



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

SVILUPPO E VALIDAZIONE DI UN SIMULATORE  
DEL SISTEMA GLUCOSIO-INSULINA NEL  
PREDIABETE E DIABETE DI TIPO 2

**Laureando:** Marco Tessariol

**Relatore:** Ch.mo Prof. Claudio Cobelli

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

**Corso di laurea Specialistica in Bioingegneria**

6 dicembre 2010

*anno accademico 2010/2011*



# Sommario

Secondo una stima dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, più di 285 milioni di persone nel mondo soffrono di diabete e, secondo le previsioni, tale cifra potrebbe salire fino a 438 milioni nel 2030. Esistono poi moltissimi soggetti (detti prediabetici) che presentano alterazioni del metabolismo del glucosio non ancora tali da essere classificati come diabetici, ma che hanno una discreta probabilità di contrarre la malattia nel giro di 5- 10 anni. Capire e studiare i meccanismi che stanno alla base dell'alterazione del sistema glucosio-insulina è quindi molto importante, ma richiede di ricorrere a sperimentazioni cliniche spesso costose, e onerose per i pazienti che vi si sottopongono. In alternativa, la simulazione può essere un valido strumento per studiare la fisiopatologia del sistema glucosio-insulina e definire schemi di trattamento mirati ed efficaci.

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è quello di mettere a punto e validare un simulatore dei processi fisiologici che avvengono in seguito all'ingestione di un pasto in soggetti prediabetici e diabetici di tipo 2. La validità del modello è stata testata su due data base di soggetti prediabetici e diabetici di tipo 2 studiati con un protocollo a traccianti multipli che ha permesso la misura delle concentrazioni di glucosio ed insulina e la stima dai flussi metabolici rilevanti. Dalle distribuzioni dei parametri del modello nelle due popolazioni sono stati generati 100 prediabetici e 100 diabetici di tipo 2 virtuali. Su di questi sono stati effettuati alcuni esperimenti in silico, ed i risultati ottenuti

dalla simulazione sono stati confrontati con quelli ricavati dal trial clinico. A titolo di esempio si è inoltre valutato l'effetto di potenziali farmaci per la cura del diabete e del prediabete sui profili di glucosio e insulina.

# Indice

<b>Sommario</b>	<b>1</b>
<b>1 Introduzione</b>	<b>5</b>
1.1 Prediabete e Diabete . . . . .	7
1.2 I modelli di simulazione . . . . .	9
1.3 Obiettivi del lavoro . . . . .	11
<b>2 I Database</b>	<b>13</b>
2.1 Database 1 . . . . .	13
2.1.1 I soggetti . . . . .	13
2.1.2 Protocollo . . . . .	14
2.2 Database 2 . . . . .	16
2.2.1 I soggetti . . . . .	16
2.2.2 Protocollo . . . . .	17
<b>3 Modelli</b>	<b>21</b>
3.1 Sottosistema del glucosio . . . . .	22
3.1.1 Assorbimento intestinale del glucosio . . . . .	23
3.1.2 Utilizzazione ed escrezione renale del glucosio . . . . .	26
3.1.3 Produzione endogena di glucosio . . . . .	28
3.2 Sottosistema dell'insulina . . . . .	31

3.2.1	Secrezione dell'insulina . . . . .	31
3.2.2	Cinetica ed estrazione dell'insulina . . . . .	33
3.3	Modello matematico completo . . . . .	34
<b>4</b>	<b>Identificazione dei modelli</b>	<b>37</b>
4.1	Identificazione dei sottomodelli . . . . .	39
4.1.1	Assorbimento intestinale . . . . .	39
4.1.2	Cinetica ed utilizzazione del glucosio . . . . .	41
4.1.3	Cinetica e secrezione dell'insulina . . . . .	44
4.1.4	Produzione endogena di glucosio . . . . .	46
<b>5</b>	<b>Risultati dell'Identificazione</b>	<b>49</b>
5.1	Assorbimento intestinale . . . . .	49
5.2	Cinetica ed utilizzazione del glucosio . . . . .	53
5.3	Cinetica e secrezione dell'insulina . . . . .	57
5.4	Produzione endogena di glucosio . . . . .	61
<b>6</b>	<b>Simulazioni</b>	<b>65</b>
6.1	Generazione dei pazienti virtuali . . . . .	65
6.2	Il simulatore del sistema glucosio-insulina nel prediabete e diabete di tipo 2 . . . . .	74
6.3	Singolo pasto . . . . .	75
6.4	24 Ore . . . . .	80
6.5	Impiego del simulatore in studi di farmacodinamica . . . . .	84
<b>7</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>93</b>
	<b>Bibliografia</b>	<b>96</b>

# Capitolo 1

## Introduzione

Le sostanze derivanti dalla digestione dei carboidrati nel tubo digerente sono quasi esclusivamente di tre tipi: glucosio, fruttosio e galattosio. Il glucosio rappresenta tra questi la quota maggiore, circa l'80%. Inoltre, dopo l'assorbimento intestinale, la maggior parte di galattosio e fruttosio vengono rapidamente convertiti in glucosio. Il glucosio diventa, per questo motivo, la forma finale di trasporto di quasi tutti i carboidrati alle cellule, da parte del flusso sanguigno. Per poter essere utilizzato dalle cellule, il glucosio deve essere trasportato attraverso la membrana cellulare. Nonostante abbia un peso molecolare che non gli consentirebbe di diffondere liberamente attraverso i pori della membrana, esso riesce comunque ad entrare nella cellula mediante la diffusione facilitata ad opera di trasportatori. Vi è però un ormone secreto dal pancreas che aumenta di molto la velocità di trasporto del glucosio, si tratta dell'insulina. Essa è in grado di aumentare la velocità di assorbimento di glucosio da parte delle cellule di circa dieci volte rispetto a quella basale [2].

Non tutte le cellule hanno tuttavia bisogno dell'insulina per metabolizzare la giusta quantità di glucosio; esistono infatti tre tipi di cellule:

- **cellule glucosio-dipendenti:** sono le cellule (neuroni e globuli rossi)

la cui sopravvivenza dipende in modo critico dal glucosio e per cui l'assorbimento di questo substrato è costante nel tempo. Va segnalato che queste cellule non sono in grado di accumulare glucosio al loro interno;

- **cellule insulino-dipendenti:** hanno la capacità di metabolizzare il glucosio in eccesso e di utilizzarlo successivamente; il loro modello di utilizzazione del substrato è quindi di tipo fasico che dipende dall'insulina in circolo (cellule muscolari ed adipose);
- **gluco-sensori:** sono in grado di rilevare la concentrazione di glucosio nel sangue e di organizzare un'appropriata risposta secretoria ( $\beta$ -cellule del pancreas, cellule epatiche e dell'ipotalamo).

In seguito ad un pasto la concentrazione di glucosio nel sangue aumenta; ciò stimola le  $\beta$ -cellule del pancreas a secernere insulina che permette ai tessuti insulino-dipendenti di assorbire ed accumulare il glucosio presente nel flusso sanguigno e abbatta la produzione epatica di glucosio. Al contrario, durante i periodi di digiuno, la glicemia scende; ciò stimola il fegato ad immettere in circolo glucosio per mezzo del meccanismo definito glicogenolisi. A questi meccanismi va aggiunta l'azione dell'ipotalamo che consiste nel secernere ormoni antagonisti dell'insulina (glucagone, epinefrina...) in situazioni di ipoglicemia. In ogni momento del giorno, la glicemia osservata è dunque il risultato della regolazione dell'equilibrio dinamico fra l'attività degli organi che immettono glucosio nel sangue e quella degli organi che utilizzano tale glucosio.

Tutti questi meccanismi di controllo a retroazione negativa fanno comprendere che la regolazione del glucosio nel sangue è molto fine e viene man-

tenuta entro limiti abbastanza rigidi. In figura 1.1 è raffigurato uno schema di tale meccanismo.

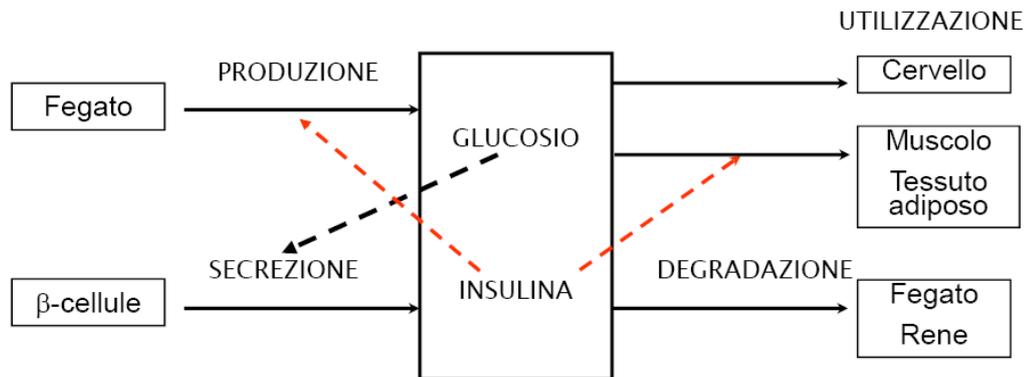


Figura 1.1: Schema del meccanismo di regolazione della concentrazione di glucosio nel sangue. Le linee continue rappresentano i flussi mentre quelle tratteggiate rappresentano i segnali di controllo

## 1.1 Prediabete e Diabete

Si è appena detto che il meccanismo di controllo della glicemia all'interno del nostro organismo è molto fine. Tuttavia, ne momento in cui, per vari fattori, la regolazione arriva a non funzionare più in maniera corretta, si vengono a presentare principalmente due problemi: l'ipoglicemia e l'iperglicemia. In presenza di ipoglicemia, stato patologico in cui la glicemia scende al di sotto dei limiti di normalità, si va incontro ad una forte sofferenza tessutale degli organi glucosio-dipendenti che può, in casi estremi, portare anche al coma. In caso di iperglicemia, cioè di una troppo elevata concentrazione di glucosio nel sangue, il corpo reagisce con l'escrezione di glucosio da parte dei reni assieme ad un'abbondante quantità d'acqua [1].

In presenza di iperglicemia cronica, si parla di diabete. Secondo una stima dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, più di 285 milioni di persone

nel mondo soffre di diabete e questa cifra potrebbe lievitare fino a 438 milioni nel 2030. Ciò comporta la necessità di sviluppare terapie che riescano a tenere sotto controllo la glicemia, poiché il diabete porta a contrarre diverse complicanze invalidanti quali: retinopatie che possono portare alla cecità; nefropatie che possono portare alla dialisi; macroangiopatie che possono portare ad infarti, ictus, impotenza, ma anche ad un degrado del sistema circolatorio con conseguente scarsa irrorazione dei tessuti periferici; neuropatie.

Esistono due forme di diabete: di tipo 1 e di tipo 2.

Il diabete di tipo 1 è dovuto alla carenza o alla mancanza di secrezione di insulina da parte delle  $\beta$ -dellule del pancreas; è detto anche insulino-dipendente o giovanile in quanto di norma si presenta sotto i vent'anni ed ha un fattore di incidenza di circa il 5-10% nella popolazione diabetica.

Il diabete di tipo 2 colpisce il 90-95% della popolazione diabetica ed è invece insulino-indipendente. Di solito si presenta in età più avanzata e in soggetti in sovrappeso e che compiono scarsa attività fisica. A differenza di quello di tipo 1, il diabete di tipo 2 non è dovuto alla carenza di insulina nel sangue, bensì ad una diminuzione della sensibilità dei tessuti agli effetti dell'insulina.

Secondo gli attuali criteri dell'American Diabetes Association, si definisce diabetico un soggetto che presenta glicemia a digiuno superiore a 126 mg/dl oppure glicemia superiore a 200 mg/dl dopo due ore dall'ingestione dei un carico di glucosio standardizzato (75 g) [9].

Sono invece definiti prediabetici soggetti che abbiano una alterata glicemia a digiuno (IFG - Impaired fasting glucose) oppure alterata tolleranza al glucosio (IGT - Impaired glucose tolerance). Il seguente elenco distingue tre possibili tipi di prediabetici:

- IFG-NGT

$$- 100 < G_{digiuno} < 126 \text{ mg/dl}$$

- $G(2h) < 140$  mg/dl
- NFG-IGT
  - $G_{\text{digiuno}} < 100$  mg/dl
  - $140 < G(2h) < 200$  mg/dl
- IFG-IGT
  - $100 < G_{\text{digiuno}} < 126$  mg/dl
  - $140 < G(2h) < 200$  mg/dl

E' importante tener conto di questi soggetti perché coloro che presentano IFG e IGT hanno una forte probabilità di evolvere in diabetici nell'arco di 5-10 anni.

## 1.2 I modelli di simulazione

Capire e studiare i meccanismi che stanno alla base dell'alterazione del sistema glucosio-insulina può essere utile per mettere a punto farmaci capaci di migliorare il controllo glicemico in pazienti diabetici ed intolleranti al glucosio. Per fare ciò, è necessario svolgere molteplici esperimenti che permettono di comprendere la fisiopatologia del diabete di tipo 2; tali sperimentazioni sono solitamente costose, onerose anche per i pazienti che si sottopongono ai test (lunghezza degli esperimenti, necessità di un fitto campionamento, ecc...) e non sempre eticamente praticabili.

Per questo motivo la simulazione può essere uno strumento essenziale per lo studio dei sistemi metabolici. Ovviamente va ricordato che, come è raffigurato in figura 1.2 i modelli di simulazione sono un valido ausilio per lo studio preliminare dell'effetto di farmaci, terapie ed apparecchiature, ma non possono in nessun caso sostituire le sperimentazioni cliniche.

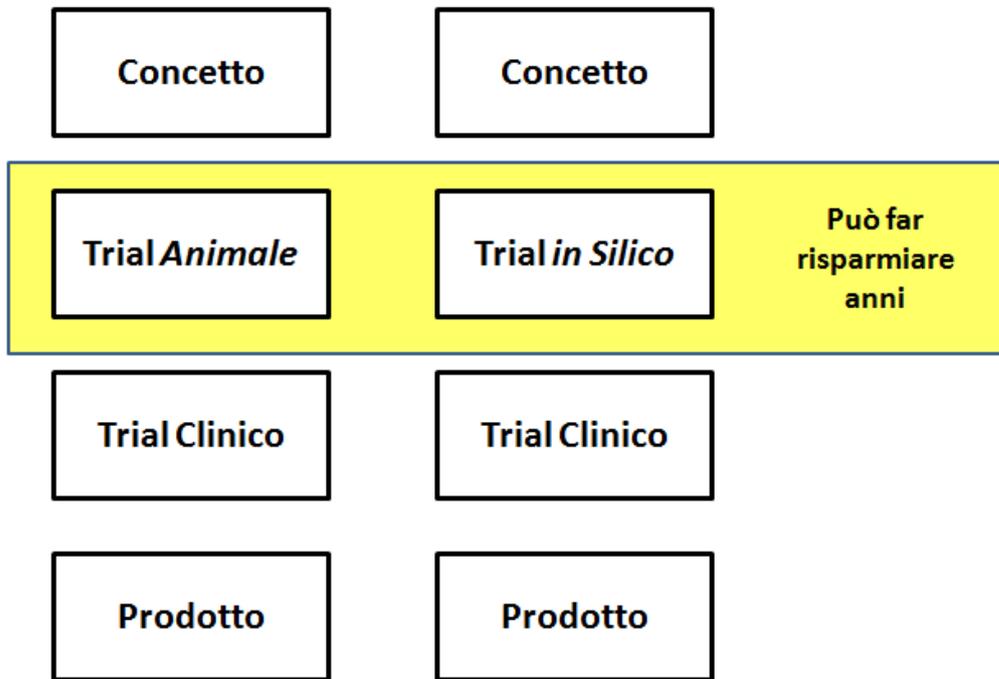


Figura 1.2: Schema dell'utilizzo di modelli di simulazione nelle sperimentazioni

Per poter effettuare esperimenti virtuali, la prima cosa da fare è elaborare un modello matematico del sistema in questione, in questo caso del sistema glucosio-insulina. La classe di modelli più utilizzata per descrivere sistemi metabolici è quella dei modelli compartimentali, ossia modelli costituiti da un numero finito di variabili legate tra loro da equazioni differenziali. Una volta definite le equazioni, si passa all'identificazione del modello, ovvero alla determinazione, per via sperimentale, dei parametri [1].

I modelli possono essere suddivisi in due gruppi, a seconda dello scopo per cui vengono utilizzati: vi sono i modelli minimi, costruiti in modo più semplice possibile, che sono volti a stimare i parametri non accessibili alle misure; vi sono poi i modelli di simulazione, costituiti da un gran numero di parametri perché hanno lo scopo di descrivere il sistema nella maniera più

accurata possibile.

L'utilizzo di modelli di simulazione si presta quindi ad aggirare i problemi descritti in precedenza sulle sperimentazioni poiché, una volta implementati, abbattano costi, tempi di esecuzione e non vantano problemi etici. La figura 1.2 può dare un'idea di questi risparmi.

Tuttavia, mentre i modelli parsimoniosi sono di facile identificazione, in quanto composti da pochi parametri, i modelli di simulazione, essendo assai più complessi, hanno bisogno di un numero maggiore di dati sperimentali per poter avere una descrizione sufficientemente precisa dei vari flussi e poter quindi ottenere una stima univoca dei parametri.

Nel caso del sistema glucosio-insulina, è stato recentemente messo a punto un modello di simulazione grazie anche ad un discreto database di soggetti (204) dei quali sono stati misurati e calcolati le concentrazioni ed i flussi di glucosio ed insulina. Tale modello è stato dapprima creato per descrivere la fisiologia del sistema in soggetti sani, ed è stato poi modificato per descrivere soggetti diabetici di tipo 1 [4] e anche di prediabetici e diabetici di tipo 2 [5]. Una volta noti i parametri del modello nelle diverse popolazioni di soggetti è stato possibile sviluppare un simulatore del sistema capace di simulare la risposta ad un pasto in soggetti virtuali verosimili e studiare in silico l'andamento di concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina nell'arco di una giornata o in risposta a opportuni farmaci.

### **1.3 Obiettivi del lavoro**

Lo scopo di questo lavoro di tesi è quello di incrementare il database di parametri di tale simulatore, attraverso l'identificazione di due nuovi database di soggetti, e di validare il simulatore stesso.

Nel capitolo 2 sono riportate le descrizioni dei due database utilizzati ed il

protocollo sperimentale utilizzato per misurare le concentrazioni di glucosio ed insulina e stimarne i flussi.

Nel capitolo 3 è illustrato nel dettaglio il modello matematico del sistema glucosio-insulina utilizzato.

Nel capitolo 5 è descritta la procedura di identificazione del modello utilizzata.

Nel capitolo 6 sono riportati i risultati dell'identificazione del modello.

Infine, nel capitolo 7, è indicata la strategia utilizzata per la generazione dei pazienti virtuali e sono riportati i risultati di alcune simulazioni effettuate.

# Capitolo 2

## I Database

### 2.1 Database 1

#### 2.1.1 I soggetti

Dopo l'approvazione del Mayo Institutional Review Board, 22 soggetti con glucosio a digiuno  $>5.5$  mmol/l (99 mg/dl) ma  $<7.0$  mmol/l (125 mg/dl) in due o più occasioni, hanno dato il loro consenso informato a partecipare allo studio. Tutti i soggetti erano in buona salute, avevano un peso corporeo stabile e non praticavano regolare ed intensa attività fisica. I soggetti non presentavano una storia pregressa di diabete o di terapie con farmaci antidiabetici. Tutti i soggetti sono stati istruiti a seguire una dieta di mantenimento del peso corporeo contenente approssimativamente il 55% di carboidrati, il 30% di grassi e il 15% di proteine durante tutto il periodo di studio.

E' stato eseguito un primo studio sui 22 soggetti. Dopodiché i soggetti sono stati divisi in due gruppi. In modo casuale: ad 11 soggetti è stata somministrata una cura a base di 100 mg di Sitagliptin prima di colazione, mentre ai rimanenti 11 è stata somministrata una stessa dose di placebo . La cura è durata 8 settimane, alla fine delle quali i partecipanti all'esperimento si sono ripresentati per un secondo studio [6].

## 2.1.2 Protocollo

Per entrambi gli studi è stato seguito lo stesso protocollo. I soggetti sono stati ammessi all'Unità Clinica di Ricerca (CRU) alle ore 17:00 della sera precedente lo studio. Successivamente hanno consumato un pasto standard di 10 cal/kg (55% carboidrati, 30% grassi, 15% proteine) dopo il quale sono andati a dormire.

Alle ore 06:30 (-210 min.) del giorno seguente, ai soggetti è stata inserita nell'avambraccio un'agocannula 18-G, per permettere l'infusione dei traccianti. Una cannula 18-G è stata inserita in una vena sul dorso della mano opposta. La mano è stata poi posta in un contenitore di plexiglass riscaldato a 55 °C per consentire di avere un campionamento di sangue venoso arterializzato.

Alle 07:00 (-180 min.) è iniziata un'infusione continua di [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucosio (0.12 mg/kg per min.), preceduta da un bolo (12 mg/kg). Nel secondo studio, alle ore 09:30 (-30 min.) è stato somministrato il farmaco (Sitagliptin o placebo).

Alle ore 10:00 (tempo 0), i soggetti hanno consumato un pasto contenente tre uova strapazzate, 55 g di pancetta, 240 ml di acqua e Jell-O contenente 75 g di glucosio marcato con [1-<sup>13</sup>C] glucosio (arricchito al 4%). Il pasto forniva 510 kcal (61% carboidrati, 19% proteine e 21% grassi). Assieme al pasto è iniziata un'infusione di [6-<sup>3</sup>H], atta a mimare la comparsa anticipata del [1-<sup>13</sup>C] glucosio del pasto. L'andamento dell'infusione del [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucosio è stato modulato per mimare la prevista diminuzione della produzione endogena di glucosio (EGP). La griglia di campionamento utilizzata è la seguente: [-180, -30, -20, -10, 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360] min.

I campioni di plasma sono stati posti nel ghiaccio, centrifugati a 4 °C, separati e conservati a -20 °C fino all'analisi. Le concentrazioni di glucosio sono

state misurate usando un metodo di glucosio ossidasi. L'insulina plasmatica è stata misurata usando la chemiluminescenza. Le concentrazioni plasmatiche di glucagone e C-peptide sono state ricavate tramite radioimmunoanalisi. Il [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucosio l'[1-<sup>13</sup>C] glucosio nel plasma sono stati misurati utilizzando una spettrometria cromatografica a gas.

La velocità di comparsa del glucosio ingerito ( $R_{aMEAL}$ ), l'EGP e la scomparsa del glucosio ( $R_d$ ) sono state calcolate utilizzando il modello a due compartimenti di Steele. L' $R_{aMEAL}$  è stata ricavata moltiplicando la velocità di comparsa del [1-<sup>13</sup>C] glucosio (ottenuta a sua volta dalla velocità di infusione del [6-<sup>3</sup>H] glucosio e dal rapporto tra la concentrazione nel plasma del [6-<sup>3</sup>H] glucosio e quella del [1-<sup>13</sup>C] glucosio) per l'arricchimento del pasto. L'EGP è stato calcolato dalla velocità di infusione del [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucosio e dal rapporto tra la concentrazione nel plasma del [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucosio e quella del glucosio endogeno prodotto. L' $R_d$  è stata calcolata sottraendo la differenza nella massa di glucosio dalla velocità di comparsa totale del glucosio (i.e.  $R_{aMEAL} + EGP$ ). Infine il flusso di secrezione dell'insulina (SR) da parte delle  $\beta$ -cellule del pancreas è stato stimato mediante il modello minimo orale del C-peptide [6].

Nella figura 2.1 sono riportate le medie delle concentrazioni di glucosio ed insulina misurate ed i flussi di  $R_a$ ,  $R_d$ , EGP e S ottenuti tramite l'esperimento.

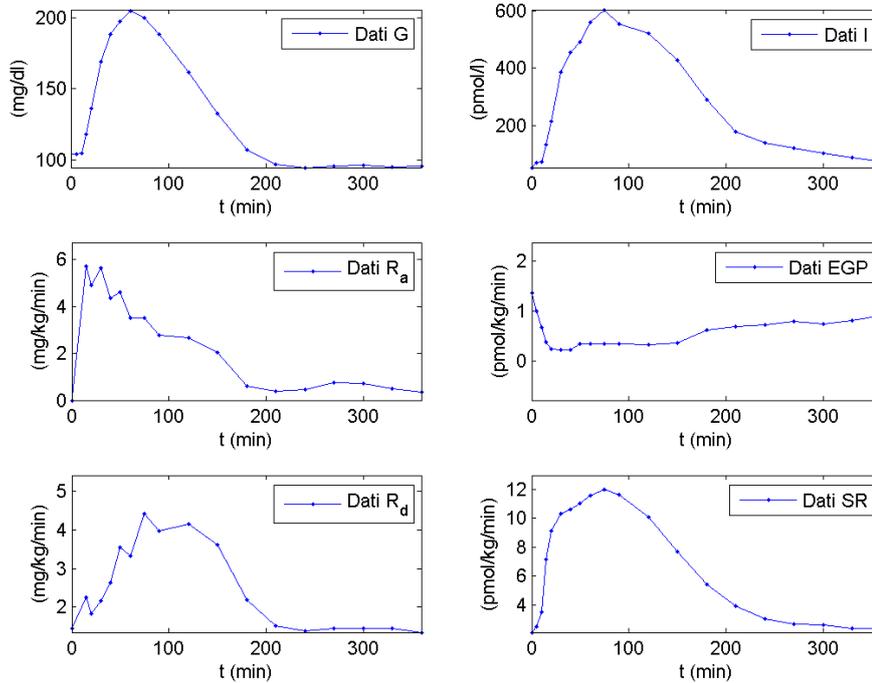


Figura 2.1: Concentrazioni e flussi ottenuti dai soggetti prediabetici. In alto: flusso della velocità di comparsa del glucosio nel sangue e concentrazione di glucosio plasmatico. Al centro: flusso dell'utilizzazione del glucosio e flusso della secrezione pancreatica di insulina. In basso: concentrazione di insulina plasmatica e flusso della produzione endogena di glucosio.

## 2.2 Database 2

### 2.2.1 I soggetti

Dopo l'approvazione del Mayo Institutional Review Board, 14 soggetti affetti da diabete di tipo 2, hanno dato il loro consenso informato a partecipare allo studio. Tutti i soggetti erano in buona salute, avevano un peso corporeo stabile e non praticavano regolare ed intensa attività fisica. Nessun soggetto stava assumendo farmaci noti per alterare lo svuotamento gastrico come narcotici o inibitori dei canali del calcio. Al momento delle analisi 4

soggetti seguivano una semplice dieta, 7 seguivano un trattamento con metformina e i rimanenti 3 erano trattati con una combinazione di sulfonilurea e metformina. Nessun soggetto presentava casi di complicanze microvascolari dovute al diabete. Tutti i soggetti sono stati istruiti a seguire una dieta di mantenimento del peso corporeo contenente approssimativamente il 55% di carboidrati, il 30% di grassi e il 15% di proteine durante tutto il periodo di studio. Tutti gli agenti orali usati per il trattamento del diabete sono stati sospesi tre settimane prima dell'inizio dello studio.

I soggetti sono stati divisi in maniera casuale in due gruppi. Ogni soggetto ha ricevuto 50 mg di Vildagliptin od una stessa dose di placebo prima di ogni colazione e cena per una durata di 10 giorni, seguita da due settimane di pausa e da ulteriori 10 giorni di trattamento [7].

### **2.2.2 Protocollo**

I soggetti sono stati ammessi all'Unità Clinica di Ricerca (CRU) la sera del sesto giorno del periodo di trattamento. Durante i giorni seguenti sono state compiute delle misure che però non competono al presente lavoro.

La mattina del nono giorno ai soggetti è stata inserita nell'avambraccio un'agocannula 18-G, per permettere l'infusione. Una cannula 18-G è stata inserita in una vena sul dorso della mano opposta. La mano è stata poi posta in un contenitore di plexiglass riscaldato a 55 °C per consentire di avere un campionamento di sangue venoso arterializzato.

Al minuto -180 è stata iniziata una primaria e continua infusione di [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucosio. Al tempo -30 min. i soggetti hanno ricevuto la dose mattutina di medicina (50 mg di Vildagliptin o di placebo).

Al tempo 0 i soggetti hanno consumato un pasto comprendente due uova strapazzate marcate con 0.75 mCi di <sup>99m</sup>Tc-solfuro colloide, 55 g di pancetta,

240 ml d'acqua e Jell-O contenente 75 g di glucosio marcato con  $[1-^{13}\text{C}]$  glucosio (arricchito al 4%). Il pasto ha fornito 510 kcal (61% carboidrati, 19% proteine e 21% grassi). Assieme al pasto è inoltre iniziata un'infusione di  $[6-^3\text{H}]$ , atta a mimare la comparsa anticipata del  $[1-^{13}\text{C}]$  glucosio del pasto. L'andamento dell'infusione del  $[6,6-^2\text{H}_2]$  glucosio è stato alterato per mimare la prevista diminuzione della produzione endogena di glucosio (EGP). Campioni di sangue sono stati prelevati seguendo questa griglia temporale: [-180, -30, -20, -10, 0, 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 302, 305, 306, 308, 311, 315, 330, 345, 360] min.

Cinque ore dopo l'inizio dello studio i soggetti hanno ricevuto una dose intravenosa di insulina. Poiché questa perturbazione poteva alterare la stima dei vari parametri di questo lavoro, si è scelto di fermare il tempo dell'esperimento per tutte le parti di modello in cui era necessaria l'insulina, proprio al minuto 300, scartando l'ultima ora di esperimento.

I campioni di plasma sono stati posti nel ghiaccio, centrifugati a  $4\text{ }^\circ\text{C}$ , separati e conservati a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  fino all'analisi. Le concentrazioni di glucosio sono state misurate usando un metodo di glucosio ossidasi. L'insulina plasmatica è stata misurata usando la chemiluminescenza con reagenti. Le concentrazioni plasmatiche di glucagone e C-peptide sono state ricavate tramite radioimmunoanalisi con reagenti. Secrezione,  $R_a$ ,  $R_d$ , ed EGP sono state calcolate come descritto nel paragrafo 2.1.2 .

Nella figura 2.2 sono riportate le medie delle concentrazioni di glucosio ed insulina misurate ed i flussi di  $R_a$ ,  $R_d$ , EGP e S ottenuti tramite l'esperimento.

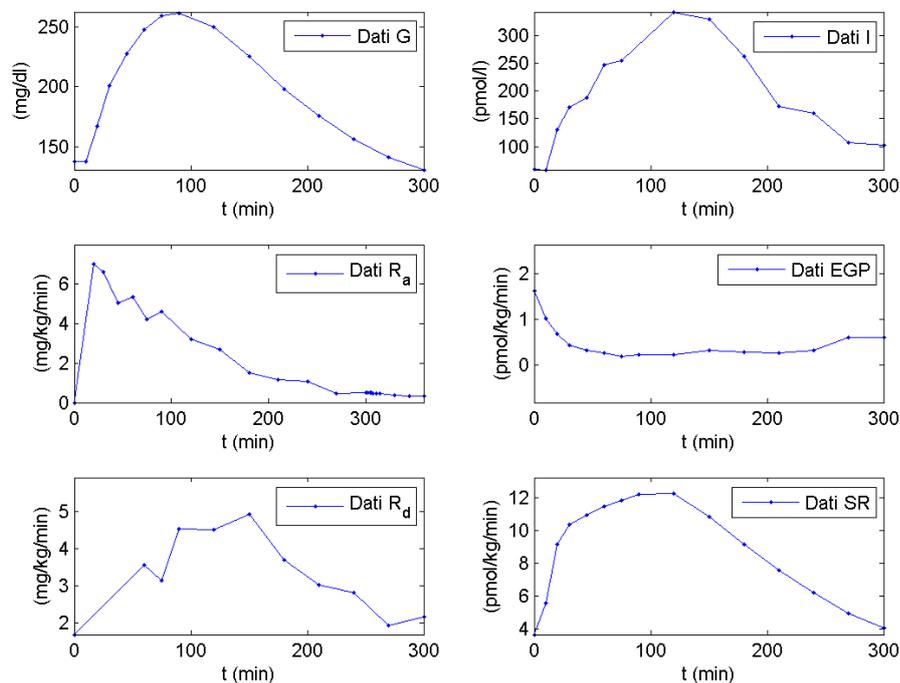


Figura 2.2: Concentrazioni e flussi ottenuti dai soggetti diabetici. In alto: flusso della velocità di comparsa del glucosio nel sangue e concentrazione di glucosio plasmatico. Al centro: flusso dell'utilizzazione del glucosio e flusso della secrezione pancreatica di insulina. In basso: concentrazione di insulina plasmatica e flusso della produzione endogena di glucosio.



# Capitolo 3

## Modelli

Il modello del sistema di regolazione glucosio-insulina [4] è mostrato in figura 3.1. Esso scompone il sistema complessivo glucosio-insulina in due sottosistemi: quello del glucosio e quello dell'insulina.

Il modello inoltre mette in relazione le concentrazioni di glucosio ed insulina con i flussi di glucosio, (la velocità di comparsa nel sangue ( $R_a$ ), la produzione endogena ( $EGP$ ), l'utilizzazione ( $U$ ), l'escrezione renale ( $E$ )) e con i flussi di insulina, (secrezione ( $S$ ) e degradazione ( $D$ )).

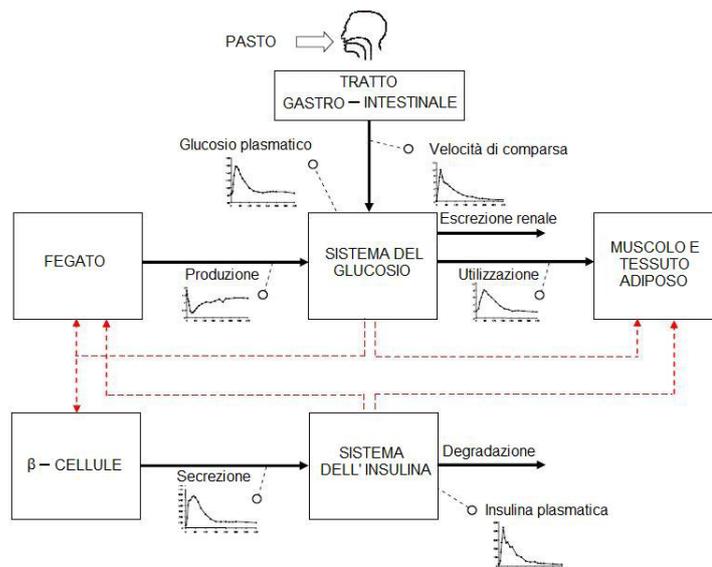


Figura 3.1: Schema del modello del sistema glucosio-insulina

### 3.1 Sottosistema del glucosio

Il modello che descrive la cinetica del glucosio è un modello bicompartimentale, come illustrato in figura 3.2, rappresentabile dalle seguenti equazioni differenziali:

$$\begin{cases} \dot{G}_p(t) = EGP(t) + R_a(t) - U_{ii}(t) - E(t) + \\ \quad -k_1 \cdot G_p(t) + k_2 \cdot G_t(t) & G_p(0) = G_{pb} \\ \dot{G}_t(t) = -U_{id}(t) + k_1 \cdot G_p(t) - k_2 \cdot G_t(t) & G_t(0) = G_{tb} \\ G(t) = \frac{G_p}{V_G} & G(0) = G_b \end{cases} \quad (3.1)$$

dove  $G_p$  (mg/kg) rappresenta la massa di glucosio nel plasma e nei tessuti glucosio-dipendenti (cioè a scambio rapido con il plasma),  $G_t$  (mg/kg) rappresenta la massa di glucosio nei tessuti insulino-dipendenti (cioè a scambio lento con il plasma),  $EGP$  (mg/kg/min) è la produzione endogena di glucosio,  $R_a$  (mg/kg/min) è la velocità di comparsa del glucosio nel sangue,  $E$  (mg/kg/min) è l'escrezione renale,  $V_G$  (dl/kg) è il volume di distribuzione del glucosio,  $U_{ii}$  e  $U_{id}$  (mg/kg/min) sono le utilizzazioni insulino-indipendente ed insulino-dipendente ed infine  $k_1$  e  $k_2$  ( $min^{-1}$ ) rappresentano le velocità di scambio tra i due compartimenti. Il pedice b indica lo stato basale.

La produzione endogena di glucosio in stato stazionario basale ( $EGP_b$ ) uguaglia la scomparsa del glucosio, composta da utilizzazione totale di glucosio ed escrezione renale (quest'ultima è nulla nei soggetti non diabetici):

$$EGP_b = U_b + E_b \quad (3.2)$$

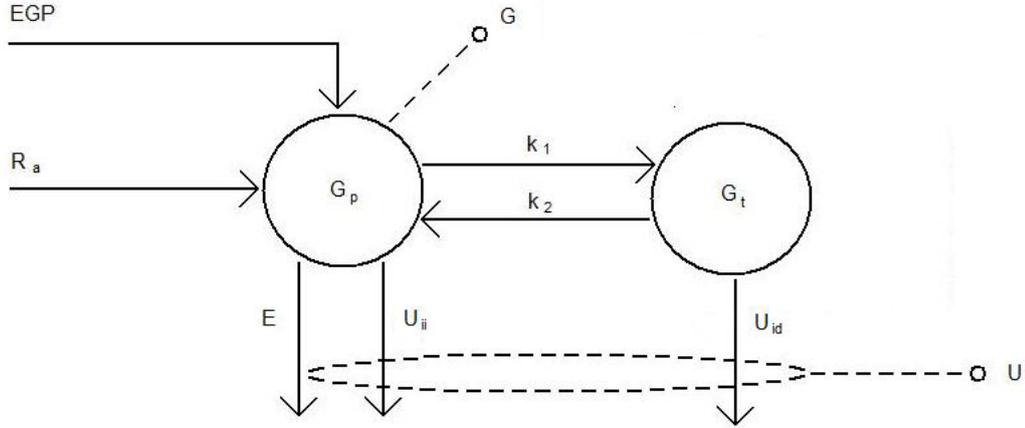


Figura 3.2: Modello bicompartimentale della cinetica del glucosio

### 3.1.1 Assorbimento intestinale del glucosio

Il modello utilizzato per descrivere l'assorbimento intestinale del glucosio consta di tre compartimenti (figura 3.3). Due compartimenti rappresentano lo stomaco, il terzo rappresenta l'intestino. Si è scelto di rappresentare lo stomaco con due compartimenti in quanto uno di essi rappresenta la parte di cibo solida, mentre l'altra rappresenta la frazione di cibo triturrata (fase liquida).

Le equazioni del modello sono:

$$\left\{ \begin{array}{ll} \dot{Q}_{sto1}(t) = -k_{gri} \cdot Q_{sto1}(t) + D \cdot \delta(t) & Q_{sto1}(0) = 0 \\ \dot{Q}_{sto2}(t) = -k_{empt}(Q_{sto}) \cdot Q_{sto2}(t) + k_{gri} \cdot Q_{sto1}(t) & Q_{sto2}(0) = 0 \\ Q_{sto}(t) = Q_{sto1}(t) + Q_{sto2}(t) & Q_{sto}(0) = 0 \\ \dot{Q}_{gut}(t) = -k_{abs} \cdot Q_{gut}(t) + k_{empt}(Q_{sto}) \cdot Q_{sto2}(t) & Q_{gut}(0) = 0 \\ R_a(t) = \frac{f \cdot k_{abs} \cdot Q_{gut}(t)}{BW} & R_a(0) = 0 \end{array} \right. \quad (3.3)$$

dove  $Q_{sto}$  (mg) è la massa di glucosio nello stomaco, composta da  $Q_{sto1}$  (fase solida) e  $Q_{sto2}$  (fase liquida),  $k_{gri}$  ( $min^{-1}$ ) è la velocità di triturratura del cibo,  $D$  (mg) è la dose di glucosio ingerito,  $k_{empt}(Q_{sto})$  ( $min^{-1}$ ) è la velocità

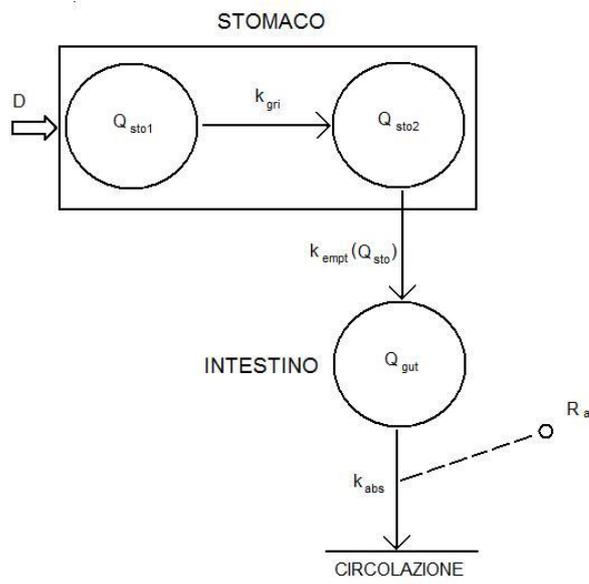


Figura 3.3: Modello a tre compartimenti del tratto intestinale

di svuotamento dello stomaco,  $Q_{gut}$  (mg) è la massa di glucosio nell'intestino,  $k_{abs}$  ( $min^{-1}$ ) è la velocità di assorbimento intestinale,  $R_a$  (mg/kg/min) è la velocità di comparsa del glucosio nel sangue,  $f$  (adimensionale) è la frazione intestinale che realmente appare nel plasma e  $BW$  (kg) è il peso corporeo. Come si può notare, nel modello si è ipotizzato che la velocità di svuotamento dello stomaco  $k_{empt}$  dipenda dalla massa di glucosio presente nello stomaco  $Q_{sto}$ . Le motivazioni di tale ipotesi sono principalmente due. La prima riguarda un dato fisiologico, infatti lo stomaco ha la capacità di espellere molto velocemente la fase liquida del cibo ingerito, per poi rallentare nell'espulsione della fase solida, ciò per permettere la corretta triturazione della parte preponderante del cibo e consentire l'assorbimento intestinale. La seconda motivazione deriva dal fatto che osservando i profili di  $R_a$  trovati sperimentalmente si è notato che si possono evidenziare due fasi di assorbimento: una più rapida, responsabile del picco iniziale, ed una molto più lenta; tale osservazione ha fatto supporre che queste due fasi di assorbimento dipendano

proprio dalla velocità di svuotamento gastrico.

Il modello (figura 3.4) assume quindi che la velocità di svuotamento dello stomaco dipenda (in modo non lineare) dalla quantità di glucosio nello stomaco, secondo l'equazione:

$$\begin{aligned}
 k_{empt}(Q_{sto}) &= k_{min} + \frac{k_{max}-k_{min}}{2} \cdot \{\tanh[\alpha \cdot (Q_{sto} - b \cdot D)] + \\
 &\quad - \tanh[\beta \cdot (Q_{sto} - c \cdot D)] + 2\} \\
 \alpha &= \frac{5}{2 \cdot (1-b) \cdot D} \\
 \beta &= \frac{5}{2 \cdot c \cdot D}
 \end{aligned} \tag{3.4}$$

La velocità di svuotamento massima ( $k_{empt}=k_{max}$ ) si ha nel momento in cui lo stomaco contiene tutto il glucosio  $D$  ingerito, e nel momento in cui lo stomaco è vuoto. Tra questi due estremi si trova prima una situazione in cui  $k_{empt}$  decresce con velocità  $\alpha$  fino a raggiungere un minimo,  $k_{min}$ , dopodiché riprende a salire con velocità  $\beta$  per ritornare, alla fine dello svuotamento, ad eguagliare nuovamente  $k_{max}$ .

Come si vede dalla figura 3.4, le due costanti  $b$  e  $c$  rappresentano la percentuale di  $D$  per cui si ha  $k_{empt} = (k_{max}-k_{min})/2$ , rispettivamente  $b$  nella parte in cui la curva decresce e  $c$  nella parte in cui cresce. Ai fini del lavoro è inoltre utile notare che se  $c$  assume un valore molto basso, la velocità di svuotamento  $k_{empt}$  rimane uguale a  $k_{min}$  finché lo stomaco non è completamente svuotato; l'equazione 3.4 può dunque essere semplificata come segue:

$$\begin{aligned}
 k_{empt}(Q_{sto}) &= k_{min} + \frac{k_{max}-k_{min}}{2} \cdot \{\tanh[\alpha \cdot (Q_{sto} - b \cdot D)] + 1\} \\
 \alpha &= \frac{5}{2 \cdot (1-b) \cdot D}
 \end{aligned} \tag{3.5}$$

In questa tesi è stata solitamente usata l'equazione 3.4 per descrivere la velocità di svuotamento tuttavia, come verrà descritto meglio nel capitolo dedicato all'identificazione, in rari casi è stata utilizzata l'equazione 3.5.

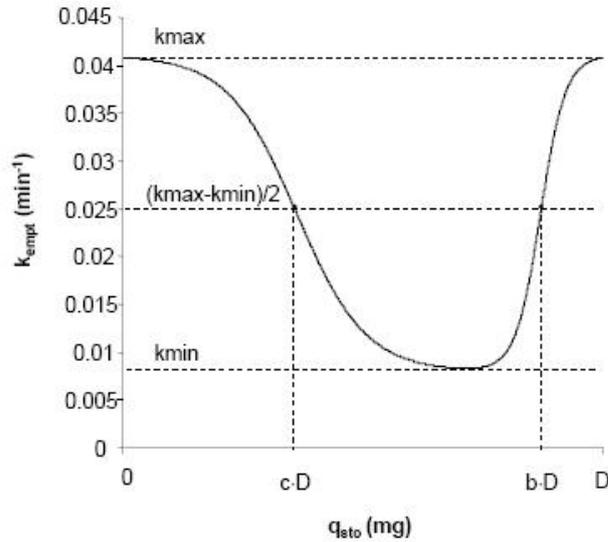


Figura 3.4: Curva dell'andamento dello svuotamento gastrico in funzione della quantità di glucosio presente nello stomaco

### 3.1.2 Utilizzazione ed escrezione renale del glucosio

Come si può notare dalla figura 3.2 i flussi irreversibili che portano alla scomparsa del glucosio dal sistema sono fondamentalmente di due tipi: il primo riguarda l'utilizzazione  $U$  di glucosio da parte dei tessuti, il secondo riguarda l'escrezione renale  $E$  del glucosio in eccesso (come già detto  $E=0$  nei soggetti sani).

L'utilizzazione, a sua volta, è stata divisa in due componenti: una insulino-indipendente ed una insulino-dipendente.

$$U(t) = U_{ii}(t) + U_{id}(t) \quad (3.6)$$

L'utilizzazione insulino-indipendente avviene nel primo compartimento ( $G_p$ ), rappresenta l'assorbimento di glucosio da parte di tessuti glucosio-dipendenti (prevalentemente il sistema nervoso centrale, CNS) ed è stata posta costante:

$$U_{ii}(t) = F_{cns} \quad (3.7)$$

L'utilizzazione insulino-dipendente avviene nel secondo compartimento ( $G_t$ ), rappresenta l'assorbimento di glucosio da parte di tessuti insulino-dipendenti quali i muscoli, ed è stata supposta dipendere in maniera non lineare dal glucosio nei tessuti, tramite la seguente equazione:

$$U_{id}(t) = \frac{V_m(X(t)) \cdot G_t(t)}{K_{m0} + G_t(t)} \quad (3.8)$$

con

$$V_m(X(t)) = V_{m0} + V_{mX} \cdot X(t) \quad (3.9)$$

dove  $X(t)$  rappresenta l'insulina remota.

La dinamica di  $X(t)$  è descritta dalla seguente equazione:

$$\dot{X}(t) = -p_{2U} \cdot X(t) + p_{2U} \cdot [I(t) - I_b] \quad X(0) = 0 \quad (3.10)$$

dove  $I$  (pmol/l) rappresenta la concentrazione di insulina plasmatica e  $p_{2U}$  ( $min^{-1}$ ) è la velocità dell'azione insulinica su  $U_{id}$ .

$V_{m0}$  infine può essere calcolato dal sistema in stato stazionario basale, in cui si ha:

$$G_{tb} = \frac{F_{cns} - EGP_b + k_1 \cdot G_{pb}}{k_2} \quad (3.11)$$

e utilizzazione

$$U_b = U_{ii}(0) + U_{id}(0) = F_{cns} + \frac{V_{m0} \cdot G_{tb}}{K_{m0} + G_{tb}} \quad (3.12)$$

da cui si ricava  $V_{m0}$  come:

$$V_{m0} = \frac{(EGP_b - F_{cns}) \cdot (K_{m0} + G_{tb})}{G_{tb}} \quad (3.13)$$

Come è già stato affermato più volte, nei soggetti normali l'escrezione renale di glucosio  $E$  è nulla; infatti l'espulsione di glucosio attraverso l'urina avviene solo se il livello di glucosio nel sangue supera una certa soglia. Per questo motivo tale processo può essere modellizzato tramite una relazione lineare tra  $E$  e  $G_p$  del tipo:

$$E(t) = \begin{cases} k_{e1} \cdot [G_p(t) - k_{e2}] & \text{se } G_p(t) > k_{e2} \\ 0 & \text{se } G_p(t) \leq k_{e2} \end{cases} \quad (3.14)$$

in cui  $k_{e2}$  (mg/kg) è proprio la soglia renale di glucosio, oltre la quale vi è escrezione, e  $k_{e1}$  ( $min^{-1}$ ) rappresenta la velocità di filtrazione glomerulare.

### 3.1.3 Produzione endogena di glucosio

La produzione endogena di glucosio (EGP) dipende fondamentalmente dal glucosio e dall'insulina presenti in circolo. Dopo un pasto sia la concentrazione di glucosio che di insulina nel plasma aumentano e ciò stimola il fegato a diminuire la produzione. Nel modello utilizzato, rappresentato in figura 3.5, l'EGP è regolata da tre segnali di controllo: uno derivante dalla quantità di glucosio plasmatico e due derivanti da azioni insuliniche.

Le equazioni di tale modello sono:

$$EGP(t) = k_{p1} - k_{p2} \cdot G_p(t) - k_{p3} \cdot I_d - k_{p4} \cdot I_{po}(t) \quad EGP(0) = EGP_b \quad (3.15)$$

Dall'equazione 3.15 si nota come l'effetto insulinico sia diviso in due parti.  $I_{po}$  (pmol/kg) rappresenta l'insulina portale, cioè la quantità di insulina

presente in vena porta, che ha un effetto di soppressione molto rapido sull'EGP.  $I_d$  (pmol/l) rappresenta invece una versione ritardata dell'insulina plasmatica (l'insulina interstiziale) che ha dunque un effetto ritardato sulla soppressione dell'EGP.  $k_{p2}$  ( $min^{-1}$ ) è l'efficacia del glucosio sul fegato,  $k_{p3}$  (mg/kg/min/(pmol/l)) regola l'efficacia dell'azione dell'insulina ritardata sul fegato,  $k_{p4}$  (mg/kg/min/(pmol/kg)) regola invece l'efficacia dell'azione insulinica portale sul fegato. Infine,  $k_{p1}$  (mg/kg/min) è l'EGP calcolata quando insulina e glucosio sono in stato stazionario basale e può essere espresso dalla seguente equazione:

$$k_{p1} = EGP_b + k_{p2} \cdot G_{pb} + k_{p3} \cdot I_b + k_{p4} \cdot I_{pob} \quad (3.16)$$

L'insulina portale ( $I_{po}$ ) è ricavata dal sottomodulo dell'insulina, descritto in seguito, mentre l'insulina ad effetto ritardato ( $I_d$ ) è ricavata, come si vede dalla figura 3.5, da una catena di due compartimenti descritti dal seguente sistema di equazioni:

$$\begin{cases} \dot{I}_1(t) = -k_i \cdot [I_1(t) - I(t)] & I_1(0) = I_b \\ \dot{I}_d(t) = -k_i \cdot [I_d(t) - I_1(t)] & I_d(0) = I_b \end{cases} \quad (3.17)$$

dove è il parametro  $k_i$  ( $min^{-1}$ ) a render conto del ritardo tra la comparsa dell'insulina nel sangue ed il suo effetto di controllo sul fegato.

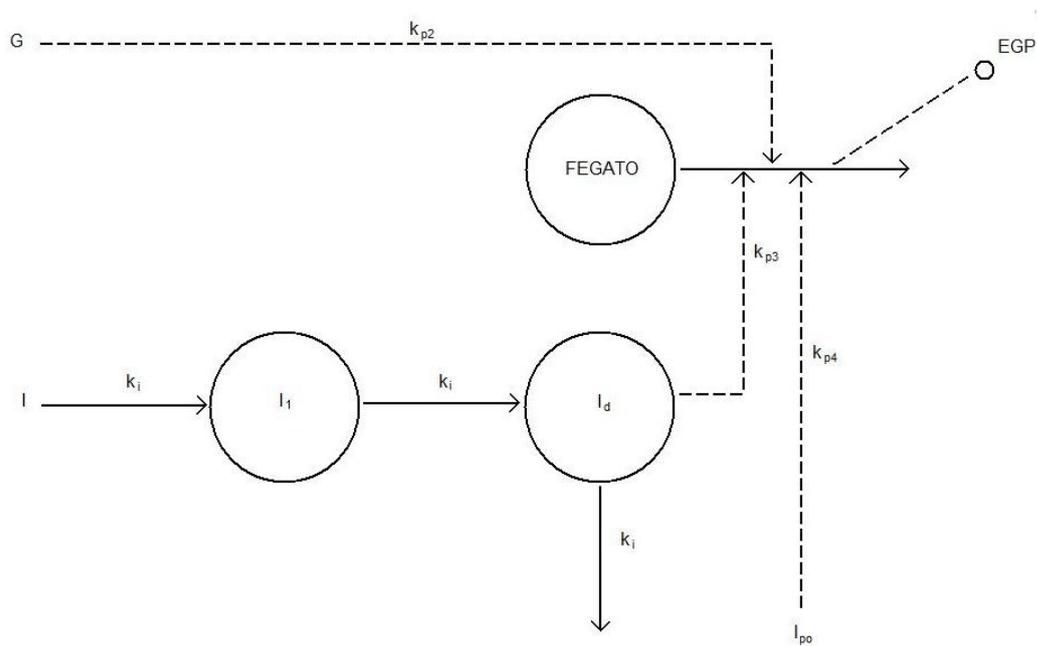


Figura 3.5: Modello compartimentale dell'EGP

## 3.2 Sottosistema dell'insulina

Il modello del sottosistema dell'insulina descrive secrezione, degradazione e cinetica dell'insulina. Per comodità viene diviso in due ulteriori parti, una che descrive la secrezione di insulina e una che ne descrive la cinetica e degradazione.

### 3.2.1 Secrezione dell'insulina

E' noto che nel pancreas l'insulina è presente in due forme: una di pronto rilascio (presente in bassa percentuale) ed una di immagazzinamento (la maggioranza). Si sa inoltre che l'insulina viene liberata, in risposta ad uno stimolo di glucosio, in maniera controllata e graduale, come in un processo a soglia.

Osservazioni sperimentali hanno mostrato che la risposta pancreatica ad uno stimolo di glucosio è composta di due fasi: una prima fase di secrezione molto rapida, quasi istantanea, ed una seconda fase di secrezione più lenta e ritardata. Per questo motivo si è scelto di utilizzare come modello quello descritto in figura 3.6.

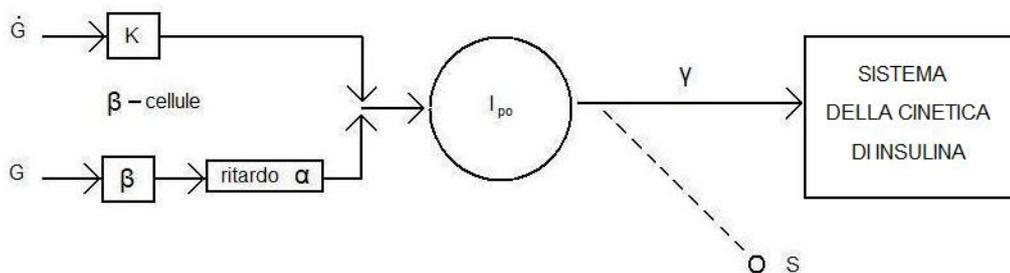


Figura 3.6: Modello compartimentale della secrezione di insulina

Come si può notare, le componenti che entrano nel compartimento dell'insulina portale ( $I_{po}$ ) sono due. La prima componente, proporzionale alla va-

riazione di concentrazione del glucosio ( $\dot{G}$ ), rappresenta l'insulina pronta al rilascio contenuta nelle  $\beta$ -cellule. La seconda componente, proporzionale alla concentrazione del glucosio ( $G$ ) ed affetta da un ritardo  $\alpha$ , rappresenta l'insulina stabile di immagazzinamento.

Il sistema di equazioni del modello è il seguente:

$$S(t) = \gamma \cdot I_{po}(t) \quad (3.18)$$

$$\dot{I}_{po}(t) = -\gamma \cdot I_{po}(t) + S_{po}(t) \quad I_{po}(0) = I_{pob} \quad (3.19)$$

$$S_{po}(t) = \begin{cases} Y(t) + K \cdot \dot{G}(t) + S_b & \text{se } \dot{G} > 0 \\ Y(t) + S_b & \text{se } \dot{G} \leq 0 \end{cases} \quad (3.20)$$

$$\dot{Y}(t) = \begin{cases} -\alpha \cdot [Y(t) - \beta \cdot (G(t) - h)] & \text{se } \beta \cdot (G(t) - h) \geq -S_b \\ -\alpha[Y(t) + S_b] & \text{se } \beta \cdot (G(t) - h) < -S_b \end{cases} \quad (3.21)$$

dove per la 3.20 e la 3.21 vale  $Y(0) = 0$ .

$S_{po}$  è la secrezione di insulina in vena porta (pmol/kg/min),  $Y$  è l'approvvigionamento di insulina (pmol/kg),  $S_b$  è la secrezione di insulina in condizioni basali (pmol/kg/min),  $\gamma$  è il coefficiente di trasferimento tra la vena porta ed il fegato ( $min^{-1}$ ),  $K$  è la sensibilità pancreatica alle variazioni di glucosio (pmol/kg/(mg/dl)),  $\beta$  è la sensibilità pancreatica al glucosio (pmol/kg/min/(mg/dl)),  $\alpha$  è il ritardo tra il segnale di glucosio e la secrezione di insulina lenta ( $min^{-1}$ ). Infine  $h$  (mg/dl) è il valore di soglia della concentrazione di glucosio oltre il quale il pancreas inizia a produrre nuova insulina. Inizialmente  $h$  è stato posto uguale a  $G_b$  per garantire la stazionarietà del sistema in condizioni basali, tuttavia come si vedrà nel capitolo riguardante l'identificazione, per alcuni soggetti  $h$  è stato stimato dai dati con tecniche bayesiane.

### 3.2.2 Cinetica ed estrazione dell'insulina

La cinetica ed estrazione dell'insulina sono descritte dal modello a due compartimenti rappresentato in figura 3.7.

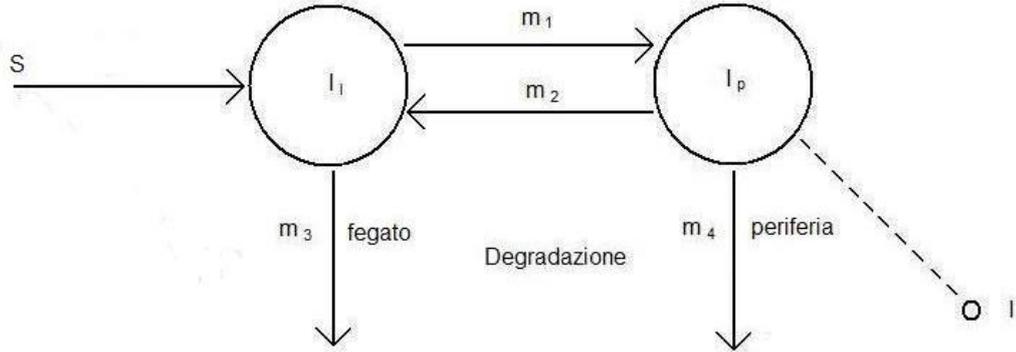


Figura 3.7: Modello compartimentale della cinetica, estrazione e degradazione dell'insulina

Il sistema di equazioni che descrive tale modello è il seguente:

$$\begin{cases} \dot{I}_l(t) = -(m_1 + m_3(t)) \cdot I_l(t) + m_2 \cdot I_p(t) + S(t) & I_l(0) = I_{lb} \\ \dot{I}_p(t) = -(m_2 + m_4) \cdot I_p(t) + m_1 \cdot I_l(t) & I_p(0) = I_{pb} \\ I(t) = \frac{I_p}{V_I} & I(0) = I_b \end{cases} \quad (3.22)$$

dove  $I_p$  e  $I_l$  (pmol/kg) sono le masse di insulina nel plasma e nel fegato,  $S$  (pmol/kg/min) è la secrezione di insulina,  $I$  (pmol/l) è la concentrazione di insulina nel sangue,  $V_I$  è il volume di distribuzione di insulina e  $m_1$ ,  $m_2$  e  $m_4$  ( $\text{min}^{-1}$ ) sono le velocità di scambio.

Come si vede dalla figura 3.7 la degradazione dell'insulina avviene sia nel fegato ( $m_3(t)$ ), sia in periferia ( $m_4$ ). L'estrazione epatica di insulina HE ( $HE = m_3(t)/(m_3(t) + m_4)$ ) può essere collegata alla secrezione tramite l'equazione:

$$HE(t) = -m_5 \cdot S(t) + m_6 \quad HE(0) = HE_b \quad (3.23)$$

si ha poi:

$$m_3(t) = \frac{HE(t) \cdot m_1}{1 - HE(t)} \quad (3.24)$$

Allo stato stazionario basale si ha:

$$m_6 = m_5 \cdot S_b + HE_b \quad (3.25)$$

$$m_3(0) = \frac{HE_b \cdot m_1}{1 - HE_b} \quad (3.26)$$

$$S_b = m_3(0) \cdot I_{lb} + m_4 \cdot I_{pb} = D_b \quad (3.27)$$

con  $S_b$  secrezione basale e  $D_b$  degradazione basale.

Poiché il fegato provvede per il 60% alla clearance di insulina in stato stazionario ( $HE_b=0.6$ ), si ha inoltre:

$$m_2 = \left( \frac{S_b}{I_{pb}} - \frac{m_4}{1 - HE_b} \right) \cdot \frac{1 - HE_b}{HE_b} \quad (3.28)$$

$$m_4 = \frac{2}{5} \cdot \frac{S_b}{I_{pb}} \cdot (1 - HE_b) \quad (3.29)$$

### 3.3 Modello matematico completo

Una volta completata la descrizione del modello in tutte le sue parti, si può procedere alla composizione del modello completo, composto dalle equazioni (3.1), (3.3), (3.4) o (3.5), (3.7) → (3.10), (3.14), (3.15), (3.17) → (3.24);

i vincoli di stato stazionario sono invece descritti dalle equazioni (3.2), (3.11)

→ (3.13), (3.16), (3.25) → (3.29).

I parametri del modello da stimare sono 26 e sono:  $k_{abs}$ ,  $k_{max}$ ,  $k_{min}$ ,  $b$ ,  $c$  ( $k_{gri}$  è stato posto uguale a  $k_{max}$  per favorire l'identificazione),  $k_i$ ,  $k_{p2}$ ,  $k_{p3}$ ,  $k_{p4}$ ,  $V_G$ ,  $V_{mX}$ ,  $K_{m0}$ ,  $k_2$ ,  $k_1$ ,  $p_{2U}$ ,  $V_I$ ,  $K$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $m_1$ ,  $m_5$ ,  $G_b$ ,  $EGP_b$ ,  $BW$ ,  $I_b$ ,  $SR_b$ .



# Capitolo 4

## Identificazione dei modelli

Il protocollo descritto nel Capitolo 2 per l'acquisizione dei dati dei due database (prediabetici e diabetici) ha permesso di utilizzare una strategia di identificazione di decomposizione in sotto-modelli e impiego di funzioni forzanti. La sperimentazione a triplo tracciante ha infatti consentito di ricavare non solo le concentrazioni di glucosio ed insulina, ma anche l'andamento temporale di tutti i loro flussi (la velocità di comparsa del glucosio nel sangue, la sua produzione endogena, la sua utilizzazione e la secrezione di insulina), tramite un metodo modello-indipendente.

Il modello del sistema glucosio-insulina è stato quindi suddiviso in quattro sottomodelli parsimoniosi, atti a descrivere i processi elementari del metabolismo del glucosio:

1. modello dell'assorbimento nel tratto gastrointestinale
2. modello della cinetica, utilizzazione ed escrezione renale del glucosio
3. modello della secrezione e della cinetica dell'insulina
4. modello della produzione endogena di glucosio

ed anche nel seguito di questo capitolo verrà rispettato l'ordine dell'elenco numerato, nella presentazione dei risultati.

Nella figura 4.1 è illustrata la strategia delle funzioni forzanti per i quattro sottomodelli.

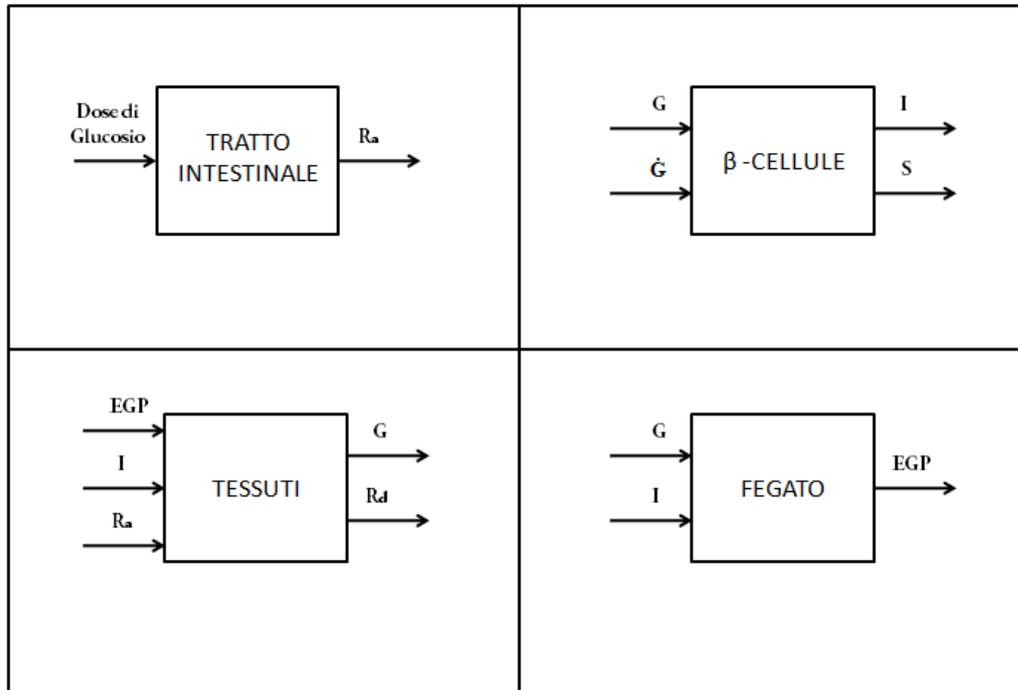


Figura 4.1: Sottomodelli e strategia delle funzioni forzanti:  $R_a$  (in alto a sinistra),  $R_d$  (in basso a sinistra),  $S$  (in alto a destra),  $EGP$  (in basso a destra). Le frecce entranti rappresentano le funzioni forzanti (supposte note e senza errore), quelle uscenti le uscite del modello.

Per modellare ad esempio la velocità di scomparsa del glucosio nel sangue ( $R_d$ ), si utilizzano come ingressi noti e senza errore la concentrazione di insulina  $I$ , la produzione endogena di glucosio  $EGP$  e la velocità di comparsa  $R_a$ , e come uscite del modello la concentrazione plasmatica di glucosio  $G$  e la velocità di scomparsa  $R_d$  (o utilizzazione).

## 4.1 Identificazione dei sottomodelli

Per l'identificazione numerica, in ogni sotto-modello si è utilizzato il metodo dei minimi quadrati non lineari implementato dal software SAAM II. Nei casi in cui ciò non fosse sufficiente per stimare in maniera univoca e precisa tutti i parametri è stato utilizzato lo stimatore MAP (Massimo a posteriori) implementato sempre in SAAM II.

Con lo stimatore MAP viene aggiunta informazione a priori ad uno o più parametri; il metodo utilizza un approccio Bayesiano e consiste nel considerare aleatorio il parametro, associandolo quindi a determinate media e deviazione standard. Nel nostro caso come media è stata sempre utilizzata quella segnata, per il parametro corrispondente, nelle tabelle in cui si trovavano i valori di partenza per i parametri (valori ricavati da analisi precedenti); la deviazione standard è sempre stata posta, inizialmente, al 50% del valore medio, questo per fornire meno informazione a priori possibile, ed è stata poi abbassata dove necessario.

### 4.1.1 Assorbimento intestinale

Il sistema di equazioni (3.3)-(3.5) è stato identificato dai dati di  $R_a$  dei soggetti prediabetici e diabetici per mezzo delle funzioni forzanti: l'ingresso del modello è la dose di glucosio ingerito, pari a 75 g, ed è assunto noto e senza errore; la velocità di comparsa del glucosio nel sangue  $R_a$  è l'uscita del modello. L'errore di misura dei dati di  $R_a$  è stato assunto essere a campioni scorrelati, con media nulla e deviazione standard costante ma incognita. L'implementazione in SAAM II del modello compartimentale è presentata in figura 4.2.

I parametri da stimare sono:  $k_{max}$ ,  $k_{min}$ ,  $k_{abs}$ , b e c.

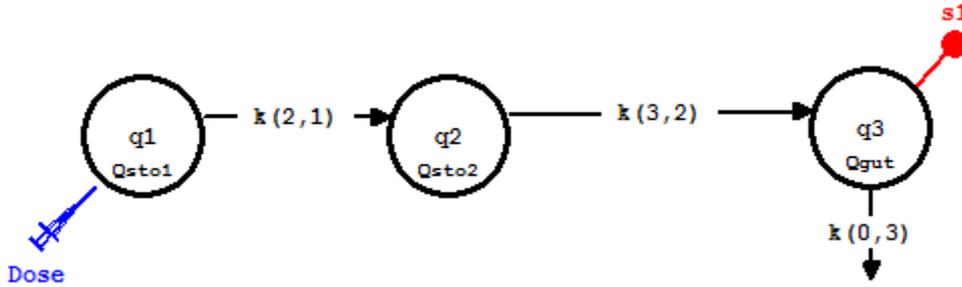


Figura 4.2: Implementazione in SAAM II del modello dell'assorbimento intestinale

I valori iniziali impostati per i parametri sono quelli della tabella 4.1, diversi per i due database. Per il calcolo di  $k_{empt}(Q_{sto})$  è stata usata l'equazione 3.4 per tutti i soggetti tranne che per due soggetti prediabetici e per un diabetico in cui il parametro  $c$  risultava essere troppo basso per essere identificato ed è quindi stata utilizzata l'equazione 3.5.  $k_{gri}$  è stato posto uguale a  $k_{max}$  per favorirne l'identificazione. Per ogni soggetto è stato inoltre calcolato il valore di  $f$  utilizzando la relazione  $AUC = \frac{D \cdot f}{BW}$  dove  $AUC$  è l'area sotto la curva dei campioni di  $R_a$ ,  $D$  è la dose di glucosio ingerita nel pasto e  $BW$  è il peso corporeo.

Parametro	Prediabetici	Diabetici
$k_{max} (min^{-1})$	0.0558	0.0465
$k_{min} (min^{-1})$	0.008	0.0076
$k_{abs} (min^{-1})$	0.057	0.023
b (adim.)	0.82	0.68
c (adim.)	0.01	0.09

Tabella 4.1: Valori iniziali dei parametri utilizzati per l'identificazione del modello intestinale del glucosio

Il modello è stato numericamente identificato con il metodo dei minimi quadrati non lineari implementato dal software SAAM II. Così facendo 11 soggetti prediabetici e 8 soggetti diabetici sono stati identificati in maniera univoca. Per identificare gli altri soggetti è stato utilizzato lo stimatore MAP fornendo al programma informazione a priori su uno o più parametri, in particolare, per entrambi i database, su  $k_{min}$ ,  $k_{abs}$ ,  $k_{max}$  e  $c$ . In questo modo è stato possibile ottenere una stima univoca e precisa per 38 dei 44 pazienti prediabetici e per 25 dei 28 pazienti diabetici. Gli altri 6 soggetti prediabetici e 3 soggetti diabetici, sono stati eliminati dall'analisi per l'impossibilità di ottenere un buon fit dei dati; per incapacità del modello di seguire bene i dati in alcuni casi, per la presenza di troppo rumore sovrapposto ai dati in altri casi.

#### 4.1.2 Cinetica ed utilizzazione del glucosio

Il sistema di equazioni (3.1),(3.2) e 3.6-3.14 è stato identificato contemporaneamente dai dati di  $G$  ed  $R_d$  dei soggetti prediabetici e diabetici per mezzo delle funzioni forzanti (fig. 4.1, riquadro in basso a sinistra): come ingresso del modello sono stati utilizzati la concentrazione di insulina nel sangue, la produzione endogena di glucosio e la velocità di comparsa del glucosio nel sangue, assunte note e senza errore; la velocità di scomparsa del glucosio nel sangue  $R_d$ , o utilizzazione, e la concentrazione plasmatica di glucosio sono invece le uscite del modello. L'errore di misura sui dati di  $R_d$  è stato assunto essere a campioni scorrelati, con media nulla e deviazione standard costante ma incognita. L'errore di misura nei dati di  $G$  è stato invece assunto essere a campioni scorrelati, con media nulla e pari al 2% del dato misurato. L'implementazione in SAAM II del modello compartimentale è presentata in figura 4.3.

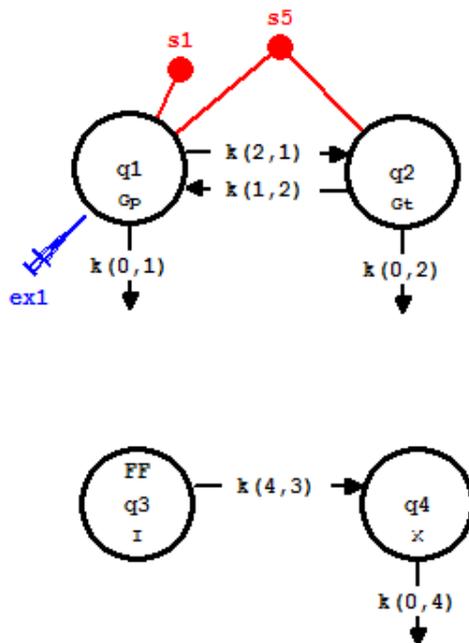


Figura 4.3: Implementazione in SAAM II del modello della cinetica, utilizzazione ed escrezione renale del glucosio

I parametri da stimare sono:  $V_g$ ,  $V_{mX}$ ,  $K_{m0}$ ,  $k_1$ ,  $k_2$  e  $p_{2U}$ .

I valori iniziali impostati per i parametri sono quelli della tabella 4.2, diversi per i due database. I parametri  $F_{cns}$ ,  $k_{e1}$  e  $k_{e2}$  sono stati fissati ai valori riportati sempre in tabelle 4.2. E' stata inoltre utilizzata dell'informazione a priori per i parametri  $K_{m0}$ ,  $k_1$  e  $k_2$ , assunti gaussiani con media pari al valore iniziale presente in tabella e deviazione standard pari al 50% del valore iniziale (tranne per  $K_{m0}$  per cui è stato posta  $SD=25\%$  del valore iniziale). Infine sono stati scartati alcuni campioni iniziali di  $R_d$  in quanto il metodo di stima di tale flusso, produce degli artefatti che si ripercuotono sui dati nei primi minuti.

<b>Parametro</b>	<b>Prediabetici</b>	<b>Diabetici</b>
$V_g$ (dl/kg)	1.88	1.49
$V_{mX}$ (mg/kg/min)	0.047	0.034
$K_{m0}$ (mg/kg)	222.59	466.21
$k_1$ ( $min^{-1}$ )	0.065	0.042
$k_2$ ( $min^{-1}$ )	0.079	0.071
$p_{2U}$ ( $min^{-1}$ )	0.0331	0.0840
$F_{cns}$ (mg/kg/min)	1	1
$k_{e1}$ ( $min^{-1}$ )	0.0005	0.0007
$k_{e2}$ (mg/kg)	339	269

Tabella 4.2: Valori iniziali dei parametri utilizzati per l'identificazione del modello della cinetica, utilizzazione ed escrezione renale del glucosio

Il modello è stato numericamente identificato attraverso lo stimatore MAP implementato in SAAM II. In questo modo è stato possibile ottenere una stima univoca e precisa per solo 16 dei 44 pazienti prediabetici e per 16 dei 28 pazienti diabetici. Per gli altri soggetti è stata aggiunta informazione a priori anche su uno o più dei rimanenti parametri, in particolare su  $p_{2U}$ . Per due pazienti prediabetici è stato inoltre allargato il range di valori del parametro  $V_{mX}$ . In questa maniera si è giunti all'identificazione univoca di 25 pazienti prediabetici e 20 pazienti diabetici. Non si è stati in grado di identificare in maniera soddisfacente una parte sostanziosa di pazienti. Dopo attenta riflessione si è giunti a concludere che tale problema è da imputarsi a diverse concause. In primo luogo, una parte è stata scartata per la presenza di troppo rumore nei dati di EGP o di  $R_d$  (9 pazienti nei prediabetici). In secondo luogo per la difficoltà, da parte del software, di riuscire a fittare in maniera precisa contemporaneamente sia G che  $R_d$ . Tale problema è stato riscontrato principalmente in un gruppo di pazienti specifici: i prediabetici del set Sitagliptin, quindi si potrebbe ipotizzare anche una minor precisione nella raccolta dei dati.

### 4.1.3 Cinetica e secrezione dell'insulina

Il sistema di equazioni (3.18)-(3.29) è stato identificato contemporaneamente dai dati di S ed I dei soggetti prediabetici e diabetici usando le funzioni forzanti (fig. 4.1, riquadro in alto a destra): come ingresso del modello sono stati utilizzati la concentrazione di glucosio nel sangue e la sua variazione di concentrazione, assunte note e senza errore; la secrezione di insulina da parte del pancreas e la sua concentrazione plasmatica sono invece le uscite del modello. L'errore di misura dei dati di S ed I è stato assunto essere a campioni scorrelati, con media nulla e deviazione standard costante ma incognita. L'implementazione in SAAM II del modello compartimentale è presentata in figura 4.4.

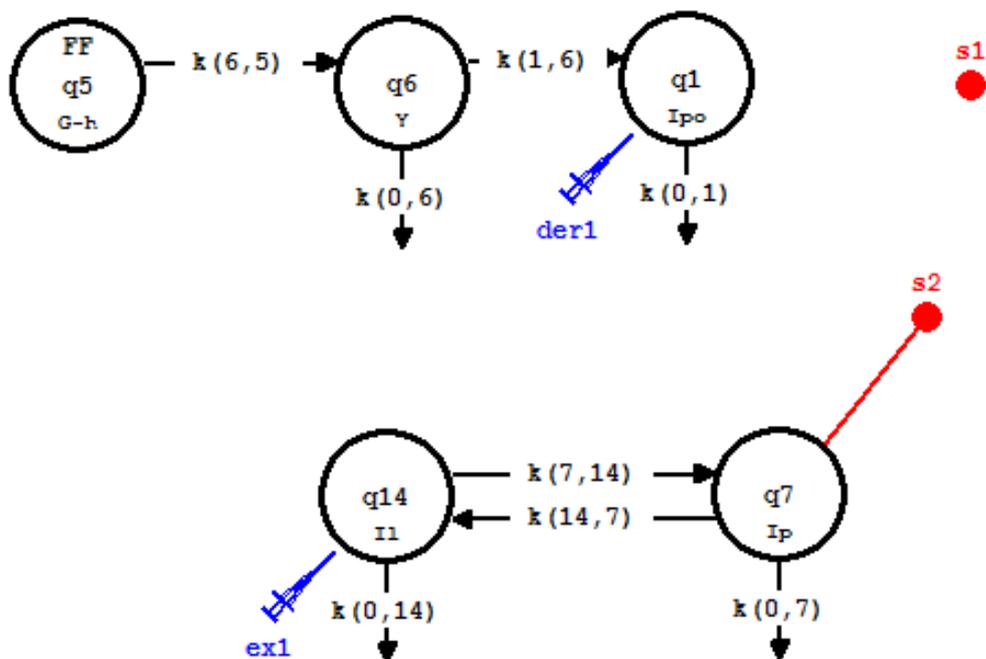


Figura 4.4: Implementazione in SAAM II del modello della secrezione e cinetica dell'insulina

I parametri da stimare sono:  $V_i$ ,  $K$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $m_1$  e  $m_5$ .

I valori iniziali impostati per i parametri sono quelli della tabella 4.3, diversi per i due database. I parametri  $HE_b$  e  $\gamma$  sono stati fissati ai valori riportati sempre in tabelle 4.2. E' stata inoltre utilizzata dell'informazione a priori per il parametro  $V_i$  con media del bayesiano uguale al valore iniziale presente in tabella e deviazione standard pari al 20% del valore iniziale. Il parametro  $h$ , che rappresenta il valore di soglia della concentrazione di glucosio oltre il quale il pancreas inizia a produrre nuova insulina, presente nell'equazione 3.21 è stato inizialmente fissato al glucosio basale  $G_b$ . L'ipotesi  $h=G_b$  è risultata inadeguata in molti soggetti. Infatti spesso il modello presentava una sottostima della secrezione negli ultimi minuti dell'esperimento. In questi casi si è adottata una stima MAP per il parametro  $h$  con media pari a  $G_b$  e deviazione standard pari al 10%.

<b>Parametro</b>	<b>Prediabetici</b>	<b>Diabetici</b>
$V_i$ (l/kg)	0.05	0.04
$K$ (pmol/kg/(mg/dl))	2.30	0.99
$\alpha$ ( $min^{-1}$ )	0.05	0.013
$\beta$ (pmol/kg/min/(mg/dl))	0.11	0.05
$m_1$ ( $min^{-1}$ )	0.190	0.379
$m_5$ ( $min \cdot kg/pmol$ )	0.0304	0.0526
$HE_b$ (adim.)	0.6	0.6
$\gamma$ ( $min^{-1}$ )	0.5	0.5

Tabella 4.3: Valori iniziali dei parametri utilizzati per l'identificazione del modello della secrezione e cinetica dell'insulina

In questo modo è stato possibile ottenere una stima univoca e precisa per solo 17 dei 44 pazienti prediabetici e per 18 dei 28 pazienti diabetici. Per gli altri soggetti è stata aggiunta informazione a priori anche su uno o più dei rimanenti parametri, in particolare su  $m_1$  (per entrambi i database),  $\alpha$  (nei prediabetici) e  $m_5$  (nei diabetici). Per un paziente prediabetico è

stato inoltre allargato il range di valori assumibili per il parametro  $\alpha$ , mentre per due pazienti diabetici è stato allargato il range di valori assumibili per i parametri  $m_1$  ed  $m_5$ . In questa maniera si è giunti all'identificazione univoca di 41 pazienti prediabetici e 26 pazienti diabetici. I rimanenti 3 pazienti prediabetici e 2 pazienti diabetici sono stati scartati per via dell'imprecisione nella predizione, in particolare di I.

#### 4.1.4 Produzione endogena di glucosio

Il sistema di equazioni (3.15)-(3.17) è stato identificato dai dati di EGP dei soggetti prediabetici e diabetici per mezzo delle funzioni forzanti (fig. 4.1, riquadro in basso a destra): gli ingressi del modello sono la concentrazione plasmatica di glucosio e la concentrazione plasmatica di insulina, sono assunti noti e senza errore; la produzione endogena di glucosio è l'uscita del modello. L'errore di misura dei dati di EGP è stato assunto essere a campioni scorrelati, con media nulla e deviazione standard costante ma incognita. L'implementazione in SAAM II del modello compartimentale è presentata in figura 4.5.

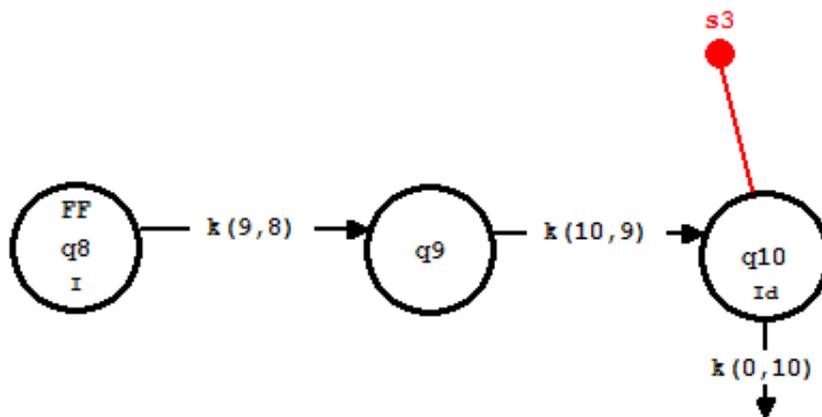


Figura 4.5: Implementazione in SAAM II del modello della produzione endogena di glucosio

I parametri da stimare sono:  $k_{p2}$ ,  $k_{p3}$ ,  $k_{p4}$  e  $k_i$ .

I valori iniziali impostati per i parametri sono quelli della tabella 4.4, diversi per i due database. Non è stata inizialmente aggiunta nessuna informazione a priori.

<b>Parametro</b>	<b>Prediabetici</b>	<b>Diabetici</b>
$k_{p2}$ ( $min^{-1}$ )	0.0021	0.0007
$k_{p3}$ (mg/kg/min/(pmol/l))	0.009	0.005
$k_{p4}$ (mg/kg/min/(pmol/kg))	0.0618	0.0786
$k_i$ ( $min^{-1}$ )	0.0079	0.0066

Tabella 4.4: Valori iniziali dei parametri utilizzati per l'identificazione del modello della produzione endogena del glucosio

Il modello è stato poi numericamente identificato attraverso il metodo dei minimi quadrati non lineari. In questo modo è stato possibile ottenere una stima univoca e precisa per solo 4 dei 28 pazienti diabetici e per nessun paziente prediabetico. Per identificare gli altri soggetti è stato utilizzato lo stimatore MAP fornendo al programma informazione a priori su uno o più parametri, in particolare su  $k_{p2}$ ,  $k_{p3}$  e  $k_i$ . Per due pazienti prediabetici è stato inoltre allargato il range di valori assumibili per il parametro  $k_{p3}$ . In questa maniera si è giunti all'identificazione univoca di 28 pazienti prediabetici e 19 pazienti diabetici. Non si è stati in grado di identificare in maniera soddisfacente una parte sostanziosa di pazienti (circa il 30% di ogni database). Dopo attenta riflessione si è giunti a concludere che tale problema è da imputarsi a diverse concause. In primo luogo, una parte è stata scartata per la presenza di troppo rumore nei dati di EGP (4 pazienti prediabetici e 3 diabetici). In secondo luogo si è notato che diversi tra i pazienti scartati, presentavano una predizione di EGP che non riusciva a seguire l'abbattimento di EGP dopo il pasto, arrivando a raggiungere il minimo, dopo una decina o più di minuti

rispetto ai dati. Questa lentezza nella discesa si è notata tuttavia anche nei soggetti che non sono stati scartati, come si vede dalla figura 5.9. Ciò è stato imputato al fatto che l'insulina portale, estratta dal modello di secrezione e cinetica dell'insulina e qui usata come ingresso, fosse a volte troppo ritardata, oppure pesata poco dal modello dell'EGP.

# Capitolo 5

## Risultati dell'Identificazione

Di seguito, per ogni sottomodello, sono riportati i risultati dell'identificazione, sia per i soggetti prediabetici che per quelli diabetici.

### 5.1 Assorbimento intestinale

Nella tabella 5.1 sono riportati i valori medi finali dei parametri per entrambi i database ed i loro coefficienti di variazione. Come si può notare la stima dei parametri è abbastanza buona per il parametro  $k_{abs}$  (CV < 44%), buona per gli altri parametri (CV < 37%) e particolarmente buona per il parametro  $b$ , con un CV inferiore all'11%. Si vede inoltre come  $k_{max}$  e  $k_{abs}$ , nei soggetti diabetici identificati, siano mediamente molto più elevati rispetto ai parametri di partenza. Per quel che concerne i soggetti prediabetici si nota invece che il valore medio finale del parametro  $c$  è nettamente più elevato del valore di partenza. Questo perché, come avvenuto anche in un lavoro precedente ([5]), si è deciso di allargare l'intervallo di ammissibilità di tale parametro in quanto in molti soggetti, per seguire meglio la parte iniziale di  $R_a$ , il software lo alzava fino a raggiungere il limite superiore imposto a priori.

Nella figura 5.1 sono illustrati i confronti tra la predizione del modello ed i dati sperimentali di  $R_a$  per i soggetti scelti di entrambi i database. Sono inoltre rappresentati i residui pesati che costituiscono una stima dell'errore di predizione. Come si può notare i fit sono molto buoni per entrambi i database; mediamente il picco di  $R_a$  viene seguito bene dal modello, solo nel finale vi è una leggera sottostima dei dati sperimentali. I residui risultano essere scorrelati e per lo più compresi nella fascia  $\pm 1$ .

Nella figura 5.2 sono infine riportate le distribuzioni dei parametri per ognuno dei due database di soggetti. Si può notare come  $k_{max}$  e  $k_{abs}$  nei soggetti prediabetici mostrano una discreta variabilità interindividuale. Si vede inoltre che i parametri  $k_{min}$  e  $c$  risultino avere minore variabilità tranne per alcuni soggetti che presentano dei valori più alti.

	Prediabetici	Diabetici
$k_{max}$	0.0633	0.1168
CV (%)	33	36
$k_{min}$	0.0097	0.0091
CV (%)	34	27
$k_{abs}$	0.0655	0.0624
CV (%)	44	33
b	0.687	0.676
CV (%)	11	10
c	0.184	0.129
CV (%)	32	25

Tabella 5.1: Media dei valori dei parametri stimati per il modello dell'assorbimento intestinale del glucosio per i soggetti prediabetici (database 1) e diabetici (database 2) e relative precisioni (CV = coefficiente di variazione percentuale)

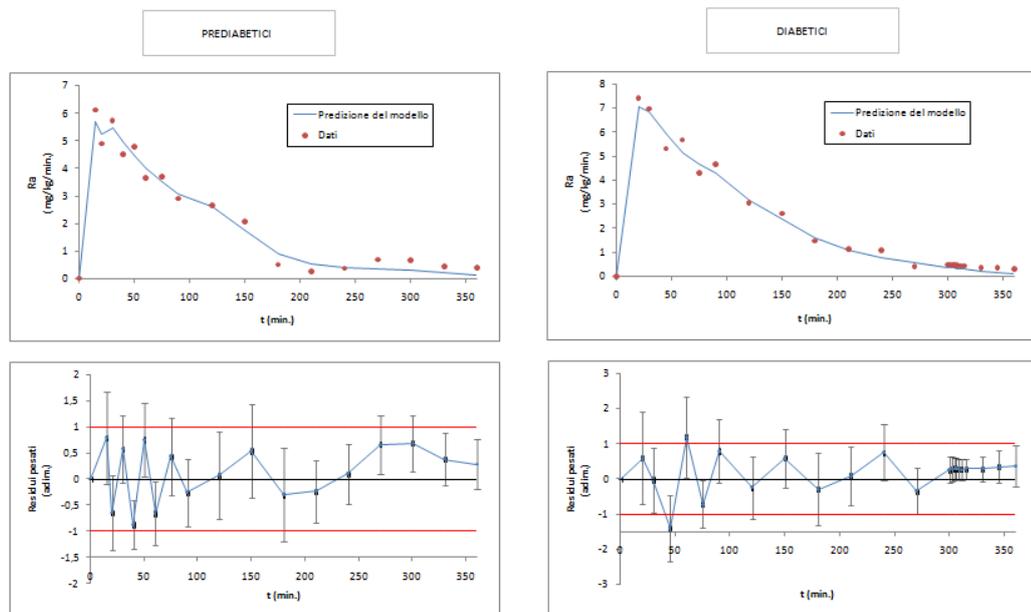


Figura 5.1: Riquadri in alto: confronti tra predizione del modello e dati sperimentali di  $R_a$  per soggetti prediabetici (sinistra) e diabetici (destra); riquadri in basso: residui pesati

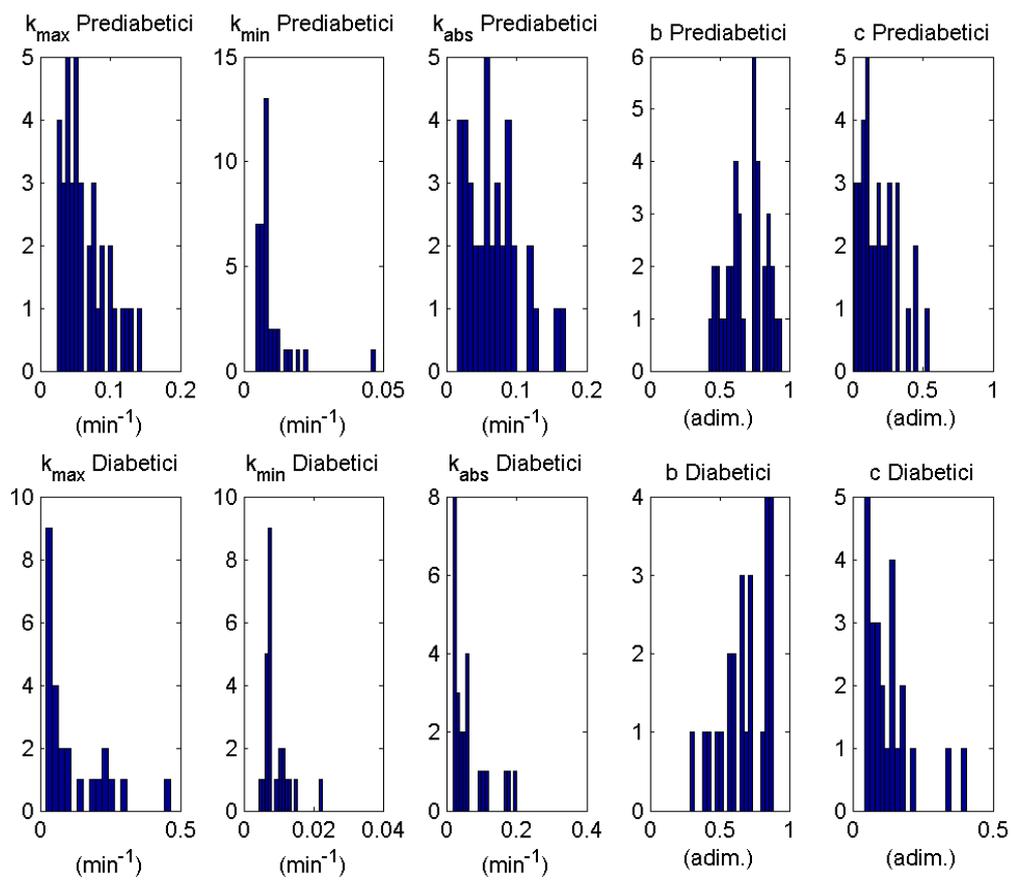


Figura 5.2: Distribuzione dei parametri del modello dell'assorbimento intestinale del glucosio nei soggetti prediabetici (sopra) e diabetici (sotto)

## 5.2 Cinetica ed utilizzazione del glucosio

Per quanto concerne i soggetti identificati, nella tabella 5.2 sono riportati i valori medi dei parametri stimati ed i relativi coefficienti di variazione, per i soggetti di entrambi i database. I parametri sono tutti stati stimati con una buona precisione, con variabilità inferiore al 37% per  $p_{2U}$  nei diabetici ed addirittura inferiore al 24% per tutti gli altri parametri. In particolare,  $V_g$  è stato stimato, mediamente, con una variabilità inferiore al 9%.

Nelle figure 5.3 e 5.4 sono riportati i confronti tra le predizioni del modello ed i dati sperimentali di  $G$  ed  $R_d$ . Si nota che i fit di  $G$  sono mediamente buoni, anche se tendono a sovrastimare leggermente i dati nella parte di discesa della curva. I residui sono sufficientemente scorrelati anche se non risultano essere compresi nell'intervallo  $\pm 1$  nella parte centrale, zona in cui la curva di discesa viene sovrastimata dalla predizione. Ciò è imputabile ad un errore molto piccolo imposto sui dati di Glucosio. Si vede comunque che la deviazione standard dei residui nella parte centrale è abbastanza grande, a indicare differenze individuali abbastanza significative. Il fit di  $R_d$  risulta essere mediamente buono. I residui non presentano lo stesso problema di  $G$  poiché è stato imposto un diverso e più ampio errore di misura; essi sono compresi nella fascia  $\pm 1$  e risultano essere sufficientemente scorrelati.

Nella figura 5.5 sono infine presentate le distribuzioni dei vari parametri. Come si può notare, i valori risultano essere per lo più concentrati, tranne per i parametri  $V_g$  nei diabetici,  $k_1$  nei prediabetici e  $p_{2U}$  che presentano una discreta variabilità interpersonale.

	Prediabetici	Diabetici
$V_g$	0.6296	0.9879
<b>CV (%)</b>	8	9
$V_{mX}$	0.0223	0.0456
<b>CV (%)</b>	15	20
$K_{m0}$	280.209	490.85
<b>CV (%)</b>	22	23
$k_1$	0.1069	0.0709
<b>CV (%)</b>	16	24
$k_2$	0.0573	0.0526
<b>CV (%)</b>	19	22
$p_{2U}$	0.0331	0.0840
<b>CV (%)</b>	21	36

Tabella 5.2: Media dei valori dei parametri stimati del modello della cinetica, utilizzazione ed escrezione renale del glucosio per i soggetti prediabetici (database 1) e diabetici (database 2) e relative precisioni (CV = coefficiente di variazione percentuale)

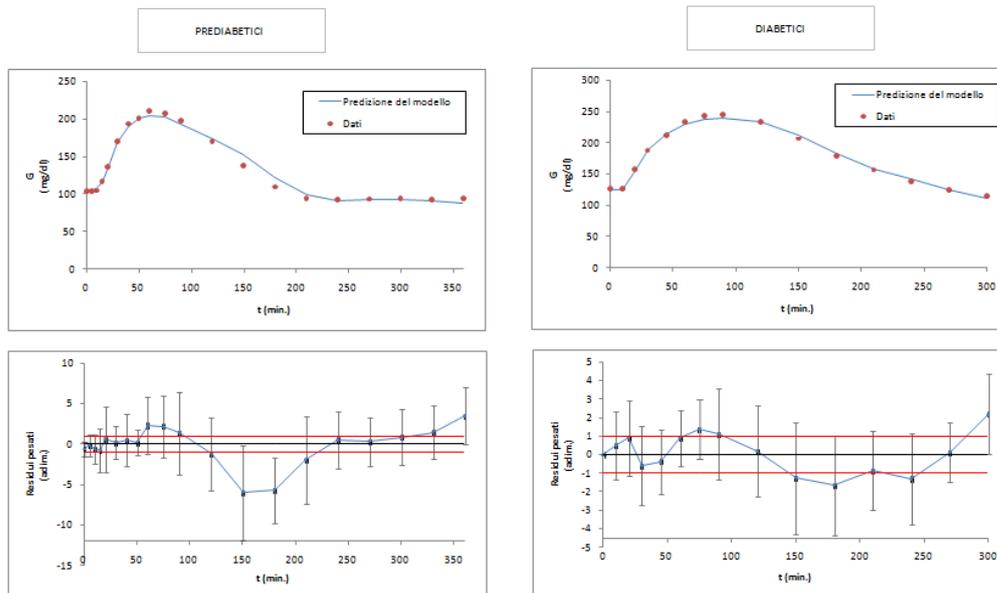


Figura 5.3: Riquadri in alto: confronti tra predizione del modello e dati sperimentali di  $G$  per soggetti prediabetici (sinistra) e diabetici (destra); riquadri in basso: residui pesati

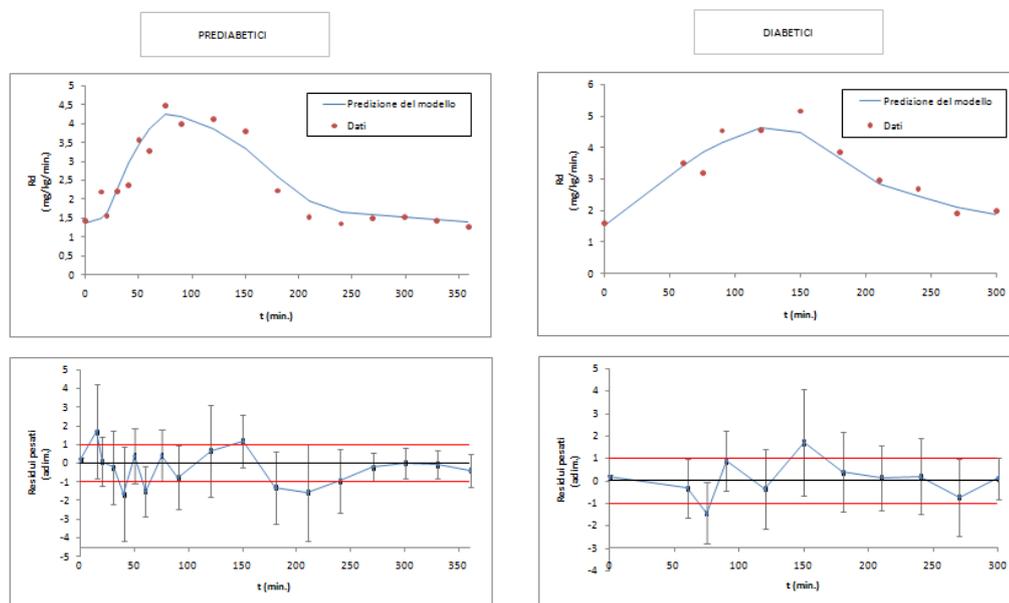


Figura 5.4: Riquadri in alto: confronti tra predizione del modello e dati sperimentali di  $R_d$  per soggetti prediabetici (sinistra) e diabetici (destra); riquadri in basso: residui pesati

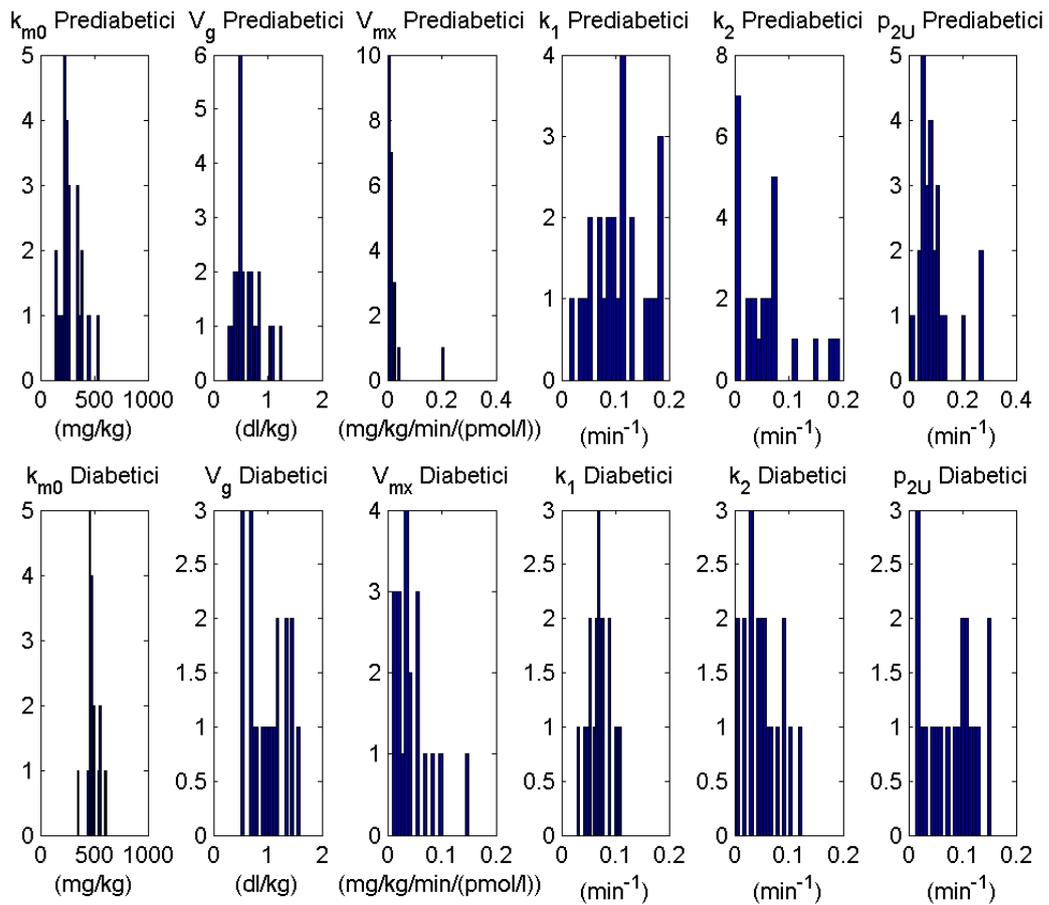


Figura 5.5: Distribuzione dei parametri del modello della cinetica, utilizzazione ed escrezione renale del glucosio nei soggetti prediabetici (sopra) e diabetici (sotto)

### 5.3 Cinetica e secrezione dell'insulina

Nella tabella 5.3 sono riportati i valori medi dei parametri stimati ed i relativi coefficienti di variazione, per i soggetti di entrambi i database. I parametri sono tutti stati stimati con una buona precisione, con coefficiente di variazione inferiore al 38% per  $m_1$  ed addirittura inferiore al 26% per tutti gli altri parametri. In particolare,  $\beta$  è stato stimato, mediamente, con un coefficiente di variazione inferiore al 4% e  $K$  con un coefficiente di variazione inferiore al 7%.

Nelle figure 5.6 e 5.7 sono riportati i confronti tra le predizioni del modello ed i dati sperimentali di  $S$  ed  $I$ . Si nota che i fit di  $S$  sono mediamente buoni, anche se tendono a sovrastimare leggermente i dati nella parte finale dell'esperimento.

I fit di  $I$  risultano essere buoni ed i residui sono scorrelati, a media nulla e per lo più compresi nella fascia  $\pm 1$ .

Nella figura 5.8 sono infine presentate le distribuzioni dei vari parametri. I valori risultano avere per lo più poca variabilità, escluso qualche valore, tranne per i parametri  $m_5$  in entrambi i database e  $\alpha$  nei diabetici. I valori di questi parametri presentano una discreta variabilità interpersonale.

	<b>Prediabetici</b>	<b>Diabetici</b>
$V_i$	0.0436	0.0392
<b>CV (%)</b>	23	22
$K$	2.0497	2.0337
<b>CV (%)</b>	5	7
$\alpha$	0.0769	0.0539
<b>CV (%)</b>	8	12
$\beta$	0.1199	0.0735
<b>CV (%)</b>	3	3
$m_1$	0.2323	0.0958
<b>CV (%)</b>	34	38
$m_5$	0.0222	0.0165
<b>CV (%)</b>	10	25

Tabella 5.3: Media dei valori dei parametri stimati del modello della secrezione e della cinetica dell'insulina per i soggetti prediabetici (database 1) e diabetici (database 2) e relative precisioni (CV = coefficiente di variazione percentuale)

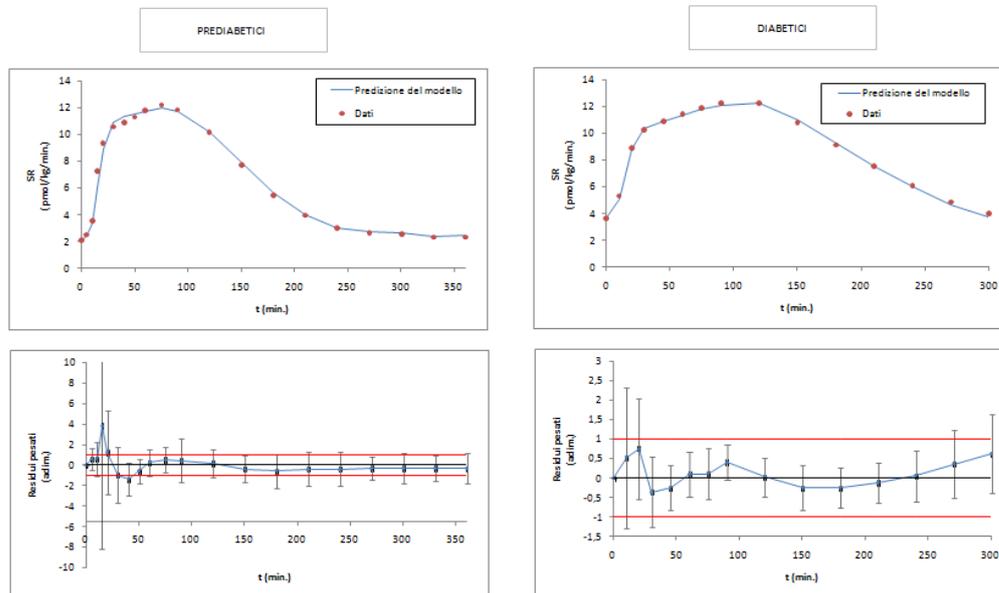


Figura 5.6: Riquadri in alto: confronti tra predizione del modello e dati sperimentali di S per soggetti prediabetici (sinistra) e diabetici (destra); riquadri in basso: residui pesati

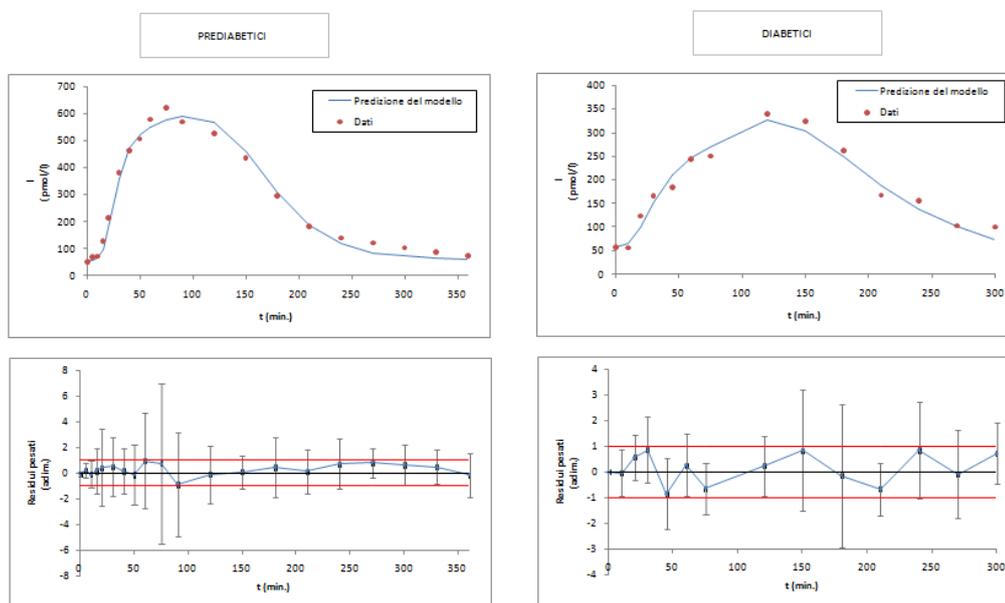


Figura 5.7: Riquadri in alto: confronti tra predizione del modello e dati sperimentali di I per soggetti prediabetici (sinistra) e diabetici (destra); riquadri in basso: residui pesati

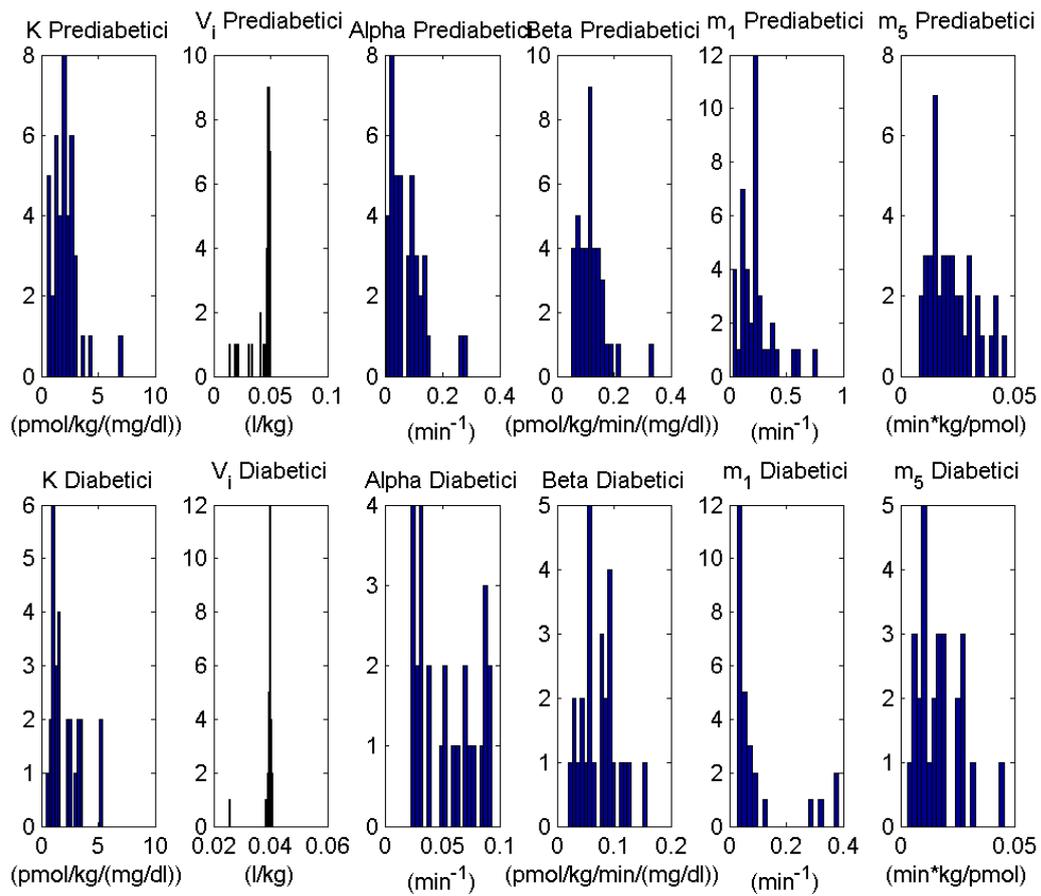


Figura 5.8: Distribuzione dei parametri del modello della secrezione e della cinetica dell'insulina nei soggetti prediabetici (sopra) e diabetici (sotto)

## 5.4 Produzione endogena di glucosio

Nella tabella 5.4 sono riportati i valori medi dei parametri stimati ed i relativi coefficienti di variazione, per i soggetti di entrambi i database. I parametri sono tutti stati stimati con coefficiente di variazione inferiore al 57%. I parametri stimati in maniera più precisa sono i  $k_{p4}$  di entrambi i database (incertezza inferiore al 23%).

Nella figura 5.9 sono illustrati i confronti tra la predizione del modello ed i dati sperimentali di EGP per i soggetti scelti di entrambi i database. Come già detto in precedenza le predizioni del modello faticano a seguire la discesa rapida dei dati nella prima parte, sovrastimando mediamente i dati sperimentali; non vi sono problemi per quanto concerne la parte centrale e quella finale del fit. I residui risultano essere sufficientemente scorrelati e per lo più compresi nella fascia  $\pm 1$  nella parte centrale ed in quella finale; nella parte iniziale invece si vede che tendono a rimanere mediamente nella fascia negativa (0,-1) ed anche osservando la deviazione standard sui residui si vede che tendono a non esserci valori nella fascia positiva (0,+1) nella parte iniziale.

Nella figura 5.10 sono infine presentate le distribuzioni dei vari parametri. I valori risultano avere poca variabilità, soprattutto per quanto concerne  $k_{p3}$  nei diabetici e  $k_i$ , tuttavia si nota la presenza di alcuni valori lontani dalla media;  $k_{p2}$  invece sono poco variabili perché esso è risultato essere il parametro a cui più spesso è stata aggiunta informazione a priori con lo stimatore MAP (27 prediabetici su un totale di 28 identificati e 13 diabetici su un totale di 19 identificati).

	<b>Prediabetici</b>	<b>Diabetici</b>
$k_{p2}$	0.0021	0.0019
<b>CV (%)</b>	51.546	54.061
$k_{p3}$	0.0052	0.0114
<b>CV (%)</b>	38.195	56.016
$k_{p4}$	0.0465	0.0651
<b>CV (%)</b>	15.694	22.179
$k_i$	0.0081	0.0087
<b>CV (%)</b>	41.854	22.179

Tabella 5.4: Media dei valori dei parametri stimati del modello della produzione endogena di glucosio per i soggetti prediabetici (database 1) e diabetici (database 2) e relative precisioni (CV = coefficiente di variazione)

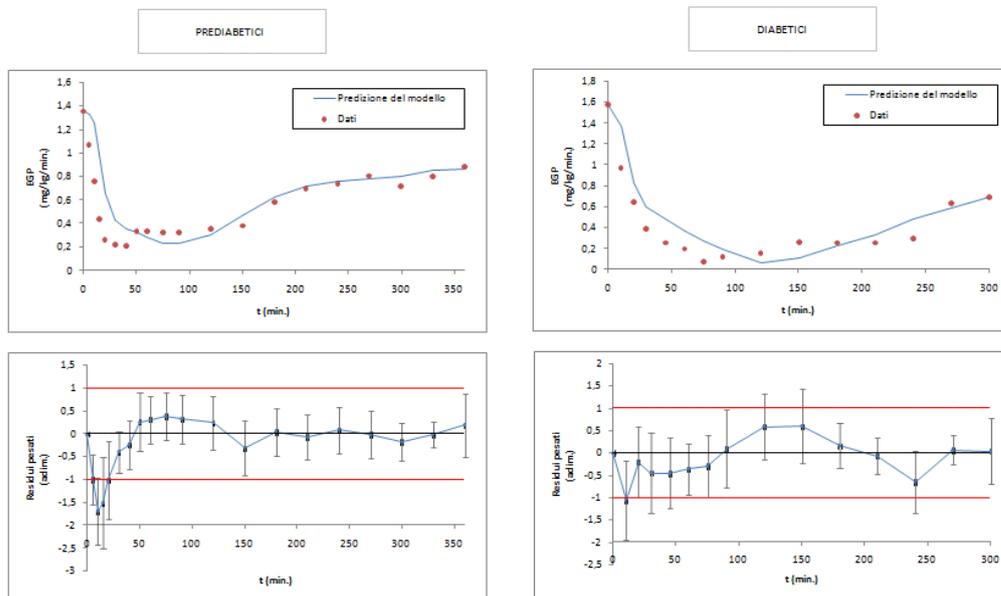


Figura 5.9: Riquadri in alto: confronti tra predizione del modello e dati sperimentali di EGP per soggetti prediabetici (sinistra) e diabetici (destra); riquadri in basso: residui pesati

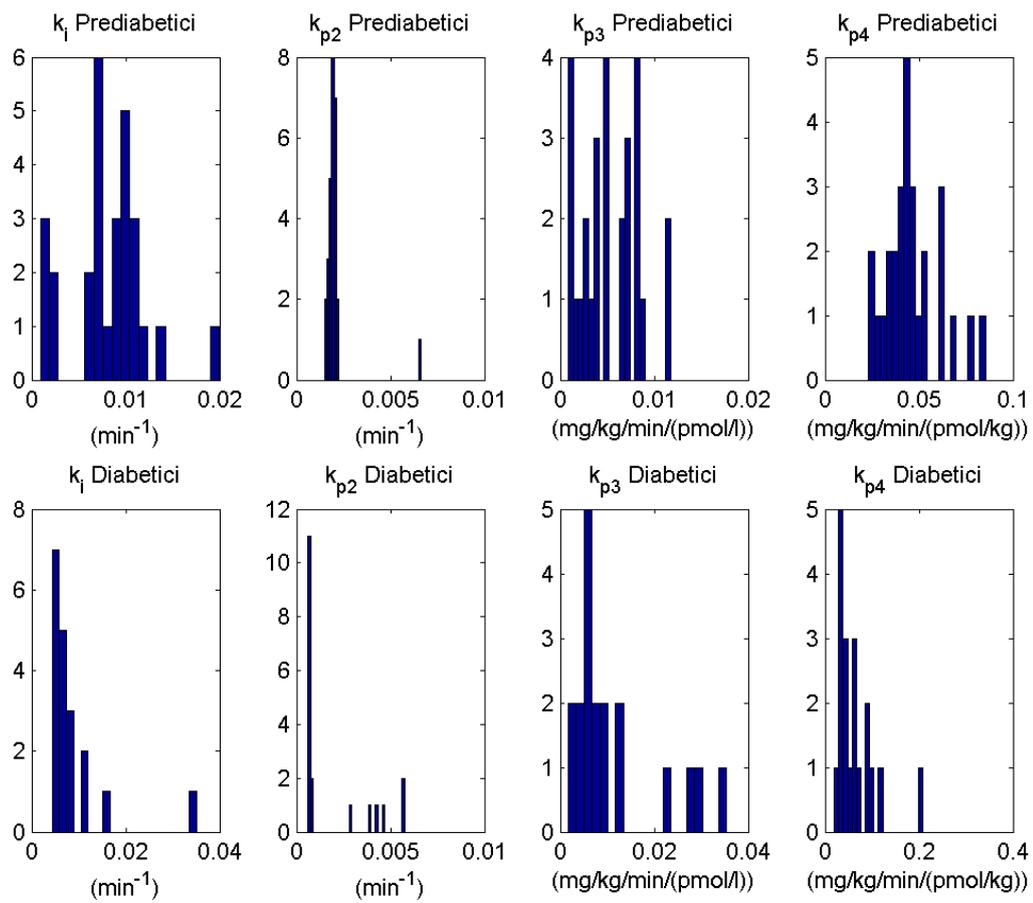


Figura 5.10: Distribuzione dei parametri del modello della produzione endogena di glucosio nei soggetti prediabetici (sopra) e diabetici (sotto)



# Capitolo 6

## Simulazioni

### 6.1 Generazione dei pazienti virtuali

Nei capitoli 4 e 5 si sono descritte le tecniche utilizzate ed i risultati ottenuti nell'identificazione del modello del sistema glucosio-insulina di ogni singolo soggetto dei due database utilizzati. Dall'identificazione, per ogni paziente, si è ottenuto il vettore  $p = [k_{abs}, k_{max}, k_{min}, b, c, k_{max}, k_i, k_{p2}, k_{p3}, k_{p4}, V_G, V_{mX}, K_{m0}, k_2, k_1, p_{2U}, V_I, K, \beta, \alpha, m_1, m_5, G_b, EGP_b, BW, I_b, SR_b]$  di 26 parametri. Per alcuni soggetti non è stato possibile ricavare il vettore completo in quanto i risultati delle identificazioni di uno o più dei quattro sottomodelli non erano soddisfacenti. I soggetti incompleti sono stati inseriti comunque nel database, lasciando indeterminati gli spazi relativi ai parametri non identificati.

I risultati ottenuti sono poi stati uniti a quelli ottenuti da un altro lavoro precedente [5], per migliorare la stima delle distribuzioni congiunte dei parametri per i soggetti prediabetici e per quelli diabetici. Tale distribuzione descrive la variabilità inter-individuale dei parametri e permette di generare dei soggetti virtuali che rispecchino, in maniera accurata, la variabilità osservata nella popolazione.

Infatti, il vettore dei parametri del modello può essere considerato un

vettore aleatorio con distribuzione congiunta log-normale. Questa scelta garantisce la positività di tutti i parametri del modello in ogni soggetto virtuale. La distribuzione congiunta così ottenuta è la seguente:

$$f(\mathbf{p}) = LN(\boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\Sigma}) \quad (6.1)$$

con

$$\boldsymbol{\mu} = \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \vdots \\ \mu_{26} \end{bmatrix} \quad (6.2)$$

vettore delle medie ( $26 \times 1$ ), ottenuto dai parametri log-trasformati (è stato cioè calcolato il loro logaritmo naturale utilizzando la funzione *log.m* implementata in MATLAB) tramite la funzione *nanmean.m*<sup>1</sup> implementata in MATLAB, e con

$$\boldsymbol{\Sigma} = \begin{bmatrix} \sigma_{1,1}^2 & \sigma_{1,2}^2 & \dots & \sigma_{1,26}^2 \\ \sigma_{1,1}^2 & \sigma_{1,2}^2 & \dots & \vdots \\ \dots & \dots & \ddots & \vdots \\ \sigma_{26,1}^2 & \sigma_{26,2}^2 & \dots & \sigma_{26,26}^2 \end{bmatrix} \quad (6.3)$$

matrice di covarianza ( $26 \times 26$ ), simmetrica ( $\sigma_{i,j}^2 = \sigma_{j,i}^2$  per  $i \neq j$ ) e semi-definita positiva, ottenuta, tramite la funzione *nancov.m*<sup>2</sup>, implementata in MATLAB, dai parametri log-trasformati. I valori lungo la diagonale principale ( $\sigma_{ii}^2$ ) rappresentano la varianza di ognuno dei 26 parametri (log-trasformati), mentre gli altri elementi  $\sigma_{ij}^2$  ( $i \neq j$ ) sono le covarianze tra elemento  $i$ -esimo ed elemento  $j$ -esimo. Il valore di ogni elemento della matrice è calcolato

---

<sup>1</sup>La funzione *nanmean.m*, al pari della funzione *mean.m*, calcola la media del vettore inserito, considerando però i valori NaN come valori mancanti.

<sup>2</sup>Come per la funzione *nanmean.m*, anche la funzione *nancov* calcola la matrice di covarianza considerando i valori NaN come valori mancanti

secondo l'equazione:

$$\sigma_{ij}^2 = \sum_{h=1}^n \frac{[(x_{h,i} - \mu_i) \cdot (x_{h,j} - \mu_j)]}{n - 1} \quad (6.4)$$

dove  $n$  è il numero dei soggetti analizzati,  $\mu$  è il vettore delle medie di ciascun parametro e  $x$  è il vettore contenente i parametri di uno specifico soggetto generato.

Grazie all'ipotesi di log-normalità,  $\mu$  e  $\Sigma$  descrivono completamente la distribuzione congiunta dei parametri del modello  $f(p) = LN(\mu, \Sigma)$ , da cui è possibile generare un numero qualsiasi di pazienti virtuali, rappresentati ognuno da un vettore  $LN(p)$ . Tale operazione è stata realizzata tramite la funzione MATLAB *mvnrnd.m* che, dato vettore media e la matrice di covarianza di una distribuzione normale, genera dei vettori casuali estratti dalla distribuzione. I vettori di parametri così generati sono stati poi antilog-trasformati per realizzare così i vettori  $p$  ricercati.

Attraverso tale procedura, a partire dalle rispettive distribuzioni congiunte dei parametri, sono stati generati 100 pazienti prediabetici e 100 pazienti diabetici.

Nelle tabelle 6.1 e 6.2 sono riportate le medie e deviazioni standard dei valori dei 26 parametri rispettivamente per i prediabetici e diabetici generati per la simulazione. Sono inoltre riportati in tabella, per ogni parametro, i valori massimo e minimo.

Prediabetici			
<b>Parametro</b>	<b>Media±SD</b>	<b>Valore min</b>	<b>Valore max</b>
$k_{max}$ ( $min^{-1}$ )	0.0465±0.0227	0.0163	0.1337
$k_{min}$ ( $min^{-1}$ )	0.0098±0.0039	0.0036	0.0254
$k_{abs}$ ( $min^{-1}$ )	0.0751±0.0376	0.0168	0.1889
$b$ (adim.)	0.6868±0.1394	0.4296	1.0452
$c$ (adim.)	0.1070±0.0664	0.0219	0.3697
$V_g$ (dl/kg)	1.0802±0.5327	0.260	2.7669
$V_{mx}$ (mg/kg/min/(pmol/l))	0.0338±0.0314	0.0040	0.1812
$k_{m0}$ (mg/kg)	245.6434±58.3618	136.1436	423.7625
$K_1$ ( $min^{-1}$ )	0.0959±0.0299	0.0480	0.1767
$K_2$ ( $min^{-1}$ )	0.0843±0.1228	0.0071	1.0368
$p_{2U}$ ( $min^{-1}$ )	0.0692±0.0347	0.0222	0.2319
$V_i$ (l/kg)	0.0470±0.0080	0.0289	0.0709
$K$ (pmol/kg/(mg/dl))	2.3075±0.9839	0.7882	6.614
$\alpha$ ( $min^{-1}$ )	0.0603±0.0354	0.0086	0.213
$\beta$ (pmol/kg/min/(mg/dl))	0.1185±0.0391	0.0467	0.2431
$m_1$ ( $min^{-1}$ )	0.1933±0.0878	0.0412	0.5138
$m_5$ (min·kg/pmol)	0.0254±0.0155	0.0051	0.0931
$k_{p2}$ ( $min^{-1}$ )	0.0035±0.0017	0.0012	0.0106
$k_{p3}$ (mg/kg/min/(pmol/l))	0.0066±0.0056	0.0006	0.0297
$k_{p4}$ (mg/kg/min/(pmol/kg))	0.0377±0.0208	0.0079	0.1089
$k_i$ ( $min^{-1}$ )	0.0084±0.0037	0.0027	0.0251
$G_b$ (mg/dl)	100.6954±9.1471	78.3713	129.1294
$EGP_b$ (mg/kg/min)	1.3107±0.2042	0.7360	2.1123
$BW$ (kg)	95.4192±21.8441	52.9962	164.1925
$I_b$ (pmol/l)	47.8120±28.6107	7.111	138.0688
$SR_b$ (pmol/kg/min)	1.7313±0.5799	0.6969	4.0096

Tabella 6.1: Media±SD, minimo e massimo dei valori dei parametri dei 100 soggetti prediabetici generati

Diabetici			
<b>Parametro</b>	<b>Media±SD</b>	<b>Valore min</b>	<b>Valore max</b>
$k_{max}$ ( $min^{-1}$ )	0.0781±0.0605	0.0113	0.3476
$k_{min}$ ( $min^{-1}$ )	0.0088±0.0042	0.0024	0.0337
$k_{abs}$ ( $min^{-1}$ )	0.0612±0.0395	0.0116	0.257
$b$ (adim.)	0.6708±0.1404	0.4006	1.0573
$c$ (adim.)	0.1204±0.1018	0.0325	0.677
$V_g$ (dl/kg)	1.0759±0.4072	0.4929	2.394
$V_{mx}$ (mg/kg/min/(pmol/l))	0.0425±0.0362	0.0059	0.2076
$k_{m0}$ (mg/kg)	420.3592±152.4902	184.8797	873.7948
$K_1$ ( $min^{-1}$ )	0.0678±0.0335	0.0146	0.1794
$K_2$ ( $min^{-1}$ )	0.0695±0.1389	0.0054	1.1093
$p_{2U}$ ( $min^{-1}$ )	0.0689±0.0638	0.0073	0.4105
$V_i$ (l/kg)	0.0412±0.0051	0.0309	0.0533
$K$ (pmol/kg/(mg/dl))	1.6227±1.0289	0.3514	7.6465
$\alpha$ ( $min^{-1}$ )	0.0435±0.0415	0.0038	0.3259
$\beta$ (pmol/kg/min/(mg/dl))	0.0728±0.0407	0.0166	0.303
$m_1$ ( $min^{-1}$ )	0.1155±0.0828	0.0089	0.4382
$m_5$ (min·kg/pmol)	0.0272±0.0205	0.0036	0.103
$k_{p2}$ ( $min^{-1}$ )	0.0019±0.0016	0.0001	0.0078
$k_{p3}$ (mg/kg/min/(pmol/l))	0.0079±0.0052	0.0018	0.0369
$k_{p4}$ (mg/kg/min/(pmol/kg))	0.0591±0.03327	0.0138	0.1731
$k_i$ ( $min^{-1}$ )	0.0080±0.0034	0.002	0.018
$G_b$ (mg/dl)	138.7126±32.6706	73.5205	251.3495
$EGP_b$ (mg/kg/min)	1.6588±0.3996	0.8776	2.9216
$BW$ (kg)	94.3360±16.4641	58.8579	157.8646
$I_b$ (pmol/l)	55.7784±30.7250	9.761	161.1679
$SR_b$ (pmol/kg/min)	3.4800±1.7829	1.2235	13.8115

Tabella 6.2: Media±SD, minimo e massimo dei valori dei parametri dei 100 soggetti diabetici generati

Le figure 6.1-6.8 confrontano le distribuzioni dei parametri dei soggetti simulati (prediabetici e diabetici) con quelle dei soggetti stimati. Le distribuzioni dei parametri simulati rispecchiano bene quelle dei soggetti reali, salvo in alcuni casi ( $k_1$  e  $c$  nei prediabetici,  $k_{max}$ ,  $k_i$  e  $V_g$  nei diabetici,  $k_{p3}$  e  $p_{2U}$  in entrambi) in cui i parametri reali hanno una variabilità maggiore rispetto a quelli simulati. Questo risultato può essere dovuto anche al fatto che la numerosità dei database usati per l'identificazione è relativamente modesta e la stima della distribuzione log-normale risulta meno accurata.

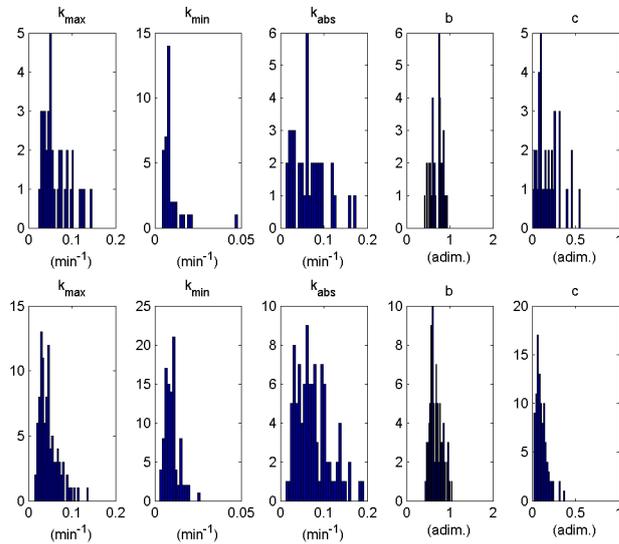


Figura 6.1: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello dell'assorbimento intestinale nei soggetti prediabetici

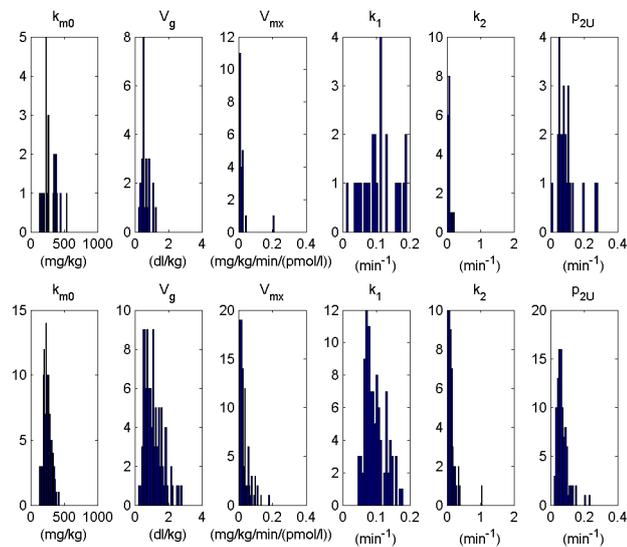


Figura 6.2: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello della cinetica, utilizzazione ed escrezione renale di glucosio nei soggetti prediabetici

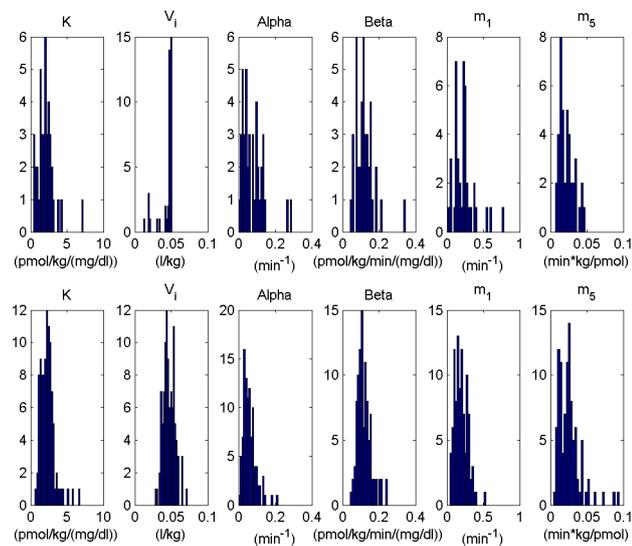


Figura 6.3: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello della secrezione e cinetica dell'insulina nei soggetti prediabetici

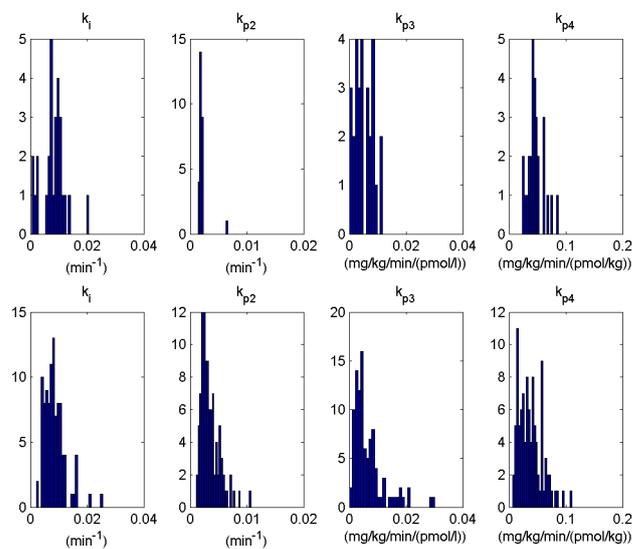


Figura 6.4: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello della produzione endogena di glucosio nei soggetti prediabetici

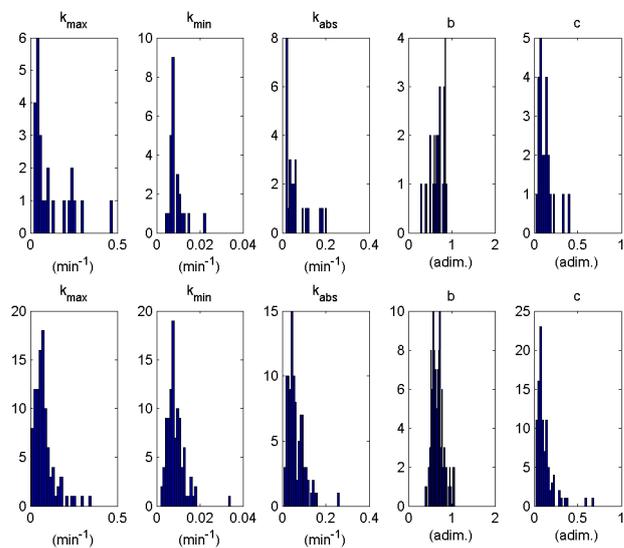


Figura 6.5: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello dell'assorbimento intestinale nei soggetti diabetici

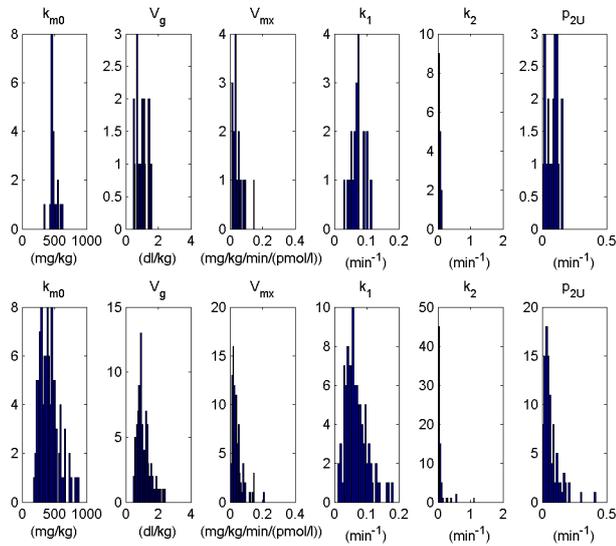


Figura 6.6: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello della cinetica, utilizzazione ed escrezione renale di glucosio nei soggetti diabetici

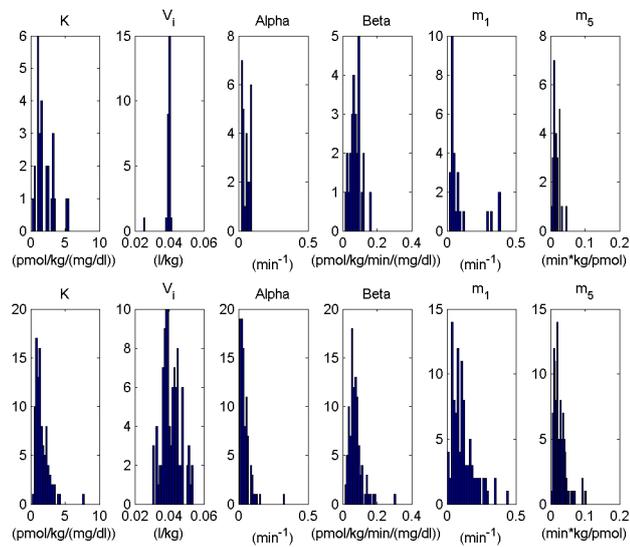


Figura 6.7: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello della secrezione e cinetica dell'insulina nei soggetti diabetici

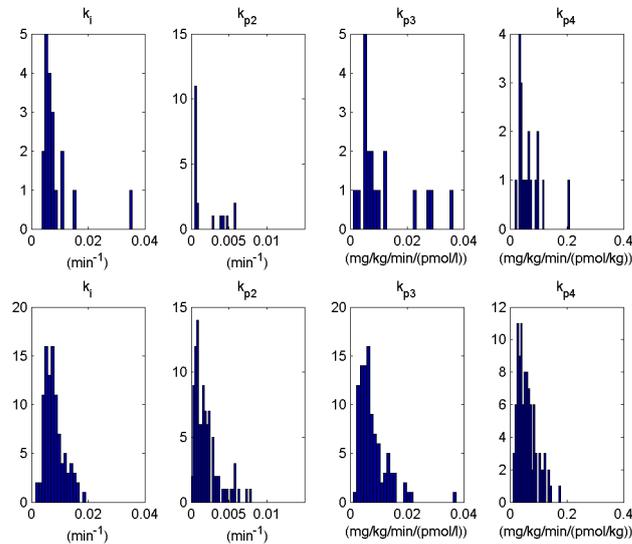


Figura 6.8: Confronto tra distribuzioni stimate (sopra) e simulate (sotto) di parametri del modello della produzione endogena di glucosio nei soggetti diabetici

## 6.2 Il simulatore del sistema glucosio-insulina nel prediabete e diabete di tipo 2

Una volta generati i soggetti virtuali, è stato realizzato in ambiente MATLAB il codice che realizza il simulatore. Il simulatore permette di impostare la durata dell'esperimento (anche di più giorni) e, per ogni giorno, generare fino a tre pasti decidendone i tempi di occorrenza e la dose di glucosio ingerita.

Il simulatore consta principalmente di 3 file *.m*, 1 file *.mdl* e 2 file *.mat*: il file *simula\_soggetti.m* che inizializza le variabili e gli indici di interesse e compie la simulazione, il file *paziente.m* che carica per ogni soggetto i parametri generati ed i vincoli di stato stazionario contenuti in *pazienti\_prediabetici.mat* o *pazienti\_diabetici.mat*, il file *equazioni.m* dove sono contenute le equazioni del modello del sistema glucosio-insulina e il file simulink *simulatore.mdl*, in

cui è stato modellato il simulatore, tramite schema a blocchi.

Una volta completate le simulazioni, tutte le concentrazioni ed i flussi vengono salvati automaticamente nel file *results.mat*.

### 6.3 Singolo pasto

Per testare e validare il simulatore si è scelto di svolgere, come prima simulazione, quella di un singolo pasto con lo stesso contenuto di carboidrati degli esperimenti reali, descritti nel capitolo 2, e confrontare i profili di glucosio, insulina e flussi simulati con i dati reali. Il simulatore è stato quindi impostato per simulare, a partire dallo stato basale, i processi fisiologici del sistema glucosio-insulina che avvengono nelle prime ore successive all'ingestione di un pasto standard, composto da 75 g di glucosio.

I risultati sono stati quindi confrontati con quelli dei soggetti reali presentati nel capitolo 5. Nelle figure 6.9-6.12 sono riportati i confronti tra mediane e range di variabilità (5-95 percentili) delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina.

La mediana e la variabilità dei profili di glucosio ed insulina dei pazienti virtuali simulati riproducono in modo soddisfacente mediana e variabilità dei dati di glucosio ed insulina e flussi dei soggetti reali sottoposti all'esperimento descritto nel capitolo 2, sia nei soggetti prediabetici che in quelli diabetici

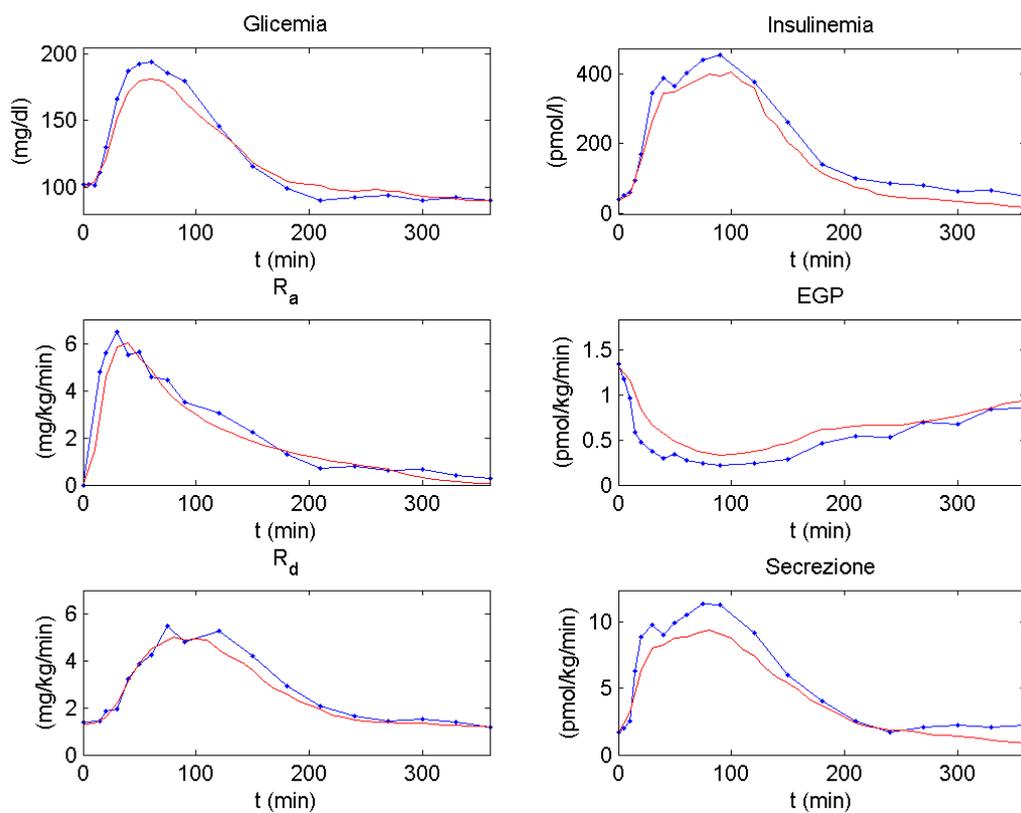


Figura 6.9: Mediane delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina dopo un singolo pasto dei 100 soggetti prediabatici simulati (in rosso) vs dati misurati (in blu)

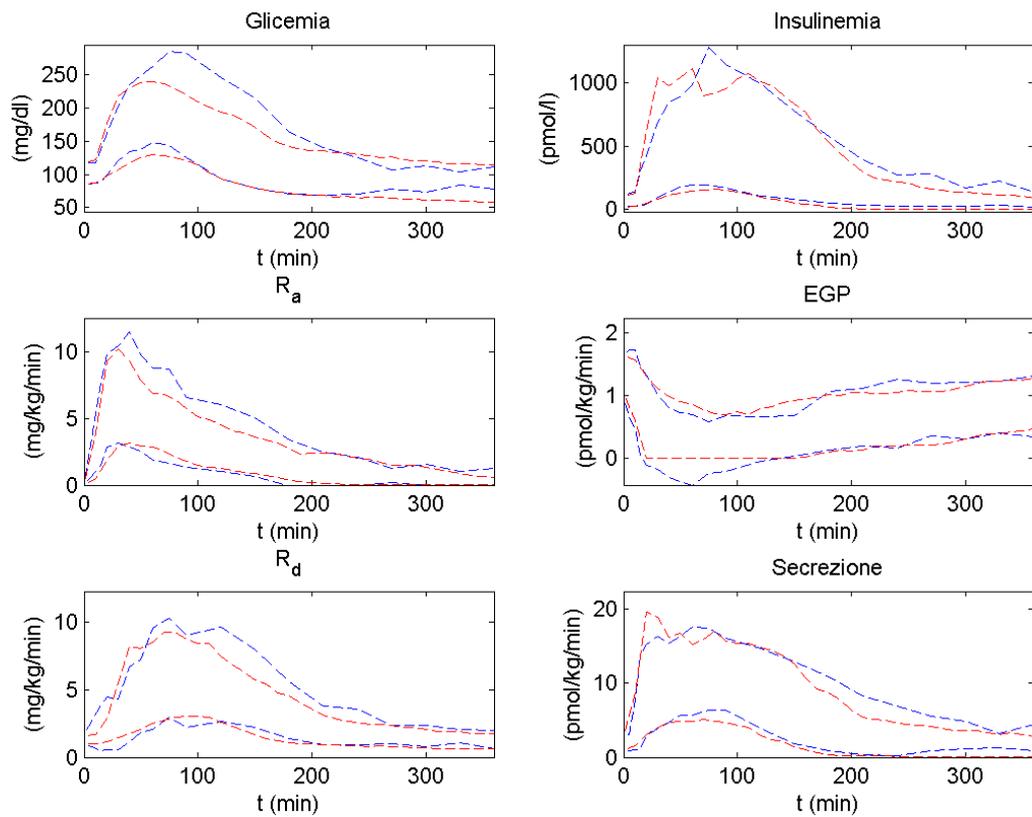


Figura 6.10: Range (5-95 percentile) delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina dopo un singolo pasto dei 100 soggetti prediabetici simulati (in rosso) vs dati misurati (in blu)

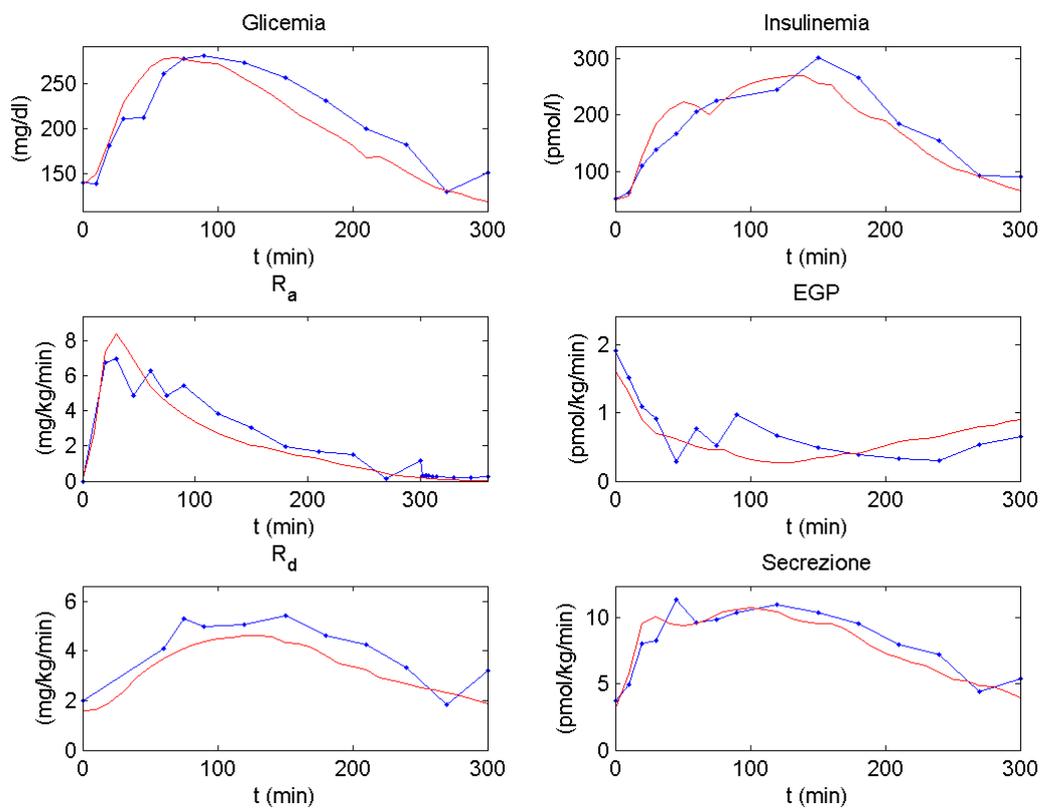


Figura 6.11: Mediane delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina dopo un singolo pasto dei 100 soggetti diabetici simulati (in rosso) vs dati misurati (in blu)

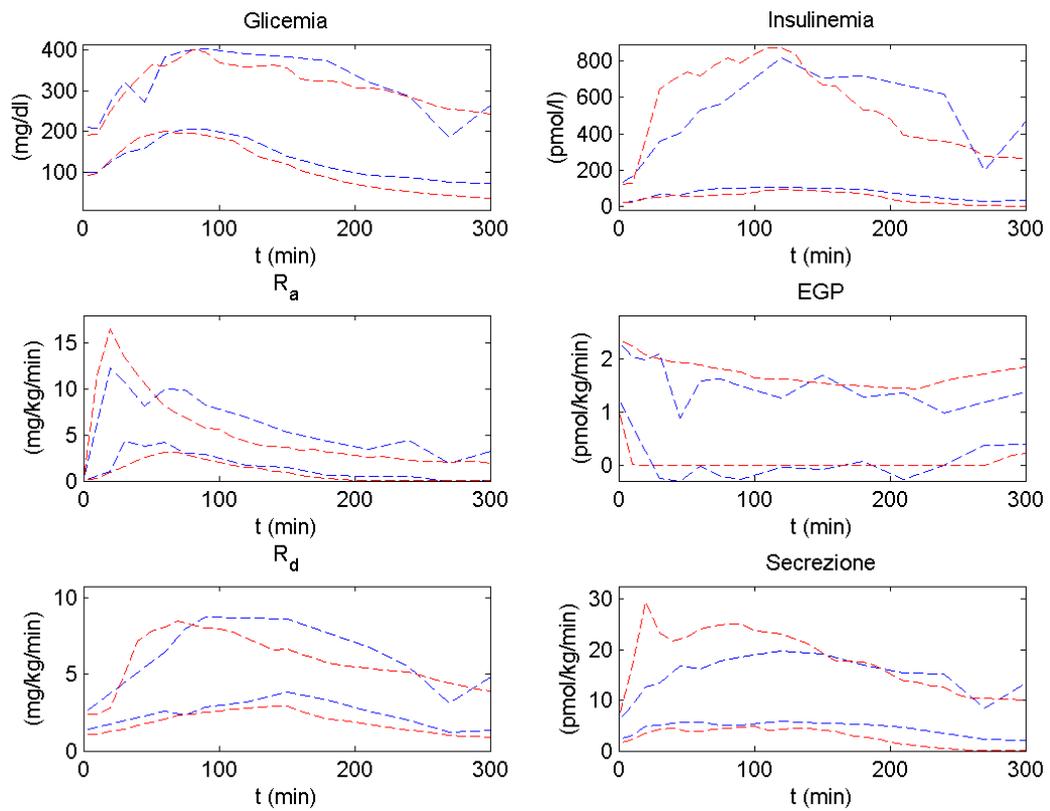


Figura 6.12: Range (5-95 percentile) delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina dopo un singolo pasto dei 100 soggetti diabetici simulati (in rosso) vs dati misurati (in blu)

## 6.4 24 Ore

Il simulatore del sistema glucosio-insulina è stato utilizzato per simulare una intera giornata (24 ore), composta da tre pasti:

- colazione alle ore 9.30, con assunzione di 45 g di glucosio;
- pranzo alle ore 13.30, con assunzione di 75 g di glucosio;
- cena alle ore 19.30, con assunzione di 85 g di glucosio.

Nelle figure 6.13 e 6.14 sono riportati i profili mediani e i range (5-95 percentile) delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina ottenuti per i soggetti prediabetici e per quelli diabetici.

Dai grafici emergono diversi aspetti degni di nota riguardo le differenze tra le concentrazioni ed i flussi di glucosio ed insulina nei soggetti diabetici ed in quelli prediabetici.

In primo luogo si può notare come le concentrazioni di glucosio in stato basale siano più elevate nei soggetti diabetici; inoltre, subito dopo i pasti i profili raggiungono picchi di gran lunga più elevati rispetto ai soggetti prediabetici.

Per quel che concerne l'insulinemia, i picchi postprandiali di insulina nei soggetti diabetici sono più bassi rispetto a quelli dei prediabetici, il picco è leggermente in ritardo e hanno un tempo di ritorno ai valori basali più lento.

La velocità di comparsa del glucosio nel sangue segue un andamento molto simile in entrambi i set di soggetti virtuali, tuttavia si nota come nei soggetti diabetici, i picchi di  $R_a$  siano leggermente più elevati.

La produzione endogena di glucosio nei diabetici assume valori basali più elevati rispetto ai soggetti prediabetici.

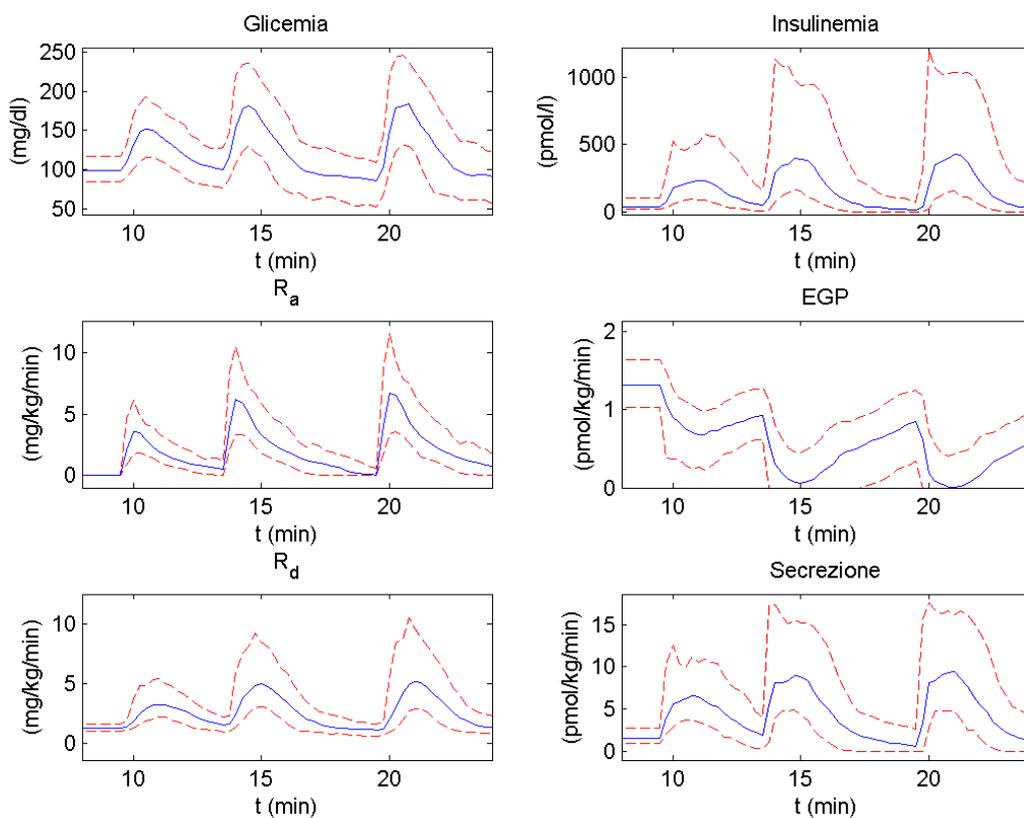


Figura 6.13: Concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata in 100 soggetti prediabetici. I dati sono riportati come mediana (linea continua blu) e 5-95 percentili (linee tratteggiate rosse)

La velocità di scomparsa del glucosio nel sangue assume, nei diabetici, valori basali leggermente più elevati rispetto ai prediabetici. L' $R_d$  postprandiale dei soggetti diabetici raggiunge tuttavia picchi più bassi, specialmente nell'ultimo pasto della giornata, e presenta una ridiscesa verso i valori basali più lenta rispetto a quella dei soggetti prediabetici.

Il flusso di secrezione di insulina allo stato basale è più elevato nei soggetti diabetici, esso però ha una risposta più lenta allo stimolo del pasto, il picco di secrezione risulta essere quindi ritardato rispetto a quello dei soggetti prediabetici.

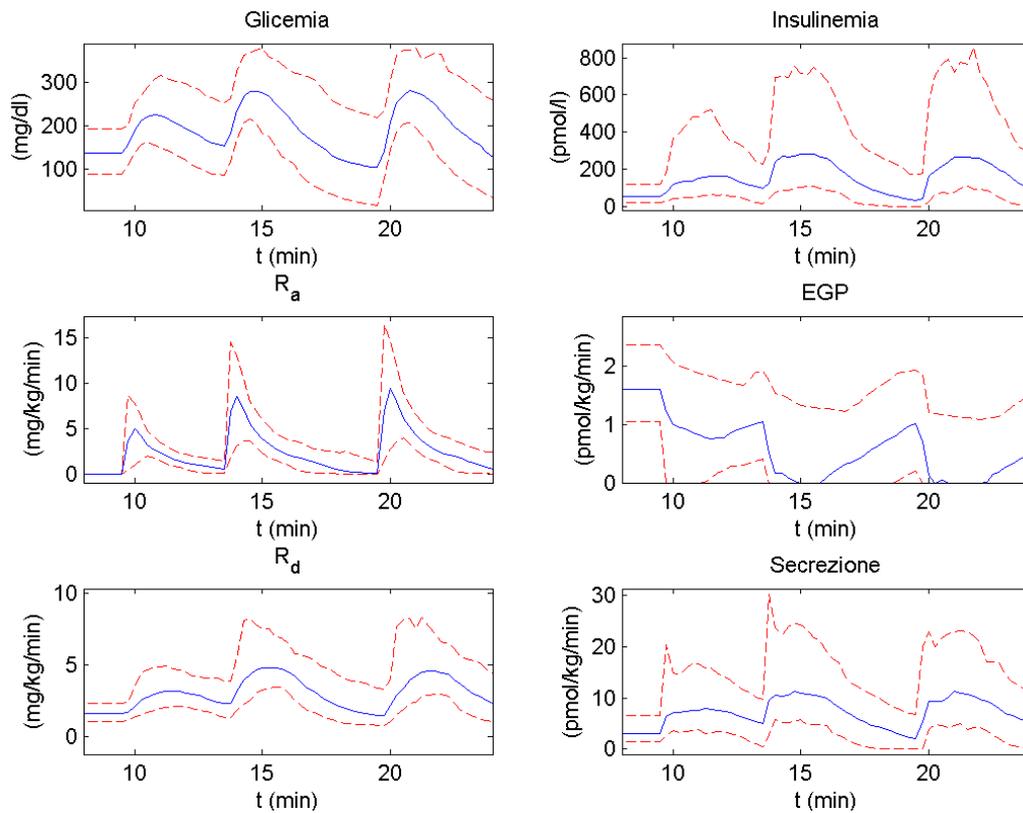


Figura 6.14: Concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata in 100 soggetti diabetici. I dati sono riportati come mediana (linea continua blu) e 5-95 percentili (linee tratteggiate rosse)

La simulazione dell'andamento di concentrazioni e flussi di glucosio per l'arco di un'intera giornata, è molto importante per lo studio dei meccanismi fisiologici e patologici del diabete, poiché permette l'osservazione del sistema glucosio-insulina con una finestra temporale ampia.

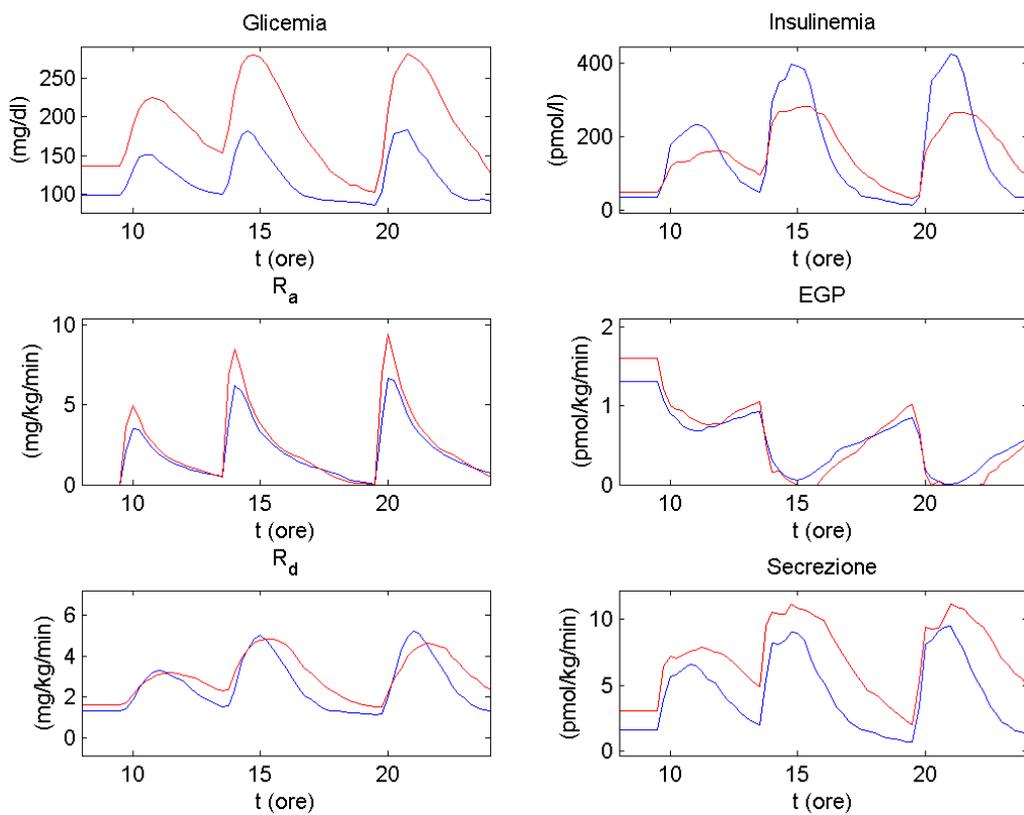


Figura 6.15: Confronto tra i valori mediani delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata nei soggetti prediabetici (in blu) e diabetici (in rosso)

## 6.5 Impiego del simulatore in studi di farmacodinamica

Grazie alla capacità di riprodurre la variabilità inter-individuale, il simulatore può essere impiegato per valutare l'effetto di potenziali farmaci per la cura del diabete di tipo 2.

Come nello studio descritto nel paragrafo precedente, si è simulata una giornata composta da tre pasti:

- colazione alle ore 9.30, con assunzione di 45 g di glucosio;
- pranzo alle ore 13.30, con assunzione di 75 g di glucosio;
- cena alle ore 19.30, con assunzione di 85 g di glucosio.

In questo caso si è però supposto che i 100 pazienti prediabetici ed i 100 pazienti diabetici fossero stati trattati con un farmaco. Sono state svolte tre simulazioni, ognuna ipotizzando un farmaco diverso:

1. farmaco X, in grado di stimolare la sensibilità insulinica dei tessuti insulino-dipendenti;
2. farmaco Y, in grado di stimolare la secrezione di insulina da parte delle  $\beta$  cellule del pancreas;
3. farmaco XY, in grado di combinare gli effetti dei farmaci X ed Y.

Per simulare gli effetti del farmaco X sono stati raddoppiati i valori dei parametri  $V_{mX}$  e  $kp3$ , mentre per simulare gli effetti del farmaco Y sono stati raddoppiati i valori dei parametri  $K$  e  $\beta$ . Infine, per simulare gli effetti del farmaco XY, sono state introdotte le variazioni ai valori dei parametri prodotte dal farmaco X, a quelle prodotte dal farmaco Y.

Nelle figure 6.16 e 6.17 sono raffigurati i valori mediani delle concentrazioni e dei flussi di glucosio ed insulina, nei pazienti prediabetici e diabetici, in seguito alla somministrazione dei tre farmaci.

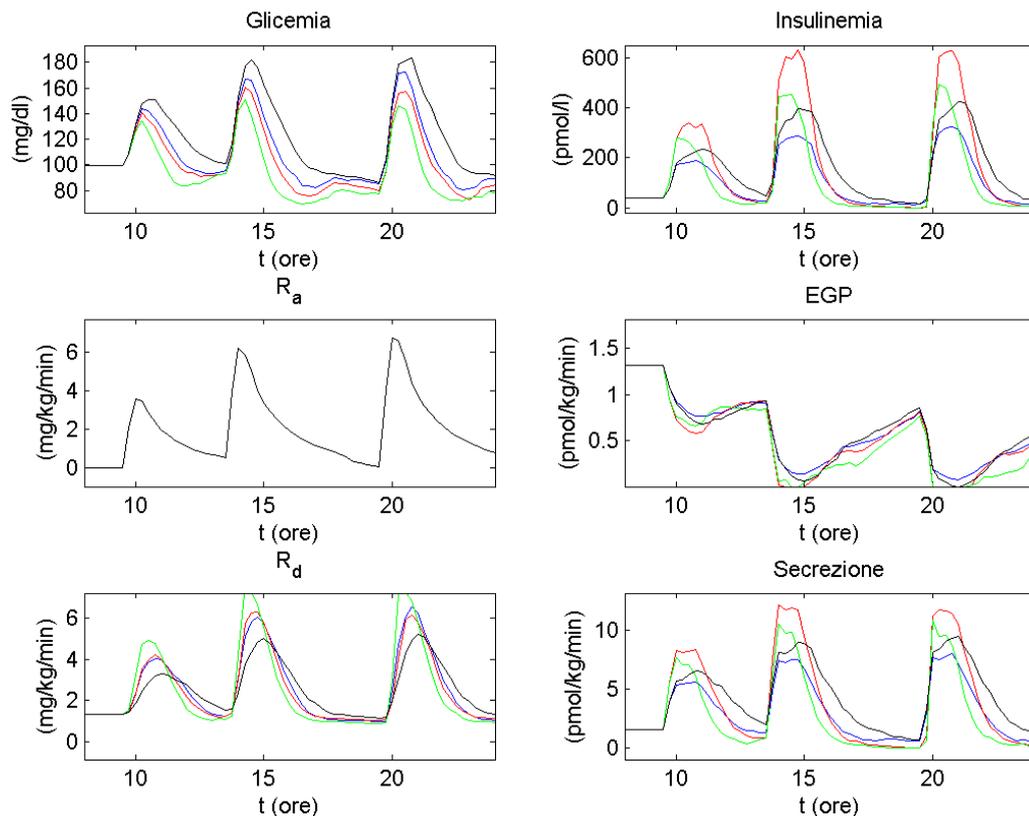


Figura 6.16: Confronto le mediane dei profili di concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata nei soggetti prediabetici (in nero) e negli stessi pazienti trattati con il farmaco X (in blu), con il farmaco Y (in rosso) e con il farmaco XY (in verde)

La prima cosa che emerge dall'analisi dei grafici è che la produzione endogena di glucosio non viene influenzata molto dall'azione dei farmaci, anche se si può rilevare una diminuzione di EGP dopo i pasti leggermente più rapida e più marcata nei soggetti trattati con il farmaco XY e ancor di più in quelli trattati con il farmaco Y. Ciò è facilmente spiegabile, infatti l'aumento della secrezione di insulina stimolato da questi farmaci, fa aumentare l'insulina in

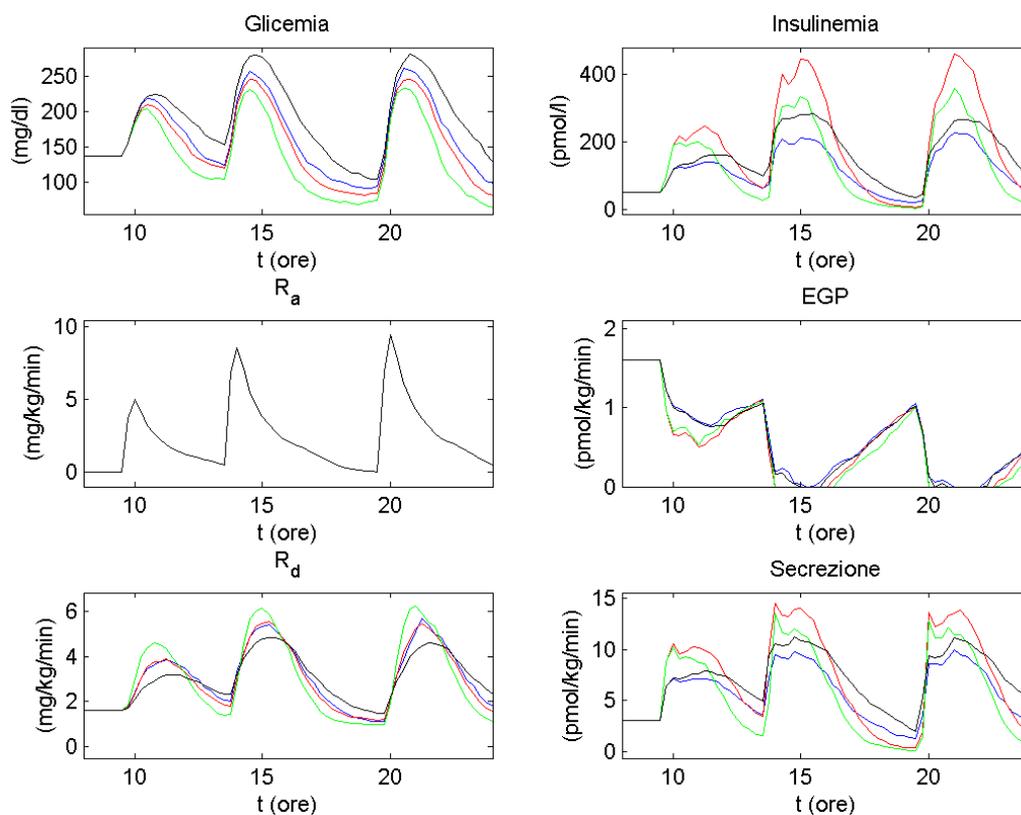


Figura 6.17: Confronto le mediane dei profili di concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata nei soggetti diabetici (in nero) e negli stessi pazienti trattati con il farmaco X (in blu), con il farmaco Y (in rosso) e con il farmaco XY (in verde)

circolo e ciò produce una maggiore soppressione dell'EGP.

La velocità di scomparsa del glucosio nel sangue presenta un miglioramento sia per quanto concerne l'ampiezza del picco, sia nella velocità di risposta allo stimolo del pasto in tutti e tre i set trattati con farmaci, anche se in diversa misura: con il farmaco Y ed ancora di più con il farmaco X  $R_d$  è più elevata e più rapida.

La secrezione di insulina aumenta nei soggetti trattati con il farmaco Y, diminuisce invece, rispetto ai soggetti non trattati, in quelli curati con il farmaco X, poiché la glicemia è ridotta. L'effetto del farmaco XY sulla secrezione è

simile a quello ottenuto col farmaco Y. Da notare inoltre che tutti e tre i farmaci aumentano la velocità di discesa della curva di secrezione, una volta raggiunto il picco.

L'analisi della concentrazione di insulina indica che il farmaco X tende a far diminuire la concentrazione di insulina nel sangue; viceversa il farmaco Y, stimolando la secrezione pancreatica, porta un visibile aumento dell'insulina nel sangue. Come per la secrezione, l'andamento della curva di insulina nei soggetti trattati col farmaco XY è inferiore a quella dei pazienti trattati col farmaco Y.

Interessante infine l'analisi dell'andamento della glicemia. Tutti i farmaci portano ad un abbassamento della concentrazione di glucosio nel sangue, tuttavia l'azione del farmaco XY, come atteso dalla teoria, si dimostra particolarmente efficace: è evidente infatti che la concentrazione di glucosio nei soggetti prediabetici scende, a fine giornata, leggermente sotto gli 80 mg/dl, nei soggetti diabetici si attesta invece intorno ai 100 mg/dl.

Si può quindi concludere che i farmaci X ed Y sembrano più indicati per il trattamento di soggetti prediabetici mentre il farmaco XY pare più adatto per i pazienti diabetici.

Per valutare meglio l'efficacia della terapia farmacologica è importante confrontare i valori ottenuti con quelli dei soggetti normali. Per questo motivo, utilizzando la distribuzione congiunta dei parametri stimata in [5], sono stati creati 100 soggetti virtuali normali sui quali si è compiuta una simulazione di giornata intera. Nelle figure 6.18-6.21 sono riportati i confronti tra soggetti normali e soggetti prediabetici e diabetici non trattati e trattati.

Dalle figure si nota come i pazienti trattati con farmaci abbiano un andamento della glicemia sostanzialmente uguale a quello dei soggetti normali. La glicemia dei pazienti diabetici invece, anche se trattati, raggiunge valo-

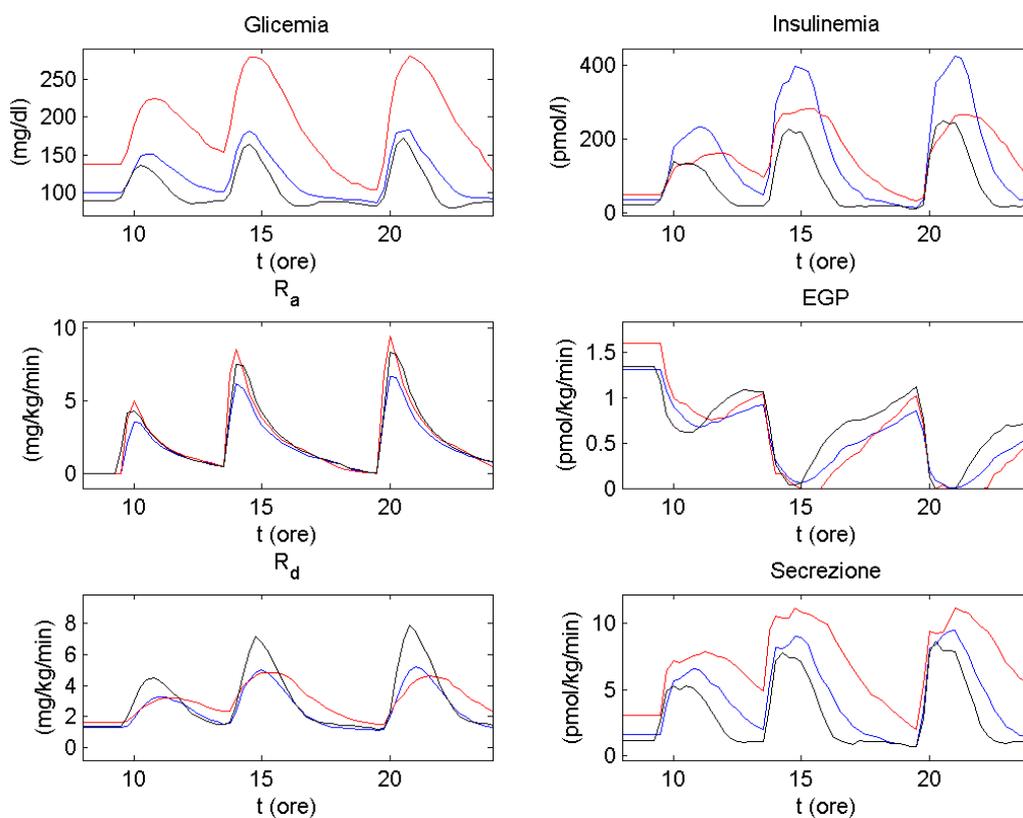


Figura 6.18: Confronto le mediane dei profili di concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata nei soggetti prediabetici (in blu) e diabetici (in rosso) vs. soggetti normali (in nero)

ri molto più alti di quelli dei soggetti normali; anche in queste simulazioni tuttavia, il farmaco XY è quello che riesce a normalizzare il più possibile la risposta glicemica dei pazienti diabetici.

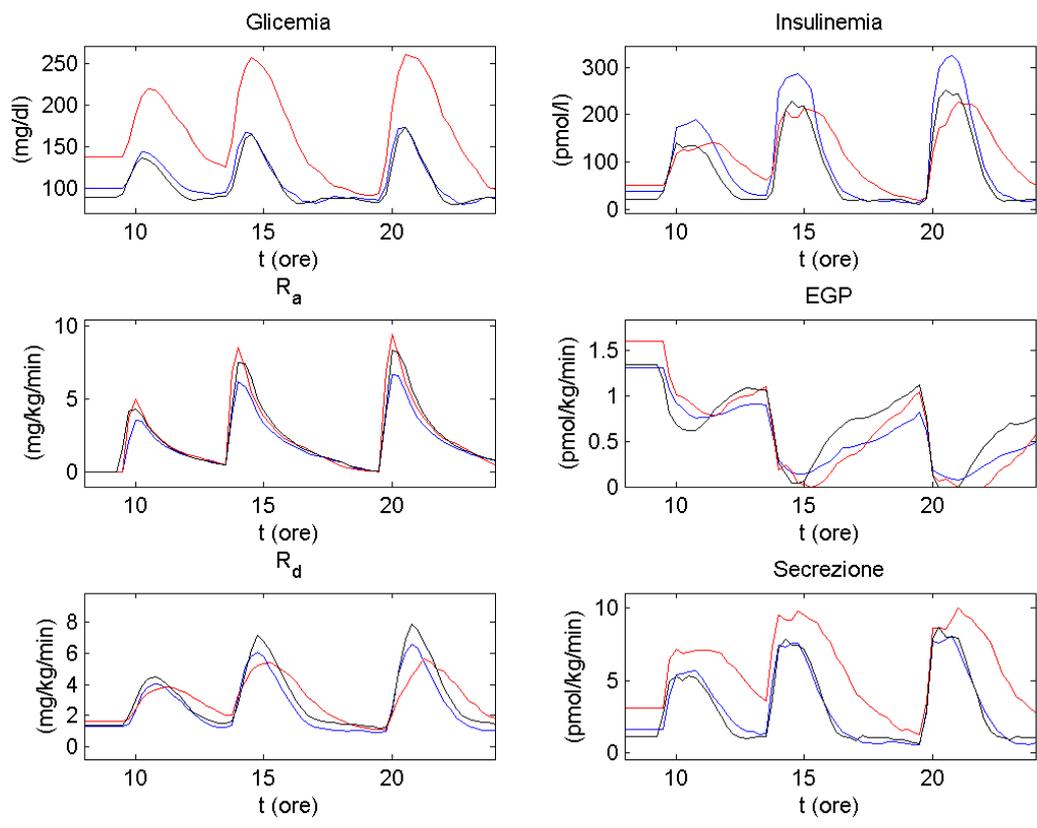


Figura 6.19: Confronto le mediane dei profili di concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata nei soggetti pre-diabetici (in blu) e diabetici (in rosso) trattati con il farmaco X vs. soggetti normali (in nero)

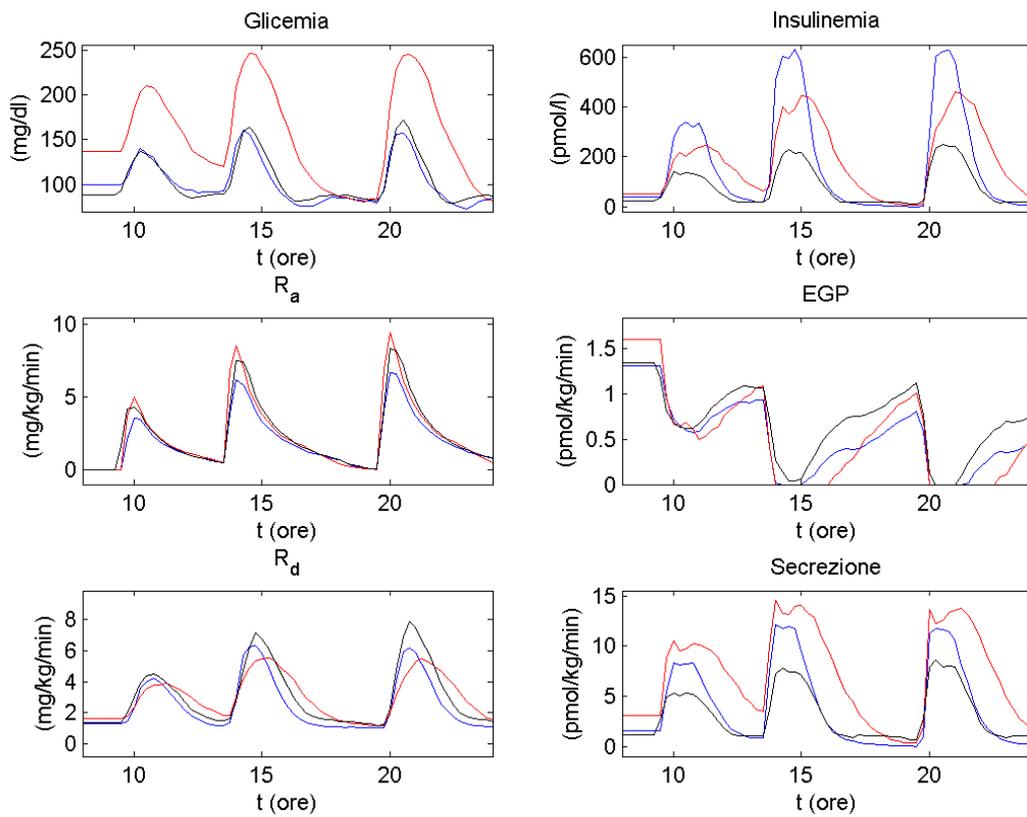


Figura 6.20: Confronto le mediane dei profili di concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata nei soggetti pre-diabetici (in blu) e diabetici (in rosso) trattati con il farmaco Y vs. soggetti normali (in nero)

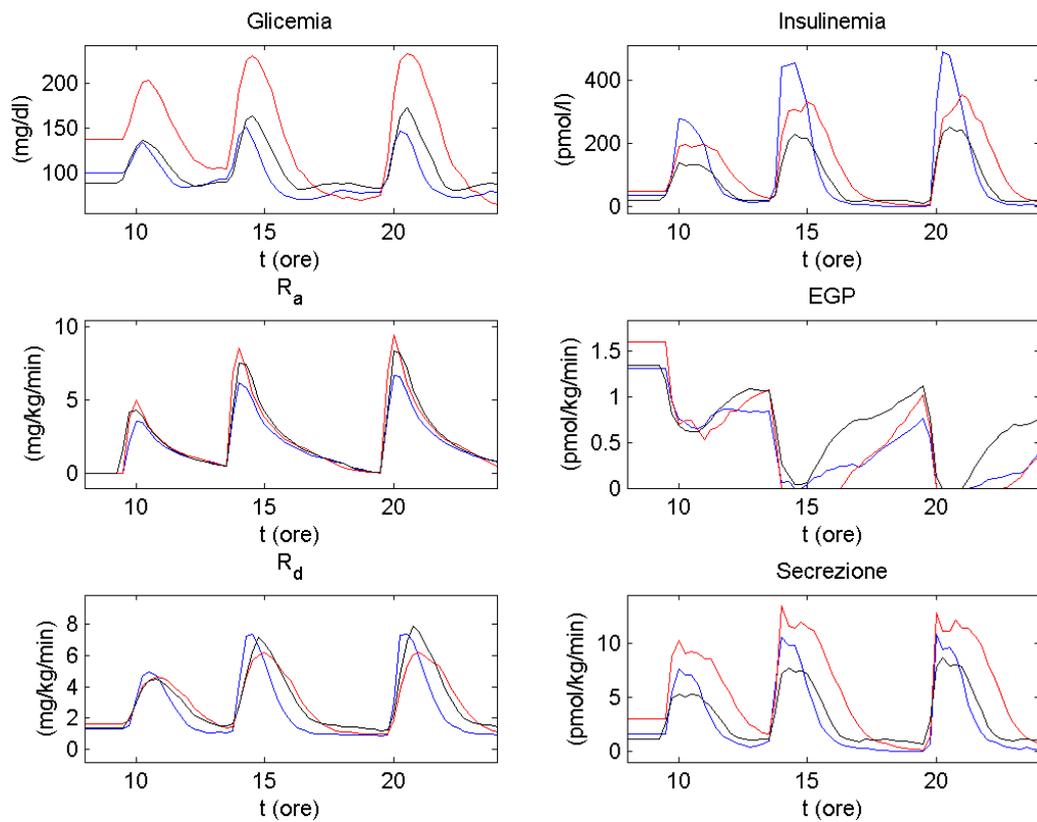


Figura 6.21: Confronto le mediane dei profili di concentrazioni e flussi di glucosio ed insulina simulati nell'arco di un'intera giornata nei soggetti pre-diabetici (in blu) e diabetici (in rosso) trattati con il farmaco XY vs. soggetti normali (in nero)



# Capitolo 7

## Conclusioni

In questo lavoro è stato messo a punto e validato un simulatore del sistema glucosio-insulina, basato su un modello dei processi fisiologici che avvengono dopo l'ingestione di un pasto contenente carboidrati. Il modello del sistema è stato identificato con il metodo della decomposizione in sottomodelli e l'impiego di funzioni forzanti [4].

La validità del modello è stata testata utilizzando due data base di soggetti, studiati con un protocollo a triplo tracciante, che ha permesso di misurare le concentrazioni e stimare i flussi di glucosio ed insulina. I modelli dei processi elementari spiegano in genere bene i dati sperimentali a disposizione tuttavia, il modello della produzione endogena di glucosio si è dimostrato in alcuni casi inadeguato ad adattarsi ai dati sperimentali, soprattutto nei primi minuti dell'esperimento. Questo problema potrebbe diventare spunto per un futuro lavoro.

Una volta identificato su tutti i soggetti dei data base si è potuto stimare la distribuzione congiunta dei parametri nei soggetti prediabetici e diabetici di tipo 2. Nota la distribuzione congiunta è stato possibile generare soggetti virtuali verosimili estraendo delle realizzazioni dal vettore dei parametri della distribuzione congiunta. E' stato poi possibile eseguire diversi esperimenti

in silico sulle popolazioni virtuali: pasto singolo, 24 ore, farmaci. I soggetti generati sono sufficientemente rappresentativi della popolazione prediabetica e diabetica di tipo 2, infatti i parametri estratti dal simulatore hanno una distribuzione molto simile a quella dei dati reali. Il test sul singolo pasto compiuto con il simulatore ha dimostrato inoltre che i range (5-95 percentili) assunti dai profili di glucosio ed insulina dei soggetti simulati sono confrontabili con quelli dei dati sperimentali.

Infine la possibilità di usare il simulatore per una valutazione preliminare sulla bontà degli effetti di alcuni farmaci sul sistema glucosio-insulina, fornisce al modello un valore aggiunto importante. Si ha infatti la possibilità di testare la validità di nuove terapie con un notevole risparmio di costi e tempo (anche se va ricordato che il modello non può essere sostitutivo dei trial clinici).

Il simulatore messo a punto presenta tuttavia alcune limitazioni.

Per prima cosa il data base da cui si ricava la distribuzione congiunta dei parametri, pur essendo stato incrementato in questo lavoro, risulta ancora essere abbastanza limitato per le assunzioni statistiche compiute, specialmente nei soggetti diabetici, che sono anche i più difficili da modellare.

Nel modello alcuni parametri (ad esempio  $f$ ) vengono tenuti fissi. Durante le simulazioni ci si è invece resi conto che non sempre questi valori possono essere trattati come costanti perché presentano variabilità inter-individuali, solitamente piccole, che possono portare a variazioni dei risultati.

Altro fattore importante di cui il modello non tiene conto, sono gli ormoni controregolatori (glucagone, epinefrina) che agiscono da antagonisti dell'insulina stimolando la gluconeogenesi e la glicogenolisi, modificando a loro volta produzione endogena di glucosio, secrezione pancreatica ed utilizzazione.

Infine, il modello non tiene conto del fatto che il glucosio, seppur preponde-

rante, non è l'unico substrato energetico utilizzato dall'organismo e che gli altri substrati interagiscono con l'insulina e con il glucosio stesso (studi hanno dimostrato che l'insulina ha un ruolo importante anche sul metabolismo dei lipidi e degli amminoacidi) [1].

In conclusione il simulatore messo a punto ha dimostrato la sua validità nella simulazione di un singolo pasto e in possibili studi di farmacodinamica, gli spunti per futuri miglioramenti sono però ancora molti.



# Bibliografia

- [1] C. Cobelli, R. Bonadonna - **Bioingegneria dei sistemi metabolici.**  
Pàtron editore, 1998
  
- [2] Guyton & Hall - **Fisiologia medica.**  
EdiSES, 2002
  
- [3] C. Dalla Man, M. Camilleri, C. Cobelli - **A System Model of Oral Glucose Absorption: Validation on Gold Standard Data.**  
IEEE Transactions on biomedical engineering, vol. 53, no. 12, pagg. 2472-2478, 2006
  
- [4] C. Dalla Man, R.A. Rizza, C. Cobelli - **Meal simulation model of the glucose-insuline system.**  
IEEE Transactions on biomedical engineering, vol. 54, no. 10, pagg. 1740-1749, 2007
  
- [5] F. Pasini - **Un simulatore del metabolismo del glucosio per trials in silico nel prediabete e diabete di tipo 2.**  
Tesi di laurea specialistica in Bioingegneria, Università di Padova, 19-12-2008
  
- [6] G. Bock, C. Dalla Man, F. Micheletto, R. Basu, C. Cobelli - **The effect of DPP-4 inhibition on fasting and postprandial glucose turnover in subjects with impaired fasting glucose.**

Blackwell Publishing Ltd, Clinical endocrinology, 73, pagg. 189-196, 2010

- [7] C. Dalla Man, R.A. Rizza, C. Cobelli - **Dipeptidyl Peptidase-4 inhibition by Vildagliptin and the effect on insulin secretion and action in response to meal ingestion in type 2 diabetes.**

Diabetes Care, volume 32, no. 1, pagg. 14-18, gennaio 2009

- [8] sito internet Organizzazione Mondiale della Sanità -  
**<http://www.who.int>**

- [9] sito internet American Diabetes Association -  
**<http://www.diabetes.org>**