



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA

***MODELLI PER LA STIMA DEL TASSO DI
COMPARSA DEL GLUCOSIO NEL SANGUE IN
SOGGETTI SOTTOPOSTI A CHIRURGIA
BARIATRICA***

Relatrice: Prof. / Dott. Dalla Man Chiara

Laureanda: Costanza Fabris

ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022

Data di laurea 05/12/2022

Sommario

L'obesità è una condizione patologica piuttosto critica che ad oggi riguarda circa il 10% della popolazione mondiale. Oltre all'aspetto estetico, questa malattia porta con sé numerosi altri disturbi, tra cui diabete, colesterolo elevato e malattie cardiovascolari. Esistono molteplici trattamenti per contrastare l'obesità, siano essi comportamentali o farmacologici. Nel lungo termine però, la soluzione più efficace diventa la chirurgia bariatrica, che tra gli interventi più diffusi ritrova la *sleeve gastrectomy* ed il *bypass gastrico*. Nonostante i numerosi effetti positivi legati a questo tipo di interventi, diversi pazienti hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia post-prandiale a qualche anno dall'intervento stesso. Diventa quindi fondamentale cercare di quantificare, tramite l'uso di specifici modelli matematici, la risposta metabolica propria dell'individuo, in modo tale da comprendere meglio la fisiopatologia di tale disturbo e testare l'efficacia di eventuali cure e trattamenti.

Il database a disposizione consiste in 32 soggetti, operati e non, per cui sono disponibili misure del tasso di comparsa del glucosio dopo un pasto (Ra) e le concentrazioni di glucosio e insulina.

Sono stati testati quattro diversi modelli matematici per identificare i parametri legati al transito dei carboidrati attraverso il tratto intestinale, con l'obiettivo di individuare quello che meglio approssima il tasso di comparsa del glucosio. Dei quattro modelli testati, i migliori sono stati un modello lineare, in grado di descrivere i profili di Ra presenti nel database, e il classico modello minimo della cinetica del glucosio, a cui è stata associata una descrizione parametrica di Ra . Tramite quest'ultimo è stato possibile stimare i tassi di comparsa di glucosio a partire dai soli profili di glucosio e insulina. Entrambi i modelli selezionati descrivono bene i dati di Ra e i loro parametri sono stimati con una buona precisione. Questo risultato è importante: dimostra che è possibile utilizzare il modello minimo orale per quantificare la risposta metabolica in individui sottoposti a chirurgia bariatrica senza l'impiego di traccianti ed esperimenti dispendiosi in termini di risorse impiegate e difficili da realizzare.

Abstract

Obesity is a rather critical disease condition that affects about 10% of the world's population. In addition to aesthetic factors, this disease brings with it several other disorders, including diabetes, high cholesterol, and cardiovascular disease. There are multiple treatments to contrast obesity, whether behavioral or pharmacological. However, in the long term, the most effective solution becomes bariatric surgery, which includes sleeve gastrectomy and gastric bypass as the most common procedures. Despite the multiple positive effects associated with these types of surgeries, many patients develop postprandial hypoglycemia a few years after the intervention. Therefore, it becomes essential to try to quantify, using specific mathematical models, the individual's own metabolic response, to better understand the pathophysiology of this disorder and test the effectiveness of possible cures and treatments.

The available database collects the rate of glucose occurrence at meal (Ra) in addition to glucose and insulin concentration in 32 operated and unoperated subjects.

Four different mathematical models were tested to identify parameters related to carbohydrate transit through the intestinal tract, with the goal of identifying the one that best approximates Ra . Two of the four models performed best: a linear model, which describes Ra profiles, and the classical minimal model of glucose kinetics, with which a parametric description of Ra is provided. Using the latter, it was possible to estimate glucose appearance rates from glucose and insulin data only. Both selected models described the Ra data well, and their parameters were estimated with good precision. This result has an important impact: it demonstrates that it is possible to use the oral minimal model to quantify the metabolic response of individuals in post-bariatric subjects, without employing tracer experiments that are very expensive and difficult to perform.

Indice

<i>Indice</i>	1
<i>Lista delle figure</i>	3
<i>Lista delle tabelle</i>	5
1. CAPITOLO 1: Introduzione	7
1.1. L'Obesità	7
1.2. La Chirurgia Bariatrica	8
1.3. La Risposta Metabolica.....	10
1.4. Modelli Matematici del Tratto Gastrointestinale.....	11
1.5. Obbiettivo della Tesi.....	12
1.6. Contenuto della tesi	12
2. CAPITOLO 2: Dati e protocollo sperimentale	15
2.1. Soggetti	15
2.2. Protocollo Sperimentale	15
3. CAPITOLO 3: Metodi	21
3.1. Modelli	21
3.1.1. Modelli della Rate of Apperance del Glucosio	21
3.1.2. Modello Minimo Orale del Glucosio.....	23
3.1.3. Modello Minimo Orale del Glucosio Modificato	25
3.2. Identificazione dei modelli	26
3.3. Implementazione MATLAB	29
4. CAPITOLO 4: Risultati	33
4.1. Modelli della Rate of Apperance del Glucosio	33
4.1.1. Modello Non Lineare della Rate of Apperance del Glucosio	33
4.1.2. Modello Lineare della Rate of Apperance del Glucosio	35
4.1.3. Selezione del modello migliore	36

4.2. Modello Minimo Orale del Glucosio.....	37
4.2.1. Modello Minimo Orale Originale.....	37
4.2.2. Modello Minimo Orale Modificato	39
4.2.3. Selezione del modello migliore	42
4.3. Uso dei modelli.....	43
4.3.1. Modello della Rate of Apperance: confronti tra gruppi	43
4.3.2. Modello Minimo Orale: confronti tra gruppi	45
4.3.3. Discussione.....	47
5. CAPITOLO 5: Conclusione.....	49
<i>Bibliografia</i>	53

Lista delle figure

Figura 1.1 Diffusione mondiale di soggetti affetti da obesità.	7
Figura 2.1 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (R_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 1: RYGB – PBH.....	16
Figura 2.2 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (R_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 2: RYGB – nonPBH.....	17
Figura 2.3 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (R_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 3: SLEEVE – nonPBH.....	17
Figura 2.4 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (R_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 4: NonOperated – Controls.	18
Figura 2.5 Confronto tra le curve medie di glucosio (pannello superiore), insulina (pannello centrale) e tasso di comparsa del glucosio (R_{meal} , pannello inferiore) nei quattro gruppi.	19
Figura 3.1 (A) Il Modello 1, consiste in due compartimenti per lo stomaco (uno per la fase solida (q_{sto1}) e uno per la fase liquida (q_{sto2})) ed un unico compartimento per l'intestino (q_{gut}); il transito da un compartimento all'altro è descritto dal tasso di triturazione (k_{21}), la velocità di svuotamento gastrico (k_{empt}) e il tasso di assorbimento intestinale (k_{abs}), tutti costanti. (B) Il Modello 2, consiste in due compartimenti per lo stomaco (uno per la fase solida (q_{sto1}) e uno per la fase liquida (q_{sto2})) ed un unico compartimento per l'intestino (q_{gut}); il transito da un compartimento all'altro è descritto dal tasso di triturazione (k_{21}), costante, la velocità di svuotamento gastrico (k_{empt}), dipendente dalla quantità totale di glucosio nello stomaco (q_{sto}), ed il tasso di assorbimento intestinale (k_{abs}), anch'esso costante.....	21
Figura 3.2 Modello Minimo Orale di Glucosio. $R_{\text{a}}(t)$ è il tasso di comparsa del glucosio nel plasma dopo un'ingestione orale.	24
Figura 4.1 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperienza con traccianti (cerchi neri) e i relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello 1 lineare.....	34
Figura 4.2 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperienza con traccianti (cerchi	

neri) e i relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello 2 non lineare.....	36
Figura 4.3 Curve medie della concentrazione di glucosio nel plasma (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs dati misurati (cerchi neri) e relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello Minimo Orale.....	38
Figura 4.4 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, ottenute attraverso il Modello Minimo Orale (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperienza coi traccianti (cerchi neri).....	39
Figura 4.5 Curve medie della concentrazione di glucosio nel plasma (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs dati misurati (cerchi neri) e relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello Minimo Orale Modificato.....	41
Figura 4.6 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, ottenute attraverso il Modello Minimo Orale Modificato (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperienza coi traccianti (cerchi neri).....	42
Figura 4.7 Confronto tra le stime del parametro k_{empt} nei diversi gruppi (Modello 1)..	45
Figura 4.8 Confronto tra le stime del parametro k_{abs} nei diversi gruppi (Modello 1). ..	45
Figura 4.9 Confronto tra le stime del parametro S_1 nei diversi gruppi (Modello Minimo Orale).....	46
Figura 4.10 Confronto tra le stime del parametro $Area^*/ Area_{tot}$ nei diversi gruppi (Modello Minimo Orale).....	47
Figura 4.11 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, ottenute attraverso il Modello 1 della Rate of Appearance (linee continue rosse) e il Modello Minimo Orale Originale (linee continue verdi) vs profili ottenuti dall'esperienza coi traccianti (cerchi neri).....	48

Lista delle tabelle

Tabella 4.1 Stime dei parametri incogniti del Modello 1, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).....	34
Tabella 4.2 Stime dei parametri incogniti del Modello 2, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).....	36
Tabella 4.3 Stime dei parametri incogniti del Modello Minimo Orale, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).....	39
Tabella 4.4 Stime dei parametri incogniti del Modello Minimo Orale Modificato, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).....	42
Tabella 4.5 p_value di Anova e T-test tra i diversi gruppi per il parametro k_{empt} (Modello 1).....	44
Tabella 4.6 p_value di Anova e T-test tra i diversi gruppi per il parametro k_{abs} (Modello 1).....	45
Tabella 4.7 p_value di Anova e T-test tra i diversi gruppi per il parametro S_1 (Modello Minimo Orale).....	46
Tabella 4.8 Rapporto tra Area* e Area _{tot} , dove $t^*=30\text{min}$, per ogni gruppo.	47
Tabella 4.9 p_value di Anova e T-test tra i diversi gruppi per il parametro Area*/Area _{tot} (Modello Minimo Orale).....	47

CAPITOLO 1

Introduzione

1.1. L'Obesità

L'obesità è una condizione patologica piuttosto critica contraddistinta da un eccessivo peso corporeo dovuto ad un esagerato accumulo di tessuto adiposo anomalo, potenzialmente rischioso per la salute. Oltre all'aspetto estetico, infatti, questa malattia porta con sé numerosi altri disturbi.

Di norma, un individuo è considerato obeso quando il suo peso corporeo eccede del 20% il peso ideale. Studi più recenti hanno invece introdotto per tale determinazione l'uso di una misura nota come *indice di massa corporea* (BMI¹), calcolato come il peso dell'individuo, espresso in chilogrammi, diviso il quadrato dell'altezza, espressa in metri [kg/m²].

Il limite superiore di normalità è fissato ad un valore di BMI di 24.9, mentre l'obesità è definita per quei valori di BMI compresi tra 25 e 29.9, 30 e 39.9 e superiori a 40 kg/m², a seconda che si tratti di obesità di I, II e III grado rispettivamente. [1]

A livello epidemiologico, l'Organizzazione Mondiale della Sanità² stima un'incidenza di tale patologia del 10% circa sulla popolazione mondiale: un miliardo e trecento milioni di persone nel mondo sono quindi obese.

L'OMS definisce questa condizione come un'epidemia mondiale in continuo aumento e sempre più critica (*Figura 1.1*).

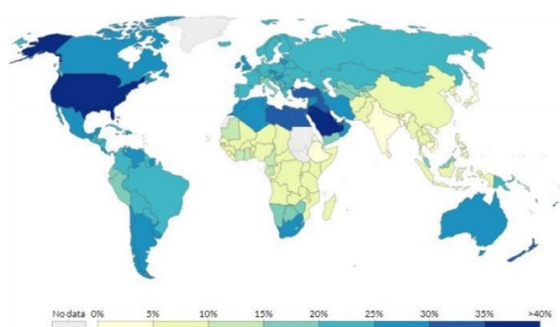


Figura 1.1 Diffusione mondiale di soggetti affetti da obesità.

¹ Body Mass Index

² Agenzia delle Nazioni Unite, istituita nel 1948 e con sede a Ginevra, specializzata nelle questioni sanitarie; vi aderiscono 194 stati membri di tutto il mondo.

Come già sottolineato, l'obesità può portare a gravi problemi di salute, tra cui diabete mellito³, colesterolo elevato, malattie cardiovascolari, tumori, dislipidemia⁴ e compromissione psicosociale, patologie che portano ad un numero di decessi annui superiore ai 2.5 milioni.

Le cause scatenanti l'obesità possono essere legate a mutazioni monogeniche, come le mutazioni al recettore 4 della melanocortina⁵, alla leptino-deficienza⁶, oppure a sindromi come quella di Prader-Willi⁷ e di Bardet-Biedl⁸.

Nondimeno la sedentarietà, il consumo spropositato di bevande zuccherate e di cibi spazzatura sono fattori rilevanti che possono portare all'aggravarsi della condizione clinica del paziente, che talvolta soffre anche di disturbi emozionali come lo stato di depressione [2].

Esistono molteplici trattamenti per trattare l'obesità: comportamentali, che prevedono la modifica dello stile di vita e l'introduzione di una dieta ipocalorica, oppure farmacologici, mediante prescrizione di farmaci dimagranti che agiscono riducendo l'appetito e inibendo l'assorbimento del grasso.

Spesso però, nel lungo termine, i risultati di tali cure in pazienti con obesità grave o patologica non sono soddisfacenti. La soluzione più efficace per questa categoria diventa la chirurgia bariatrica, come stabilito dalle linee guida internazionali elaborate dall'NIH⁹ nel 1991.

1.2. La Chirurgia Bariatrica

La chirurgia bariatrica è una branca della chirurgia che identifica una serie di interventi eseguiti su pazienti obesi con il fine di eliminare il tessuto adiposo in eccesso e prevenire/curare le malattie collegate all'obesità.

³ Malattia in cui l'organismo non produce insulina in quantità sufficiente, causando livelli eccessivamente elevati di glucosio nel sangue.

⁴ Alterazione della quantità di lipidi nel sangue.

⁵ MC4R, recettore associato alla proteina G, la cui attivazione contribuisce a mantenere l'omeostasi energetica e si associa all'attenuazione del senso di fame.

⁶ Leptina: ormone proteico, regola il bilancio delle riserve energetiche controllando il senso di sazietà.

⁷ Malattia rara causata da un'anomalia genetica a livello del cromosoma 15, che porta all'assenza di espressione dei geni paterni. È una delle cause più comuni di obesità sindromica.

⁸ Malattia genetica rara causata dall'alterazione di almeno 12 geni diversi. È caratterizzata dalla presenza contemporanea di obesità, retinite pigmentosa, problemi renali, difficoltà dell'apprendimento.

⁹ National Institute of Health.

Una soluzione di questo tipo può essere presa in considerazione per pazienti con obesità grave ($BMI \geq 40\text{kg/m}^2$) o per pazienti con obesità moderata ($BMI \geq 35\text{kg/m}^2$) che presentano comorbidità.

Gli interventi di chirurgia bariatrica sono solitamente miniminvasivi, comportano una degenza minima in ospedale ed una ripresa molto veloce.

Con essi si riesce ad arrivare ad una diminuzione del 70% circa dei chili in eccesso.

Tra gli interventi più diffusi di chirurgia bariatrica troviamo la *sleeve gastrectomy*, o più semplicemente *gastrectomia*, ed il *bypass gastrico* [3].

Nella maggior parte dei casi sono effettuati con metodica laparoscopica, tecnica minimamente invasiva grazie alla quale il medico può accedere alla cavità addominale senza ricorrere a grandi incisioni. Entrambi sono considerati interventi restrittivi ormonali.

La *sleeve gastrectomy* è la procedura chirurgica bariatrica attualmente più diffusa. Consiste nella resezione verticale, lungo la grande curvatura, di circa 4/5 dello stomaco asportando completamente il fondo gastrico. Essa agisce sul tubo digerente (viene creato un tubolo gastrico che riduce l'ingestione di cibo) riducendo la produzione di alcuni ormoni responsabili della fame ed aumentando invece la produzione di altri in grado di stimolare il senso di sazietà.

La perdita di peso, garantita nei primi anni dalla drastica diminuzione del volume dello stomaco, con precoce senso di sazietà, e dall'eliminazione della porzione di stomaco produttore grelina, ormone stimolante l'appetito, è di circa il 60/70% del peso in eccesso. Nel lungo periodo rimane però fondamentale la capacità del paziente di mantenere le abitudini alimentari acquisite grazie alla *sleeve gastrectomy* e proseguire nel regime alimentare consigliato.

Il *bypass gastrico* invece, agisce modificando sia l'anatomia che la fisiologia gastrointestinale: con una resezione si crea una sacca molto piccola (20-30 ml) nella parte superiore dello stomaco, che viene direttamente collegata all'intestino tenue. La riduzione della capacità gastrica favorisce una sensazione precoce di sazietà anche dopo aver mangiato una modica quantità di cibo. A tutto ciò si aggiunge l'esclusione dai processi digestivi dello stomaco distale, del duodeno e di altri segmenti del sistema digerente

coinvolti nell'assorbimento delle sostanze nutritive; ne consegue una ridotta capacità di assorbimento dei nutrienti.

Anche nel caso del bypass gastrico è importante che il paziente associ poi ad esso un piano alimentare sano e ben definito, oltre ad un programma di allenamento specifico.

Questi interventi garantiscono una perdita di peso a lungo termine, associata ad un miglioramento di malattie metaboliche, riduzione del rischio cardiovascolare e tumorale e di altre comorbilità. Tuttavia, la chirurgia bariatrica non elimina completamente il rischio di insorgenza di complicanze, sia a breve che a lungo termine. È importante quindi considerare i possibili effetti collaterali che qualsiasi intervento chirurgico può comportare, prima di sottoporsi alla terapia [4].

1.3. La Risposta Metabolica

Se da un lato i dati scientifici relativi alla chirurgia bariatrica mostrano come tale procedura abbia molti effetti positivi, sia metabolici sia riguardo la salute del paziente, allo stesso tempo si rilevano un numero sempre più considerevole di dati relativi alla principale complicanza di questi interventi: l'*ipoglicemia reattiva*, anche nota come *ipoglicemia post-prandiale*¹⁰.

Alcuni studi hanno infatti dimostrato che diversi pazienti sottoposti ad interventi di chirurgia bariatrica hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia post-prandiale a qualche anno dall'intervento stesso [5].

L'ipoglicemia reattiva è una forma di ipoglicemia particolare, non dipendente da un sovradosaggio di insulina, tipica dei pazienti diabetici. Essa dipende essenzialmente dal digiuno prolungato e si manifesta dopo un paio d'ore dal termine del pasto.

Talvolta però essa è correlata ad un intervento di chirurgia bariatrica. I sintomi purtroppo sono vaghi e quindi più difficili da identificare in quanto tali: ansia, astenia, aumento del battito cardiaco, ipersudorazione, mal di testa, svenimenti, tremori.

Gli interventi di bypass gastrico o di sleeve gastrectomy comportano un accelerato svuotamento dell'apparato digerente con rapido assorbimento intestinale (intestino prossimale) di glucosio e ipersecrezione di incretine¹¹ (GIP, GLP-1).

¹⁰ Glucosio nel sangue inferiore a 70 mg/dl, non dovuto a diabete.

¹¹ Ormoni prodotti a livello gastrointestinale che stimolano il pancreas endocrino a secernere l'insulina.

La conseguenza è una secrezione in eccesso di insulina, responsabile della sopracitata ipoglicemia. Questa esagerata secrezione di insulina, che si mantiene per le 2-3 ore successive al pasto, combinata con il rapido svuotamento gastrico, determina ipoglicemia e conseguenti sintomi vasomotori.

In questi casi è necessario intervenire subito sulla dieta, attraverso sia la correzione del modo in cui si mangia che la scelta dei cibi. Oltre a ciò, va sempre abbinato dell'esercizio fisico regolare, moderato e mai eseguito a digiuno.

L'ipoglicemia reattiva può associarsi anche al diabete mellito di tipo II: la sintomatologia adrenergica¹² tende ad insorgere dopo 4-5 ore dal termine del pasto: l'insulinoresistenza fa sì che si manifesti dopo il pasto una temporanea iperglicemia post-prandiale, a cui segue una massiccia secrezione di insulina: l'iperinsulinemia fa sì che nella seconda fase, dopo 4-5 ore di digiuno, insorga un'ipoglicemia reattiva anche importante.

In questo caso è raccomandata l'assunzione di glucosio e carboidrati a medio indice glicemico; il glucagone va somministrato solo in caso di ipoglicemia reattiva grave, nel caso la somministrazione orale di glucosio non sia sufficiente per invertire la sintomatologia.

A questo punto diventa di primaria importanza cercare di quantificare, tramite l'uso di specifici modelli matematici, la risposta metabolica propria dell'individuo, in modo tale da comprendere meglio la fisiopatologia di tale disturbo e testare l'efficacia di eventuali cure e trattamenti.

1.4. Modelli Matematici del Tratto Gastrointestinale

In letteratura esistono diversi modelli matematici che descrivono il transito dei carboidrati nel tratto gastrointestinale. Il transito attraverso lo stomaco e l'intestino viene solitamente descritto come una catena lineare o non lineare di tre compartimenti: i primi due rappresentano lo stomaco (fase solida e fase liquida), il terzo rappresenta l'intestino [6]. Fino ad oggi questi modelli sono stati utilizzati per valutare soggetti normali o diabetici, senza prendere in considerazione coloro che sono stati sottoposti a chirurgia bariatrica. Risulta quindi necessario che questi modelli vengano testati/validati anche in soggetti che sono ricorsi ad interventi di *gastric bypass* o di *sleeve gastrectomy*, in modo tale da capire

¹² Rilascio incontrollato di adrenalina, debolezza, palpitazioni e fame estrema.

se essi riescano a descrivere in modo soddisfacente la risposta metabolica dell'individuo, nonostante l'intervento.

1.5. Obiettivo della Tesi

Questo elaborato ha l'obiettivo di determinare un modello matematico per l'identificazione di parametri legati al transito dei carboidrati attraverso il tratto intestinale in soggetti sottoposti a chirurgia bariatrica.

Uno studio effettuato attraverso esperimenti con traccianti multipli ha permesso di stimare il tasso di comparsa del glucosio ingerito al pasto in 32 soggetti operati e non.

Nella prima fase del progetto l'obiettivo è quello di individuare un modello che meglio approssimi il tasso di comparsa del glucosio, già a disposizione nel database.

Nella seconda fase, invece, lo scopo è quello di valutare se, a partire dai soli valori di glucosio ed insulina per ogni singolo soggetto studiato, è possibile stimare con buon'approssimazione il tasso di comparsa del glucosio.

L'elaborato ha quindi l'obiettivo finale di valutare se, per stimare il tasso di comparsa del glucosio al pasto in soggetti sottoposti a chirurgia bariatrica, sia sufficiente avere a disposizione i dati di glucosio e insulina o se invece sia necessario effettuare esperimenti con traccianti multipli, che richiedono molto più tempo e un dispendio di energie e risorse non indifferente.

I risultati ottenuti in gruppi di pazienti sottoposti a diversi interventi di chirurgia bariatrica sono stati poi confrontati tra i vari gruppi per capire se ci fossero correlazioni o differenze sostanziali tra i soggetti operati che non hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia, quelli che invece l'hanno sviluppata, e i soggetti di controllo.

1.6. Contenuto della tesi

Lo studio si articola in ulteriori quattro sezioni principali, ognuna delle quali corrispondente ad un capitolo.

Il capitolo 2 presenta i soggetti che hanno partecipato allo studio ed il protocollo sperimentale utilizzato per ottenere un quadro metabolico completo per ogni paziente.

Il capitolo 3 descrive i modelli utilizzati, con relativa identificazione e stima parametrica dei dati sperimentali. Si aggiunge poi un breve resoconto della realizzazione dei modelli attraverso il software MATLAB.

Il capitolo 4 presenta i risultati ottenuti e i confronti tra i vari modelli.

Il capitolo 5 è infine dedicato alla discussione dei risultati e alla conclusione del progetto.

CAPITOLO 2

Dati e protocollo sperimentale

2.1. Soggetti

Il database è costituito da 32 soggetti, di cui 28 femmine e 4 maschi, suddivisi in 4 gruppi da 8 persone ciascuno.

Il primo gruppo è composto da soggetti sottoposti ad un intervento di *bypass gastrico* (RYGB¹³) (età = $41,5 \pm 4,6$ anni, BMI = $28,5 \pm 1,5$ kg/m²), in seguito al quale hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia (PBH¹⁴). Il secondo gruppo è composto da soggetti sottoposti allo stesso intervento di *bypass gastrico* (RYGB) (età = $44,7 \pm 4,4$ anni, BMI = $27,8 \pm 1,4$ kg/m²), ma i quali non hanno sviluppato nessuna condizione di ipoglicemia. Il terzo gruppo presenta soggetti sottoposti ad un intervento di *sleeve gastrectomy* (età = $42,5 \pm 4,8$ anni, BMI = $29,3 \pm 1,6$ kg/m²), in seguito al quale non hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia. L'ultimo gruppo, infine, è un gruppo di controllo, composto da soggetti non operati (età = $42,9 \pm 5,2$ anni, BMI = $27,5 \pm 1,9$ kg/m²).

2.2. Protocollo Sperimentale

Ad ogni gruppo di soggetti è stato proposto un pasto misto contenente 15 g di glucosio marcato con del glucosio-[1-¹³G]. Sfruttando la tecnica del doppio tracciante, un protocollo orale che implementa la tecnica di clamp del rapporto tracciante-tracciato e la stima modello indipendente della velocità di comparsa nel plasma del glucosio ingerito (R_{meal}). Questa si aggiunge alle misure di concentrazione di glucosio e insulina nel sangue per ogni soggetto in esame, completando il quadro metabolico del paziente.

I campioni di R_{meal} sono stati raccolti ai tempi 0, 15, 30, 45, 60, 85, 120, 135, 150, 160, 170, dove 0 rappresenta l'istante di inizio dell'esperimento (ingestione del pasto). I campioni di glucosio sono stati raccolti ai tempi -100, -15, 15, 30, 45, 60, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180,

¹³ Roux-en-Y Gastric Bypass.

¹⁴ Post Bariatric Hypoglycemia.

185, 190, 195, 200, 205, 210 mentre quelli di insulina sono stati raccolti ai tempi -15, 15, 30, 45, 60, 85, 105, 120, 135, 150, 160, 170.

Di seguito sono riportati i grafici che descrivono l'andamento della concentrazione di glucosio e insulina durante il pasto misto e il tasso di comparsa del glucosio, misurato mediante tecnica di clampaggio a traccianti multipli, per ogni gruppo precedentemente descritto.

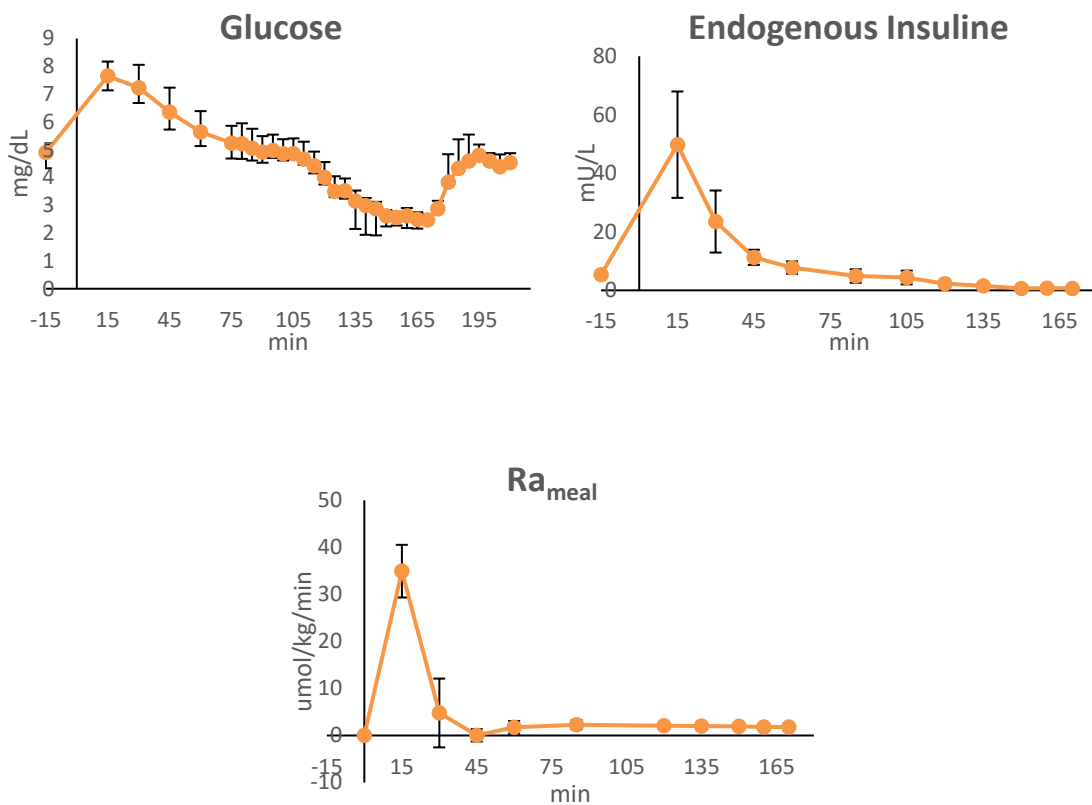
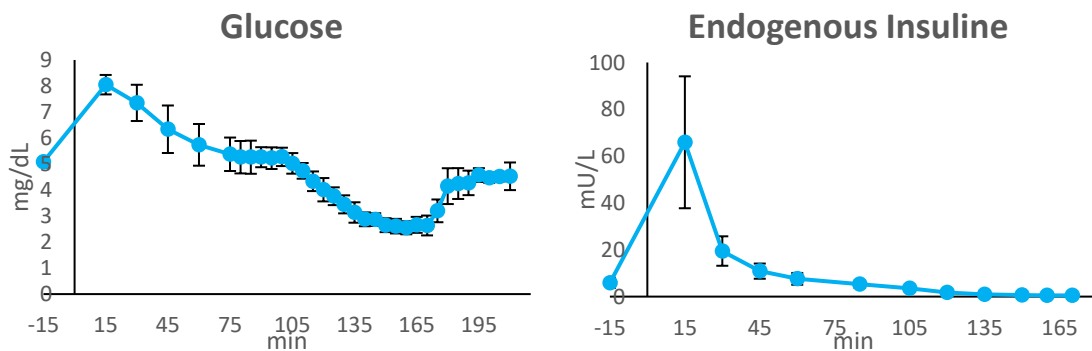


Figura 2.1 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (Ra_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 1: RYGB - PBH.



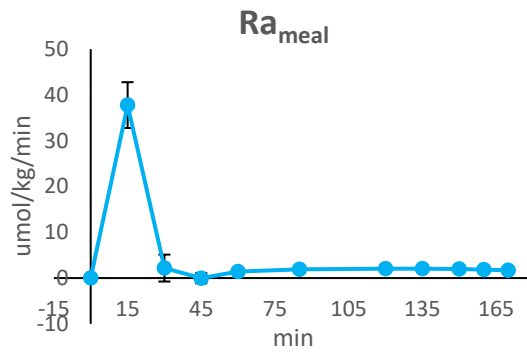


Figura 2.2 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (Ra_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 2: RYGB – nonPBH.

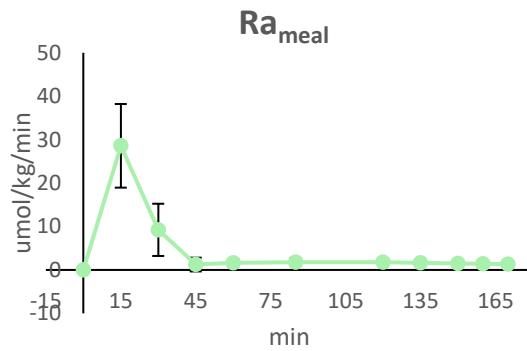
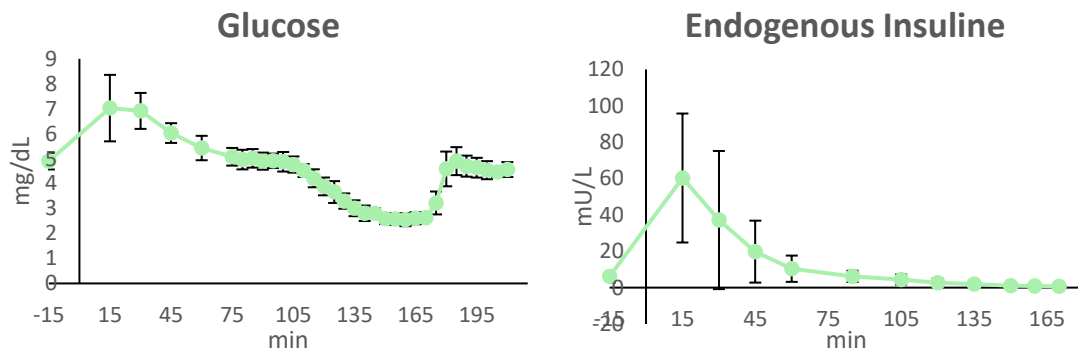
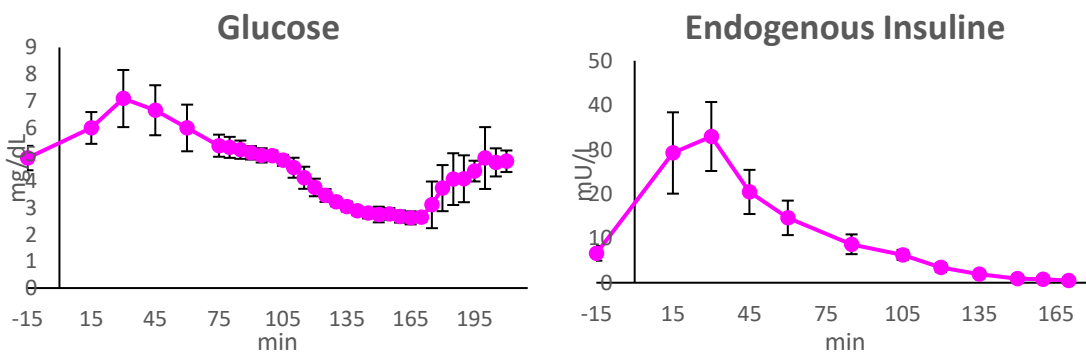


Figura 2.3 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (Ra_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 3: SLEEVE – nonPBH.



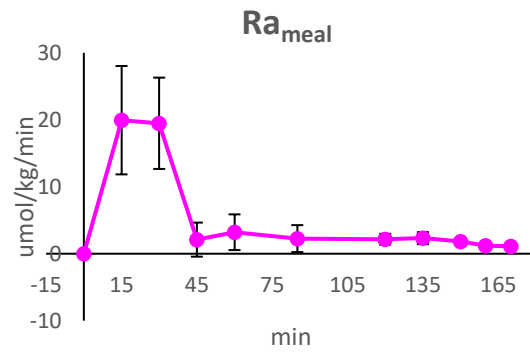
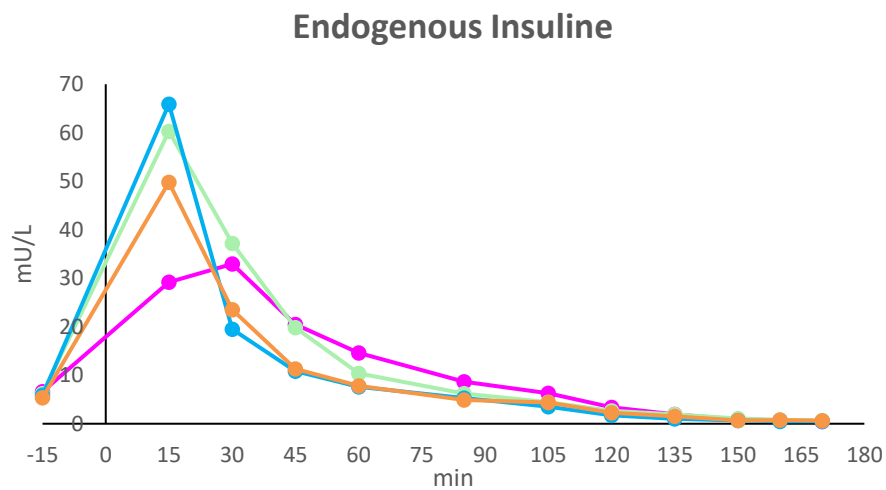
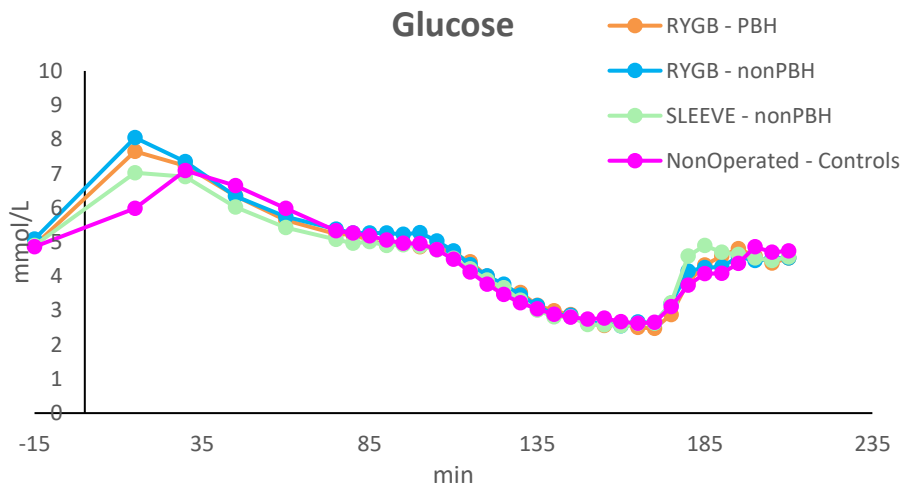


Figura 2.4 Curve medie di glucosio, insulina e tasso di comparsa del glucosio (R_{meal}) con le relative deviazioni standard per il gruppo 4: NonOperated – Controls.



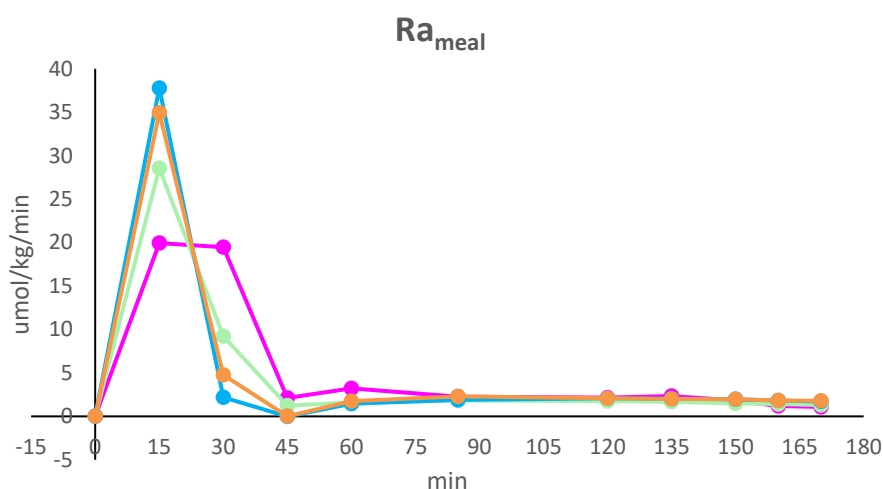


Figura 2.5 Confronto tra le curve medie di glucosio (pannello superiore), insulina (pannello centrale) e tasso di comparsa del glucosio (Ra_{meal} , pannello inferiore) nei quattro gruppi.

La *Figura 2.5* mostra le curve medie della concentrazione di glucosio, insulina e Ra_{meal} per ogni gruppo in esame e permette di effettuare un confronto tra le grandezze considerate nei quattro diversi gruppi. Dai grafici è possibile notare che la concentrazione di glucosio durante il pasto non presenta differenze rilevanti nei vari gruppi. La concentrazione di insulina raggiunge invece un picco più alto nei soggetti sottoposti a chirurgia bariatrica. Similmente a quest'ultima, il tasso di comparsa del glucosio al pasto raggiunge valori inferiori per quanto riguarda il gruppo dei soggetti di controllo, non operati, rispetto ai soggetti operati.

CAPITOLO 3

Metodi

3.1. Modelli

Come già precisato, lo scopo della tesi è quello di identificare il modello che meglio si adatti ai dati già disponibili nel database, ovvero ai tassi di comparsa del glucosio nei quattro gruppi. L'obiettivo di tutti i modelli considerati è quello di stimare il valore di alcuni parametri sconosciuti, andando a minimizzare una determinata funzione obiettivo.

3.1.1. Modelli della Rate of Appearance del Glucosio

Nella prima fase di questo progetto sono stati impiegati due modelli già disponibili in letteratura, uno lineare e uno non lineare [6]

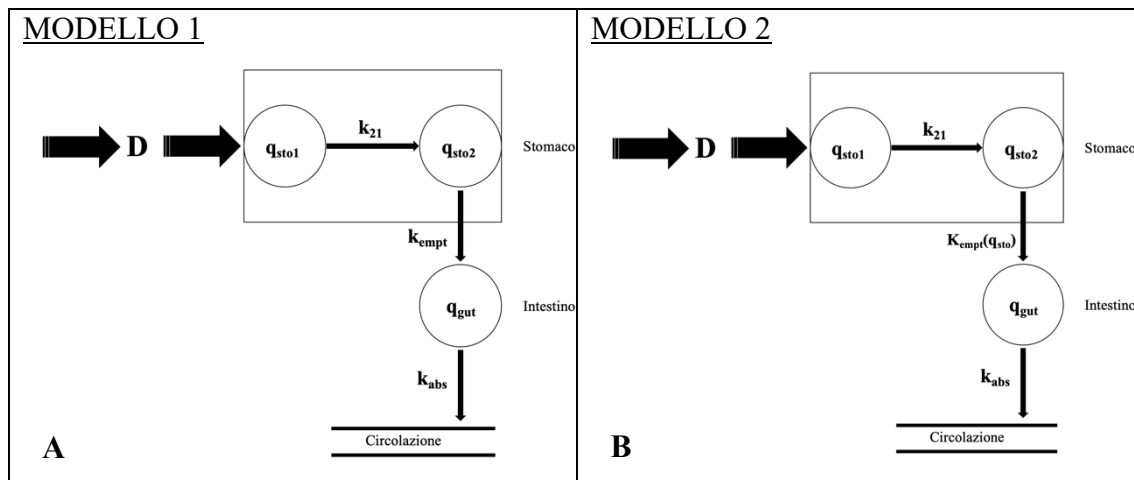


Figura 3.1 (A) Il Modello 1, consiste in due compartimenti per lo stomaco (uno per la fase solida (q_{sto1}) e uno per la fase liquida (q_{sto2})) ed un unico compartimento per l'intestino (q_{gut}); il transito da un compartimento all'altro è descritto dal tasso di triturazione (k_{21}), la velocità di svuotamento gastrico (k_{empt}) e il tasso di assorbimento intestinale (k_{abs}), tutti costanti. (B) Il Modello 2, consiste in due compartimenti per lo stomaco (uno per la fase solida (q_{sto1}) e uno per la fase liquida (q_{sto2})) ed un unico compartimento per l'intestino (q_{gut}); il transito da un compartimento all'altro è descritto dal tasso di triturazione (k_{21}), costante, la velocità di svuotamento gastrico (k_{empt}), dipendente dalla quantità totale di glucosio nello stomaco (q_{sto}), ed il tasso di assorbimento intestinale (k_{abs}), anch'esso costante.

A. Modello 1

Il primo modello descrive il transito del glucosio attraverso lo stomaco e l'intestino come una catena lineare di tre compartimenti: i primi due rappresentano lo stomaco (fase solida e fase liquida), il terzo rappresenta l'intestino.

Le equazioni del modello sono:

$$\begin{cases} \dot{q}_{sto1}(t) = -k_{21} \cdot q_{sto1}(t) + D \delta(t) \\ \dot{q}_{sto2}(t) = -k_{empt} \cdot q_{sto2}(t) + k_{21} \cdot q_{sto1}(t) \\ \dot{q}_{gut}(t) = -k_{abs} \cdot q_{gut}(t) + k_{empt} \cdot q_{sto2}(t) \\ R_a(t) = f \cdot k_{abs} \cdot q_{gut}(t) \end{cases} \quad (3.1)$$

dove q_{sto1} e q_{sto2} sono le quantità di glucosio nello stomaco (rispettivamente nella fase solida e in quella liquida), $\delta(t)$ è l'impulso unitario ideale, D è la quantità di glucosio ingerito, q_{gut} è la quantità di glucosio nell'intestino, k_{21} il tasso di triturazione, k_{empt} la velocità di svuotamento gastrico, k_{abs} il tasso di assorbimento intestinale e f è la frazione dell'assorbimento intestinale che appare effettivamente nel plasma, definita come segue:

$$f = \frac{\int_0^{\infty} R_a(t)}{D} \quad (3.2)$$

B. Modello 2

Diversi studi presenti in letteratura descrivono lo svuotamento gastrico come un processo bifasico, che dipende in modo non lineare dalla quantità di cibo ingerito con il pasto, dalla sua densità energetica e dalla quantità di nutrienti nello stomaco. Per rappresentare al meglio questo comportamento è stato proposto un secondo modello, non lineare. Come nel modello precedente, anche in quest'ultimo lo stomaco è rappresentato da due compartimenti (fase solida e fase liquida), mentre un terzo compartimento è usato per descrivere l'intestino. Anche le equazioni del modello restano le stesse presentate in (3.1), eccetto che per il tasso di svuotamento gastrico k_{empt} , il quale non è più costante ma dipende dalla quantità totale di glucosio nello stomaco (q_{sto}):

$$k_{empt}(q_{sto}) = k_{min} + \frac{k_{max} - k_{min}}{2} \cdot \{\tanh[\alpha(q_{sto} - b \cdot D)] - \tanh[\beta(q_{sto} - c \cdot D)]\} + 2 \quad (3.3)$$

con

$$q_{sto}(t) = q_{sto1}(t) + q_{sto2}(t). \quad (3.4)$$

b è la percentuale di dose di glucosio per cui k_{empt} diminuisce a $(k_{max} - k_{min})/2$, mentre c è la percentuale di dose di glucosio per cui k_{empt} torna a $(k_{max} - k_{min})/2$, dopo aver raggiunto il minimo k_{min} . α e β rappresentano il tasso di decrescita e crescita, rispettivamente, di k_{empt} e sono definiti come segue:

$$\alpha = \frac{5}{2 \cdot D \cdot (1 - b)} \quad (3.5)$$

$$\beta = \frac{5}{2 \cdot D \cdot c} \quad (3.6)$$

Se c è piccolo, k_{empt} rimane a livello di k_{min} finché lo stomaco non è completamente vuoto e (3.3) si semplifica come:

$$k_{empt}(q_{sto}) = k_{min} + \frac{k_{max} - k_{min}}{2} \cdot \{\tanh[\alpha (q_{sto} - b \cdot D)] + 1\}. \quad (3.7)$$

3.1.2. Modello Minimo Orale del Glucosio

Nella seconda fase del progetto è stato utilizzato il Modello Minimo Orale di Glucosio per stimare il tasso di comparsa del glucosio nel plasma (Ra) e la sensibilità all'insulina¹⁵ (S_I) a partire dai dati di glucosio e insulina presenti nel database [7] [8].

Tramite questo modello è inoltre possibile ricostruire le concentrazioni di glucosio nel sangue, in modo tale da poter valutare se il modello si adatta ai dati presenti nel database in modo soddisfacente.

¹⁵ Capacità dell'insulina di controllare la produzione e l'utilizzo del glucosio.

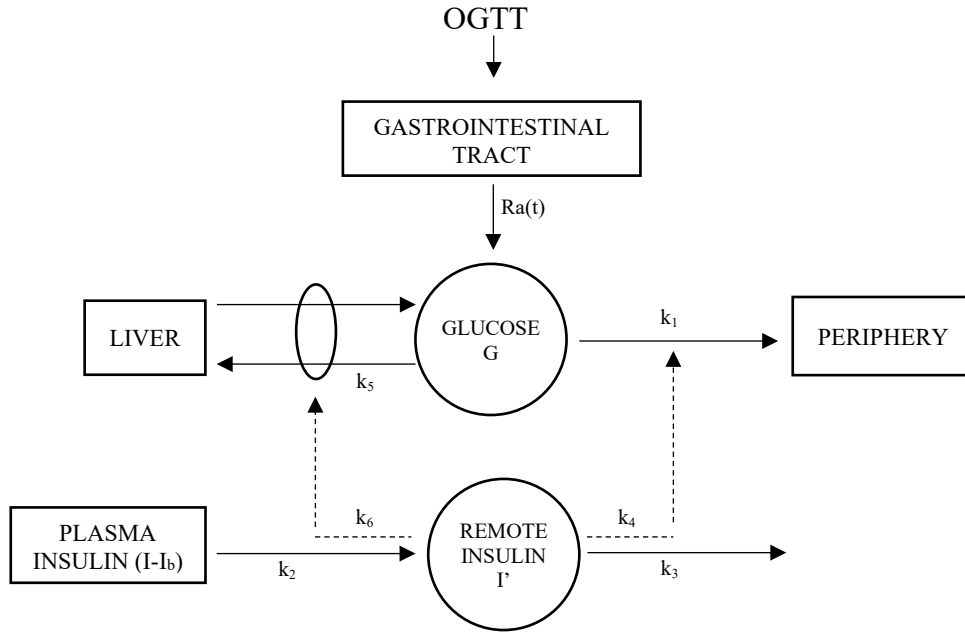


Figura 3.2 Modello Minimo Orale di Glucosio. $Ra(t)$ è il tasso di comparsa del glucosio nel plasma dopo un'ingestione orale.

In [7] è stato proposto di associare al classico modello minimale della cinetica del glucosio, sviluppato per gli studi IVGTT¹⁶, una descrizione parametrica di Ra .

La formulazione generale del Modello Minimo Orale è quindi:

$$\begin{cases} \dot{G}(t) = [p_1 + X(t)] \cdot G(t) + p_1 \cdot G_b + \frac{Ra(t)}{V}; & G(0) = G_b \\ \dot{x}(t) = -p_2 \cdot X(t) + p_3 \cdot [I(t) - I_b]; & X(0) = 0 \end{cases} \quad (3.8)$$

dove G è la concentrazione di glucosio, X è l'azione insulinica, I è la concentrazione plasmatica di insulina, Ra è la velocità di comparsa del glucosio nel plasma, V è il volume di distribuzione, il suffisso "b" indica i valori basali e p_1 , p_2 , e p_3 sono parametri di velocità (p_1 rappresenta l'efficacia frazionaria del glucosio (GE) che misura la capacità del glucosio di promuovere lo smaltimento e di inibire la produzione dello stesso; p_2 è la costante di velocità del compartimento insulinico remoto da cui proviene l'azione insulinica; p_3 è un fattore di scala che regola l'ampiezza dell'azione insulinica).

L'indice di sensibilità insulinica frazionaria è dato da:

¹⁶ Test di tolleranza al glucosio per via endovenosa.

$$S_I = \frac{p_3}{p_2} \left(\text{min}^{-1} \text{ per } \frac{\mu U}{\text{ml}} \right). \quad (3.9)$$

Rispetto alla *Figura 3.2*, la relazione tra i vari k_i e i p_i in (8) e (9) è la seguente: $p_1 = k_1 + k_5$, $p_2 = k_3$ e $p_3 = k_2 \cdot (k_4 + k_6)$. I' è l'insulina remota, correlata a X come $X = (k_4 + k_6) \cdot I'$.

Ra è definito come la comparsa post-epatica del glucosio appena assorbito. Se la sua espressione analitica è nota, tranne che per un piccolo numero di parametri, è possibile formulare la ricostruzione di Ra come un problema di stima dei parametri. Ra è infatti definito come segue:

$$Ra = Ra(t, p) \quad (3.10)$$

dove p è un vettore di parametri.

In questo modello si utilizza una rappresentazione lineare a tratti, in cui Ra viene descritta come una funzione lineare a tratti con un numero determinato di “break points”. Sono stati scelti cinque intervalli, quindi sei break points, fissati a 0, 15, 30, 45, 60 e 90. Dal momento che Ra varia più rapidamente nelle prime fasi di osservazione, gli intervalli sono stati appositamente scelti più brevi all’inizio e più lunghi verso la fine.

L’espressione di Ra è quindi data da:

$$\begin{cases} k_{i-1} + \frac{k_i - k_{i-1}}{t_i - t_{i-1}} \cdot (t - t_{i-1}), & \text{per } t_{i-1} \leq t \leq t_i \quad i = 1 \dots 5 \\ 0, & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (3.11)$$

dove $\{k_i\}$ è l’insieme dei parametri non noti che rappresentano i parametri di Ra ai tempi di rottura.

3.1.3. Modello Minimo Orale del Glucosio Modificato

L’ultimo modello considerato consiste nel Modello Minimo Orale appena presentato (3.8) in cui, a differenza del precedente, la velocità di comparsa del glucosio (Ra) non è più una funzione lineare a tratti ma segue un andamento lineare definito dal *Modello 1*, introdotto nella sezione destinata ai Modelli della Rate of Appearance del Glucosio (3.1).

Esso descrive il transito del glucosio attraverso lo stomaco e l'intestino come una catena lineare di tre compartimenti: stomaco (fase solida e fase liquida) e intestino. Per completezza, sono di seguito riportate le equazioni del modello:

$$\begin{cases} \dot{q}_{sto1}(t) = -k_{21} \cdot q_{sto1}(t) + D\delta(t) \\ \dot{q}_{sto2}(t) = -k_{empt} \cdot q_{sto2}(t) + k_{21} \cdot q_{sto1}(t) \\ \dot{q}_{gut}(t) = -k_{abs} \cdot q_{gut}(t) + k_{empt} \cdot q_{sto2}(t) \\ R_a(t) = f \cdot k_{abs} \cdot q_{gut}(t) \end{cases} \quad (3.12)$$

In questo caso i parametri da stimare per ricostruire R_a sono tre: k_{21} , k_{empt} e k_{abs} .

3.2. Identificazione dei modelli

Lo studio in esame prevede, come già noto, la somministrazione di un pasto misto contenente 15g di glucosio. Per tale motivo, nell'implementazione di tutti i modelli considerati, è stato assunto $D = 15000$ [mg].

Consideriamo inizialmente i Modelli della Rate of Appearance del Glucosio.

Il *Modello 1* non è univocamente identificabile, ovvero non è possibile identificare univocamente i suoi parametri incogniti $\{k_{21}, k_{empt}, k_{abs}\}$. Per rendere questo modello identificabile a priori è stato ipotizzato $k_{21} = k_{empt}$. Il *Modello 1* è stato inoltre riparametrizzato, definendo $dk = k_{empt} - k_{abs}$, in modo tale da garantire $k_{empt} > k_{abs}$. Per i soggetti stimati male in cui i parametri sono stati identificati con scarsa precisione, si è poi imposto $k_{empt} = k_{abs}$.

Per procedere all'identificazione numerica di questo modello, sono stati assunti i seguenti valori iniziali dei parametri: $k_{empt} = 0.180 \text{ min}^{-1}$ e $k_{abs} = 0.012 \text{ min}^{-1}$.

Il *Modello 2* è invece univocamente identificabile ma, per favorirne l'identificabilità numerica, è stato imposto il vincolo $k_{21} = k_{max}$. In questo caso, i valori iniziali dei parametri sono stati assunti $k_{abs} = 0.071 \text{ min}^{-1}$, $k_{max} = 0.054 \text{ min}^{-1}$, $k_{min} = 0.006 \text{ min}^{-1}$, $b = 0.69$ e $c = 0.17$.

Si sono poi valutati entrambi i modelli assumendo che la deviazione standard dell'errore di misura sia costante e pari a 1.

In aggiunta, i parametri del *Modello 2* sono stati stimati ponendo $c = 0$ (poiché questo parametro veniva sempre stimato a valori molto bassi e con scarsissima precisione).

La funzione obiettivo da minimizzare come funzione dei parametri sconosciuti (p) è la medesima per entrambi i modelli e consiste, sostanzialmente, nella differenza tra le velocità di comparsa del glucosio (Ra) misurate con le tecniche a traccianti multipli e quelle stimate dal modello (Ra_{pred}). Più correttamente, la funzione obiettivo (OB) è definita come segue:

$$OB(p) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{Ra(t_i) - Ra_{pred}(t_i)}{\sigma(t_i)} \right)^2, \quad (3.13)$$

dove σ è la deviazione standard del modello e N il numero di soggetti considerati nello studio.

Entrambi i modelli sono stati numericamente identificati mediante minimi quadrati non lineari (WNLLS¹⁷). L'errore di misura su Ra è stato assunto indipendente gaussiano con media zero e deviazione standard costante e sconosciuta, stimata a posteriori [6].

Per quel che riguarda invece il Modello Minimo Orale del Glucosio e quello Modificato, essi non sono identificabili *a priori* in modo univoco, poiché V , il volume di distribuzione del glucosio, non è identificabile e p_I , l'efficacia frazionaria del glucosio, non è identificabile in modo univoco. Se V e p_I vengono assunti noti, però, tutti gli altri parametri dei modelli diventano univocamente identificabili. Sono stati quindi fissati ai valori medi della popolazione trovati in letteratura: $V = 1.7$ dl/kg e $p_I = 0.014$ min⁻¹.

In questi modelli, l'errore di misura è stato assunto indipendente gaussiano con media zero e standard deviation nota (CV=2%).

La funzione obiettivo (OB) da minimizzare nel caso in esame è la seguente:

$$OB(p) = \sum_{i=1}^N \left[\frac{1}{\sigma^2(t_i)} \cdot (G_{pred}(t_i) - G(t_i))^2 + \ln(\sigma^2(t_i)) \right], \quad (3.14)$$

¹⁷ Weighted NonLinear Least Square.

dove G sono i valori di glucosio già presenti nel database, G_{pred} i valori di glucosio stimati, σ identifica la varianza dell'errore di misura del glucosio e N è il numero di soggetti considerati nello studio.

Si è inoltre assunto che la quantità di glucosio assorbita, ovvero l'area sotto la curva Ra , sia una frazione nota della dose ingerita, ovvero:

$$\int_0^{90} Ra \cdot dt = \frac{D \cdot f}{BW}, \quad (3.15)$$

dove D è la dose di glucosio ingerito, f è la frazione di dose ingerita che viene effettivamente assorbita e BW è il peso corporeo. In questo studio è stato assunto $f=0.86$ [7].

Prendendo in esame il Modello Minimo Orale, in cui i tassi di comparsa del glucosio fanno riferimento ad una funzione lineare a tratti, esso consente di stimare la sensibilità all'insulina SI , il parametro p_2 e i parametri di Ra . Grazie al vincolo (3.13), i parametri di Ra effettivamente stimati sono quattro dei sei parametri k_i . Si noti infatti che $k_0 = Ra(0) = 0$ e che k_1 si ricava a partire dagli altri parametri attraverso la seguente formula:

$$k_1 = \frac{\frac{D \cdot f}{BW} - 15 \cdot k_2 - 15 \cdot k_3 - 22.5 \cdot k_4 - 15 \cdot k_5}{15}. \quad (3.16)$$

I coefficienti dell'Eq. 3.16 derivano dal calcolo dell'area sotto la curva Ra . Si rappresenta infatti Ra come una funzione lineare a tratti, i cui break points sono fissati a 0, 15, 30, 45, 60 e 90. L'area sotto la curva si ottiene come somma delle aree dei cinque trapezi, identificati per ogni intervallo temporale.

I valori iniziali dei parametri da stimare sono: $SI = 0.0009 \text{ min}^{-1}$ per $\mu\text{U/ml}$, $k_2 = 5 \text{ mg/kg/min}$, $k_3 = 3 \text{ mg/kg/min}$, $k_4 = 2 \text{ mg/kg/min}$, $k_5 = 1 \text{ mg/kg/min}$ e $p_2 = 0.01 \text{ min}^{-1}$.

In seguito all'identificazione di questo modello, si è visto che alcuni dei parametri k_i venivano stimati con scarsa precisione: essi sono infatti spesso molto piccoli, vicini a zero, e con un coefficiente di variazione eccessivamente elevato. Di conseguenza si è

deciso di fissare a zero i parametri k_i che presentavano questo problema, in modo tale che non debbano più essere stimati e ottenere quindi stime i cui coefficienti di variazione fossero ragionevoli ($CV\% < 100$).

Per quanto riguarda il Modello Minimo Orale Modificato, in cui Ra è descritta da una catena lineare di compartimenti, si sono combinate le proprietà del *Modello 1* e del *Modello Minimo Orale*. V e p_1 mantengono i valori precedentemente definiti ($V = 1.7$ dl/kg, $p_1 = 0.014$ min⁻¹ e di conseguenza $GE = 0.024$ dl/kg/min). I parametri da stimare in questo modello sono quattro: k_{empt} , k_{abs} , SI e p_2 . Per inizializzare l'algoritmo di stima si sono usati i seguenti valori iniziali: $k_{empt} = 0.180$ min⁻¹, $k_{abs} = 0.012$ min⁻¹, $SI = 0.0009$ min⁻¹ per $\mu\text{U/ml}$ e $p_2 = 0.01$ min⁻¹.

3.3. Implementazione MATLAB

Al fine di valutare la bontà dei modelli proposti, sono stati implementati diversi algoritmi MATLAB. L'obiettivo dell'algoritmo è quello di determinare un modello che meglio approssimi i dati a disposizione. Per tutti i modelli considerati in questo lavoro si è seguita la medesima condotta: utilizzando l'approccio dei minimi quadrati non lineari, si stimano i valori dei parametri minimizzando una funzione obiettivo (3.12 e 3.14), e si determina la precisione delle stime dalla matrice di informazione di Fisher.

Essendo i modelli non lineari, i valori ottimi del vettore dei parametri non si possono ottenere in forma chiusa, come nel caso lineare, ma necessitano di una linearizzazione iterativa.

MATLAB, all'interno dell'"*optimization toolbox*", presenta diverse funzioni predefinite per la ricerca del valore minimo di una funzione. Nel caso dei minimi quadrati non lineari si utilizza la funzione *lsqnonlin()*, definita come:

```
[p_est, RESNORM, RESIDUAL, EXITFLAG, OUTPUT, LAMBDA, J]=lsqnonlin('fun',  
p0, pdown, pup, options, struct)
```

Tale funzione ricerca il minimo valore di una funzione, la cosiddetta *funzione obiettivo*, 'fun', ottenendo così il vettore dei parametri da stimare.

p_0 è il vettore contenente i valori iniziali dei parametri da stimare, p_{down} e p_{up} sono vettori che definiscono i limiti inferiori e superiori rispettivamente entro cui eseguire la

ricerca, *options* contiene le opzioni di ottimizzazione e *struct* è il vettore dei parametri ausiliari.

Questa funzione ritorna il vettore *p_est*, contenente la soluzione del problema di minimizzazione. *RESNORM* rappresenta la norma quadratica dei residui, *RESIDUAL* è un vettore contenente i residui, *EXITFLAG* è un intero ed indica il motivo dell'interruzione del processo di risoluzione, *OUTPUT* contiene informazioni sul processo di ottimizzazione, *LAMBDA* rappresenta i moltiplicatori di Lagrange alla soluzione e *J* è la matrice dello jacobiano alla soluzione.

È poi necessaria un'ulteriore funzione (*ode45()*), in grado di risolvere il sistema di equazioni differenziali di interesse, definita come:

```
[T_ode, Q_ode] = ode45('modello', tspan, q0, options, struct)
```

'*modello*' contiene le equazioni differenziali da risolvere, *tspan* è un vettore ed indica gli intervalli di integrazione, *q0* definisce le condizioni iniziali.

Questa funzione ritorna due vettori: *T_ode* contiene gli istanti temporali in cui viene risolto il sistema di equazioni differenziali mentre *Q_ode* le soluzioni delle equazioni.

Scendendo più nel dettaglio, consideriamo ora l'implementazione dei Modelli della Rate of Appearance del Glucosio.

Per entrambi i modelli proposti si attua il medesimo procedimento: sono stati stimati i valori delle variabili indipendenti, con i relativi coefficienti di variazione (*CV%*) ($\{k_{empt}, k_{abs}\}$ per il *Modello 1*, $\{k_{abs}, k_{max}, k_{min}, b, c\}$ per il *Modello 2*). È stato così possibile ottenere la stima delle velocità di comparsa del glucosio dal pasto (*Ra_{pred}*) a partire dai risultati ottenuti. Il calcolo dei residui, ovvero la differenza tra i valori osservati e quelli stimati, e i grafici ottenuti hanno poi permesso di valutare la precisione della stima.

In questo caso l'algoritmo MATLAB implementato consiste di tre file: il codice principale e due funzioni. Nel *main*, dopo aver caricato e plottato i dati, si costruisce il vettore dei parametri incogniti *p*, fornendo i valori iniziali e fissando i limiti inferiore e superiore di tali valori. Si chiama poi la funzione *lsqnonlin()* per stimare i parametri del

modello, che va a sua volta a chiamare la funzione $ode45()$. Dopo aver ottenuto le stime cercate, si calcola la precisione delle stime, la predizione del modello e i residui pesati. La prima funzione, 'fun', chiamata da $lsqnonlin()$, riceve in input il vettore dei parametri da stimare e le variabili ausiliarie e fornisce in output il vettore della funzione costo (p_est). Questa funzione non fornisce una soluzione analitica del modello, ma la sua predizione viene calcolata numericamente simulando il modello con la seconda funzione, $ode45()$.

L'implementazione del Modello Minimo Orale del Glucosio è molto simile alla precedente. Essa consente di ottenere una stima delle variabili indipendenti, con i relativi coefficienti di variazione ($CV\%$), $\{SI, k_i, p_2\}$, oltre alle stime della concentrazione di glucosio nel sangue ($Glucose_pred$).

A differenza del precedente, per questo secondo modello sono stati utilizzati quattro file: al programma principale e alle due funzioni si aggiunge il file destinato al caricamento dei dati e alla creazione delle variabili necessarie. Nel *main*, dopo aver debitamente caricato i dati, si passa alla fase di interpolazione. Nel database a disposizione, infatti, alcuni valori di glucosio e insulina risultano mancanti. Per evitare che il programma restituisca errore questi valori, definiti come NaN¹⁸, vengono interpolati secondo la seguente legge:

$$G(i) = G(-1) + \frac{G(i+1) - G(i-1)}{t(i+1) - t(i-1)} * (t(j) - t(i-1)), \quad (3.17)$$

dove $G()$ è il vettore contenente le misure di glucosio mentre $t()$ è il vettore dei tempi. La varianza associata a ciascun valore interpolato è invece fissata a *Inf*.

Si fissano poi i valori dei parametri noti e si costruisce il vettore dei parametri incogniti p , con i relativi valori iniziali. Si chiama poi la funzione $lsqnonlin()$ e di conseguenza la funzione $ode45()$ per stimare i parametri del modello ottimali e risolvere le equazioni differenziali. Dopo aver ottenuto le stime cercate si calcolano la precisione delle stime, la predizione del modello e i residui pesati.

¹⁸ Valori definiti come "Not A Number".

Per quanto riguarda il Modello Minimo Orale del Glucosio Modificato, il procedimento è pressoché lo stesso di quanto svolto per il modello precedente. L'unica differenza sta nel fatto che i parametri da stimare non sono più i parametri k_i corrispondenti ai vari punti di rottura bensì i parametri k_{empt} e k_{abs} del modello lineare. Una volta ottenuta la loro stima quindi, la predizione del modello viene calcolata numericamente richiamando la funzione *ode45()*.

CAPITOLO 4

Risultati

4.1. Modelli della Rate of Appearance del Glucosio

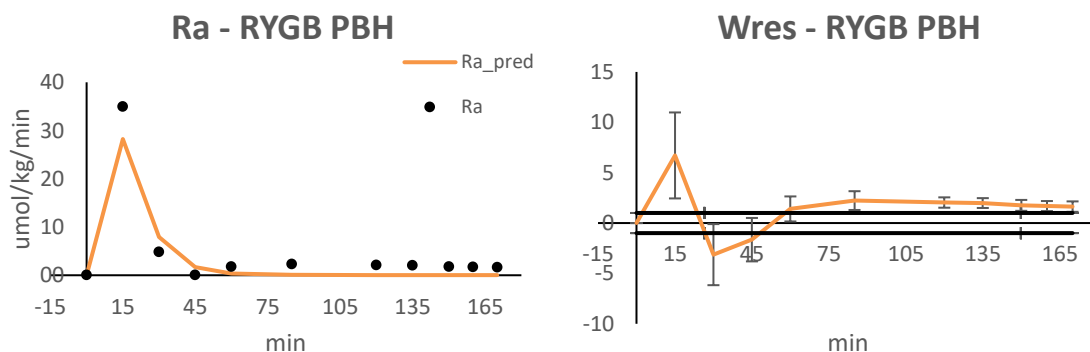
4.1.1. Modello Lineare della Rate of Appearance del Glucosio

Per quanto riguarda il *Modello 1* lineare, ci soffermiamo sui dati ottenuti fissando la standard deviation a 1 e andando a correggere quei soggetti i cui parametri vengono stimati in modo impreciso ($CV\% > 100$). La correzione consiste nel fissare $k_{empt} = k_{abs}$, in modo da ridurre il numero di parametri da stimare.

I risultati ottenuti mostrano che il modello in esame è in grado di seguire l'andamento del tasso di comparsa del glucosio ottenuto mediante traccianti, senza però adattarsi in modo del tutto soddisfacente ai dati, soprattutto per quanto riguarda gli istanti finali, in cui i valori di Ra sono prossimi a zero. I residui medi pesati mostrano deviazioni sistematiche da zero, al di fuori dell'intervallo $[-1; +1]$ specialmente negli istanti iniziali e nei soggetti sottoposti a interventi di bypass gastrico (*Figura 4.1*).

I parametri incogniti di questo modello (k_{empt} e k_{abs}) vengono stimati con una buona precisione, i coefficienti di variazione ($CV\%$) sono infatti inferiori a 100%.

La *Tabella 4.1* riporta la media dei valori e dei $CV\%$ dei parametri stimati, per ogni gruppo: $k_{empt}^{(1)} = 0.257 \pm 0.017$ (21%) (media \pm SE), $k_{empt}^{(2)} = 0.271 \pm 0.002$ (14%), $k_{empt}^{(3)} = 0.214 \pm 0.024$ (13%), $k_{empt}^{(4)} = 0.153 \pm 0.023$ (10%); $k_{abs}^{(1)} = 0.120 \pm 0.000$ (24%), $k_{abs}^{(2)} = 0.120 \pm 0.000$ (13%), $k_{abs}^{(3)} = 0.117 \pm 0.002$ (11%), $k_{abs}^{(4)} = 0.087 \pm 0.010$ (7%).



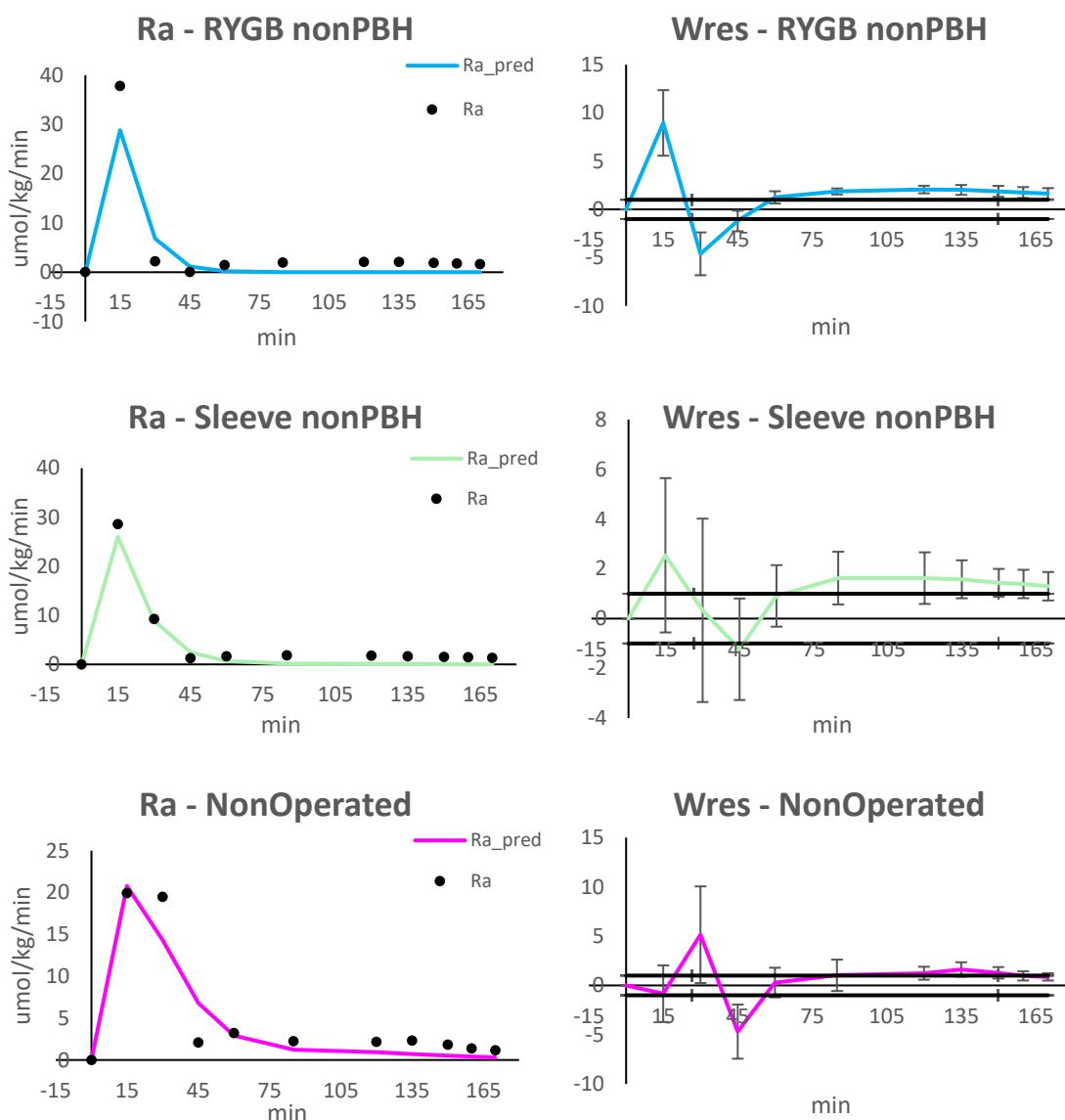


Figura 4.1 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperimento con traccianti (cerchi neri) e i relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello 1 lineare.

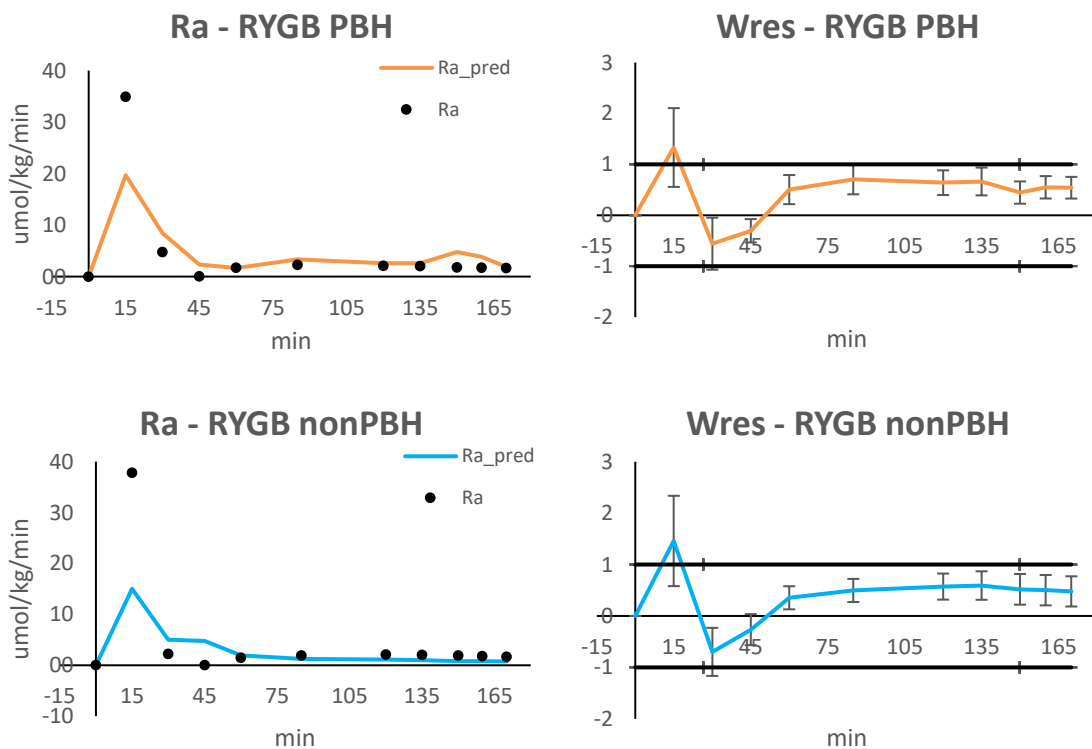
Parametro	RYGB – PBH		RYGB – nonPBH		Sleeve - nonPBH		NonOperated - Control	
	Valore \pm SE [min ⁻¹]	CV [%]	Valore \pm SE [min ⁻¹]	CV [%]	Valore \pm SE [min ⁻¹]	CV [%]	Valore \pm SE [min ⁻¹]	CV [%]
k_{empt}	0.257 \pm 0.017	21	0.271 \pm 0.002	14	0.214 \pm 0.024	13	0.153 \pm 0.023	10
k_{abs}	0.120 \pm 0.000	24	0.120 \pm 0.000	13	0.117 \pm 0.002	11	0.087 \pm 0.010	7

Tabella 4.1 Stime dei parametri incogniti del Modello 1, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).

4.1.2. Modello Non Lineare della Rate of Appearance del Glucosio

Per quanto riguarda il *Modello 2* non lineare, la stima del tasso di comparsa di glucosio negli istanti finali risulta più accurata rispetto al *Modello 1*, ma inizialmente fa molta più fatica a raggiungere il picco, soprattutto nei soggetti sottoposti ad interventi di bypass gastrico. I residui medi pesati non mostrano deviazioni sistematiche da zero, sono infatti sempre all'interno dell'intervallo $[-1; +1]$ (*Figura 4.2* Curve medie del tasso di comparsa del glucosio (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperimento con traccianti (cerchi neri) e i relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello 2 non lineare.).

I parametri incogniti del modello (k_{abs} , k_{max} , k_{min} , b , c) vengono però stimati con scarsa precisione, con un coefficiente di precisione estremamente elevato ($\gg 100\%$). I risultati sono riportati nella *Tabella 4.2*.



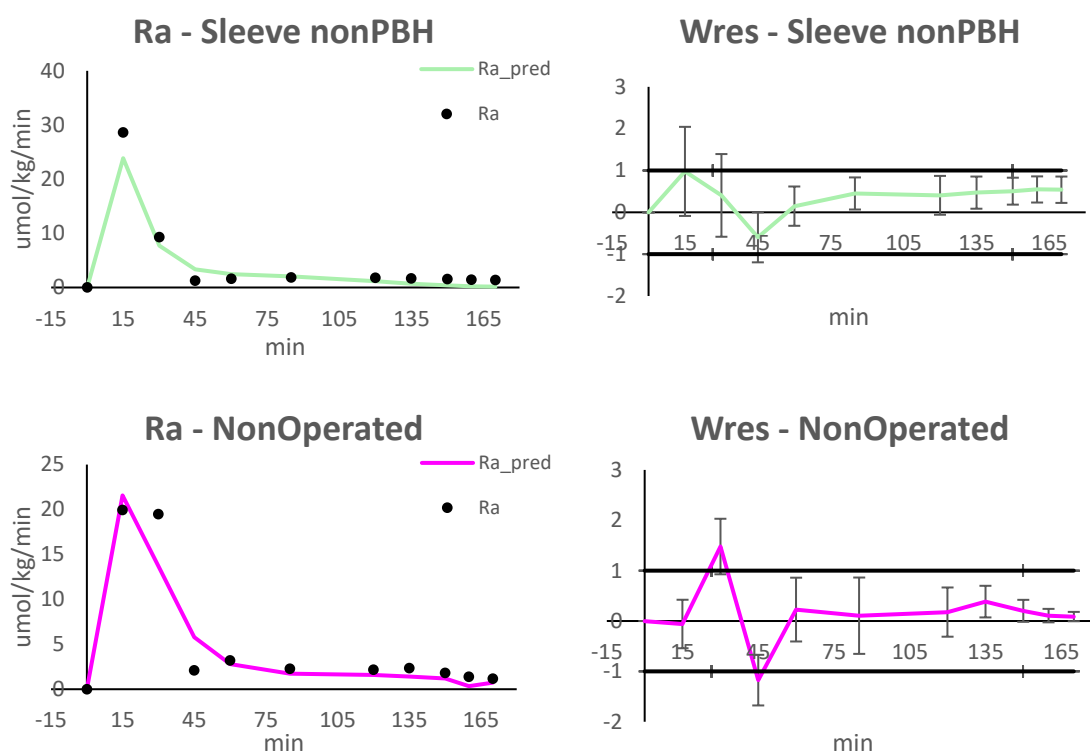


Figura 4.2 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperienza con traccianti (cerchi neri) e i relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello 2 non lineare.

Parametro	RYGB – PBH		RYGB – nonPBH		Sleeve - nonPBH		NonOperated - Control	
	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]
k_{abs} [min^{-1}]	0.260 ± 0.018	647830	0.288 ± 0.024	636510	0.210 ± 0.023	453740	0.138 ± 0.012	8144
k_{max} [min^{-1}]	0.186 ± 0.009	59647	0.178 ± 0.005	48331	0.155 ± 0.013	33496	0.104 ± 0.008	3678
k_{min} [min^{-1}]	0.016 ± 0.006	11553877	0.013 ± 0.007	106816120	0.013 ± 0.007	7166400	0.027 ± 0.008	2045498
b	1.230 ± 0.590	162242767	1.422 ± 0.468	213803430	0.841 ± 0.555	204326224	0.167 ± 0.039	71728
c	0.462 ± 0.177	732854	0.223 ± 0.060	1184459	0.154 ± 0.098	785445	0.086 ± 0.046	7754

Tabella 4.2 Stime dei parametri incogniti del Modello 2, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).

4.1.3. Selezione del modello migliore

Facendo un confronto dei risultati ottenuti dai due modelli della Rate of Appearance del Glucosio, quello che risulta più affidabile è il *Modello 1* lineare. I 15g di glucosio ingeriti sono una quantità relativamente piccola e il *Modello 2* non lineare, piuttosto complicato, non è in grado di fornire una stima della risposta metabolica precisa. I coefficienti di variazione percentuale dei parametri stimati dimostrano infatti che il *Modello 2* non può essere preso in considerazione, vista la sua scarsa precisione nelle stime.

Il *Modello 1* invece, oltre a seguire in maniera piuttosto affidabile l'andamento del tasso di comparsa del glucosio ottenuto mediante traccianti, presenta stime dei parametri incogniti caratterizzati da coefficienti di variazione percentuale piccoli, che garantiscono quindi una stima precisa delle grandezze considerate.

4.2. Modello Minimo Orale del Glucosio

4.2.1. Modello Minimo Orale Originale

Il Modello Minimo Orale è stato utilizzato per stimare il tasso di comparsa del glucosio nel plasma (Ra) e la sensibilità all'insulina (S_I) a partire dai dati di glucosio e insulina presenti nel database.

Le curve medie delle concentrazioni di glucosio ottenute dal modello sono riportate in *Figura 4.3*, assieme ai residui pesati. Tali grafici mostrano che i dati ottenuti si adattano abbastanza bene ai dati. I residui medi pesati non mostrano deviazioni sistematiche da zero, sono infatti sempre all'interno dell'intervallo $[-1; +1]$, fatta eccezione di qualche valore negli istanti temporali iniziali nei soggetti sottoposti a chirurgia bariatrica.

I grafici in *Figura 4.4*, che rappresentano le curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, mostrano che il modello segue abbastanza bene l'andamento delle stime modello-indipendenti ottenute dall'esperimento con traccianti.

I parametri incogniti di questo modello (k_2, k_3, k_4, k_5, S_I e p_2), riportati nella *Tabella 4.3* Stime dei parametri incogniti del Modello Minimo Orale, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).

, vengono stimati con una buona precisione (CV<100%).

Per quanto riguarda la sensibilità all'insulina (S_I), il Modello ha prodotto stime identiche per tutti e quattro i gruppi e con una precisione molto elevata: $S_I^{(1)} = 0.001 \pm 0.000$ (14%), $S_I^{(2)} = 0.001 \pm 0.000$ (13%), $S_I^{(3)} = 0.001 \pm 0.000$ (14%), $S_I^{(4)} = 0.001 \pm 0.000$ (14%).

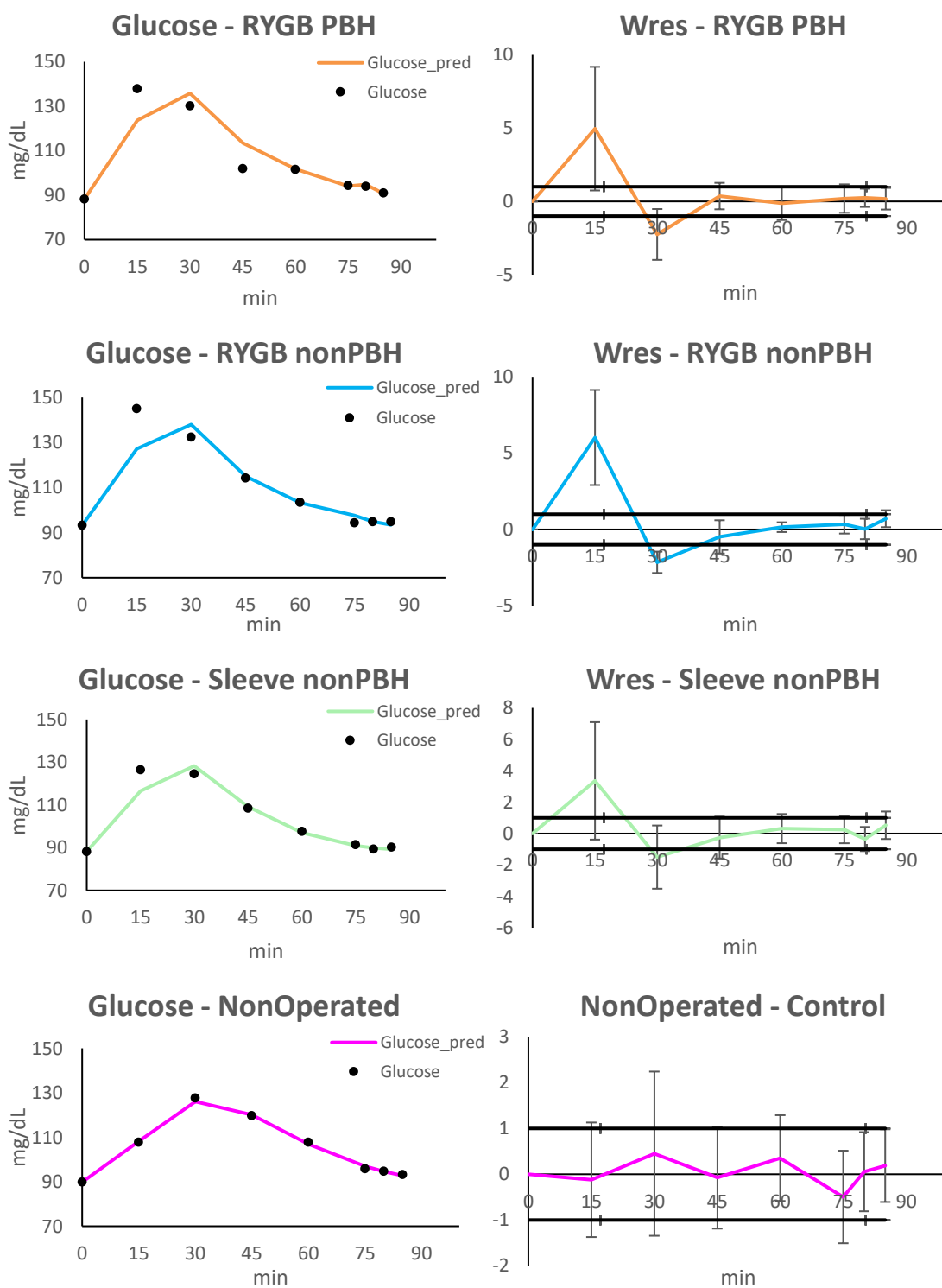


Figura 4.3 Curve medie della concentrazione di glucosio nel plasma (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs dati misurati (cerchi neri) e relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello Minimo Orale.

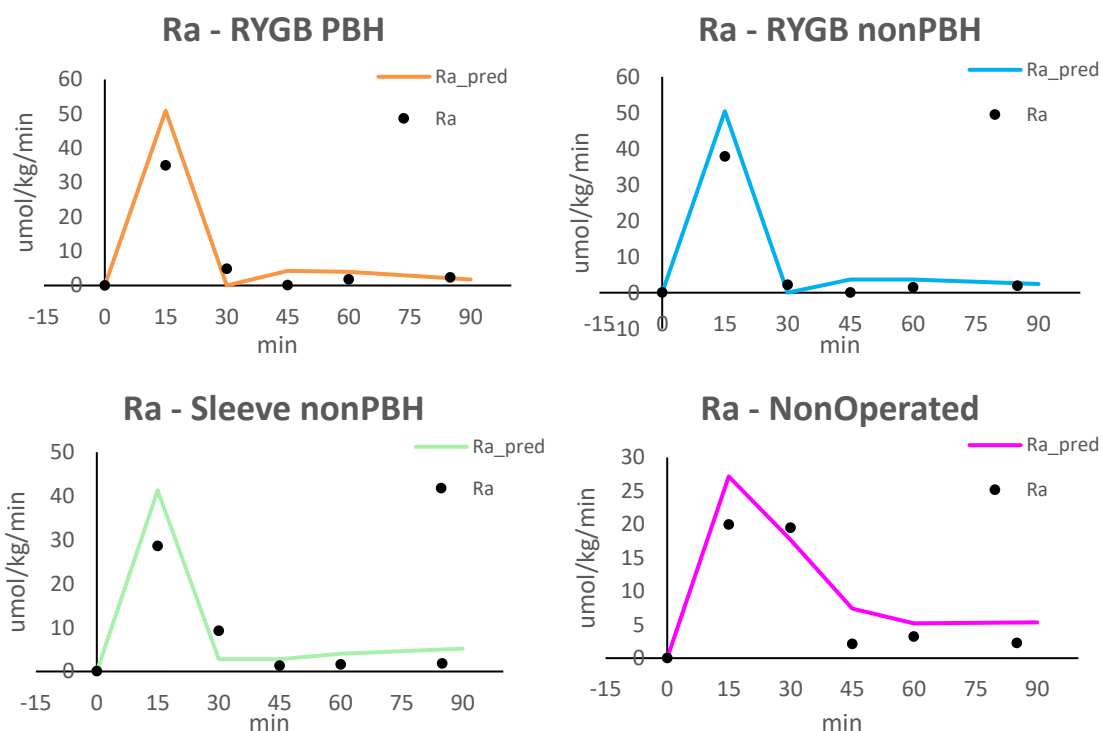


Figura 4.4 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, ottenute attraverso il Modello Minimo Orale (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperimento coi traccianti (cerchi neri).

Parametro	RYGB - PBH		RYGB - nonPBH		Sleeve - nonPBH		NonOperated - Control	
	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]
k_2 [umol/kg/min]	0.000 \pm 0.000	0	0.000 \pm 0.000	0	2.825 \pm 2.104	8	17.695 \pm 4.513	32
k_3 [umol/kg/min]	4.274 \pm 1.682	14	3.639 \pm 1.448	18	2.815 \pm 1.658	17	7.401 \pm 1.908	45
k_4 [umol/kg/min]	3.952 \pm 1.390	12	3.648 \pm 1.218	21	4.078 \pm 1.339	19	5.194 \pm 2.117	12
k_5 [umol/kg/min]	1.726 \pm 1.153	6	2.426 \pm 1.126	29	5.230 \pm 2.369	14	5.368 \pm 2.430	17
SI [min^{-1} per uU/ml]	0.001 \pm 0.000	14	0.001 \pm 0.000	13	0.001 \pm 0.000	14	0.001 \pm 0.000	14
$\text{sqrt}(p_2)$ [min^{-1}]	0.321 \pm 0.002	10	0.323 \pm 0.002	10	0.319 \pm 0.001	10	0.316 \pm 0.000	10

Tabella 4.3 Stime dei parametri incogniti del Modello Minimo Orale, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).

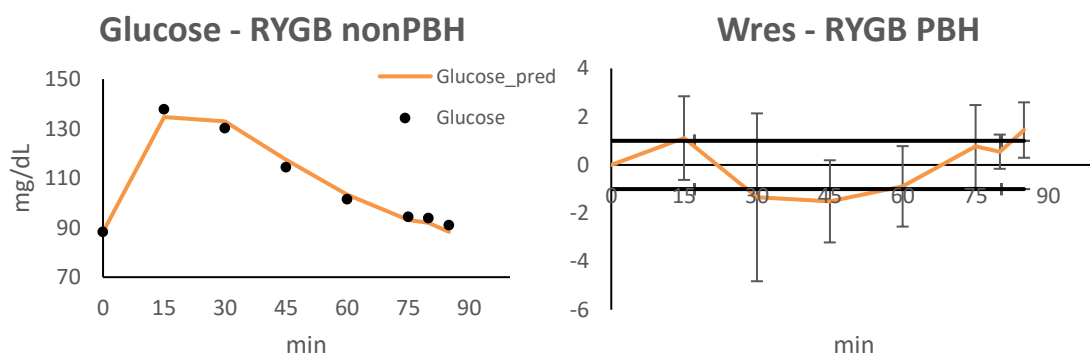
4.2.2. Modello Minimo Orale Modificato

Il precedente modello è stato modificato in modo tale che la velocità di comparsa del glucosio (Ra) non sia più una funzione lineare a tratti ma segua un andamento lineare definito dal *Modello 1*. Questo è stato anch'esso utilizzato per stimare il tasso di comparsa

del glucosio nel plasma (Ra) e la sensibilità all'insulina (S_I) a partire dai dati di glucosio e insulina presenti nel database.

Le curve medie delle concentrazioni di glucosio ottenute dal modello sono riportate in *Figura 4.5*, assieme ai residui pesati. Tali grafici mostrano che i dati si adattano molto bene ai dati di glucosio presenti nel database originale. I residui medi pesati non mostrano deviazioni sistematiche da zero, sono infatti sempre all'interno dell'intervallo $[-1; +1]$.

I grafici in *Figura 4.6*, che rappresentano le curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, mostrano che il modello segue abbastanza bene l'andamento originale, non riesce però a raggiungere il picco massimo nel caso dei soggetti operati. I parametri incogniti, riportati nella *Tabella 4.4*, vengono stimati con una buona precisione ($CV < 100\%$), ad eccezione del parametro k_{empt} , il quale presenta coefficienti di variazione piuttosto elevati. I risultati ottenuti mostrano che i soggetti sottoposti ad un intervento di bypass gastrico, in seguito al quale hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia, presentano una velocità di svuotamento gastrico (k_{empt}) nettamente superiore rispetto ai soggetti appartenenti agli altri gruppi. Al contrario, i soggetti di controllo, non operati, sono caratterizzati da una minima velocità di svuotamento gastrico. Per quanto riguarda il tasso di assorbimento intestinale (k_{abs}), non si è verificata nessuna differenza significativa tra i vari gruppi. Considerazioni analoghe vengono fatte per la sensibilità all'insulina (S_I), per cui il Modello ha prodotto stime identiche e con una precisione molto elevata: $S_I^{(1)} = 0.001 \pm 0.000$ (16%), $S_I^{(2)} = 0.001 \pm 0.000$ (28%), $S_I^{(3)} = 0.001 \pm 0.000$ (16%), $S_I^{(4)} = 0.001 \pm 0.000$ (14%).



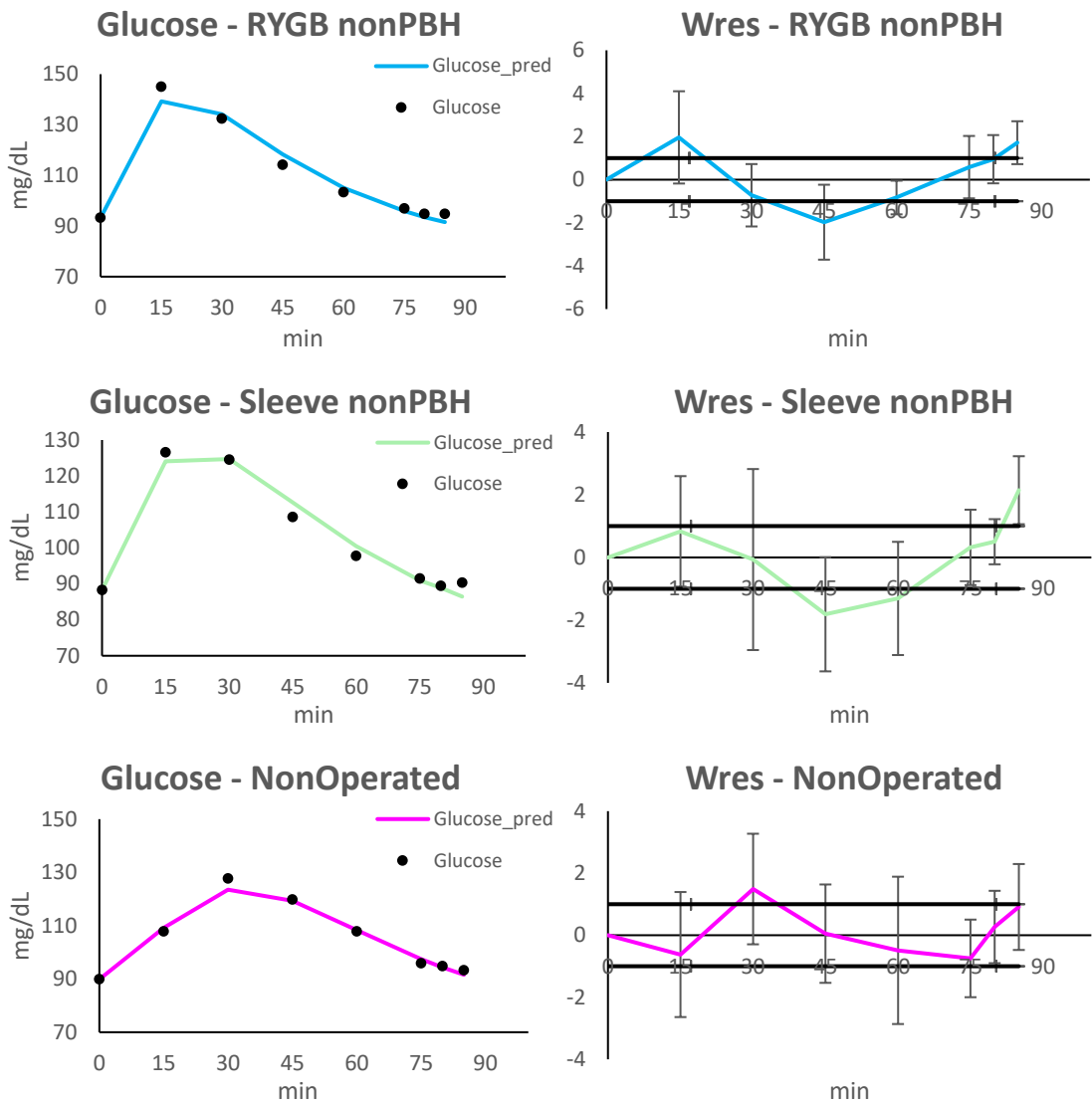
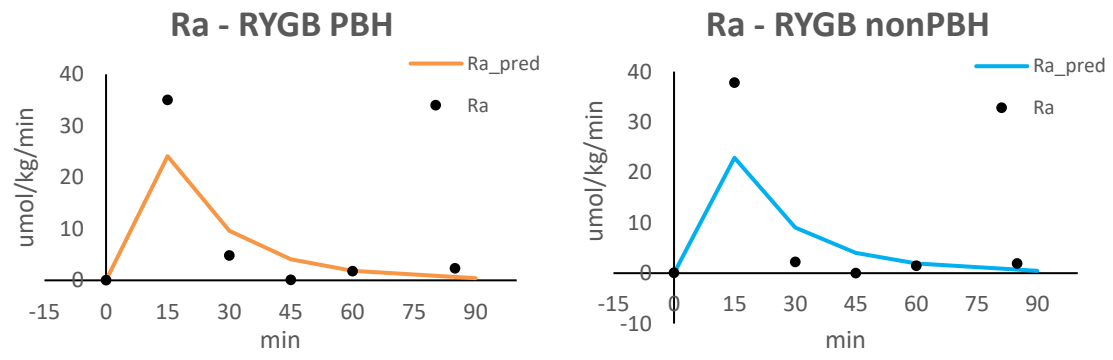


Figura 4.5 Curve medie della concentrazione di glucosio nel plasma (pannelli di sinistra) predetti dal modello (linee continue) vs dati misurati (cerchi neri) e relativi residui pesati (pannelli di destra), per ogni gruppo in esame, ottenuti attraverso il Modello Minimo Orale Modificato.



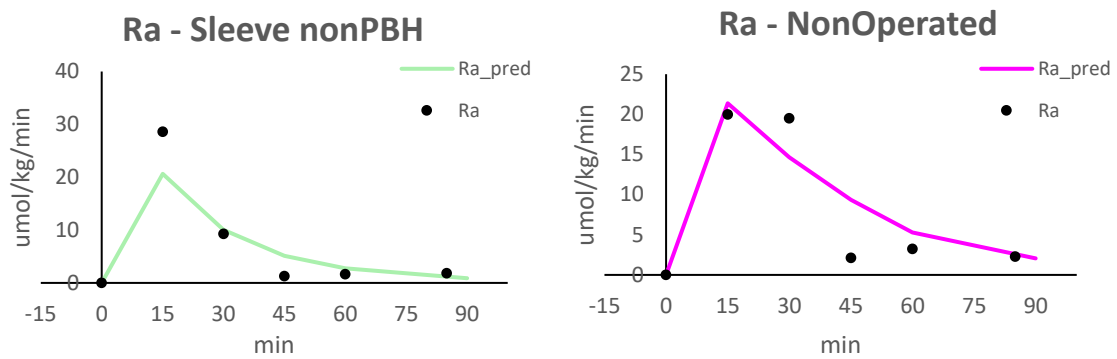


Figura 4.6 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, ottenute attraverso il Modello Minimo Orale Modificato (linee continue) vs profili ottenuti dall'esperimento coi traccianti (cerchi neri).

Parametro	RYGB - PBH		RYGB - nonPBH		Sleeve - nonPBH		NonOperated - Control	
	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]	Valore \pm SE	CV [%]
k_{empt} [min^{-1}]	2,418 \pm 0,813	390	1,800 \pm 0,000	631	1,415 \pm 0,211	335	0,458 \pm 0,206	520
k_{abs} [min^{-1}]	0,067 \pm 0,009	23	0,069 \pm 0,012	40	0,053 \pm 0,009	24	0,063 \pm 0,016	928
SI [min^{-1} per uU/ml]	0,001 \pm 0,000	16	0,001 \pm 0,000	28	0,001 \pm 0,000	16	0,001 \pm 0,000	13
$\text{sqrt}(p_2)$ [min^{-1}]	0,113 \pm 0,007	9	0,116 \pm 0,008	9	0,111 \pm 0,004	9	0,104 \pm 0,004	10

Tabella 4.4 Stime dei parametri incogniti del Modello Minimo Orale Modificato, con relativo errore standard (SE) e coefficiente di variazione (CV%).

4.2.3. Selezione del modello migliore

Il Modello Minimo Orale Originale e quello Modificato sono in grado di adattarsi molto bene alle concentrazioni di glucosio presenti nel database originale. Lo dimostrano bene i residui pesati che, per entrambi i modelli, non mostrano deviazioni sistematiche da zero ma restano sempre all'interno dell'intervallo [-1; +1]. Per quanto riguarda la stima del tasso di comparsa del glucosio, il Modello Minimo Orale Originale approssima meglio le stime di Ra ottenute dall'esperimento con i traccianti rispetto a quello Modificato. Anche i parametri incogniti vengono stimati con una precisione migliore nel modello che sfrutta la funzione lineare a tratti: presentano tutti coefficienti di variazione percentuale inferiori al 100%, a differenza del modello Modificato in cui il CV% del parametro k_{empt} è superiore.

4.3. Uso dei modelli

4.3.1. Modello della Rate of Appearance: confronti tra gruppi

Dalle stime dei parametri ottenute con il *Modello 1* è possibile notare come tutti e tre i parametri caratteristici (velocità di svuotamento gastrico k_{empt} , tasso di assorbimento intestinale k_{abs} e tasso di triturazione k_{21} ($=k_{empt}$)) presentino un valore superiore nei soggetti sottoposti ad un intervento di bypass gastrico. Il gruppo di controllo, caratterizzato da soggetti non operati, presenta invece valori minori. Rispetto quindi ad un individuo sano e non operato, gli individui che hanno subito un intervento di chirurgia bariatrica presentano una velocità di svuotamento gastrico, un tasso di assorbimento intestinale e un tasso di triturazione maggiore. Soffermandosi sui soggetti operati, coloro che sono stati sottoposti ad un intervento di sleeve gastrectomy mostrano valori di k_{empt} e k_{abs} leggermente di più bassi rispetto ai soggetti sottoposti a bypass gastrico.

Per determinare la significatività statistica delle differenze osservate tra i parametri stimati nei vari gruppi (bypass gastrico con ipoglicemia, bypass gastrico senza ipoglicemia, sleeve gastrectomy senza ipoglicemia e controllo), si è effettuata l'analisi della varianza (ANOVA¹⁹). Questa consiste in un test di ipotesi che consente di confrontare due o più gruppi di dati calcolando e confrontando la variabilità interna a questi gruppi con la variabilità tra i gruppi. Essa si basa su un'ipotesi nulla (i dati di tutti i gruppi hanno la stessa media) e un'ipotesi alternativa (c'è una differenza significativa tra i gruppi) [9].

L'ANOVA restituisce un valore importante, detto *p-value*, che viene usato per verificare la validità dell'ipotesi nulla. Il valore critico da confrontare con il *p-value* è definito "livello di significatività" e comunemente vale 0.05: se il *p-value* calcolato è inferiore al valore critico si rifiuta l'ipotesi nulla in favore dell'ipotesi alternativa. Il test diventa quindi significativo, ovvero ha riscontrato una significativa differenza tra le medie nei gruppi. Al contrario, se il *p-value* calcolato è superiore al valore critico, si accetta l'ipotesi nulla.

Se l'ANOVA è significativa quindi ($p\text{-value} < 0.05$), esiste almeno una differenza tra gruppi. Tuttavia, il semplice test ANOVA non è in grado di affermare quali medie siano diverse dalle altre. Il modo per rispondere a questa domanda è usare un test a confronto

¹⁹ Analysis Of Variance.

multiplo, definito come *T-test*, il quale permette di confrontare due soli gruppi tra loro. Tutte le osservazioni fatte per l'ANOVA restano valide [10].

La *Tabella 4.5* e la *Tabella 4.6* riportano i valori di *p-value* ottenuti valutando ANOVA e *T-test* nei due parametri stimati dal *Modello 1*: k_{empt} e k_{abs} rispettivamente.

Per quanto riguarda il parametro k_{empt} , il *p-value* ottenuto dall'ANOVA è 0.0006, di molto inferiore rispetto al livello di significatività. Ciò implica che l'ipotesi nulla va rifiutata, a favore dell'ipotesi alternativa che stabilisce una differenza significativa tra i gruppi. Questo risultato indica semplicemente che esiste almeno un gruppo che si differenzia significativamente dagli altri, ma senza specificare quale. A questo punto conviene servirsi del *T-test*: i valori in *Tabella 4.5* mostrano che le differenze statisticamente significative si riscontrano tra il gruppo RYGB PBH e il gruppo Control, tra il gruppo RYBG nonPBH e il gruppo Sleeve nonPBH e tra il gruppo RYGB nonPBH e il gruppo Control. Per tutte le altre combinazioni il *p-value* è superiore a 0.05 perciò non si osserva una differenza significativa tra i vari gruppi.

Anche il parametro k_{abs} presenta un *p-value* (0.0003) inferiore a 0.05: c'è quindi una differenza statisticamente significativa tra i gruppi. In particolare, valutando il *T-test* per ogni singola combinazione (*Tabella 4.6*), i gruppi che presentano differenze rilevanti sono: il gruppo RYGB PBH vs il gruppo Control, il gruppo RYGB nonPBH vs il gruppo Sleeve nonPBH e il gruppo RYGB nonPBH vs il gruppo Control.

kempt		p-value
ANOVA		0.0006
T-TEST	RYGB PBH – RYGB nonPBH	0.2517
	RYGB PBH – Sleeve nonPBH	0.1108
	RYGB PBH – Control	0.0234
	RYGB nonPBH – Sleeve nonPBH	0.0405
	RYGB nonPBH – Control	0.0015
	Sleeve nonPBH – Control	0.0855

Tabella 4.5 *p-value* di Anova e *T-test* tra i diversi gruppi per il parametro k_{empt} (*Modello 1*).

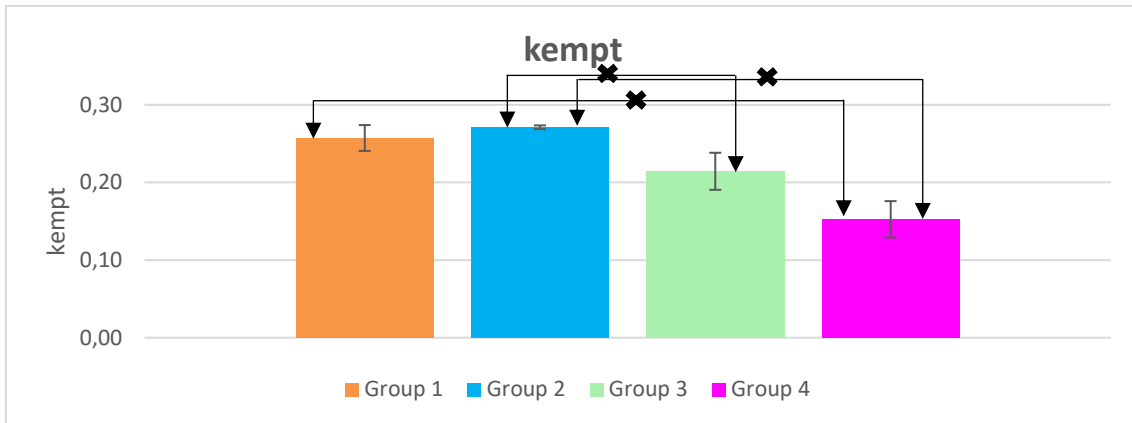


Figura 4.7 Confronto tra le stime del parametro k_{empt} nei diversi gruppi (Modello 1).

k_{abs}		p-value
ANOVA		0.0003
T-TEST	RYGB PBH – RYGB nonPBH	NaN
	RYGB PBH – Sleeve nonPBH	0.2012
	RYGB PBH – Control	0.0164
	RYGB nonPBH – Sleeve nonPBH	0.2012
	RYGB nonPBH – Control	0.0164
	Sleeve nonPBH – Control	0,0228

Tabella 4.6 p -value di Anova e T-test tra i diversi gruppi per il parametro k_{abs} (Modello 1).

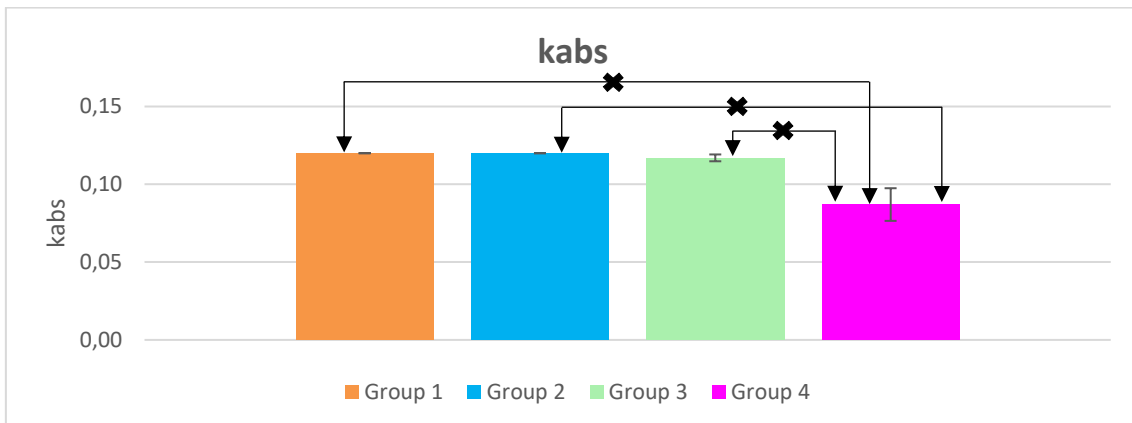


Figura 4.8 Confronto tra le stime del parametro k_{abs} nei diversi gruppi (Modello 1).

4.3.2. Modello Minimo Orale: confronti tra gruppi

Anche nel caso del Modello Minimo Orale Originale, è stata effettuata l'analisi della varianza (ANOVA) per il parametro S_l . Il valore del p -value ottenuto (0.3469) è superiore rispetto il livello di significatività (0.05). Ciò significa che l'ipotesi nulla è accettata e che non esistono significative differenze statistiche tra i gruppi in esame. Sono stati inoltre confrontati i gruppi a due a due, sfruttando il T -test. I risultati ottenuti (p -value > 0.05)

confermano quanto appena detto: non c'è alcuna differenza significativa tra i gruppi. I dati sono raccolti nella *Tabella 4.7* e rappresentati in *Figura 4.9*.

S_I		p-value
ANOVA		0.3496
T-TEST	RYGB PBH – RYGB nonPBH	0.7486
	RYGB PBH – Sleeve nonPBH	0.6905
	RYGB PBH – Control	0.3467
	RYGB nonPBH – Sleeve nonPBH	0.9561
	RYGB nonPBH – Control	0.1100
	Sleeve nonPBH – Control	0.3017

Tabella 4.7 *p-value* di Anova e *T-test* tra i diversi gruppi per il parametro S_I (Modello Minimo Orale).

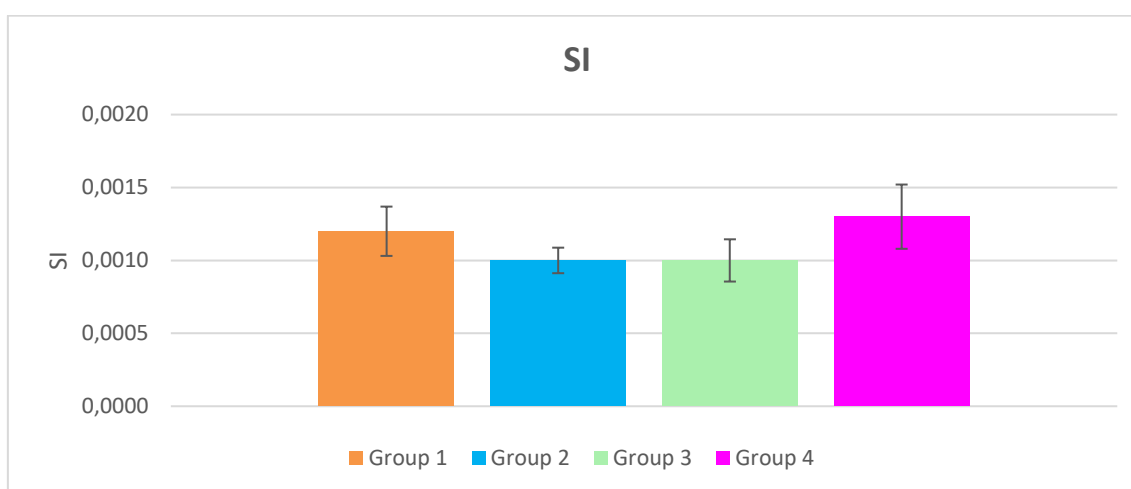


Figura 4.9 Confronto tra le stime del parametro S_I nei diversi gruppi (Modello Minimo Orale).

In aggiunta a queste considerazioni, si è valutato il rapporto tra l'area sotto la curva di Ra nei primi 30 minuti successivi all'ingestione del pasto ($Area^*$) e l'area totale sotto la curva di Ra , ottenuta sfruttando il Modello Minimo Orale ($Area_{tot}$) $Area^*/Area_{tot}$. L'obiettivo era quello di determinare la percentuale di velocità di comparsa del glucosio negli istanti iniziali, rispetto a tutto il tempo considerato. In *Tabella 4.8* sono riportati i risultati per ogni gruppo in esame.

Su questi valori è stata effettuata l'analisi della varianza (ANOVA). Il valore del *p-value* ottenuto (0.0033) è inferiore rispetto il livello di significatività (0.05). Ciò implica che l'ipotesi nulla va rifiutata, a favore dell'ipotesi alternativa che vi sia una differenza significativa tra i gruppi. Il *T-test* ha permesso di capire quali gruppi presentassero tra loro delle significative differenze: il gruppo RYGB PBH vs il gruppo Control e il gruppo

RYGB nonPBH vs il gruppo Control. Per tutte le altre combinazioni il *p-value* è superiore a 0.05 perciò non si verifica una differenza significativa tra i vari gruppi.

Dai risultati ottenuti (*Tabella 4.9*) è possibile notare che il gruppo di controllo è caratterizzato da un rapporto minore rispetto ai gruppi operati. Questo significa che nei soggetti non operati la comparsa del glucosio è diluita lungo un arco temporale più lungo, al contrario di ciò che avviene nei soggetti operati in cui il tasso di comparsa del glucosio presenta un picco nei primi minuti successivi al pasto.

	RYGB – PBH	RYGB – nonPBH	Sleeve - nonPBH	NonOperated - Control
<i>Area*/ Area_{tot}</i>	0.8207	0.8343	0.6340	0.5812

Tabella 4.8 Rapporto tra *Area** e *Area_{tot}*, dove *t*=30min*, per ogni gruppo.

<i>Area*/ Area_{tot}</i>		p-value
ANOVA		0.0033
T-TEST	RYGB PBH – RYGB nonPBH	0.7493
	RYGB PBH – Sleeve nonPBH	0.0781
	RYGB PBH – Control	0.0006
	RYGB nonPBH – Sleeve nonPBH	0.0581
	RYGB nonPBH – Control	0.0024
	Sleeve nonPBH – Control	0.5579

Tabella 4.9 *p-value* di Anova e T-test tra i diversi gruppi per il parametro *Area*/ Area_{tot}* (Modello Minimo Orale).

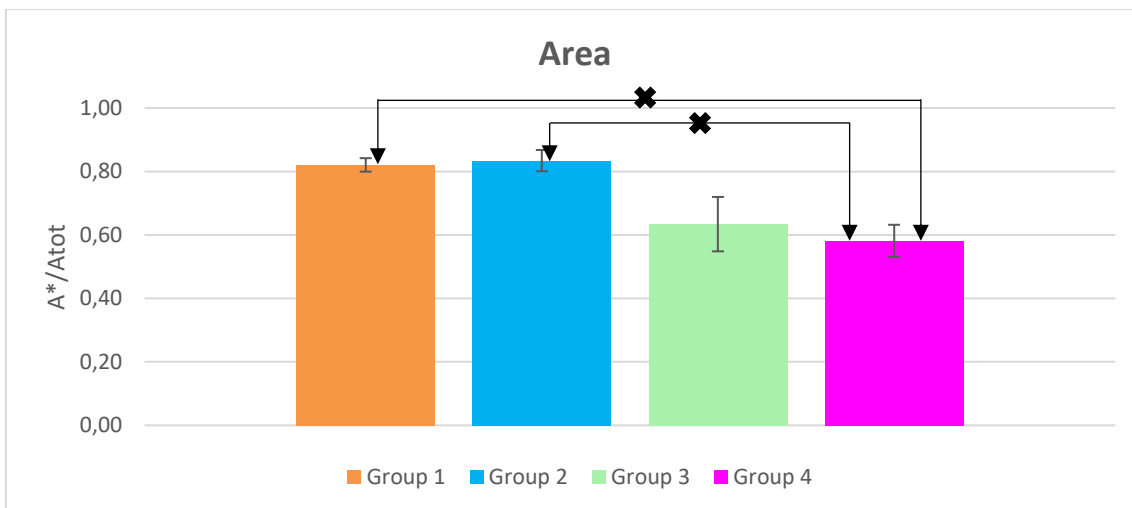


Figura 4.10 Confronto tra le stime del parametro *Area*/ Area_{tot}* nei diversi gruppi (Modello Minimo Orale).

4.3.3. Discussione

Ottenuti i risultati cercati, è possibile ora confrontare i modelli utilizzati durante questo lavoro, per determinare quale di questi approssimi meglio il tasso di comparsa del

glucosio, già a disposizione nel database, e se è possibile stimare con buon'approssimazione il tasso di comparsa del glucosio a partire dai soli valori di glucosio ed insulina per ogni singolo soggetto studiato.

La *Figura 4.11* mostra le curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, ottenute attraverso i due modelli selezionati: Modello 1 della Rate of Appearance e Modello Minimo Orale Originale. Dai grafici è possibile notare che entrambi i modelli sono in grado di fornire una buona approssimazione dei dati. I risultati ottenuti con il Modello Minimo Orale sono leggermente sovrastimati, mentre quelli ottenuti con il Modello 1 sottostimati, soprattutto per quanto riguarda i soggetti sottoposti a chirurgia bariatrica, ma nel complesso possono essere entrambi considerati dei buoni modelli per stimare l'andamento del tasso di comparsa del glucosio in pazienti operati e non. I parametri incogniti, inoltre, vengono stimati da ogni modello con una buona precisione, come confermano i bassi valori dei coefficienti di variazione percentuale. Il Modello 1 lineare risulta leggermente più affidabile, ma avendo a disposizione i soli valori di glucosio ed insulina per ogni singolo soggetto studiato l'utilizzo del Modello Minimo Orale risulta un'ottima alternativa, sicuramente meno dispendiosa ma comunque valida.

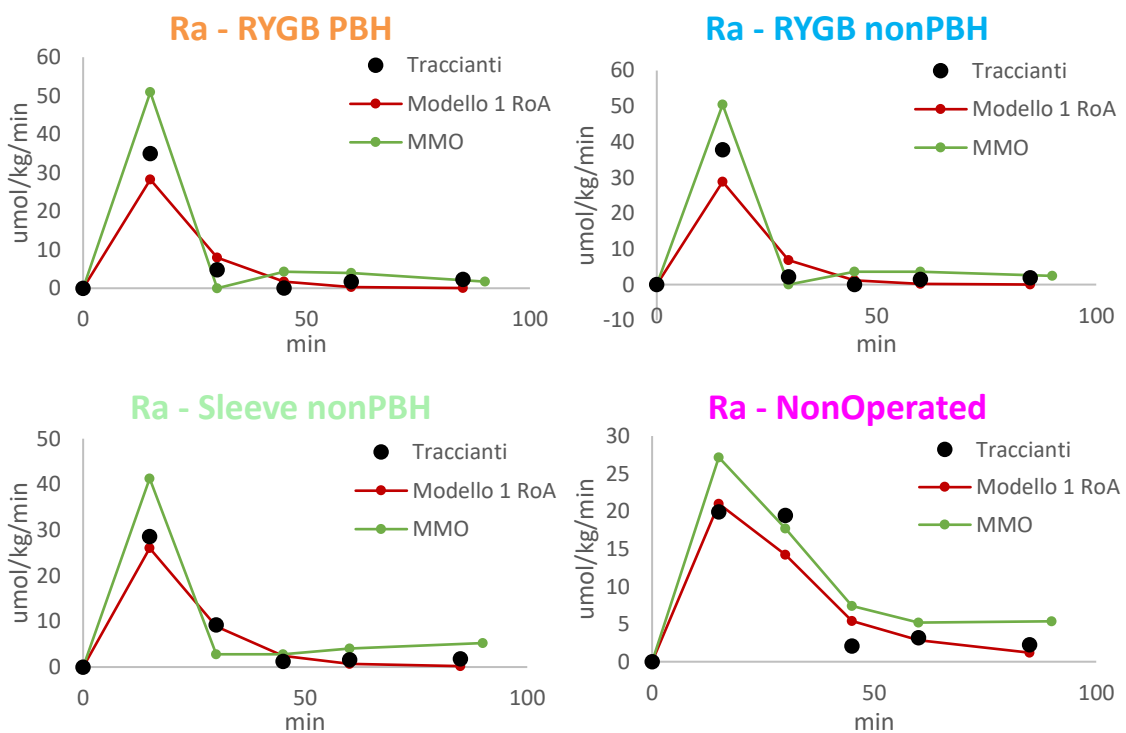


Figura 4.11 Curve medie del tasso di comparsa del glucosio per ogni gruppo in esame, ottenute attraverso il Modello 1 della Rate of Appearance (linee continue rosse) e il Modello Minimo Orale Originale (linee continue verdi) vs profili ottenuti dall'esperimento coi traccianti (cerchi neri).

CAPITOLO 5

Conclusione

Riuscire a validare modelli matematici già utilizzati in pazienti sani o diabetici, per soggetti che hanno subito interventi di chirurgia bariatrica, risulta di vitale importanza per capire se essi riescano a descrivere in modo soddisfacente la risposta metabolica dell'individuo, nonostante l'intervento.

Un modello che descriva il tasso di comparsa del glucosio al pasto in maniera affidabile risulta essere molto utile per valutare l'alterazione dell'assorbimento intestinale o per prevedere le concentrazioni plasmatiche di glucosio e insulina in seguito all'assunzione orale di glucosio.

Lo scopo dello studio era quello di decretare un modello matematico che meglio si adattasse ai dati di Ra ottenuti mediante esperimenti con traccianti multipli e di valutare la possibilità di stimare il tasso di comparsa del glucosio al pasto avendo a disposizione i soli dati di glucosio e insulina, senza quindi avvalersi degli esperimenti con i traccianti.

In questo lavoro sono stati presi in considerazione quattro modelli in grado di simulare la comparsa del glucosio nella circolazione: due "Modelli della Rate of Appearance", uno lineare e uno non lineare, un "Modello Minimo Orale" ed un "Modello Minimo Orale Modificato". I primi due modelli consistono in una catena di tre compartimenti, due rappresentanti lo stomaco (fase solida e liquida), il terzo l'intestino. Entrambi assumono un tasso costante di assorbimento intestinale k_{abs} , ma si differenziano per le ipotesi nella descrizione del tasso di svuotamento gastrico, costante per il modello lineare, e dipendente dalla quantità totale di glucosio nello stomaco per il modello non lineare. Gli ulteriori due modelli invece, consentono di stimare la sensibilità all'insulina S_I e di ricostruire il corso temporale di Ra avendo a disposizione i soli valori di glucosio e insulina per ogni soggetto in esame. Sono state testate due descrizioni comportamentali di Ra : una lineare a tratti e una lineare descritta dal *Modello 1*. Questi modelli sono stati poi implementati con quattro rispettivi algoritmi MATLAB e valutati su un pool di 32 soggetti suddivisi in base al tipo di trattamento ricevuto e alle relative conseguenze: soggetti sottoposti ad un intervento di bypass gastrico in seguito al quale hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia, soggetti sottoposti allo stesso intervento di bypass gastrico ma

che non hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia, soggetti sottoposti ad un intervento di sleeve gastrectomy in seguito al quale non hanno sviluppato condizioni di ipoglicemia e soggetti non operati, di controllo. A questi soggetti è stato proposto un pasto misto contenente 15 g di glucosio marcato con del glucosio-[1-¹³G] e sfruttando la tecnica del doppio tracciante sono stati collezionati i tassi di comparsa nel plasma di glucosio ingerito, oltre alle concentrazioni di glucosio e insulina nel sangue per ogni soggetto in esame.

I risultati ottenuti per i modelli della Rate of Appearance mostrano che il modello in grado di descrivere nel modo più accurato i dati è il *Modello 1* lineare. I parametri incogniti di questo modello, inoltre, vengono stimati con una ragionevole precisione. Il *Modello 2* non lineare invece, risulta troppo complicato se messo in relazione alla quantità relativamente piccola di glucosio ingerito dal singolo paziente. I parametri stimati da questo modello mostrano coefficienti di variazione percentuale estremamente elevati, di gran lunga superiori ai valori accettabili (<100%).

Per quanto riguarda invece i Modelli Minimi Orali, i risultati acquisiti mostrano come siano entrambi in grado di adattarsi molto bene alle concentrazioni di glucosio iniziali. Il Modello Originale però, approssima meglio le stime di *Ra* rispetto a quello Modificato, e i suoi parametri incogniti vengono stimati con una precisione migliore.

A questo punto i modelli selezionati sono due: il *Modello 1* lineare della Rate of Appearance e il Modello Minimo Orale Originale.

Dai risultati ottenuti è possibile notare una netta differenza tra i parametri provenienti dalla stima sui soggetti operati e sui soggetti non operati: i pazienti sottoposti a interventi di chirurgia bariatrica presentano una velocità di svuotamento gastrico, un tasso di assorbimento intestinale e un tasso di triturazione maggiori rispetto al gruppo di controllo. La comparsa del glucosio, inoltre, nei soggetti operati presenta un picco nei primi minuti successivi al pasto, mentre è diluita lungo un arco temporale più lungo nei soggetti non operati.

L'obiettivo finale dell'elaborato era quello di valutare se i soli dati di glucosio e insulina fossero sufficienti per stimare il tasso di comparsa del glucosio al pasto in soggetti sottoposti a chirurgia bariatrica. Le grandezze stimate con il Modello Minimo Orale dimostrano che il modello segue abbastanza bene l'andamento delle stime modello-indipendenti ottenute dall'esperimento con i traccianti. I tassi di comparsa del glucosio

vengono infatti stimati in maniera piuttosto accurata e con una buona precisione, come confermano i coefficienti di variazione percentuale.

L'utilizzo di traccianti e della tecnica di clamp del rapporto tracciante-tracciato consente di ottenere una stima sicuramente più precisa e affidabile della grandezza di interesse, ma possiamo concludere che avere a disposizione i soli valori di glucosio ed insulina per ogni soggetto studiato risulta comunque sufficiente per quantificare la risposta metabolica dei singoli individui. In questo modo sarà possibile ottenere i risultati cercati in tempi e con costi ridotti.

Bibliografia

- [1] G. B. H. Khwaja, Bariatric surgery: techniques, outcomes and complications, *Current Anaesthesia & Critical Care*, 2010.
- [2] [Online]. Available: <https://elsevier.health/en-US/preview/clinical-overview-obesity-in-adults>.
- [3] S. M. M. R. JM. Bennett, Surgery for morbid obesity, *Postgrad Med J.*, 2007 .
- [4] M. C.-B. T. H. H. T. O. M. S. S. N. Runkel, Bariatric surgery. *Dtsch Arztebl Int.* 2011 May;, *Dtsch Arztebl Int*, May 2011.
- [5] S. A.-H. C. M. M. P. E. Suhl, Medical nutrition therapy for post-bariatric hypoglycemia: practical insights., *Surg Obes Relat Dis*, May 2017.
- [6] M. C. C. c. C. Dalla Man, A System Model of Oral Glucose Absorption: Validation on Gold Standard Data, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 53, no. 12, December 2006.
- [7] A. C. C. C. C. Dalla Man, The Oral Glucose Minimal Model: Estimation of Insulin Sensitivity From a Meal Test, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 49, no. 5, May 2002.
- [8] A. C. R. B. R. R. G. T. C. C. C. Dalla Man, Minimal model estimation of glucose absorption and insulin sensitivity from oral test: validation with a tracer method, *Am J physiol Endocrinol Metab* 287: E637-E643, May 2004.
- [9] [Online]. Available: https://www.jmp.com/it_it/statistics-knowledge-portal/one-way-anova.html.
- [10] [Online]. Available: https://www.jmp.com/it_it/statistics-knowledge-portal/t-test.html.