

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

FACOLTA' DI INGEGNERIA

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA
DIPARTIMENTO DI ELETRONICA E INFORMATICA**

TESI DI LAUREA

**MODELLI DEL TURNOVER DEL CORTISOLO E
CORTISONE**

LAUREANDA: FONDA MANEMING CAROLE AMELIE

**RELATORE: PROF. GIANNA MARIA TOFFOLO
CORRELATORE: Dott. DALLA MAN CHIARA**

ANNO ACCADEMICO 2010-2011

Al mio marito e ai miei figli

INDICE

Sommario Summary

1 Introduzione

- 1.1 Fisiologia
 - 1.1.1 Il cortisolo e il cortisone
 - 1.1.2 L'enzima 11 β -ol-deidrogenasi
- 1.2 Scopo della tesi
- 1.3 Contenuto della tesi

2 Protocollo sperimentale

- 2.1 Soggetti: Caratteristiche individuali e dati antropometrici
- 2.2 Protocollo sperimentale

3 Modellistica del cortisolo per la stima del volume di distribuzione

- 3.1 Modello black-box della cinetica del [3H] cortisol
- 3.2 Modello bicompartimentale della cinetica del [3H]cortisol
- 3.3 Stima dei parametri con il modulo numerico
 - 3.3.1 Modello a 2 esponenziali
 - 3.3.2 Modello a 3 esponenziali
 - 3.3.3 Scelta del modello migliore
- 3.4 Stima dei parametri con il modulo compartimentale
 - 3.4.1 Soggetti obesi

- 3.4.2 Soggetti diabetici
- 3.4.3 Soggetti normali
- 3.4.4 Sommario dei risultati

4 Flusso di comparsa del cortisolo

- 4.1 Il modello di Steele
- 4.2 Equazioni di $Ra_{[^{13}C]cortisol}$, $Ra_{[^{2}H]cortisol}$ e $Ra_{cortisol}$
- 4.3 Elaborazione dei dati
 - 4.3.1 Organizzazione dei dati originali
 - 4.3.2 Elaborazione e smoothing
- 4.4 Profili
 - 4.4.1 Profili dei dati originali
 - 4.4.2 Profili dei rapporti traccianti-tracciato
 - 4.4.3 Profili dei flussi $Ra_{[^{13}C]cortisol}$, $Ra_{[^{2}H]cortisol}$, $Ra_{cortisol}$

5 Conclusioni

Bibliografia

Sommario

L'obiettivo principale di questa tesi è la stima della cinetica e della produzione epatica del cortisolo nei soggetti diabetici, obesi e normali. Lo studio è stato eseguito su un gruppo di undici soggetti per ognuno dei quali è stato stimato il flusso di comparsa del cortisolo da pasto.

Il metodo utilizzato in questo studio è l'approccio a triplo tracciante che permette di implementare il clamp del rapporto tracciante tracciato e minimizzare quindi l'errore di modello nella stima del flusso in questione. L'obiettivo finale è capire se l'obesità o il diabete di tipo 2 diminuiscono il tasso della conversione del cortisone in cortisolo.

Summary

The principal aim of this work is assessment of postprandial cortisol metabolism in diabetics, obese and lean subjects. The study was performed in eleven subjects. In each of them the rate of appearance of cortisol coming from the meal has been estimated. The experiments proposed use a novel triple tracer approach which allow to achieve the clamp of the tracer-to-trace ratio, thus minimizing the modeling error when estimating cortisol rate of appearance. The final objective is to determine if obesity or type 2 diabetes decreases the rate of hepatic cortisone to cortisol conversion.

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

1.1 Fisiologia

1.1.1 Il cortisolo e il cortisone

Il cortisolo è il principale ormone glicocorticoide prodotto dalle surrenali. Nel sangue è legato al 90 per cento a proteine. Il cortisolo urinario libero dà un indice della frazione attiva del cortisolo circolante nel sangue. L'aumento o la diminuzione del cortisolo indicano rispettivamente un'attività eccessiva o carente delle ghiandole surrenali. Tuttavia per diagnosticare con certezza l'insufficienza delle surrenali occorrono anche altri esami. Nelle donne gravide o che prendono la pillola è normale un aumento di questa sostanza, che però non ha conseguenze cliniche.

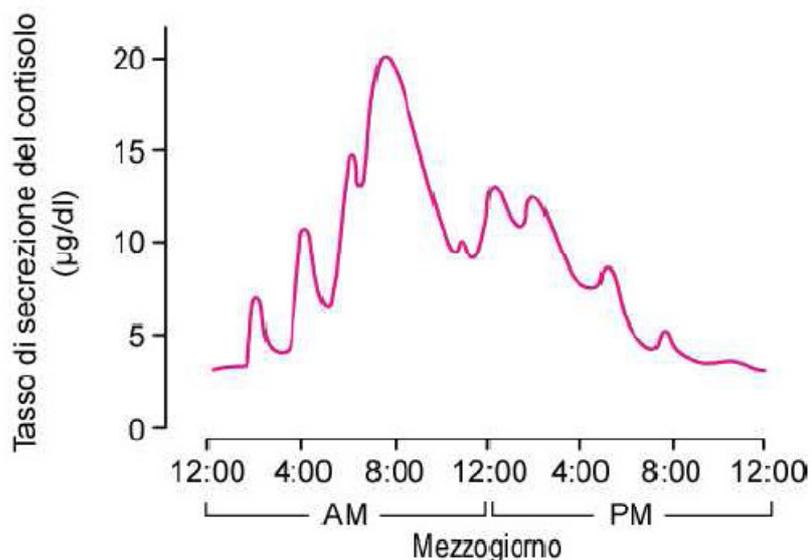


Figura 1.1: Esempio tipico di secrezione del cortisolo durante le 24 ore

Il cortisone è un ormone e chimicamente è un corticosteroide di formula $C_{21}H_{28}O_5$ strettamente correlato al corticosterone. I suoi effetti sono simili a quelli del cortisolo in confronto al quale risulta però meno potente.

Il cortisolo viene utilizzato come antinfiammatorio ed antiallergico .

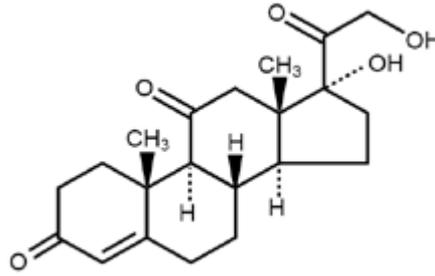


Figura 1.2: Formula del cortisone

1.1.2 l'enzima 11 β -ol-deidrogenasi

Il cortisolo si trova in equilibrio con il cortisone, il suo 11-cheto biologicamente inattivo; la loro interconversione è catalizzata dalla 11 β -ol-deidrogenasi che è presente in molti tessuti e rende il cortisone esogeno una fonte efficace di attività cortisolica .

Il sistema enzimatico 11 β -idrossisteroide deidrogenasi di tipo 1 e 2 (11 β -HSD1/2), responsabile dell'interconversione fra cortisolo e cortisone [1] e della loro generazione a livello periferico, contribuisce alla produzione corporea totale, oltre alla componente che deriva dall'immissione in circolo da parte delle ghiandole surrenaliche e glomerulari.

L'azione dei glucocorticoidi endogeni o somministrati a fini terapeutici è modulata nelle cellule bersaglio dalla presenza di queste due distinte isoforme dell'enzima 11 β -idrossisteroide deidrogenasi. L' isoforma 11 β -HSD-1 è prevalentemente espressa nel fegato (Lackshmi & Monder, 1998), nell'ipofisi, nelle ovaie e nella placenta dove agisce come reduttasi NADPH-dipendente ed è in grado di trasformare gli 11-chetosteroidi inerti come il cortisone in cortisolo.

L'11 β -HSD-1 può anche agire bidirezionalmente come una ossidasi ed è una potenziale terapia innovativa per la gestione del diabete di tipo 2 in quanto riduce le concentrazioni intracellulari di cortisolo con conseguente riduzione della sensibilità all'insulina, dei livelli dei lipidi nel sangue e miglioramento della funzionalità vascolare.

Recentemente è stato ipotizzato che una differente espressione della 11 β -HSD possa giocare un potenziale ruolo chiave nell'amplificazione dell'azione dei glucocorticoidi sull'osso.

In figura 1.3, è mostrata la conversione del D4-cortisolo in D3-cortisone che grazie all'enzima 11 β -HSD-2 produce una perdita del carbonio 11. Il D3-cortisolo viene poi formato quando il D3-cortisone si converte in cortisolo mediante 11 β -HSD-1 .

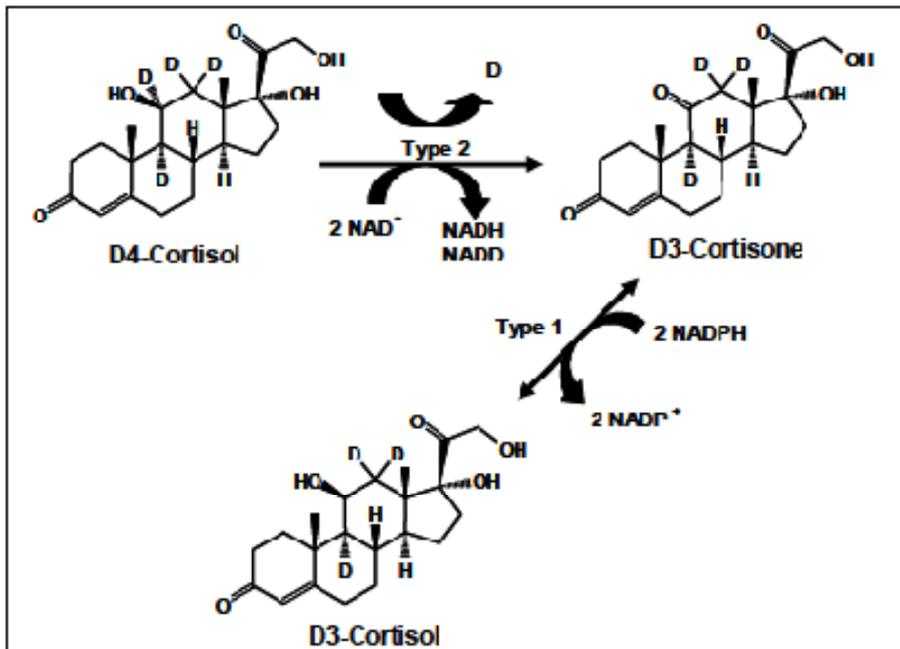


Figura 1.3: Conversione del D4 –cortisolo in D3-cortisolo

1.2 Scopo della tesi

Lo scopo principale della tesi è di determinare se la produzione epatica del cortisolo diminuisce nei soggetti diabetici o obesi rispetto ai soggetti normali. Gli esperimenti proposti hanno usato il nuovo approccio del triplo tracciante che fa uso di misure dirette del tasso epatico durante la conversione del cortisone in cortisolo per vedere se l'obesità e il diabete diminuiscono la produzione epatica del cortisolo.

Sono stati studiati soggetti normali non diabetici, obesi non diabetici e obesi diabetici che hanno ingerito il [²H] cortisolo e il [¹³C]-cortisolo. Vanno testate le seguenti ipotesi:

Prima ipotesi:

- Il tasso epatico durante la conversione del [¹³C]-cortisone in [¹³C]-cortisolo è inferiore negli obesi non diabetici rispetto ai soggetti normali diabetici.
- Il tasso epatico durante la conversione del [¹³C]-cortisone in [¹³C]-cortisolo è inferiore nei soggetti diabetici rispetto ai soggetti normali non diabetici.

Seconda ipotesi:

- a) L'estrazione frazionaria epatica del [2H] ingerito è maggiore negli obesi non diabetici rispetto ai soggetti normali non diabetici.
- b) L'estrazione frazionaria epatica del [2H] ingerito è maggiore negli obesi diabetici rispetto ai soggetti normali non diabetici.

1.3 Contenuto della tesi

Il lavoro è stato suddiviso in due parti. Nella prima parte viene calcolato il volume di distribuzione dopo un infusione del cortisolo marcato con trizio. La stima viene eseguita mediante il modulo compartimentale del software SAAM 2. Nella seconda parte è stato calcolato il flusso di comparsa del cortisolo sfruttando i valori del volume di distribuzione trovati nella prima parte dello studio.

Nel capitolo 2 viene descritto il data base utilizzato ed il protocollo sperimentale .

Nel capitolo 3 sono descritti i modelli della cinetica del cortisolo impiegati per la stima del volume di distribuzione.

Nel capitolo 4 viene descritta la procedura per la stima dei flussi di comparsa del cortisolo con la tecnica a triplo tracciante e sono riportati i relativi risultati. Infine i risultati del lavoro sono discussi nel capitolo 5.

CAPITOLO 2

PROTOCOLLO SPERIMENTALE

2.1 Soggetti: Caratteristiche individuali e dati antropometrici

Per il calcolo del flusso di scomparsa del cortisolo sono stati studiati 11 soggetti tra i quali 7 femmine e 4 maschi di età compresi tra 34 e 77 anni. In particolare il data base comprende 4 soggetti normali (BMI 21-24 kg/m²), 3 soggetti obesi (BMI 26-39 kg/m²) e 4 soggetti affetti dal diabete di tipo 2 (BMI 31-33 kg/m²). Gli individui con BMI <19 o >40 kg/m² sono stati esclusi dallo studio perché considerati non rappresentativi della popolazione. Tutti i soggetti erano in buona salute e non avevano malattie croniche incluse ovviamente malattie cardiovascolari, malattie epatiche o renali, Alzheimer o qualunque altro disturbo che potesse influenzare i risultati dello studio. Nella tabella 2.1 vengono riportati i dati antropometrici degli 11 soggetti studiati.

subject	cohort	Sex	Age-year	Weight - kg	Height - cm	LBM - kg	BMI - kg/m ²	% Body Fat	³ H-cortisol "F"- dpm/ml	Bolus given over 1 minute - mls
MOR683	normale	F	49	59.70	160.2	36.3	23.26	34.6	23705279	237052790.2
RIC170	normale	M	53	72.10	175.8	47.9	23.33	28.3	2200845	22008452.9
VOG541	normale	F	41	70.00	174.3	43.6	23.04	31.5	1259332	12593323.8
WAR237	normale	F	42	56.20	160.9	36.6	21.71	29.3	58706485	587064848.1
CRA060	obese	F	54	88.60	152.4	40.9	38.15	50.6	92518537	925185371.2
SIE949	obese	F	61	73.10	153.8	39.2	30.90	42.9	1203759	12037587.1
PRU636	obese	M	34	85.00	177.6	59.8	26.94	25.6	47637571	476375707.2
BAL487	diabetico	F	56	80.00	158.6	39.5	31.80	46.3	34680880	346808799.9
LGRI928	diabetico	M	43	91.60	182.0	60.0	27.65	30.1	50356578	503565777.4
VAU747	diabetico	F	77	77.20	158.6	39.7	30.69	45.1	35902213	359022128.0
CAV445	diabetico	M	47	105.30	179.0	65.4	32.86	33.8	62751422	627514222.6
mean			51	78.07	166.7	46.3	28.21	36.2	37356627	373566273.5
sd			12	14.24	11.1	10.5	5.16	8.5	29085826	290858259.3

Tabella 2.1: Dati antropometrici dei soggetti

I farmaci per la tiroide e contro l'ipertensione che non hanno effetti sul metabolismo sono permessi.

I soggetti che svolgevano un'attività sportiva intensa (più di 3 volte la settimana per 45 minuti) sono stati esclusi. Inoltre i partecipanti sono stati istruiti da un dietologo per assicurare che i soggetti mantenessero il loro peso costante per almeno due settimane prima dell'esperimento.

I soggetti diabetici non hanno avuto in precedenza:

- a) una retinopatia proliferativa

- b) una neuropatia significativa (creatina plasmatica >1.5mg/dl negli uomini e > 1.4 mg/dl nelle donne)
- c) sintomi di neuropatia autonoma
- d) malattie vascolari aterosclerotici (angina o infrazione miocardite)

I soggetti diabetici che prendevano farmaci anti-iperlipidemia orali hanno sospeso la cura 10 giorni prima dell'esperimento.

I soggetti che prendevano insulina hanno sospeso la somministrazione 72 ore prima dello studio.

I soggetti che prendevano il "thiazolidinediones" non sono stati idonei all'esperimento in quanto questi agenti diminuiscono l'attività del 11 β -HSD-1 in vitro.

2.2 Protocollo sperimentale

L'esperimento è stato eseguito presso il *General Research Center* della *Mayo Clinic* di Rochester, *Minnesota –USA*. I soggetti sono stati ammessi in clinica tra le 17.00 e le 18.00 del giorno prima dell'esperimento e hanno consumato un pasto a composizione controllata (55% di carboidrati, 30% di grassi, 15% di proteine).

La mattina seguente (giorno dello studio) i soggetti sono stati preparati. Sono stati inseriti due cateteri, il primo nella vena dell'avambraccio per l'infusione del tracciante e il secondo in una vena nel dorso della mano del braccio opposto per il prelievo del sangue. Il secondo catetere è stato posto in una cassetta riscaldata a circa 55 gradi per permettere il campionamento del sangue arterializzato. La durata totale dell'esperimento è stata di 600 minuti.

L'esperimento è iniziato alle ore 6.00 (t=-240min) con l'infusione continua del tracciante stabile [1,2,6,7-³H]-cortisolo, preceduto da un bolo corrispondente a 10 volte la quantità infusa in un minuto (primed infusion).

Il sangue è stato prelevato in ogni soggetto per misurare la concentrazione del [³H]-cortisolo ogni 10 minuti nella prima ora, poi ogni 15 minuti dalle 7.00, e in fine dalle 8.00 alle 10.00 ogni 30 minuti (tabella 2.2). Queste misure permettono di determinare il volume di distribuzione del cortisolo in ogni dei 6 soggetti.

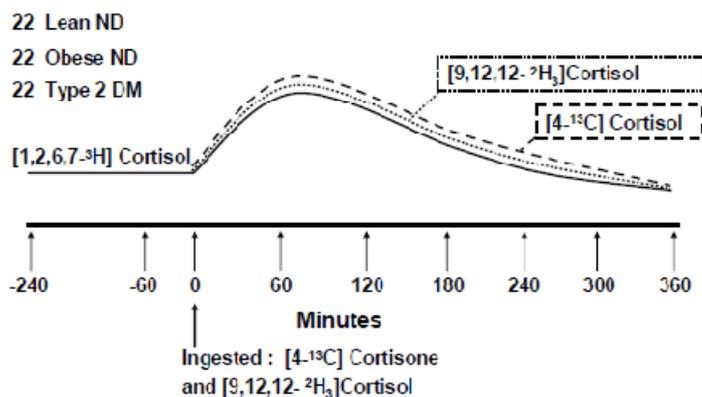


Figura 2.2 :protocollo sperimentale

Alle 10.00 ($t=0$), i soggetti hanno consumato 1.0 mg di $[4-^{13}C]$ cortisone contemporaneamente a 1.0 mg di $[9,12,12-^{13}C]$ cortisolo. Questo ultimo è stato utilizzato per stimare il flusso di comparsa del cortisolo da pasto .

Al tempo 0 il tasso d'infusione del $[^3H]$ cortisolo è stato aumentato e presenta un andamento che tende a mimare suo il profilo.

Il sangue arterializzato viene campionato a $t = -30, -20, -10, 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330$ e 360 minuti per la misura del $[^2H]$ cortisolo, del $[^2H]$ -cortisone, del $[^{13}C]$ -cortisone, del $[^{13}C]$ -cortisolo, dell'attività specifica del $[^3H]$ -cortisolo, del glucosio, dell'insulina, del C-peptide e della concentrazione FFA.

	TIME (min)	SIE949 dpm/ml	DOY672 dpm/ml	CAV445 dpm/ml	JAC382 dpm/ml	GRI445 dpm/ml	RIC170 dpm/ml
6 PM admission	baseline	0	0	0	0	0	1
	am draw	0	0	0	0	0	0
6.00 AM	-240	0	0	0	0	0	0
	-230	719	536	29414	35041	20821	459
	-220	555	351	22306	28337	16720	371
	-210	467	476	19856	26943	19303	345
	-200	405	390	21962	28727	14059	336
	-190	448	303	19651	27408	14575	343
	-180	457	282	18863	27993	14434	378
7.00 AM	-165	366	301	20606	22619	14593	364
	-150	419	345	22346	24964	15677	386
	-135	427	341	18927	25554	13759	410
	-120	377	338	20462	24057	13547	348
8.00 AM	-90	414	409	19461	26352	14144	361
	-60	411	362	23346	27998	14838	408
	-30	419	373	23417	27881	20972	429
9.00 AM	-20	466	355	19676	28272	21035	411
	-10	446	417	24177	26413	19004	396
	0	441	383	18930	23492	22027	420

Tabella 2.2: Misure della concentrazione del $[^3H]$ cortisolo per i 6 soggetti usati per il calcolo del volume

I dati sono stati rivisti dopo la prima parte dell'esperimento e il profilo dell'infusione del [3H]-cortisolo è stato aggiustato se necessario per minimizzare le variazioni del [3H]-cortisolo/[^{13}C]-cortisolo plasmatico e del [3H]-cortisolo/[2H]-cortisolo plasmatico.

Per studiare la conversione del cortisone in cortisolo attivo sotto l'effetto del 11β -HSD-1 è stato usato la tecnica della micro dialisi . Questa tecnica consiste nell'inserimento di due cateteri, uno nelle pancia e l'altro nel piede attraverso i quali vengono infusi i traccianti [2,2,4,6,6,12,12]-cortisone-D7(1mcg/ml) e [9,12,12]-D3-cortisolo(1mcg/ml).

Questo approccio rileva il ruolo dell'enzima 11β -HSD-1 nel grasso sottocutaneo e nel muscolo in diversi metabolismi anormali come il diabete e la sindrome metabolica e risulta un passo importante verso l'innovazione nella terapia di queste malattie.

CAPITOLO 3

MODELLISTICA DEL CORTISOLO PER LA STIMA DEL VOLUME DI DISTRIBUZIONE

Per la stima del volume di distribuzione è stato usato il modello bi-compartimentale della cinetica del [3H]-cortisolo. L'uso di questo modello richiede la stima preliminare dei parametri V_1 , k_{21} , k_{12} e del valore di stato stazionario di k_{01} . Queste stime possono essere ottenute da un esperimento con tracciante nello stato stazionario che precede la perturbazione. Si ricorda che V_1 è diverso dal volume di distribuzione del cortisolo nel compartimento accessibile.

La stima dei parametri viene svolta in due parte con il software SAAM II [4]. Nella prima parte è stato usato il modulo esponenziale allo scopo di determinare il modello migliore scegliendo tra i modello a 2 e a 3 esponenziali. Dopo sarà quindi possibile conoscere il numero di compartimenti necessario a descrivere i dati e quindi stimare il volume di distribuzione nella seconda parte con il modulo compartimentale.

3.1 Modello black-box della cinetica del [3H]-cortisolo

L'esperimento svolto è di tipo tracciante ([3H]-cortisolo) rappresentato da un ingresso di tipo *primed infusion*.

Dopo aver somministrato il tracciante [3H]-cortisolo, si può determinare la concentrazione del [3H]-cortisolo nel pool accessibile che nel caso di un ingresso di tipo primed infusion segue in generale la legge:

$$c(t) = d \sum_{i=1}^k A_i e^{-\alpha_i t} + r \sum_{i=1}^k \frac{A_i}{\alpha_i} (1 - e^{-\alpha_i t}) = \sum_{i=1}^k \left(r \frac{A_i}{\alpha_i} + e^{-\alpha_i t} \left(d \cdot A_i - r \frac{A_i}{\alpha_i} \right) \right) \quad (3.1)$$

Dove d è la dose, r rappresenta l'infusione e k il numero di esponenziali. I parametri del modello sono stati identificati con la tecnica dei minimi quadrati non lineari, implementata nel modulo numerico del software SAAM II. In particolare sono stati testati un modello a 2 esponenziali ed un modello a 3 esponenziali.

a) Per il modello a 2 esponenziali:

$$C(t) = B_0 + B_1 \exp(-\alpha_1 t) - B_2 \exp(-\alpha_2 t) \quad (3.2)$$

dove il parametro B_0 può essere scritto in funzione di B_1 e B_2 e vale:

$$B_0 = r \left(\frac{B_1/\alpha_1}{d - \frac{r}{\alpha_1}} + \frac{B_2/\alpha_2}{d - \frac{r}{\alpha_2}} \right) \quad (3.3)$$

b) Per il modello a 3 esponenziali:

$$C(t) = B_0 - B_1 \exp(-\alpha_1 t) + B_2 \exp(-\alpha_2 t) + B_3 \exp(-\alpha_3 t) \quad (3.4)$$

3.2 Modello bicompartimentale della cinetica del [³H]cortisol

In alternativa, i dati sono fittati usando il modello bi compartimentale [3] (o di Radziuk in figura 3.1) che fornisce direttamente la stima del volume di distribuzione.

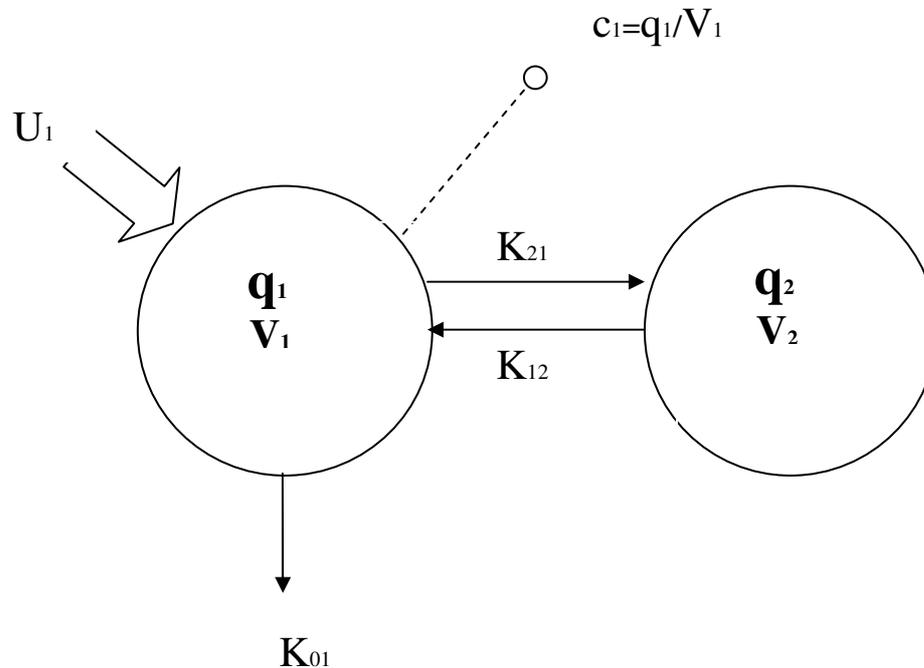


Figura 3.1: Modello di Radziuk che descrive la cinetica del cortisol in stato non stazionario

Le equazioni differenziali di questo modello sono ottenute applicando il principio di conservazione della massa:

$$\begin{cases} \dot{q}_1(t) = u_1(t) + k_{12} \cdot q_2(t) - [k_{12} + k_{01}] \cdot q_1(t) & (3.5a) \\ \dot{q}_2(t) = k_{21} \cdot q_1(t) - k_{12} \cdot q_2(t) & (3.5b) \\ c_1(t) = \frac{q_1(t)}{V_1} & (3.5c) \end{cases}$$

3.3 Stima dei parametri con il modulo numerico

La stima è stata eseguita sui dati di 3 soggetti: RIC170, SIE949 e DOY672. Sono stati usati come dati sperimentali le misure della concentrazione del tracciante [3H]-cortisolo (Tabella 2.2) di ogni soggetto. La struttura di un file dati di SAAM II è ben precisa ed ad esempio per il soggetto RIC170 è la seguente:

```
DATA
(FSD 0.1)
t      cortisol
0      none
10     458.7889686
20     371.363518
30     344.7536059
40     336.3576553
50     343.1835133
60     378.396442
75     364.4843574
90     386.1440037
105    410.2365995
120    348.2816059
150    360.799229
180    408.2296471
210    428.6509363
220    410.6839758
230    396.034056
240    420.1674884
END
```

Dove la seconda riga contiene la descrizione statistica dell'errore di misura e in questo caso si tratta di un errore pari al 10% dell'ampiezza del dato. Quindi per la stima dei parametri con il modulo esponenziale è stata usata la legge dell'errore "FSD 0.1" (Fractional Standard Deviation costante 0.1).

3.3.1 Modello a 2 esponenziali

Dopo aver lanciato il modulo esponenziale di SAAM II, per creare il modello è sufficiente scrivere la sua formula cioè quella dell'equazione (3.2) sulla parte bianca dello schermo (Figura 3.2).

Dato che l'ingresso del tracciante è di tipo primed infusion, bisogna anche aggiungere l'equazione (3) dove il parametro B_0 dipende dal bolo (D) e dalla

velocità di infusione (inf). Il sistema viene descritto completamente fornendo l'intervallo di tempo sperimentale 0÷240 min.

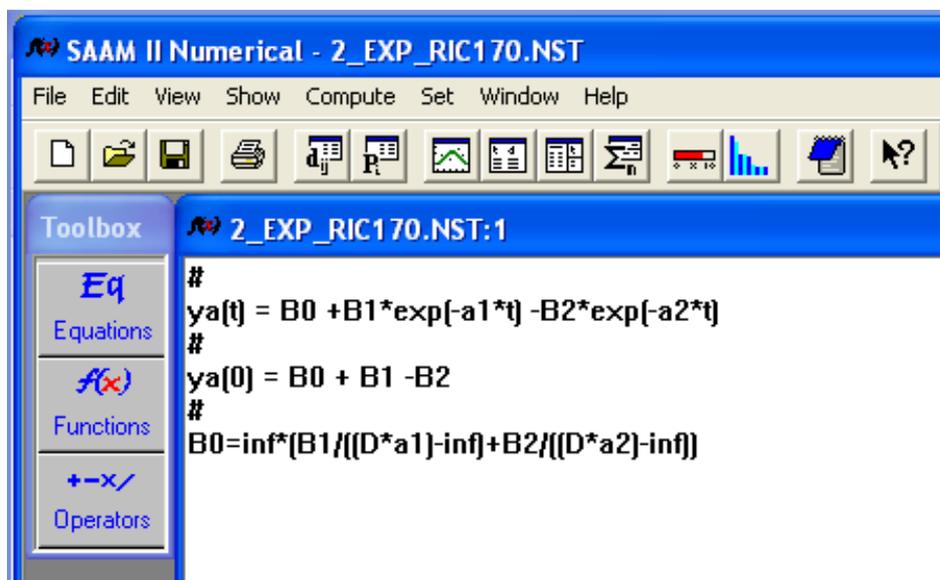


Figura 3.2: Implementazione del modello a 2 esponenziali nel Modulo numerico di SAAM II

a) Soggetto RIC170

Per inizializzare la procedura iterativa di stima parametrica si devono assegnare i valori ai sei parametri del modello bi-esponenziale appena creato. Per il soggetto RIC170 le stime sono:

$$\begin{aligned} B_1 &= 320 \\ B_2 &= 280 \\ a_1 &= 0.043 \\ a_2 &= 0.019 \\ D &= 22008452.9 \\ Inf &= 220084.53 \end{aligned}$$

Dopo la stima ottima dei parametri, è possibile visualizzare il fit del modello, i residui pesati e la finestra “statistic” nella quale viene riportata la stima dei quattro parametri, con i relativi coefficienti di variazione (cv) ed intervalli di confidenza.

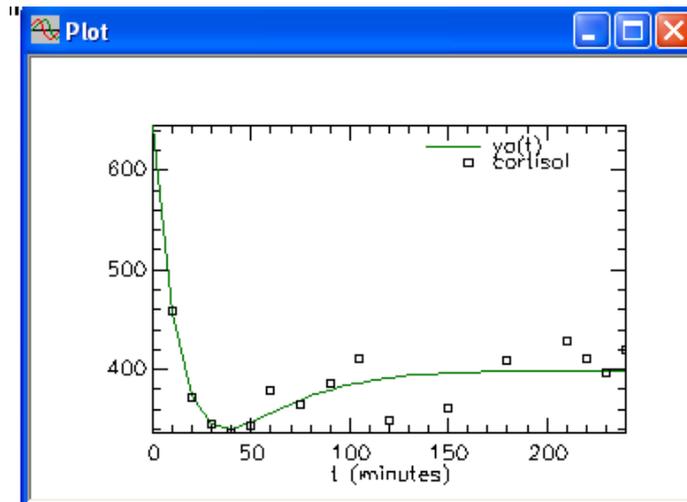


Figura 3.3: predizione del modello verso i dati per il soggetto RIC170

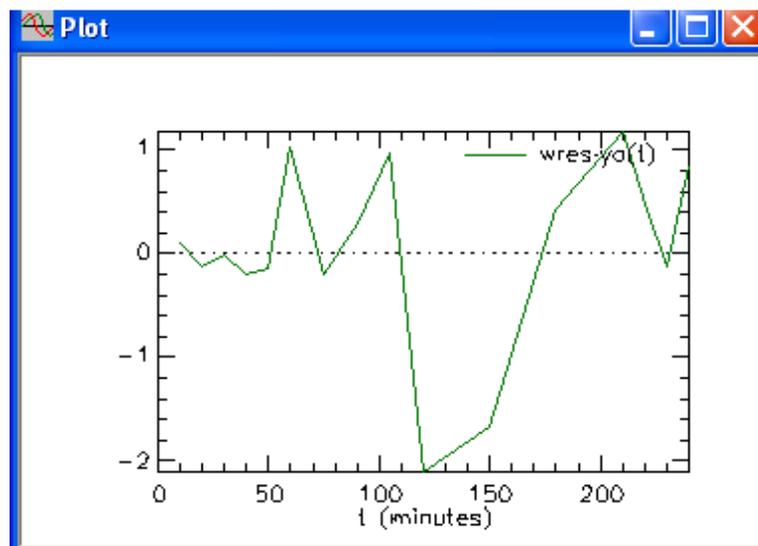


Figura 3.4: residui pesati per il soggetto RIC170

Dalla figura 3.4 si vede che i residui sono abbastanza buoni perché sono una sequenza di rumore bianco con ampiezza compresa tra -1 e 1 come atteso dalla teoria.

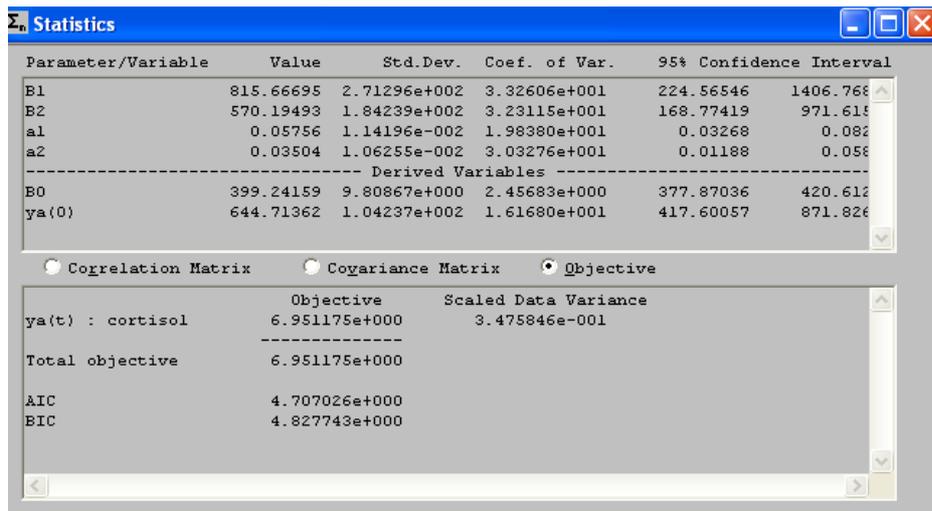


Figura 3.5: finestra statistic per il soggetto RIC170

b) Soggetto SIE949

I parametri iniziali per questo soggetto sono:

$$B_1=800$$

$$B_2=400$$

$$a_1=0.041$$

$$a_2=0.0388$$

$$D = 12037587.1$$

$$\text{Inf} = 120375.87$$

Ed è possibile anche in questo caso stimare i parametri in maniera ottima e visualizzare quindi fit, residui pesati e finestra statistic:

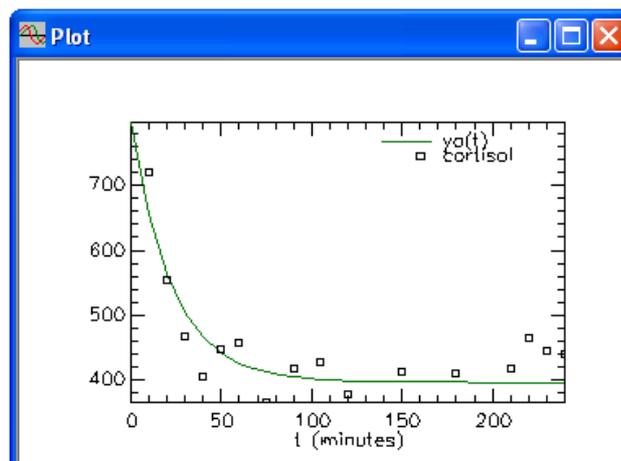


Figura 3.6: Predizione del modello verso i dati per il soggetto SIE949

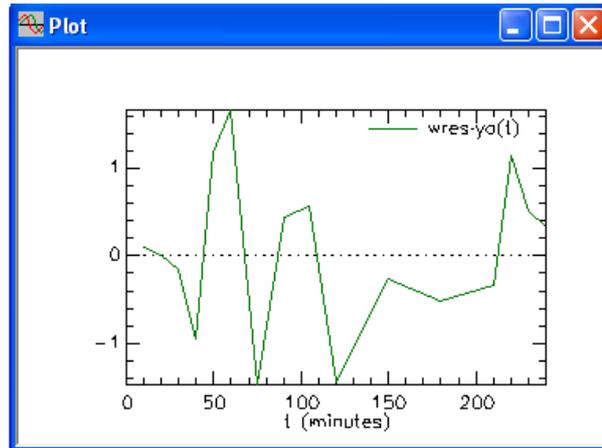


Figura 3.7: residui pesati per il soggetto SIE949

Anche per il soggetto SIE949, otteniamo dei residui pesati bianchi con ampiezza nella fascia -1 e 1 .

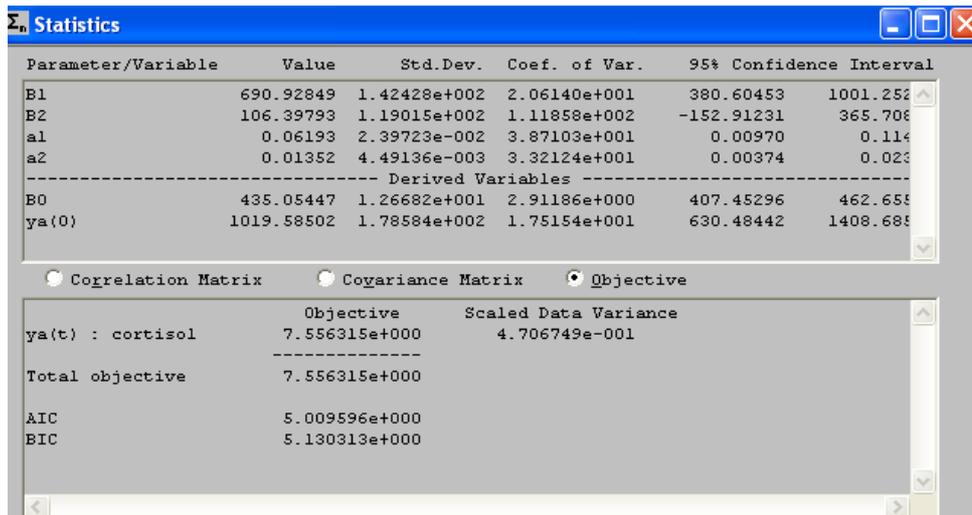


Figura 3.8: finestra statistic per il soggetto SIE949

c) Soggetto DOY672

I parametri iniziali inseriti sono :

$$\begin{aligned}
 B_1 &= 770 \\
 B_2 &= 320 \\
 a_1 &= 0.065 \\
 a_2 &= 0.025 \\
 D &= 18536479.6 \\
 \text{Inf} &= 185364.80
 \end{aligned}$$

Analogamente, si ottengono per il soggetto DOY672 le seguenti figure dopo aver fatto la stima ottima dei parametri:

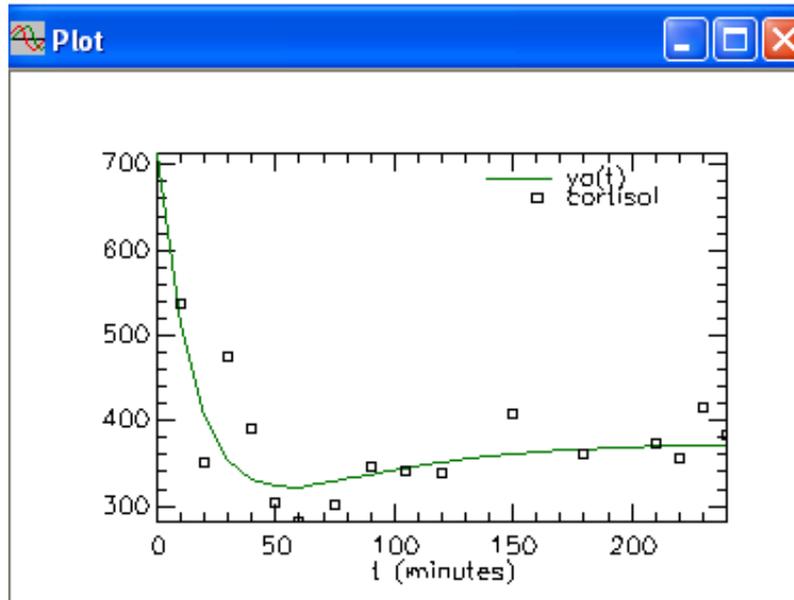


Figura 3.9: Predizione del modello verso i dati per il soggetto DOY672

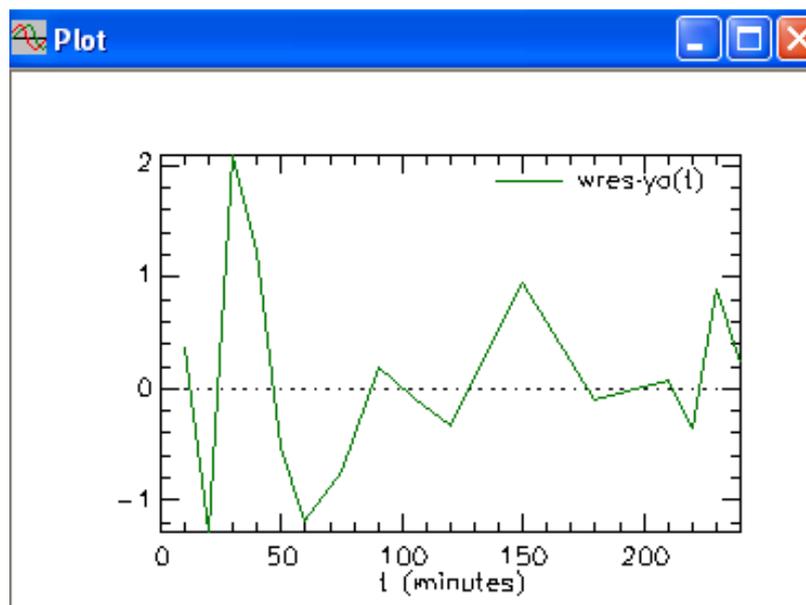


Figura 3.10: residui pesati per il soggetto DOY672

I residui pesati sono ancora bianchi e hanno un'ampiezza compresa tra -1 e 1.

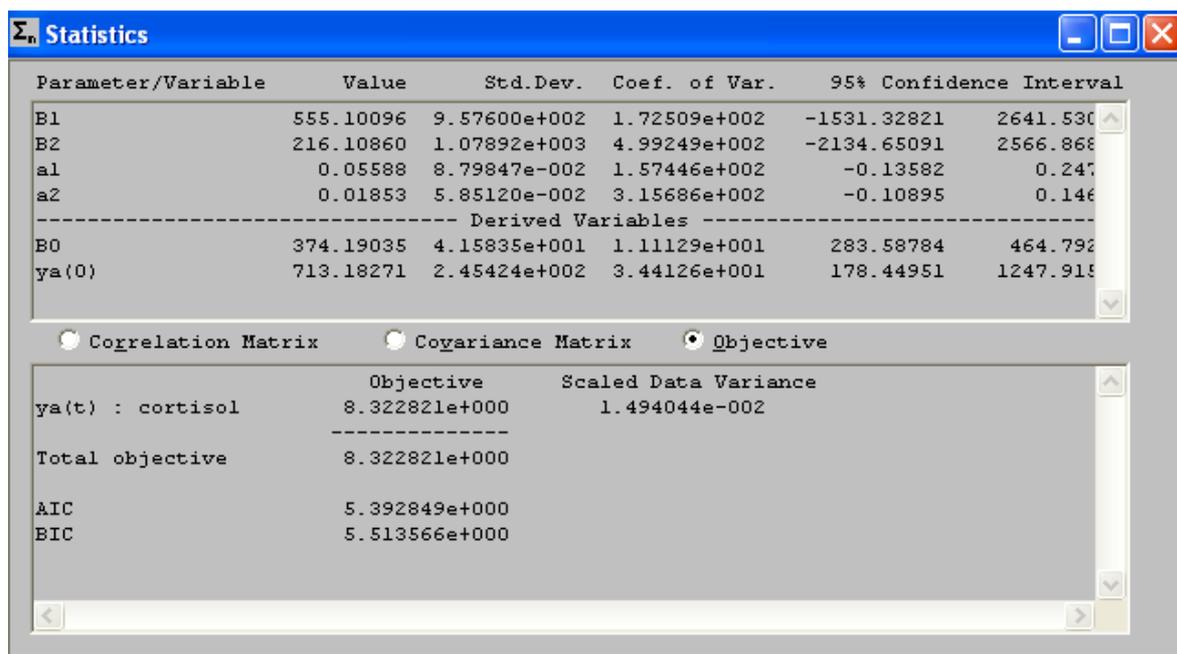


Figura 3.11: finestra statistic per il soggetto DOY672

Nella tabella 3.1 vengono riportate le medie e le deviazioni standard dei parametri stimati con i loro CV dato dal rapporto tra deviazione standard dell'errore di misura e la misura stessa. Infatti tramite il coefficiente di variazione si può valutare l'entità dell'errore di misura relativamente ai dati. Nel caso in esame si ottengono dei CV accettabili in 2 soggetti su 3.

3 Soggetti (fsd=1)

	B1	CV%	B2	CV%	a1	CV%	a2	CV%
RIC170	815.67	33	570.19	32	0.057	20	0.035	30
SIE949	690.93	21	106.39	112	0.062	38	0.013	33
DOY672	555.10	172	216.11	499	0.056	157	0.018	316
MEDIA	687.23	75.42	297.56	214	0.058	72	0.022	126
SD	437.10		460.2		0.041		0.024	

Tabella 3.1 : Calcolo della media e SD dei parametri

Nella tabella 3.2 sono riportati i valori della concentrazione del [³H]-cortisolo predetti dal modello (fit) . E' stata anche calcolata la media in ogni istante tempo.

Tempo	FIT_ric	FIT_sie	FIT_doy	MEDIA
0	645	1020	713	792.6323
10	456	714	512	560.8077
20	374	554	407	444.9673
30	345	472	354	390.3280
40	340	431	331	367.3793
50	346	412	323	360.3287
60	355	405	323	360.8343
67.5	362	403	325	363.4817
75	369	403	329	366.9333
82.5	375	404	333	370.6233
90	379	406	337	374.2373
97.5	383	408	341	377.6140
105	387	410	345	380.6810
112.5	389	412	348	383.4187
120	392	414	351	385.8350
132	394	417	356	389.0937
141	395	419	359	391.1093
150	396	421	361	392.8153
162	397	423	364	394.6900
171	398	425	365	395.8477
180	398	426	367	396.8300
192	399	427	368	397.9160
201	399	428	369	398.5917
210	399	429	370	399.1697
220	399	430	371	399.7143
230	399	430	371	400.1743
240	399	431	372	400.5630

Tabella 3.2: Fit individuali e medi

Dopo aver calcolato la media dei dati dei tre soggetti per ogni istante di tempo (Tabella 3.3), si possono rappresentare in uno stesso grafico i dati medi e il fit medio (Figura 3.12). Si vede quindi come il modello a due esponenziali descrive bene i dati sperimentali.

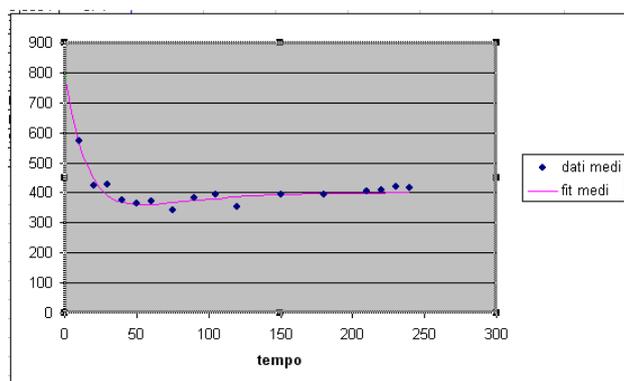


Figura 3.12: Plot dei dati medi e fit medio

	data_ric	data_sie	data_doy	dati medi	fit medio
0					792
10	459	719	536	571.2517	561
20	371	555	351	425.8161	445
30	345	467	476	429.1839	390
40	336	405	390	377.0000	367
50	343	448	303	364.8959	360
60	378	457	282	372.3209	361
75	364	366	301	343.9348	367
90	386	419	345	383.3064	374
105	410	427	341	392.8428	381
120	348	377	338	354.4311	386
150	361	414	409	394.3056	393
180	408	411	362	393.6872	397
210	429	419	373	406.8572	399
220	411	466	355	410.6711	400
230	396	446	417	419.4765	400
240	420	441	383	414.6735	401

Tabella 3.3: Calcolo della media dei dati di [3H]-cortisolo verso i dati medi

In tabella 3.4 viene riportato l'andamento della media dei residui pesati dei tre soggetti

	wres_ric	wres_sie	wres_doy	MEDIA
10	0.093	0.099	0.365	0.1856
20	-0.131	0.014	-1.283	-0.4666
30	-0.011	-0.148	2.091	0.6440
40	-0.203	-0.953	1.214	0.0193
50	-0.149	1.175	-0.523	0.1676
60	1.033	1.669	-1.187	0.5050
75	-0.206	-1.473	-0.748	-0.8090
90	0.293	0.437	0.189	0.3063
105	0.971	0.572	-0.090	0.4843
120	-2.107	-1.436	-0.333	-1.2920
150	-1.674	-0.268	0.955	-0.3290
180	0.416	-0.518	-0.109	-0.0703
210	1.178	-0.336	-0.065	0.2590
220	0.483	1.149	-0.359	0.4243
230	-0.129	0.506	0.893	0.4233
240	0.851	0.336	0.237	0.4746

Tabella 3.4: Residui pesati individuali e medi

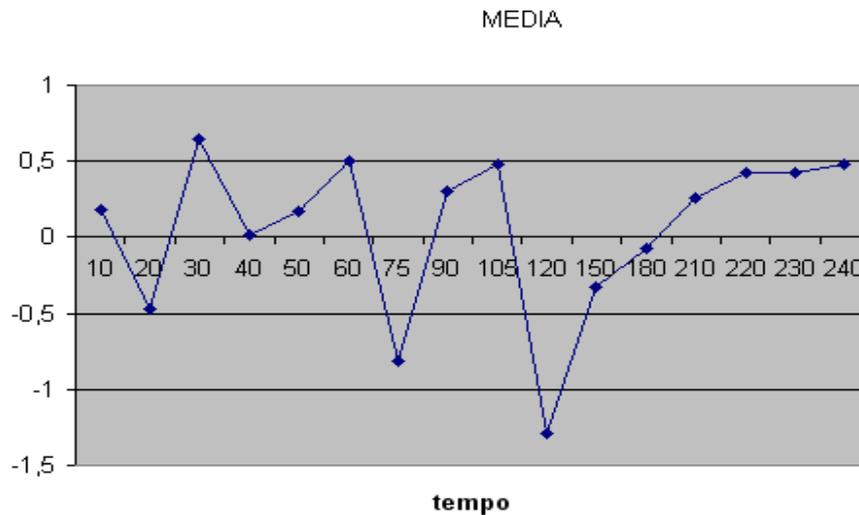


Figura 3.13 Residui pesati medi

3.3.2 Modello a 3 esponenziali

Anche per implementare il modello a 3 esponenziali nel modulo numerico si deve creare il modello scrivendo l'equazione (3.4) sulla parte bianca dello schermo.

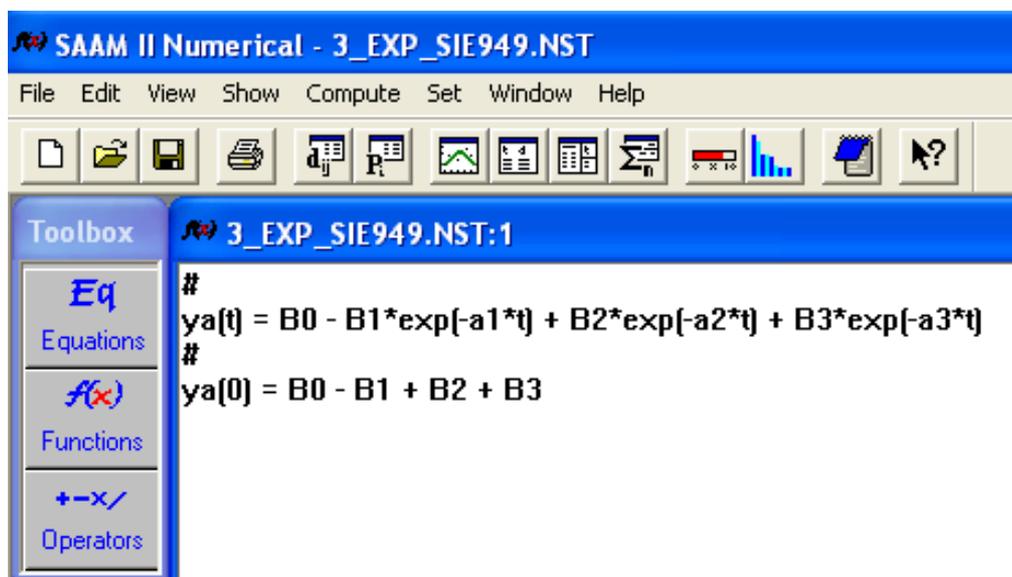


Figura 3.14 :Implementazione del modello a 3 esponenziali nel modulo numerico di SAAM II

a) Soggetto RIC170

Si assegnano i seguenti valori iniziali ai sette parametri del modello creato:

$$\begin{aligned} B_0 &= 400 \\ B_1 &= 180 \\ B_2 &= 100 \\ B_3 &= 140 \\ a_1 &= 0.01 \\ a_2 &= 0.1 \\ a_3 &= 0.03 \end{aligned}$$

Dopo aver fatto la stima ottima dei parametri si può visualizzare i parametri nella finestra statistic

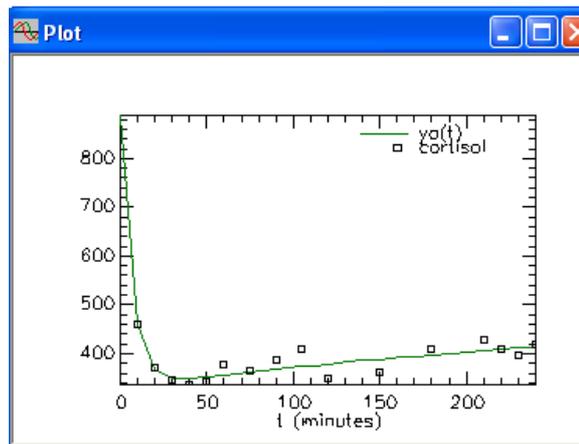


Figura 3.15 : Predizione del modello verso i dati per il soggetto RIC170

Parameter/Variable	Value	Std.Dev.	Coef. of Var.	95% Confidence Interval	
A0	498.99485	4.57728e+002	9.17299e+001	-536.45843	1534.448
A1	184.29429	4.24838e+002	2.30522e+002	-776.75739	1145.345
A2	559.55436	5.91258e+002	1.05666e+002	-777.96633	1897.071
A3	14.00000	****	****	****	****
a1	0.00289	1.06891e-002	3.69328e+002	-0.02129	0.027
a2	0.14897	1.15032e-001	7.72166e+001	-0.11125	0.405
a3	0.00300	****	****	****	****

Derived Variables		
	Objective	Scaled Data Variance
ya(t) : cortisol	6.775752e+000	3.888784e-001
Total objective	6.775752e+000	
AIC	4.806814e+000	
BIC	4.999962e+000	

Figura 3.16: Finestra statistic per il soggetto RIC170

Tuttavia i parametri A_3 e a_3 superano i limiti superiori e inferiori, probabilmente perché non sono identificabili a posteriori sui dati a disposizione. Pertanto non è possibile visualizzare i valori dei loro coefficienti di variazione e delle standard deviation.

b) Soggetto SIE949

I parametri iniziali sono:

$B_0=440$
 $B_1=350$
 $B_2=150$
 $B_3=480$
 $a_1= 0.018$
 $a_2= 0.06$
 $a_3= 0.04$

si ottiene poi la stima dei parametri:

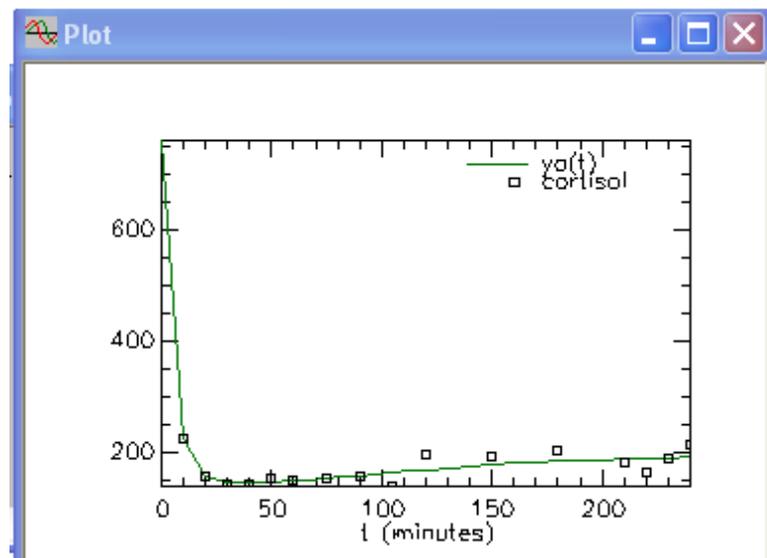


Figura 3.17: Predizione del modello verso i dati per il soggetto SIE949

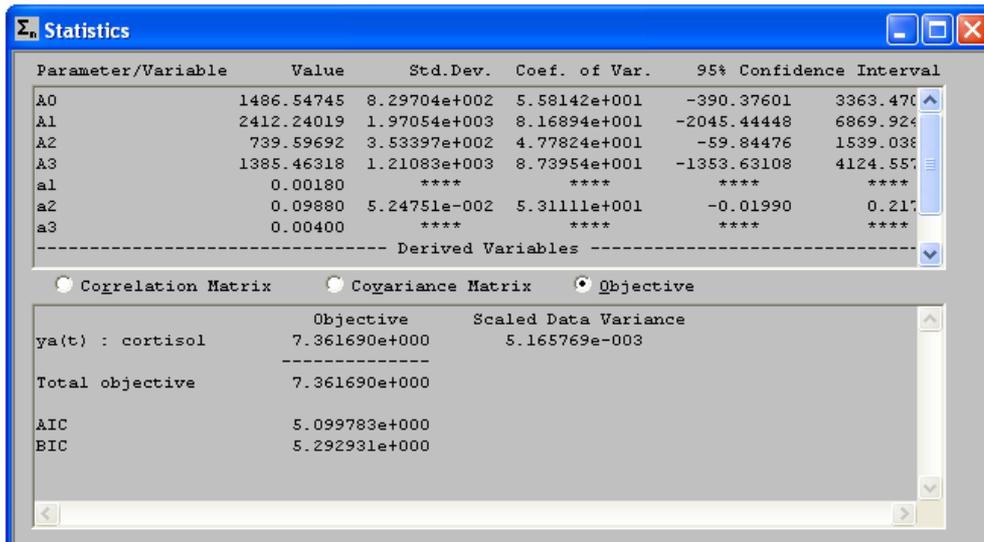


Figura 3.18: finestra statistic per il soggetto SIE949

Anche in questo caso ci sono due parametri (a1 e a3) che superano il limiti superiori e inferiori .

c) Soggetto DOY672

I dati iniziali sono:

A0=500
A1=450
A2=300
A3=200
a1= 0.08
a2= 0.04
a3= 0.03

Per il soggetto DOY672 non si è in grado di ottenere la stima ottima dei parametri con il modello a tre esponenziale (Figura 19) .

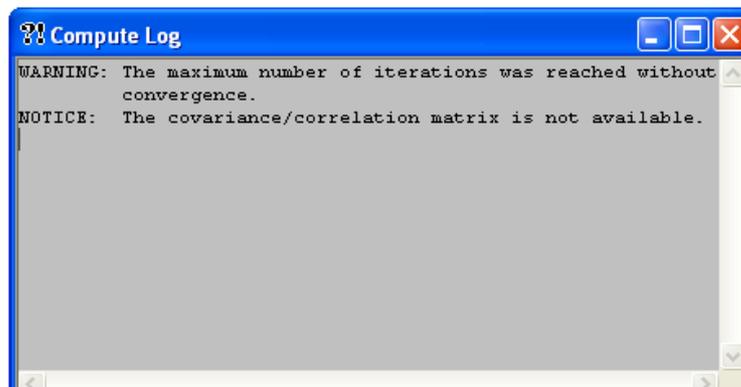


Figura 19: messaggio d'errore per il soggetto DOY672

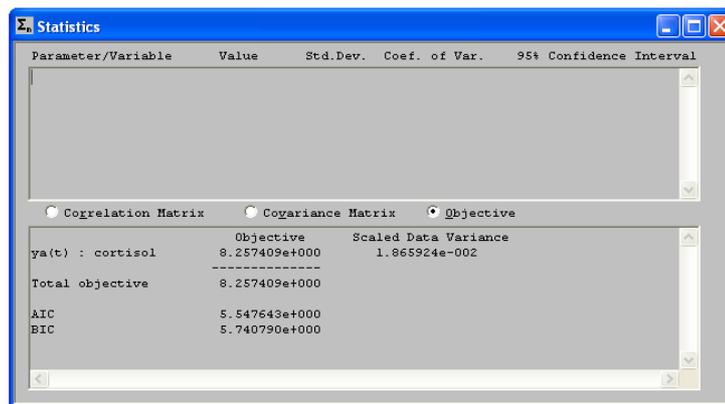


Figura 3.20: finestra statistic per il soggetto DOY672

3.3.3 Scelta del modello migliore

Alla fine di questo studio si può concludere che il modello a 2 esponenziali risulta essere il modello adatto per i dati che abbiamo a disposizione. Infatti abbiamo ottenuto con questo modello delle buone stime dei parametri rispetto al modello a 3 esponenziali. Il modello a 2 esponenziali ha anche fornito per tutti i soggetti dei residui pesati buoni e dei CV accettabili per due dei soggetti. Quindi per la stima del volume di distribuzione con il modulo compartimentale, si utilizzerà un modello a due compartimenti.

3.4 Stima dei parametri con il modulo compartimentale

Il modello discusso nel paragrafo 3.2 è stato identificato con il modulo compartimentale su 6 soggetti: normali, obesi e diabeti. Sono state usate le seguenti leggi di errore per la stima dei parametri di tre dei sei soggetti:

- SD a posteriori (Standard Deviation)
- FSD a posteriori (Fractional Standard Deviation)

Le stime ottenute nei due casi sono molto simili, pertanto si riportano in seguito solo quelle ottenute con la legge di errore FSD a posteriori.

Per creare il modello in SAAM II è sufficiente disegnare la sua struttura mostrata in figura 3.1 e specificare gli ingressi e le uscite.

3.4.1 Soggetti obesi

DOY672

Parametri iniziali :

$V=22215.6$
 $k(0,1)=0.018$
 $k(1,2)=0.027$
 $k(2,1)=0.041$

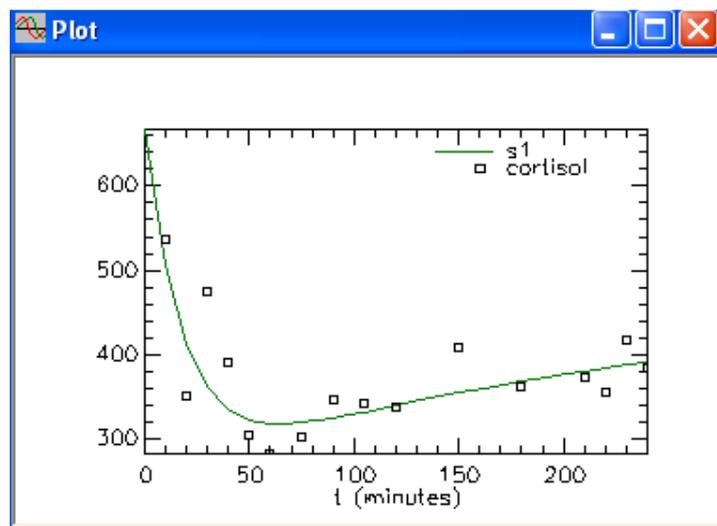


Figura 3.21: Predizione del modello verso i dati per il soggetto DOY672

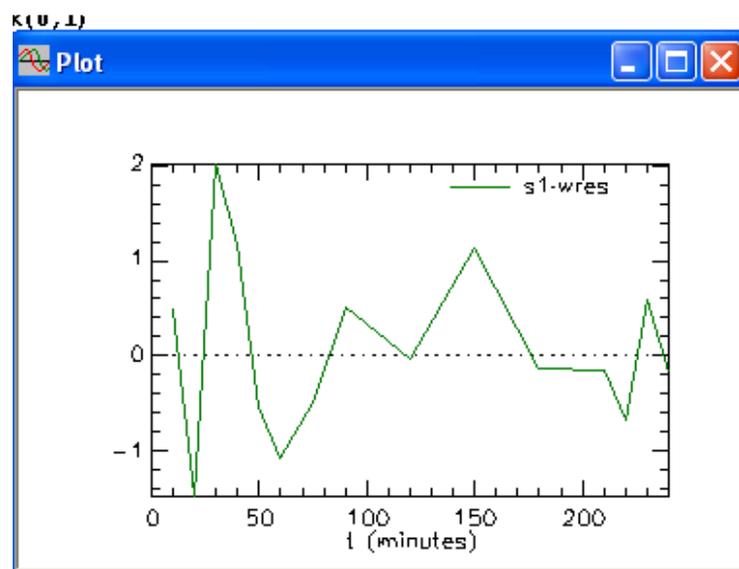


Figura 3.22: Residui pesati per il soggetto DOY672

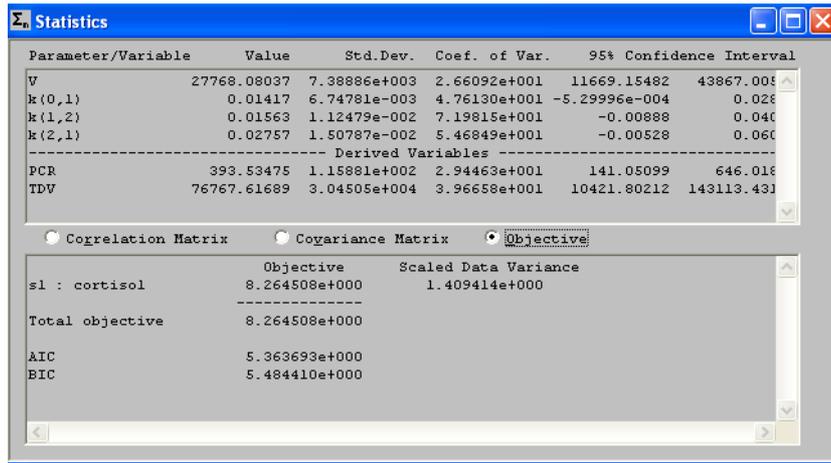


Figura 3.23: Finestra statistic per il soggetto DOY672

SIE949

Parametri iniziali:

$$V=17000$$

$$k(0,1)=0.015$$

$$k(1,2)=0.028$$

$$k(2,1)=0.03$$

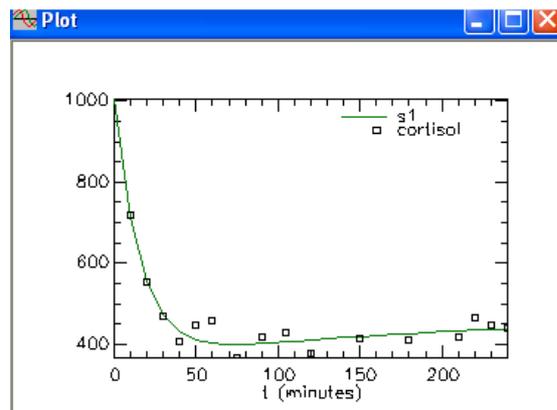


Figura 3.24: Predizione del modello verso i dati per il soggetto SIE949

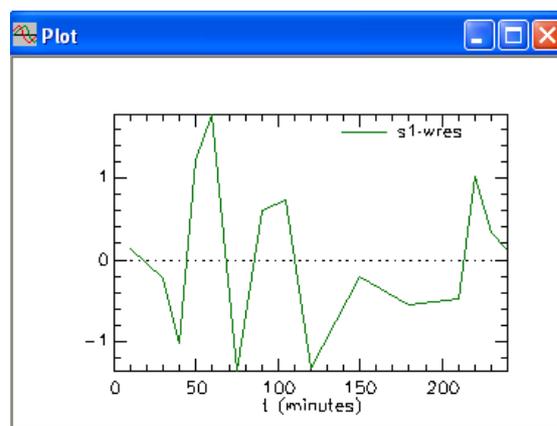


Figura 3.25: Residui pesati per il soggetto SIE949

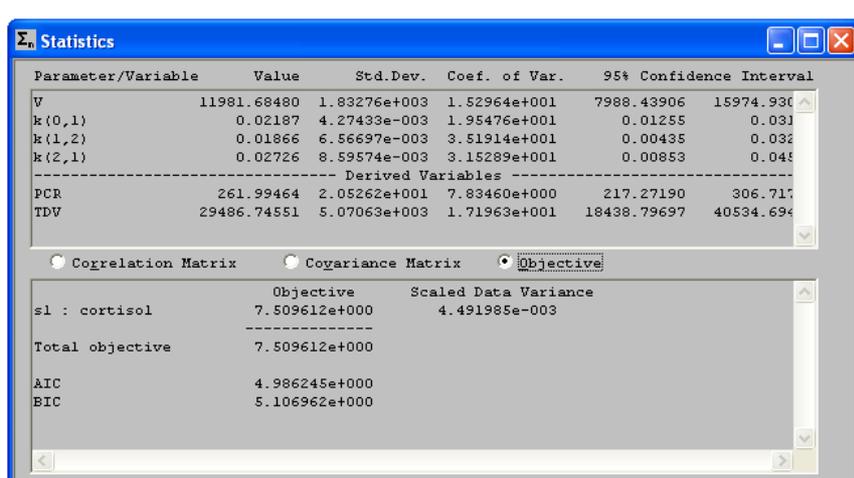


Figura 3.26: Finestra statistic per il soggetto SIE94

Come nel caso della stima con il modulo esponenziale sono riportati i valori delle concentrazioni del [3H]-cortisolo predette dal modello per ognuno dei due soggetti ed è stata calcolata la media(Tabella 3.5).

Tempo	FIT_doy	FIT_sie	MEDIA
0	667.546	1005.666	836.106
10	505.071	712.149	608.610
20	412.922	556.169	484.546
30	361.997	474.088	418.043
40	335.149	432.009	383.579
50	322.315	411471	366.893
60	317.590	402.471	360.031
67.5	317.590	399.930	358.760
75	318.546	399.473	359.010
82.5	320.947	400.277	360.612
90	324.027	401.825	362.926
97.5	327.518	403.793	365.656
105	331.241	405.978	368.610
112.5	335.076	408.254	371.665
120	338.946	410.545	374.746
132	345.088	414.129	379.609
141	349.595	416.703	383.149
150	353.984	419.159	386.572
162	359.630	422.239	390.935
171	363.703	424.403	394.053
180	367.636	426.446	397.041
192	372.665	428.990	400.828
201	376.279	430.771	403.525
210	379.763	432.448	406.106
220	383.485	434.198	408.842
230	387.055	435.835	411.445
240	390.481	437.367	413.924
240	390.481	437.367	413.924

Tabella 3.5: fit individuali e medi

Si calcola poi la media dei dati originali dei due soggetti per ogni istante di tempo (Tabella 3.6) e si rappresentano in uno stesso grafico i dati medi e il fit medio (Figura 3.26). Si vede quindi come il modello a due compartimenti descrive bene i dati sperimentali.

	data_sie	data_doy	dati medi	fit medio
0				836.106
10	719	536	627.483	608.610
20	555	351	453.042	484.540
30	467	476	471.399	418.040
40	405	390	397.197	383.519
50	448	303	375.752	366.893
60	457	282	369.283	360.030
75	366	301	333.660	359.009
90	419	345	381.888	362.926
105	427	341	384.146	368.695
120	377	338	357.506	374.745
150	414	409	411.059	386.571
180	411	362	386.416	397.041
210	419	373	395.960	406.105
220	466	355	410.665	408.840
230	446	417	431.198	411.445
240	441	383	411.927	413.924

Tabella 3.6: Calcolo della media dei dati di [3H]-cortisolo verso i dati medi per i soggetti obesi

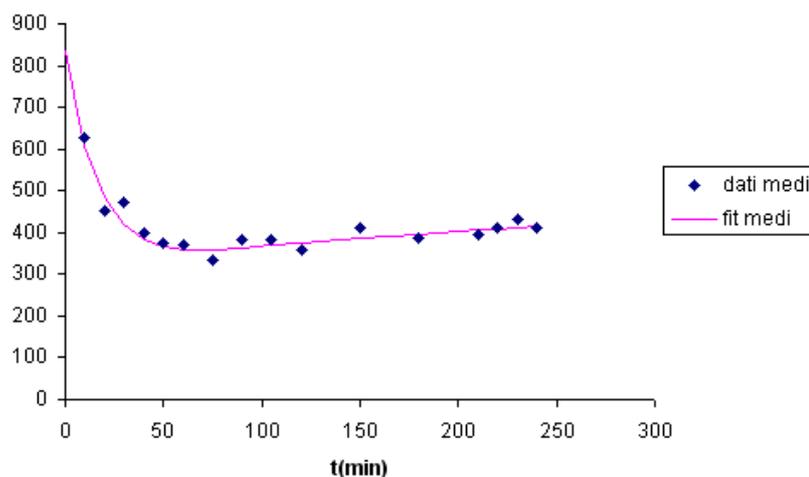


Figura 3.26 : Plot dei dati medi e fit medio

Si riporta anche l'andamento della media dei residui pesati dei due soggetti.

	wres_doy	wres_sie	media
10	0.486	0.142	0.314
20	-1.473	-0.041	-0.757
30	2.012	-0.221	0.895
40	1.181	-1.008	0.086
50	-0.531	1.226	0.347
60	-1.074	1.778	0.352
75	-0.484	-1.359	-0.921
90	0.513	0.602	0.557
105	0.245	0.739	0.492
120	-0.031	-1.315	-0.673
150	1.126	-0.204	0.461
180	-0.137	-0.556	-0.346
210	-0.158	-0.472	-0.315
220	-0.677	1.029	0.176
230	0.598	0.333	0.465
240	-0.169	0.126	-0.021

Tabella 3.7: Residui pesati individuali e medi per i soggetti obesi

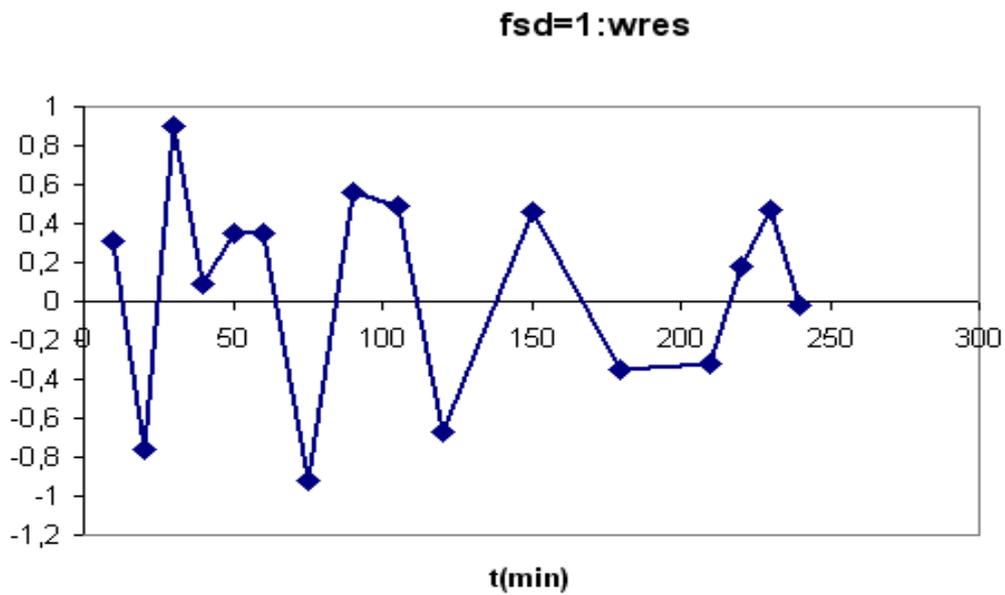


Figura 3.27: Residui pesati medi

3.4.2 Soggetti diabetici

CAV445

Parametri iniziali:

$$V=18000$$

$$k(0,1)=0.013$$

$$k(1,2)=0.033$$

$$k(2,1)=0.041$$

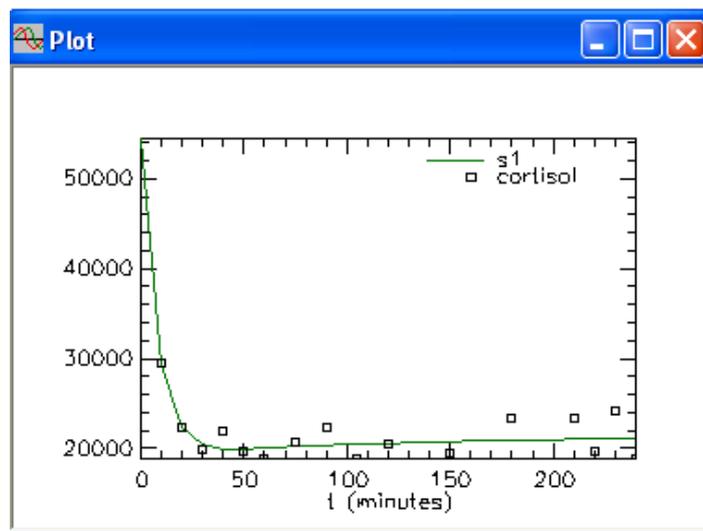


Figura 3.28: Predizione del modello verso i dati per il soggetto CAV445

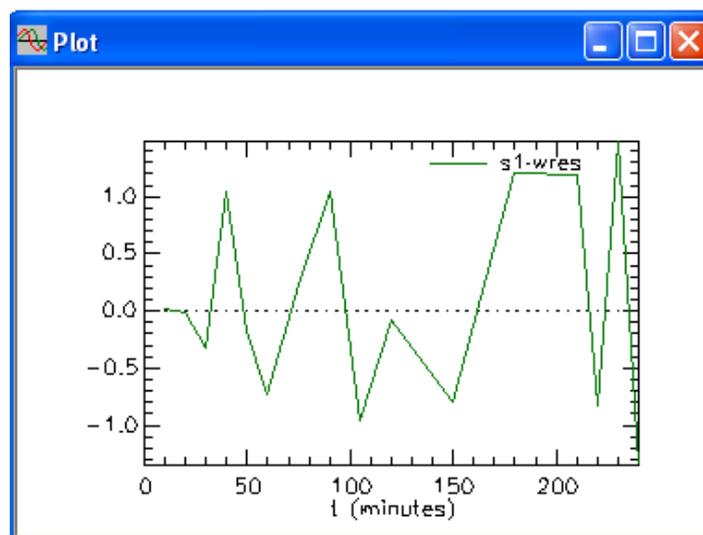


Figura 3.29: Residui pesati per il soggetto CAV44

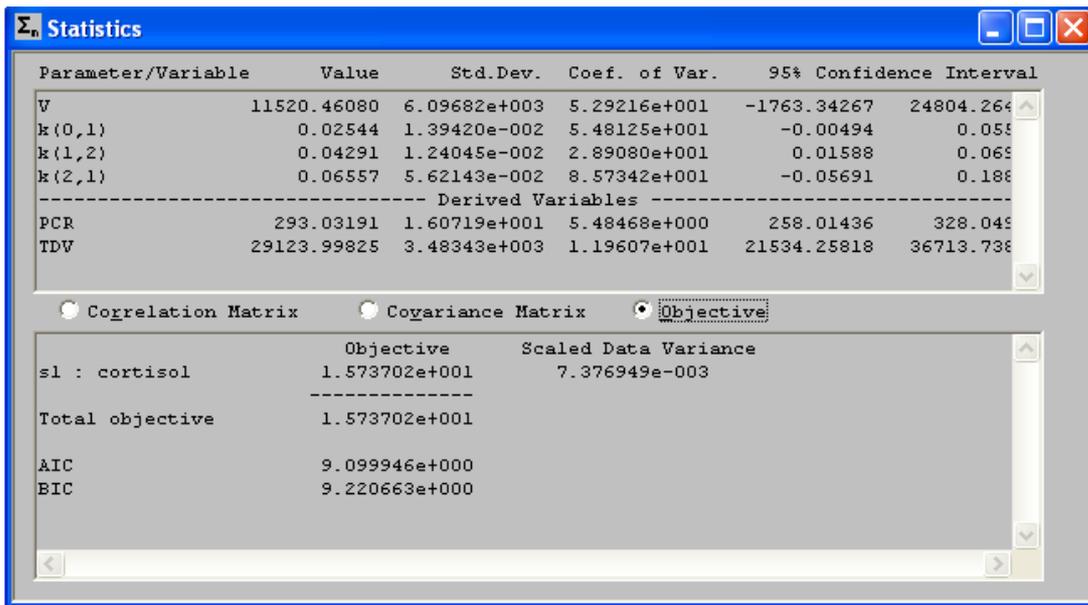


Figura 3.30: Finestra statistic per il soggetto CAV445

JAC382

Parametri iniziali:

$$\begin{aligned}
 V &= 10000 \\
 k(0,1) &= 0.153 \\
 k(1,2) &= 0.027 \\
 k(2,1) &= 0.03
 \end{aligned}$$

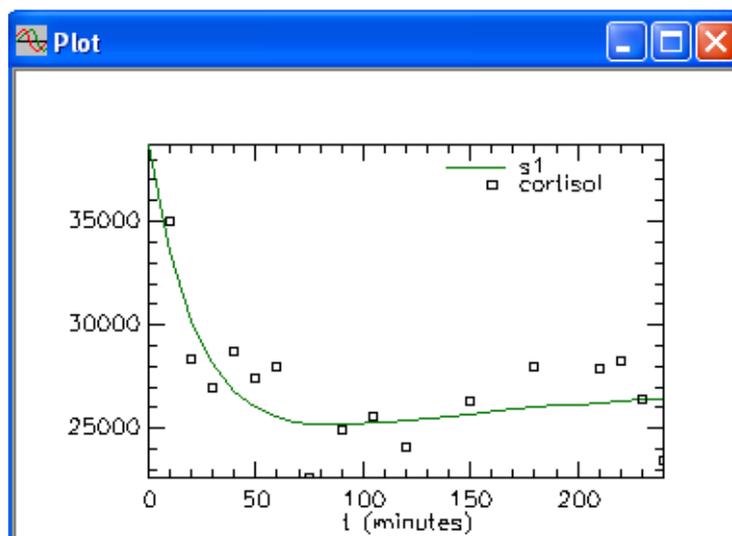


Figura 3.31: Predizione del modello verso i dati per il soggetto JAC382

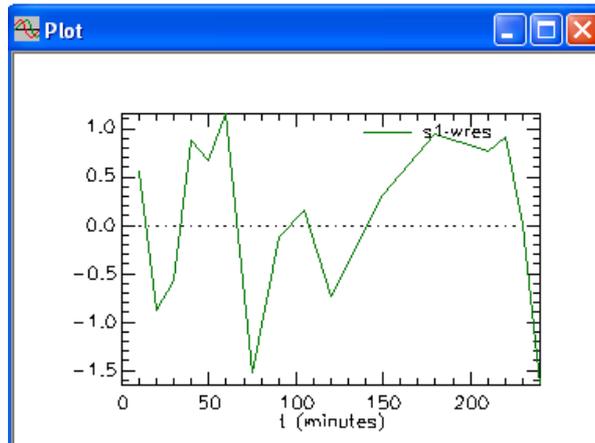


Figura 3.32: Residui pesati per il soggetto JAC382

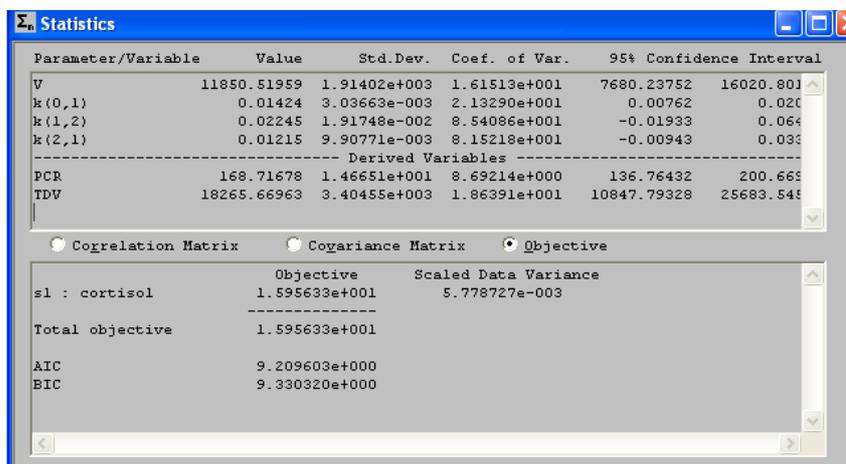


Figura 3.33: Finestra statistic per il soggetto JAC382

	dati_cav	dati_jac	fit_medio	dati_medi
0	0	0	46588.710	
10	29413.841	35040.937	31470.000	32227.389
20	22306.001	28337.385	26283.660	25321.693
30	19856.053	26943.309	24271.850	23399.681
40	21961.744	28727.083	23393.750	25344.413
50	19650.977	27408.340	22979.740	23529.659
60	18862.757	27993.087	22789.100	23427.922
75	20605.545	22619.442	22713.910	21612.493
90	22346.119	24964.077	22763.750	23655.098
105	18926.892	25554.143	22868.560	22240.517
120	20461.622	24056.875	22993.820	22259.249
150	19460.784	26351.800	23245.410	22906.292
180	23346.241	27998.385	23463.530	25672.313
210	23417.028	27881.136	23640.750	25649.082
220	19676.485	28271.929	23656.480	23974.207
230	24176.633	26412.876	23738.290	25294.754
240	18929.965	23492.319	23781.610	21211.142

Tabella 3.8: Calcolo della media dei dati di $[^3H]$ -cortisolo verso i dati medi per i soggetti diabetici

	FIT_cav	FIT_jac	MEDIA
0	54469.540	38707.889	46588.715
10	29382.583	33557.986	31470.285
20	22330.550	30236.777	26283.664
30	20421.549	28122.148	24271.849
40	19986.346	26801.152	23393.749
50	19959.079	26000.408	22979.744
60	20039.145	25539.061	22789.103
67.5	20116.064	25342.246	22729.155
75	20194.280	25233.539	22713.910
82.5	20269.949	25187.550	22728.750
90	20341.765	25185.733	22763.749
97,5	20409.400	25214.566	22811.983
105	20472.897	25264.215	22868.556
112.5	20532.430	25327.548	22929.989
120	20588.216	25399.416	22993.816
132	20670.239	25523.322	23096.781
141	20726.368	25618.453	23172.410
150	20778.262	25712.550	23245.406
162	20841.415	25833.731	23337.573
171	20884.627	25920.243	23402.435
180	20924.579	26002.477	23463.528
192	20973.198	26105.151	23539.175
201	21006.466	26176.909	23591.688
210	21037.223	26244.272	23640.748
220	21068.684	26244.272	23656.478
230	21097.517	26379.061	23738.289
240	21123.944	26439.279	23781.612
240	21123.944	26439.279	23781.612

Tabella 3.9: Fit individuali e medi per i soggetti diabetici

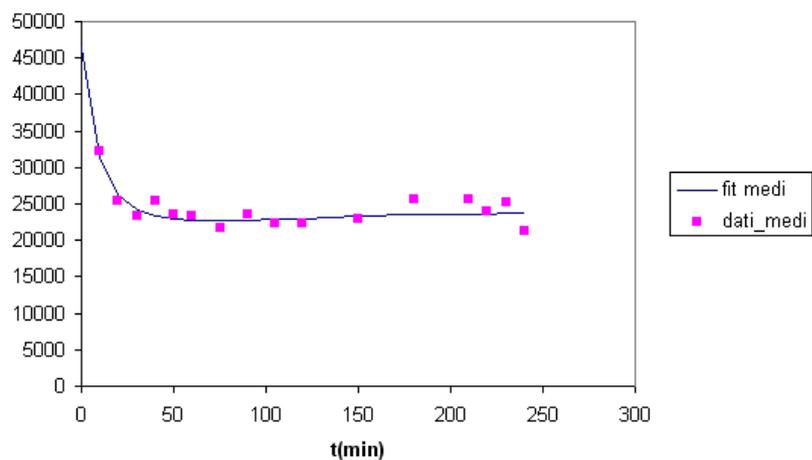


Figura 3.34: Plot dei dati medi e fit medio

	wres_cav	wres_jac	MEDIA
10	0.012	0.557	0.285
20	-0.013	-0.882	-0.448
30	-0.331	-0.575	-0.453
40	1.047	0.882	0.965
50	-0.182	0.676	0.247
60	-0.726	1.153	0.214
75	0.232	-1.521	-0.645
90	1.044	-0.117	0.464
105	-0.951	0.149	-0.401
120	-0.072	-0.734	-0.403
150	-0.788	0.319	-0.235
180	1.208	0.938	1.073
210	1.183	0.772	0.978
220	-0.824	0.911	0.044
230	1.483	0.017	0.750
240	-1.349	-1.651	-1.500

Tabella 3.10: Residui pesati individuali e medi per i soggetti diabetici

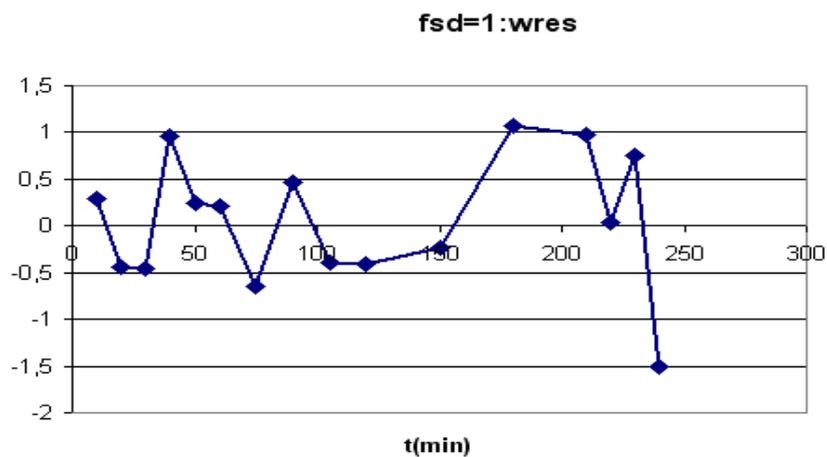


Figura 3.35: Residui pesati medi per i soggetti diabetici

3.4.3 Soggetti normali

RIC170

Parametri iniziali:

V=47800
 $K(0,1)=0.0095$
 $K(1,2)=0.028$
 $K(2,1)=0.019$

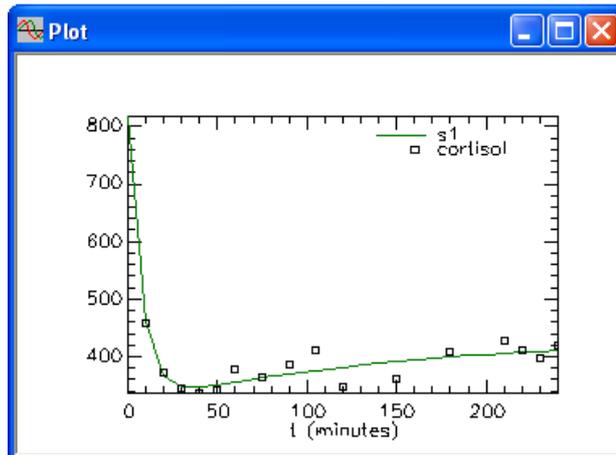


Figura 3.36: Predizione del modello verso i dati per il soggetto RIC170

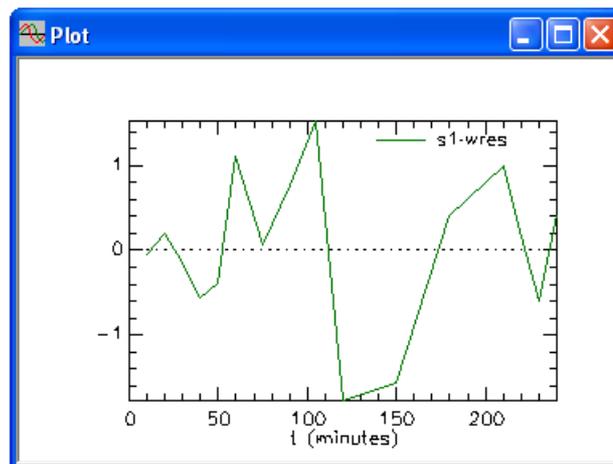


Figura 3.37: Residui pesati per il soggetto RIC170

Parameter/Variable	Value	Std.Dev.	Coef. of Var.	95% Confidence Interval	
V	26918.87721	1.05847e+004	3.93207e+001	3856.86552	49980.888
k(0,1)	0.01891	7.73414e-003	4.08989e+001	0.00206	0.035
k(1,2)	0.04812	9.46315e-003	1.96642e+001	0.02751	0.068
k(2,1)	0.06995	4.76121e-002	6.80700e+001	-0.03379	0.173
----- Derived Variables -----					
PCR	509.04670	2.23594e+001	4.39241e+000	460.32981	557.763
TDV	66044.31907	4.31999e+003	6.54105e+000	56631.88458	75456.753
Correlation Matrix Covariance Matrix <input checked="" type="radio"/> Objective					
		Objective	Scaled Data Variance		
s1 : cortisol		6.786028e+000	2.946715e-003		
Total objective		6.786028e+000			
AIC		4.624453e+000			
BIC		4.745170e+000			

Figura 3.38: Finestra statistic per il soggetto RIC170

GRI945

Parametri iniziali:

$$\begin{aligned} V &= 20000 \\ K(0,1) &= 0.009 \\ K(1,2) &= 0.035 \\ K(2,1) &= 0.045 \end{aligned}$$

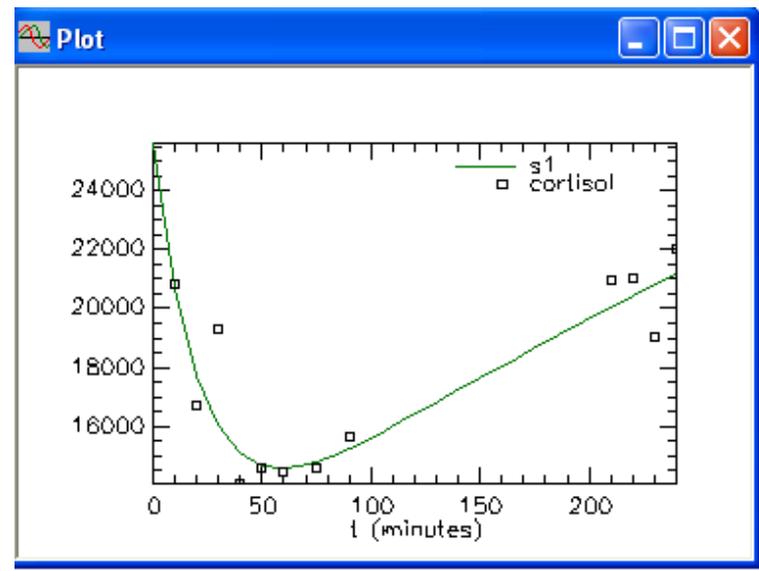


Figura 3.39: Predizione del modello verso i dati per il soggetto GRI945

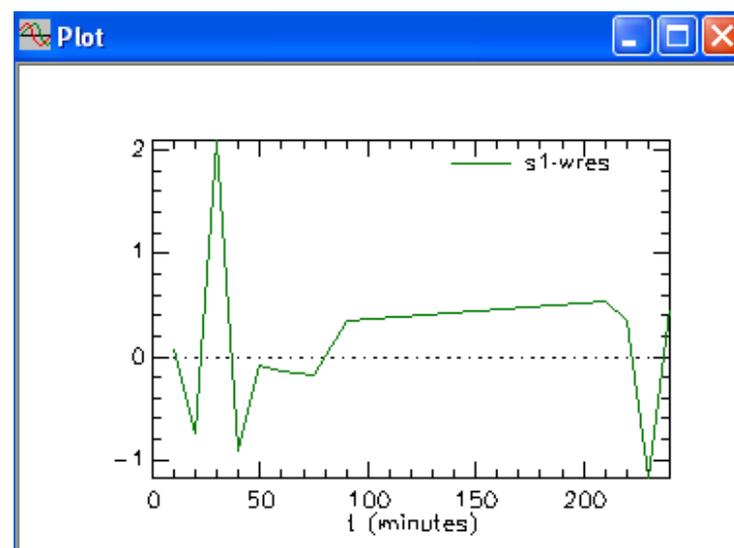


Figura 3.40: Residui pesati il soggetto GRI945

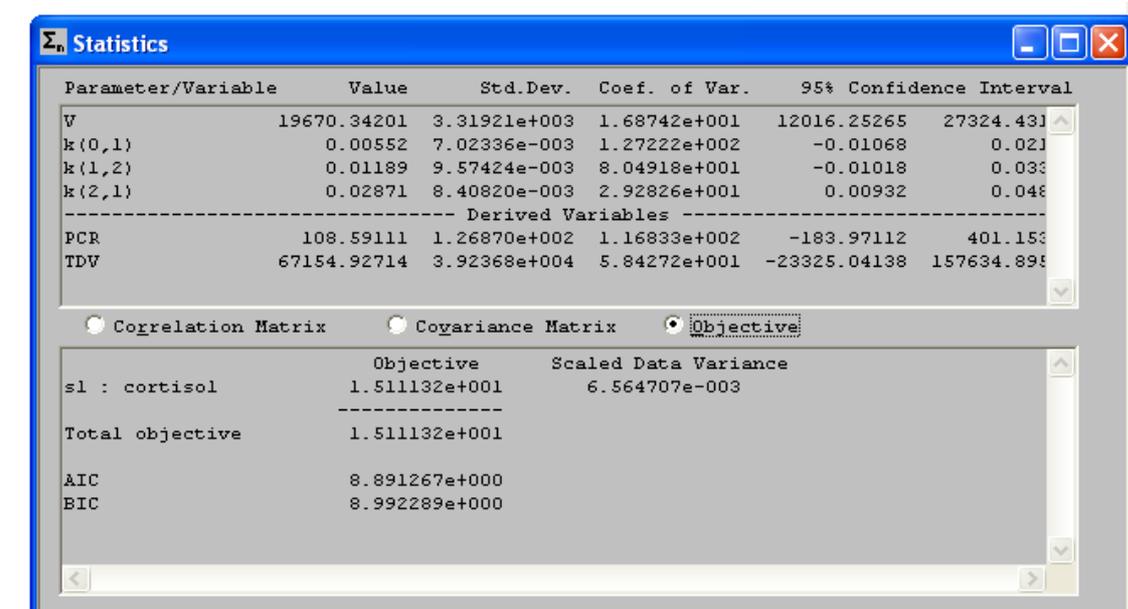


Figura 3.41: Finestra statistic per il soggetto GRI945

	FIT_ric	FIT_gri	MEDIA
0	817.584	25600.256	13208.920
10	459.921	20694.533	10577.227
20	367.348	17735.948	9051.648
30	347.344	16021.501	8184.423
40	346.531	15100.358	7723.445
50	350.570	14684.149	7517.360
60	355.627	14588.431	7472.029
67.5	359.443	14654.287	7506.865
75	363.132	14799.908	7581.520
82.5	366.659	15001.509	7684.084
90	370.015	15242.086	7806.051
105	376.229	15679.046	8027.638
112.5	379.101	16150.040	8264.571
150	391.403	17641.919	9016.661
162	394.705	18137.100	9265.903
171	397.006	18626.677	9511.842
180	399.166	19584.887	9992.027
210	405.458	20052.590	10229.024
220	407.278	20436.369	10421.824
230	408.975	20814.705	10611.840
240	410.557	21187.619	10799.088
240	410.557	21187.619	10799.088

Tabella 3.11: Fit individuali e medi per i soggetti normali

	data_ric	data_gri	dati medi	fit medio
0				13208.920
10	458.789	20820.811	10639.800	10577.230
20	371.364	16719.766	8545.565	9051.648
30	344.754	19302.829	9823.791	8184.423
40	336.358	14058.710	7197.534	7723.445
50	343.184	14575.138	7459.161	7517.360
60	378.396	14433.923	7406.160	7472.029
75	364.484	14593.023	7478.753	7581.520
90	386.144	15676.729	8031.437	7806.051
210	428.651	20971.836	10700.244	10229.020
220	410.684	21035.168	10722.926	10421.820
230	396.034	19004.145	9700.089	10611.840
240	420.167	22026.778	11223.473	10799.090

Tabella 3.12: Calcolo della media dei dati di [3H]-cortisolo verso i dati per i soggetti normali

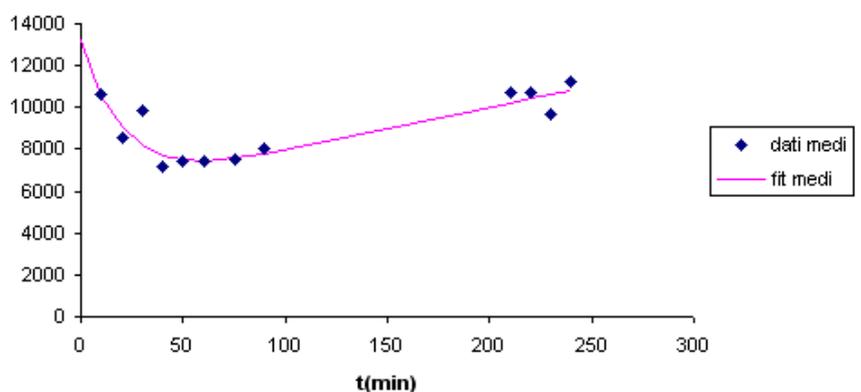


Figura 3.42 : Plot dei dati medi e fit medio

	wres_ric	wres_gri	MEDIA
10	-0.045	0.075	0.015
20	0.199	-0.751	-0.276
30	-0.138	2.098	0.980
40	-0.557	-0.914	-0.736
50	-0.396	-0.092	-0.244
60	1.109	-0.132	0.489
75	0.068	-0.175	-0.054
90	0.769	0.342	0.556
210	0.997	0.541	0.769
220	0.153	0.351	0.252
230	-0.602	-1.176	-0.889
240	0.421	0.471	0.446

Tabella 3.13: Residui pesati individuali e medi per i soggetti norma

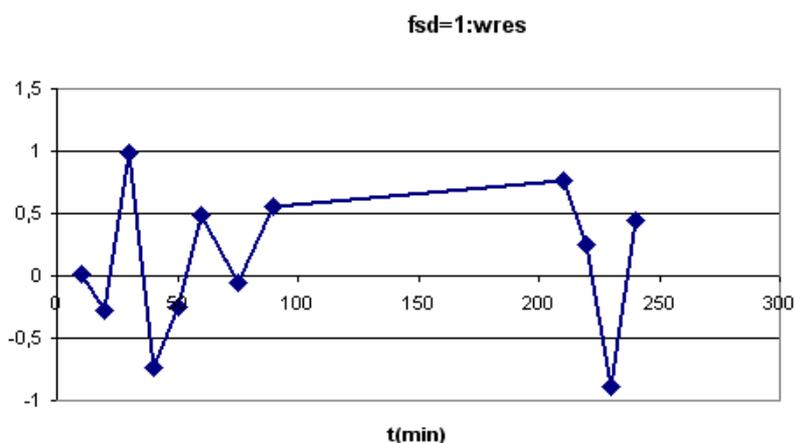


Figura 3.43: Residui pesati medi per i soggetti normali

3.4.4 Sommario dei risultati

Nella tabella riassuntiva sono riportati tutti i parametri stimati con i loro coefficienti di variazione. Questi valori sono presenti nelle rispettive finestre statistiche riportate prima.

		V(L/kg)	CV%	K01(min-1)	CV%	K12(min-1)	CV%	K21(min-1)	CV%
LEAN	ric170	0.373	39	0.019	40	0.048	19	0.069	68
	gri945	0.215	16	0.005	127	0.012	80	0.029	29
	media_lean	0.294	28	0.012	84.	0.030	50	0.049	48
OBESI	SIE949	0.164	15	0.021	19	0.018	35	0.027	31
	DOY672	0.313	27	0.014	48	0.016	72	0.027	55
	media_obesi	0.238	21	0.018	33	0.017	53	0.027	43
DM	CAV445	0.109	53	0.025	55	0.043	29	0.065	86
	JAC382	0.123	16	0,014	21	0.022	85	0.012	81
	media_DM	0.116	34.	0.019	38	0.032	57	0.038	83

		PCR(ml/kg/min)	CV%	TDV(L/kg)	CV%
LEAN	ric170	7.06	4	0.916	6
	gri945	1.18	116	0.733	58
	media_lean	4.12	60,6	0.824	32
OBESI	SIE949	3.58	8	0.403	17
	DOY672	4.44	29	0.866	40
	media_obesi	4.01	18	0.634	28
DM	CAV445	2.78	5	0.276	12
	JAC382	1.75	9	0.189	18
	media_DM	2.26	7	0.232	15

Tabella 3.14: Tabella riassuntiva

Dai parametri del modello è possibile calcolare il volume di distribuzione totale come:

$$\text{TDV} = V \left(1 + \frac{k_{21}}{k_{12}} \right) \quad (3.6)$$

Dalla tabella 3.14 è evidente che il TDV assume valori diversi nei tre gruppi analizzati: 0.824 per i soggetti normali, 0.634 per gli obesi e 0.232 per i diabetici; il volume V invece è di 0.294 per i soggetti normali, 0.238 per gli obesi e 0.116 per i diabetici. Questi valori verranno usati in seguito per il calcolo del flusso di comparsa del cortisolo.

CAPITOLO 4

FLUSSO DI COMPARSA DEL CORTISOLO

4.1 Modello di Steele

Il flusso di comparsa (ug/min) del [^{13}C]-cortisol proviene dall' ingestione del [^{13}C]-cortisone ed è stato stimato applicando l'equazione di Steele descritto in questo paragrafo [5].

Il modello di Steele è largamente usato per misurare in condizioni di stato non stazionario la velocità di comparsa nel plasma di una sostanza. Si tratta di un semplice modello ad un compartimento (Figura 4.1) che, lungi dal fornire una accurata descrizione del sistema, permette però di ricavare una semplice formula per la velocità di comparsa durante una perturbazione a partire dai dati di concentrazione plasmatica di tracciato e di tracciante.

Per ricavare tale formula, indicando con $Ra(t)$ e $Rd(t)$ i flussi di produzione e di utilizzazione di tracciato nel compartimento e con $Q(t)$ la sua massa, l'equazione di bilancio di massa del tracciato è la seguente:

$$Q\dot{(t)} = Ra(t) - Rd(t) = Ra(t) - k_{01}(t) \cdot Q(t) \quad (4.1)$$

Se ora indichiamo con u la velocità di infusione di tracciante, con $q(t)$ la sua massa e con $rd(t)$ la sua utilizzazione si ha un analogo equazione per il tracciante:

$$q\dot{(t)} = u - rd(t) = u - k_{01}(t) q(t) \quad (4.2)$$

dove, assumendo che il tracciante sia ideale, si è espresso il principio di indistinguibilità isotopica uguagliando i coefficienti frazionari di eliminazione di tracciante e tracciato. Se ora si ricava $k_{01}(t)$ dall'equazione 4.1 e si sostituisce tale espressione nell'equazione 4.2, si può ricavare la seguente espressione per $Ra(t)$:

$$Ra(t) = \frac{u(t)}{q(t)/Q(t)} + Q\dot{(t)} - \frac{q\dot{(t)}}{q(t)/Q(t)} \quad (4.3)$$

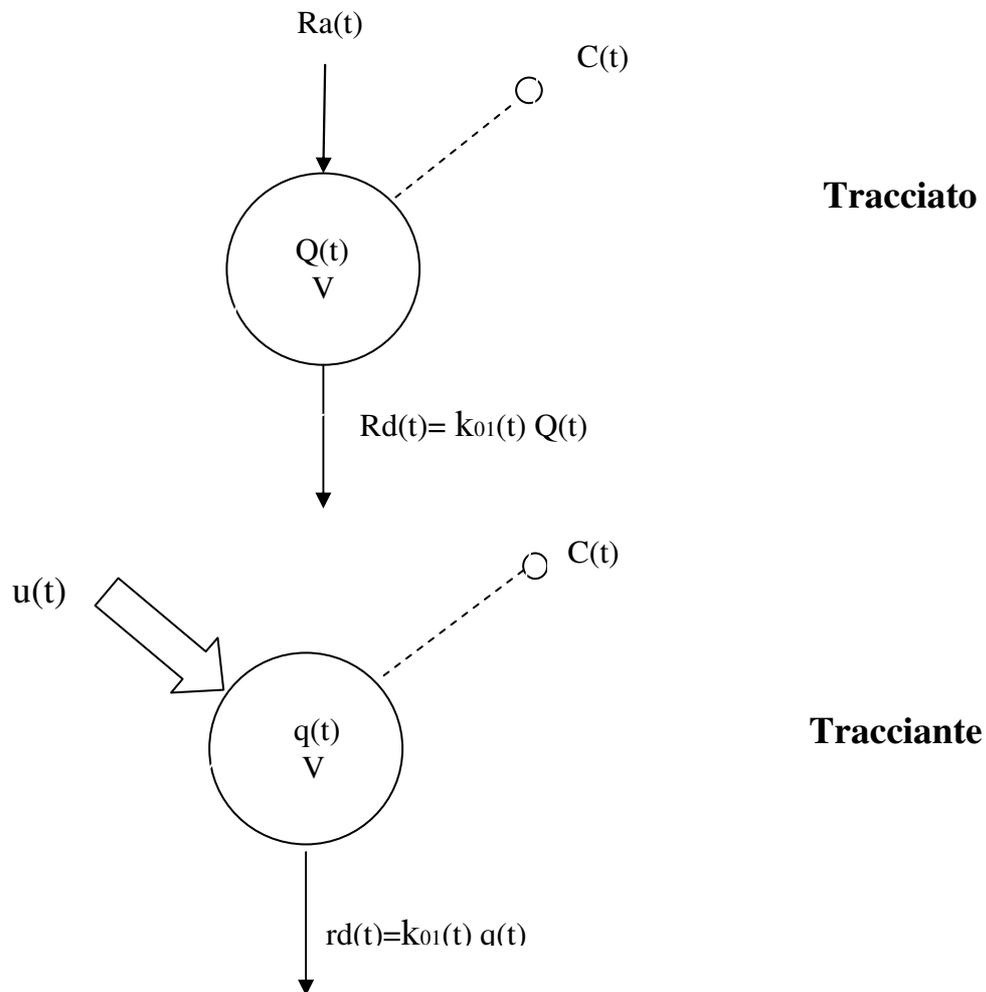


Figura 4.1 : Il modello monocompartimentale alla base dell'equazione di Steele per il tracciato e il tracciante

Indicando con z il rapporto tracciante-tracciato, che nel caso di un esperimento con tracciante radioattivo è ben approssimato dall'attività specifica,

$$Sa(t) = \frac{q(t)}{q(t) + Q(t)} \cong \frac{q(t)}{Q(t)} = z(t) , \quad (4.4)$$

essendo $q(t) \ll Q(t)$, l'equazione 4.3 può essere riscritta nella forma

$$Ra(t) = \frac{u(t)}{z(t)} + Q \dot{z}(t) - \frac{q \dot{z}(t)}{z(t)} \quad (4.5)$$

Dalla (4.4) ricavando $q(t)$ e derivando si ottiene:

$$q(t) = z(t) \cdot Q(t) \implies \dot{q}(t) = z(t) \cdot \dot{Q}(t) + z(t) \cdot Q'(t) \quad (4.6)$$

Sostituendo la (4.6) nella (4.5) si ottiene:

$$Ra(t) = \frac{u(t)}{z(t)} - V \cdot \frac{C(t)}{z(t)} \cdot z'(t) \quad (4.7)$$

In cui V rappresenta il volume di distribuzione del cortisolo nell'organismo e $C(t)$ la concentrazione di tracciato. Fissato un valore per V , tutti i termini a secondo membro dell'equazione 7 sono misurabili ed è quindi possibile ricostruire dai dati il profilo di $Ra(t)$. Il calcolo della derivata di z richiede naturalmente di regolarizzare i dati, ad esempio usando la deconvoluzione (si veda paragrafo 4.3.3).

L'equazione 4.7 è alla base del modello di Steele, originariamente proposto per il glucosio. Steele ha infatti introdotto il concetto di "pool fraction", per compensare l'errore introdotto dall'ipotesi di distribuzione uniforme di glucosio nell'organismo [6]. Assumendo cioè che il modello ad un compartimento di fig. 4.1 descriva una frazione pari a pV ($p < 1$) del pool totale l'eq. 7 si modifica nella:

$$Ra(t_k) = \frac{u(t_k)}{z(t_k)} - p \cdot V \cdot \frac{C(t_k)}{z(t_k)} \cdot z'(t) \quad (4.8)$$

Il valore di p , inizialmente proposto è pari a 0.5, ma in letteratura varia da 0.5 a 0.8. In questo lavoro, il valore di p è ancora sconosciuto per il cortisolo, sono stati considerati due valori: $p=1$ e $p=0.65$ (valore usato di solito per il glucosio), inoltre si è anche utilizzato il valore del volume iniziale V riportato in tabella 3.14. Tuttavia la scelta di p e V è sempre meno critica quanto più z è mantenuto costante ossia si realizza il clamp del rapporto tracciante-tracciato. In questo caso infatti $z'(t)$ è trascurabile e il secondo termine della 4.7 è quasi nullo.

Le limitazioni di questo approccio sono state evidenziate in vari studi. Per il cortisolo in cui la cinetica non è monocompartimentale e la cui produzione avviene in entità spaziali diverse dal compartimento accessibile, l'eq 4.7 non fornisce la stima della vera produzione, ma quella della velocità di comparsa nel compartimento accessibile.

4.2 Equazioni di $Ra_{[^{13}C]cortisol}$, $Ra_{[^2H]cortisol}$ e $Ra_{cortisol}$

L'infusione intravenosa del $[^3H]$ -cortisolo permette di stimare la velocità di comparsa del $[^{13}C]$ -cortisolo e del $[^2H]$ -cortisolo. Quindi la formula del $Ra_{[^{13}C]cortisol}$ è la seguente:

$$Ra_{[^{13}C]cortisol} = \frac{F[^3H]cortisol - V \times [^{13}C]cortisol \times d([^3H]cortisol/[^{13}C]cortisol)/dt}{[^3H]cortisol/[^{13}C]cortisol} \quad (4.9)$$

Dove t rappresenta il tempo (min), $F[^3H]$ -cortisol (dpm/min) l'infusione intravenosa del $[^3H]$ -cortisol, $[^3H]$ -cortisol (dpm/ml) la concentrazione plasmatica del $[^3H]$ -cortisol, $[^{13}C]$ -cortisolo (ug/ml) la concentrazione nel plasma del $[^{13}C]$ -cortisolo proveniente dal consumo del $[^{13}C]$ -cortisolo, V (ml) il volume di distribuzione del cortisolo e d/dt la derivata nel tempo. Analogamente la velocità di scomparsa del $[^2H]$ -cortisolo deriva dal tracciante $[^2H]$ -cortisolo e viene calcolato come segue:

$$Ra_{[^2H]cortisol} = \frac{F[^3H]cortisol - V \times [^2H]cortisol \times d([^3H]cortisol/[^2H]cortisol)/dt}{[^3H]cortisol/[^2H]cortisol} \quad (4.10)$$

dove il $[^2H]$ -cortisol (dpm/ml) è la concentrazione plasmatica del $[^2H]$ -cortisol.

La produzione totale del cortisolo viene calcolata ugualmente usando l'equazione di Steele:

$$Ra_{cortisol} = \frac{F[^3H]cortisol - V \times [Cortisol_{total}] \times d([^3H]cortisol/Cortisol_{total})/dt}{[^3H]cortisol/Cortisol_{total}} \quad (4.11)$$

dove $Cortisol_{total}$ rappresenta la concentrazione del cortisolo totale nel plasma ed è data dalla somma delle concentrazioni del cortisol, del $[^{13}C]$ -cortisolo e del $[^2H]$ -cortisolo.

4.3 Elaborazione dei dati

L'esperimento è stato svolto su undici soggetti (tabella 2.1) e per ognuno di questi è stato creato un file Excel. Ogni file Excel consta di tre fogli: Il primo foglio viene chiamato *original_data* e contiene le caratteristiche antropometriche del soggetto e i dati originali. Nel secondo foglio detto *preelaboration*, i dati originali vengono elaborati per ottenere dei dati derivati anche chiamati *pre_elaborati*. Questi ultimi verranno in fine utilizzati nel terzo foglio chiamato *elaboration* per calcolare i rispettivi flussi.

4.3.1 Organizzazione dei dati originali

Nel foglio *original_data* vengono inseriti tutti i dati misurati sui campioni di sangue prelevati negli istanti di campionamento e sono:

- Cold Cortisol ($\mu\text{g/dl}$): concentrazione plasmatica totale del cortisolo
- Cold Cortisone ($\mu\text{g/dl}$): concentrazione plasmatica del cortisone
- [^3H]-cortisol (dpm/ml): concentrazione plasmatica del cortisolo marcato con trizio
- [^3H]-cortisol "F" pump rate (ml/min): velocità d'infusione della pompa di [1,2,6,7- ^3H]-cortisolo
- [^3H]-cortisone (dpm/ml): concentrazione plasmatica del cortisone marcato con trizio
- [^{13}C]-cortisol (mpe): concentrazione plasmatica del cortisolo marcato con ^{13}C
- [^{13}C]-cortisone (mpe): concentrazione plasmatica del cortisone marcato con ^{13}C
- d3 cortisone ([^2H]-cortisone) (mpe): concentrazione plasmatica del cortisone marcato con ^2H
- d3 cortisol ([^2H]-cortisol) (mpe): concentrazione plasmatica del cortisolo marcato con ^2H

Il cortisolo plasmatico, il cold cortisol, il [^2H]-cortisol, [^2H]-cortisone, [^{13}C]-cortisol e il [^{13}C]-cortisone vengono misurati usando un liquido cromatografico.

4.3.2 Elaborazione e smoothing

Il [^{13}C]-cortisol, il d3 cortisol e il $Cortisol_{total}$ sono convertiti in $\mu\text{g/ml}$ nel foglio *preelaboration* Tramite le formule seguenti:

$$[^{13}\text{C}]\text{-cortisol} = \text{Cold Cortisol} \times [^{13}\text{C}]\text{-cortisol} / 100 \quad (4.12)$$

$$d3 \text{ cortisol} = \text{Cold Cortisol} \times d3 \text{ cortisol} / 100 \quad (4.13)$$

$$\text{Cortisol}_{total} = \text{Cold Cortisol} \times \text{Cortisol}_{total} / 100 \quad (4.14)$$

Inoltre è stata convertita la velocità d'infusione della pompa $F[{}^3\text{H}]\text{cortisol}$ delle formule 4.9, 4.10 e 4.11 come segue:

$$F[{}^3\text{H}]\text{cortisol} = \frac{[{}^3\text{H}]\text{-cortisol "F"}}{[{}^3\text{H}]\text{-cortisol "F" pump rate}} \quad (4.15)$$

dove il $[{}^3\text{H}]\text{-cortisol "F"}$ è l'infusione espressa in dpm/ml.

Nel foglio *elaboration* vengono calcolati i rispettivi flussi cioè $\text{Ra}^{[{}^{13}\text{C}]\text{cortisol}}$, $\text{Ra}^{[{}^2\text{H}]\text{cortisol}}$ e $\text{Ra}_{\text{cortisol}}$. Le equazioni 4.9, 4.10 e 4.11 di questi flussi contengono i rapporti tracciante - tracciato che vengono ricavati nel foglio *preelaboration* come segue:

$$Z_1 = \frac{[{}^3\text{H}]\text{-cortisol}}{[{}^{13}\text{C}]\text{-cortisol}} \quad (4.16)$$

$$Z_2 = \frac{[{}^3\text{H}]\text{-cortisol}}{d3\text{-cortisol}} \quad (4.17)$$

$$Z_3 = \frac{[{}^3\text{H}]\text{-cortisol}}{\text{Cortisol}_{total}} \quad (4.18)$$

Per calcolare numericamente la derivata delle variabili Z_1 , Z_2 e Z_3 è stata necessario eseguire uno smoothing delle variabili stesse.

Questa tecnica ha lo scopo di ridurre il rumore, degradandola ad una risoluzione inferiore. In particolare, in questo lavoro si è ricorso ad un metodo basato sulla deconvoluzione [7], che come criterio di regolarizzazione utilizza il criterio della massima verosimiglianza .

4.4 Profili

4.4.1 Profili dei dati originali

Prima di analizzare i profili delle attività specifiche è opportuno plottare i profili dei dati originali usati nelle formule di Z_1 , Z_2 e Z_3 cioè [3H]-cortisol, [^{13}C]-cortisol, d3-cortisol e Cortisol-total. In alcune tabelle sono evidenziati i valori che si discostano molto dalle medie.

Profilo del [3H]-cortisolo (dpm/ml)

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
-30	18969	21433		18969		20959	18372	28267	20972	23417	11011	20263	4595
-20	20210	20534		20210		23319	41334	25919	21035	19676	9759	22444	8320
-10	23496	19802		23496		22289	47444	30930	19004	24177	8057	24299	10589
0	21132	21008	34155	21132	20226	22054	20814	30686	22027	18930	19529	22881	4871
10	25015	29008	50919	25015	38846	25081	34291	62220	39259	36643	37620	36720	11569
20	24305	45269	59605	24305	33899	29881	41389	70352	48400	40331	42537	41843	14168
30	23059	57376	60347	23059	44645	32657	45062	48307	47196	35828	47569	42282	12366
40	33646	51198	58756	33646	43606	42955	45233	56176	46905	39154	51156	45676	8290
50	37981	46218	68169	37981	50042	50785	46582	60148	49137	42712	48976	48975	8899
60	45123	39773	60342	45123	54821	53165	46149	67953	53487	46218	59175	51939	8359
75	60784	35579	58775	60784	39529	54964	40812	64660	49612	52407	49641	51595	9640
90	64072	34164	58049	64072	35532	48539	40525	65859	48348	51522	50367	51004	11218
120	51774	38626	51232	51774	25149	39264	35535	52339	40431	40026	39884	42367	8586
150	54232	28504	41997	54232	20183	32290	22695	37399	31238	27859	30450	34643	11399
180	52999	26099	37401	52999	15902	28560	18826	30731	23995	25244	25003	30705	12378
210	51766	15218	34121	51766	14386	23853	16754	27888	21077	20764	18332	26902	13565
240	49826	14731	29850	49826	12139	20240	15606	27344	17775	18070	16363	24706	13481
270	40406	13632	27012	40406	10025	17598	13539	22921	15517	17112	16838	21364	10469
300	35261	13983	26142	35261	10868	18272	14520	20694	15119	16360	13488	19997	8580
330	31186	12031	15063	31186	10186	16267	11243	20105	14433	15258	12473	17221	7418
360	20570	7762	12824	20570	9126	15440	11931	16922	14449	16449	14268	14574	4098

Tabella 4.1: Profili temporali di [3H]-cortisol

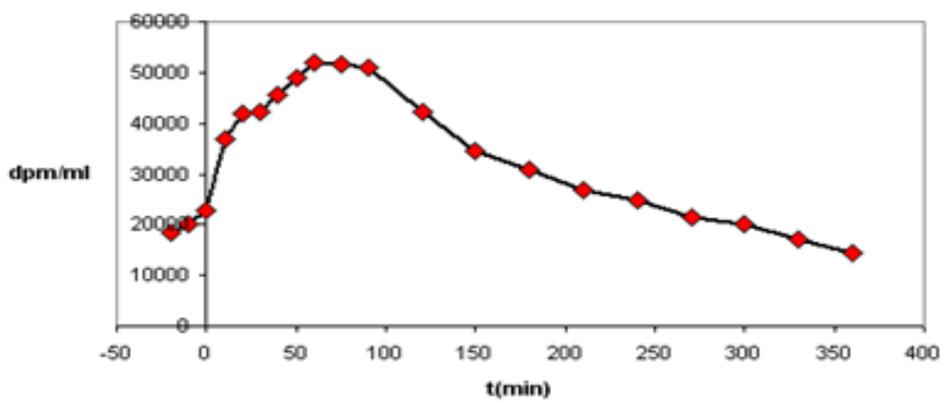


Figura 4.1: Profilo di concentrazione medio del [3H]-cortisol

Profilo del [¹³C]-cortisol (ug/dL)

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
-30	0.000	0.000	0.000	0.128	0.000	0.123	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.051
-20	0.000	0.000	0.000	0.090	0.000	0.071	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.015	0.033
-10	0.000	0.000	0.000	0.070	0.000	0.082	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.014	0.031
0	0.004	0.000	0.000	0.068	0.000	0.072	0.000	0.007	0.000	0.001	0.000	0.014	0.028
10	0.031	0.022	0.000	0.085	0.372	0.068	0.016	0.265	0.039	0.021	0.100	0.093	0.118
20	0.355	0.138	1.923	0.311	0.852	0.122	0.108	1.016	0.109	0.829	1.011	0.616	0.572
30	0.958	0.464	4.182	0.290	0.864	0.140	1.133	1.982	0.961	1.518	1.372	1.260	1.110
40	1.158	0.690	3.611	0.248	0.509	0.112	1.559	2.316	1.329	1.522	1.175	1.293	1.002
50	1.126	1.065	3.276	0.218	0.497	0.102	1.497	2.311	1.294	1.263	0.911	1.233	0.917
60	0.981	1.435	3.264	0.235	0.419	0.090	1.344	1.772	1.224	1.060	0.790	1.147	0.874
75	0.889	1.684	2.484	0.307	0.361	0.081	1.108	1.353	0.956	0.887	0.632	0.977	0.685
90	0.923	1.341	2.249	0.289	0.278	0.063	0.995	1.150	0.762	0.669	0.597	0.847	0.607
120	0.770	1.020	1.769	0.228	0.123	0.081	0.800	0.924	0.562	0.487	0.449	0.656	0.485
150	0.682	0.887	1.317	0.146	0.099	0.040	0.666	0.672	0.417	0.234	0.350	0.501	0.388
180	0.597	0.849	0.842	0.143	0.079	0.024	0.602	0.573	0.299	0.267	0.273	0.413	0.293
210	0.509	0.616	0.983	0.111	0.062	0.017	0.531	0.458	0.254	0.206	0.208	0.360	0.290
240	0.430	0.499	0.781	0.089	0.098	0.017	0.427	0.349	0.170	0.154	0.175	0.290	0.229
270	0.394	0.434	0.505	0.068	0.047	0.061	0.378	0.183	0.156	0.125	0.140	0.227	0.168
300	0.320	0.365	0.521	0.075	0.000	0.026	0.337	0.204	0.111	0.093	0.088	0.194	0.167
330	0.238	0.310	0.432	0.064	0.002	0.023	0.264	0.152	0.085	0.070	0.053	0.154	0.138
360	0.203	0.259	0.296	0.062	0.000	0.013	0.197	0.101	0.063	0.063	0.063	0.120	0.101

Tabella 4.2: Profili temporali di [¹³C]-cortisol

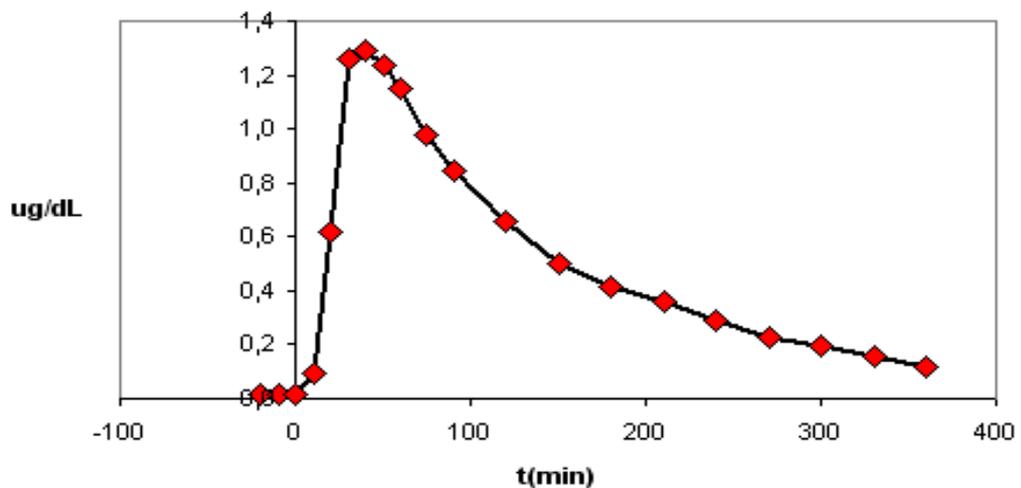


Figura 4.2: Profilo di concentrazione medio del [¹³C]-cortisolo

Profilo del d3-cortisol (ug/dL)

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
-30	0.000	0.000	0.000	0.075	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	0.023
-20	0.000	0.000	0.000	0.066	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.020
-10	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.018
0	0.000	0.000	0.000	0.060	0.000	0.000	0.000	0.005	0.002	0.000	0.000	0.006	0.018
10	0.018	0.007	0.000	0.089	2.279	0.003	0.008	0.332	0.024	0.072	0.313	0.286	0.672
20	0.460	0.036	7.241	0.301	4.118	0.033	0.065	1.192	0.109	3.101	2.621	1.753	2.320
30	1.146	0.197	13.092	0.255	3.831	0.047	1.229	2.808	1.363	4.497	3.124	2.872	3.715
40	1.422	0.297	11.090	0.224	2.577	0.038	1.675	3.248	1.888	4.428	2.700	2.690	3.099
50	1.394	0.581	10.385	0.224	2.272	0.031	1.641	3.247	1.826	3.817	2.205	2.511	2.863
60	1.264	0.862	9.361	0.258	2.098	0.027	1.479	2.475	1.801	3.229	1.880	2.248	2.536
75	1.262	1.139	7.140	0.353	1.753	0.026	1.251	1.918	1.519	2.797	1.602	1.887	1.893
90	1.518	0.972	6.903	0.356	1.545	0.023	1.155	1.608	1.267	2.087	1.465	1.718	1.816
120	1.398	0.806	5.197	0.393	1.027	0.021	0.977	1.286	0.943	1.559	1.103	1.337	1.353
150	1.391	0.920	3.820	0.284	0.779	0.012	0.735	0.907	0.710	0.784	0.842	1.017	0.994
180	1.268	1.125	2.591	0.236	0.545	0.006	0.639	0.760	0.522	1.072	0.675	0.858	0.686
210	1.116	0.862	2.312	0.183	0.419	0.006	0.493	0.612	0.448	0.882	0.524	0.714	0.617
240	1.001	0.803	1.938	0.159	0.312	0.006	0.375	0.474	0.310	0.712	0.432	0.593	0.530
270	0.900	0.756	1.284	0.112	0.215	0.012	0.295	0.266	0.265	0.530	0.328	0.451	0.383
300	0.760	0.687	1.098	0.103	0.158	0.007	0.241	0.271	0.184	0.410	0.221	0.376	0.334
330	0.591	0.641	0.884	0.082	0.110	0.005	0.182	0.229	0.139	0.316	0.144	0.302	0.280
360	0.484	0.614	0.660	0.079	0.077	0.003	0.155	0.164	0.095	0.263	0.143	0.249	0.230

Tabella 4.3: Profili temporali di d3-cortisol

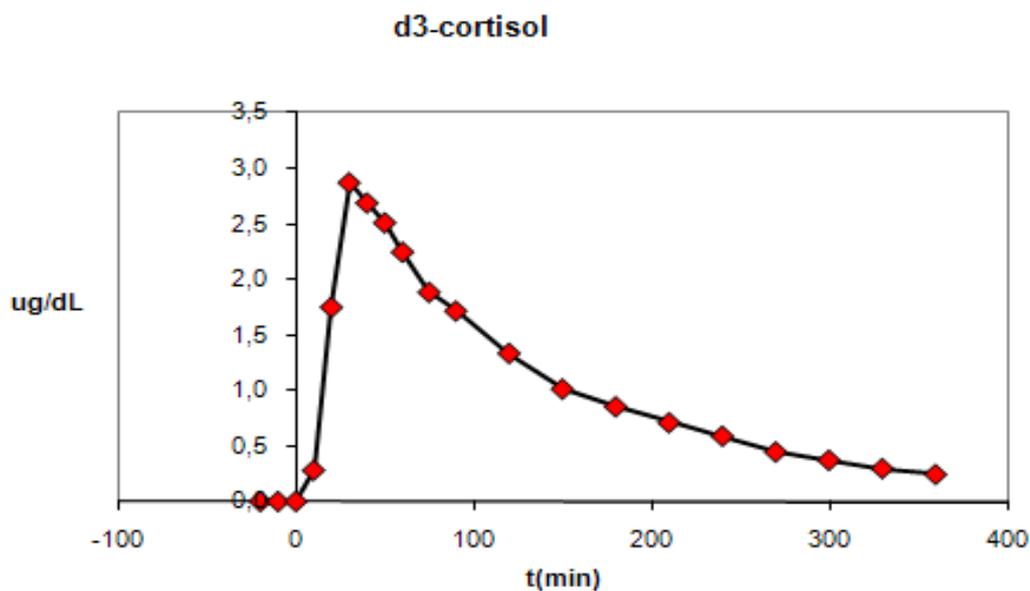


Figura 4.3: Profilo di concentrazione medio del d3-cortisol

Profilo del Cortisolo Totale (ug/dL)

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
-30	0.000	10.037	8.195	16.303	7.535	11.373	14.900	10.350	14.000	11.350	8.870	10.265	4.398
-20	0.000	9.359	9.230	13.957	7.395	8.656	0.000	9.577	0.000	0.000	13.035	6.473	5.457
-10	0.000	10.120	12.850	12.680	7.330	9.037	0.000	9.577	0.000	0.000	13.035	6.784	5.648
0	4.994	10.510	14.400	12.528	6.555	8.442	11.100	8.808	15.802	12.751	17.200	11.190	3.814
10	9.259	11.014	14.800	13.424	16.436	7.956	10.074	8.507	13.213	11.994	15.312	11.999	2.877
20	9.670	10.614	70.713	21.812	26.720	8.610	9.163	16.008	11.318	14.230	14.532	19.399	17.924
30	9.233	10.410	132.775	21.445	26.755	8.261	10.117	20.690	11.349	16.265	13.496	25.527	36.062
40	8.990	10.469	119.701	20.222	19.431	7.230	10.005	19.414	10.637	16.000	12.369	23.134	32.357
50	9.059	12.516	109.511	18.542	16.875	6.918	9.578	17.758	10.195	14.056	10.901	21.446	29.455
60	8.425	13.032	104.625	19.092	15.617	6.582	8.913	13.982	9.245	12.053	9.954	20.138	28.254
75	8.066	12.103	82.274	20.809	13.069	6.242	7.429	11.485	8.060	10.494	8.758	17.163	21.959
90	7.576	10.148	79.253	20.045	12.072	5.456	6.790	9.932	6.894	7.952	7.767	15.808	21.414
120	6.603	7.942	63.516	18.021	8.541	6.827	6.838	8.900	5.515	6.231	6.097	13.185	17.046
150	7.212	6.647	46.287	15.030	6.957	4.397	5.551	7.638	4.502	3.363	5.301	10.262	12.340
180	6.090	6.636	32.533	15.479	6.034	3.395	5.811	9.733	5.586	7.379	5.813	9.499	8.261
210	5.835	5.687	31.345	14.194	5.672	2.813	7.195	8.280	7.732	10.793	10.932	10.043	7.727
240	6.161	5.169	27.519	13.198	5.125	2.998	9.392	8.453	10.630	12.717	7.511	9.897	6.668
270	5.964	5.137	20.739	11.830	4.246	6.929	8.153	4.599	6.581	15.005	6.683	8.715	5.132
300	7.170	5.245	21.418	12.528	4.257	4.394	6.307	10.974	6.935	16.103	10.658	9.635	5.404
330	8.249	7.004	18.416	11.646	3.695	4.227	7.796	7.821	5.274	9.986	10.057	8.561	4.097
360	6.742	8.869	16.257	11.741	4.426	3.081	5.262	10.665	14.808	9.016	7.746	8.965	4.163

Tabella 4.4: Profili temporali del cortisolo totale

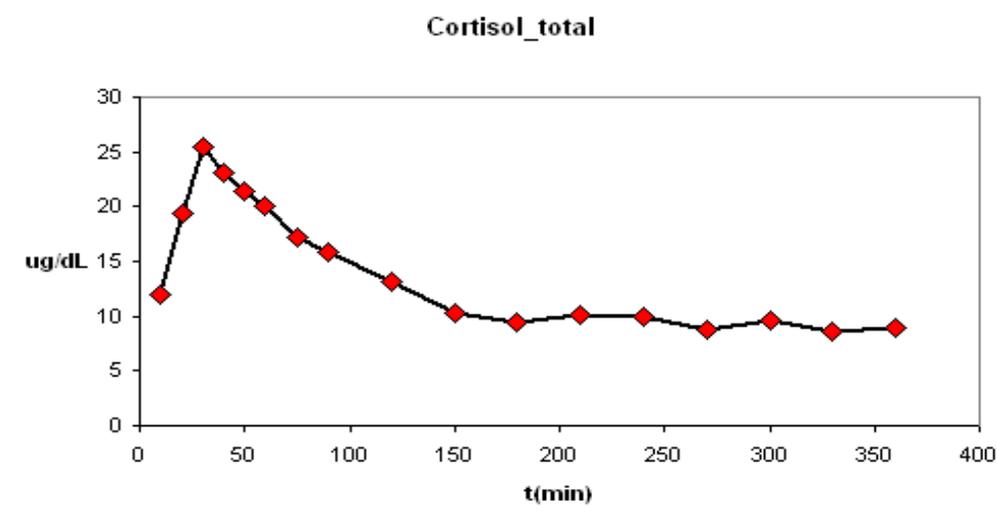


Figura 4.4: Profilo di concentrazione medio del cortisolo totale

4.4.2 Profili dei rapporti tracciante-tracciato

Il rapporto tracciante-tracciato per alcuni soggetti presenta valori molto bassi, valori piuttosto alti. In seguito si riportano quindi due profili medi: uno ottenuto considerando tutti i soggetti e l'altro calcolato scartando i soggetti con i valori fuori range.

Profilo di $z1 = [^3H]\text{-cortisol} / [^{13}C]\text{-cortisol}$ (dpm/ug)

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20	6843435	32878865	3100340	7804778	3980750	24472169	38332080	6923751	44241200	4865179	4208392	16150085	15684341
30	2408005	12372076	1442980	7954474	5168834	23351741	3976888	2436861	4909870	2359900	3467373	6349909	6451054
40	2906357	7421109	1627052	13582802	8569305	38443229	2900479	2425702	3528470	2572604	4354698	8030164	10700393
50	3374300	4339703	2080697	17437264	10065583	49806671	3112012	2602545	3798269	3380678	5376162	9579444	14079845
60	4598359	2771722	1848470	19212332	13073419	58880244	3434050	3833879	4371639	4362061	7492854	11261730	16627796
75	6833729	2112388	2365712	19811945	10950181	67808722	3683933	4779807	5189460	5907303	7858813	12481999	19008954
90	6944453	2548258	2580522	22184901	12800201	76499859	4073721	5729014	6346631	7698568	8440135	14167842	21405178
120	6724575	3788403	2896126	22700992	20383530	48384264	4439726	5664591	7192497	8215132	8875745	12660507	13514603
150	7956680	3212274	3188857	37250232	20485902	80621516	3409910	5568160	7488090	11909551	8709808	17254635	23307364
180	8877272	3073940	4443020	37089232	20129244	120097327	3129331	5360484	8026925	9437587	9149646	20801274	34392269
210	10175736	2469109	3471906	46750222	23166297	143695293	3152472	6084917	8296889	10096388	8814653	24197626	41649677
240	11595928	2953645	3820445	56050530	12372181	118812648	3657114	7844380	10477820	11721856	9366674	22606657	35152700
270	10245726	3143217	5344051	59313765	21341426	28720376	3580682	12509456	9927651	13639445	12007634	16343039	16130382
300	11021569	3834779	5020793	47010369		69458961	4314836	10166603	13590381	17590301	15384072	17944788	21479419
330	13088322	3885432	3484656	48385882	422291767	71693827	4264010	13240788	16949526	21789428	23396244	58406353	122469876
360	10149938	2997278	4328060	33196710		116124888	6057563	16791153	22838298	26228048	22655907	23760713	33212880

Tabella 4.5: Profili temporali di $z1$

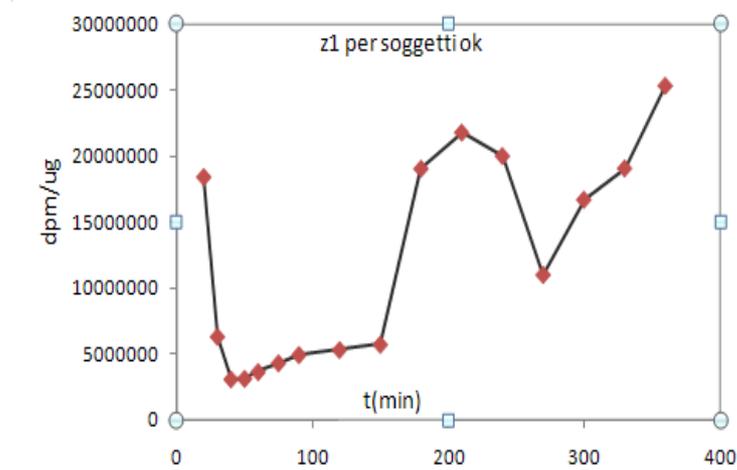


Figura 4.5: Profilo di $z1$ per i soggetti ok

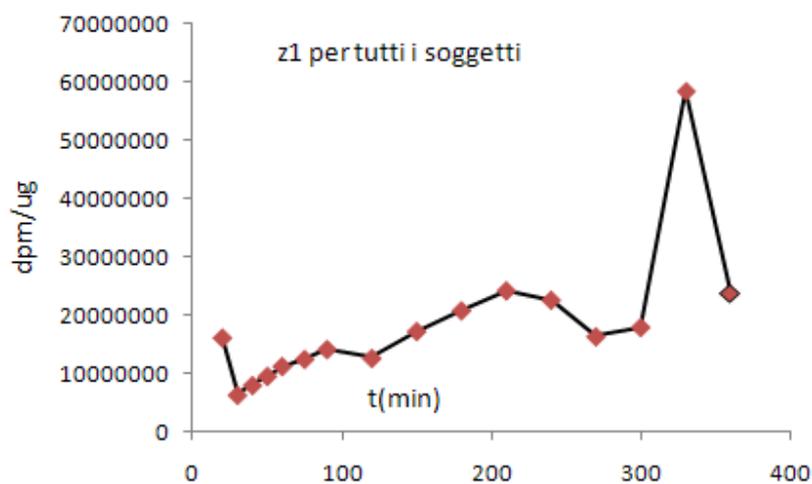


Figura 4.6: Profilo di z1 per tutti i soggetti

Profilo di z2= [³H]-cortisol /d3-cortisol (dpm/ug)

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20	5286501	124955303	823175	8073694	823115	90618186	63586548	5901724	44580009	1300404	1622761	31597402	43597474
30	2012926	29121268	460933	9043361	1165324	70089363	3665434	1720387	3462526	796702	1522575	11187345	21219296
40	2365728	17215974	529804	15009742	1691870	112354770	2699796	1729312	2484270	884280	1894923	14441861	32985753
50	2724912	7958637	656407	16922441	2202085	163783658	2839214	1852520	2690999	1118945	2221088	18633719	48366363
60	3569579	4613123	644627	17515985	2612828	199357521	3119938	2746107	2969846	1431530	3148399	21975408	59006312
75	4817160	3123726	823210	17237511	2254831	213820652	3262089	3371950	3265958	1873751	3098979	23359074	63323621
90	4220040	3513958	840880	17998188	2300463	215213091	3507856	4096401	3815484	2468389	3437119	23764715	63659985
120	3704342	4789508	985754	13165917	2447956	188644526	3636244	4070795	4287302	2567105	3617554	21083364	55661463
150	3899850	3099913	1099286	19097689	2591049	272718982	3086535	4124568	4402392	3553728	3617347	29208304	80907579
180	4180195	2319497	1443465	22427200	2916733	468912987	2944903	4045099	4599342	2355493	3706065	47259180	139969124
210	4639008	1764934	1475573	28213411	3434066	395808729	3397050	4556932	4709106	2353007	3497436	41259023	117832943
240	4977328	1833603	1540361	31408460	3888449	346234991	4158514	5768765	5725946	2536155	3790205	37442071	102758917
270	4489333	1803577	2103995	36053506	4668770	141054089	4590596	8625947	5851635	3230140	5131910	19782136	41361302
300	4639282	2035945	2981880	34234407	6897230	243652327	6030341	7638842	8223769	3985553	6110674	29620932	71541275
330	5278732	1876327	1704219	38221231	9226149	350503958	6164153	8789048	10387931	4835835	8667658	40514113	103295517
360	4251460	1263467	1941786	26154934	11883577	519596147	7692868	10317061	15193209	6255933	9969806	55865477	153958897

Tabella 4.6: Profili temporali di z2

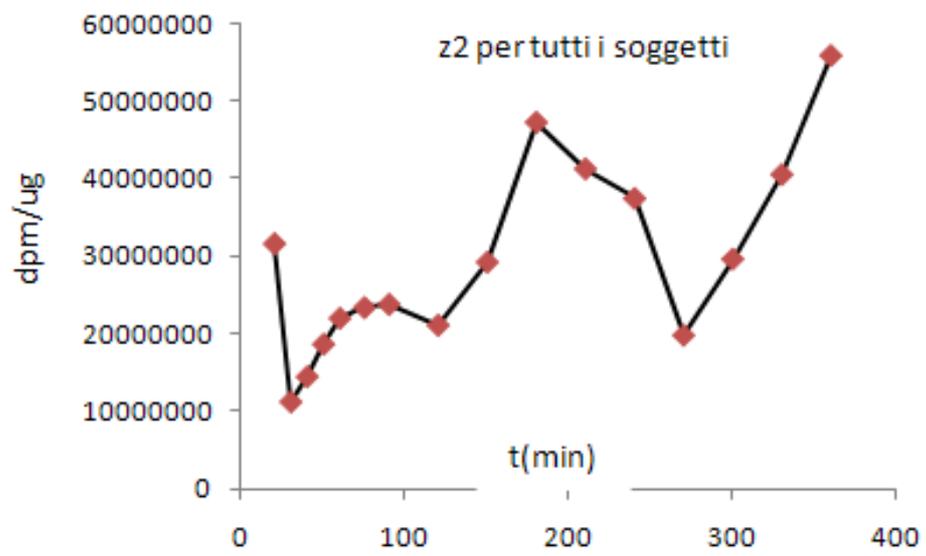


Figura 4.7: Profilo di z2 per tutti soggetti

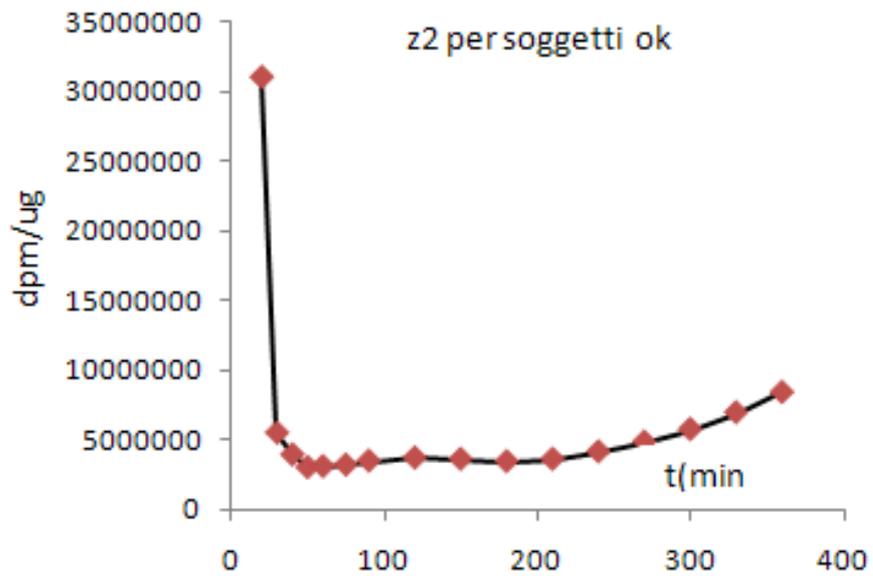


Figura 4.8: Profilo di z2 per i soggetti ok

Profilo di z3= [³H]-cortisol /cortisol-total (dpm/ug)

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
-30		213546	8906	116356	4746	184276	123303	273112	149799	206317	124135	140450	85731
-20		219406	9430	144804	5279	269387		270650			74871	141975	115146
-10		195669	6606	185303	6078	246656		322980			61810	146443	123532
0	423113	199889	237187	168672	308562	261253	187512	348397	139392	148463	113541	230544	96644
10	270177	263374	344050	186340	236346	315254	340399	731424	297124	305527	245689	321428	143900
20	251347	426511	84291	111427	126868	347046	451695	439477	427640	283412	292713	294766	138360
30	249740	551144	45451	107526	166867	395289	445391	233477	415847	220274	352465	289406	155275
40	374266	489033	49085	166385	224410	594131	452107	289352	440943	244717	413570	339818	159974
50	419240	369280	62248	204833	296551	734104	486368	338709	481987	303877	449280	376953	173081
60	535560	305195	57674	236339	351022	807737	517769	486005	578583	383452	594469	441255	203104
75	753554	293974	71438	292097	302464	880584	549364	562978	615524	499398	566772	489832	232500
90	845731	336643	73245	319643	294329	889647	596829	663077	701312	647952	648461	546988	255172
120	784145	486350	80660	287291	294455	575135	519697	588098	733091	642332	654172	513220	213189
150	751944	428835	90730	360834	290093	734389	408855	489620	693903	828427	574374	513818	226212
180	870278	393307	114963	342387	263536	841265	323984	315740	429586	342092	430128	424297	230354
210	887223	267591	108855	364698	253654	848069	232872	336799	272605	192385	167686	357494	262387
240	808761	285009	108470	377537	236877	675159	166164	323504	167219	142095	217842	318967	225900
270	677455	265397	130244	341552	236131	253986	166058	498393	235769	114037	251946	288270	166497
300	491788	266597	122054	281458	255322	415858	230205	188564	218002	101594	126548	245272	120765
330	378051	171759	81795	267779	275673	384803	144218	257073	273659	152799	124021	228330	100951
360	305130	87519	78886	175207	206175	501089	226741	158671	97572	182454	184198	200331	119646

Tabella 4.7: Profili temporali di z3

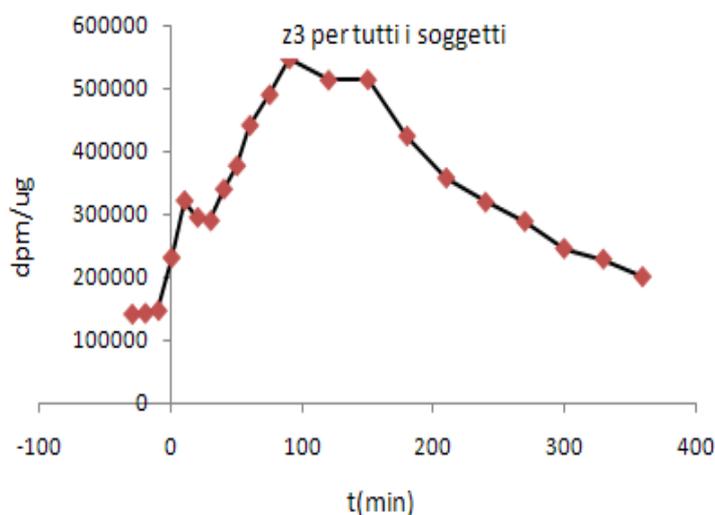


Figura 4.9: Profilo di z3 per tutti i soggetti

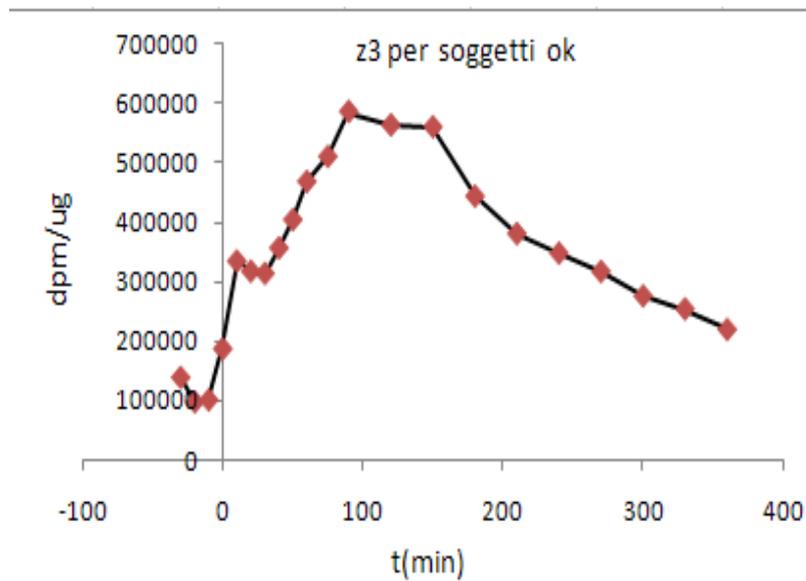


Figura 4.10: Profilo di z3 per i soggetti ok

4.4.3 Profili dei flussi $Ra_{[13c]cortisol}$, $Ra_{[2H]cortisol}$, $Ra_{cortisol}$

L'equazione 4.8 che descrive il flusso di comparsa è basato sulla formula di Steele e può essere scomposta in due parti :

$$Ra(t_k) = Ra_{ss} - \text{Correzione di Steele}$$

$$\text{Con } Ra_{ss} = \frac{u(t_k)}{z(t_k)} \quad \text{e} \quad \text{Correzione di Steele} = p \cdot V \cdot \frac{C(t_k)}{z(t_k)} \cdot \dot{z}(t)$$

In seguito vengono riportati i profili di $Ra_{SS[13c]cortisol}$, $Ra_{SS[2H]cortisol}$, $Ra_{SScortisol}$.

Anche per i flussi verranno presentati due profili come nel caso dei rapporti tracciante-tracciato, cioè

Profilo di Ra SS[13c]cortisol

Tempo	R683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			0.217	1.055	11.382	0.013		3.140		7.079	3.964	3.836	4.2
30	4.377	0.075	0.277	0.891	6.399	0.012	5.422	4.719	4.726	8.973	3.548	3.583	2.9
40	2.706	0.105	0.271	1.527	4.014	0.014	5.127	4.998	4.447	8.094	2.706	3.092	2.5
50	2.141	0.172	0.266	1.325	3.206	0.012	5.205	4.612	4.423	6.954	2.347	2.788	2.3
60	1.804	0.273	0.240	1.163	2.727	0.011	5.037	3.700	4.141	5.520	2.053	2.424	2.0
75	0.857	0.211	0.113	1.460	1.315	0.007	2.628	1.524	2.027	2.250	0.991	1.217	0.9
90	0.753	0.174	0.096	1.246	1.177	0.007	2.411	1.233	1.731	1.738	0.875	1.040	0.8
120	0.318	0.060	0.040	0.951	0.528	0.002	1.154	0.556	0.697	0.656	0.387	0.486	0.4
150	0.143	0.032	0.019	0.631	0.260	0.001	0.655	0.314	0.320	0.306	0.194	0.261	0.2
180	0.131	0.038	0.018	0.534	0.271	0.001	0.756	0.332	0.310	0.312	0.204	0.264	0.2
210	0.121	0.043	0.017	0.383	0.285	0.001	0.756	0.279	0.296	0.310	0.207	0.245	0.2
240	0.113	0.039	0.015	0.354	0.283	0.001	0.684	0.212	0.271	0.277	0.186	0.221	0.2
270	0.107	0.034	0.014	0.229	0.249	0.001	0.628	0.173	0.235	0.227	0.148	0.186	0.2
300	0.103	0.029	0.014	0.236		0.001	0.594	0.153	0.191	0.180	0.114	0.162	0.2
330	0.104	0.028	0.016	0.131	0.136	0.001	0.532	0.134	0.148	0.144	0.089	0.133	0.1
360	0.112	0.037	0.015	0.166		0.001	0.401	0.104	0.110	0.119	0.075	0.114	0.1

Tabella 4.8: Profili temporali di Ra_ss[13c]cortisol

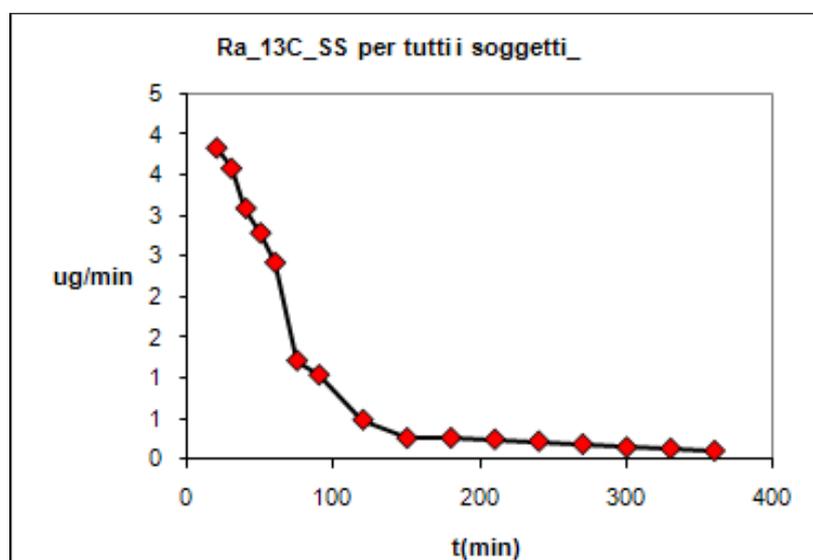


Figura 4.11: Profilo di Ra_ss[13c]cortisol per tutti i soggetti

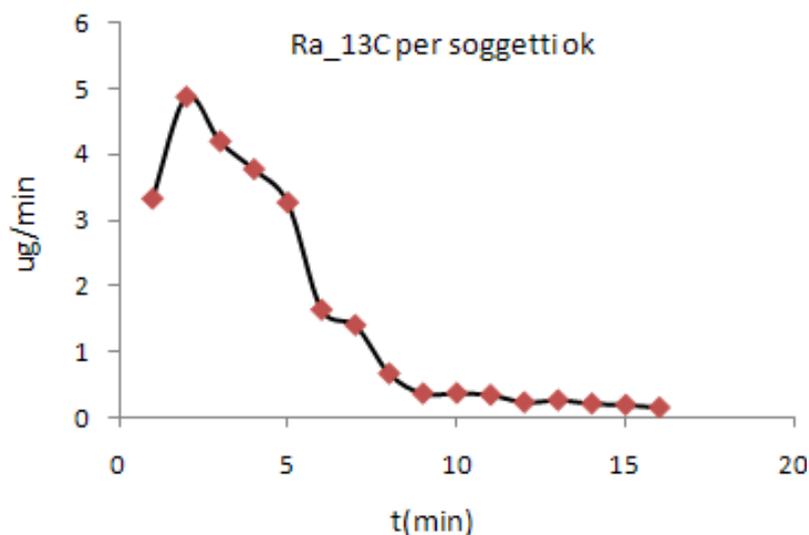


Figura 4.12: Profilo di Ra_ss[13c]cortisol per i soggetti ok

Profilo di Ra SS[2H]cortisol

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	BAL487	GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			0.763	1.018	45.984	0.0041		4.106		24.157	9.777	12.259	17.129
30	4.861	0.035	0.894	0.842	28.944	0.0039	5.813	6.549	6.565	27.469	8.347	8.211	10.321
40	3.329	0.051	0.819	1.466	19.476	0.0047	5.539	7.213	6.294	23.356	6.291	6.713	7.778
50	2.814	0.088	0.780	1.323	16.507	0.0041	5.695	6.604	6.425	20.131	5.496	5.988	6.642
60	2.498	0.155	0.703	1.226	14.830	0.0035	5.594	5.175	6.187	16.482	4.881	5.249	5.630
75	1.269	0.147	0.337	1.698	7.730	0.0022	2.982	2.094	3.149	7.026	2.413	2.622	2.590
90	1.185	0.128	0.290	1.612	7.418	0.0018	2.783	1.694	2.772	5.582	2.169	2.330	2.314
120	0.565	0.048	0.121	1.504	3.645	0.0005	1.349	0.772	1.168	2.185	0.971	1.121	1.075
150	0.283	0.033	0.054	1.136	1.780	0.0002	0.745	0.429	0.554	1.076	0.481	0.597	0.552
180	0.282	0.050	0.049	0.994	1.642	0.0002	0.793	0.442	0.547	1.207	0.498	0.591	0.524
210	0.274	0.061	0.042	0.682	1.425	0.0002	0.716	0.373	0.524	1.326	0.500	0.539	0.482
240	0.261	0.061	0.037	0.579	1.174	0.0003	0.590	0.287	0.475	1.246	0.455	0.470	0.422
270	0.249	0.060	0.033	0.341	0.922	0.0003	0.492	0.235	0.405	1.014	0.372	0.375	0.334
300	0.242	0.055	0.031	0.323	0.697	0.0003	0.424	0.212	0.320	0.790	0.288	0.307	0.254
330	0.246	0.058	0.032	0.170	0.517	0.0002	0.370	0.198	0.237	0.624	0.221	0.243	0.196
360	0.272	0.087	0.034	0.215	0.383	0.0001	0.314	0.170	0.167	0.510	0.173	0.211	0.151

Tabella 4.9: Profili temporali di Ra_ss[2H]cortisol

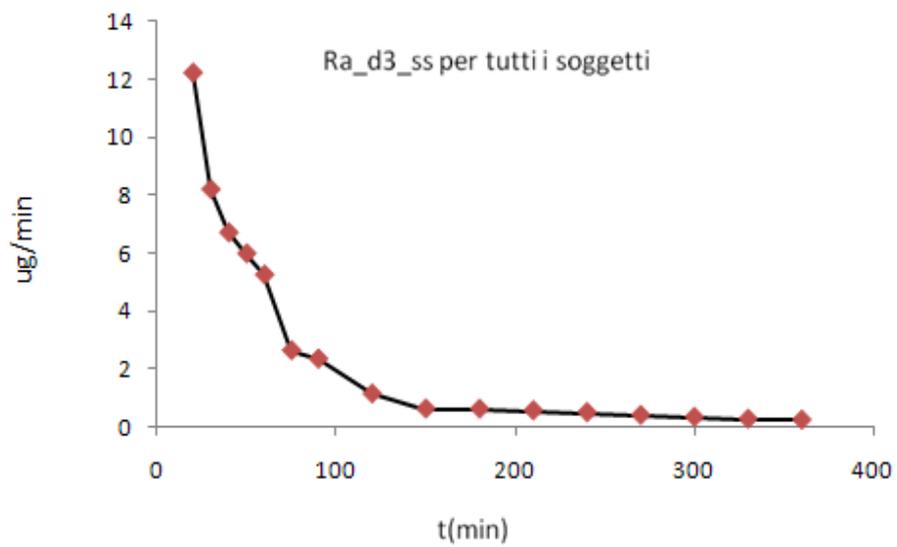


Figura 4.13: Profilo di Ra_ss[2H]cortisol per tutti i soggetti

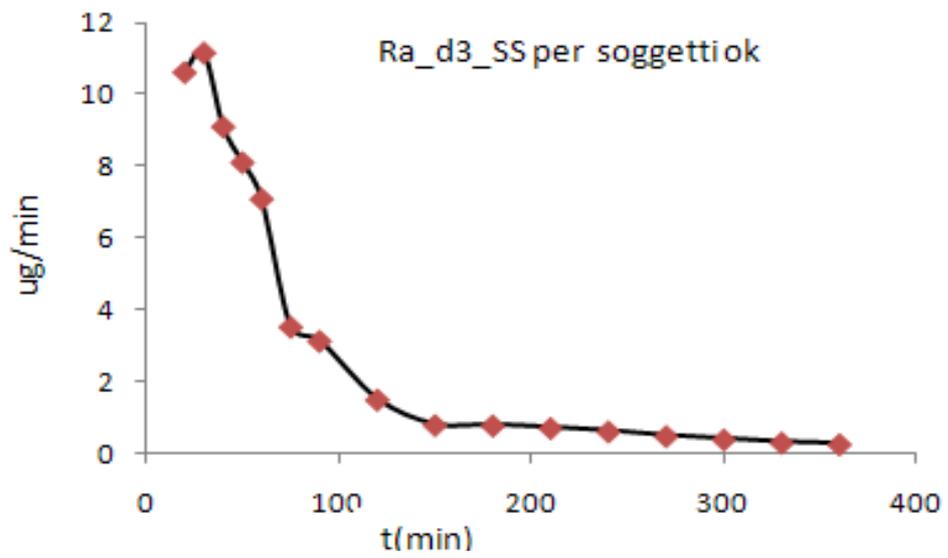


Figura 4.14: Profilo di Ra_ss[2H]cortisol per i soggetti ok

Profilo di Ra_{ss} Cortisol

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10	45.486	2.960		62.414	218.849	1.256	63.638	28.528	75.781	115.983	76.845	69.174	63.231
20	35.393	2.423	7.537	70.460	228.766	0.961	47.006	36.233	54.225	98.874	47.555	57.221	64.108
30	30.568	2.242	9.120	68.173	211.191	0.789	41.882	45.987	46.998	92.104	37.671	53.339	59.125
40	23.058	1.951	8.648	118.293	160.227	0.906	34.032	42.065	37.009	73.734	28.069	47.999	50.454
50	19.992	2.023	8.469	98.535	137.752	0.806	32.437	37.275	33.952	66.965	25.069	42.116	42.845
60	17.511	2.137	7.799	82.548	120.916	0.734	31.453	30.848	31.463	60.890	23.181	37.226	37.068
75	8.399	1.309	3.823	100.021	60.344	0.497	17.549	13.539	16.245	30.637	12.374	24.067	30.345
90	7.267	1.320	3.360	86.846	56.594	0.465	17.514	11.425	14.957	27.785	12.116	21.786	26.777
120	2.964	0.574	1.451	77.345	28.991	0.147	9.350	5.500	6.984	12.782	6.496	13.871	22.560
150	1.334	0.263	0.671	62.849	16.146	0.076	5.567	3.590	3.943	6.925	3.940	9.573	18.242
180	1.302	0.294	0.620	62.240	17.714	0.086	7.443	5.002	5.595	8.875	5.265	10.403	17.937
210	1.363	0.366	0.569	49.224	18.836	0.104	10.739	5.427	9.515	13.296	7.390	10.621	14.163
240	1.527	0.410	0.528	49.166	19.525	0.133	13.804	5.185	14.047	21.713	10.082	12.375	14.508
270	1.830	0.408	0.518	34.593	19.162	0.172	13.460	5.835	12.832	30.793	12.482	12.008	12.106
300	2.336	0.442	0.573	38.717	17.825	0.197	13.242	7.476	10.220	29.338	13.649	12.183	12.541
330	3.100	0.616	0.712	23.299	17.436	0.170	15.042	8.309	9.948	21.863	12.923	10.311	8.528
360	3.920	1.265	0.818	33.187	22.214	0.114	10.924	10.654	25.665	16.638	10.511	12.355	11.010

Tabella 4.10: Profili temporali di Ra_{ss} Cortisol

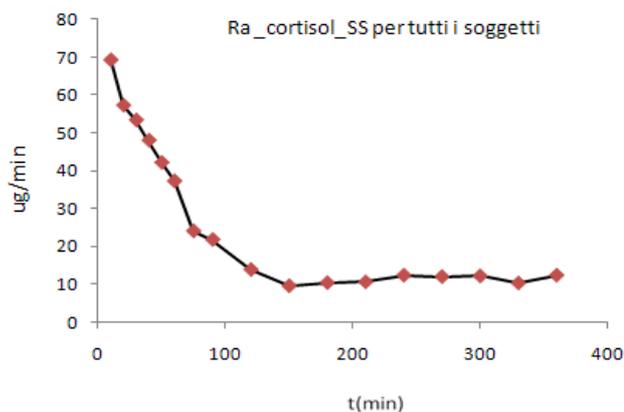


Figura 4.15: Profilo di Ra_{ss} Cortisol per tutti i soggetti

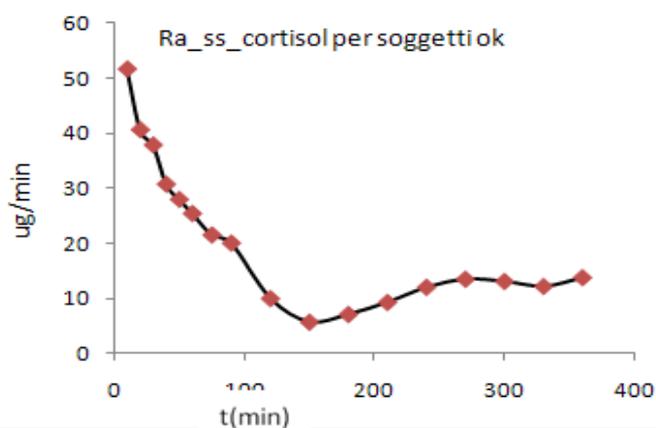


Figura 4.16: Profilo di Ra_{ss} Cortisol per i soggetti ok

Essendo il valore di p nell'equazione 4.8 ancora sconosciuto per il cortisolo, per il calcolo dei flussi con correzione di Steele sono stati considerati tre casi. Nel primo caso abbiamo scelto $p=1$, nel secondo $p=0,65$ e nell'ultimo caso al posto del TDV è stato considerato il volume iniziale V stimato.

Caso 1: Volume di distribuzione pari al TDV, e $p = 1$

Profilo di $Ra_{[13c]cortisol}$ Steele per $p=1$

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			33.873	-1.489	-27.821	-0.589		12.088		13.691	2.415	4.595	20.54
30	-16.271	12.231	46.980	-1.265	-13.918	-0.712	12.388	17.281	7.113	14.667	0.447	7.176	18.01
40	-13.244	20.402	10.378	-0.162	-3.678	-0.562	9.197	7.581	5.475	5.654	-0.274	3.706	9.12
50	-8.859	32.570	-12.485	-0.042	-2.094	-0.491	4.407	-2.685	3.414	0.699	0.074	1.319	12.10
60	-5.386	35.351	-22.808	-0.199	-0.571	-0.405	1.548	-4.074	1.921	-0.627	0.265	0.456	14.22
75	-3.634	0.752	-17.714	-0.128	-0.544	-0.314	-1.219	-3.113	-0.197	-2.115	-0.125	-2.577	5.42
90	-2.607	-14.412	-11.842	-0.092	0.248	-0.199	-0.124	-0.946	0.152	-0.613	0.141	-2.754	5.41
120	-1.319	-2.303	-3.488	0.104	0.401	-0.139	1.909	0.844	0.127	0.031	0.246	-0.326	1.57
150	-0.888	2.988	-1.082	0.203	0.296	-0.009	2.685	0.884	0.188	0.292	0.278	0.530	1.33
180	-0.652	2.807	-0.846	0.214	0.351	0.029	1.700	0.142	0.248	0.367	0.287	0.422	1.07
210	-0.503	0.212	-1.851	0.210	0.324	0.041	0.082	-0.453	0.179	0.222	0.162	-0.125	0.66
240	-0.350	-1.333	-1.665	0.278	0.179	0.049	-0.124	-0.341	0.134	0.074	0.006	-0.281	0.66
270	-0.200	-1.220	-0.265	0.225	0.079	0.069	0.191	-0.001	0.045	-0.003	-0.068	-0.104	0.42
300	0.019	-0.871	0.950	0.307		-0.082	0.230	0.022	0.009	0.004	-0.024	0.051	0.47
330	0.233	0.452	0.753	0.287	0.119	-0.154	-0.317	-0.035	-0.019	0.026	0.021	0.124	0.31
360	0.478	2.771	-1.157	0.481		-0.105	-0.931	-0.096	-0.024	0.033	0.021	0.134	1.13

Tabella 4.11: Profili temporali di $Ra_{[13c]cortisol}$ ($p=1$)

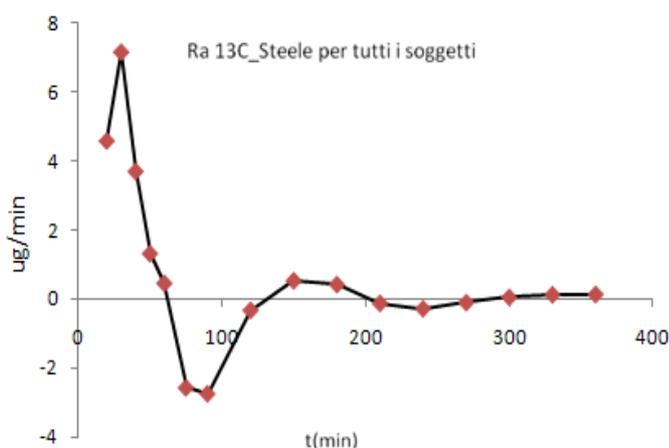


Figura 4.17: Profilo di $Ra_{[13C]cortisol}$ per tutti i soggetti ($p=1$)

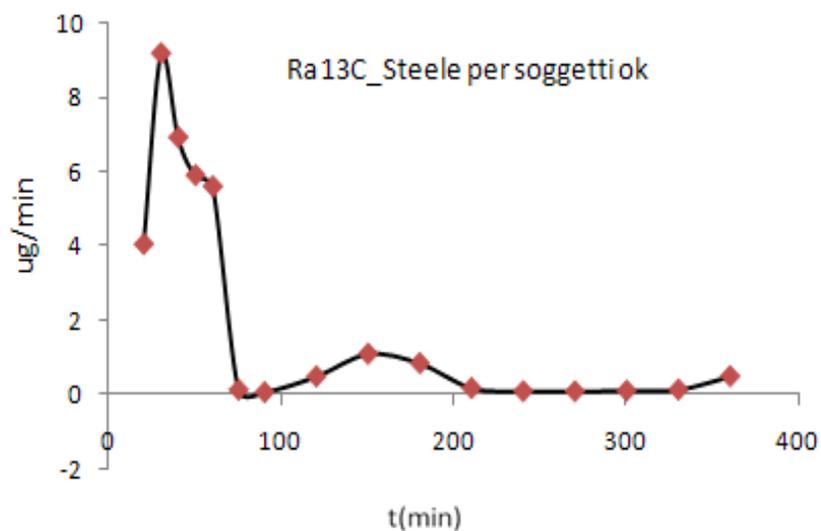


Figura 4.18: Profilo di Ra [13C] cortisol per i soggetti ok (p=1)

Profilo di Ra[2H]cortisol Steele per p=1

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			90.865	-2.128	104.739	-0.018		15.872		40.007	2.328	6.027	58.928
30	-12.142	5.465	83.550	-1.069	-43.904	-0.170	13.663	27.521	10.341	33.837	-0.275	10.620	31.689
40	-10.790	9.528	-0.782	0.227	-10.547	-0.213	10.835	11.867	8.666	13.289	-0.599	2.862	8.598
50	-6.918	20.531	-47.600	0.398	-0.600	-0.200	6.073	-4.939	6.081	3.262	0.472	-2.131	16.718
60	-3.818	28.370	-61.382	0.433	4.588	-0.176	2.972	-6.612	3.986	0.374	1.172	-2.736	21.439
75	-2.490	7.187	-46.015	0.998	3.567	-0.156	-0.474	-4.646	0.359	-5.098	0.000	-4.251	14.276
90	-1.306	-10.153	-34.157	1.140	5.968	-0.115	0.414	-1.264	0.635	-1.011	0.614	-3.567	10.826
120	0.279	0.876	-12.525	1.096	3.527	-0.064	2.200	1.190	0.464	0.666	0.618	-0.152	4.224
150	0.423	8.819	-7.054	0.667	1.082	-0.014	2.283	1.038	0.461	1.506	0.600	0.892	3.601
180	-0.015	6.776	-6.098	0.430	0.502	0.004	0.648	0.129	0.479	2.379	0.633	0.533	2.952
210	-0.477	1.641	-6.515	0.198	0.114	0.015	-0.777	-0.548	0.308	1.556	0.385	-0.373	2.179
240	-0.601	-0.213	-5.087	0.215	-0.095	0.020	-0.740	-0.448	0.197	0.393	0.066	-0.572	1.539
270	-0.383	-0.841	-1.978	0.176	-0.129	0.021	-0.381	-0.009	0.040	-0.027	-0.092	-0.328	0.616
300	0.110	-0.856	-0.030	0.304	-0.160	-0.028	-0.164	0.099	-0.030	-0.035	-0.063	-0.078	0.290
330	0.734	2.769	0.889	0.321	-0.104	-0.038	-0.096	0.065	-0.085	0.060	0.001	0.411	0.854
360	1.535	7.467	0.527	0.681	-0.044	-0.026	-0.209	-0.052	-0.072	0.110	-0.024	0.899	2.237

Tabella 4.12: Profili temporali di Ra [2H]cortisol (p=1)

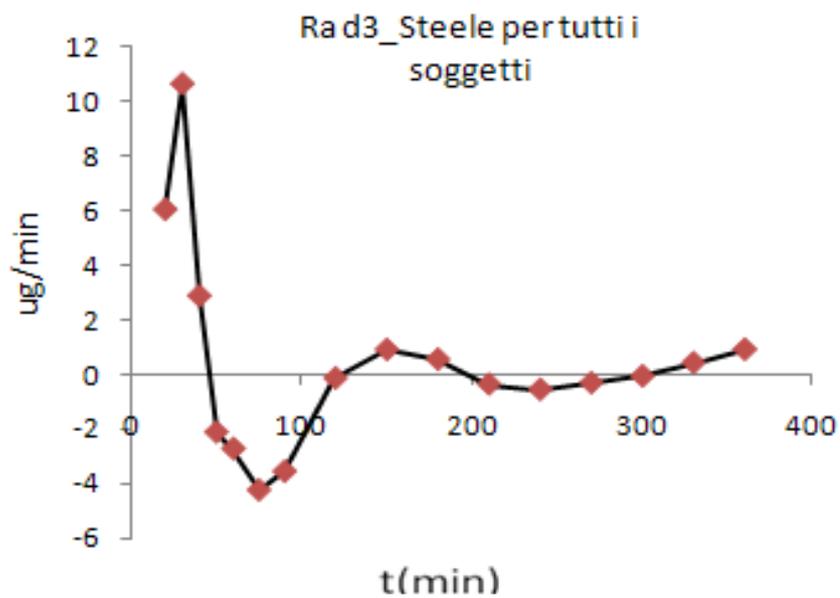


Figura 4.19: Profilo di Ra[2H] cortisol per tutti i soggetti (p=1)

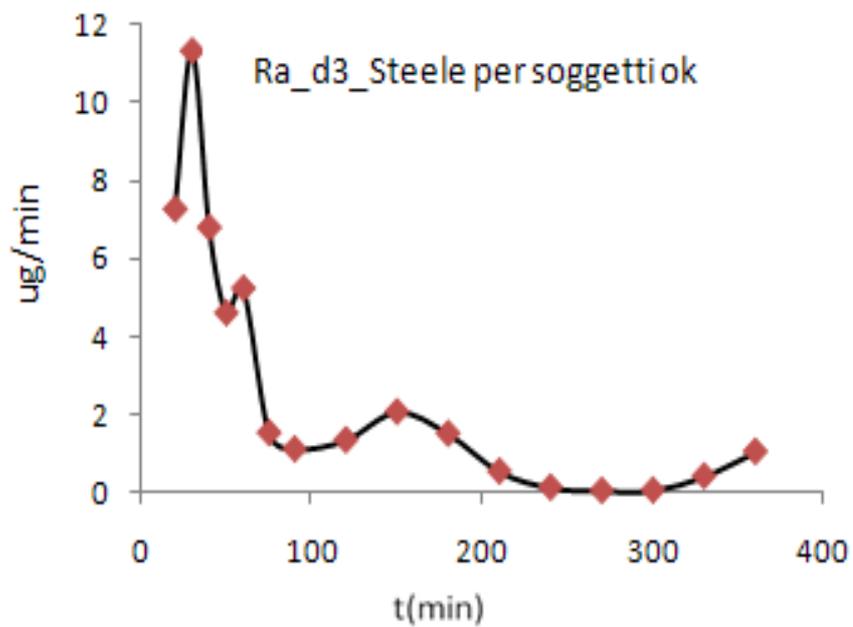


Figura 4.20: Profilo di Ra [2H] cortisol per i soggetti ok (p=1)

Profilo di Ra_{cortisol} Steele per p=1

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10	-8.849	193.631		189.520	335.987	116.248	-66.274	90.429	-2.416	109.549	-51.555	26.047	155.961
20	-31.413	-80.821	1005.753	121.059	198.980	-89.648	-25.198	133.011	12.451	79.227	-26.725	117.880	308.863
30	-36.599	-22.134	1116.281	-24.311	33.373	-64.762	-8.847	106.865	17.755	60.089	-8.943	106.252	338.398
40	-41.396	12.697	215.787	-40.122	-5.967	-43.631	1.560	26.306	15.718	37.220	-1.945	16.021	71.760
50	-41.366	38.225	-345.515	-59.301	1.451	-32.710	12.267	-17.537	16.539	33.821	6.449	-35.243	107.422
60	-34.847	46.290	-576.308	-63.862	18.961	-24.363	19.607	-19.388	17.202	33.748	11.608	-51.941	176.967
75	-33.956	23.604	-463.164	-14.424	11.303	-15.712	13.985	-18.244	5.550	11.054	7.740	-42.933	140.456
90	-25.088	-9.292	-330.958	19.090	40.948	-8.419	19.477	-3.295	8.035	17.256	11.940	-23.664	103.487
120	-13.542	-24.665	-114.747	65.472	42.990	-0.487	23.562	12.907	7.498	12.491	11.366	2.077	45.945
150	-6.207	1.261	-65.239	62.766	30.482	5.287	28.709	20.458	11.286	11.357	11.733	10.172	31.131
180	2.389	25.793	-51.742	57.227	26.215	8.106	43.344	19.712	23.891	28.681	16.583	18.200	27.692
210	8.925	22.903	-50.313	44.610	24.253	9.784	57.422	3.297	39.914	54.633	29.684	22.283	30.191
240	16.305	3.554	-30.861	53.834	21.042	12.546	31.970	5.474	25.568	71.489	22.309	21.203	26.642
270	22.723	0.433	12.603	49.745	14.967	24.637	0.693	12.136	2.039	52.156	18.720	19.168	17.782
300	34.263	19.213	70.427	66.140	11.996	1.227	22.835	21.669	1.474	0.217	15.167	24.057	24.249
330	41.409	69.382	84.132	66.516	21.345	-18.977	22.776	11.046	16.964	-3.504	5.096	28.744	32.749
360	21.739	174.955	-6.454	126.428	64.413	-21.980	-54.989	52.514	325.156	0.558	-1.919	61.856	110.074

Tabella 4.13: Profili temporali di Ra Cortisol (p=1)

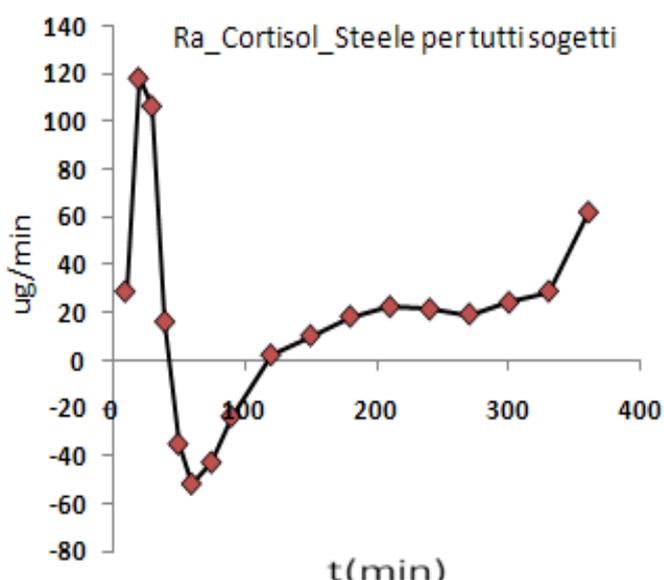


Figura 4.21: Profilo di Ra Cortisol per tutti i soggetti (p=1)

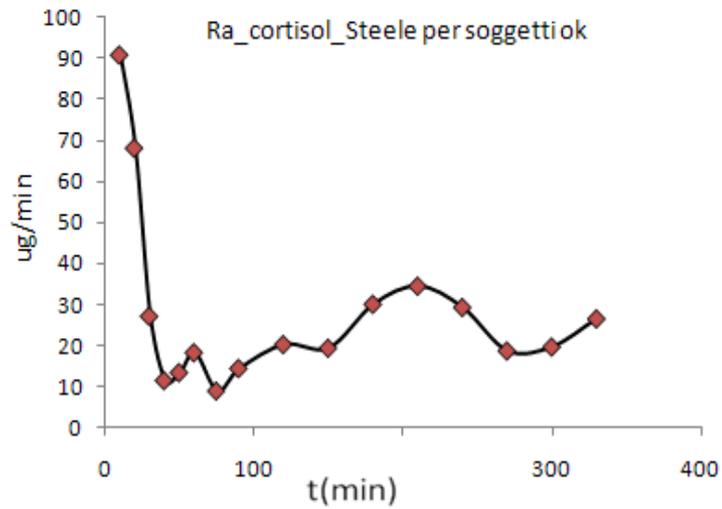


Figura 4.22: Profilo di Ra Cortisol per i soggetti ok (p=1)

Caso 2 : Volume di distribuzione pari al TDV, e p=0.65

Profilo di Ra_{[13C]cortisol} Steele per p=0.65

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			22.093	-0.598	-14.100	-0.378		8.956		11.376	2.957	4.330	12.43
30	-9.044	7.976	30.634	-0.511	-6.807	-0.459	9.950	12.884	6.277	12.674	1.533	5.919	11.51
40	-7.661	13.298	6.841	0.429	-0.986	-0.360	7.773	6.677	5.115	6.508	0.769	3.491	5.92
50	-5.009	21.230	-8.022	0.437	-0.239	-0.315	4.687	-0.131	3.767	2.889	0.870	1.833	7.80
60	-2.869	23.074	-14.741	0.277	0.583	-0.259	2.769	-1.353	2.698	1.525	0.891	1.145	9.21
75	-2.062	0.562	-11.474	0.428	0.107	-0.202	0.127	-1.490	0.582	-0.587	0.266	-1.249	3.65
90	-1.431	-9.307	-7.664	0.376	0.573	-0.127	0.764	-0.184	0.705	0.210	0.398	-1.426	3.70
120	-0.746	-1.476	-2.253	0.401	0.445	-0.090	1.645	0.743	0.327	0.250	0.295	-0.042	1.13
150	-0.527	1.953	-0.697	0.353	0.284	-0.005	1.974	0.685	0.234	0.297	0.248	0.436	0.90
180	-0.378	1.838	-0.543	0.326	0.323	0.019	1.370	0.209	0.270	0.348	0.258	0.367	0.72
210	-0.284	0.152	-1.197	0.270	0.310	0.027	0.318	-0.197	0.220	0.253	0.177	0.005	0.47
240	-0.188	-0.853	-1.077	0.305	0.215	0.032	0.159	-0.148	0.182	0.145	0.069	-0.105	0.47
270	-0.093	-0.781	-0.168	0.227	0.139	0.045	0.344	0.060	0.111	0.078	0.008	-0.003	0.31
300	0.048	-0.556	0.622	0.282		-0.053	0.358	0.068	0.073	0.066	0.024	0.085	0.32
330	0.188	0.303	0.495	0.232	0.125	-0.100	-0.020	0.024	0.039	0.067	0.045	0.127	0.18
360	0.350	1.814	-0.747	0.371		-0.068	-0.465	-0.026	0.023	0.063	0.040	0.123	0.72

Tabella 4.14: Profili temporali di Ra[13C] cortisol (p=0.65)

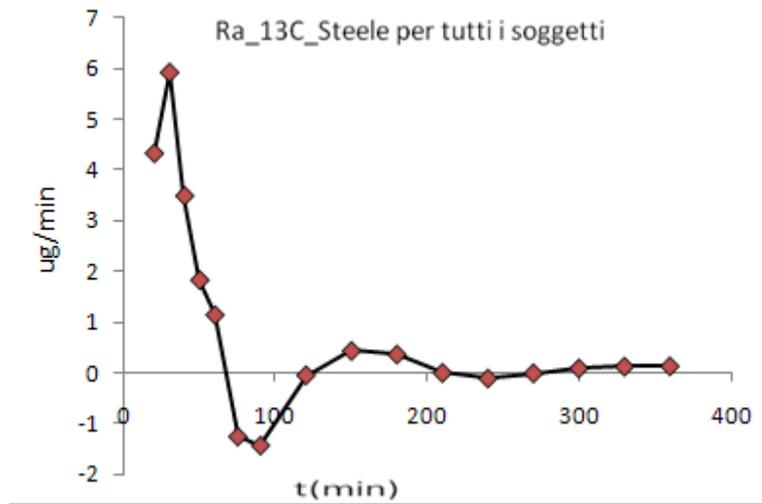


Figura 4.23: Profilo di Ra [13C]cortisol per tutti i soggetti (p=0.65)

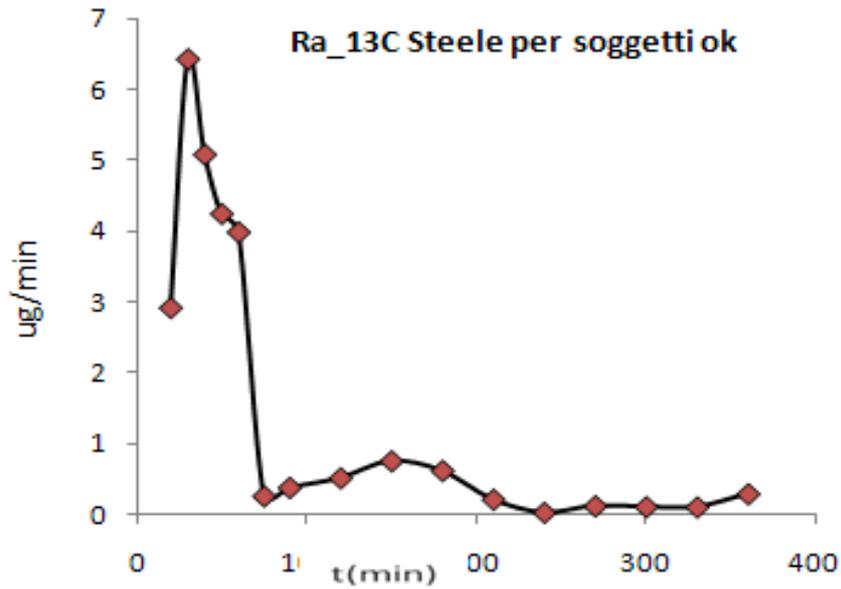


Figura 4.24: Profilo di Ra [13C]cortisol per i soggetti ok (p=0.65)

Profilo di Ra_{[2H]cortisol} Steele per p=0.65

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			59.329	-1.027	-51.986	-0.010		11.754		34.459	4.936	8.208	34.404
30	-6.191	3.564	54.620	-0.400	-18.408	-0.109	10.915	20.181	9.019	31.608	2.743	9.777	19.840
40	-5.848	6.211	-0.221	0.661	-0.039	-0.137	8.981	10.238	7.836	16.813	1.812	4.210	6.412
50	-3.512	13.376	-30.667	0.722	5.387	-0.129	5.941	-0.899	6.202	9.166	2.230	0.711	11.486
60	-1.608	18.495	-39.652	0.710	8.173	-0.113	3.890	-2.487	4.757	6.012	2.470	0.059	14.389
75	-1.175	4.723	-29.792	1.243	5.024	-0.100	0.736	-2.287	1.336	-0.855	0.845	-1.846	9.537
90	-0.434	-6.555	-22.101	1.305	6.475	-0.074	1.243	-0.228	1.383	1.296	1.158	-1.503	7.463
120	0.379	0.586	-8.099	1.239	3.568	-0.042	1.902	1.044	0.711	1.198	0.742	0.293	2.943
150	0.374	5.744	-4.566	0.831	1.326	-0.009	1.745	0.825	0.493	1.356	0.558	0.789	2.360
180	0.089	4.422	-3.947	0.628	0.901	0.003	0.699	0.238	0.503	1.969	0.586	0.554	1.949
210	-0.214	1.088	-4.220	0.367	0.573	0.010	-0.255	-0.226	0.384	1.476	0.426	-0.054	1.486
240	-0.299	-0.117	-3.294	0.342	0.349	0.013	-0.275	-0.191	0.295	0.692	0.202	-0.208	1.069
270	-0.162	-0.525	-1.274	0.234	0.239	0.014	-0.075	0.076	0.167	0.337	0.070	-0.082	0.461
300	0.156	-0.537	-0.008	0.311	0.140	-0.018	0.042	0.139	0.092	0.254	0.060	0.057	0.222
330	0.563	1.821	0.590	0.268	0.113	-0.024	0.067	0.111	0.027	0.258	0.078	0.352	0.528
360	1.093	4.884	0.355	0.518	0.105	-0.017	-0.026	0.025	0.012	0.250	0.045	0.659	1.440

Tabella 4.15: Profili temporali di Ra [13C] cortisol (p=0.65)

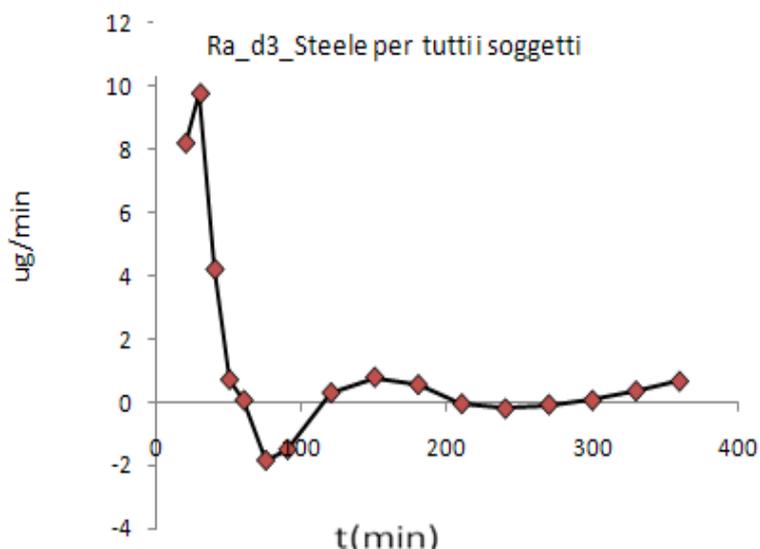


Figura 4.25: Profilo di Ra [2H]cortisol per tutti i soggetti (p=0.65)

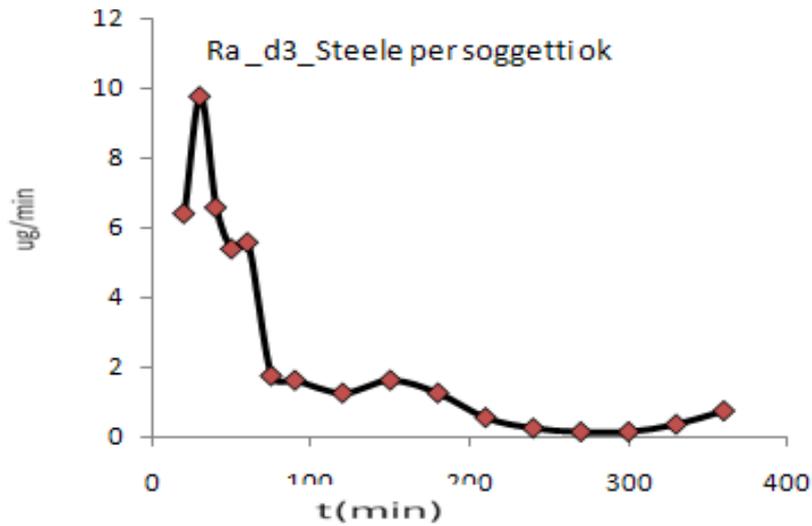


Figura 4.26: Profilo di Ra [2H]cortisol per i soggetti ok (p=0.65)

Profilo di Racortisol Steele per p=0.65

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10	10.168	124.824		145.033	294.988	-75.121	-20.805	68.763	24.953	111.801	-6.615	38.940	119.889
20	-8.031	-51.685	656.378	103.349	209.405	-57.935	0.074	99.139	27.072	86.104	-0.727	96.649	201.663
30	-13.091	-13.602	728.775	8.058	95.609	-41.819	8.908	85.558	27.990	71.295	7.372	87.732	217.043
40	-18.837	8.936	143.288	15.323	52.201	-28.043	12.925	31.821	23.170	50.000	8.560	27.213	45.668
50	-19.891	25.554	-221.621	-4.058	49.156	-20.979	19.327	1.647	22.633	45.421	12.966	-8.168	74.447
60	-16.522	30.837	-371.871	-12.618	54.645	-15.579	23.753	-1.806	22.193	43.248	15.658	-20.733	118.889
75	-19.132	15.801	-299.719	25.632	28.467	-10.038	15.232	-7.120	9.293	17.908	9.362	-19.483	94.137
90	-13.764	-5.578	-213.947	42.805	46.424	-5.309	18.790	1.857	10.458	20.941	12.002	-7.756	70.990
120	-7.765	-15.832	-74.078	69.628	38.090	-0.265	18.588	10.314	7.318	12.593	9.661	6.205	35.258
150	-3.567	0.912	-42.170	62.795	25.464	3.463	20.609	14.554	8.716	9.807	9.006	9.963	24.887
180	2.009	16.868	-33.416	58.982	23.240	5.299	30.779	14.564	17.488	21.749	12.622	15.471	22.174
210	6.278	15.015	-32.505	46.225	22.357	6.396	41.083	4.042	29.274	40.165	21.881	18.201	22.378
240	11.133	2.454	-19.875	52.200	20.511	8.201	25.612	5.373	21.536	54.067	18.030	18.113	21.274
270	15.411	0.424	8.373	44.442	16435	16.075	5.161	9.931	5.816	44.679	16.537	16.662	14.786
300	23.089	12.643	45.978	56.542	14.036	0.866	19.478	16.701	4.535	10.410	14.636	19.901	16.872
330	28.001	45.314	54.935	51.390	19.977	-12.275	20.069	10.088	14.508	5.374	7.835	22.292	20.940
360	15.502	114.164	-3.909	93.794	49.643	-14.247	-31.920	37.863	220.334	6.186	2.432	44.531	73.474

Tabella 4.16: Profili temporali di Ra Cortisol (p=0.65)

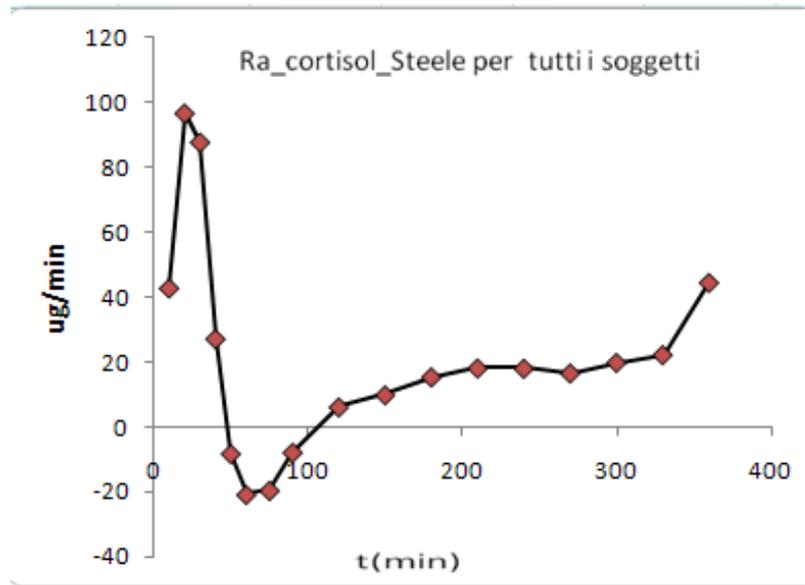


Figura 4.27: Profilo di Ra Cortisol per tutti i soggetti (p=0.65)

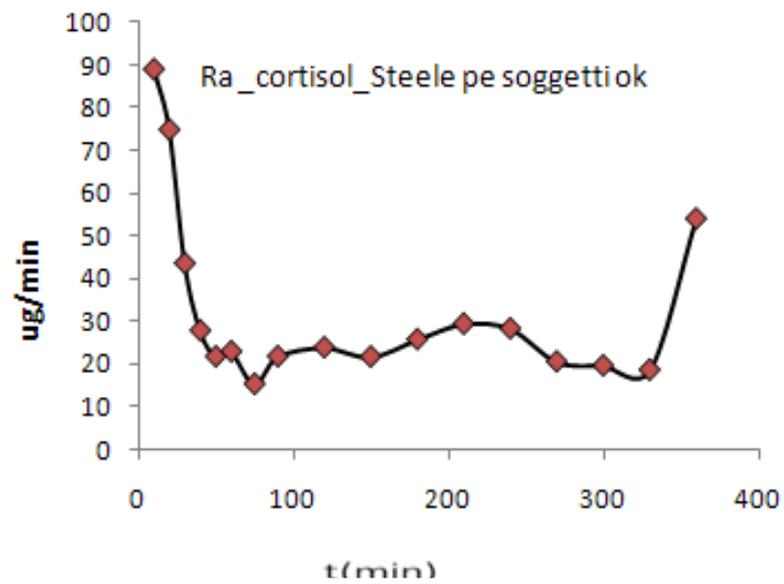


Figura 4.28: Profilo di Ra Cortisol per i soggetti ok (p=0.65)

Caso 3: Volume di distribuzione pari al volume iniziale V

Profilo di Ra^[13C]cortisol Steele

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			12.225	0.147	-3.335	-0.213		7.614		10.385	3.190	4.288	6.427
30	-2.990	4.412	16.941	0.122	-1.228	-0.260	8.037	11.000	5.919	11.820	1.998	5.070	6.567
40	-2.985	7.347	3.878	0.925	1.126	-0.202	6.655	6.289	4.961	6.874	1.216	3.280	3.562
50	-1.784	11.731	-4.283	0.838	1.217	-0.177	4.906	0.964	3.919	3.827	1.211	2.033	4.367
60	-0.761	12.789	-7.983	0.677	1.489	-0.145	3.727	-0.187	3.031	2.447	1.159	1.477	5.131
75	-0.745	0.404	-6.248	0.894	0.617	-0.113	1.184	-0.794	0.915	0.068	0.433	-0.308	2.169
90	-0.446	-5.030	-4.163	0.768	0.828	-0.071	1.460	0.143	0.942	0.563	0.508	-0.409	2.235
120	-0.266	-0.783	-1.219	0.649	0.480	-0.051	1.437	0.700	0.412	0.344	0.316	0.184	0.773
150	-0.225	1.087	-0.374	0.478	0.274	-0.003	1.417	0.599	0.254	0.299	0.236	0.367	0.552
180	-0.148	1.026	-0.290	0.420	0.301	0.012	1.110	0.237	0.279	0.340	0.245	0.321	0.451
210	-0.101	0.103	-0.650	0.321	0.299	0.016	0.503	-0.087	0.238	0.266	0.184	0.099	0.323
240	-0.052	-0.451	-0.585	0.327	0.244	0.019	0.381	-0.065	0.202	0.175	0.096	0.027	0.322
270	-0.003	-0.413	-0.086	0.228	0.185	0.027	0.464	0.086	0.140	0.112	0.040	0.071	0.227
300	0.073	-0.292	0.348	0.261		-0.030	0.458	0.088	0.100	0.092	0.045	0.104	0.219
330	0.150	0.179	0.279	0.187	0.129	-0.057	0.213	0.050	0.064	0.085	0.055	0.121	0.096
360	0.242	1.012	-0.403	0.278		-0.039	-0.099	0.004	0.043	0.076	0.048	0.106	0.388

Tabella 4.17: Profili temporali di Ra^[13C] Cortisol

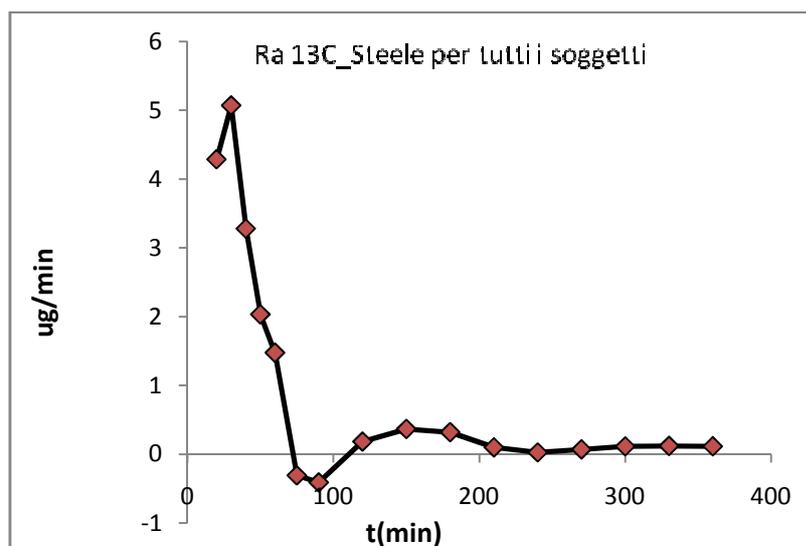


Figura 4.29: Profilo di Ra^[13C] cortisol per tutti i soggetti

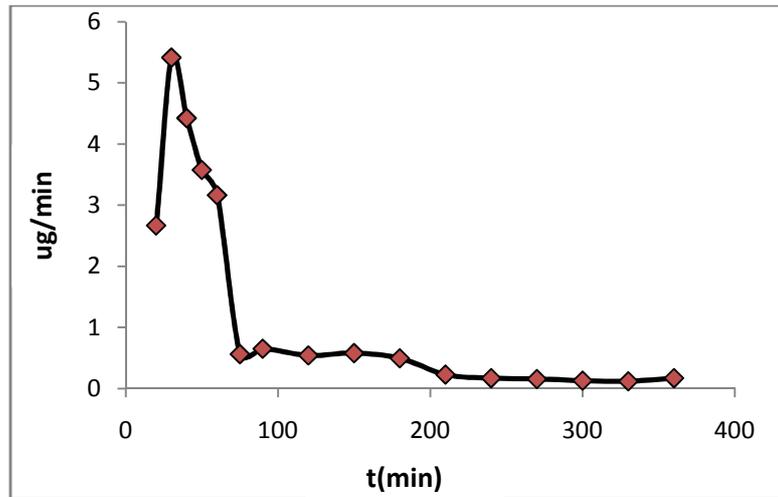


Figura 4.30: Profilo di Ra [13C] Cortisol per i soggetti ok

Profilo di Ra[2H]cortisol Steele

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10													
20			32.911	-0.105	-10.596	-0.004		9.989		32.082	6.053	10,047	16.606
30	-1.206	1.973	30.385	0.160	1.597	-0.061	8.760	17.035	8.453	30.653	4.036	9.253	11.763
40	-1.708	3.432	0.248	1.024	8.206	-0.077	7.527	9.540	7.480	18.323	2.846	5.167	5.804
50	-0.658	7.382	-16.482	0.993	10.085	-0.073	5.837	0.833	6.253	11.696	2.984	2.623	7.571
60	0.244	10.222	-21.449	0.943	10.985	-0.064	4.610	-0.719	5.087	8.428	3.026	1.938	8.790
75	-0.073	2.659	-16.201	1.448	6.167	-0.057	1.685	-1.276	1.754	0.964	1.206	-0.157	5.651
90	0.296	-3.540	-12.001	1.444	6.874	-0.042	1.894	0.215	1.704	2.285	1.391	0.047	4.687
120	0.463	0.343	-4.391	1.358	3.601	-0.024	1.669	0.981	0.816	1.425	0.795	0.640	1.924
150	0.333	3.168	-2.482	0.968	1.518	-0.005	1.322	0.733	0.507	1.291	0.540	0.718	1.356
180	0.176	2.450	-2.144	0.793	1.214	0.002	0.739	0.285	0.513	1.793	0.566	0.580	1.160
210	0.006	0.625	-2.297	0.509	0.933	0.006	0.155	-0.088	0.416	1.441	0.443	0.195	0.941
240	-0.046	-0.037	-1.791	0.449	0.698	0.008	0.091	-0.080	0.336	0.820	0.260	0.064	0.687
270	0.023	-0.261	-0.685	0.282	0.527	0.008	0.164	0.113	0.222	0.493	0.140	0.093	0.339
300	0.195	-0.270	0.010	0.316	0.376	-0.010	0.203	0.156	0.145	0.377	0.112	0.146	0.189
330	0.420	1.026	0.338	0.224	0.284	-0.014	0.195	0.131	0.076	0.342	0.111	0.285	0.278
360	0.723	2.720	0.210	0.381	0.222	-0.010	0.118	0.059	0.048	0.310	0.075	0.441	0.784

Tabella 4.18: Profili temporali di Ra[2H] Cortisol

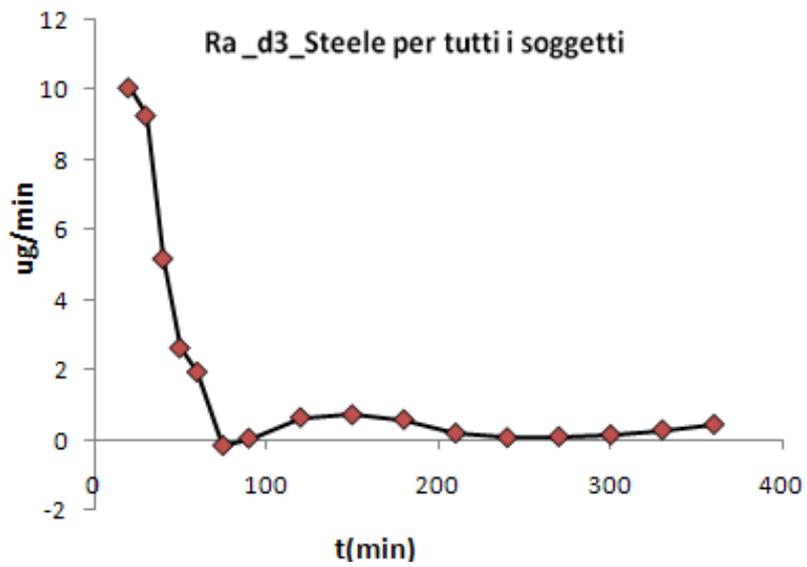


Figura 4.31: Profilo di Ra[2H] cortisol per tutti i soggetti

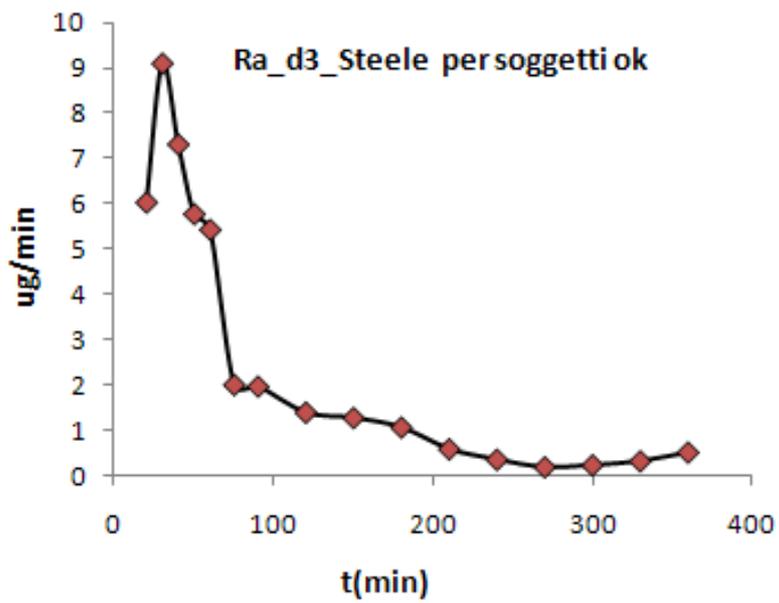


Figura 4.32: Profilo di Ra[2H] cortisol per i soggetti ok

Profilo di Ra_{cortisol} Steele

Tempo	MOR683	RIC170	VOG541	WAR237	CRA060	SIE949	PRU636	M BAL487	L GRI828	CAV445	VAU747	media	sd
0													
10	26.099	-67.183		107.765	262.822	-42.854	14.870	59.478	36.682	112.766	12.645	72.768	93.296
20	11.557	-27.278	363.697	88.514	217.585	-33.053	19.901	84.622	33.338	89.051	10.415	78.032	117.963
30	6.603	-6.455	404.151	35.175	144.439	-23.818	22.839	76.426	32.377	76.097	14.364	71.109	119.949
40	0.061	5.785	82.555	61.771	97.839	-15.813	21.842	34.185	26.363	55.477	13.062	34.830	35.682
50	-1.901	14.940	-117.831	42.220	86.585	-11.776	24.866	9.869	25.245	50.393	15.759	12.579	50.921
60	-1.170	17.891	-200.608	30.310	82.643	-8.687	27.006	5.730	24.333	47.319	17.394	3.833	72.196
75	-6.713	9.264	-162.796	59.188	41.934	-5.587	16.211	-2.353	10.898	20.845	10.057	-0.823	57.308
90	-4.277	-2.466	-115.923	62.671	50.721	-2.870	18.251	4.065	11.496	22.521	12.028	5.111	45.626
120	-2.926	-8.431	-40.008	73.109	34.246	-0.091	14.685	9.203	7.241	12.637	8.931	9.872	27.782
150	-1.357	0.619	-22.845	62.819	21.528	2.032	14.254	12.024	7.614	9.142	7.837	10.333	20.770
180	1.690	9.392	-18.063	60.452	20.905	3.096	20.920	12.357	14.743	18.778	10.924	14.109	18.996
210	4.061	8.407	-17.586	47.578	20.870	3.738	28.263	4.362	24.714	33.965	18.537	16.083	17.861
240	6.800	1.532	-10.671	50.832	20.094	4.793	20.623	5.330	19.808	46.601	16.196	16.540	18.558
270	9.284	0.417	4.830	39.999	17.587	9.356	8.667	8.985	7.435	41.475	15.601	14.876	13.590
300	13.727	7.139	25.497	48.502	15.637	0.583	16.843	14.572	5.847	14.778	14.408	16.139	12.561
330	16.768	25.151	30.476	38.719	18.903	-7.018	17.945	9.678	13.456	9.179	9.009	16.570	12.208
360	10.278	63.237	-1.777	66.455	38.055	-8.180	-13.820	31.584	175.410	8.598	4.296	34.012	54.188

Tabella 4.19: Profili temporali di Ra Cortisol

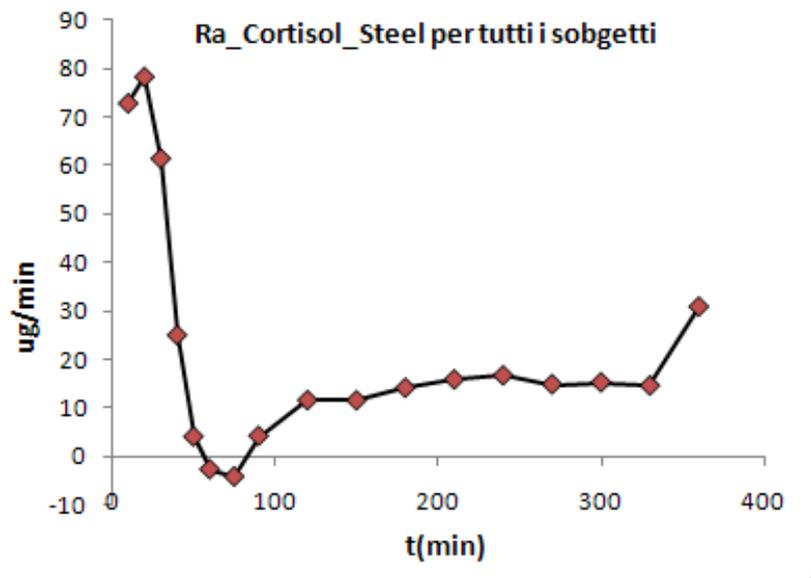


Figura 4.33: Profilo di Ra Cortisol per tutti i soggetti

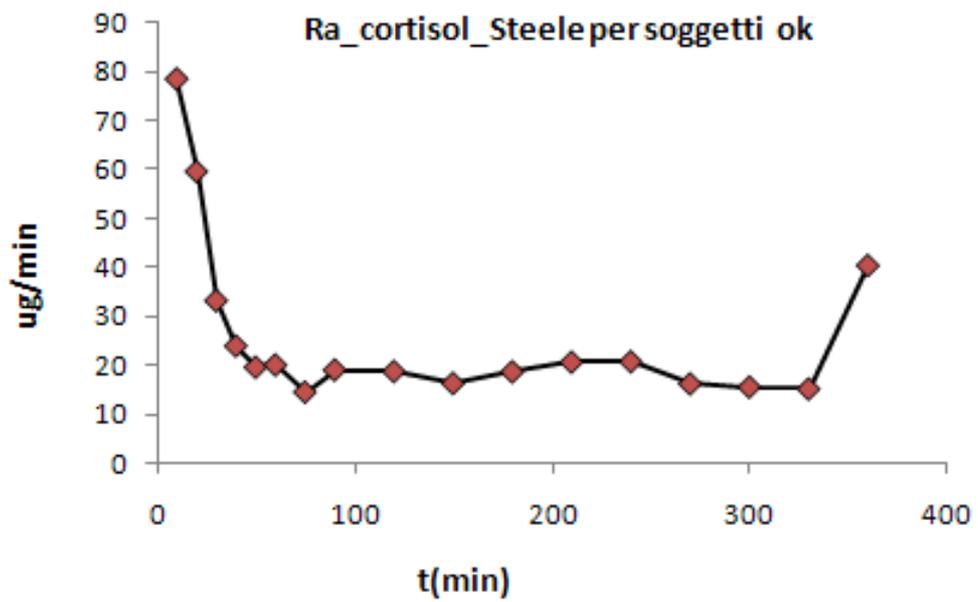


Figura 4.34: Profilo di Ra Cortisol per i soggetti ok

CAPITOLO 5

CONCLUSIONI

In questo studio si è quantificata per la prima volta la cinetica del cortisolo e si sono stimati i flussi di comparsa da ingresso orale.

Tuttavia, al termine dello studio, si può concludere che il clamp dei rapporti tracciante-tracciato non è sempre ben riuscito. Inoltre, alcuni soggetti hanno valori che discostano molto dalle medie, ed i dati di questi andrebbero quindi rimisurati.

L'inadeguatezza dei rapporti tracciante-tracciato rende il calcolo dei flussi di comparsa con il modello di Steele molto sensibile alle ipotesi sul volume di distribuzione ed il fattore p che devono essere fissati nell'equazione stessa. Infatti, scegliendo come volume di distribuzione il TDV e $p=1$, si ottengono in media dei flussi con valori negativi e picchi fino a -3 per $Ra_{[13C]cortisol}$, -4 per il $Ra_{[2H]cortisol}$, -55 per il $Ra_{cortisol}$. La situazione migliora nel caso in cui p sia fissato a $0,65$ in quanto aumentano i picchi negativi ossia $-1,5$ per $Ra_{[13C]cortisol}$, -2 per $Ra_{[2H]cortisol}$ e -27 per $Ra_{cortisol}$. Il caso migliore è quello in cui il volume di distribuzione è pari al volume iniziale dove si ottengono pochissimo valori negativi.

Nella stima dei profili della velocità di comparsa del cortisolo, i soggetti RIC170, VOG541 e SIE949 hanno dei valori negativi su quasi tutto l'intervallo di tempo. Questo può essere dovuto al fatto che l'infusione di 3H-cortisol è molto bassa, rispetto a quella degli altri soggetti (pertanto è stato chiesto al laboratorio della Mayo Clinic di rimisurare questo dato). In altri casi, i valori negativi possono essere dovuti al rumore di misura sovrapposto ai dati originali.

Bibliografia

- [1] Basu R, Singh Rj, Basu A, chittilapilly EG, Johnson CM, Toffolo G Cobelli C, Rizza. “ Splanchnic cortisol production occurs in humans: evidence for conversion of cortisone to cortisol via the 11-b hydroxysteroid dehydrogenase (11-b HSD) type 1 pathway. *Diabete* 53: 2051-2059, 2004.
- [2] Cobelli C., Toffolo G.(1984) “Compartmental vs Noncompartmental Modelling for two accessible pools”. *Am. J. Physiol.* 247: R488-R496
- [3] Cobelli C., Saccomani M.p. Compartmental Models of Physiologic Systems. In biomedical Engineering Handbook, ed JD. Bronzino, CRC Press, Boca Raton, FL, 1995, pp. 2375-2385
- [4] Cobelli C., Foster D.M. Compartmental Model: Theory and practice Using SAAM 2 Software System. In A.J Clifford and H.G. Mueller (Eds): *Mathematical Modelling in Experimental Nutrition*. Preum (New York): 71-93, 1998
- [5] Cobelli C. e Bonadonna R. . Bioingegneria dei sistemi biologici, volume 17 del CNR – *Gruppo nazionale di bioingegneria*. Patron Editore, Bologna, 1998
- [6] Cobelli C., Mari A. e Ferranini F.. “Non-steady state: error analysis of Steele’ s model and developments for glucose kinetics ”. *America Journal of Physiologic*, n. 252, pp. E679-E689, 1987
- [7] Sparacino G., Di camillo B., Toffolo G. e Cobelli C. “Deconvolution for smoothing and computing derivatives of Physiological signals. Use in estimation of glucose fluxes”. *Submitted o American Journal of Physiology*, 2002
- [8] *Modelli per la Stima di flussi di glucosio durante il pasto .Studio Dell’ effetto dell’ età e del sesso*. Tesi di laurea, Università di Padova, A.A 2001-2002. Relatore: prof. Claudio Cobelli.

Ringraziamenti

A conclusione del mio lavoro di tesi, desidero rivolgere un ringraziamento a tutte le persone che mi hanno dato la forza e il coraggio di affrontare tutte le difficoltà. Innanzitutto ringrazio il mio figlio Alfred che ha tre anni in data odierna e che mi ha dato tanta felicità; Al suo fratellino ancora in grembo, che ha vissuto tutto il lavoro della tesi e nascerà probabilmente il 12 Maggio 2011.

Ringrazio il mio marito ing. Soumele Florent che mi è sempre stato vicino aiutandomi da quando ho cominciato l'università.

Ringrazio i miei genitori sig. Fonda Adolphe e Fonda Beatrice che mi hanno dato la possibilità di conseguire questa laurea, e non hanno mai smesso di credere in me permettendomi di raggiungere questo traguardo , i miei fratelli : Balbine, Gildas, Blanche, Ramus e Farida.

Ringrazio tutti gli amici più cari che mi sono stati sempre vicini in questa esperienza.