. Schiavon, R. Visentin, C. Giegerich, J. Sieber, C. Dalla Man, C. Cobelli, T. Klabunde. *In Silico Head-To-Head Comparison of Insulin Glargine 300 U/mL and Insulin Degludec 100 U/mL in Type 1 Diabetes*. *Diabetes Technol Ther*. 2020 Aug;22(8):553-561.
- [11] D. R. Cherňavsky et al., *Use of an artificial pancreas among adolescents for a missed snack bolus and an underestimated meal bolus*, *Pediatr. Diabetes*, vol. 17, no. 1, pp. 28–35, Feb. 2016, doi: 10.1111/pedi.12230
- [12] T. Battelino et al., *Clinical Targets for Continuous Glucose Monitoring Data Interpretation: Recommendations From the International Consensus on Time in Range*, *Diabetes Care*, vol. 42, no. 8, pp. 1593–1603, Aug. 2019, doi: 10.2337/dci19-0028
- [13] R. Visentin, *Metodi statistici, Test d'ipotesi*, Corso di “laboratorio di bioingegneria”, Università degli studi di Padova, pp.3-7, AA. 2021-2022.
- [14] M. R. Nornadiah, Y. Bee, *Power Comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling Tests*, *J. Stat. Model. Analytics*, p.3, Gen 2011.
- [15] S. M. Taheri, G. Hesamian, *A generalization of the Wilcoxon signed-rank test and its applications*, *Statistical Papers*, pp.3-7, May 2013
- [16] R. S. Sherwin, K. J. Kramer, J. D. Tobin, et al.: *A model of the kinetics of insulin in man*, *J Clin Invest*, 1974;53:1481–1492.
- [17] E. Van Cauter, F. Mestrez, J. Sturis, K. S. Polonsky: *Estimation of insulin secretion rates from C-peptide levels: comparison of individual and standard kinetic parameters for C-peptide clearance*. *Diabetes* 1992;41:368–377.

[18] C. Dalla Man, R. A. Rizza, C. Cobelli: *Meal simulation model of the glucose-insulin system*. IEEE Trans Biomed Eng 2007;54:1740–1749.

[19] C. Dalla Man, F. Micheletto, D. Lv, et al.: *The UVA/PADOVA type 1 diabetes simulator: new features*, J Diabetes Sci Technol 2014;8:26–34.