



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**“PANCREAS ARTIFICIALE BASATO SULLA FISIOLOGIA DELLE
β-CELLULE IN ADULTI CON DIABETE DI TIPO 1”**

Relatore: Prof. Morten Gram Pedersen

Laureanda: Lucrezia Bettella

ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022

Data di laurea 22/09/2022

A me stessa, ai miei genitori e a Giacomo

ABSTRACT

In questo elaborato viene presentato il pancreas artificiale bio-inspired (BiAP), un sistema di controllo glicemico e di rilascio di insulina, basato su un modello matematico delle β -cellule.

A differenza degli altri sistemi di controllo, esso è in grado di replicare la fisiologia del pancreas biologico e, più in particolare, le funzionalità delle β -cellule, secernenti insulina.

20 soggetti affetti da diabete mellito di tipo 1, hanno partecipato a due studi, uno in condizioni di digiuno e l'altro nel periodo notturno e postprandiale, per valutare la fattibilità e la sicurezza del BiAP.

Dai risultati ottenuti si osserva che il livello di glucosio è per la maggior parte del tempo all'interno del target range prestabilito, riducendo l'incidenza dei casi di ipoglicemia e iperglicemia e garantendo così un controllo glicemico ottimale.

INDICE

1. INTRODUZIONE	4
1.1 Il diabete mellito	4
1.1.1 Il diabete mellito di tipo 1	4
1.2 Algoritmi di controllo per il rilascio di insulina in pazienti con diabete mellito di tipo 1	15
2. MODELLO MATEMATICO.....	6
2.1 Spiegazione del modello matematico	6
2.2 Esperimenti e simulazioni.....	12
3. ALGORITMO DI CONTROLLO.....	21
4. STUDIO DI FATTIBILITA'	26
4.1 Criteri di inclusione	26
4.2 Protocollo di studio a catena chiusa in condizioni di digiuno (6 h).....	26
4.3 Protocollo di studio a catena chiusa nel periodo notturno e di post-colazione (13 h)	27
4.4 Risultati.....	27
5. DISCUSSIONE	30
BIBLIOGRAFIA	32

1. INTRODUZIONE

1.1 Il diabete mellito

Il diabete mellito è stato definito più di un secolo fa dal medico sir William Osler come “una sindrome basata su un’alterazione del metabolismo dei carboidrati dovuta a diverse cause, nel corso della quale si ha una comparsa di zucchero nelle urine, poliuria, dimagrimento e errata ossidazione dei grassi”.

Pazienti diabetici trattati adeguatamente con insulina e altri agenti terapeutici presentano raramente queste anomalie cliniche ma le conseguenze a lungo termine, associate a malattie cardiovascolari come aterosclerosi e ictus ischemico, causano più di metà delle morti dei pazienti diabetici adulti.

Si riconoscono due forme principali di diabete mellito, sulla base dei meccanismi patogenetici. Il diabete mellito di tipo 1 (T1DM) è causato da una distruzione su base autoimmunitaria delle cellule β delle isole pancreatiche.

Il diabete mellito di tipo 2 (T2DM) deriva da una complessa interrelazione tra una sottostante resistenza all’azione dell’insulina dei tessuti bersaglio (fegato, muscolo scheletrico, tessuto adiposo) e un’insufficiente secrezione di insulina da parte del pancreas.

Il T2DM si sviluppa di solito nell’adulto con una prevalenza maggiore nei soggetti obesi e negli anziani.

1.1.1 Il diabete mellito di tipo 1

Il diabete mellito di tipo 1 (T1DM) è un disturbo permanente dell’omeostasi del glucosio che deriva dalla distruzione su base autoimmunitaria delle cellule β delle isole di Langerhans del pancreas, deputate alla produzione di insulina, ormone che regola l’utilizzo del glucosio da parte delle cellule.

Il T1DM è caratterizzato quindi dalla completa, o quasi, scomparsa delle cellule β del pancreas e da una secrezione di insulina estremamente limitata o addirittura assente.

Come conseguenza di questa alterazione endocrina, i grassi vengono metabolizzati come fonte di energia al posto del glucosio; l’ossidazione dei grassi produce corpi chetonici che vengono rilasciati in circolo dal fegato e portano a chetoacidosi metabolica.

Inoltre, la mancanza di insulina genera un rilascio eccessivo nel sangue di glucosio che, a sua volta, viene solo in minima parte captato dal muscolo scheletrico e dal tessuto adiposo: questo porta a glicosuria e disidratazione per perdita di acqua nelle urine.

Se non corretti rapidamente, l’acidosi e la disidratazione portano a coma e morte.

Il trattamento clinico destinato ai pazienti affetti da T1DM è la somministrazione di boli insulinici in concomitanza con i pasti giornalieri e il controllo della glicemia.

Dal punto di vista epidemiologico, il T1DM colpisce meno del 10% di tutti i pazienti diabetici e si sviluppa generalmente nel periodo della pubertà.

1.2 Algoritmi di controllo per il rilascio di insulina in pazienti con diabete mellito di tipo 1

Nel corso degli anni, diversi algoritmi di controllo per il rilascio di insulina sono stati sviluppati con l'obiettivo di ottimizzare il controllo glicemico, ridurre i casi di ipoglicemia e iperglicemia e, più in generale, per migliorare lo stile di vita delle persone affette da diabete mellito di tipo 1.

La maggior parte dei sistemi di controllo glicemico valutati in studi clinici sono basati sulle classiche tecniche di controllo ingegneristico come, ad esempio, il controllo proporzionale, integrale e derivativo (controllori PID) o controllo predittivo del modello (MPC).

Nonostante questi siano in grado di replicare la secrezione di insulina da parte delle cellule β , mantenendo il glucosio entro specifici range fisiologici, non si basano sulla fisiologia del pancreas ma cercano di implementare soluzioni ingegneristiche all'ambito biologico.

Il pancreas artificiale bio-inspired (BiAP) utilizza un nuovo algoritmo di controllo basato su un modello matematico della fisiologia delle cellule β pancreatiche.

Replicando la funzionalità delle cellule β si ottiene così un sistema con migliori funzionalità biologiche e in grado di fornire un approccio terapeutico ottimale.

2. MODELLO MATEMATICO

Circa cinquant'anni fa, Grodsky e i suoi colleghi studiarono la cinetica della secrezione di insulina in risposta a variazioni della concentrazione di glucosio per comprendere come avviene la regolazione dei granuli contenenti insulina.

Scoprirono che quest'ultima viene rilasciata in maniera bifasica quando la concentrazione di glucosio viene portata rapidamente da un livello sotto soglia a un livello stimolante.

Questo modello di secrezione di insulina è stato osservato nelle isole di Langerhans, nel pancreas isolato e *in vivo*.

Inoltre, Grodsky introdusse l'ipotesi della soglia, affermando che ogni granulo ha una certa soglia di glucosio oltre la quale rilascia il suo contenuto di insulina.

Questa assunzione ha ottenuto poco supporto dagli esperimenti condotti, soprattutto a causa della limitata conoscenza della biologia delle cellule β , mettendo così in discussione l'intero modello.

A partire dagli anni '70, la conoscenza dei processi intracellulari delle cellule β pancreatiche aumentò tremendamente, permettendo lo sviluppo di modelli fondati su basi biologiche molto solide.

Nonostante questi proponessero diversi fenomeni, non sono in grado di riprodurre l'esperimento di "staircase", che ha portato Grodsky allo sviluppo dell'ipotesi della soglia.

Il modello presentato da Pedersen *et al.* non è solo il primo ad essere basato su principi biologici dettagliati ma è anche in grado di riprodurre un ampio insieme di fenomeni, tra cui l'esperimento di "staircase".

2.1 Spiegazione del modello matematico

In questo modello, consideriamo i granuli contenenti insulina come appartenenti a diverse pools: 'reserve pool', 'intermediate pool' e 'RRP (readily releasable pool)'.

I granuli di insulina vengono inseriti all'interno della 'reserve pool', che immaginiamo come infinita, così da trascurare la sintesi di nuovi granuli e il cambiamento di dimensioni della pool stessa dovuto a mobilitazione, reinternalizzazione e crinofagia.

Successivamente, i granuli, sotto l'influenza del glucosio, si spostano verso la membrana dove vengono ancorati: i granuli mobilizzati e ancorati alla membrana si trovano nella 'intermediate pool'.

Prima di diventare 'prontamente rilasciabili', i granuli subiscono il processo di priming, che permette loro di entrare nella RRP.

A livelli stimolatori di glucosio, i canali del calcio nella membrana plasmatica si aprono permettendo il flusso di Ca^{2+} all'interno della cellula.

I granuli appartenenti alla RRP possono fondersi con la membrana cellulare in quanto stimolati dal flusso di Ca^{2+} .

Una volta avvenuta l'esocitosi, il poro di fusione può permettere il rilascio di insulina o può richiudersi velocemente, subendo quindi una fusione parziale che impedisce all'insulina di essere liberata all'esterno della cellula (fenomeno di kiss-and-run).

In quest'ultimo caso, assumiamo che i granuli ritornino nella 'reserve pool' e che le loro proteine di membrana siano riciclate, dopo l'evento di kiss-and-run.

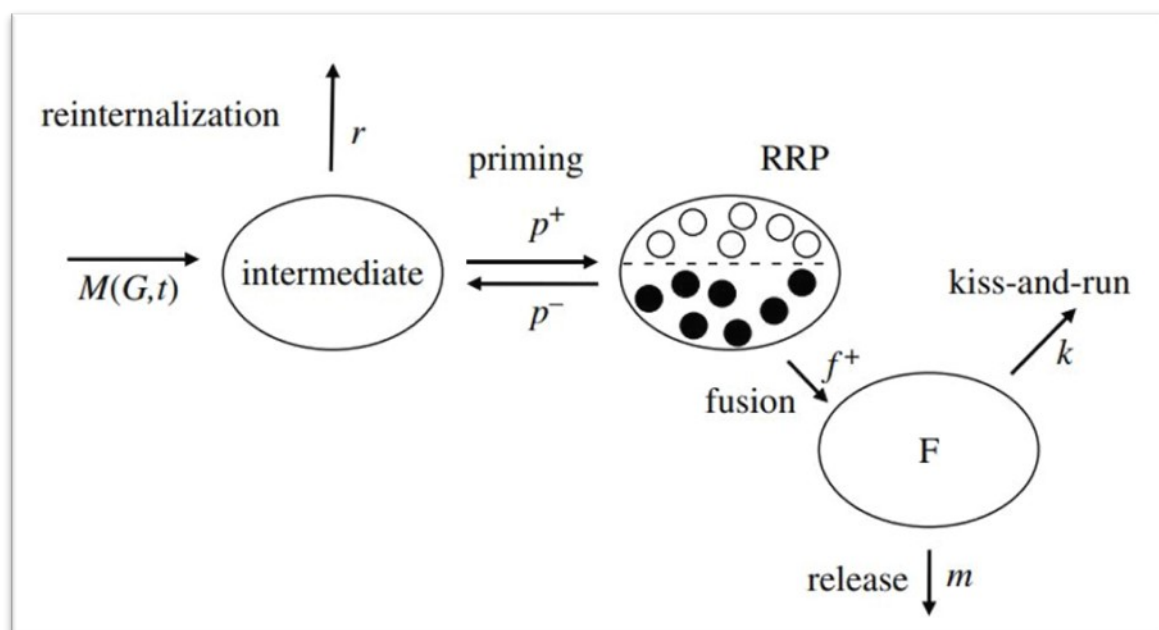


Figura 1. Schema del modello matematico. La 'reserve pool' non è presente in quanto considerata infinita. La RRP è stata divisa in granuli 'prontamente rilasciabili' localizzati in cellule silenziose dove non c'è flusso di Ca^{2+} , esocitosi e rilascio di insulina (cerchi bianchi) e quelli localizzati in cellule attivate (cerchi neri). I parametri $M(G, t)$, p^+ , p^- , f^+ , k , m e r verranno spiegati dettagliatamente in seguito.

Le cellule β del pancreas hanno diverse soglie del glucosio per l'insorgere del flusso di Ca^{2+} all'interno della cellula stessa. Oltre questa soglia, i livelli del calcio della singola cellula non cambiano o comunque cambiano lievemente.

Possiamo quindi assumere che a una certa concentrazione extracellulare di glucosio (G), una frazione di cellule sia silente (nessun flusso di Ca^{2+} , esocitosi e rilascio di insulina), mentre la restante sia attivata, permettendo il rilascio di insulina con la stessa costante (m), dovuta a simili livelli di Ca^{2+} , indipendentemente dalla soglia di ogni cellula.

Indichiamo con $\phi(G)$ la derivata matematica di $\Phi(G)$, ovvero una funzione di densità che descrive la frazione di cellule β con una soglia del glucosio compresa tra G e $G + dG$.

Questo implica che $\Phi(\infty) = \int_0^{\infty} \phi(g)dg = 1$.

Pertanto, ad una certa concentrazione di glucosio (G), solo la frazione $\Phi(G) = \int_0^G \phi(g)dg$ di cellule secernono insulina mentre le restanti rimangono silenziose.

Dato che il modello sarà convalidato rispetto a studi *in vitro* poniamo $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$ come il livello basale anche se, per studi *in vivo* un livello basale fisiologico potrebbe essere $G = 80 \text{ mg dl}^{-1}$.

Assumendo che tutte le cellule contengano la stessa quantità di granuli ‘prontamente rilasciabili’ al livello basale $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$, definiamo con $H_0(G)$ la funzione sigmoideale che rappresenta la quantità di insulina ‘prontamente rilasciabile’ presente in cellule con una soglia inferiore a G .

Indichiamo con $h_0(G)$ la derivata matematica di $H_0(G)$, ovvero una funzione di densità che descrive la quantità basale di insulina ‘prontamente rilasciabile’ in cellule che hanno una soglia compresa tra G e $G + dG$.

Pertanto, la quantità totale di insulina nella RRP al livello basale è $H_0(\infty) = \int_0^{\infty} h_0(g)dg$.

Quando uno stimolo di glucosio G viene applicato, la RRP è descritta da una funzione di densità $h(g, t)$, che indica la quantità di insulina nella RRP nelle cellule β aventi una soglia compresa tra g e $g + dg$.

Viene utilizzato $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$ come livello basale e lo stato stazionario come stato iniziale: $h(g, 0) = h_0(g)$.

La dipendenza dal tempo di h è descritta come

$$\frac{dh(g, t)}{dt} = p^+ I(t) \phi(g) - p^- h(g, t) - f^+ h(g, t) \theta(G - g) \quad \boxed{2.1}$$

dove p^+ è il tasso con cui i granuli subiscono priming e p^- è il tasso con cui perdono la capacità di esocitosi.

I è la ‘intermediate pool’ e il flusso di priming $p^+ I(t)$ si distribuisce tra le cellule che hanno soglia pari a g (in accordo con la funzione $\phi(g)$).

f^+ è il tasso di fusione, evento che avviene solo se viene raggiunta la soglia; per questo viene inserita anche la funzione a gradino unitario $\theta(G - g)$ che vale 1 per $g < G$ e 0 altrimenti.

La dipendenza dal tempo di $F(t)$, dimensione della ‘fused pool’, è espressa come

$$\frac{dF(t)}{dt} = f^+ \int_0^G h(g, t) dg - kF(t) - mF(t) \quad \boxed{2.2}$$

dove k è il tasso di kiss-and-run, m è il tasso costante di rilascio e $h(g, t)$ è la funzione di densità che indica la quantità di insulina nella RRP nelle cellule β aventi una soglia compresa tra g e $g + dg$.

L’integrale rappresenta, quindi, la quantità di insulina nella RRP delle cellule con una soglia inferiore a G .

Il tasso di secrezione può essere espresso come

$$SR(t) = mF(t) \quad \boxed{2.3}$$

La dipendenza dal tempo della ‘intermediate pool’ è descritta come

$$\frac{dI(t)}{dt} = M(G, t) - rI(t) - p^+I(t) + p^- \int_0^\infty h(g, t) dg \quad \boxed{2.4}$$

dove M è il flusso di mobilizzazione e r è il tasso di reinternalizzazione.

L’ultimo termine descrive il flusso di granuli che hanno perso la capacità di esocitosi.

La mobilizzazione dipende dal glucosio con un ritardo τ ed è descritta da

$$\frac{dM(G, t)}{dt} = \frac{M(G, t) - M_\infty(G)}{\tau} \quad \boxed{2.5}$$

dove $M_\infty(G)$ è la mobilizzazione allo stato stazionario.

Il ritardo sembra essere dovuto al rimodellamento della rete di actina corticale, che avviene con un ritardo di 5-20 minuti, e che è importante per la mobilizzazione dei granuli verso la membrana cellulare e nella seconda fase di secrezione di insulina.

Per $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$, $F_0 = 0 \text{ } \mu\text{g}$, $M_0 = M_\infty(0)$ e $H_0(\infty) = \left(\frac{p^+}{p^-}\right)I_0$ così da ottenere

$$0 = M_0 - rI_0 - p^+I_0 + p^- \int_0^\infty h_0(g)dg = M_0 - (r + p^+ - p^-\left(\frac{p^+}{p^-}\right))I_0$$

Questo implica che $I_0 = \frac{M_0}{r}$.

Usiamo la seguente espressione per la mobilizzazione allo stato stazionario

$$M_\infty(0) = \frac{cG^{nM}}{(K_{mM})^{nM} + G^{nM}} + M_0 \quad \boxed{2.6}$$

e un'altra espressione per indicare la quantità di insulina 'prontamente rilasciabile' presente in cellule con una soglia inferiore a G

$$H_0(G) = \frac{H_{max}G^{nH}}{(K_{mH})^{nH} + G^{nH}} \quad \boxed{2.7}$$

I parametri sono stati determinati come segue. Alcuni di questi sono stati modificati per simulare gli esperimenti di O'Connor *et al.* (1980).

$m = 0.62 \text{ min}^{-1}$ è stata presa dagli esperimenti di Grodsky.

La fusione dei granuli avviene molto più velocemente del rilascio di insulina quindi è ragionevole porre $f^+ = 10m = 6.2 \text{ min}^{-1}$.

L'evento di kiss-and-run avviene dal 25% al 60% degli eventi di fusione quindi si può scegliere $k = 0.75m = 0.47 \text{ min}^{-1}$.

Jonkers & Henquin scoprirono che la metà delle cellule si attiva ad una concentrazione di glucosio $G = 150 \text{ mg dl}^{-1}$, valore inizialmente associato a K_{mH} , ma che è stato poi aumentato a 250 mg dl^{-1} .

$H_{max} = 1.65 \mu\text{g}$ è stato preso dagli esperimenti di Grodsky e successivamente abbassato a $1.2 \mu\text{g}$.

Nel passaggio dalle formule all'implementazione pratica del modello è necessario sostituire il limite superiore infinito con un valore finito; dato che negli esperimenti si lavora con

$G \leq 500 \text{ mg dl}^{-1}$, possiamo porre $G_{max} = 500 \text{ mg dl}^{-1}$.

In questo modo, la quantità totale di insulina nella RRP allo stato basale è:

$$RRP_0 = H_0(500) = \int_0^{500} h_0(g)dg = 1.62 \mu\text{g}.$$

Olofsson *et al.* stimò che nella RRP fossero presenti 50-100 granuli per cellula e che i granuli ancorati o quasi ancorati alla membrana fossero 500-2000 per cellula.

Per questo usiamo $I_0 = 5.5RRP_0 = 8.91 \mu g$.

Ma è stato notato che un numero minore di cellule si attivava quindi RRP_0 è stato abbassato a $1.09 \mu g$, mantenendo invece inalterato il valore di I_0 .

Dalla relazione precedente, segue che $p^- = 5.5p^+$. Dato che la prima fase di secrezione di insulina è dovuta allo svuotamento della RRP, è necessario che il tasso di priming sia molto più basso del tasso di fusione e rilascio.

Per questo usiamo $p^+ = \frac{m}{30} = 0.021 \text{ min}^{-1}$ e $p^- = \frac{5.5m}{30}$, ma affinché sia mantenuto lo stato stazionario (avendo lasciato inalterato I_0) si deve regolare $p^- = 0.1695 \text{ min}^{-1}$.

La reinternalizzazione avviene molto lentamente e può essere espressa mediante la relazione $r = \frac{3p^-}{50} = 0.0102 \text{ min}^{-1}$.

Infine dalla relazione $I_0 = \frac{M_0}{r}$ è possibile ricavare $M_0 = 0.0906 \mu g \text{ min}^{-1}$.

$nM = 12$, $nH = 3.3$ e $c = 1.25 \mu g \text{ min}^{-1}$ sono stati ricavati dalle simulazioni di Grodsky, mentre τ e K_{mM} sono stati modificati ottenendo $\tau = 0.5 \text{ min}$ e $K_{mM} = 250 \text{ mg dl}^{-1}$.

Parametro (unità di misura)	Valore
$m \text{ (min}^{-1}\text{)}$	0.62
$f^+ \text{ (min}^{-1}\text{)}$	6.2
$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	0.47
$p^+ \text{ (min}^{-1}\text{)}$	0.021
$p^- \text{ (min}^{-1}\text{)}$	0.1695
$r \text{ (min}^{-1}\text{)}$	0.0102
$M_0 \text{ (}\mu\text{g min}^{-1}\text{)}$	0.0906
$c \text{ (}\mu\text{g min}^{-1}\text{)}$	1.25
$K_{mM} \text{ (mg dl}^{-1}\text{)}$	250
nM	12
$H_{max} \text{ (}\mu\text{g)}$	1.2
nH	3.3
$K_{mH} \text{ (mg dl}^{-1}\text{)}$	250
$\tau \text{ (min)}$	0.5
$RRP_0 \text{ (}\mu\text{g)}$	1.09
$I_0 \text{ (}\mu\text{g)}$	8.91

2.2 Esperimenti e simulazioni

Il modello rappresenta la caratteristica secrezione bifasica dell'insulina in risposta ad un gradino nel segnale di stimolo del glucosio (figura 2).

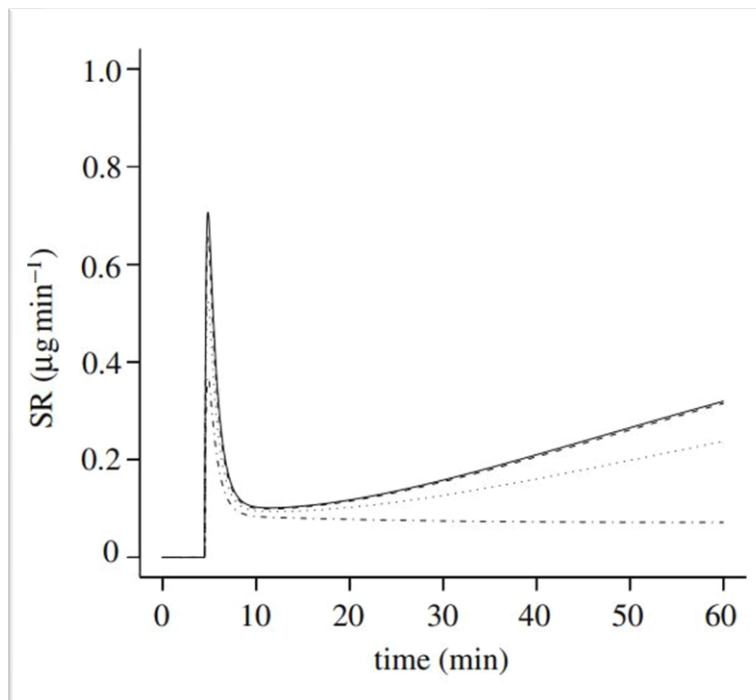


Figura 2. Rappresentazione del modello di secrezione bifasica dell'insulina in risposta a un gradino. A $t = 5 \text{ min}$, si passa da $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$ a $G = 150 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva punto-linea), $G = 200 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva punteggiata), $G = 300 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva tratteggiata), $G = 500 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva continua).

La prima fase è caratterizzata da un picco, che dura circa 5 minuti, dovuto allo svuotamento della RRP nelle cellule β attivate, il quale comporta un rilascio di insulina molto elevato.

L'altezza del picco aumenta all'aumentare della concentrazione extracellulare di glucosio, dato che a livelli sempre più alti di glucosio, la soglia di molte più cellule β viene raggiunta, permettendone la loro attivazione (figura 3).

Il decadimento, invece, è quasi indipendente dalla concentrazione di glucosio perché esso è controllato dai tassi di fusione f^+ e di rilascio di insulina m , che sono fissati.

L'andamento della seconda fase cambia al variare del livello di glucosio.

Questo è dovuto al fatto che la mobilizzazione dei granuli di insulina dipende dalla concentrazione di glucosio (figura 4): tanto maggiore è il livello di glucosio, tanto maggiore è la quantità di granuli che raggiunge la membrana e che successivamente subisce i vari processi per entrare nella RRP.

Quindi, il rilascio di insulina nella seconda fase è maggiore, a parità di tempo, per quantità maggiori di glucosio.

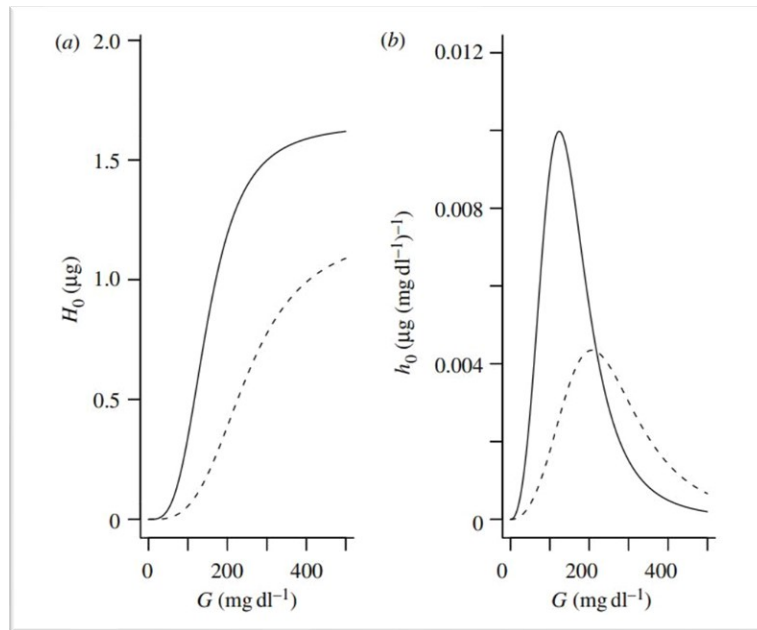


Figura 3. (a) La quantità di insulina allo stato basale nella RRP di cellule con una soglia inferiore a G , $H_0(G)$ e (b) la corrispondente funzione di densità, $h_0(g)$, che descrive la quantità di insulina nella RRP di cellule con una soglia pari a G . Rappresentazione con parametri di Grodsky (linea continua) e con parametri di O'Connor (linea tratteggiata).

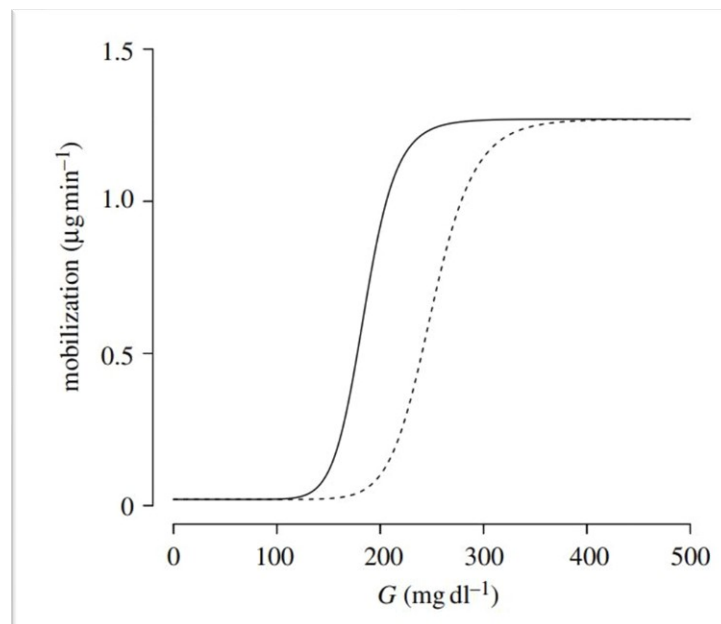


Figura 4. Rappresentazione della mobilizzazione allo stato stazionario dei granuli di insulina in funzione della concentrazione extracellulare di glucosio. Rappresentazione con parametri di Grodsky (curva continua) e con parametri di O'Connor (curva tratteggiata).

Il modello presentato è in grado di riprodurre il cosiddetto ‘**slow and fast ramps**’, un esperimento in cui la concentrazione extracellulare di glucosio viene aumentata in maniera continua, piuttosto che secondo una funzione a gradino (figura 5).

Si può notare che quando il livello di glucosio viene aumentato lentamente (figura 5a) il picco caratterizzante la prima fase di secrezione di insulina non è più presente, mentre quando viene aumentato rapidamente (figura 5b) il picco è ancora ben visibile.

Nel primo caso, infatti, le cellule β si attivano progressivamente, a mano a mano che viene raggiunta la loro soglia del glucosio, permettendo uno svuotamento delle RRP (e quindi un rilascio di insulina) graduale.

Invece, quando il livello di glucosio viene incrementato rapidamente, tutte le cellule β , attivate in quel breve intervallo di tempo, rilasciano insulina, portando quindi alla formazione di un picco di secrezione.

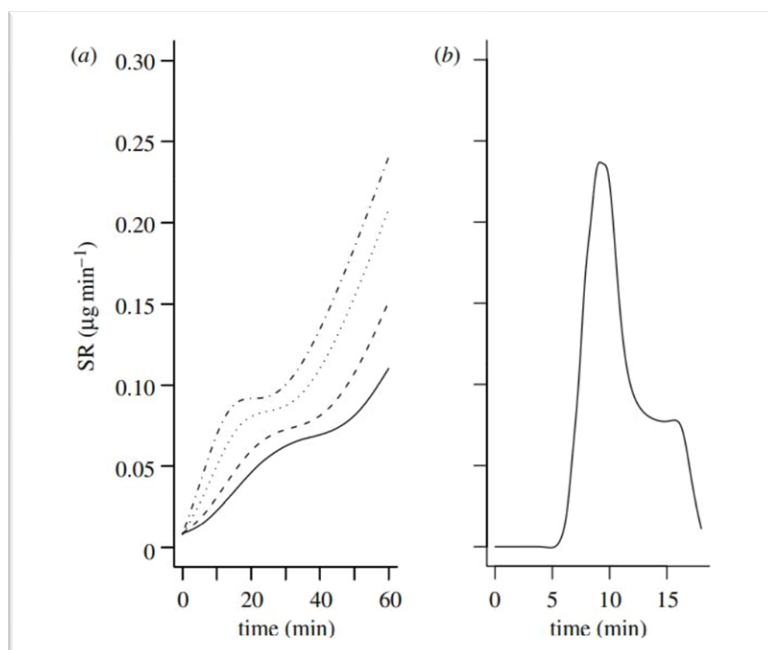


Figura 5. Secrezione di insulina in risposta a rampe lente (a) e rampe veloci (b). Nel grafico a, la concentrazione di glucosio viene portata linearmente da $G = 45 \text{ mg dl}^{-1}$ a $t = 0 \text{ min}$ a $G = 250 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva continua), $G = 300 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva tratteggiata), $G = 400 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva punteggiata) e $G = 500 \text{ mg dl}^{-1}$ (curva punto-linea) a $t = 60 \text{ min}$. Si nota che tanto maggiore è la concentrazione di glucosio, tanto maggiore è la secrezione di insulina. Nel grafico b, il glucosio è stato portato da $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$ a $t = 5 \text{ min}$ a $G = 210 \text{ mg dl}^{-1}$ a $t = 10 \text{ min}$ fino a $t = 16 \text{ min}$ quando è stato riportato a zero.

È stato, inoltre, riprodotto l'esperimento di **staircase**, cruciale per la presentazione del modello matematico in quanto è quello che ha permesso a Grodsky di sviluppare l'ipotesi della soglia (figura 6).

Il livello di glucosio viene portato dallo stato basale iniziale $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$ ad un livello stimolante: si genera un picco, dovuto allo svuotamento della RRP delle cellule β attivate con conseguente rilascio di insulina, seguito da una depressione, dovuta al fatto che la RRP risulta ora vuota.

Se il livello di glucosio viene incrementato nuovamente, si genera un secondo picco di secrezione di insulina in quanto ulteriori cellule β vengono attivate rilasciando insulina.

All'aumentare della concentrazione di glucosio, si generano altri picchi.

Questo esperimento dimostra l'eterogeneità delle cellule β che si attivano a diverse concentrazioni di glucosio, supportando così l'ipotesi della soglia di Grodsky.

Si pensava che l'accoppiamento tramite giunzioni serrate delle cellule β , *in situ*, nelle isole di Langerhans, riducesse l'eterogeneità e promuovesse una sincronizzazione tra le isole, fatto che sembrava mettere in discussione l'ipotesi fondamentale di partenza.

In realtà, imponendo un gradiente di glucosio tra le singole isole, è stato mostrato che cellule attive non erano in grado di attivare altre cellule silenti; quindi, una cellula è attiva se e solo se la sua soglia del glucosio è stata raggiunta.

L'accoppiamento tramite giunzioni serrate è importante per sincronizzare le cellule attive all'interno della stessa isola, in modo da creare un modello di secrezione pulsatile.

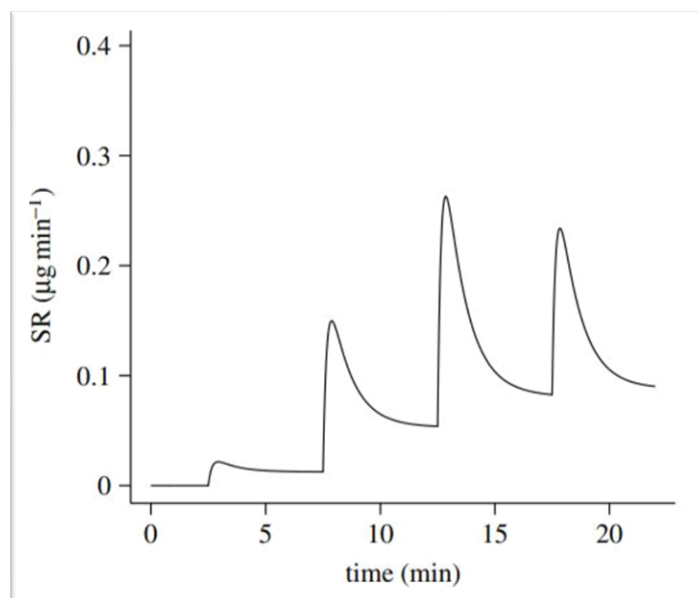


Figura 6. Esperimento di staircase. Il livello di glucosio è stato portato dallo stato basale iniziale $G = 0 \text{ mg dl}^{-1}$ a $G = 50 \text{ mg dl}^{-1}$ ($3 \text{ min} \leq t < 8 \text{ min}$), $G = 100 \text{ mg dl}^{-1}$ ($8 \text{ min} \leq t < 13 \text{ min}$), $G = 150 \text{ mg dl}^{-1}$ ($13 \text{ min} \leq t < 18 \text{ min}$), $G = 200 \text{ mg dl}^{-1}$ ($18 \text{ min} \leq t \leq 22 \text{ min}$).

L'eterogeneità delle cellule β sta alla base del 'controllo derivativo', cioè il fatto che il pancreas è in grado di percepire il tasso di cambio della concentrazione del glucosio (dG/dt) e non solo la concentrazione di glucosio stessa (G).

Ci sono alcune prove della possibilità che l'eterogeneità delle cellule β persista *in situ*, per esempio nei ratti, che sono stati utilizzati nell'esperimento di staircase di Grodsky, e negli umani.

Inoltre, il pancreas, dopo essere stato soggetto a uno stimolo prolungato di glucosio, risulta essere ipersensibile a ulteriori stimolazioni: questa capacità viene chiamata 'potenziamento'.

Nel modello presentato, il pancreas viene sottoposto a uno stimolo di $G = 300 \text{ mg dl}^{-1}$ per 60 minuti, successivamente la concentrazione di glucosio viene abbassata a zero per 5 minuti per poi essere incrementata nuovamente a $G = 300 \text{ mg dl}^{-1}$.

In risposta al primo stimolo di glucosio, si nota una secrezione di insulina pari a $0.6 \mu\text{g min}^{-1}$, mentre in seguito alla seconda stimolazione è stato osservato un picco di secrezione di insulina pari a $1 \mu\text{g min}^{-1}$.

Questo è dovuto al fatto che, durante la prima stimolazione prolungata, la 'intermediate pool' e la RRP vengono riempite con nuovi granuli contenenti insulina, in modo da aumentare la quantità di granuli nella RRP, prima del secondo stimolo, e permettere un rilascio di insulina maggiore.

Il modello è stato inoltre testato su simulazioni realizzate da **O'Connor et al.** (1980).

In una di queste, si nota che quando il livello di glucosio viene rapidamente abbassato a un livello inferiore ma comunque stimolante, nel grafico della secrezione di insulina compare un picco negativo.

Nel modello qui presentato (figura 7), i picchi e la ipersensibilizzazione sono simulati in maniera soddisfacente, ma è stato necessario modificare qualche parametro per riprodurre quantitativamente i picchi negativi dell'esperimento di O'Connor e per poter simulare la veloce comparsa del secondo picco, ottenuto tramite una mobilizzazione più rapida (figura 7b).

Inoltre, il modello presenta una lieve discesa nella secrezione di insulina dopo che il glucosio è stato abbassato da $G = 500 \text{ mg dl}^{-1}$ a $G = 150 \text{ mg dl}^{-1}$, difetto che si osserva anche nel modello di Grodsky.

In un'altra simulazione, si può notare che quando il pancreas viene stimolato intermittenemente con una concentrazione di glucosio $G = 300 \text{ mg dl}^{-1}$, esso risponde con picchi di secrezione di insulina aventi altezza simile, quindi non si presenta il fenomeno del potenziamento.

Questo è dovuto al fatto che lo stimolo di glucosio viene somministrato per un periodo breve di 7 minuti, in cui la ‘intermediate pool’ e la RRP non hanno il tempo di ricaricarsi per raggiungere una quantità di granuli maggiore proprio prima del secondo stimolo.

Il fatto che nelle simulazioni qui presentate (figura 8) siano presenti picchi di altezza crescente indica che il tasso di riempimento utilizzato è troppo elevato per questo esperimento.

Infine, il modello fallisce nel riprodurre l’ipersensibilizzazione risultante da una rampa a bassi livelli di glucosio prima di un impulso di glucosio a bassa concentrazione (non mostrato).

La rampa consiste nell’incremento lineare della concentrazione di glucosio da $G = 40 \text{ mg dl}^{-1}$ a $t = 0 \text{ min}$ a $G = 100 \text{ mg dl}^{-1}$ a $t = 20 \text{ min}$. G viene poi mantenuto costante a 100 mg dl^{-1} fino a $t = 35 \text{ min}$, dove viene abbassato a zero.

L’onda quadra a $G = 100 \text{ mg dl}^{-1}$ viene somministrata a $t = 40 \text{ min}$.

Il grafico di secrezione di insulina risulta essere piatto, a differenza del picco che si realizza in risposta all’onda quadra, nell’esperimento di O’Connor.

Questo è dovuto al fatto che, durante la rampa, viene utilizzato un tasso di mobilitazione molto basso che non permette alla RRP di ricaricarsi di granuli sufficientemente.

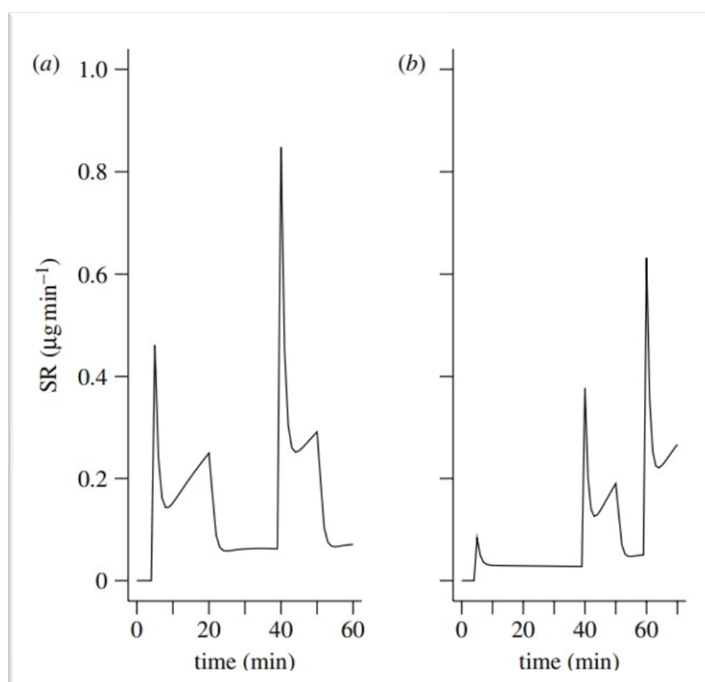


Figura 7. Simulazione della secrezione di insulina da esperimenti di O’Connor *et al.* (1980).

(a) G è stato portato a 500 mg dl^{-1} da $t = 5 \text{ min}$ a $t = 20 \text{ min}$ quando viene abbassato a $G = 150 \text{ mg dl}^{-1}$. Questo livello viene tenuto costante fino a quando uno stimolo di $G = 500 \text{ mg dl}^{-1}$ viene fornito tra $t = 40 \text{ min}$ e $t = 50 \text{ min}$. Poi il glucosio è stato abbassato a $G = 150 \text{ mg dl}^{-1}$ per il restante tempo. (b) G viene portata a 150 mg dl^{-1} tra $t = 5 \text{ min}$ e $t = 40 \text{ min}$ dove viene aumentato a $G = 500 \text{ mg dl}^{-1}$ per 10 min. A $t = 50 \text{ min}$, G viene abbassato a $G = 150 \text{ mg dl}^{-1}$ per 10 min, per poi essere mantenuto costante a $G = 500 \text{ mg dl}^{-1}$ per il tempo restante.

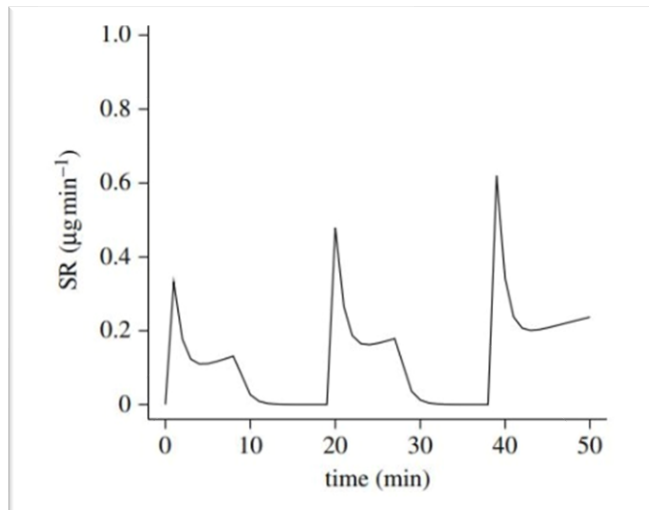


Figura 8. Simulazione dell'esperimento di O'Connor *et al.* (1980). Vengono somministrati stimoli di glucosio di 300 mg dl^{-1} a $t = 0 \text{ min}$ e $t = 20 \text{ min}$, di durata 7 min , e a $t = 40 \text{ min}$ per il resto dello studio. Tra gli stimoli di glucosio, G viene abbassato a zero.

Il modello è in grado di riprodurre anche gli esperimenti di **Henquin *et al.*** (2002).

Gruppi di isole sono state poste all'interno di un mezzo contenente $250 \mu\text{g}$ di diazossido, molecola che apre i canali del potassio ATP dipendenti, permettendo il flusso verso l'esterno della cellula degli ioni K^+ . Questo porta ad una chiusura dei canali del calcio con conseguente blocco del flusso di Ca^{2+} e quindi di insulina. Si può quindi assumere che il glucosio abbia effetti sulla mobilizzazione e sulla ricarica della RRP ma non sulla fusione.

Aggiungendo nulle o basse concentrazioni di glucosio ($G = 3 \text{ mM}$) al diazossido, Henquin *et al.* erano in grado di controllare il riempimento della RRP indipendentemente dall'esocitosi: la fusione, e quindi il rilascio di insulina, vengono innescate dalla depolarizzazione ad alte concentrazioni di potassio.

Se al diazossido viene fornita una quantità più elevata di glucosio ($G = 10 \text{ mM}$) si ottengono dei risultati simili a quelli dell'esperimento precedente.

Assumiamo ora che tutte le cellule β siano attivate, ponendo $G = 500 \text{ mg dl}^{-1}$ nelle equazioni (2.1) e (2.2) per la RRP.

Si può osservare (figura 9a) che una prolungata stimolazione delle cellule ad alti livelli di potassio, ma in assenza di glucosio, porta a una secrezione bifasica di insulina, con un picco corrispondente allo svuotamento della RRP e una discesa, nella seconda fase, corrispondente allo svuotamento della 'intermediate pool'.

Sono presenti anche successivi picchi di altezza decrescente perché tra gli stimoli intermittenti di potassio, la RRP si ricarica solo parzialmente, a causa del lento svuotamento della 'intermediate pool', garantendo un flusso di insulina minore.

Invece, se le cellule β vengono stimulate ad alti livelli di potassio, ma in presenza di glucosio, e quindi con un tasso di mobilizzazione maggiore, (figura 9b) si crea un picco, come nella figura 9a, ma i successivi picchi hanno altezze simili.

Questo è dovuto al fatto che la ‘intermediate pool’ non si svuota e, conseguentemente, la RRP si ricarica in ugual modo tra i vari stimoli di potassio: la quantità di insulina rilasciata sarà quindi la stessa.

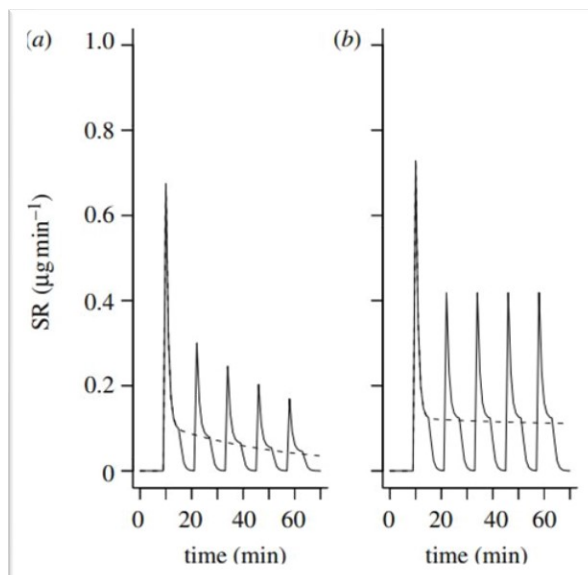


Figura 9. Secrezione di insulina stimolata da potassio in presenza di diazossido e (a) assenza di glucosio o (b) una concentrazione intermedia di glucosio. Il potassio è stato somministrato in maniera continua (linea tratteggiata) o in maniera intermittente con stimolazioni di 6 minuti ogni 12 minuti (linea continua).

È stato inoltre osservato che la frazione di granuli che subisce kiss-and-run aumenta all'aumentare della concentrazione di glucosio e di lipidi alla quale le cellule β sono sottoposte per un periodo prolungato.

Se si simula la secrezione di insulina in risposta a un'onda quadra di glucosio $G = 300 \text{ mg dl}^{-1}$, usando $k = 4m$ (che significa che il fenomeno di kiss-and-run avviene nel 80% dei granuli fusi), il grafico qualitativo di secrezione è uguale a quello presentato nella figura 4, ma la quantità di insulina rilasciata è dimezzata.

Nonostante un incremento del fenomeno di kiss-and-run porti a un abbassamento dei tassi di secrezione, esso non può però spiegare l'assenza della prima fase di secrezione di insulina nei pazienti diabetici, a meno che la frequenza di questi eventi non cambi di minuto in minuto durante la stimolazione (figura 10).

La modifica di altri segnali, come il calcio e il NAD(P)H, può avere un'importanza maggiore nello smussamento della prima fase di secrezione di insulina, rispetto agli eventi di kiss-and-run.

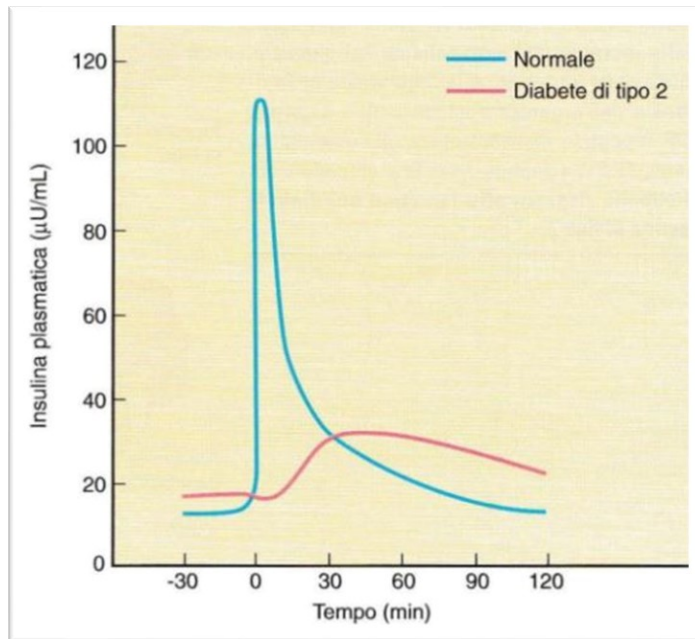


Figura 10. Rappresentazione della secrezione di insulina in pazienti sani (curva azzurra) e in pazienti con diabete mellito di tipo 2 (curva rosa).

3. ALGORITMO DI CONTROLLO

Gli algoritmi di controllo usati nel contesto del pancreas artificiale sono principalmente basati su tecniche di controllo ingegneristico e di intelligenza artificiale, implementati senza tener conto del comportamento fisiologico del pancreas reale.

Replicare la funzionalità del corpo umano può portare a un sistema con funzioni fisiologiche migliori e in grado di offrire un approccio terapeutico ottimale.

Per questo, viene qui presentato un controllore di glucosio basato sul modello matematico delle cellule β sviluppato da Pedersen *et al* (figura 11).

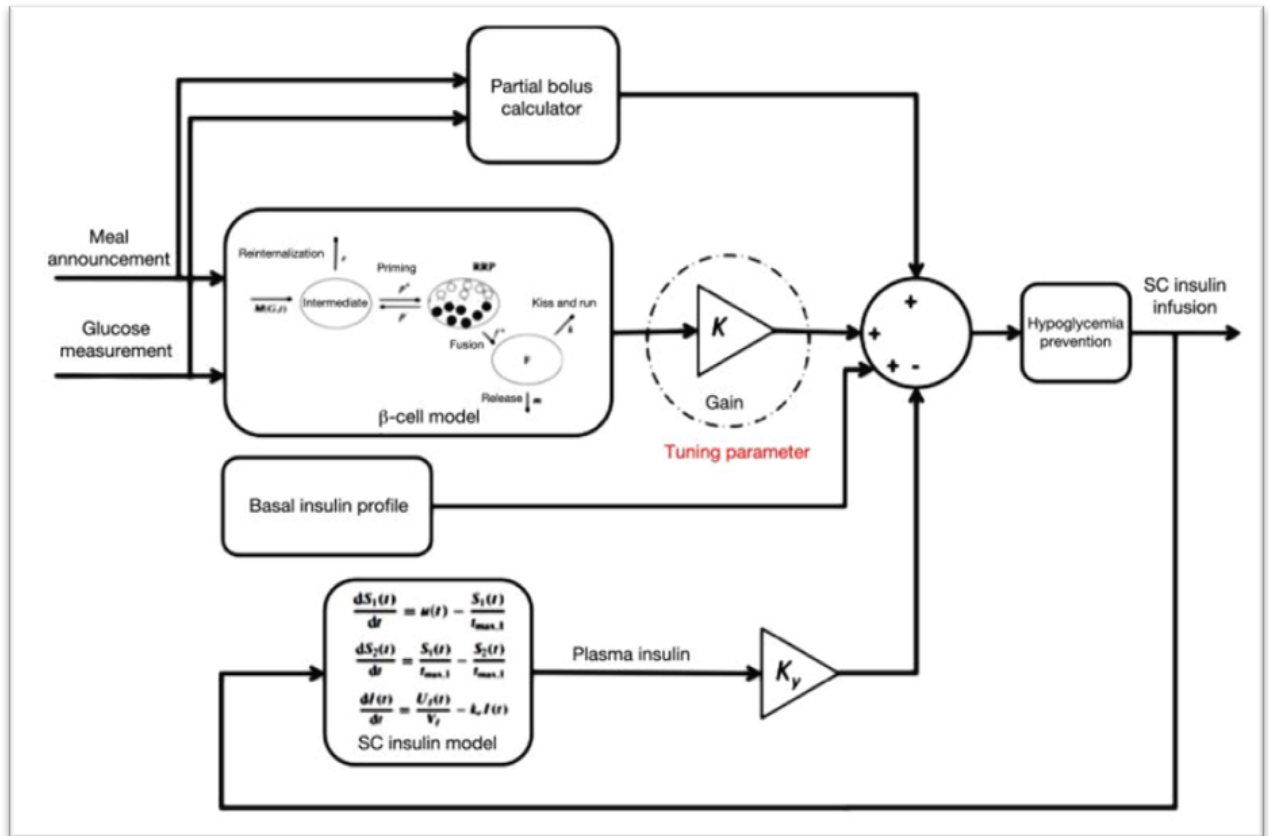


Figura 11. Rappresentazione del controllore di glucosio “bio-inspired”.

Come prima verifica teorica per l’approccio bio-inspired proposto, il modello è stato usato per il rilevamento del glucosio e il rilascio di insulina tramite via endovenosa (IV).

L’equazione (2.3) è stata modificata sostituendo il termine di rilascio costante m con un termine di guadagno regolabile (K) per far fronte alla variabilità della sensibilità all’insulina dei pazienti. Inoltre per inibire la secrezione di insulina al di sotto del livello basale di glucosio è stata aggiunto un termine di guadagno variabile (K_b) che moltiplica il termine di secrezione basale di insulina (SR_b).

L'output del controllore endovenoso è descritto da

$$U_{iv} = KF(t) + K_bSR_b$$

dove $F(t)$ è la dimensione della 'fused pool' e $K_b = \min(1, \frac{G-G_{lim}}{G_{sp}-G_{lim}})$.

G_{sp} è il valore di riferimento del glucosio e G_{lim} è il valore di glucosio a cui iniziare l'inibizione. Per testare la validità del controllore IV è stato utilizzato un pasto contenente 75 g di carboidrati (figura 12).

Nonostante il controllore funzioni bene dal punto di vista del controllo, non rappresenta una soluzione praticabile per il pancreas artificiale ambulatoriale. Esso è stato anche testato *in silico* usando la via sottocutanea (SC) ma non sono stati ottenuti risultati soddisfacenti a causa di una quantità eccessiva di insulina rilasciata, dovuta a ritardi e rumori introdotti dalla via SC stessa. Il controllo sottocutaneo, infatti, presenta ritardi nel rilevamento del glucosio (fino a 15 minuti) e nel tempo di azione dell'insulina (15-20 minuti); la variabilità dei ritardi è elevata e l'accuratezza dei sensori di glucosio SC non è ottimale, causando problemi soprattutto nella fase di ipoglicemia.

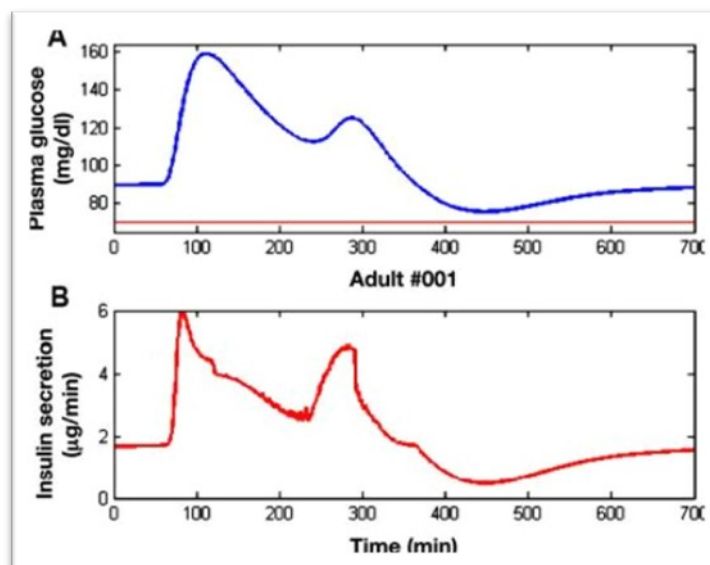


Figura 12. Esempio di controllore IV. (a) Concentrazione di glucosio nel plasma corrispondente a un pasto da 75 g di carboidrati (linea blu). Soglia della ipoglicemia (linea rossa). (b) Rilascio di insulina corrispondente.

L'obiettivo è quello di sviluppare un controllore di glucosio sottocutaneo a catena chiusa, basato sul modello matematico di secrezione di insulina prescelto, che sia in grado di far fronte agli inconvenienti della via SC.

Una soluzione è quella di inserire nel controllore un termine di feedback di insulina che ne inibisce la secrezione nel momento in cui la concentrazione di insulina plasmatica si trova a livelli elevati. L'output del controllore SC è descritto da

$$U_{sc} = KF(t) + SR_b - K_y I(t)$$

dove K_y è un guadagno regolabile e $I(t)$ è la concentrazione stimata di insulina nel sangue.

In questo modo, il rilascio di insulina viene ridotto di una quantità proporzionale alla stima del livello di insulina plasmatica.

Si nota, inoltre, che il termine K_b moltiplicato al livello basale di insulina non è più presente.

È inoltre necessario che i pasti siano annunciati, in modo che il controllore rilasci una quantità maggiore di insulina nel periodo che coincide con l'ingestione del pasto, per minimizzare l'iperglicemia, dovuta al picco di glucosio iniziale, e che rilasci una quantità di insulina ridotta nei momenti di digiuno o nelle ore lontane dai pasti, per evitare l'accumulo di insulina.

Per questo, vengono utilizzati tre termini di guadagno: K_p, K_h, K_f .

K_p viene usato per un certo periodo di tempo T_p dopo l'ingestione del pasto (se $T_{meal} < t < T_{meal} + T_p$), K_h è usato quando la concentrazione di glucosio è sopra una certa soglia (se $G(t) > 180 \text{ mg dl}^{-1}$), K_f in tutti gli altri casi.

Prima dell'ingestione del pasto, viene somministrato il 70% del bolo insulinico, calcolato usando la ragione carboidrati-insulina del soggetto.

Il termine di insulina basale viene settato al 70% del profilo di infusione di insulina basale del soggetto.

Inoltre, per attenuare i ritardi associati al controllo SC, le misure di glucosio vengono previste con 15 minuti di anticipo, usando una regressione lineare degli ultimi sei valori di glucosio (quelli misurati negli ultimi 30 minuti). La regressione lineare viene resettata quando il sensore di glucosio viene ricalibrato.

Questo permette di minimizzare i casi di ipoglicemia: se il valore di glucosio previsto si trova sotto una certa soglia, l'algoritmo dimezza il rilascio di insulina proposto dal controllore, mentre se il valore di glucosio previsto si trova al di sotto di una soglia ancora più bassa, il rilascio di insulina viene annullato.

In particolare,

$$\text{se } G(t) + SH < 70 \frac{mg}{dl} \rightarrow U_{sc}(t) = 0,$$

$$\text{altrimenti se } G(t) + SH < 90 \frac{mg}{dl} \rightarrow U_{sc}(t) = 0.5U_{sc}(t)$$

dove $G(t)$ è il valore di glucosio corrente, H è l'orizzonte di previsione e S è il tasso di cambio del glucosio.

Per prevenire l'iperglicemia, la sospensione di insulina è limitata a 90 minuti, tempo oltre il quale il rilascio di insulina viene ripristinato al 50% per 30 minuti; oltre questo periodo la sospensione totale di insulina viene riattivata se sono soddisfatte le condizioni di ipoglicemia.

Per raggiungere un buon controllo per ogni soggetto affetto da diabete di tipo 1, è necessario che il controllore sia regolato individualmente.

I parametri da regolare sono: i guadagni K_f, K_h, K_p , il periodo T_p , il guadagno del feedback di insulina K_y , il numero di campioni usati nella regressione lineare n , l'orizzonte di previsione H e il valore di riferimento del glucosio G_{sp} .

In realtà, dopo diversi test *in silico* è stato osservato che la maggior parte di questi parametri ha poca variabilità da un soggetto all'altro e il suo valore può essere fissato; l'unico parametro da regolare individualmente è K_p .

La regolazione consiste in un algoritmo che aggiusta K_p in modo che, dato un certo profilo di glucosio, il controllore rilasci la stessa quantità di insulina somministrata durante lo scenario a catena aperta.

Lo scenario, della durata di 24 ore, consiste in un unico pasto di 60 g di carboidrati ingeriti tre ore dopo il suo inizio.

Il tasso basale di insulina viene aggiustato per ottenere una concentrazione basale di glucosio vicina al valore di riferimento del glucosio e il rapporto insulina/carboidrati viene modificato per ottenere un undershoot vicino a 80 mg/dl.

La funzione *fmincon* proveniente dal MATLAB Optimization Toolbox™ viene usata per trovare il guadagno K_p che minimizza la seguente funzione:

$$J = \int_0^T U_{sc}(t)dt - (SR_b T + \frac{CHO}{ICR})$$

dove T è la durata dello scenario, ovvero 24 ore, CHO è la quantità di carboidrati ingeriti, cioè 60 g e ICR è il rapporto di insulina/carboidrati.

In questo modo si ottengono i seguenti valori:

Parametro (unità di misura)	Valore
K_f	$0.2K_p$
K_h	$0.5K_p$
T_p (min)	60
K_y	15
n (min)	30
H (min)	20
G_{sp} (mg/dl)	100

Questo algoritmo di controllo (figura 13) è stato implementato su un singolo microchip di silicio di grandezza 5×5 mm all'interno di un dispositivo portatile.

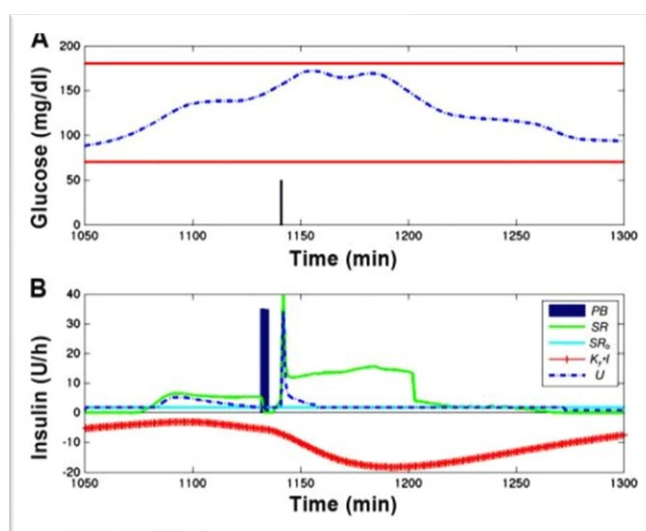


Figura 13. Esempio di rilascio di insulina dal controllore di glucosio SC bio-inspired. (a) Misure di glucosio sottocutaneo (linea blu tratteggiata), soglie di iper- e ipoglicemia (linee rosse continue) e pasti (barra verticale nera). (b) Bolo parziale pre-pasto (PB, barra blu), secrezione di insulina (SR, linea verde continua), livello di insulina basale (SR_b, linea azzurra continua), feedback di insulina ($K_y * I$, linea rossa) e insulina rilasciata (U , linea blu tratteggiata).

4. STUDIO DI FATTIBILITA'

Il sistema di BiAP è stato valutato negli adulti e negli adolescenti affetti da diabete mellito di tipo 1 in condizioni di digiuno, nel periodo notturno e in quello successivo ai pasti per dimostrarne la fattibilità e la sicurezza.

4.1 Criteri di inclusione

Per poter partecipare allo studio, i soggetti reclutati dalle cliniche del diabete del Imperial Collage Healthcare NHS Trust di Londra dovevano avere un'età compresa tra i 18 e i 75 anni, una durata del diabete superiore ad un anno, livelli di C-peptide a digiuno inferiori a 0.2 nmol/L , trattamento con continue infusioni di insulina sottocutanea di durata superiore ai 6 mesi e livelli di emoglobina glicosilata inferiori a 8.5%.

Persone con ricorrente e severa ipoglicemia, con malattie maligne, o impiegati in altri studi clinici, donne incinte o che allattano sono state escluse dallo studio.

4.2 Protocollo di studio a catena chiusa in condizioni di digiuno (6 h)

Dopo che i soggetti sono arrivati al NIHR/Wellcome Trust Imperial Clinical Research Facility alle 8.00 a digiuno, sono stati misurati i loro livelli di glucosio nel sangue e il tasso basale di ogni soggetto è stato modificato, se ritenuto necessario dal medico curante.

Un sensore di glucosio sottocutaneo è stato inserito nell'addome e connesso via cavo all'unità portatile contenente l'algoritmo di controllo, la quale è stata poi collegata via USB ad un computer con accesso a MATLAB™, che ha permesso al team di approvare ogni dose di insulina raccomandata dal controllore stesso.

L'algoritmo di controllo è stato regolato sulla base della sensibilità all'insulina di ogni soggetto e in modo da raggiungere un livello target di glucosio pari a 5.5 mmol/L , mentre i tassi basali di insulina sono stati somministrati continuamente per via sottocutanea fino all'inizio del rilascio di insulina a catena chiusa.

La pompa di insulina di ogni soggetto è stata sostituita con la pompa utilizzata nello studio in modo da poter trasmettere ad essa le istruzioni per l'infusione di insulina tramite Roche Bluetooth®.

L'algoritmo di controllo indica pertanto una dose di insulina consigliata sulla base del livello di glucosio interstiziale misurato dal sensore sottocutaneo ogni 5 minuti; questa dose viene effettivamente somministrata al soggetto nel momento in cui viene approvata dal team di lavoro. Inoltre, per tutta la durata dello studio, ogni 15 minuti, un campione di sangue venoso è stato analizzato per tenere sotto controllo i livelli di glucosio.

4.3 Protocollo di studio a catena chiusa nel periodo notturno e di post-colazione (13 h)

I soggetti sono arrivati al NIHR/Wellcome Trust Imperial Clinical Research Facility alle 18.00 non a digiuno, avendo consumato un pasto a loro scelta e avendo preso i loro boli di insulina prima del consumo del pasto.

Il sistema di rilascio di insulina è stato disposto come nello studio precedente con la differenza che la comunicazione tra l'unità portatile e il computer è stata raggiunta via Bluetooth, per permettere ai soggetti di muoversi, e il livello target di glucosio è stato posto a 6.5 mmol/L , per una maggiore sicurezza nel periodo notturno.

Per evitare ammassi di insulina a causa di boli somministrati prima dell'inizio dello studio, il controllore è stato completamente attivato nel momento in cui il livello di glucosio ha raggiunto una soglia predefinita.

Lo studio è iniziato alle 22.00, nel momento in cui l'algoritmo di controllo ha indicato una certa dose di insulina raccomandata sulla base del livello di glucosio interstiziale misurato dal sensore sottocutaneo ogni 5 minuti.

Ogni 15-30 minuti, durante tutta la durata dello studio, un campione di sangue venoso è stato analizzato per tenere sotto controllo i livelli di glucosio.

Inoltre, i soggetti potevano bere solo acqua durante il periodo notturno.

Il giorno successivo, alle 6.00, è stata fornita una colazione contenente 40 g di carboidrati e il 70% di una dose di insulina, calcolata usando il rapporto insulina/carboidrati del soggetto, è stata rilasciata, dopo aver annunciato il pasto all'algoritmo.

Lo studio è terminato 5 ore dopo la colazione, alle 11.00.

4.4 Risultati

20 adulti con diabete mellito di tipo 1 hanno partecipato allo studio in condizioni di digiuno, mentre 17 di questi hanno partecipato allo studio nel periodo notturno e di post-colazione.

È stato suggerito ai soggetti di evitare l'esercizio fisico nelle 24 ore precedenti lo studio, in modo che, gli iniziali livelli di glucosio a digiuno siano più elevati in parte come risultato della ridotta attività la sera precedente lo studio.

Nello studio a catena chiusa in condizioni di digiuno, i dati del glucosio prelevati nelle prime due ore di studio sono stati scartati dall'analisi perché il controllore non era in grado di influenzare la concentrazione di glucosio nel periodo iniziale; i dati delle ore successive, insieme con i dati provenienti dall'intero studio, sono riportati nella tabella 1. Si può notare che non si sono verificati fenomeni di grave iperglicemia ($> 15 \text{ mmol/L}$) e di grave ipoglicemia

(< 2.8 mmol/L), il glucosio rilevato dal sensore (pari in media a 5.7 mmol/L) si avvicina molto al valore target di glucosio di 5.5 mmol/L, mantenendosi all'interno del target range stabilito nel 98% del tempo, ed è equivalente alle misure di glucosio nel sangue, suggerendo una buona accuratezza del sensore (figura 14).

Inoltre, le dosi di insulina consigliate dal controllore non sono state approvate in otto occasioni (rappresentando il 0.6% di tutte le dosi consigliate) a causa di artefatti intermittenti riportati in due soggetti e la sospensione del rilascio di insulina è avvenuta in dieci occasioni, garantendo una buona accuratezza del controllore.

Il sensore è stato ricalibrato in sole sei occasioni.

Outcome measure	MEANS (SD)	
	Sensor glucose	Blood glucose
Time 12:00–16:00 h (total 4 h)		
% time in		
Target range (3.9–10.0 mmol/L)	98.0 (90.8–100.0)	100.0 (84.7–100.0)
Euglycemia (3.9–7.8 mmol/L)	96.4 (63.7–100.0)	100.0 (75.0–100.0)
Hypoglycemia (<3.9 mmol/L)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
Hyperglycemia (>10.0 mmol/L)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
Glucose (mmol/L)	5.7 (1.8)	5.8 (1.5)
Low Blood Glucose Index (0.0–6.9)	3.2 (4.1)	2.4 (2.0)
High Blood Glucose Index (0.0–7.7)	1.4 (3.5)	1.1 (2.2)
Time 10:00–16:00 h (total 6 h)		
% time in		
Target range (3.9–10.0 mmol/L)	89.0 (69.1–98.7)	86.5 (78.4–100.0)
Euglycemia (3.9–7.8 mmol/L)	69.9 (49.8–91.1)	72.0 (53.6–89.0)
Hypoglycemia (<3.9 mmol/L)	0.0 (0.0–5.8)	0.0 (0.0–1.0)
Hyperglycemia (>10.0 mmol/L)	0.8 (0.0–17.8)	0.0 (0.0–17.2)
Glucose (mmol/L)	6.6 (1.9)	6.7 (1.6)
Low Blood Glucose Index (0.0–6.9)	3.0 (3.6)	2.4 (1.9)
High Blood Glucose Index (0.0–7.7)	3.9 (4.5)	3.6 (3.2)

Tabella 1. Risultati dallo studio a catena chiusa in condizioni di digiuno.

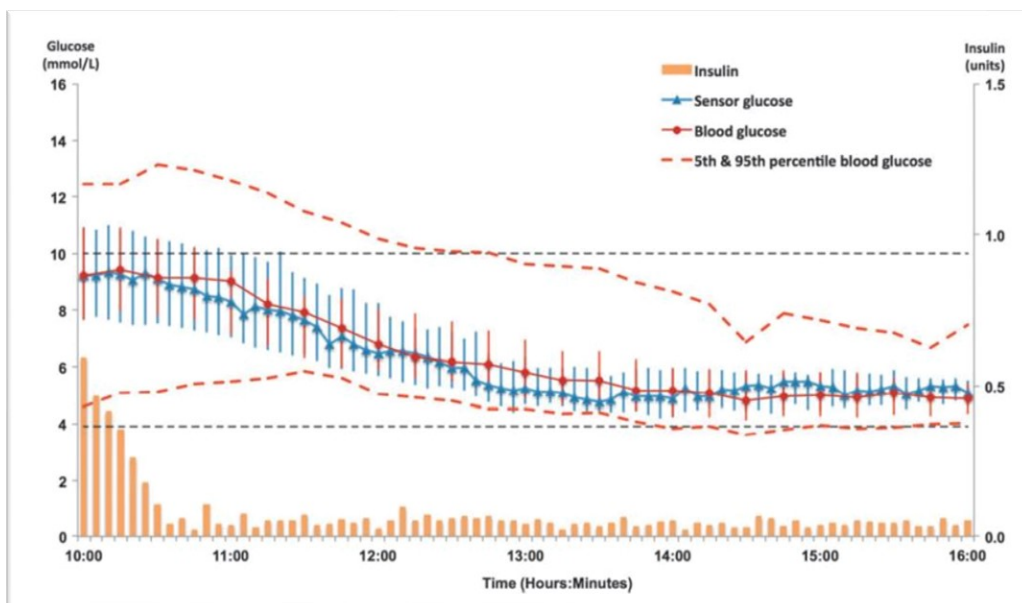


Figura 14. Andamento del glucosio nel tempo e rilascio di insulina nei 20 soggetti nello studio a catena chiusa in condizioni di digiuno. È rappresentato il livello di glucosio nel sangue (linea rossa punteggiata), quinto e novantacinquesimo percentile del glucosio nel sangue (linee rosse tratteggiate), livello di glucosio rilevato dal sensore (linea blu a triangoli), soglie del glucosio (linee nere tratteggiate), dose media di insulina rilasciata (barre verticali arancioni).

Nello studio a catena chiusa nel periodo notturno e di post-colazione, i dati provenienti dalle prime due ore di studio sono stati esclusi per considerare i boli di insulina somministrati prima dell'inizio dello studio; i dati delle ore successive sono riportati nella tabella 2.

Si può notare che non sono presenti casi di grave iperglicemia o grave ipoglicemia anche se, nel periodo successivo alla colazione, il livello di glucosio aumenta fino a raggiungere un picco di 12 mmol/L per poi riportarsi ai livelli ottimali dopo qualche ora.

Inoltre, il glucosio rilevato dal sensore, pari in media a 6.7 mmol/L, si avvicina molto al valore target di glucosio di 6.5 mmol/L, considerando l'intervallo di confidenza di 5.8 – 7.6 mmol/L. Le dosi di insulina consigliate dal controllore sono state tutte approvate e il sistema di sospensione di insulina è stato attivato 12 volte; il sensore è stato ricalibrato in 21 occasioni totali.

Outcome measure	Results (n=17)	
	Sensor glucose	Blood glucose
Time 00:00–11:00 h (11 h in total)		
% time in		
Target range (3.9–10.0 mmol/L)	70.7 (63.9–77.4)	67.6 (59.5–70.3)
Euglycemia (3.9–7.8 mmol/L)	42.9 (18.8–51.9)	37.8 (29.7–51.4)
Hypoglycemia (<3.9 mmol/L)	0.0 (0.0–2.3)	0.0 (0.0–0.0)
Hyperglycemia (>10.0 mmol/L)	26.3 (20.3–26.3)	32.4 (29.7–40.5)
Glucose (mmol/L)	8.3 (1.2)	9.0 (1.4)
Low Blood Glucose Index (0.0–6.9)	3.0 (5.1)	1.2 (1.9)
High Blood Glucose Index (0.0–7.7)	8.3 (3.3)	8.3 (3.4)
Time 00:00–06:00 h (6 h in total)		
% time in		
Target range (3.9–10.0 mmol/L)	93.2 (71.6–97.3)	100 (81.3–100)
Euglycemia (3.9–7.8 mmol/L)	67.6 (32.4–82.4)	58.8 (35.3–94.1)
Hypoglycemia (<3.9 mmol/L)	0.0 (0.0–4.1)	0.0 (0.0–0.0)
Hyperglycemia (>10.0 mmol/L)	0.0 (0.0–14.9)	0.0 (0.0–11.8)
Glucose (mmol/L)	6.7 (1.9)	7.4 (2.0)
Low Blood Glucose Index (0.0–6.9)	3.0 (5.1)	1.2 (1.9)
High Blood Glucose Index (0.0–7.7)	3.2 (2.8)	3.4 (3.9)

Tabella 2. Risultati dallo studio a catena chiusa nel periodo notturno e di post-colazione.

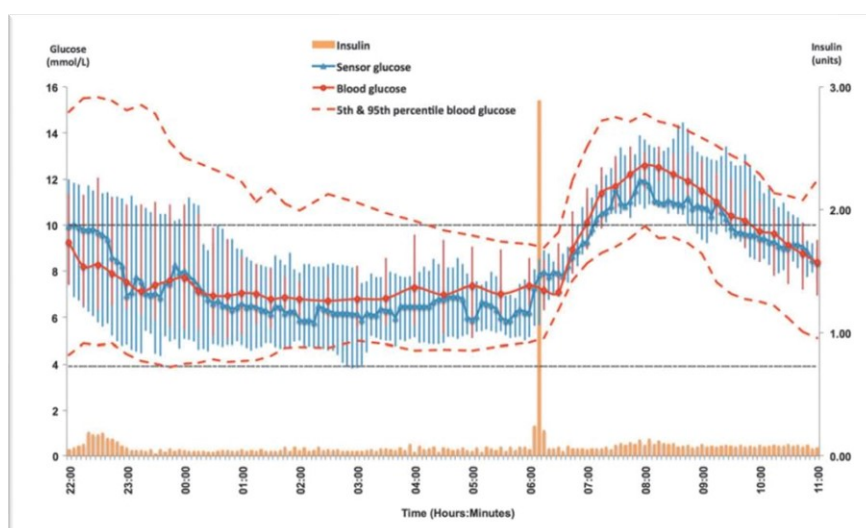


Figura 15. Andamento del glucosio nel tempo e rilascio di insulina nei 17 soggetti nello studio a catena chiusa nel periodo notturno e di post-colazione. È rappresentato il livello di glucosio nel sangue (linea rossa punteggiata), quinto e novantacinquesimo percentile del glucosio nel sangue (linee rosse tratteggiate), livello di glucosio rilevato dal sensore (linea blu a triangoli), soglie del glucosio (linee nere tratteggiate), dose media di insulina rilasciata (barre verticali arancioni).

5. DISCUSSIONE

I risultati ottenuti dallo studio dimostrano la sicurezza e la fattibilità del BiAP e la sua capacità di raggiungere un controllo glicemico ottimale negli adulti affetti da diabete mellito di tipo 1.

In particolare, si può notare che il controllore è in grado di abbassare il livello di glucosio, raggiungendo il target range, a prescindere dalla concentrazione di glucosio nel sangue e in uno scenario in cui il controllore non sa la quantità di insulina presente.

Inoltre, per la maggior parte del tempo, il valore del glucosio rilevato dal sensore è molto vicino al valore del glucosio posto come riferimento, garantendo una buona efficacia dal punto di vista del controllo; è poi avvenuto un solo caso di ipoglicemia e nessun episodio di severa ipoglicemia e fenomeni di iperglicemia si sono verificati solo in seguito alla somministrazione del pasto, per poi riportarsi ai valori ottimali.

Si osserva, però, che se fosse stato considerato un periodo postprandiale più lungo, si sarebbe ottenuta una riduzione maggiore del livello di glucosio.

Proprio per questo, l'obiettivo della fase successiva dello studio è quello di ottimizzare il controllore, rendendolo più aggressivo nell'abbassamento del glucosio, quando le concentrazioni di glucosio sono al di sopra della soglia iperglicemica, soprattutto nel periodo che segue i pasti.

Per il raggiungimento di questo obiettivo, un ruolo decisivo viene ricoperto dal termine di feedback di insulina, necessario per garantire il controllo glicemico in seguito alla somministrazione del pasto.

Inoltre, nella successiva fase dello studio, sarà importante incrementare la sicurezza nel caso in cui un pasto non venga annunciato: se, infatti, il controllore non sa che un pasto sta per essere somministrato, esso si comporterà in maniera meno aggressiva, portando a casi di iperglicemia (non grave).

Un'altra limitazione del BiAP da non sottovalutare è il fatto che esso non sia in grado di rappresentare la variabilità della sensibilità all'insulina durante il giorno, non considerando nemmeno l'effetto dell'esercizio fisico sul fabbisogno di insulina, creando alterazioni del livello di glucosio e insulina significative.

Una parziale soluzione al problema potrebbe essere l'aggiunta del glucagone in un sistema bi-ormonale a catena chiusa, il quale permette di ridurre ulteriormente l'incidenza di ipoglicemia.

È importante evidenziare che il modello di β -cellule utilizzato nel controllore appena presentato è diverso da quello utilizzato dai controllori PID.

Il modello di β -cellule del BiAP è deduttivo, ovvero descrive gli eventi di rilascio di insulina da un punto di vista subcellulare (include infatti i processi di mobilizzazione, fusione, kiss-and-

run...) mentre quello utilizzato nei controllori PID è un modello induttivo, nel quale i vari parametri e strutture non hanno un significato fisiologico.

Anche se entrambi sono in grado di replicare la secrezione di insulina delle β -cellule, come osservata negli studi *in vitro*, solo il modello presentato da Pedersen *et al.* è in grado di filtrare il rumore in ingresso e di fornire una risposta molto simile a quella delle β -cellule nel momento della somministrazione del pasto.

In conclusione, è stato dimostrato che il BiAP rappresenta un ottimo controllore di glucosio: sicuro perché basato sulla fisiologia delle β -cellule, comodo perché implementato su un dispositivo portatile e completo perché adatto a soggetti con diabete mellito di tipo 1 in condizioni di digiuno, nel periodo notturno e postprandiale.

BIBLIOGRAFIA

- [1] David S. Strayer, Emanuel Rubin, Rosario Rizzuto, Massimo Rugge, Simonetta Ausoni, *Patologia generale. Anatomia patologica*, Piccin-Nuova Libreria, sesta edizione, capitolo 22, pagg. 1115-1125
- [2] Morten Gram Pedersen, Alberto Corradin, Gianna M. Toffolo e Claudio Cobelli. *A subcellular model of glucose-stimulated pancreatic insulin secretion*. Phil. Trans. R. Soc. A (2008) 366, 3525–3543 doi:10.1098/rsta.2008.0120 Published online 24 July 2008
- [3] Pau Herrero, Ph.D., Pantelis Georgiou, Ph.D., Nick Oliver, M.B.B.S., MRCP, Desmond G Johnston, FMedSci and Christofer Toumazou, Ph.D. *A Bio-Inspired Glucose Controller Based on Pancreatic β -Cell Physiology*, Journal of Diabetes Science and Technology Volume 6, Issue 3, May 2012 © Diabetes Technology Society
- [4] Monika Reddy, MRCP, Pau Herrero, PhD, Mohamed El Sharkawy, MSc, Peter Pesl, Dipl-Ing(FH), Narvada Jugnee, BSc, Hazel Thomson, MSc, Darrell Pavitt, PhD, Christofer Toumazou, FRS, Desmond Johnston, FMedSci, Pantelis Georgiou, PhD, and Nick Oliver, MRCP. *Feasibility Study of a Bio-inspired Artificial Pancreas in Adults with Type 1 Diabetes*, DIABETES TECHNOLOGY & THERAPEUTICS Volume 16, Number 9, 2014 ^a Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/dia.2014.0009.