



**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO  
DI INGEGNERIA  
DELL'INFORMAZIONE**

**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE**

**CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**“MODELLI MATEMATICI DELL'ESTRAZIONE EPATICA  
DELL'INSULINA”**

**Relatrice: Prof.ssa Chiara Dalla Man**

**Correlatore: Dott. Michele Schiavon**

**Laureando: Giovanni Iuliani**

**Matricola: 1119781**

**ANNO ACCADEMICO 2023-2024**

**15/07/2024**



# Indice

Sommario.....	4
<b>1 Introduzione.....</b>	<b>6</b>
1.1 Sistema di regolazione glucosio-insulina .....	6
1.2 Effetto dell'insulina sull'organismo.....	8
1.3 Cinetica dell'insulina.....	9
1.4 Obiettivo della tesi.....	11
<b>2 Modelli per la stima dell'estrazione epatica dell'insulina.....</b>	<b>13</b>
2.1 Modelli empirici per la stima dell'estrazione epatica .....	13
2.1.1 Rapporto molare C-peptide:insulina.....	13
2.1.2 Clamp euglicemico-iperinsulinemico .....	14
2.2 Modelli matematici compartimentali per la stima l'estrazione epatica .....	17
2.2.1 Modello Eaton et al., 1982 .....	17
2.2.2 Modello Tura et al., 2001 .....	20
2.2.3 Modello Toffolo et al., 2005.....	22
2.2.4 Modello Campioni et al., 2009.....	27
2.2.5 Modello Polidori et al., 2016.....	31
2.2.6 Modello Piccinini et al., 2016.....	34
<b>Conclusioni.....</b>	<b>40</b>
<b>Bibliografia .....</b>	<b>43</b>



# Sommario

Studi recenti hanno evidenziato come la clearance dell'insulina giochi un ruolo fondamentale del metabolismo del glucosio, poiché è stato ipotizzato che la sua compromissione potrebbe essere correlata a un aumento del rischio di sviluppare il diabete di tipo 2.

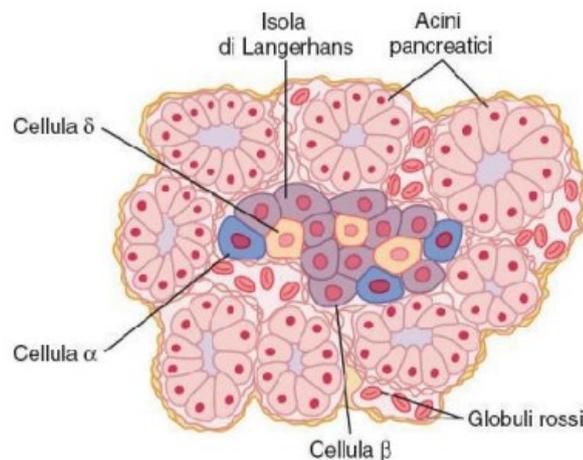
La tesi si concentra sull'estrazione epatica dell'insulina, esaminando modelli matematici di questo processo proposti in letteratura. L'introduzione fornisce una panoramica del sistema di regolazione glucosio-insulina, dell'effetto dell'insulina sull'organismo e della sua cinetica. Successivamente, vengono descritti alcuni metodi per stimare l'estrazione epatica dell'insulina, partendo da metodi empirici per poi analizzare i modelli matematici presenti in letteratura. Nella parte finale, vengono messi a confronto i diversi modelli per provare a individuare il modello più accurato e affidabile per la stima della clearance dell'insulina.



# 1 Introduzione

## 1.1 Sistema di regolazione glucosio-insulina

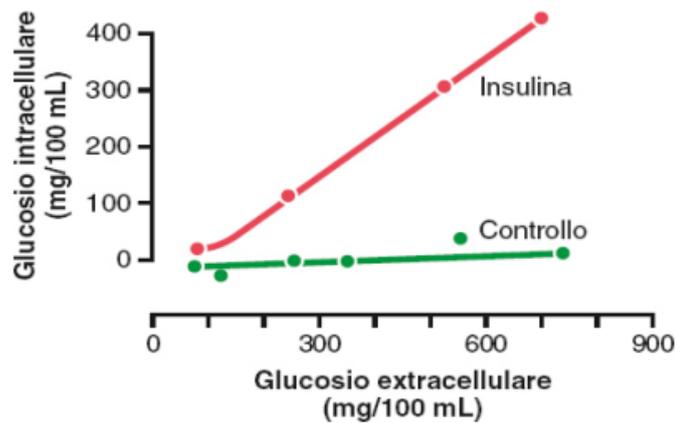
Il pancreas, un organo appartenente sia all'apparato digerente che al sistema endocrino, risiede nello spazio retroperitoneale della cavità addominale, anteriormente alle prime due vertebre lombari. Oltre alla produzione di enzimi digestivi, il pancreas svolge un ruolo cruciale nella regolazione della glicemia, scernendo due ormoni antitetici: l'insulina e il glucagone. Questi ormoni sono responsabili della gestione del metabolismo dei carboidrati, dei lipidi e delle proteine. Il tessuto pancreatico (Figura 1) costituisce una ghiandola composta da diverse tipologie di cellule secernenti. Alcune di queste cellule sono organizzate in acini, che producono il succo digestivo destinato ad essere rilasciato nel duodeno. Altre cellule, invece, sono di tipo endocrino e si trovano disperse all'interno del tessuto pancreatico, raggruppate in formazioni chiamate isole di Langerhans. Queste isole di Langerhans secernono nell'ambiente sanguigno gli ormoni fondamentali per il controllo della concentrazione di glucosio nel liquido extracellulare. All'interno delle isole di Langerhans del pancreas, si distinguono tre diversi tipi di cellule, ognuna responsabile della produzione di un ormone coinvolto nella regolazione della concentrazione di glucosio nel sangue: le cellule  $\alpha$  producono il glucagone, le cellule  $\beta$  producono l'insulina, mentre le cellule  $\delta$  producono la somatostatina.[1]



**Figura 1.** Anatomia fisiologica del pancreas con un'isola di Langerhans [1]

L'insulina viene sintetizzata all'interno delle cellule  $\beta$  seguendo il processo tipico della sintesi proteica, con la produzione di una molecola chiamata preproinsulina. Successivamente, la preproinsulina subisce una serie di tagli nel reticolo endoplasmatico che portano alla formazione della proinsulina. Infine, la proinsulina subisce ulteriori tagli e modifiche per generare l'insulina attiva, composta dalle catene A e B connesse da ponti disolfurici, e dalla catena peptidica C. L'insulina e il peptide C (prodotto durante la formazione dell'insulina) vengono immagazzinati all'interno dei granuli secretori delle cellule  $\beta$  e vengono poi secreti nel sangue in quantità equimolari. Una volta riversata nel flusso sanguigno, l'insulina circola principalmente senza legarsi a molecole di trasporto e ha una breve emivita di circa 6 minuti. Di conseguenza, la maggior parte dell'insulina viene rimossa dalla circolazione entro 10-15 minuti. A parte la quantità di insulina che si lega ai recettori sulle cellule bersaglio per svolgere la sua funzione, la parte rimanente dell'ormone viene degradata principalmente dall'enzima insulinasi, soprattutto nel fegato, e in misura minore nel rene, oltre ad altri tessuti come la tiroide. Questa rapida rimozione dell'insulina dal sangue permette di disattivare prontamente la sua funzione di controllo. [1]

Il ruolo principale dell'insulina è quello di facilitare il trasporto del glucosio attraverso la membrana della cellula muscolare. La (Figura 2) illustra l'effetto quantitativo dell'insulina nel promuovere il trasporto di glucosio. Nella curva di controllo inferiore, viene mostrato l'andamento della concentrazione intracellulare di glucosio libero. Notiamo che questa concentrazione rimane pressoché uguale a zero, anche se la concentrazione extracellulare di glucosio aumenta fino a raggiungere valori molto elevati. Nella curva superiore, invece, si rappresenta l'effetto dell'insulina sulla concentrazione di glucosio. Con la presenza dell'ormone insulina, la concentrazione di glucosio intracellulare aumenta raggiungendo un valore di 400 mg/100mL. Questo significa che l'insulina incrementa notevolmente la velocità di trasporto del glucosio nella fibra muscolare a riposo, aumentandola di almeno 15 volte rispetto alla condizione senza insulina. In sostanza, l'insulina agisce come una "chiave" che sblocca i recettori presenti sulla membrana delle cellule muscolari, consentendo così al glucosio di entrare all'interno delle cellule dove viene utilizzato come fonte di energia o immagazzinato per utilizzi futuri. Questa azione di facilitazione del trasporto del glucosio è cruciale per mantenere i livelli di glucosio nel sangue entro un range normale e per garantire un adeguato apporto di energia alle cellule muscolari.[2]



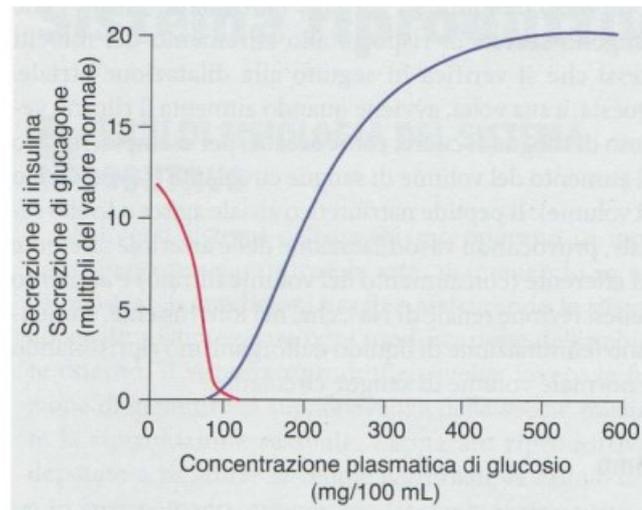
**Figura 2.** Rappresentazione grafica dell'influenza dell'insulina sul glucosio [2]

## 1.2 Effetto dell'insulina sull'organismo

L'insulina svolge un ruolo fondamentale nel favorire l'immagazzinamento del glucosio assorbito dall'intestino dopo un pasto all'interno del fegato sotto forma di glicogeno. Durante il corso della giornata, l'organismo risponde a diverse condizioni fisiologiche che influenzano i livelli di glicemia, come i pasti, l'attività fisica e il digiuno. Subito dopo un pasto ricco di carboidrati, i livelli di glucosio nel sangue aumentano, provocando una rapida secrezione di insulina da parte del pancreas. L'insulina facilita il trasporto del glucosio all'interno delle cellule dei vari tessuti, consentendo l'immagazzinamento del glucosio sotto forma di glicogeno nel fegato e nei muscoli. Esistono due situazioni nelle quali i muscoli utilizzano grandi quantità di glucosio. Una di queste è nelle prime ore dopo un pasto. In questo periodo, la concentrazione del glucosio nel sangue è alta e il pancreas secerne notevoli quantità di insulina, la quale induce un rapido trasporto del glucosio all'interno delle fibre muscolari, consentendo l'immagazzinamento del glucosio sotto forma di glicogeno muscolare. L'altra situazione riguarda l'esercizio fisico, da moderato a intenso. In questo caso, l'utilizzo del glucosio non richiede grandi quantità di insulina poiché la contrazione muscolare aumenta la traslocazione del trasportatore del glucosio 4 (GLUT 4) dalle sedi di immagazzinamento intracellulare alla membrana cellulare, il che, a sua volta, facilita la diffusione del glucosio all'interno della cellula.

Durante i periodi di digiuno o tra un pasto e l'altro, quando la concentrazione di glucosio nel sangue inizia a diminuire, il glicogeno epatico viene scisso in glucosio e rilasciato nel sangue dal fegato, impedendo una drastica diminuzione della glicemia. Da un punto di vista

quantitativo, circa il 60% del glucosio assunto tramite pasto viene immagazzinato temporaneamente nel fegato. L'ormone glucagone, invece, viene secreto quando i livelli di glicemia sono bassi e agisce sul tessuto adiposo e sul fegato con effetti metabolici opposti a quelli dell'insulina. Il glucagone ha lo scopo di fornire all'organismo substrati energetici nei momenti di digiuno. La sua secrezione inizia intorno a valori di glicemia di 70 mg/dL e aumenta progressivamente a valori più bassi (Figura 3). [2]



**Figura 3.** Rappresenta l'effetto della glicemia sulla velocità di secrezione dell'insulina (curva blu) e glucagone (curva rossa). Il punto di incrocio delle due curve rappresenta i valori normali.[2]

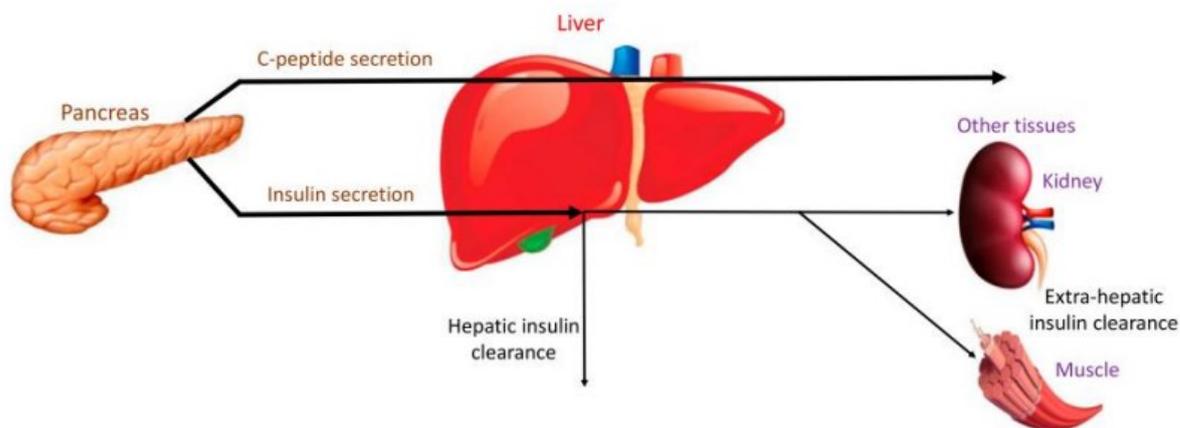
### 1.3 Cinetica dell'insulina

La clearance di un organo o capacità di smaltimento, in fisiologia, è la capacità di un organo di depurare da una sostanza nell'unità di tempo. È una portata volumetrica (volume per unità di tempo), quindi si esprime in campo medico nelle unità di misura tradizionali di mL/min. La clearance del corpo umano verso la maggior parte delle sostanze assorbite si suddivide in ordine di importanza nella somma della clearance renale, della clearance epatica, e della clearance polmonare.

La clearance dell'insulina è stata recentemente evidenziata come un aspetto fondamentale del metabolismo del glucosio, poiché è stato ipotizzato che la sua compromissione potrebbe essere correlata ad un aumentato rischio di sviluppare il diabete di tipo 2.

L'insulina ha un modello unico di distribuzione (Figura 4). Una volta prodotta dalle cellule  $\beta$ , l'insulina entra nella vena porta addominale e successivamente nel fegato; dove una parte (circa la metà) viene raccolta dagli epatociti prima che giunga nella circolazione extraepatica. Il fegato funge da gateway per l'insulina, fornendo solo la massa appropriata di insulina nell'organismo

in proporzione al fabbisogno metabolico. L'insulina che sopravvive al primo passaggio attraverso il fegato entra nelle vene epatiche e, quindi, nella circolazione sistemica dove può agire sui tessuti. Infine, viene eliminata da tessuti sensibili all'insulina, tra cui il muscolo scheletrico, i reni e il fegato (dopo la ricircolazione). L'insulina plasmatica circolante è quindi determinata dall'equilibrio tra il rilascio e la clearance dell'insulina, che sono entrambi parametri importanti per stabilire i livelli di insulina plasmatica. [3]



**Figura 4.** La logica della secrezione e della clearance dell'insulina. L'insulina e il C-peptide sono secreti equamente dalle cellule  $\beta$  del pancreas. Mentre la clearance del C-peptide è considerata trascurabile, l'insulina viene sottoposta a clearance epatica (dal fegato) ed extraepatica (da altri tessuti come il rene o il muscolo). [3]

Per clearance dell'insulina s'intende la sua completa scomparsa dal flusso sanguigno. La clearance dell'insulina consta di due processi:

- La clearance epatica consiste nell'eliminazione di una notevole quantità di insulina da parte del fegato durante il primo passaggio attraverso circolazione portale epatica (vena porta epatica), e include anche la rimozione dell'insulina da parte del fegato dopo il ricircolo.
- La clearance extraepatica consiste nell'eliminazione dell'insulina anche dagli altri tessuti, come muscoli scheletrici, reni e cuore.

Per estrazione di insulina si intende la quantità percentuale di insulina secreta che viene eliminata nell'unità di tempo, e può essere sia epatica che extraepatica; il calcolo di ciascun componente della clearance dell'insulina è proporzionale alla quantità di estrazione corrispondente.[3]

#### **1.4 Obiettivo della tesi**

Lo scopo di questa tesi è fornire una panoramica dei vari modelli matematici dell'estrazione epatica dell'insulina presenti in letteratura. Questi modelli sono strumenti matematici utilizzati per stimare la clearance dell'insulina in vivo e comprendere meglio il ruolo dell'insulina nella regolazione della glicemia. La tesi mira a raccogliere e analizzare i diversi modelli matematici proposti nella letteratura scientifica per descrivere l'estrazione epatica dell'insulina, prendendo in considerazione le loro assunzioni, formulazioni matematiche, e prestazioni. Questa panoramica fornirà una visione d'insieme dei diversi approcci matematici utilizzati per studiare la clearance dell'insulina, consentendo di comprendere meglio le differenze e le similitudini tra i modelli.

Il confronto tra i diversi modelli matematici consentirà di valutare le performance e la validità di ciascun modello e fornire una valutazione critica delle loro capacità predittive. Questo processo aiuterà a individuare il modello più accurato e affidabile per la stima della clearance dell'insulina in vivo.



# 2 Modelli per la stima dell'estrazione epatica dell'insulina

## 2.1 Modelli empirici per la stima dell'estrazione epatica

Per determinare i livelli plasmatici dell'insulina e misurare la sua clearance, sono disponibili metodi sia diretti che indiretti. Tuttavia, i metodi diretti basati su campionamento arterovenoso non sono facilmente applicabili all'uomo, poiché richiedono prelievi di sangue dalla vena porta (che raccoglie il sangue dalla parete intestinale e lo porta al fegato) e dall'arteria epatica, oltre ai campionamenti di sangue venoso. I metodi diretti richiedono inoltre la stima del flusso sanguigno epatico, cioè la quantità di sangue che attraversa il fegato in un determinato periodo di tempo. Questi metodi possono essere invasivi e complessi, poiché richiedono procedure specifiche per il campionamento e l'analisi del sangue, e non sono praticabili per la routine clinica. Per superare questa inapplicabilità consentendo ancora una quantificazione della secrezione e della clearance dell'insulina, gli approcci indiretti basati sulla modellazione cinetica sono diventati una potente alternativa per calcolare il rilascio e la clearance dell'insulina durante le prove di glucosio orale (pasto, test di tolleranza al glucosio orale [OGTT]) e per via endovenosa (clamp, test di tolleranza al glucosio per via endovenosa a campionamento frequente [FSIGT]).[3]

### 2.1.1 Rapporto molare C-peptide:insulina

Un primo metodo indiretto non-compartimentale per la stima dell'estrazione epatica dell'insulina si basa sul rapporto molare tra C-peptide e insulina. Le concentrazioni plasmatiche di C-peptide sono state riconosciute utili per il calcolo della secrezione di insulina dopo la scoperta della proinsulina e della sua scissione enzimatica in concentrazioni equimolari di insulina e C-peptide nelle cellule  $\beta$  del pancreas. Pertanto, data la secrezione equimolare di C-peptide e insulina, e assumendo che l'estrazione del C-peptide da parte del fegato sia

trascurabile e che il suo tasso di clearance metabolica sia costante in condizioni fisiologiche, è possibile stimare il tasso di secrezione insulinica (ISR) dalle concentrazioni plasmatiche di C-peptide (mediante, per es., approccio di deconvoluzione [4]). Da qui, assumendo nota e costante la clearance extraepatica dell'insulina, l'estrazione frazionaria dell'insulina epatica (HE) può essere calcolata dal rapporto molare C-peptide:insulina. Questi semplici calcoli, tuttavia, presentano delle insidie molto presto evidenziate da Polonsky et al.[5]. Se il C-peptide e l'insulina avessero cinetica identica, il rapporto molare rifletterebbe infatti la differenza di clearance (totale) dell'insulina. Tuttavia, il rapporto molare C-peptide:insulina nel sangue dipende non solo dai tassi di secrezione di questi peptidi dalle isole pancreatiche, ma anche sulla loro cinetica di scomparsa individuale. L'insulina e il C-peptide hanno emivite plasmatiche molto diverse, rispettivamente di 6 e 30 minuti circa. Inoltre, la cinetica del C-peptide può essere descritta da due compartimenti, mentre l'insulina è stata espressa con uno, due o tre compartimenti. La diversa cinetica rende problematico usare semplicemente il rapporto molare come una stima accurata dei tassi di clearance. Per tutte le ragioni di cui sopra, il rapporto molare C-peptide:insulina dipende da diversi fattori indipendenti, e quindi, il rapporto molare non può essere considerato un calcolo accurato dell'HE. Inoltre, con questo metodo, non viene fornita alcuna informazione sulla componente extraepatica della clearance dell'insulina.[3]

### **2.1.2 Clamp euglicemico-iperinsulinemico**

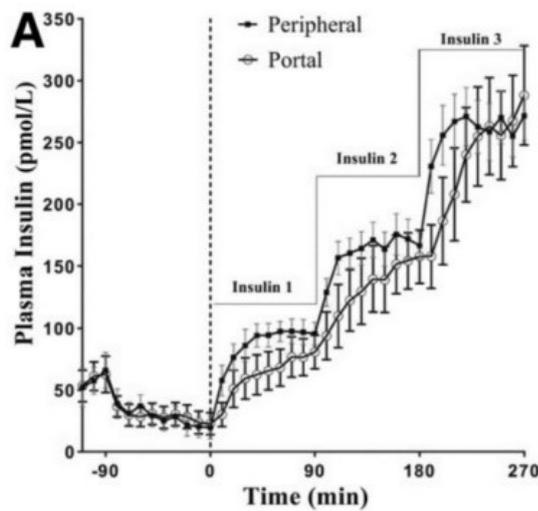
In aggiunta al rapporto molare C-peptide:insulina, un altro metodo indiretto è stato proposto sulla base del clamp euglicemico-iperinsulinemico (EGC). Questo permette di stimare il tasso di clearance metabolica totale (MCR) in vivo come il rapporto tra l'infusione di insulina esogena e la concentrazione plasmatica di insulina allo stato stazionario. L'aumento dell'insulina durante un clamp non è semplicemente dovuto alla velocità di infusione dell'insulina esogena, poiché la secrezione endogena è spesso soppressa, e l'aumento di insulina deve correggere la soppressione della comparsa di insulina endogena. Inoltre, sebbene questo metodo sia ampiamente utilizzato, esso non distingue la clearance epatica da quella extraepatica.[3] Recentemente, per calcolare l'HE mentre viene utilizzato l'EGC, è stata apportata una modifica al protocollo mediante una infusione di insulina a livello della vena porta addominale e in una seconda infusione, effettuata in un giorno successivo, a livello della vena periferica (esperimenti PPII) sempre in condizioni di euglicemia. Questa procedura consente di calcolare il tasso di clearance dell'insulina ( $CL$ ) dalla pendenza ( $m$ ) della linea più adatta delle velocità di infusione di insulina alle concentrazioni plasmatiche di insulina allo stato stazionario, sia a livello portale ( $CL_{po}$ ) che periferico ( $CL_{pe}$ ).

$$CL_{po} = \frac{1}{m_{po}} \quad (1)$$

$$CL_{pe} = \frac{1}{m_{pe}} \quad (2)$$

Dove:

- $CL_{po}$  è il tasso della clearance intraportale;
- $CL_{pe}$  è il tasso della clearance periferica;
- $m_{po}$  e  $m_{pe}$  sono rispettivamente le pendenze del tasso di infusione di insulina intraportale e del tasso di infusione di insulina periferica, rispettivamente, rispetto ai livelli plasmatici di insulina risultanti dai due protocolli (Figura 5).



**Figura 5.** Profilo dell'insulina durante gli esperimenti PPII. [3]

L'HE viene calcolata come valore percentuale:

$$HE(\%) = \left( \frac{CL_{po} - CL_{pe}}{CL_{po}} \right) \cdot 100 \quad (3)$$

Quindi, dalle equazioni (1) e (2):

$$HE(\%) = \left[ 1 - \frac{m_{po}}{m_{pe}} \right] \cdot 100 \quad (4)$$

Pertanto, FCR, ossia il calcolo del tasso di liquidazione frazionario di insulina, piuttosto che MCR, è il metodo indiretto che fornisce la migliore correlazione con la misura diretta misura di HE. Questo suggerisce che FCR potrebbe essere considerato un surrogato della clearance dell'insulina, mentre la MCR potrebbe essere legata alla componente extraepatica. È di particolare interesse il fatto che, con questo metodo accurato, una gamma considerevole di HE è stata osservata all'interno di una popolazione di animali normali (22-72% di degradazione di primo passaggio). Poiché la clearance dell'insulina è variabile tra gli animali, il metodo del portale suggerisce che la clearance dell'insulina dal fegato potrebbe essere un'importante variabile metabolica soggetta a influenze genetiche e ambientali. [3] Tuttavia, a causa delle limitazioni del rapporto molare C-peptide: insulina e delle difficoltà nell'eseguire metodi diretti come il PPII nell'uomo, i modelli matematici sono diventati uno strumento necessario e prezioso per stimare in modo non invasivo la clearance dell'insulina in vivo.

## **2.2 Modelli matematici compartimentali per la stima l'estrazione epatica**

I modelli compartimentali sono una classe di modelli matematici che ha come obiettivo la descrizione del comportamento interno di un sistema mediante una serie di leggi fisiche (per es. leggi di bilancio di massa) ed ipotesi sul sistema stesso, con un grado di approssimazione del sistema funzione dell'informazione a priori e dei dati a disposizione. In particolare, i modelli compartimentali sono una classe di modelli di sistema molto utilizzati per studiare quantitativamente la cinetica di sostanze all'interno di sistemi biologici. In questo contesto, i modelli che verranno presentati sono stati sviluppati per stimare in modo non invasivo la clearance dell'insulina, epatica ed extraepatica. Per ogni modello, esamineremo la sua formulazione matematica, identificando le equazioni e le relazioni utilizzate per descrivere il processo di eliminazione dell'insulina dal sangue e la sua estrazione a livello epatico. Saranno considerate le assunzioni e le ipotesi su cui si basa il modello, comprese eventuali semplificazioni o limitazioni.

### **2.2.1 Modello Eaton et al., 1982**

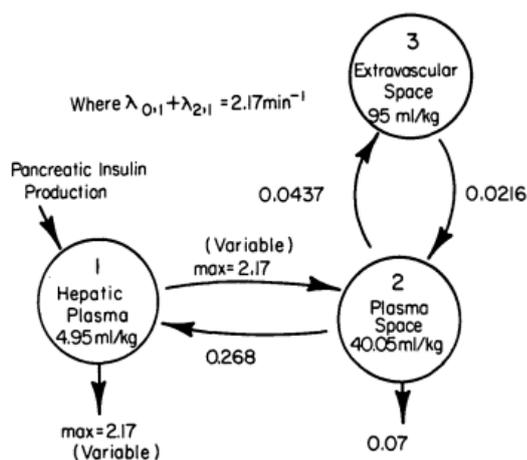
Questo modello descrive la cinetica dell'insulina a seguito della stimolazione con glucosio per via orale in soggetti sani. La produzione pre-epatica di insulina è stata determinata mediante la deconvoluzione a partire dal C-peptide nel plasma [4], e la cinetica dell'insulina secreta è stata determinata mediante un modello a tre compartimenti per gli spazi plasmatici epatico, vascolare ed extravascolare.

In particolare, sette soggetti maschi adulti sani sono stati sottoposti a indagini durante:

- 1) un'infusione endovenosa di L-arginina (10%), della durata di 30 min (pari a 300 mL);
- 2) l'assunzione di un pasto normale contenente 18 g di proteine, 50 g di carboidrati e 15 g di grassi;
- 3) una serie di test di tolleranza al glucosio per via orale con tre diverse dosi di glucosio (10, 25 e 100 g).

Dopo gli studi di base e dopo l'assunzione di glucosio, sono state ottenute campionature di sangue a 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minuti per glucosio, insulina e C-peptide.

Il comportamento dell'insulina endogena durante ciascun test di tolleranza è stato determinato utilizzando il modello a tre compartimenti (Figura 6).



**Figura 6.** Il modello a tre compartimenti (spazio epatico, vascolare ed extravascolare) è stato utilizzato nell'analisi cinetica dell'insulina. La figura fornisce le costanti di turnover frazionarie ( $\text{min}^{-1}$ ) derivate dalla letteratura e identifica i parametri variabili determinati da questi studi ( $\lambda_{0,1}$  e  $\lambda_{2,1}$ ).[6]

Il calcolo della secrezione pancreatica di insulina endogena è stata eseguita tramite deconvoluzione utilizzando la concentrazione plasmatica di C-peptide ed un modello a due compartimenti per la cinetica del C-peptide. Questo modello descrive la perdita frazionaria netta di insulina dal compartimento vascolare come  $0.07 \text{ min}^{-1}$ , che rappresenta la rimozione da parte dei reni, dei muscoli e dei tessuti adiposi, assunta costante nel corso di ciascuno studio e funzione del primo ordine, in aggiunta a quella epatica. Gli unici parametri stimati dal modello erano la perdita frazionaria dal compartimento epatico ( $\lambda_{0,1}$ ) e il ritorno frazionario al compartimento plasmatico ( $\lambda_{2,1}$ ). Questi due parametri erano vincolati dalla relazione:

$$\lambda_{0,1} + \lambda_{2,1} = 2.17 \text{ min}^{-1}$$

dove il flusso plasmatico fuori dal fegato ( $2.17 \text{ min}^{-1} \times V_1 \text{ ml}$ ) è uguale al flusso plasmatico nel fegato ( $0.268 \text{ min}^{-1} \times V_2 \text{ ml}$ ). [6]

I risultati di questo studio sono basati sulla concentrazione plasmatica di C-peptide e sulla produzione di insulina in risposta a stimoli diversi, come l'infusione di arginina, l'assunzione di un pasto misto e il glucosio in diverse quantità. (Tabella 1 e Tabella 2)

Patient	Prehepatic insulin secretion (U) <sup>a</sup>	Hepatic extraction rate ( $\lambda_{0,1}$ ) (min <sup>-1</sup> ± SEM)	Fractional hepatic extraction (%)	Total hepatic insulin flux (U) <sup>a</sup>	Normalized residual error of data solution (%) <sup>b</sup>
<b>Arginine tolerance test</b>					
1	2.1	1.24 ± 0.03	57	3.0	10
2	1.9	1.55 ± 0.03	72	2.8	15
3	2.6	1.13 ± 0.06	52	3.4	20
4	2.2	1.02 ± 0.06	47	3.4	17
5	2.7	1.44 ± 0.05	66	3.6	21
6	2.2	1.31 ± 0.07	60	2.8	26
7	2.5	1.11 ± 0.03	51	3.8	10
Mean	2.3	1.26 ± 0.05	58	3.2	17
±SD	±0.3	±0.19 ±0.02	±9	±0.4	±6
<b>Meal ingestion</b>					
1	3.9	1.26 ± 0.04	58	6.0	18
2	3.3	1.02 ± 0.06	47	5.7	21
3	4.8	0.77 ± 0.03	35	10.7	11
4	3.7	0.96 ± 0.04	44	6.5	14
5	6.9	1.32 ± 0.06	61	10.6	24
6	3.9	1.09 ± 0.04	50	7.0	14
7	4.4	1.25 ± 0.06	57	6.4	25
Mean	4.4	1.09 ± 0.05	50	7.6	18
±SD	±1.2	±0.20 ±0.01	±9	±2.1	±5

<sup>a</sup> Units of flux during the time required to return to the basal level.

<sup>b</sup> Normalized residual error expressed as a percent of the plasma insulin data.

**Tabella 1.** Parametri cinetici del metabolismo insulinico dopo stimolazione con arginina e ingestione di un pasto.[6]

Patient	Pancreatic insulin secretion (U) <sup>a</sup>	Hepatic extraction rate ( $\lambda_{0,1}$ ) (min <sup>-1</sup> ± SEM)	Fractional hepatic extraction (%)	Total hepatic insulin flux (U) <sup>a</sup>	Normalized residual error of data solution (%)
<b>10 g oral GTT<sup>b</sup></b>					
1	1.6	1.59 ± 0.06	73	2.0	27
2	1.7	1.52 ± 0.07	70	2.3	28
3	1.3	1.51 ± 0.06	69	1.8	23
4	1.5	1.30 ± 0.05	60	2.1	16
5	2.7	1.49 ± 0.02	69	3.6	11
6	2.2	1.60 ± 0.04	74	3.1	18
7	1.8	1.20 ± 0.04	55	3.1	14
Mean	1.8	1.46 ± 0.05	67	2.6	20
±SD	±0.5	±0.15 ±0.01	±7	±0.7	±6
<b>25 g oral GTT</b>					
1	1.8	0.92 ± 0.04	41	3.4	13
2	2.2	1.46 ± 0.08	67	3.1	33
3	2.5	0.93 ± 0.09	43	4.5	17
4	2.9	1.05 ± 0.04	48	5.2	13
5	5.1	1.39 ± 0.03	64	7.3	11
6	1.8	1.26 ± 0.07	58	2.5	24
7	2.9	1.11 ± 0.06	51	4.9	22
Mean	2.7	1.16 <sup>c</sup> ± 0.06	53 <sup>c</sup>	4.4 <sup>c</sup>	19
±SD	±1.1	±0.22 ±0.02	±10	±1.6	±8
<b>100 g oral GTT</b>					
1	5.6	0.88 ± 0.05	41	10.3	17
2	6.0	1.02 ± 0.05	47	10.0	17
3	7.2	0.82 ± 0.04	38	14.2	13
4	6.1	0.84 ± 0.04	39	12.0	13
5	10.2	1.24 ± 0.06	57	15.5	22
6	7.6	0.93 ± 0.02	43	13.8	14
7	7.7	0.70 ± 0.03	32	16.6	10
Mean	7.2 <sup>cd</sup>	0.92 <sup>cd</sup> ± 0.04	42 <sup>cd</sup>	13.2 <sup>cd</sup>	15
±SD	±1.6	±0.17 ±0.01	±8	±2.5	±4

<sup>a</sup> Units of flux during the time required to return to the basal level.

<sup>b</sup> GTT, glucose tolerance test.

<sup>c</sup> Significance of difference from results of 10 g oral GTT is  $P < 0.01$  by paired  $t$  statistics.

<sup>d</sup> Significance of difference from results of 25 g oral GTT is  $P < 0.01$  by paired  $t$  statistics.

**Tabella 2.** Parametri cinetici del metabolismo insulinico durante la risposta alla dose di ingestione orale di glucosio.[6]

In definitiva il fegato ha giocato un ruolo importante nella rimozione dell'insulina dal sangue, con una frazione di estrazione epatica del  $58\pm 9\%$  durante la stimolazione con arginina e del  $50\pm 9\%$  durante l'assunzione del pasto. Inoltre, durante il test di glucosio in diverse quantità (10, 25 e 100 g), il modello ha evidenziato una diminuzione progressiva del tasso di estrazione epatica frazionaria dell'insulina ( $67\pm 7\%$ ,  $53\pm 10\%$  e  $42\pm 8\%$ ), parallelamente a un aumento del flusso epatico totale di insulina con l'aumento dell'assunzione di glucosio.[6]

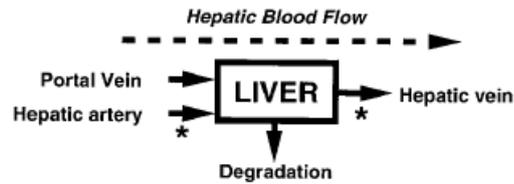
I dati mostrano che durante l'assunzione di un pasto standard misto in calorie, l'estrazione epatica di insulina è approssimativamente del  $50\pm 9\%$ . Questo valore è simile a studi precedenti condotti su animali e umani, che hanno evidenziato un estratto epatica di insulina compreso tra il 42% e il 45%. L'analisi cinetica a compartimenti ha dimostrato che l'estrazione epatica di insulina diminuisce progressivamente con l'aumento dell'esposizione all'insulina. Questo fenomeno è stato osservato anche in risposta a diverse dosi di insulina ottenute mediante infusione di insulina periferica sequenziale e infusione insulinica portale nell'uomo.[6]

### **2.2.2 Modello Tura et al., 2001**

Questo modello descrive la cinetica dell'insulina e del C-peptide grazie a dati ricavati da misurazioni dirette. Per valutare direttamente la secrezione preepatica di ormoni pancreatici durante un test di tolleranza al glucosio orale (OGTT) di 3 ore, Tura et al. hanno misurato l'insulina, il C-peptide, l'estrazione epatica dell'insulina e la clearance dell'insulina in sei soggetti sani di controllo, sei obesi e sei diabetici di tipo 2. Le misurazioni sono state effettuate nell'arteria femorale e nella vena epatica mediante la tecnica del cateterismo epatico.

I dati ottenuti sono poi stati utilizzati per convalidare un modello matematico sviluppato per quantificare la secrezione preepatica, l'estrazione epatica di insulina e la clearance dell'insulina durante l'OGTT, quando le concentrazioni di C-peptide e di insulina sono misurate sistematicamente.[7]

La cinetica complessiva è stata descritta con un modello circolatorio che include i principali processi che coinvolgono il fegato. In particolare, quest'organo è rappresentato come un compartimento con ingressi dalla vena porta (secrezione pancreatica) e dall'arteria epatica e uscite nella vena epatica. La degradazione negli epatociti è considerata come processo di scomparsa del substrato dal fegato. (Figura 7)



**Figura 7.** Rappresentazione schematica del sistema fisiologico oggetto di studio. Questo modello viene utilizzato per calcolare la secrezione pancreatica e l'estrazione dell'insulina da parte del fegato. La stella indica il punto in cui sono state ottenute le misurazioni dirette. [7]

Il modello matematico che si vuole validare rispetto alle misurazioni dirette prevede che per il C-peptide viene adottata la seguente descrizione matematica:

$$\frac{dCP(t)}{dt} = -k_{01}CP(t) + CPS(t) \quad (5)$$

dove  $CP(t)$  è la concentrazione plasmatica di C-peptide misurata (pmol/l),  $k_{01}$  è la costante di scomparsa, che rappresenta la clearance frazionale sistemica del C-peptide ( $\text{min}^{-1}$ ),  $CPS(t)$  è il tasso di secrezione del C-peptide stimata dal modello ( $\text{pmol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) che rappresenta anche la secrezione di insulina, poiché il C-peptide viene rilasciato equimolarmente con l'insulina. Una notevole quantità di insulina viene estratta dal fegato e solo una frazione  $F$  di  $CPS(t)$  costituisce la comparsa post-epatica dell'ormone nella circolazione periferica.

La cinetica dell'insulina è descritta da:

$$\frac{dI(t)}{dt} = -nI(t) + F * CPS(t) \quad (6)$$

Dove  $I(t)$  è la concentrazione plasmatica dell'insulina misurata (pmol/l),  $n$  è la clearance frazionale dell'insulina sistemica ( $\text{min}^{-1}$ ), e  $F * CPS(t)$  è l'erogazione di insulina post-epatica;  $(1-F)$  rappresenta l'estrazione frazionata di insulina epatica (adimensionale). In questo studio,  $CP(t)$  e  $I(t)$  sono stati adattati rispettivamente a  $CP_a(t)$  (concentrazione di C-peptide misurata nell'arteria) e  $I_a(t)$  (concentrazione di insulina misurata nell'arteria) dell'esperimento di cateterismo epatico.

I corsi temporali individualizzati dal tasso di secrezione di C-peptide e insulina  $CPS(t)$  sono stati stimati utilizzando l'approccio che si basa su una rappresentazione matematica parametrica di  $CPS(t)$  in termini di polinomi continui (splines) [8]; queste sono costituite da una serie di polinomi quadratici che si uniscono in punti specifici del nodo, ossia 0, 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 180 e 180.

La quantità totale di secrezione di insulina (nmol/l) è stata stimata integrando CPS(t) su 180 minuti; mentre la clearance frazionale dell'insulina n è stata stimata come parametro del modello per aumentare la possibilità di utilizzare il metodo in soggetti che possono presentare variazioni a livello di clearance sistemica dell'insulina.

Nella Tabella 3 sono riportati i parametri stimati dal modello per i tre gruppi. La loro precisione, valutata dal coefficiente di variazione, ossia il rapporto tra l'elemento diagonale della matrice di covarianza e il valore del parametro, è stata del 47% per F, del 35% per n e del 3% per CPS(t)[7].

	Unit	C	O	D	P Values		
					C vs. O	C vs. D	O vs. D
Total amount of insulin secretion unit volume	nmol/l						
Model estimates		19.8 ± 2.3	34.2 ± 4.1	9.5 ± 1.4	0.004	0.004	0.004
Experimental data		19.8 ± 3.9	39.6 ± 9.5	11.3 ± 1.9	0.037	0.045	0.004
Comparison between model and experiment:		<i>P</i> = 0.92	<i>P</i> = 0.60	<i>P</i> = 0.35			
Hepatic insulin extraction	%						
Model estimates		58.8 ± 7.0	56.1 ± 5.9	65.6 ± 8.7	0.52	0.42	0.42
Experimental data		41.3 ± 4.2	45.7 ± 3.1	56.7 ± 5.3	0.34	0.037	0.15
Comparison between model and experiment:		<i>P</i> = 0.12	<i>P</i> = 0.12	<i>P</i> = 0.60			
Systemic insulin fractional clearance	min <sup>-1</sup>						
Model estimates		0.19 ± 0.05	0.13 ± 0.03	0.36 ± 0.12	0.26	0.52	0.26
Experimental data		0.20 ± 0.03	0.14 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.078	0.42	0.037
Comparison between model and experiment:		<i>P</i> = 0.92	<i>P</i> = 0.75	<i>P</i> = 0.35			
Systemic C-peptide fractional clearance	min <sup>-1</sup>						
Model estimates		0.062	0.062	0.062			
Experimental data		0.061 ± 0.008	0.072 ± 0.009	0.078 ± 0.019	0.34	0.63	0.87
Comparison between model and experiment:		<i>P</i> = 0.92	<i>P</i> = 0.35	<i>P</i> = 0.46			

Total amount of insulin secretion and clearances from the experiments have been normalized to the distribution volume.

**Tabella 3.** Confronto statistico tra i parametri stimati dal modello e i corrispondenti parametri ottenuti dagli esperimenti di cateterismo epatico [7]

Dai risultati proposti dal modello possiamo dire che l'estrazione epatica dell'insulina è del 58.8±7.0% nei soggetti sani di controllo, 56.1±5.9% nei soggetti obesi e del 65.6±8.7% nei soggetti diabetici di tipo 2. [7]

Infine, possiamo concludere che il modello ha dimostrato di ricostruire in modo accurato i profili di secrezione pre-epatica e di essere in accordo con i valori medi misurati di estrazione epatica di insulina. Tuttavia, l'estrazione epatica da dati sperimentali potrebbe essere meno precisa rispetto alla misurazione diretta della secrezione di insulina.

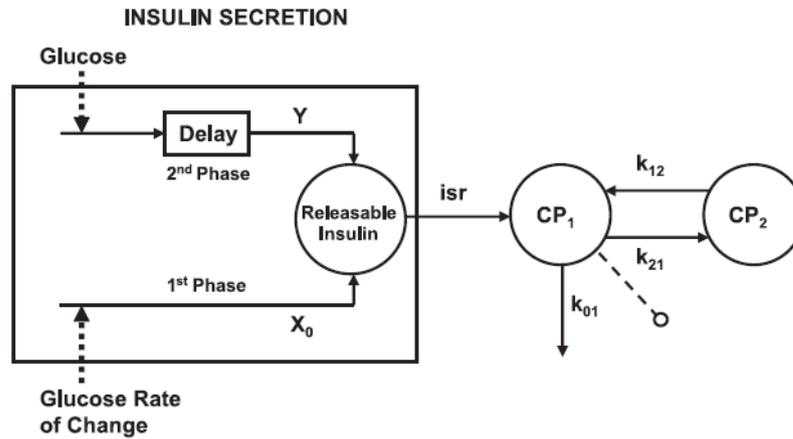
### 2.2.3 Modello Toffolo et al., 2005

Lo scopo di questo modello è quello di valutare l'estrazione epatica di insulina HE durante un carico di glucosio per via endovenosa nell'uomo utilizzando l'approccio del modello minimo. Questo approccio era già stato applicato ai dati relativi al C-peptide, misurati durante un test di tolleranza al glucosio per via endovenosa (IVGTT) e poi esteso a un IVGTT modificato con insulina (IM), mentre Toffolo et al. hanno sfruttato le caratteristiche uniche di un test di

tolleranza al glucosio intravenoso modificato con insulina (IM-IVGTT). Questi dati sono più informativi rispetto all'IVGTT standard perché il decadimento della concentrazione di insulina osservato dopo la somministrazione di insulina esogena facilita una stima affidabile della cinetica dell'insulina in ciascun individuo. L'uso combinato di modelli minimi di insulina e C-peptide è stato quindi esplorato come strumento per valutare l'HE. [9]

I dati, che venivano da uno studio precedente, sono basati su: 20 soggetti normali (16 maschi e 4 femmine, età media 44+- 5 anni, BMI 26,03 +-0,68 kg/m<sup>2</sup>) che sono stati sottoposti a un IM-IVGTT che consisteva in un'iniezione di glucosio seguita da un'onda quadra (da 20 a 25 minuti) di infusione di insulina. Il sangue è stato campionato a 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 22, 25, 26, 28, 31, 35, 45, 60, 75, 90, 120, 180 e 240 minuti dopo l'iniezione di glucosio e sono state misurate le concentrazioni di glucosio, C-peptide e insulina.

La cinetica del C-peptide è stata descritta dal modello lineare a due compartimenti (Figura 8)



**Figura 8.** Modello minimo di secrezione di C-peptide e di cinetica CP<sub>1</sub> e CP<sub>2</sub>, concentrazioni di C-peptide superiori al basale nei comportamenti accessibili e periferici, rispettivamente; k<sub>01</sub>, k<sub>21</sub>, k<sub>12</sub>, parametri di velocità di trasferimento; isr, secrezione di insulina superiore al basale; Y, fornitura di nuova insulina alle β-cellule controllata dalla concentrazione di glucosio; X<sub>0</sub>, quantità di insulina secreta come impulso durante la prima fase di secrezione in risposta al rapido aumento della concentrazione di glucosio dopo il bolo di glucosio. [9]

$$\dot{CP}_1(t) = -[k_{01} + k_{21}]CP_1(t) + k_{12}CP_2(t) + isr(t) \quad CP_1(0) = 0 \quad (7)$$

$$\dot{CP}_2(t) = k_{21}CP_1(t) - k_{12}CP_2(t) \quad CP_2(0) = 0 \quad (8)$$

Dove CP<sub>1</sub> e CP<sub>2</sub> (pmol/l) sono le concentrazioni di C-peptide (superiori al basale) rispettivamente nel comportamento accessibile e in quello periferico, k<sub>01</sub>, k<sub>21</sub> e k<sub>12</sub> (min<sup>-1</sup>) sono parametri di velocità di trasferimento, e isr (pmol\*1<sup>-1</sup>\*min<sup>-1</sup>) è la secrezione superiore al basale

che entra nell'area accessibile, normalizzato per il volume di distribuzione del compartimento 1. Si è ipotizzato che l'isr fosse proporzionale alla quantità  $X$  (pmol/l) di insulina nelle B-cellule, risultante dal bilancio tra l'isr e la fornitura  $Y$  (pmol\*1<sup>-1</sup>\*min<sup>-1</sup>) di una nuova insulina alle B-cellule.[9]

$$isr(t) = mX(t) \quad (9)$$

$$\dot{X}(t) = -mX(t) + Y(T) \quad X(0) = X_0 \quad (10)$$

$X_0$  è responsabile della secrezione della prima fase, mentre la seconda fase, più lenta, deriva dalla riserva  $Y$ , controllata dal glucosio secondo la seguente equazione:

$$\dot{Y}(t) = -\alpha\{Y(t) - \beta[G(t) - h]\} \quad Y(0) = 0 \quad (11)$$

Cioè, in risposta a un livello elevato di glucosio,  $Y$  e quindi  $isr$  tende con una costante di  $1/\alpha$  (min), verso un valore di stato stazionario che è linearmente correlato tramite in parametro  $\beta$ (min<sup>-1</sup>) alla concentrazione di glucosio  $G$  (mmol/l) al di sopra del valore di soglia  $h$ .

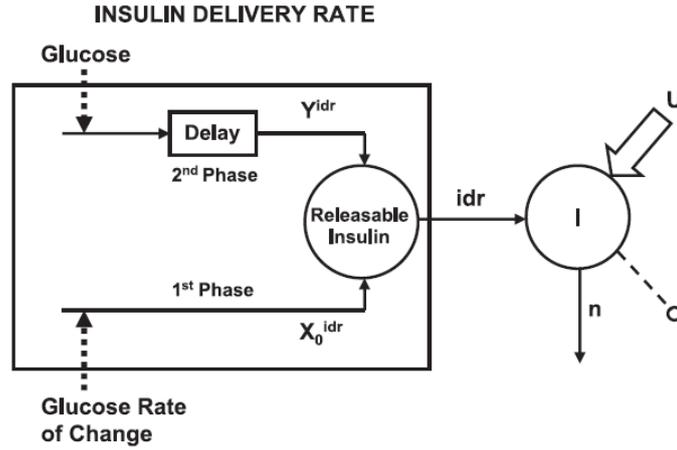
Dai parametri del modello, il profilo del ISR (pmol/min) è stato ricostruito come segue:

$$ISR(t) = [k_{01}C_{1b} + isr(t)]V_c = [k_{01}C_{1b} + mX(t)]V_c \quad (12)$$

Dove  $V_c$  è il volume di distribuzione del compartimento accessibile e  $C_{1b}$  è la concentrazione di C-peptide alla fine del test.

Sono stati calcolati anche gli indici di responsività al glucosio della prima fase ( $\phi_1$ ) della seconda fase ( $\phi_2$ ) e della secrezione basale ( $\phi_b$ ).

Per valutare l'IDR a partire dalla concentrazione plasmatica di insulina, è stato utilizzato un modello lineare a singolo compartimento. (Figura 9)



**Figura 9.** Modello minimo della velocità e della cinetica di somministrazione dell'insulina.  $I$ , concentrazione plasmatica di insulina superiore al basale, accessibile alla misurazione;  $n$ , costante di velocità di scomparsa dell'insulina;  $U$ , apporto di insulina esogena;  $idr$ , velocità di rilascio di insulina post-epatica superiore al basale.  $Y^{idr}$  e  $X_0^{idr}$  sono i parametri relativi alla fornitura di nuova insulina alle  $\beta$ -cellule e alla secrezione di prima fase, rispettivamente. [9]

$$\dot{I}(t) = -nI(t) + idr(t) + \frac{U(t)}{V_1} \quad I(0) = 0 \quad (15)$$

Dove  $I$  (pmol/l) è la concentrazione di insulina al di sopra del valore basale (alla fine del test),  $n$  ( $\text{min}^{-1}$ ) è la costante di velocità di scomparsa dell'insulina,  $idr$  ( $\text{pmol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) è la velocità di somministrazione dell'insulina al di sopra del valore basale normalizzata al volume di distribuzione,  $U$  (pmol/min) è l'apporto di insulina esogena, diverso nell'intervallo 20-25 minuti, e  $V_1$  è il volume di distribuzione dell'insulina. Per l' $idr$  è stata adottata una descrizione simile a quella proposta per descrivere la secrezione di insulina dai dati del C-peptide.

$$idr(t) = m^{IDR} X^{IDR}(t) \quad (16)$$

$$\dot{X}^{IDR} = -m^{IDR} X^{IDR}(t) + Y^{IDR}(t) \quad X^{IDR}(0) = X_0^{IDR} \quad (17)$$

$$\dot{Y}^{IDR} = -\alpha^{IDR} \{Y^{IDR}(t) - \beta^{IDR} [G(t) - h]\} \quad Y^{IDR}(0) = 0 \quad (18)$$

Dove i parametri e le variabili sono etichettati "idr" per indicare che si fa riferimento alle velocità di somministrazione dell'insulina e tengono conto della secrezione e dell'estrazione epatica.

Dai parametri del modello, il profilo IDR (pmol/l) è stato ricostruito come segue:

$$IDR(t) = [nI_b + idr(t)]V_I = [nI_b + m^{IDR} X^{IDR}(t)]V_I \quad (19)$$

dove  $I_b$  è la concentrazione di insulina a fine test.

Gli indici di responsività all'insulina della prima ( $\phi_{1IDR}$ ) e della seconda ( $\phi_{2IDR}$ ) fase e la velocità di somministrazione dell'insulina al basale ( $\phi_{bIDR}$ ) sono stati calcolati utilizzando formule simili a quelle utilizzate per  $\phi_1$ ,  $\phi_2$ ,  $\phi_b$ .

Dai profili ISR e IDR, il profilo HE è stato ricostruito come:

$$HE(t) = \frac{ISR(t) - IDR(t)}{ISR(t)} = 1 - \frac{IDR(t)}{ISR(t)} \quad (20)$$

Dagli indici ISR e IDR sono stati stimati due indici HE, cioè durante l'IVGTT e allo stato basale, come:

$$HE = \frac{\int_0^T ISR(t) dt - \int_0^T IDR(t) dt}{\int_0^T ISR(t) dt} \quad (21)$$

$$HE_b = \frac{isr_b V_c - idr_b V_l}{isr_b V_b} \quad (22)$$

Dove T è il momento in cui le concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide raggiungono i valori finali del test dopo la perturbazione. [9]

I valori individuati di  $HE_b$  e degli indici HE sono riportati nella Tabella 4.

Subject	HE <sub>b</sub> , %	HE, %
1	77 (2)*	57 (5)
2	70 (2)	46 (12)
3	76 (1)	63 (3)
4	72 (2)	58 (6)
5	81 (1)	73 (2)
6	69 (2)	47 (7)
7	80 (1)	55 (7)
8	75 (2)	61 (5)
9	77 (2)	72 (3)
10	76 (1)	67 (3)
11	59 (4)	56 (6)
12	69 (2)	59 (4)
13	63 (3)	52 (6)
14	59 (3)	35 (11)
15	72 (2)	52 (5)
16	79 (1)	63 (4)
17	80 (1)	72 (3)
18	46 (6)	19 (32)
19	60 (3)	36 (10)
20	65 (3)	46 (8)
Mean	70 (2)	54 (7)
SD	9	14

\* Precision of parameter estimate expressed as %coefficient of variation. HE, hepatic extraction.

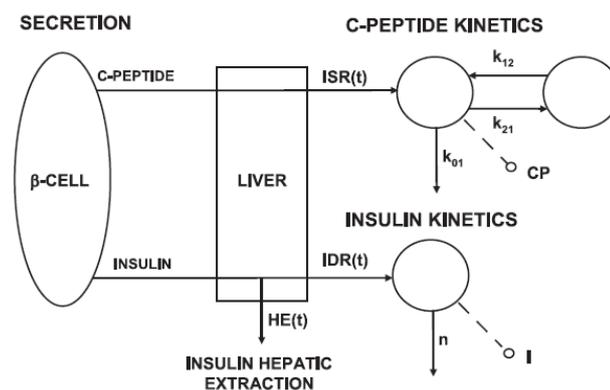
**Tabella 4.** Indici di estrazione epatica. [9]

Dai dati ottenuti possiamo dire che, secondo questo modello, il fegato è in grado di estrarre il  $70\pm 9\%$  dell'insulina che lo attraversa nello stato basale a fine test e il  $54\pm 14\%$  durante l'IM-IVGTT. [9]

Infine, possiamo concludere che l'HE è stato valutato combinando le informazioni derivate dai due modelli minimi. Il profilo HE ha mostrato una rapida soppressione subito dopo la somministrazione del bolo di glucosio, seguita da un rapido aumento che si è attenuato a 20 minuti, quando è stata somministrata l'insulina. Poi, è tornato allo stato stazionario alla fine dell'esperimento a un valore diverso da quello pre-test che è stato atteso perché i dati relativi all'insulina e al C-peptide sono diversi nelle due situazioni. Questi risultati indicano che l'HE varia nel tempo durante una perturbazione transitoria del glucosio.

### 2.2.4 Modello Campioni et al., 2009

Il primo obiettivo di questo studio era sviluppare un approccio di modellazione minima per valutare in modo non invasivo l'estrazione epatica di insulina in 204 soggetti sani studiati con un pasto standard, accoppiando il modello minimo già disponibile del C-peptide del pasto con un nuovo modello dell'insulina. I componenti di questo modello sono l>IDR post-epatico, a sua volta descritto in termini di ISR pancreatico ed estrazione epatica di insulina HE, e un modello mono-compartimentale lineare della cinetica dell'insulina. Come secondo obiettivo invece, è stato sviluppato un metodo per prevedere i valori standard dei parametri cinetici dell'insulina in un individuo sulla base delle caratteristiche antropometriche dell'individuo. [10]



**Figura 10.** Razionale per valutare l'estrazione epatica dai dati di insulina e C-peptide. I (pmol/l), concentrazione plasmatica di insulina, accessibile alla misurazione;  $n$  ( $\text{min}^{-1}$ ), costante di velocità della scomparsa dell'insulina; CP (pmol/l), concentrazione di C-peptide nel compartimento accessibile;  $k_{01}$ ,  $k_{21}$  e  $k_{12}$ , parametri della velocità di trasferimento; IDR ( $\text{pmol}/\text{min}^{-1}$ ), velocità di somministrazione post-epatica di insulina; ISR ( $\text{pmol}/\text{min}$ ), velocità di secrezione di insulina; HE (%), estrazione epatica dell'insulina.[10]

È stato proposto un metodo di modellazione per misurare il profilo temporale e gli indici dell'estrazione epatica durante un test di tolleranza al glucosio intravenoso modificato dall'insulina (IM-IVGTT) basato sulla logica illustrata nella Figura 10; insulina e C-peptide sono secreti equimolarmente dalle  $\beta$ -cellule e passano attraverso il fegato, dove l'insulina, ma non il C-peptide, subisce estrazione epatica. La modellazione simultanea del tasso di secrezione dell'insulina (ISR) dalla concentrazione di C-peptide e del tasso di somministrazione dell'insulina (IDR) nel plasma dopo il suo passaggio attraverso il fegato dalla concentrazione di insulina fornisce una stima del profilo e dell'indice di estrazione epatica.

$$HE(t) = \frac{ISR(t) - IDR(t)}{ISR(t)} = 1 - \frac{IDR(t)}{ISR(t)} \quad (20)$$

$$HE = \frac{\int_0^T ISR(t)dt - \int_0^T IDR(t)dt}{\int_0^T ISR(t)dt} \quad (21)$$

Sono stati impiegati due modelli per prevedere ISR e IDR dalle misurazioni plasmatiche, il modello minimo del C-peptide e il modello minimo dell'insulina. Questi modelli, identificati sui dati di concentrazione plasmatica, integrano i modelli di ISR e IDR con un modello a due compartimenti della cinematica del C-peptide e un modello a singolo compartimento della cinematica dell'insulina, rispettivamente.

Lo scopo è quello di estendere l'approccio del modello minimo per misurare l'HE durante un test del pasto (o un carico di glucosio orale) nell'uomo.

Per raggiungere questi obiettivi, lo studio ha analizzato i dati dei pasti di 204 soggetti sani che hanno anche sottoposto a IM-IVGTT. I dati di IM-IVGTT, analizzati con il modello minimo della secrezione e della cinetica dell'insulina, hanno fornito la base per determinare i parametri standard per la clearance dell'insulina da utilizzare per valutare la secrezione post-epatica di insulina e quindi l'HE dai dati plasmatici di insulina durante il test del pasto con un nuovo modello.

In questo modello è stato adottato un modello mono-compartimentale lineare della cinetica dell'insulina per collegare l>IDR nel plasma (pmol/min) ai dati plasmatici di insulina  $I$  (pmol/l):

$$\dot{I}(t) = -nI(t) + \frac{IDR(t)}{V_I} \quad I(0) = I_b \quad (23)$$

dove  $n$  ( $\text{min}^{-1}$ ) è la costante di rateo dell'eliminazione dell'insulina,  $V_I$  ( $\text{pmol/l}$ ) è il volume di distribuzione dell'insulina e  $I_b$  è la concentrazione basale di insulina. Sfruttando l'Eq. 20, l'IDR è stata espressa come la frazione  $(1-HE)$  della secrezione pancreatica di insulina (ISR) che non viene secreta dal fegato:

$$\dot{I}(t) = -nI(t) + ISR(t) * \frac{(1-HE(t))}{V_I} \quad I(0) = 0 \quad (24)$$

Per l'HE è stata adottata una descrizione parametrica in modo che la sua ricostruzione fosse formulata come un problema di stima dei parametri. La forma più generale è una funzione lineare a tratti con un numero predeterminato di punti di rottura:

$$HE(t) = \begin{cases} HE_{i-1} + \frac{HE_i - HE_{i-1}}{t_i - t_{i-1}} * (t - t_{i-1}) & t_{i-1} \leq t \leq t_i \quad i = 1, 2, \dots \\ HE_0 = HE_b & \end{cases} \quad (25)$$

dove  $HE_i$  sono i parametri sconosciuti che rappresentano i valori di  $HE(t)$  ai tempi di rottura. Poiché ci si aspetta che  $HE(t)$  vari più rapidamente nella prima parte del test, gli intervalli erano più brevi all'inizio e diventavano più lunghi verso la fine. Un'analisi preliminare ha indicato che sei intervalli, e quindi sette punti di rottura, costituiscono un buon compromesso tra flessibilità del modello e numero di parametri da stimare dai dati. I punti di rottura sono stati allocati a 0, 20, 40, 90, 150, 210 e 420.  $HE_b$  che appare nell'Eq. 25 è l'estrazione epatica insulinica basale, che può essere espressa come una funzione dei livelli basali di ISR e IDR come:

$$HE_b = \frac{ISR_b - IDR_b}{ISR_b} = 1 - \frac{I_b * n * V_I}{ISR_b} \quad (26)$$

dove  $ISR_b$  è da determinare dal modello minimo della secrezione e cinetica del C-peptide, mentre per  $IDR_b$ , si utilizza la sua espressione in termini di parametri del modello insulinico  $n$ ,  $V_I$  e  $I_b$ , ottenuta risolvendo l'Eq. 23 in stato stazionario. Oltre all'indice di estrazione epatica allo stato basale (Eq. 26), è stato stimato un indice globale di estrazione epatica durante il test orale utilizzando l'Eq. 21.

L'applicazione del modello minimo della secrezione e cinetica dell'insulina ai dati di IM-IVGTT del set di dati di questo studio ha fornito stime dei parametri cinetici dell'insulina in una popolazione di 204 soggetti sani eterogenei per età, sesso e peso corporeo. Sulla base di questi

dati, sono stati sviluppati modelli di regressione lineare che collegano i parametri cinetici dell'insulina come  $n$ ,  $V_I$  e la clearance insulinica  $CL_I = n \cdot V_I$  (l/min) alle caratteristiche antropometriche individuali.

Le stime di  $V_I$  e  $CL_I$  in 204 soggetti da IM-IVGTT sono mostrate nella Tabella 5 insieme alla secrezione insulinica basale, cioè prima del pasto, e alla concentrazione nei soggetti magri vs. obesi e maschi vs. femmine. La concentrazione e la secrezione insulinica basale erano significativamente diverse tra soggetti magri e obesi ma non tra maschi e femmine.  $V_I$  era significativamente diverso sia tra soggetti magri e obesi che tra maschi e femmine, mentre  $CL_I$  era significativamente diverso solo tra maschi e femmine.

	ISR <sub>b</sub> , pmol/min	I <sub>b</sub> , pmol/l	V <sub>I</sub> , l	CL <sub>I</sub> , l/min	HE <sub>b</sub> , %	HE, %
Subjects (no.)						
All (204)	116.95±4.67	27.4±1.27	9.31±0.18	1.7±0.03	60±1	40±1
Lean (108)	96.23±3.59	23.97±1.37	8.67±0.17	1.71±0.03	59±1	39±1
Obese (96)	140.27±5.2	31.26±1.08	10.03±0.17	1.69±0.03	62±1	41±1
Female (87)	112.38±9.29	28.48±2.57	8.24±0.25	1.57±0.04	61±2	38±2
Male (117)	120.35±4.28	26.60±1.10	10.11±0.22	1.80±0.04	60±1	42±1
<i>P</i> value						
Lean vs. obese	1.4·10 <sup>-6</sup>	1.4·10 <sup>-6</sup>	9.1·10 <sup>-5</sup>	0.67	0.16	0.35
Female vs. male	0.40	0.47	6.2·10 <sup>-8</sup>	2.7·10 <sup>-4</sup>	0.77	0.25

Values are means ± SE. ISR<sub>b</sub>, basal insulin secretion rate; I<sub>b</sub>, basal insulin concentration; V<sub>I</sub>, insulin volume of distribution; CL<sub>I</sub>, insulin clearance; HE, hepatic insulin extraction; HE<sub>b</sub>, basal HE.

**Tabella 5.** Parametri di secrezione, cinetica ed estrazione epatica dell'insulina.[10]

I valori stimati di HE (%) ai punti di rottura erano  $52 \pm 2$ ,  $29 \pm 2$ ,  $29 \pm 2$ ,  $22 \pm 3$ ,  $47 \pm 2$  e  $75 \pm 1$  (ai tempi 20, 40, 90, 150, 210 e 420, rispettivamente), e la loro precisione era buona, poiché i CV medi (%) delle stime erano 12, 23, 29, 32, 9 e 6, rispettivamente.

A partire da un valore basale HE<sub>b</sub> di  $61 \pm 1\%$ , HE è stato soppresso al 20-30% per circa 150 minuti dopo il carico di glucosio e poi è lentamente tornato allo stato stazionario. Il valore di HE raggiunto alla fine dell'esperimento era leggermente più alto rispetto a HE<sub>b</sub> misurato precedentemente al test, il che era previsto a causa delle differenze nelle concentrazioni di insulina e C-peptide. L'indice totale di estrazione epatica HE indica che, in media, il  $40 \pm 1\%$  dell'insulina secreta viene estratto dal fegato durante un pasto standard.

In conclusione, l'estrazione epatica e l>IDR durante un test orale possono essere valutati combinando i modelli minimi dell'insulina e del C-peptide. I modelli di regressione lineare proposti in questo studio predicono i valori standard dei parametri cinetici dell'insulina dalle caratteristiche antropometriche, che possono essere utilizzati in modo sicuro per ottenere stime affidabili dell'estrazione epatica in protocolli sperimentali come il test orale del glucosio e il classico IVGTT, dove la stima simultanea della cinetica dell'insulina e dell'erogazione/estrazione epatica è critica.[10]

## 2.2.5 Modello Polidori et al., 2016

In questo studio è stato sviluppato un nuovo metodo basato su modelli per stimare sia la clearance insulinica epatica che extraepatica utilizzando profili plasmatici di insulina e C-peptide ottenuti dal test di tolleranza al glucosio per via endovenosa a campionamento libero modificato con insulina. Sono stati utilizzati i dati di 100 immigrati africani senza diabete. La secrezione endogena di insulina (calcolata mediante la deconvoluzione del C-peptide) e i tassi di infusione di insulina sono stati utilizzati come input per un nuovo modello a due compartimenti della cinetica dell'insulina e sono stati stimati i parametri di clearance epatica ed extraepatica.

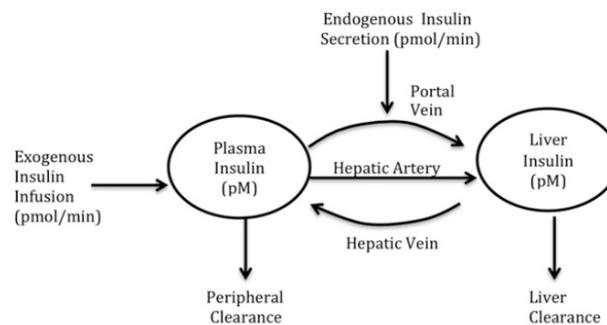
Una precedente modellizzazione dei dati, vista dai modelli precedenti di Toffolo et al. e di Campioni et al., ha permesso di stimare l'estrazione epatica al primo passaggio dell'insulina appena secreta, ma la successiva clearance dell'insulina circolante è stata combinata in un unico parametro di clearance che includeva sia la degradazione epatica che quella extraepatica. Per risolvere le questioni legate alla clearance epatica rispetto a quella extraepatica, lo studio di Polidori et al., ha sviluppato un nuovo metodo basato su modelli per utilizzare i dati del test FSIGT (test di tolleranza al glucosio per via endovenosa) modificato con insulina per fornire stime individuali della clearance dell'insulina sia epatica che extraepatica.[11]

Le procedure FSIGT modificate con insulina sono state eseguite tramite cateteri endovenosi in entrambe le vene antecubitali. Dopo aver ottenuto i campioni di sangue basali, è stato somministrato destrosio per via intravenosa a  $t=0$ . L'insulina è stata infusa per 5 minuti a partire da 20 minuti. I campioni di sangue per la misurazione dei livelli di glucosio, insulina e C-peptide sono stati prelevati a -10, -1, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 19, 22, 23, 24, 25, 27, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150, e 180 min.

Le clearance epatiche e periferiche dell'insulina sono state stimate utilizzando un nuovo modello che descrive la cinetica dell'insulina durante il FSIGT (Figura 11 ed Eq. 27 e 28). Le principali assunzioni nel modello sono:

1. L'insulina secreta a livello endogeno entra nella circolazione portale, da cui passa al fegato prima di raggiungere la circolazione sistemica. Il tasso di secrezione dell'insulina (ISR) è calcolato mediante deconvoluzione utilizzando i parametri cinetici del C-peptide. La ISR calcolata e il tasso di infusione dell'insulina noto vengono utilizzati come input per il modello.

2. Il tasso di rilascio di insulina dalla circolazione sistemica al fegato (pmol/min) è pari alla concentrazione plasmatica di insulina (pmol/l) moltiplicata per il tasso di flusso plasmatico epatico (HPF) stimato (0,576 L/min/m<sup>2</sup>).
3. La clearance dell'insulina avviene sia nel fegato che nei tessuti extraepatici (periferici), che includono rene, muscoli e tessuto adiposo. Si ipotizza che la clearance extraepatica sia proporzionale alla concentrazione plasmatica.
4. La clearance epatica è modellata utilizzando una funzione lineare o saturabile. Entrambe le funzioni sono testate in ciascun soggetto e viene scelta quella che fornisce il miglior adattamento.



**Figura 11.** Rappresentazione grafica del modello matematico descritto dalle equazioni 27 e 28. Il tasso HPF utilizzato nelle equazioni è il flusso plasmatico combinato al fegato della vena porta e dell'arteria epatica. [11]

Date queste ipotesi, il modello risultante richiede di stimare tre (modello lineare) o quattro (saturabile) parametri dai profili di insulina plasmatica misurati e dall'ISR calcolato.

Le equazioni e i parametri corrispondenti a queste ipotesi sono i seguenti:

Erogazione di insulina al fegato (pmol/min)

$$Delivery = ISR + HPF * P$$

Degradazione epatica dell'insulina (pmol/min)

$$Linear\ model = FE_L * Delivery$$

$$Saturable\ model = \frac{V_{max} * Delivery}{k_m + Delivery}$$

$$Extrahepatic\ insulin\ degradation = CL_P * P$$

dove P è l'insulina plasmatica (pmol/l), ISR è riportato in picomoli al minuto, HPF e CL<sub>P</sub> sono in litri al minuto, FE<sub>L</sub> è l'estrazione frazionata epatica (adimensionale), V<sub>max</sub> è il tasso massimo

di degradazione epatica (pmol/min), e  $K_m$  è il tasso di somministrazione epatica di insulina alla quale avviene il 50% della massima degradazione (pmol/min).

Le equazioni differenziali per l'ipotesi lineare (Eq. 27) e saturabile (Eq. 28) sono le seguenti:

$$V_P \frac{dP}{dt} = \text{Infusion Rate} + (1 - FE_L) * ISR - (HPF * FE_L + CL_P)P \quad (27)$$

$$V_P \frac{dP}{dt} = \text{Infusion Rate} + ISR - CL_P * P - \frac{V_{max} * Delivery}{k_m * Delivery} \quad (28)$$

dove  $V_P$  è il volume di distribuzione extraepatico per l'insulina (in litri). I parametri identificati dal modello sono stati normalizzati per il peso corporeo (BW) per confrontarli tra i soggetti. Per il modello di clearance saturabile, l'estrazione epatica frazionata varia con i cambiamenti in ISR e P; i valori di  $FE_L$  sono stati calcolati allo stato basale durante la compilazione dei riassunti dei parametri.

I valori di clearance corrispondenti del modello per un'infusione endovenosa ( $CL_{IV}$ ) o per un'infusione portale ( $CL_{portal}$ ) possono essere calcolati dividendo il tasso di infusione dell'insulina per la concentrazione plasmatica di insulina allo stato stazionario. Per il modello lineare, questo fornisce:

$$CL_{IV} = CL_P + HPF * FE_L \quad (29)$$

$$CL_{portal} = \frac{CL_{IV}}{1 - FE_L} \quad (30)$$

Per il modello di clearance saturabile, i parametri effettivi di clearance variano con il tasso di infusione dell'insulina, e i valori sono stati calcolati assumendo un tasso di infusione di 240 pmol/min/m<sup>2</sup> (un tasso di infusione comunemente usato nei clamp iperinsulinemici). La proporzione della totale degradazione dell'insulina che avviene nei tessuti epatici rispetto a quelli extraepatici è stata calcolata integrando i tassi di degradazione nell'intervallo di 180 minuti.

Nel periodo completo di 180 minuti, la proporzione di degradazione totale dell'insulina che avviene nel fegato è stata del 27,1%, mentre il 72,9% avviene nei tessuti extraepatici. [11]

I risultati del FSIGT modificato con insulina, in cui viene iniettato un bolo endovenoso di glucosio al tempo  $t = 0$  seguito da un breve infusione endovenosa di insulina a partire dal tempo  $t = 20$  minuti, forniscono un protocollo sperimentale unico che consente di stimare sia la clearance dell'insulina epatica che extraepatica. Durante i primi 20 minuti, tutta l'insulina

plasmatica è derivata dalla secrezione endogena (che può essere stimata mediante deconvoluzione delle concentrazioni misurate di C-peptide) ed è quindi soggetta all'estrazione epatica al primo passaggio. Poi, al tempo  $t = 20$  minuti, una quantità nota di insulina viene infusa per via endovenosa, determinando un rapido aumento delle concentrazioni plasmatiche di insulina. L'osservazione di periodi temporali in cui tutta l'insulina viene immessa nella vena porta (0-20 minuti) con periodi in cui la maggior parte dell'insulina viene somministrata per via endovenosa può essere utilizzata per ottenere informazioni accurate riguardo ai contributi relativi della clearance dell'insulina epatica rispetto a quella extraepatica. [11]

I risultati di Polidori et al., confermano precedenti segnalazioni di una marcata variabilità nell'estrazione epatica dell'insulina. In particolare, la media stimata (IQR) dell'estrazione frazionata (nelle condizioni basali) è stata del 25,8% (32,7%), e i valori individuali dei soggetti variavano da trascurabili al 74%. Inoltre, la clearance dell'insulina extraepatica era anch'essa variabile e sembrava essere regolata indipendentemente dalla clearance epatica dell'insulina, senza che fosse osservata una chiara relazione tra i parametri  $FE_L$  e  $CL_P$ , con diversi soggetti che presentavano valori elevati per un parametro e valori bassi per l'altro.

In conclusione, utilizzando il protocollo FSIGT modificato con insulina e un innovativo approccio di modellazione, Polidori et al. hanno sviluppato un metodo per stimare sia la clearance insulinica epatica che extraepatica utilizzando solo i profili plasmatici misurati di insulina e C-peptide e senza richiedere un campionamento invasivo della vena epatica. Il modello, che contiene un'unica equazione differenziale con tre o quattro parametri, è in grado di riprodurre accuratamente i profili completi di insulina plasmatica osservati durante il FSIGT e di identificare chiare differenze nei valori dei parametri tra gli individui. [11]

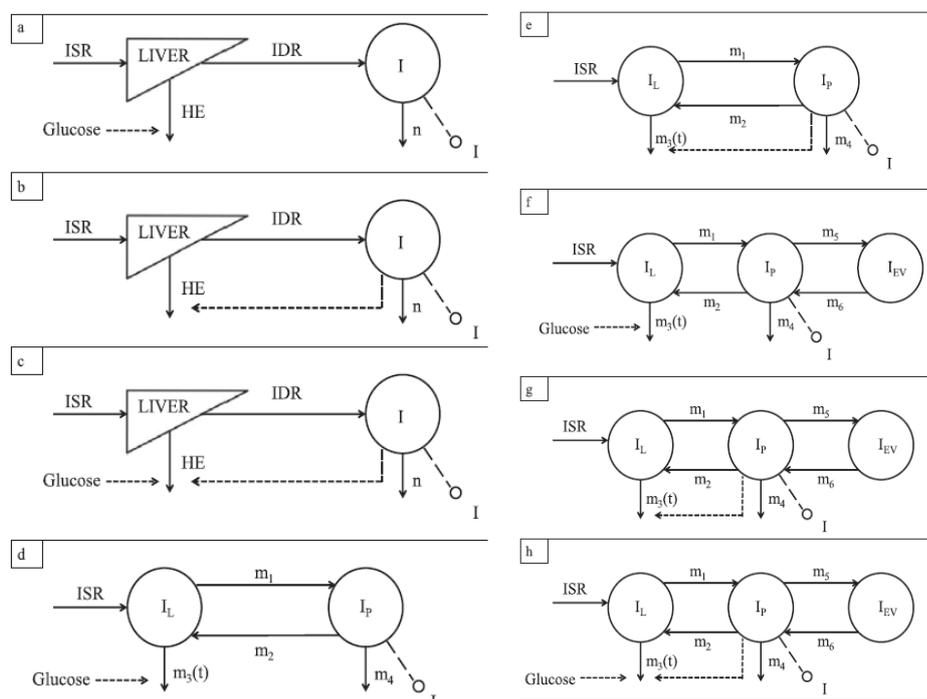
## **2.2.6 Modello Piccinini et al., 2016**

In questo studio nove modelli diversi, di crescente complessità, sono stati testati su dati di 204 soggetti sani, i quali hanno effettuato un test di tolleranza mista al pasto, con misurazioni frequenti del plasma concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide. Tutti questi modelli includevano un modello a due compartimenti della cinetica del C-peptide, un modello di secrezione dell'insulina, un modello compartimentale della cinetica dell'insulina (con il numero di compartimenti che va da uno a tre), e diverse descrizioni di HE, a seconda del glucosio e dell'insulina plasmatici.

Sono stati utilizzati i dati di uno studio precedente in cui 204 soggetti non diabetici hanno consumato un pasto misto durante un periodo di 15 minuti. Il sangue è stato prelevato frequentemente (FS-MTT) a  $-120, -30, -20, -10, 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120,$

150, 180, 210, 240, 260, 280, 300, 360 e 420 minuti per misurare le concentrazioni di glucosio, C-peptide e insulina; il tempo 0 è il momento in cui il pasto è iniziato. Con lo scopo di testare le prestazioni del modello in caso di campionamento standard (SS-MTT), abbiamo identificato il modello selezionato utilizzando solo campioni di 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300 minuti. [12]

Lo studio confronta nove modelli diversi del sistema esaminando una descrizione a uno, due e tre compartimenti della cinetica dell'insulina (vedi Figura 3), con diverse relazioni funzionali HE.



**Figura 12.** Diagrammi schematici dei Modelli I (pannello a), II (pannello b), III e IV (pannello c), V (pannello d), VI (pannello e), VII (pannello f), VIII (pannello g), e IX (pannello h).  $I$  (pmol/L), concentrazione di insulina plasmatica, accessibile alla misurazione;  $n$  ( $\text{min}^{-1}$ ), tasso di clearance insulinico frazionale (cioè, per unità di volume di distribuzione);  $ISR$  (pmol/min), tasso di secrezione dell'insulina;  $IDR$  (pmol/min), tasso di distribuzione post-epatica dell'insulina;  $I_L$ ,  $I_P$ , e  $I_{EV}$  (pmol/L), concentrazioni di insulina nel fegato, nel plasma, e nello spazio extravascolare, rispettivamente;  $m_1$ ,  $m_2$ ,  $m_4$ ,  $m_5$ ,  $m_6$  ( $\text{min}^{-1}$ ), parametri di tasso;  $m_3$  ( $\text{min}^{-1}$ ), parametro dipendente dal tempo e dipendente da HE; HE (%), estrazione epatica dell'insulina. [12]

I risultati sono riassunti nella Tabella 6, sia per i modelli del C-peptide che dell'insulina.

	Run Test	Precision (mean CV)	WRSS (mean $\pm$ SD)	Parameters	AIC (mean $\pm$ SD)
<b>C-peptide</b>					
Model I	81%	7%	267 $\pm$ 430	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	275 $\pm$ 430
Model II	87%	7%	255 $\pm$ 350	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	263 $\pm$ 350
Model III	84%	7%	256 $\pm$ 343	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	264 $\pm$ 343
Model IV	87%	7%	252 $\pm$ 332	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	260 $\pm$ 332
Model V	90%	> 10 <sup>4</sup> %	245 $\pm$ 319	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	253 $\pm$ 319
Model VI	89%	> 10 <sup>4</sup> %	253 $\pm$ 325	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	261 $\pm$ 325
Model VII	93%	6%	148 $\pm$ 100	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	156 $\pm$ 100
Model VIII	88%	247%	237 $\pm$ 323	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	245 $\pm$ 323
Model IX	90%	11%	291 $\pm$ 503	$\alpha, \Phi_d, \Phi_s, h$	299 $\pm$ 503
<b>Insulin</b>					
Model I	89%	12%	272 $\pm$ 158	$a_G$	274 $\pm$ 158
Model II	91%	10%	268 $\pm$ 121	$a_I$	270 $\pm$ 121
Model III	94%	203%	248 $\pm$ 117	$a_I, a_G$	252 $\pm$ 117
Model IV	90%	14%	263 $\pm$ 129	$a_{G1}$	265 $\pm$ 129
Model V	59%	96%	329 $\pm$ 152	$a_G, V_P, m_1, m_4$	337 $\pm$ 152
Model VI	67%	5%	427 $\pm$ 251	$a_I, V_P, m_1, m_4$	435 $\pm$ 251
Model VII	98%	22%	124 $\pm$ 57	$a_G, V_P, m_1, m_4, m_5, m_6$	136 $\pm$ 57
Model VIII	94%	10%	227 $\pm$ 164	$a_I, V_P, m_1, m_4, m_5, m_6$	239 $\pm$ 164
Model IX	87%	27%	239 $\pm$ 153	$a_{G1}, V_P, m_1, m_4, m_5, m_6$	247 $\pm$ 153

**Tabella 6.** Identificazione del modello, selezione e risultati. [12]

In breve, i Modelli V e VI sono stati scartati perché l'aleatorietà dei residui pesati dell'insulina è scarsa e i parametri stimati, specialmente quelli del modello del C-peptide, mostrano una scarsa precisione. Anche i Modelli III e VIII sono stati scartati perché i parametri sono stati stimati con scarsa precisione. Per quanto riguarda i modelli rimanenti (Modelli I, II, IV, VII e IX), forniscono tutti una buona precisione delle stime dei parametri, ma l'AIC mostra che il Modello VII è il più parsimonioso ( $AIC_{C-peptide} = 156 \pm 100$  e  $AIC_{insulin} = 136 \pm 57$ , con  $p < 0.05$  se confrontato con gli altri). Le stime dei parametri sono mostrate nelle Tabelle 7 e nella tabella 8.

		FS-MTT	SS-MTT					
				No. of samples	Run Test	Precision (mean CV)	nWRSS (mean $\pm$ SD)	
$V_P$	(L/kg)	0.057 $\pm$ 0.021	0.062 $\pm$ 0.027					
$a_G$	(L/mmol)	0.144 $\pm$ 0.064	0.180 $\pm$ 0.085					
$m_4$	(min <sup>-1</sup> )	0.335 $\pm$ 0.178	0.292 $\pm$ 0.173	<b>C-peptide</b>				
$m_5$	(min <sup>-1</sup> )	0.283 $\pm$ 0.116	0.255 $\pm$ 0.096	FS MTT	21	93%	6%	7 $\pm$ 5
$m_6$	(min <sup>-1</sup> )	0.018 $\pm$ 0.008	0.017 $\pm$ 0.009	SS MTT	11	97%	13%	8 $\pm$ 14
$m_1$	(min <sup>-1</sup> )	0.946 $\pm$ 0.424	1.379 $\pm$ 0.525	<b>Insulin</b>				
$\alpha$	(min <sup>-1</sup> )	0.091 $\pm$ 0.085	0.147 $\pm$ 0.146					
$\Phi_d$	(10 <sup>-9</sup> )	558.3 $\pm$ 236.0	470.2 $\pm$ 234.8					
$\Phi_s$	(10 <sup>-9</sup> min <sup>-1</sup> )	34.24 $\pm$ 12.50	32.98 $\pm$ 11.59	FS MTT	21	98%	22%	6 $\pm$ 3
$h$	(mmol/L)	4.690 $\pm$ 0.523	4.417 $\pm$ 0.699	SS MTT	11	97%	27%	5 $\pm$ 6

**Tabella 7. 8.** Parametri stimati per il Modello VII [12]

Il modello VII è un modello a tre compartimenti (vedi Figura 12, pannello f) che descrive la cinetica dell'insulina attraverso il fegato, il plasma e lo spazio extravascolare:

$$\dot{I}_L(t) = -(m_1 + m_3(t)) * I_L(t) + m_2 I_P(t) + \frac{ISR(t)}{BW * V_P} \quad I_L(0) = I_{Lb} \quad (31)$$

$$\dot{I}_P(t) = -(m_2 + m_4 + m_5) * I_P(t) + m_1 I_L + m_6 I_{EV} \quad I_P(0) = I_{Pb} \quad (32)$$

$$\dot{I}_{EV}(t) = m_5 I_P(t) - m_6 I_{EV}(t) \quad I_{EV}(0) = I_{EVb} \quad (33)$$

$$I(t) = I_P(t) \quad (34)$$

Dove rispetto agli altri modelli sono stati aggiunti  $I_{EV}$  (pmol/L), cioè l'insulina nel compartimento extravascolare, e i parametri  $m_5$  e  $m_6$  ( $\text{min}^{-1}$ ).

Per  $I_{EV}$ , allo stato basale si ha:

$$I_{EVb} = \frac{m_5}{m_6} * I_{Pb} \quad (35)$$

Quindi le equazioni:

$$m_3(t) = \frac{HE(t)m_1}{1-HE(t)} \quad (36)$$

$$I_{Pb} = I_b \quad (37)$$

$$I_{Lb} = \frac{m_2 I_{Pb} + ISR_b / (BW * V_P)}{m_1 + m_3(0)} \quad (38)$$

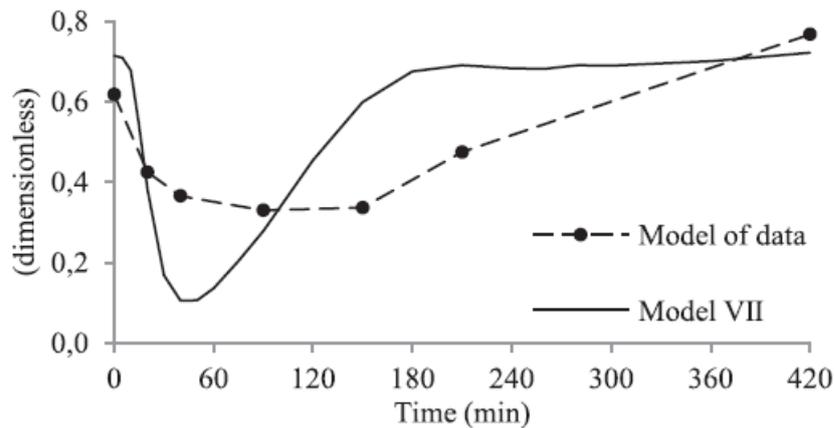
$$m_3(0) = \frac{HE_b m_1}{1-HE_b} \quad (39)$$

derivanti del Modello V sono ancora valide, ma per HE, viene utilizzata una dipendenza dalla concentrazione di glucosio. Per il calcolo di  $HE_b$ ,  $HE_{tot}$ , vengono utilizzate rispettivamente le equazioni:

$$HE_b = \frac{\frac{ISR_b}{BW * V_P} - m_4 I_{Pb}}{\frac{ISR_b}{BW * V_P} + m_2 I_{Pb}} \quad (40)$$

$$HE_{tot} = \frac{\int_0^T m_3(t) dt}{\int_0^T (m_3(t) + m_1) dt} \quad (41)$$

I modelli ottenuti di HE sono diversi rispetto al modello di Campioni et al., che contiene una descrizione lineare a tratti per HE. Il valore medio di HE ottenuto dal Modello VII è mostrato nella Figura 13, insieme a quello fornito da Campioni et al..



**Figura 13.** Profilo HE medio del modello dei dati e del Modello VII. [12]

Evidentemente, HE diminuisce più rapidamente e in misura maggiore con il Modello VII, rispetto al modello dei dati; inoltre, il nuovo profilo ritorna al suo stato basale alla fine dell'esperimento, come ci si potrebbe aspettare 420 minuti dopo l'assunzione del pasto. Anche se sia gli indici  $HE_b$  che  $HE_{tot}$  forniti da Campioni et al. differiscono significativamente da quelli riportati dal nuovo modello ( $p < 0.05$ ) e sono correlati negativamente ( $R = -0.034$  e  $p > 0.05$ ,  $R = -0.0117$  e  $p > 0.05$ , rispettivamente, per gli indici basali e totali), è da notare che, come riportato precedentemente, entrambi dimostrano un'elevata percentuale di estrazione dell'insulina dal fegato [ $HE_b^{\text{Model of data}} (\%) = 62\%$  versus  $HE_b^{\text{Model VII}} (\%) = 71\%$ , e  $HE_{tot}^{\text{Model of data}} (\%) = 44\%$  versus  $HE_{tot}^{\text{Model VII}} (\%) = 66\%$ ]; ciò è dovuto al fatto che, nel Modello VII,  $HE_b$  dipende anche da  $m_4$ , che è uno dei parametri stimati, mentre in Campioni et al., lo stesso indice è calcolato da valori di popolazione e misurazioni basali. Tuttavia, le differenze nei valori assoluti probabilmente riflettono le differenze nella struttura del modello adottata per calcolare HE.

Il nuovo modello mostra buone prestazioni in termini di precisione delle stime dei parametri e della sua capacità di descrivere i dati sull'insulina.

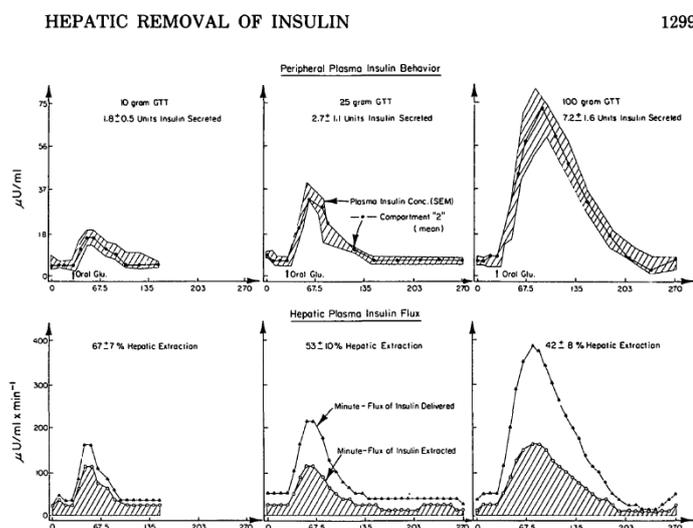
Il nuovo modello inoltre offre molti vantaggi, tra cui l'uso di una descrizione a tre compartimenti per la cinetica dell'insulina è più fisiologico rispetto ai modelli a uno o due compartimenti, poiché considera lo spazio plasmatico, epatico ed extravascolare. Inoltre, diversamente dalla funzione lineare a tratti, essendo HE dipendente linearmente dalla concentrazione di glucosio, è disponibile un nuovo indice di sensibilità di HE al glucosio, che potrebbe essere utile in vari studi fisiopatologici. Questo indice misura la risposta dell'effetto della concentrazione di glucosio sulla soppressione di HE. Quindi, insieme alla sensibilità all'insulina e alla responsività delle cellule beta al glucosio, potrebbe evidenziare difetti specifici nei meccanismi di controllo dell'omeostasi del glucosio. [12]



# Conclusioni

Questa tesi discute vari modelli matematici sviluppati per stimare la clearance dell'insulina in modo non invasivo, considerando la difficoltà e l'impraticabilità di eseguire metodi diretti nell'uomo. Questi modelli nascono per superare le limitazioni dei rapporti molari tra C-peptide e insulina e l'imprecisione dei metodi in vivo.

Nel 1983, Eaton et al., basandosi sul lavoro di Sherwin et al., presentarono un modello cinetico a tre compartimenti per l'insulina, comprendente il plasma, lo spazio extraepatico e lo spazio di diluizione extravascolare. Questo modello stima la secrezione di insulina mediante la deconvoluzione delle concentrazioni plasmatiche di C-peptide, considerando la secrezione uguale al tasso di rilascio del C-peptide dal pancreas. I ricercatori calcolarono sia la clearance epatica che extraepatica dell'insulina, ma 12 dei 13 parametri del modello derivavano da dati su cani. Questa dipendenza da dati animali introduce incertezze sulle stime, poiché i parametri possono variare significativamente negli esseri umani.



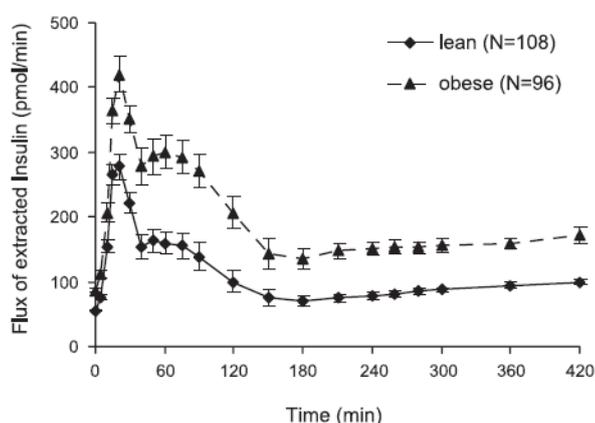
**Figura 14.** La concentrazione di insulina plasmatica (SEM nell'area ombreggiata) e la soluzione del modello nel compartimento 2 della risposta alla dose di ingestione orale di glucosio a 10, 25 e 100 g è mostrata in alto [6]

Tura et al. hanno sviluppato un modello durante l'OGTT che descrive il C-peptide e l'insulina con una cinetica monocompartimentale. Questo metodo permette la stima della secrezione di insulina e della sua degradazione, pur mantenendo costante il tasso di estrazione epatica dell'insulina durante l'esperimento. L'approccio, sebbene innovativo, potrebbe essere limitato

dall'assunzione che il tasso di estrazione epatica sia costante e dalla rappresentazione semplificata della cinetica del C-peptide.

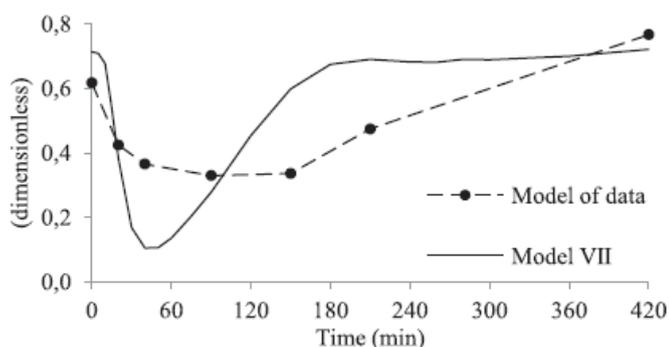
Toffolo et al. hanno superato alcune limitazioni dei metodi precedenti, utilizzando una cinetica a due compartimenti per il C-peptide e una monocompartimentale per l'insulina durante il FSIGT. Questo modello è in grado di stimare la secrezione di insulina e il tasso di rilascio postepatico senza introdurre significative compensazioni indesiderate tra parametri.

Campioni et al. hanno proposto un modello per la stima del tasso di estrazione epatica dell'insulina durante test orali, usando una cinetica a due compartimenti per il C-peptide e modificando il modello a compartimento singolo per l'insulina. Hanno introdotto una descrizione funzionale di HE come funzione lineare a tratti, ma non hanno considerato la clearance extraepatica dell'insulina.



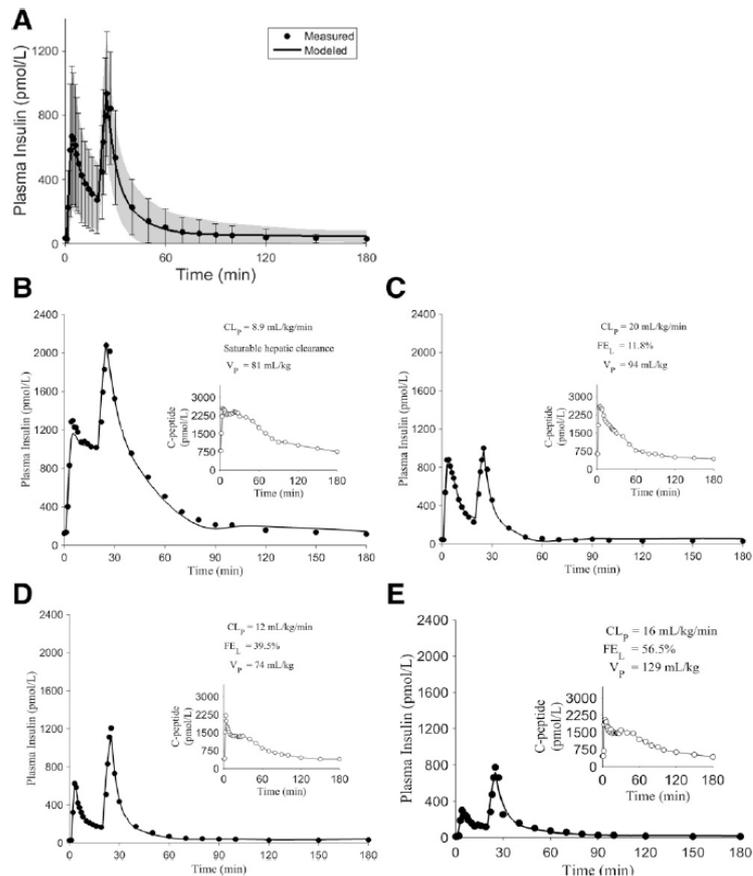
**Figura 15.** Flusso di insulina estratta dal fegato durante un pasto (media  $\pm$  DS) per soggetti magri (linea continua) e obesi (linea tratteggiata).[10]

Nel 2016, Piccinini et al. hanno proposto un modello che combina una cinetica a tre compartimenti per l'insulina con una rappresentazione fisiologica della HE, dipendente dalle concentrazioni plasmatiche di glucosio. Questo modello offre una maggiore precisione rispetto ai precedenti, ma non include la clearance extraepatica dell'insulina.



**Figura 16.** Profilo medio HE del modello dei dati e del Modello VII.[12]

Per superare queste limitazioni, Polidori et al. hanno recentemente introdotto un modello che stima sia la clearance epatica che quella extraepatica durante FSIGT modificato. L'approccio di Polidori integra la deconvoluzione del C-peptide e sfrutta la variazione della insulina esogena per stimare accuratamente i contributi relativi delle due componenti della clearance dell'insulina.



**Figura 17.** Confronto tra profili di insulina modellati e misurati. A: Media  $\pm$  SD per i valori misurati (punti e barre d'errore) e modellati (linea e area ombreggiata). B-E: Profili per quattro partecipanti rappresentativi con diversi profili di insulina plasmatica e stime dei parametri diverse per la clearance epatica e periferica. [11]

Sulla base del modello di Polidori et al., si è in grado di misurare la clearance epatica ed extraepatica dell'insulina in diverse coorti. Il vantaggio di questo protocollo è che la comparsa precoce di insulina, dopo l'iniezione di glucosio, è endogena, cioè, proveniente dalle isole pancreatiche. Tuttavia, dopo l'iniezione di insulina 20 minuti dopo, l'aspetto è esogeno. Questa disparità permette di ottenere delle stime eccellenti dell'insulina epatica di primo passaggio rispetto alla clearance extraepatica dell'insulina.

# Bibliografia

- [1] Guyton e Hall, Fisiologia medica, *Tredicesima edizione*, Edra, 2016
- [2] Zocchi L., Principi di Fisiologia, *EdiSES S.r.l*, 2012
- [3] Piccinini F., Bergman R., “The Measurement of Insulin Clearance”, *Diabetes Care*, 43, pp.2296-2302, 2020
- [4] Sparacino G., Cobelli C., “A stochastic deconvolution method to reconstruct insulin secretion rate after a glucose stimulus”, *IEEE Trans Biomed Eng*, 43(5), pp.512-529, 1996.
- [5] Polonsky K.S., Rubenstein A.H.. “C-peptide as a measure of the secretion and hepatic extraction of insulin”, *Pitfalls and limitations Diabetes*, 33, pp.486-494, 1984.
- [6] Eaton R.P., Allen R.C., Schade D.S.. “Hepatic removal of insulin in normal man: dose response to endogenous insulin secretion”, *J Clin Endocrinol Metab*, 96(6), pp.1294-1300, 1983
- [7] Tura A., Ludvik B., Nolan J.N., Pacini G., Thomaseth K., “Insulin and C-peptide secretion and kinetics in humans: direct and model-based measurements during OGTT” *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281, pp.966-974, 2001
- [8] De Boor C., “A Practical Guide to Splines”, *New York: Springer Verlag*, 1978
- [9] Toffolo G., Campioni M., Basu R., Rizza A.R., Cobelli C., “A minimal model of insulin secretion and kinetics to assess hepatic insulin extraction”, *Am. J. Physiol Endocrinol. Metabolism*, 290, pp.169-176, 2005
- [10] Campioni M., Toffolo G., Basu R., Rizza A.R., Cobelli C., “Minimal model assessment of hepatic insulin extraction during an oral test from standard insulin kinetic parameters”, *Am. J. Physio. Endocrinol Metabolism*, 297, pp.941-948, 2009
- [11] Polidori D.C., Bergman R.N., Chung S.T., Summer A.E., “Hepatic and Extrahepatic Insulin Clearance Are Differentially Regulated: Results From a Novel Model-Based Analysis of Intravenous GlucoseTolerance Data”, *Diabetes*, 65, pp.1556-1564, 2016
- [12] Piccinini F., Dalla Man C., Vella A., Cobelli C., “A Model for the Estimation of Hepatic Insulin Extraction After a Meal” *IEEE Transactions On Biomedical Engineering*, 63(9), pp.1925-1932, 2016