

Identificazione di un modello del sistema
glucosio-insulina con tecniche Bayesiane di
stima parametrica.

Agnese Malfatti
Corso di Laurea Specialistica in Bioingegneria.

Relatore: Ch.mo Prof. Claudio Cobelli
Correlatore: Ing. Chiara Dalla Man

12 luglio 2010

Indice

Sommario	3
Capitolo 1 Introduzione	5
1.1 Il sistema di regolazione della glicemia	5
1.2 Il diabete mellito.....	7
1.2.1 Il diabete di tipo 1	8
1.3 Il diabete di tipo 2.....	9
1.4 I modelli di simulazione	10
1.5 Scopo della tesi.....	12
Capitolo 2 Basi di dati	15
2.1 Data Base 1.....	15
2.1.1 Soggetti	15
2.1.2 Protocollo sperimentale.....	15
2.2 Data Base 2.....	17
2.2.1 Soggetti virtuali.....	17
2.2.2 Metodi utilizzati	17
2.2.3 Protocollo virtuale.....	18
2.3 Data base 3	18
2.3.1 Soggetti	18
2.3.2 Sistemi utilizzati.....	20
2.3.3 Protocollo sperimentale.....	20
Capitolo 3 Modello di simulazione del sistema glucosio-insulina	23
3.1 Introduzione.....	23
3.2 Il modello del soggetto normale	25
3.2.1 Sottosistema del glucosio.....	25
3.2.1.1 Velocità di comparsa nel plasma.....	26
3.2.1.2 Produzione epatica.....	28
3.2.1.3 Utilizzazione	29

3.2.1.4	Escrezione renale	30
3.2.2	Sottosistema dell'insulina	30
3.2.2.1	Secrezione.....	32
3.2.3	Modello completo del soggetto normale.....	33
3.3	Il modello del soggetto diabetico di tipo 1	33
3.3.1	Sottosistema del glucosio.....	34
3.3.2	Sottosistema dell'insulina	34
3.3.2.1	Modello della cinetica.....	34
3.3.2.2	Modello dell'infusione sottocutanea.....	34
3.3.3	Il modello del soggetto diabetico di tipo 1.....	35
Capitolo 4	Identificazione.....	37
4.1	La stima parametrica.	37
4.2	La tecnica Bayesiana	38
4.3	Implementazione	40
4.3.1	Informazione a posteriori	40
4.3.2	Informazione a priori	41
4.3.3	Impiego dell'insulina come funzione forzante.....	42
4.3.4	Minimizzazione della funzione obiettivo.....	42
4.3.5	Operazioni conclusive.....	44
Capitolo 5	Risultati	47
5.1	Identificazioni sui soggetti virtuali.....	47
5.1.1	Identificazione sul pasto singolo.....	47
5.1.2	Giornata tipo	48
5.2	Identificazioni sui soggetti sani	49
5.3	Identificazioni sui soggetti diabetici di tipo 1	49
5.3.1	Identificazione sulla colazione.....	49
5.3.2	Confronto sulla giornata completa.....	50
Capitolo 6	Conclusioni	77
Bibliografia	79

Sommario

Lo studio della patofisiologia del diabete di tipo 1 può essere di grande aiuto per lo sviluppo di un controllore in catena chiusa per il controllo della glicemia (il cosiddetto pancreas artificiale). Tuttavia, pochi sono gli esperimenti disponibili in letteratura e, di norma, essi prevedono l'impiego di traccianti del glucosio.

Questa tesi si propone di mettere a punto un metodo per l'identificazione mediante stima Bayesiana dei parametri di un modello del sistema glucosio-insulina per i soggetti diabetici di tipo 1 da soli dati di concentrazioni di glucosio ed insulina nel plasma. Questo renderà possibile l'analisi modellistica su un database di soggetti diabetici di tipo 1 studiati per tre giorni in ospedale e su cui sono disponibili solo le misure di glicemia ed insulinemia.

L'informazione a priori impiegata nel metodo è stata ricavata dalla distribuzione dei parametri del modello identificati con tecniche modello-indipendenti su un gruppo di 204 soggetti normali. Tale distribuzione è stata opportunamente modificata per descrivere la popolazione di diabetici di tipo 1.

Il metodo è stato testato su tre diversi database: un primo gruppo di 204 soggetti sani studiati con tecniche di traccianti multipli, un database di 100 soggetti sani virtuali che hanno permesso la validazione del metodo e un terzo database composto da soggetti con diabete di tipo 1.

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Il sistema di regolazione della glicemia

Nel soggetto normale la concentrazione di glucosio nel sangue è mantenuta entro un intervallo piuttosto stretto tra gli 80 e i 90 mg/dl di sangue. Dopo un pasto questa concentrazione aumenta a 120-140 mg/dl durante più o meno la prima ora, ma i meccanismi a feedback che regolano la glicemia la fanno ritornare molto rapidamente ai livelli iniziali, di solito entro due ore dalla fine dell'assorbimento dei carboidrati. Durante il digiuno, invece, è la funzione gluconeogenica del fegato a fornire il glucosio necessario a mantenere la glicemia al suo normale livello basale.

L'importanza della regolazione della glicemia risiede nel fatto che il glucosio è l'unico fattore nutrizionale utilizzabile dal cervello, dalla retina e dall'epitelio germinativo delle gonadi in quantità sufficienti a coprirne il fabbisogno energetico. Pertanto è necessario che la glicemia resti ad un livello sufficientemente alto da assicurare la necessaria nutrizione ai suddetti organi e tessuti.

D'altra parte è altresì importante che la glicemia non aumenti troppo, per diversi motivi. Innanzitutto perché il glucosio esercita una notevole pressione osmotica sul liquido extracellulare: se la sua concentrazione aumentasse troppo, si verificherebbe una forte disidratazione cellulare. In secondo luogo, una glicemia troppo alta determinerebbe una perdita di glucosio nelle urine e si avrebbe per diuresi osmotica anche una perdita di acqua attraverso i reni, che potrebbe provocare una deplezione del patrimonio idrico dell'organismo.

Infine, un aumento duraturo della glicemia può danneggiare molti tessuti, in particolare i vasi sanguigni. Il danneggiamento della parete vasale che si manifesta nel diabete incontrollato, aumenta il rischio di infarto, ictus, patologie renali, cecità.

I principali meccanismi di regolazione della glicemia sono illustrati brevemente di seguito.

Il fegato assume un ruolo molto importante nell'attenuazione dell'escursione glicemica che avviene dopo un pasto. Quando la concentrazione di glucosio ematico raggiunge un valore elevato, la secrezione di insulina aumenta e all'incirca due terzi del glucosio assorbito dal tubo digerente vengono quasi immediatamente immagazzinati nel fegato sotto forma di glicogeno. Durante le ore successive, quando la sia la glicemia che la secrezione di insulina si riducono, il fegato reimmette glucosio nel sangue circolante. In tal modo il fegato smorza di circa tre volte l'ampiezza delle variazioni delle concentrazioni di glucosio nel sangue.

L'insulina e il glucagone, ormoni secreti rispettivamente dalle cellule beta e alfa del pancreas, regolano un importante sistema di controllo a feedback per il mantenimento della glicemia a livelli normali. Quando la concentrazione di glucosio ematico sale ad un valore troppo elevato, viene secreta insulina e questa a sua volta fa abbassare la concentrazione di glucosio a livelli normali. Al contrario, una diminuzione del glucosio nel sangue stimola la secrezione di glucagone che, all'opposto dell'insulina, fa aumentare la glicemia riportandola a livelli normali.

In condizioni di ipoglicemia, inoltre, per un effetto diretto della bassa concentrazione di glucosio sull'ipotalamo, viene stimolato il sistema simpatico. A sua volta, l'adrenalina immessa in circolo dalle ghiandole surrenali induce un'ulteriore liberazione di glucosio da parte del fegato.

Infine, in casi di ipoglicemia prolungata, dopo un periodo di ore o giorni vengono secreti sia l'ormone della crescita che il cortisolo, che fanno entrambi ridurre l'utilizzazione del glucosio da parte delle cellule che solitamente metabolizzano il quello in eccesso [1].

A seconda dei diversi fabbisogni e ruoli nel processo di regolazione della glicemia, è possibile classificare i tessuti in:

- glucosio-dipendenti: organi (in particolare cervello ed eritrociti) la cui sopravvivenza dipende in modo critico dal glucosio, la cui velocità di utilizzazione è pertanto costante.
- insulino-dipendenti: organi (muscolo, cuore, tessuto adiposo) che metabolizzano il

glucosio in eccesso rispetto alle necessità dei tessuti glucosio-dipendenti e hanno perciò un modello di utilizzazione del substrato di tipo fasico, dipendente dall'insulina circolante.

- gluco-sensori: organi (betacellule pancreatiche, fegato e ipotalamo) in grado di rilevare la concentrazione di glucosio circolante e di organizzare un'appropriata risposta secretoria [2].

1.2 *Il diabete mellito*

Il diabete mellito è una patologia nella quale si ha una alterazione del metabolismo dei carboidrati, dei lipidi e delle proteine a causa della carenza di secrezione insulinica e di una diminuita sensibilità dei tessuti all'insulina stessa. Esistono di due tipi di diabete mellito:

- Il diabete di tipo 1, definito come diabete insulino-dipendente. Questo tipo di diabete è dovuto alla mancanza di secrezione dell'insulina.

- Il diabete di tipo 2, indicato come diabete mellito non insulino-dipendente. Questo è causato da una minore sensibilità dei tessuti agli effetti dell'insulina. Questa ridotta sensibilità viene spesso indicata come resistenza all'insulina [1].

Questa patologia è tanto comune da essere considerata una patologia sociale. L'*International Diabetes Federation* (IDF), ha stimato che nel 2010 più di 284 milioni di persone nel mondo sono affette da questa malattia (il 6.6% della popolazione mondiale) e secondo le predizioni nel 2030 questo numero arriverà a superare i 438 milioni (figura 1.1). Per quel che riguarda l'Europa, il numero stimato di soggetti diabetici è di più di 55 milioni, destinato a salire a 66 milioni nel 2030. Le cause di questa rapida crescita sono da ricercarsi nell'aumento dell'età media e lo stile di vita sedentario, tuttavia i paesi nei quali il diabete pesa maggiormente in termini di diffusione e mortalità sono quelli a reddito medio-basso, principalmente le regioni africane e dell'est europeo

Da un'analisi dell'impatto economico del diabete e delle spese sanitarie nazionali per la cura e la prevenzione risulta che più dell'80% delle spese mediche sono sostenute nei paesi più ricchi, e non il quelli a reddito medio-basso, dove più del 70% della popolazione diabetica vive [3].

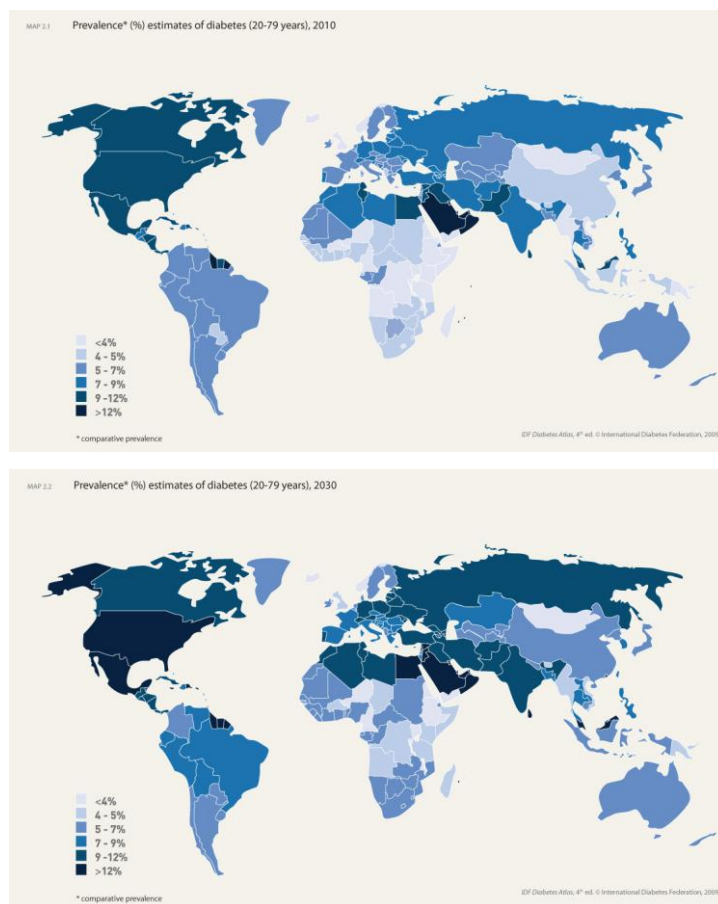


Figura 1.1: Diffusione stimata del diabete nel 2010 (figura in alto) e nel 2030 (figura in basso)

1.2.1 Il diabete di tipo 1

Il diabete mellito di tipo 1 è detto anche insulino-dipendente o giovanile perché colpisce soprattutto soggetti con meno di 35 anni. La malattia è il risultato del venir meno della funzione endocrina del pancreas e in modo specifico è dovuto alla morte per causa autoimmune delle cellule deputate alla produzione di insulina. Di questa patologia è affetto il 5-15% della popolazione diabetica.

Scopo della terapia del diabete di tipo 1 è garantire un controllo glicemico quanto più prossimo alla normalità e prevenire le complicanze croniche che condizionano la qualità e l'aspettativa di vita del paziente diabetico, evitando episodi ipoglicemici e mantenendo un tasso di emoglobina glicata¹ <7%. Il trattamento più diffuso è la cosiddetta terapia insulinica che consiste nell'iniezione di analoghi dell'insulina ad azione pronta (sintetizzati mediante

¹Emoglobina legata al glucosio. La sua concentrazione nel sangue è un parametro che fornisce una stima retrospettiva della glicemia per un periodo di circa 120 gg (tempo di vita dei globuli rossi) ed è per questo usata per monitorare il controllo glicemico nei soggetti diabetici.

tecniche di ingegneria genetica) prima di ciascun pasto principale e nella somministrazione di una insulina ad azione ritardata prima di coricarsi.

L'ideale sarebbe quello di poter realizzare un pancreas artificiale (PA) completamente impiantabile ed automatizzato che sostituisca il pancreas nella regolazione del metabolismo del glucosio mediante l'infusione di insulina esogena. In figura 1.2 è schematizzato il principio di funzionamento di un pancreas artificiale: il controllore confronta il glucosio desiderato (set point r) con il valore misurato dal sensore sottocutaneo continuo di glucosio e, istante per istante, calcola la velocità di infusione di insulina (segnale u) che annulla tale errore. L'insulina rilasciata dalla pompa ha effetto sul glucosio nel sangue, la cui concentrazione viene rilevata dal sensore (segnale y) e rinviata al controllore formando un sistema in catena chiusa.



Figura 1.2: Schema a blocchi di un PA

1.3 *Il diabete di tipo 2*

Circa l'85 - 95% dei casi a livello mondiale riguarda il diabete di tipo 2. Questa forma di diabete, tipica dell'età adulta e della popolazione anziana, si associa spesso a sovrappeso o obesità. Ha un'importante componente genetica, ma l'ambiente e le abitudini di vita giocano un ruolo altrettanto fondamentale: si stima che circa il 60% dei casi potrebbe essere prevenuto seguendo una dieta sana, praticando esercizio fisico ed evitando l'obesità [4].

In questo caso la produzione di insulina non cessa, ma diminuisce fino a risultare insufficiente rispetto alle necessità organiche, inoltre le cellule bersaglio risultano meno sensibili agli effetti dell'insulina (si parla infatti di insulino-resistenza). Questo tipo di diabete in genere non viene diagnosticato per molti anni in quanto l'iperglicemia si sviluppa gradualmente e in fase iniziale non mostra i classici sintomi del diabete tra i quali astenia, aumento della diuresi e spossatezza.

Anche per il diabete di tipo 2 gli obiettivi della terapia includono sia la normalizzazione della glicemia postprandiale che delle relative escursioni glicemiche. In un certo numero di pazienti la cura può consistere unicamente in una dieta bilanciata ipocalorica volta al raggiungimento e al mantenimento di un peso corporeo normale, se possibile abbinato ad un'attività fisica regolare. L'esercizio fisico svolge infatti un effetto favorevole sul controllo glicemico in quanto determina un miglioramento della sensibilità insulinica ed una riduzione dei fattori di rischio cardiovascolare. Nonostante la modificazione della dieta e l'attività fisica, meno del 10% dei pazienti con diabete di tipo 2 tuttavia riesce a mantenere livelli glicemici accettabili nel tempo e deve essere perciò posto in trattamento farmacologico con farmaci iperglicemizzanti orali o in trattamento insulinico [5].

1.4 I modelli di simulazione

Molte delle grandezze che risultano fondamentali per valutare quantitativamente il funzionamento dei sistemi endocrino-metabolici in vivo, quali flussi di produzione, trasporto e utilizzazione di substrati e ormoni sono inaccessibili alle misure. Normalmente, per i sistemi endocrino-metabolici l'unico sito accessibile alla misura è il plasma e la misura di tutti i parametri della parte inaccessibile del sistema richiede approcci indiretti. Questi devono per necessità basarsi su modelli matematici che collegano la porzione accessibile del sistema, il plasma appunto, a quella non accessibile, postulando per quest'ultima delle ipotesi strutturali sul suo funzionamento.

I modelli compartimentali rappresentano la classe di modelli strutturali maggiormente utilizzata per descrivere i sistemi endocrino-metabolici. Tali modelli sono costituiti da un numero finito di variabili del tempo legate tra loro da equazioni differenziali ordinarie. Il loro successo è dovuto al fatto che la loro formulazione è basata sul principio della conservazione di massa [2].

A seconda della loro complessità possiamo distinguere due principali categorie di modelli. I modelli minimi (o parsimoniosi), costituiti da pochi parametri, sono i più semplici possibili e vengono impiegati nella stima di parametri non direttamente accessibili. I modelli di simulazione, invece, volendo descrivere il sistema biologico in modo dettagliato e il più possibile vicino alla realtà, sono modelli su larga scala costituiti da un gran numero di parametri ed equazioni differenziali.

La disponibilità di un modello di simulazione del sistema glucosio-insulina può

rivelarsi molto utile nello studio della fisiopatologia del diabete e nella valutazione delle terapie proposte perché spesso non è possibile, appropriato, conveniente o desiderabile realizzare certi tipi di esperimenti in vivo: l'esperimento può rivelarsi troppo complicato, lungo, laborioso o dispendioso. Inoltre in molti casi sono richiesti frequenti campionamenti di sangue arteriale ed accessi vascolari a lungo termine che rendono l'esperimento pericoloso e non etico. La sperimentazione in silico è quindi una valida alternativa a quella in vivo per lo studio di problemi di identificazione o predizione, per il progetto e la valutazione di glucosensori, per l'elaborazione di algoritmi di infusione di insulina e per lo sviluppo di sistemi di supporto alla decisione nell'ambito della la terapia del diabete.

Grazie all'impiego di nuove tecnologie come la NMR, la PET e ad esperimenti con traccianti multipli, in questi ultimi anni è stato possibile ottenere importanti conoscenze di tipo quantitativo sul metabolismo del glucosio e il suo controllo da parte dell'insulina. In un particolare esperimento condotto su un database di 204 soggetti normali sono state misurate le concentrazioni plasmatiche di glucosio e di insulina. Inoltre grazie ad alla tecnica del triplo tracciante sono stati calcolati i principali flussi di glucosio ed insulina durante un pasto misto [7]. La disponibilità di queste grandezze, ricavate con tecniche modello-indipendenti, ha reso possibile la minimizzazione delle incertezze strutturali nella modellizzazione dei vari processi che intervengono nel metabolismo del glucosio. Questo ha permesso di definire per il soggetto normale un nuovo modello del sistema glucosio-insulina [5] in grado di descriverne i principali flussi e adatto alla simulazione del metabolismo di glucosio nel periodo postprandiale o nell'arco di un'intera giornata.

Il modello [5] è stato in seguito adattato alla descrizione del metabolismo del glucosio nei soggetti con diabete di tipo 1: il modulo della secrezione è stato sostituito con un modello dell'infusione di insulina sottocutanea, inoltre per riprodurre la tipica condizione di glicemia basale aumentata è stata assegnata una maggiore produzione endogena di glucosio. Nell'ipotesi che il soggetto sia in condizioni di controllo ottimale, gli altri parametri sono stati mantenuti uguali a quelli del soggetto sano [6]. Un modello di questo tipo può rivelarsi utile per progettare e testare sensori per la misura della glicemia ed algoritmi di controllo per l'infusione di insulina. Per fare ciò il modello del sistema viene associato ad un infusore di insulina, al sensore e al controllore da testare in un sistema in catena chiusa. Simulazioni di questo tipo sono molto utili per poter studiare e quindi migliorare il controllo in anello chiuso della concentrazione di glucosio nel sangue in pazienti diabetici di tipo 1 e per la progettazione di pancreas artificiali.

Ovviamente la simulazione rappresenta una fase di studio preliminare che non può in nessun caso sostituire la sperimentazione clinica necessaria per di poter immettere sul mercato un tecnologia, un farmaco o validare una terapia.

1.5 *Scopo della tesi*

Scopo della tesi è la messa a punto di una tecnica di stima Bayesiana per l'identificazione dei parametri di un modello di simulazione [6] del sistema glucosio-insulina per i soggetti diabetici di tipo 1 impiegando i soli dati di concentrazione plasmatica di glucosio ed insulina.

Il database 3 illustrato nel capitolo successivo avrebbe dovuto includere i dati relativi ai traccianti somministrati nel protocollo in modo che fosse possibile calcolare ed impiegare i flussi di glucosio per testare il metodo sul modello completo del soggetto diabetico di tipo 1. Dal momento che questi dati non risultano disponibili, il metodo sarà testato sui dati dei 204 soggetti normali impiegati originariamente per la messa a punto del modello [5] e su un database di 100 soggetti virtuali.

I database impiegati sono quindi tre. Il primo è composto dai 204 soggetti sani, sui quali è stato effettuato uno studio che attraverso esperimenti con traccianti multipli ha permesso di stimare i parametri del modello del metabolismo del glucosio e l'andamento dei principali flussi di glucosio non direttamente accessibili dal plasma (la velocità di comparsa R_a , la produzione epatica EGP e l'utilizzazione U). Il secondo data base è costituito dai soggetti virtuali sani, simulati per non avere, rispetto ai soggetti sani reali, l'incertezza sui parametri e i flussi stimati. Il terzo database invece, è composto da soggetti diabetici di tipo 1 in trattamento con schema insulinico basal-bolus.

Nel capitolo 2 vengono illustrati i tre data base e i rispettivi protocolli di acquisizione. In particolare per il primo data base verranno brevemente descritte le tecniche che hanno permesso di ottenere i dati che in questa tesi vengono considerati come riferimento.

Il capitolo 3 è dedicato alla descrizione del modello del sistema glucosio-insulina e delle modifiche apportate per rappresentare il soggetto diabetico di tipo 1.

Nel capitolo 4 sono riportate le strategie di identificazione del modello dai dati sperimentali e le metodologie adottate.

Nel capitolo 5 sono presentati i risultati ottenuti.

Il capitolo 6 è dedicato alla discussione dei risultati ed alla proposta di possibili approfondimenti futuri.

Capitolo 2

Basi di dati

2.1 *Data Base 1*

2.1.1 **Soggetti**

Il database 1 è costituito da 204 soggetti sani (età=56±2 anni, peso=78±1kg) coinvolti nello studio [9] e successivamente impiegati nello studio [5].

2.1.2 **Protocollo sperimentale**

Ai soggetti è stato somministrato un pasto misto contenente 0,02 g/kg di glucosio [7].

Il pasto è stato marcato con ¹³C-glucose, mentre due traccianti aggiuntivi ([6,6-²H₂]-glucose e [6-³H]-glucose) sono stati infusi per via intravenosa con la tecnica clamp del rapporto tracciante-tracciato. In questo modo sono state ottenute delle stime virtualmente modello-indipendenti dei vari flussi di glucosio [7]. In figura 2.1 sono mostrate le misure di glucosio ed insulina nel plasma, la velocità di comparsa del glucosio, la produzione endogena di glucosio e l'utilizzazione di glucosio(media ± SD). Viene mostrato anche l'andamento temporale della secrezione di insulina, ricostruita per deconvoluzione [10]. Indici della variabilità dei parametri della popolazione studiata si trovano in [7].

Le descrizioni di flussi e concentrazioni sono state impiegate come funzioni forzanti

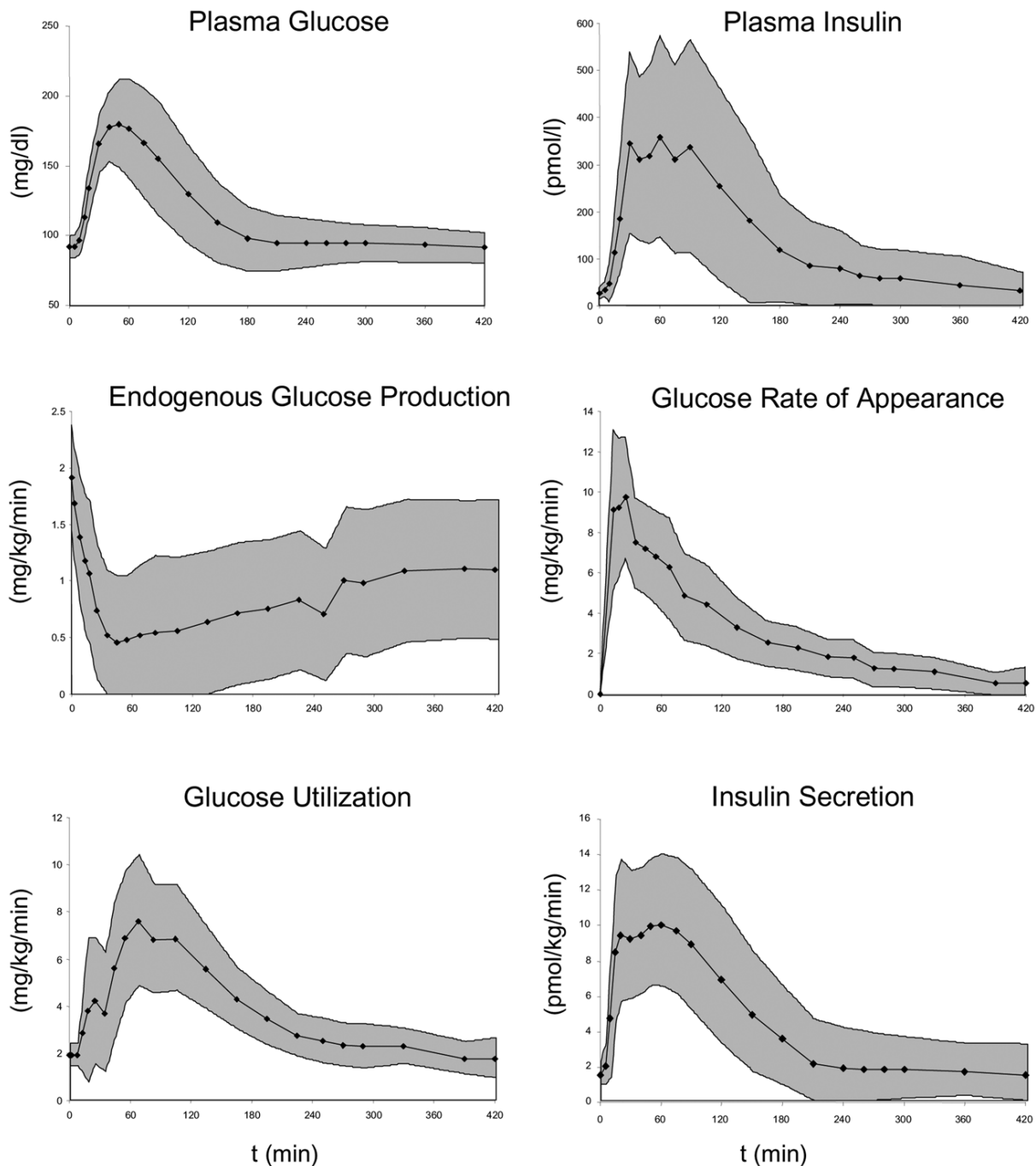


Figura 2.1: Misure dei principali flussi di glucosio ed insulina durante un pasto misto nei soggetti normali. Media sui 204 soggetti, l'area grigia rappresenta il range $\text{media} \pm 1\text{SD}$. Riquadri in alto: concentrazioni plasmatiche di glucosio (sinistra) e di insulina (destra). Riquadri centrali: produzione endogena di glucosio (sinistra) e velocità di comparsa del glucosio (destra). Riquadri in basso: Utilizzazione di glucosio (sinistra) e secrezione di insulina (destra).

nell'identificazione dei sottosistemi rappresentanti i vari processi costituenti il metabolismo. Ciò ha permesso di modellare il sistema glucosio-insulina con una tecnica che ne minimizza le incertezze strutturali.

Il modello del sistema glucosio-insulina è stato identificato separatamente sui 204 soggetti ottenendo per ciascuno di essi un vettore composto dai 26 parametri stimati. L'insieme dei 204 vettori ha permesso il calcolo della descrizione statistica congiunta dei

parametri. Questa verrà impiegata per la generazione dei soggetti virtuali sani descritti nel paragrafo successivo e come prior per la stima Bayesiana sui soggetti diabetici di tipo 1, previa alcuni adattamenti dovuti al diverso metabolismo (capitolo 4).

Le informazioni fornite dal data base 1 verranno inoltre impiegate come termine di confronto per i parametri e i flussi stimati con la tecnica di identificazione Bayesiana. Lo scopo è quello di valutare fino a che punto la strategia Bayesiana permetta di “clonare” il soggetto reale partendo dai dati reali di glucosio ed insulina nel plasma.

2.2 *Data Base 2*

2.2.1 Soggetti virtuali

Le misure ottenute sui soggetti del data base 1 sono affette da errore, sono solo virtualmente modello-indipendenti e introducono quindi delle incertezze nei parametri dei modelli identificati, per questo motivo è stato generato un secondo database di soggetti sani virtuali nel modo ora illustrato.

Dai risultati ottenuti sul database 1 abbiamo a disposizione la distribuzione statistica congiunta dei parametri del modello del sistema glucosio-insulina dei soggetti sani. 100 soggetti virtuali sono stati quindi estratti come realizzazioni di questa distribuzione.

2.2.2 Metodi utilizzati

Una volta generati i soggetti virtuali, il modello del sistema glucosio-insulina del soggetto normale è stato impiegato per simulare le concentrazioni dei principali flussi di glucosio ed insulina: glucosio plasmatico $g(t)$, velocità di comparsa del glucosio nel plasma $Ra(t)$, Produzione epatica di glucosio $EGP(t)$, velocità di scomparsa del glucosio $Rd(t)$, insulina plasmatica $i(t)$ ed insulina portale $Iport(t)$. A queste grandezze è stato sovrapposto del rumore (bianco gaussiano a media nulla e $CV=2\%$ per il glucosio, e SD incognita per l'insulina): lo scopo di questo database infatti è quello di fornire delle misure virtuali delle concentrazioni affette da errore di misura simile a quello dei casi reali.

2.2.3 Protocollo virtuale

I protocollo di simulazione ha previsto la somministrazione di 75000 mg di glucosio all'istante 0 e un intervallo di osservazione da -30 a 240 minuti dopo il pasto. La risposta a questo stimolo è stata impiegata nell'identificazione mediante tecnica Bayesiana dei parametri del modello del sistema glucosio-insulina descritto nel paragrafo 3.2.

È stato inoltre impiegato un altro protocollo che prevedeva la somministrazione di tre pasti da 45, 75, 85 g di glucosio a 1, 6, 12 ore dall'inizio dell'osservazione rispettivamente, per un intervallo di osservazione complessivo di 24 ore. Lo scopo di questo secondo protocollo è quello di confrontare la risposta del modello di partenza con quello identificato in modo da verificare se i parametri stimati permettono di riprodurre le concentrazioni dei flussi di glucosio anche in risposta ad ingressi diversi.

2.3 *Data base 3*

La raccolta dei dati è avvenuta in due sedi: presso l'Università di Montpellier in Francia e l'Institute for Clinical and Experimental Medicine dell'Università di Praga. Nei due centri sono stati seguiti protocolli simili. Lo studio ha avuto inizio in seguito all'approvazione da parte dei rispettivi Comitati Etici, è stato condotto secondo le linee guida dei principi della Dichiarazione di Helsinki 1996 (e successive modifiche) riguardo alla ricerca biomedica che coinvolge pazienti e ha seguito le linee guida ISO 14155 e ICH della Good Clinical Practice.

2.3.1 Soggetti

Dai due centri è stato selezionato un totale di 23 pazienti con diabete di tipo 1 dei quali 13 maschi e 10 femmine.

Criteria d'inclusione:

1. Età compresa tra 18 e 70 anni.
2. Diagnosi di diabete di tipo 1 o di tipo 2 essere effettuata da almeno un anno prima dell'inizio dello studio.
3. I pazienti dovevano aver ricevuto un regolare trattamento del diabete da parte dei medici coinvolti nello studio per un periodo di almeno 3 mesi prima dell'inizio dello

studio.

4. I pazienti dovevano utilizzare uno schema di trattamento tipo basal bolus mediante l'utilizzo di iniezioni d'insulina multiple (MDI) o di somministrazione continua d'insulina con microinfusore.
5. Il BMI deve essere inferiore a 35 Kg/m²
6. I pazienti dovevano essere disponibili ad utilizzare l'analizzatore della glicemia HemoCue e di utilizzare il sistema per la misurazione in continuo della glicemia Freestyle Navigator e il Multisensore Solianis assieme alla misurazione dei parametri vitali attraverso l'utilizzo del dispositivo Vivometrics.
7. I pazienti dovevano esprimere il loro consenso alle procedure previste nello studio.
8. I pazienti dovevano essere beneficiari del Servizio Sanitario Nazionale

Criteri di esclusione:

1. Pazienti con alterata funzionalità renale e valori di creatinina superiori a 150 µmol/L
2. Pazienti con alterazioni della funzionalità epatica (AST ed ALT > 2 x il limite di normalità)
3. Pazienti in trattamento con sulfaniluree o glitazonici
4. Pazienti in gravidanza o nel periodo d'allattamento durante la fase dello studio
5. Pazienti coinvolti in altri studi clinici in un periodo di almeno un mese prima dell'inizio dello studio
6. Dipendenza da alcool o droghe
7. Pazienti allergici al sensore od ad uno dei suoi componenti
8. Patologie psichiatriche evidenti
9. Pazienti con livelli di emoglobina inferiori a 12 g/dL
10. Pazienti che hanno avuto un evento cardiovascolare durante i 6 mesi precedenti lo studio
11. Pazienti il cui stato di salute non risulta compatibile con l'attività fisica

2.3.2 Sistemi utilizzati

Durante lo studio il paziente è stato dotato di specifici strumenti per la misurazione della glicemia.

HemoCue Glucose 201+ Analyzer. È un dispositivo per la misurazione della glicemia basato sulla tecnica della glucosio deidrogenasi e consiste in un analizzatore miniaturizzato ed una microcuvetta ad utilizzo singolo. L'HemoCue Glucose 201+ Analyzer è stato utilizzato come dispositivo di riferimento per la determinazione della glicemia per ciascun paziente coinvolto nello studio.

L'Abbott FreeStyle Navigator™. Verrà utilizzato come strumento per il monitoraggio in continuo della glicemia (CGMS) in questo studio. Questo dispositivo risulta composto dai seguenti 4 elementi: un sensore elettrochimico posizionato nel sottocute, un iniettore monouso, un trasmettitore connesso con il sensore ed un monitor in grado di ricevere il segnale dal sensore e visualizza i risultati in tempo reale.

Non Invasive Glucose Monitoring Device (Solianis Monitoring AG, Switzerland). È un sistema non invasivo per il monitoraggio in continuo della glicemia al fine di valutare le fluttuazioni glicemiche. Basandosi sulle caratteristiche dielettriche della cute umana, il dispositivo è in grado di misurare i vari parametri influenzati dalle variazioni dei livelli glicemici e dalle modificazioni della fisiologia umana attraverso una piattaforma multisensoriale.

Cellulare standard GMS con fotocamera. Questo strumento verrà utilizzato per raccogliere immagini relative ai pasti ed alle bevande assunte. Tali foto, corredate di data ed ora di acquisizione, costituiranno la base per il conteggio dei carboidrati relativo al catalogo dei pasti standard.

2.3.3 Protocollo sperimentale

Lo studio ha richiesto una prima visita di screening, un ricovero di 3 giorni ed un periodo di studio ambulatoriale di 7 +/- 2 giorni al termine del quale è stata effettuata la visita conclusiva.

Visita 0: screening. Durante la visita di screening è stata presentata al paziente una descrizione completa del protocollo di studio e gli sono state fornite le informazioni

necessarie per permettergli di decidere se intendesse o meno partecipare allo studio. Una volta firmato il consenso informato, lo sperimentatore ha valutato l'eleggibilità del soggetto rivedendo la sua storia clinica, ponendo eventuali domande ed eseguendo una visita clinica comprensiva della determinazione di alcuni parametri clinici (emocromo, HbA1c, anticorpi anti-insulina, creatinina, AST/ALT e β -HCG per le donne in periodo fertile).

Visita 1 (Day 0-Day3): Test in ospedale. Lo studio ha avuto inizio nelle 4 settimane successive alla visita di screening. Il paziente è stato ricoverato per un periodo complessivo di 75 ore. È arrivato presso il reparto alle 7:00 (7:00 am) del giorno Day 0 ed è stato dimesso nel terzo giorno Day 3 alle 10:00 (10:00 am).

Al paziente sono stati serviti pasti standard per colazione (8:00), pranzo (13:00) e cena (19:00). La quota di carboidrati inclusi era rispettivamente di 42, 70 e 70 grammi. Una quota di 3 grammi di glucosio deuterato è stata quindi aggiunta alla composizione della colazione.

I prelievi di sangue per la determinazione della glicemia ed insulina (totale e libera) sono stati effettuati secondo i seguenti criteri: ogni ora durante il giorno, ogni 2 ore durante la notte, ogni 15 minuti dopo i pasti per 2 ore. Per la colazione erano previsti dei prelievi specifici a -30, 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300 minuti dopo il pasto. Dal giorno 0 al giorno 3 verranno raccolti un totale di 111 campioni di sangue (37 al giorno) corrispondenti a 388.5 ml di sangue.

Durante il periodo di degenza il paziente è stato monitorato con due diversi sensori per la misurazione della glicemia in continua: il Freestyle Navigator[®], ed il multi sensore non-invasivo della Solanis Monitoring AG. I parametri raccolti sono stati: il profilo glicemico continuo attraverso l'Abbott Freestyle Navigator, le caratteristiche dielettriche della pelle, perfusione, movimento, sudore/umidità e temperatura mediante il Multisensore Solanis, il movimento periodico degli arti inferiori, tosse, temperatura della cute, temperatura corporea, frequenza cardiaca, profilo ECG, pressione arteriosa, saturazione di ossigeno e produzione di CO₂ attraverso la maglietta Vivometric LifeShirt[®]

Durante l'intero periodo di ospedalizzazione il paziente ha deciso il fabbisogno insulinico necessario basandosi sulle determinazioni ottenute dall'analizzatore di glucosio HemoCue. Egli ha iniettato prima dei pasti la dose d'insulina o ha programmato il bolo con la sua pompa ed ha adattato la velocità d'infusione basale come di consueto. In caso di necessità ed in particolare in corso di ipoglicemia o iperglicemia il paziente è stato aiutato da un infermiere ed un medico.

Per quanto riguarda i boli d'insulina pre prandiali, è stata somministrata una dose completa prima di ciascun pasto ad eccezione del pranzo del secondo giorno quando l'insulina è stata iniettata un'ora dopo aver iniziato il pranzo. Questo ritardo temporale consentirà una miglior comprensione del processo di assorbimento del glucosio e la sua distribuzione in assenza dell'azione insulinica.

Visita 2: (Dimissione e inizio periodo di studio ambulatoriale). Al termine dei tre giorni di ospedalizzazione il paziente viene dimesso e ha inizio una seconda fase dello studio durante la quale al soggetto è stato chiesto di utilizzare il sistema HemoCue per eseguire il controllo della glicemia e di completare un diario per raccogliere i dettagli che riguardano la terapia del diabete e le condizioni di vita quotidiana. Questa fase dura 7 ± 2 giorni.

Visita 3 (Day 3 + 7 \pm 2): conclusione dello studio. Una volta terminato il periodo di studio ambulatoriale è stato rimosso il sensore per il monitoraggio della glicemia e riconsegnato il dispositivo HemoCue utilizzato a domicilio [11].

Capitolo 3

Modello di simulazione del sistema glucosio-insulina

3.1 *Introduzione*

In *Dalla Man et al.* [5] è stato presentato un nuovo modello di simulazione del sistema glucosio-insulina del soggetto normale in grado di descrivere gli eventi fisiologici che avvengono durante un pasto standard misto. L'importanza dello sviluppo di un simulatore del sistema durante un pasto è piuttosto ovvia dal momento che l'ingestione di glucosio avviene nei pasti di tutti i giorni. Ad ogni modo, l'ingresso di glucosio per via orale è una situazione più difficile da modellare rispetto a quella intravenosa perché si rende necessario descrivere anche l'ingestione di glucosio e il processo di assorbimento. In letteratura sono disponibili alcuni modelli di simulazione [12],[13], tuttavia i limiti principali di questi modelli derivano dal fatto di essere stati validati sulle misure di concentrazione plasmatica di glucosio ed insulina e dal fatto che non sono aggiornati con le attuali conoscenze fisiologiche.

Grazie alla disponibilità del data set contenente 204 soggetti normali che sono stati sottoposti ad un pasto con Triplo Tracciante descritto nel paragrafo 2.1 è stato possibile ottenere in maniera modello-indipendente l'evoluzione temporale di tutti i principali flussi di glucosio ed insulina durante un pasto. Questo database ha permesso di identificare un nuovo

modello di ingestione ed assorbimento del glucosio [14]. Per mezzo di queste informazioni su flussi e concentrazioni è stato modellato il sistema glucosio-insulina ricorrendo ad un metodo di funzioni forzanti che minimizzano le incertezze strutturali nella modellizzazione dei singoli processi. È stato sviluppato un modello medio per il soggetto sano (non diabetico) [5],

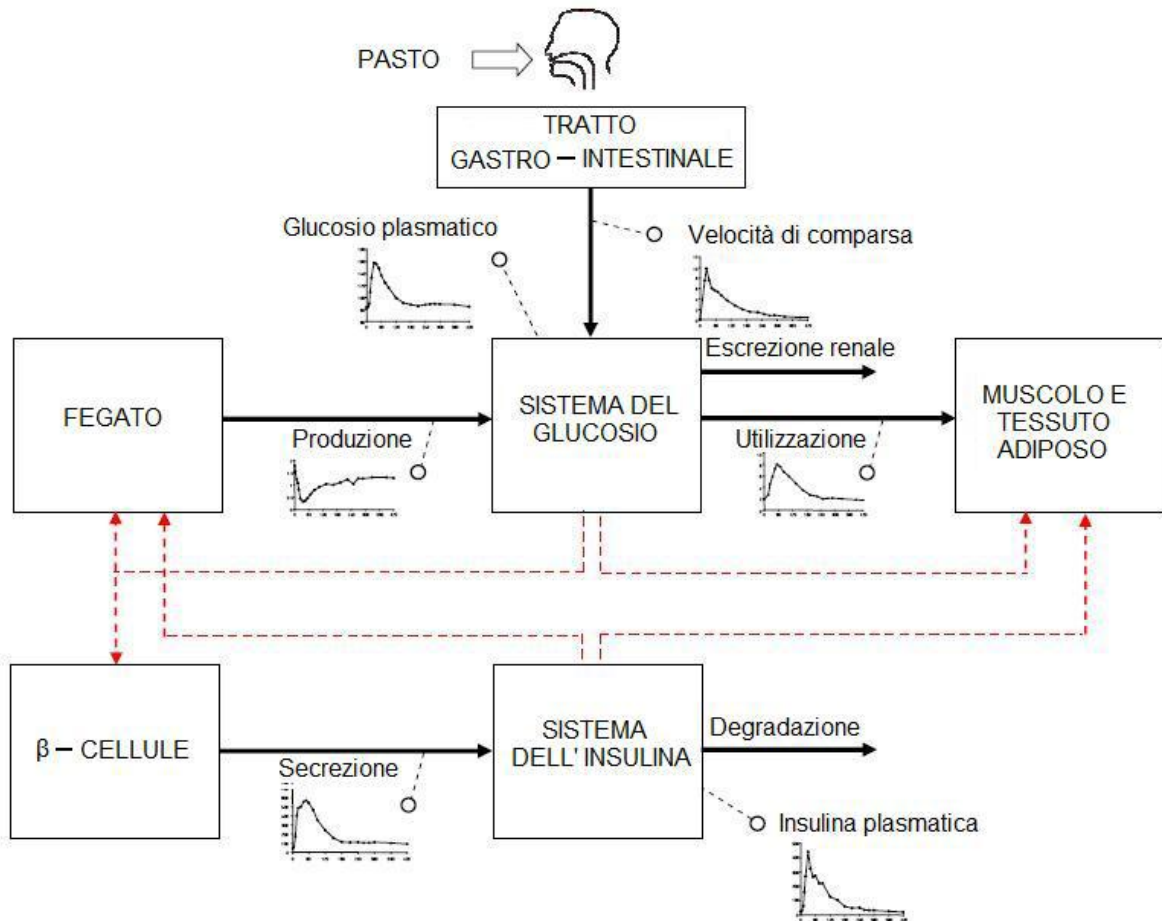


Figura 3.1: Schema del sistema glucosio-insulina.

inoltre da questo si è poi derivato il modello per il diabete di tipo 1 [6].

Il modello di simulazione (schematizzato in figura 3.1) del soggetto sano è composto da due principali sottosistemi:

- Il sottosistema del glucosio
- Il sottosistema dell'insulina

Tale modello mette in relazione le concentrazioni plasmatiche di glucosio ed insulina misurate con i flussi di glucosio (velocità di comparsa R_a , produzione epatica E_{GP} , utilizzazione U ed estrazione renale E) e i flussi di insulina (secrezione pancreatica S e degradazione D).

Nei paragrafi seguenti sono illustrati in dettaglio il modello di simulazione per il soggetto sano e le variazioni adottate nella modellizzazione per il soggetto diabetico di tipo II modello del soggetto sano.

3.2 Il modello del soggetto normale

3.2.1 Sottosistema del glucosio

La cinetica del glucosio è descritta da un modello a due compartimenti (figura 3.2).

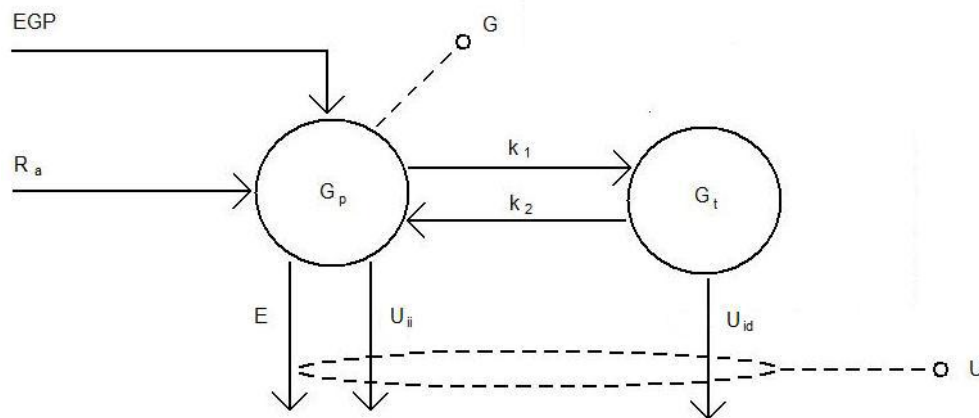


Figura 3.2: Modello compartimentale della cinetica del glucosio.

Le equazioni del modello sono:

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

Dove G_p e G_t (mg/kg) sono rispettivamente le masse di glucosio nel plasma e nei tessuti insulino-indipendenti (a scambio rapido con il plasma), G (mg/dl) la concentrazione plasmatica di glucosio, il suffisso b denota lo stato basale; EGP (mg/kg/min) è la produzione endogena di glucosio; R_A (mg/kg/min) è la velocità di comparsa del glucosio nel plasma, E (mg/kg/min) è l'escrezione renale; U_{ii} e U_{id} (mg/min/kg) sono rispettivamente le utilizzazioni insulino-indipendente e insulino-dipendente; V_g (dl/kg) è il volume di distribuzione del glucosio, k_1 e k_2 (min^{-1}) sono le velocità di scambio fra i due compartimenti. Allo stato stazionario basale, la produzione endogena di glucosio EGP_b uguaglia la scomparsa del glucosio, ovvero la somma dell'utilizzazione del glucosio e dell'escrezione renale

(quest'ultima nei soggetti normali è nulla):

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

3.2.1.1 Velocità di comparsa nel plasma

Un modello del tratto gastro-intestinale descrive il transito e l'assorbimento del glucosio attraverso lo stomaco e l'intestino. Lo stomaco è rappresentato da due compartimenti, uno per la quantità di cibo non triturato (fase solida) e uno per quella triturato (fase liquida), mentre un unico compartimento è usato per descrivere l'intestino (figura 3.2).

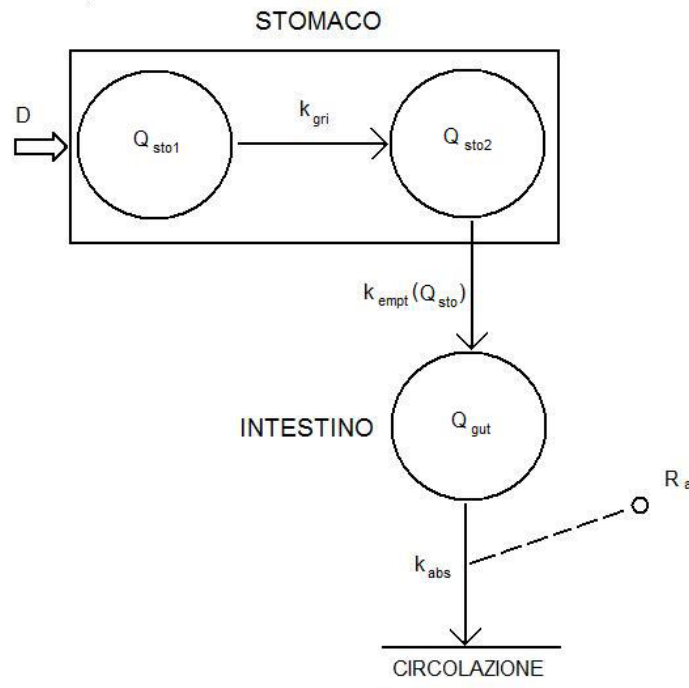


Figura 3.3: Modello compartimentale del tratto gastro-intestinale.

Le equazioni del modello sono:

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

Dove Q_{sto} (mg) è la quantità di glucosio nello stomaco (Q_{sto1} è la fase solida e Q_{sto2} la fase liquida), Q_{gut} (mg) è la massa di glucosio nell'intestino, k_{gri} (min^{-1}) è la velocità di triturazione, $k_{empt}(Q_{sto})$ (min^{-1}) è la velocità di svuotamento dello stomaco (funzione non

lineare di Q_{sto} , k_{abs} (min^{-1}) è la velocità dell'assorbimento intestinale che realmente appare nel plasma. D (mg) è la quantità di glucosio ingerito, BW (kg) è il peso corporeo, R_a (mg/kg/min) è la velocità di comparsa del glucosio nel plasma [14].

La velocità di svuotamento gastrico k_{empt} è stata ipotizzata dipendere dalla quantità di glucosio nello stomaco Q_{sto} (figura 3.4).

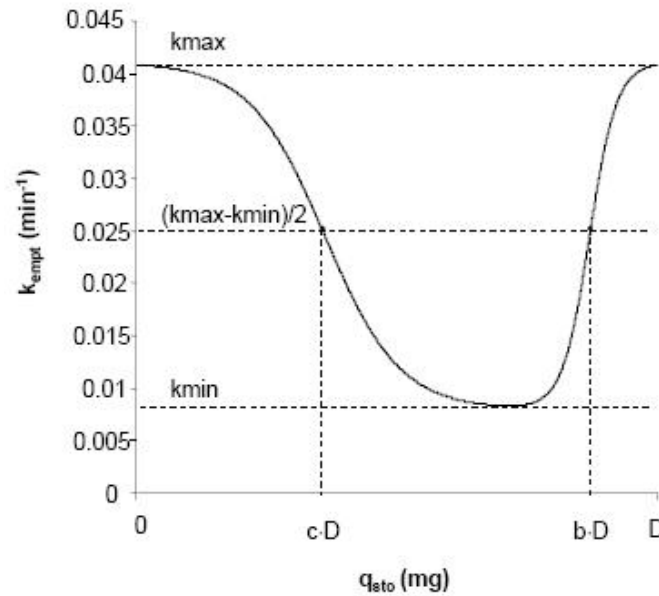


Figura 3.4: Andamento della velocità di svuotamento gastrico k_{empt} in funzione della quantità di glucosio presente nello stomaco (Q_{sto})

Lo stomaco infatti espelle molto velocemente la parte liquida del pasto che non necessita di triturazione (20-30% del totale); poi lo svuotamento viene rallentato per permettere di tritare la parte solida (70-80% del totale). La curva di figura 3.4 è stata approssimata dalla seguente equazione:

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

$$\alpha = \frac{5}{2 \cdot (1 - b) \cdot D} \quad (3.4)$$

$$\beta = \frac{5}{2 \cdot c \cdot D}$$

k_{empt} è massima ($=k_{max}$ (min^{-1})) quando lo stomaco contiene tutto il glucosio D ingerito, in seguito decresce con velocità α (mg^{-1}) verso un minimo, k_{min} (min^{-1}), per poi ritornare ad un massimo k_{max} con velocità β (mg^{-1}). b è la percentuale della dose di glucosio in corrispondenza della quale k_{empt} decresce fino a $(k_{max} - k_{min})/2$. Se c assume un valore molto basso, k_{empt} rimane al livello k_{min} fino a che lo stomaco non è completamente svuotato e la

(3.4) si semplifica in:

$$k_{empt}(Q_{sto}) = k_{min} + \frac{k_{max} - k_{min}}{2} \cdot \{\tanh[\alpha(Q_{sto} - b \cdot D)] + 1\} \quad (3.5)$$

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

Osservando inoltre i profili di R_A trovati sperimentalmente sono evidenti due fasi di assorbimento del glucosio: la prima, veloce, responsabile del picco, la seconda più lenta. Si può ipotizzare quindi che le due fasi di assorbimento siano dovute proprio alla variazione di velocità di svuotamento gastrico [14].

3.2.1.2 Produzione epatica

La diminuzione della produzione endogena di glucosio è regolata da tre segnali di controllo (figura 3.5): il glucosio plasmatico, una versione ritardata dell'insulina plasmatica (l'insulina interstiziale, che comporta una lenta soppressione dell'*EGP*) e una versione anticipata della stessa (l'insulina portale, che comporta una rapida soppressione dell'*EGP*).

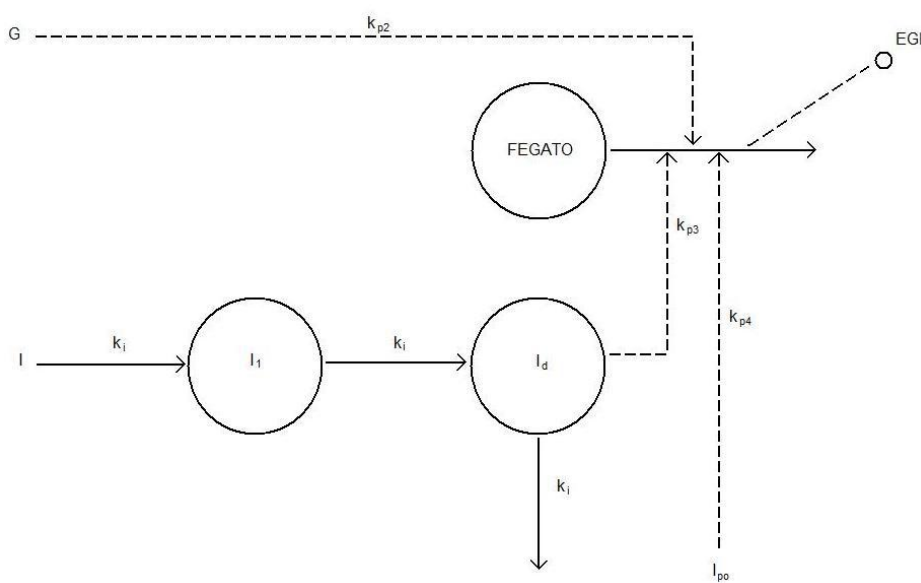


Figura 3.5: Modello compartimentale della produzione epatica di glucosio

Le equazioni del modello sono:

$$EGP(t) = k_{p1} - k_{p2} \cdot G_p(t) - k_{p3} I_d - k_{p4} \cdot I_{po}(t) \quad EGP(0) = EGP_b \quad (3.6)$$

dove I_{po} (pmol/kg) è la quantità di insulina in vena porta che si ottiene dal sottomodello dell'insulina (paragrafo seguente), I_d (pmol/l) è il segnale di insulina ritardato realizzato a sua volta da una catena di due compartimenti:

$$\begin{cases} \dot{I}_1(t) = -k_i[I_1(t) - I(t)] & I_1(0) = I_b \\ \dot{I}_d(t) = -k_i[I_d(t) - I(t)] & I_d(0) = I_b \end{cases} \quad (3.7)$$

k_{p1} (mg/kg/min) è l'EGP calcolata in corrispondenza di glucosio e insulina basali, k_{p2} (min^{-1}) è l'efficacia del glucosio sul fegato, k_{p3} (mg/kg/min/(pmol/kg)) è l'entità dell'azione di insulina portale sul fegato, k_i (min^{-1}) è il parametro che rende conto del ritardo tra la comparsa dell'insulina nel plasma e il manifestarsi del controllo della stessa. Su EGP è stato imposto il vincolo di non negatività.

Allo stato stazionario si ha:

$$k_{p1} = EGP_b + k_{p2} \cdot G_{pb} + k_{p3} \cdot I_b + k_{p4} \cdot I_{pob} \quad (3.8)$$

[5]

3.2.1.3 Utilizzazione

Per descrivere l'utilizzazione del glucosio da parte dei tessuti corporei durante un pasto, si è ipotizzato che essa sia la somma di due componenti. L'utilizzazione insulino-indipendente avviene nel primo compartimento, è costante e rappresenta l'assorbimento di glucosio da parte di cervello e globuli rossi:

$$U_{ii}(t) = F_{cns} \quad (3.9)$$

L'utilizzazione insulino-dipendente avviene nel compartimento remoto e dipende in modo non lineare dal glucosio nei tessuti attraverso la relazione di Michaelis-Menten:

$$U_{id}(t) = \frac{V_m(X(t)) \cdot G_t(t)}{K_m(X(t)) + G_t(t)} \quad (3.10)$$

dove per $V_m(X(t))$ e $K_m(X(t))$ si è ipotizzato che dipendano linearmente dall'insulina remota $X(t)$:

$$\begin{aligned} V_m(X(t)) &= V_{m0} + V_{mX} \cdot X(t) \\ K_m(X(t)) &= K_{m0} + K_{mX} \cdot X(t) \end{aligned} \quad (3.11)$$

In realtà in fase di identificazione si è osservato che K_{mX} collassava a zero e che quindi K_m non risultava dipendente da X .

L'utilizzazione totale di glucosio è quindi:

$$U(t) = U_{ii}(t) + U_{id}(t) \quad (3.12)$$

La dinamica dell'insulina nel fluido interstiziale (insulina remota X) è rappresentata da

un unico compartimento ed è descritta dalla seguente equazione:

$$\dot{X}(t) = -p_{2U} \cdot X(t) + p_{2U}[I(t) - I_b] \quad X(0) = 0 \quad (3.13)$$

dove I (pmol/l) è la concentrazione di insulina plasmatica e p_{2U} (min^{-1}) è la velocità dell'azione insulinica sull'utilizzazione del glucosio da parte dei tessuti insulino-dipendenti.

Allo stato stazionario basale si ha:

$$G_{tb} = \frac{F_{cns} - EGP_b + k_1 \cdot G_{pb}}{k_2} \quad (3.14)$$

$$U_b = EGP_b = F_{cns} + \frac{V_{m0} \cdot G_{tb}}{K_{m0} + G_{tb}} \quad (3.15)$$

Da cui si ricava:

$$V_{m0} = \frac{(EGP_b - F_{cns}) \cdot (K_{m0} + G_{tb})}{G_{tb}} \quad (3.16)$$

3.2.1.4 *Escrezione renale*

L'escrezione del glucosio attraverso i reni avviene solo se la concentrazione di glucosio supera una certa soglia e può essere modellizzata tramite un relazione lineare con il glucosio plasmatico:

$$E(t) = \begin{cases} k_{e1} \cdot [G_p(t) - k_{e2}] & \text{se } G_p(t) > k_{e2} \\ 0 & \text{se } G_p(t) \leq k_{e2} \end{cases} \quad (3.17)$$

dove k_{e1} (min^{-1}) è la velocità di filtrazione glomerulare e k_{e2} (mg/kg) è la soglia renale di glucosio. [5]

3.2.2 **Sottosistema dell'insulina**

La cinetica dell'insulina è descritta da un modello a due compartimenti (figura 3.6).

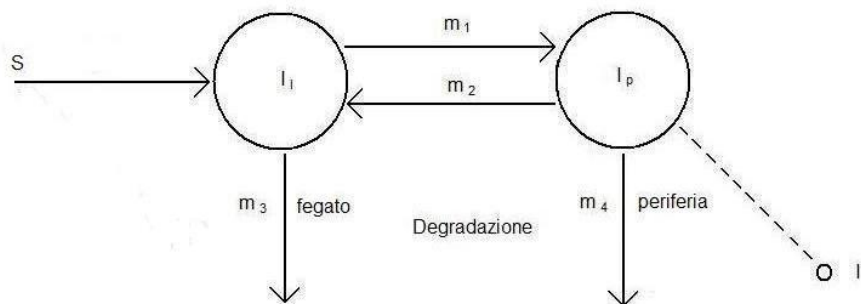


Figura 3.6: Modello compartimentale della cinetica di insulina

Le sue equazioni sono:

$$\begin{cases} \dot{I}_l(t) = -(m_1 + m_3(t)) \cdot I_l(t) + m_2 \cdot I_p(t) + S(t) & I_l(0) = I_{lb} \\ \dot{I}_p(t) = -(m_2 + m_4) \cdot I_p(t) + m_1 \cdot I_l(t) & I_p(0) = I_{pb} \\ I(t) = \frac{I_p}{V_I} & I(0) = I_b \end{cases} \quad (3.18)$$

dove I_p e I_l (pmol/kg) sono rispettivamente le masse di insulina nel plasma e nel fegato, I (pmol/l) è la concentrazione di insulina plasmatica, S (pmol/kg/min) è la secrezione di insulina, V_I (l/kg) è il volume di distribuzione di insulina, m_1 , m_2 e m_4 sono le velocità di scambio.

La degradazione di insulina D avviene sia nel fegato ($m_3(t)$) che in periferia (m_4 assunta costante). Da esperimenti è emerso invece che l'estrazione epatica di insulina HE , ovvero il rapporto tra il flusso di insulina che lascia in modo irreversibile il fegato ($m_3(t)$) e il flusso totale di insulina che lascia il fegato ($m_3(t)+m_1$), è tempo-variante. Sulla base delle recenti evidenze sperimentali è possibile collegare il profilo temporale di HE a quello della secrezione di insulina attraverso l'equazione:

$$HE(t) = -m_5 \cdot S(t) + m_6 \quad HE(0) = HE_b \quad (3.19)$$

in modo che:

$$m_3(t) = \frac{HE(t) \cdot m_1}{1 - HE(t)} \quad (3.20)$$

Allo stato stazionario basale si ha:

$$m_6 = m_5 \cdot S_b + HE_b \quad (3.21)$$

$$m_3(0) = \frac{HE_b \cdot m_1}{1 - HE_b} \quad (3.22)$$

$$S_b = m_3(0) \cdot I_{lb} + m_4 \cdot I_{pb} = D_b \quad (3.23)$$

dove S_b e D_b sono la secrezione e la degradazione basali.

Inoltre, dato che il fegato è responsabile per il 60% della clearance² di insulina in stato stazionario ($HE_b=0.6$), si ha:

$$m_2 = \left(\frac{S_b}{I_{pb}} - \frac{m_4}{1 - HE_b} \right) \cdot \frac{1 - HE_b}{HE_b} \quad (3.24)$$

$$m_4 = \frac{2}{5} \cdot \frac{S_b}{I_{pb}} \cdot (1 - HE_b) \quad (3.25)$$

² Volume di plasma che, nell'unità di tempo (1 min), è completamente depurato da una certa sostanza.

[5]

3.2.2.1 *Secrezione*

Il modello di secrezione dell'insulina si basa sull'osservazione che l'insulina è presente nel pancreas in due forme: stabile (98%) e disponibile al rilascio (2%). Poiché, per una certa frazione di glucosio, viene secreta solo una frazione della quantità totale di insulina labile, è stato ipotizzato che l'insulina nella forma labile sia suddivisa in “pacchetti” e che per ciascuno di essi il processo di secrezione sia un processo a soglia (cioè ad ogni pacchetto è associato un valore di soglia tale che se lo stimolo di glucosio è abbastanza forte può rilasciare insulina). Dai dati sperimentali è emerso che la risposta pancreatica ad uno stimolo di glucosio è bifasica, cioè caratterizzata da una prima fase di secrezione con un aumento istantaneo ed una seconda fase più lenta e ritardata. La prima componente rappresenta la secrezione di insulina labile contenuta nelle β -cellule ed è proporzionale alla variazione della concentrazione di glucosio \dot{G} . La seconda componente coincide con l'approvvigionamento di insulina da parte delle β -cellule del pancreas (frazione della produzione di insulina effettivamente disponibile al rilascio perché contenuta nei pacchetti a soglia inferiore allo stimolo di glucosio) ed è pertanto controllata dalla concentrazione di glucosio G [15].

Il modello è illustrato in figura 3.7

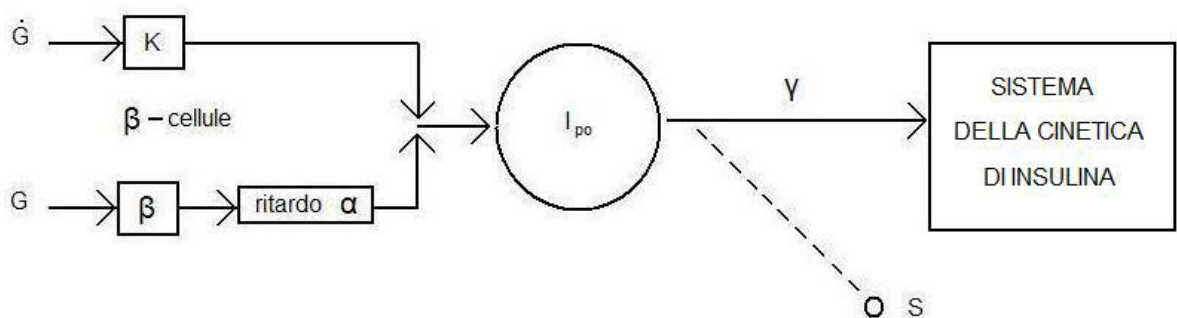


Figura 3.7: Modello compartimentale della secrezione di insulina

Le sue equazioni sono:

$$S(t) = \gamma \cdot I_{p0}(t) \quad (3.26)$$

$$\dot{I}_{p0}(t) = -\gamma I_{p0}(t) + S_{p0}(t) \quad I_{p0}(0) = I_{p0b} \quad (3.27)$$

$$S_{p0}(t) = \begin{cases} Y(t) + K \cdot \dot{G}(t) + S_b & \text{se } \dot{G} > 0 \\ Y(t) + S_b & \text{se } \dot{G} \leq 0 \end{cases} \quad (3.28)$$

$$\dot{Y}(t) = \begin{cases} -\alpha[Y(t) - \beta \cdot (G(t) - h)] & \text{se } \beta \cdot (G(t) - h) \geq -S_b \\ -\alpha[Y(t) + S_b] & \text{se } \beta \cdot (G(t) - h) < -S_b \end{cases} \quad Y(0) = 0 \quad (3.29)$$

dove S_{p0} (pmol/kg/min) è la secrezione di insulina in vena porta, Y (pmol/kg) è l'approvvigionamento di insulina, S_b (pmol/kg/min) è l'insulina rilasciata in condizioni basali, γ (min⁻¹) è il coefficiente di trasferimento tra la vena porta ed il fegato, K (pmol/kg/(mg/dl)) è la sensibilità pancreatica alle variazioni di glucosio, α (min⁻¹) è il ritardo tra il segnale di glucosio e la secrezione di insulina, β (pmol/kg/min/(mg/dl)) è la sensibilità pancreatica al glucosio, h (mg/dl) è il valore di soglia della concentrazione di glucosio oltre il quale le β -cellule iniziano a produrre nuova insulina (h è stato uguagliato dalla concentrazione di glucosio basale G_b per garantire la stazionarietà del sistema in condizioni basali) [5].

3.2.3 Modello completo del soggetto normale

Il modello completo di simulazione del sistema glucosio-insulina del soggetto normale è composto dalle equazioni (3.1), (3.3), (3.4) o (3.5), (3.6), (3.7), (3.9) - (3.13), (3.17) - (3.20), (3.26) - (3.29); i vincoli di stato stazionario sono invece contenuti in (3.2), (3.8), (3.14) - (3.16), (3.21) - (3.25).

I 26 parametri incogniti del modello oggetto di stima sono: k_{abs} , k_{max} , k_{min} , b , c (è stato imposto il vincolo $k_{gri}=k_{max}$ per favorirne l'identificazione numerica), k_i , k_{p2} , k_{p3} , k_{p4} , V_G , V_{mX} , K_{m0} , k_2 , k_1 , p_{2U} , V_I , K , β , α , m_1 , m_5 , G_b , EGP_b , BW , I_b , SR_b [5].

3.3 *Il modello del soggetto diabetico di tipo 1*

Nei soggetti con diabete mellito di tipo 1, l'insulina non viene prodotta dall'organismo, ma viene somministrata attraverso la terapia, inoltre si riscontra un'aumentata glicemia basale. Per poter rappresentare queste diversità funzionali è necessario apportare delle modifiche al modello del soggetto sano appena descritto, in particolare si sostituisce il modulo della secrezione di insulina con un modello di infusione sottocutanea, si eliminano i termini relativi all'insulina portale I_{po} e si assegna di una maggiore produzione epatica di glucosio.

3.3.1 **Sottosistema del glucosio**

Nell'equazione (3.6) relativa alla produzione endogena di glucosio l'assenza del segnale dell'insulina portale si traduce nella scomparsa del termine ad essa collegato. L'espressione diventa quindi:

$$EGP(t) = k_{p1} - k_{p2} \cdot G_p(t) - k_{p3} I_d \qquad EGP(0) = EGP_b \quad (3.6 \text{ bis})$$

mentre il parametro k_{p1} diventa

$$k_{p1} = EGP_b + k_{p2} \cdot G_{pb} + k_{p3} \cdot I_b \quad (3.8 \text{ bis})$$

3.3.2 **Sottosistema dell'insulina**

3.3.2.1 *Modello della cinetica*

Rispetto al modello del soggetto sano, dall'equazione di I_l (massa di insulina nel fegato) scompare il termine della secrezione $S(t)$, mentre in quella di I_p (insulina plasmatica) compare il termine $R_i(t)$, che rappresenta la velocità di comparsa dell'insulina esogena nel plasma. Le equazioni ora risultano:

$$\begin{cases} \dot{I}_l(t) = -(m_1 + m_3(t)) \cdot I_l(t) + m_2 \cdot I_p(t) & I_l(0) = I_{lb} \\ \dot{I}_p(t) = -(m_2 + m_4) \cdot I_p(t) + m_1 \cdot I_l(t) + R_i(t) & I_p(0) = I_{pb} \\ I(t) = \frac{I_p}{v_I} & I(0) = I_b \end{cases} \quad (3.18 \text{ bis})$$

Allo stato basale le quantità di insulina nel compartimento epatico e nel plasma risultano essere rispettivamente:

$$I_{lb} = I_{pb} \cdot \frac{m_2}{m_1 + m_3} \quad (3.30)$$

$$I_{pb} = \frac{IIR_b}{m_2 + m_4 - \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_3}} \quad (3.31)$$

dove IIR_b è la velocità di infusione di insulina basale in anello aperto.

3.3.2.2 *Modello dell'infusione sottocutanea*

In sostituzione del modello della cinetica di insulina viene introdotto il modello dell'infusione sottocutanea (figura 3.8).

Le equazioni del modello sono:

$$\begin{cases} \dot{I}_{sc1}(t) = -(k_d + k_{a1}) \cdot I_{sc1}(t) + IIR(t) & I_{sc1}(0) = I_{sc1ss} \\ \dot{I}_{sc2}(t) = k_d \cdot I_{sc1}(t) - k_{a2} \cdot I_{sc2}(t) & I_{sc2}(0) = I_{sc2ss} \end{cases} \quad (3.32)$$

dove I_{sc1} è la quantità di insulina non monomerica nello spazio sottocutaneo, I_{sc2} è la quantità di insulina monomerica nello spazio sottocutaneo, IIR (pmol/kg/min) è la velocità di infusione di insulina esogena, k_d (min^{-1}) è la costante di velocità di dissociazione dell'insulina, k_{a1} e k_{a2} sono rispettivamente le costanti di velocità dell'assorbimento di insulina non monomerica e monomerica. (tabella 3.1)

La velocità di comparsa dell'insulina nel plasma (R_i) risulta:

$$R_i(t) = k_{a1} \cdot I_{sc1}(t) + k_{a2} \cdot I_{sc2}(t) \quad (3.33)$$

Allo stato basale i valori dell'insulina nei compartimenti sottocutanei, I_{sc1ss} e I_{sc2ss} risultano:

$$I_{sc1ss} = \frac{IIR_b}{k_d + k_{a1}} \quad (3.34)$$

$$I_{sc2ss} = \frac{k_d}{k_{a2}} \cdot I_{sc1ss} \quad (3.35)$$

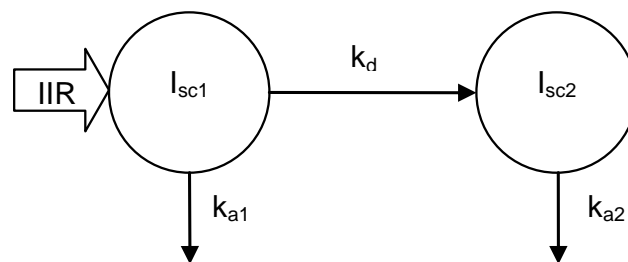


Figura 3.8: Modello della cinetica dell'insulina nel sottocute

3.3.3 Il modello del soggetto diabetico di tipo 1

Il modello completo di simulazione del sistema glucosio-insulina per il soggetto diabetico di tipo 1 è composto dalle equazioni (3.1), (3.3), (3.4) o (3.5), (3.6 bis), (3.7), (3.9) - (3.13), (3.17), (3.18 bis) (3.32), (3.33) (3.36) o (3.40). I vincoli di stato sono invece contenuti in (3.2), (3.8bis), (3.14) - (3.16), (3.30), (3.31), (3.34) e (3.35).

I 19 parametri incogniti del modello oggetto di stima sono: k_{abs} , k_{max} , k_{min} , b , c (è stato imposto il vincolo $k_{gri}=k_{max}$ per favorirne l'identificazione numerica), k_i , k_{p2} , k_{p3} , V_G , V_{mX} , K_{m0} , k_2 , k_1 , p_{2U} , V_I , m_I , G_b , EGP_b , BW .

Capitolo 4

Identificazione

4.1 *La stima parametrica.*

Grazie a conoscenze di tipo fisiologico ed assunzioni é possibile arrivare a definire le equazioni che costituiscono il modello del sistema oggetto di analisi. Compiuto questo passo, per completare il modello é necessario dare un valore ai parametri $\{p_1 p_2 \dots p_M\}$ che vi compaiono. Nei casi pratici ciò può essere realizzato sfruttando la conoscenza di uno o più segnali di misura (ad esempio una concentrazione plasmatica), messo in funzione del vettore dei parametri del modello

$$y(t) = g(t, p) \quad (4.1)$$

dove la funzione $g(t,p)$ lega il modello alle misure.

Nella pratica, il segnale $y(t)$ é affetto da rumore ed é disponibile in un numero limitato N di campioni ai tempi $\{t_1 t_2 \dots t_N\}$. Le misure che abbiamo a disposizione sono quindi esprimibili come:

$$z_k = y(t_k) + v_k = g(t_k, p) + v_k \quad k = 1, 2, \dots, N \quad (4.2)$$

dove v_k rappresenta l'errore compiuto sulla k -esima misura z_k ed é assimilabile ad una variabile aleatoria a valore atteso nullo della quale spesso abbiamo a disposizione una descrizione statistica. L'equazione (4.2) per le N misure si può scrivere in forma vettoriale:

$$z = y + v = G(p) + v \quad (4.3)$$

dove $G(p)=[g(t_1,p) g(t_2, p) \dots g(t_N,p)]^T$.

La matrice di covarianza del vettore v é allora sempre esprimibile nella forma

$$\Sigma_v = E[vv^T] = \sigma^2 B \quad (4.4)$$

dove σ^2 é un opportuno scalare, noto o incognito, e B é una matrice quadrata $N \times N$ che in caso di rumore a campioni scorrelati risulta diagonale [2].

4.2 La tecnica Bayesiana

Nell'approccio Bayesiano si utilizza per la stima del vettore dei parametri p non solo la conoscenza del vettore dei dati z , detta *informazione a posteriori* perché legata all'esperimento, ma anche dell'altra informazione, detta *informazione a priori* perché indipendente da esso. Nella pratica, l'informazione a priori disponibile sul vettore dei parametri p è legata a conoscenze di tipo statistico ottenute ad esempio da studi di popolazione.

Nell'approccio di Bayes il vettore p dei parametri incogniti è considerato aleatorio ed ha una densità di probabilità a priori data da:

$$f_p(p) = f_{p_1 p_2 \dots p_M}(p_1, p_2, \dots, p_M) \quad (4.5)$$

è possibile definire la densità di probabilità a posteriori del vettore p dei parametri espressa come

$$f_{p|z}(p|z) = f_{p_1 p_2 \dots p_M | z_1 z_2 \dots z_M}(p_1 p_2 \dots p_M | z_1 z_2 \dots z_M) \quad (4.6)$$

dove z rappresenta il vettore aleatorio delle misure. In base alla regola di Bayes la densità di probabilità a posteriori del vettore p dei parametri si può scrivere come

$$f_{p|z}(p|z) = \frac{f_z(z|p)f_p(p)}{f_z(z)} = \frac{f_{z_1 z_2 \dots z_M | p_1 p_2 \dots p_M}(z_1, z_2, \dots, z_M | p_1, p_2, \dots, p_M) f_{p_1 p_2 \dots p_M}(p_1, p_2, \dots, p_M)}{f_{z_1 z_2 \dots z_M}(z_1, z_2, \dots, z_M)} \quad (4.7)$$

dove

$$f_{z_1 z_2 \dots z_M}(z_1, z_2, \dots, z_M) \quad (4.8)$$

é la densità di probabilità a priori del vettore delle misure z .

Le densità di probabilità fin qui riportate possono essere sfruttate per ottenere la stima a minima varianza d'errore, ovvero quella per cui la quantità

$$E[\|p - \hat{p}\|^2] \quad (4.9)$$

é minima. Tale stima si dimostra coincidere con il valor medio a posteriori

$$E[p|z] \quad (4.10)$$

ovvero il valor atteso ottenuto dalla densità di probabilità (4.6).

Uno stimatore molto diffuso in ambito Bayesiano è quello *Maximum a Posteriori* (MAP), definito come quello per cui, fissato il valore z del vettore dei dati, è massima la densità di probabilità a posteriori dei parametri:

$$\hat{p}_{MAP} = \underset{p}{\operatorname{argmax}} f_{(p|z)}(p|z) \quad (4.11)$$

Sfruttando la regola di Bayes, si verifica che trovare il vettore p che massimizza la (4.7) equivale, essendo $f_z(z)$ indipendente da p , a trovare il vettore p che ne massimizza il numeratore, per cui lo stimatore MAP è sempre definibile come

$$\hat{p}_{MAP} = \underset{p}{\operatorname{argmax}} f_{(z|p)}(z|p)f_p(p) \quad (4.12)$$

Delle funzioni che appaiono nella cifra di merito dell'equazione (4.11) la funzione $f_{z|p}(z|p)$ è legata alla densità di probabilità $f_v(v)$ dell'errore di misura v . Ad esempio nel caso di rumore bianco gaussiano a media nulla e con matrice di covarianza come descritta in (4.4), il vettore aleatorio z noto p è gaussiano con valore atteso $G(p)$ e matrice di covarianza data dall'equazione (4.4), per cui la densità di probabilità condizionata da p è:

$$f_{z|p}(z|p) = \frac{1}{[(2\pi)^N \det(\Sigma_v)]^{\frac{1}{2}}} \exp\left(-\frac{1}{2}[z - G(p)]^T \Sigma_v^{-1}[z - G(p)]\right) \quad (4.13)$$

La funzione $f_p(p)$ che compare nella funzione costo (4.12) è invece legata all'informazione a priori disponibile sul vettore p dei parametri incogniti e la sua formalizzazione risulta quindi decisiva per il calcolo della stima. Assumendo che il vettore dei parametri p sia estratto da una distribuzione gaussiana a media μ_p e varianza Σ_p si ha:

$$f_p(p) = \frac{1}{[(2\pi)^M \det(\Sigma_p)]^{\frac{1}{2}}} \exp\left(-\frac{1}{2}[p - \mu_p]^T \Sigma_p^{-1}[p - \mu_p]\right) \quad (4.14)$$

Poiché la funzione di p da massimizzare è il prodotto delle (4.13) e (4.14), componendo con il logaritmo e cambiando il segno, si ottiene che il problema (4.12) equivale in questo caso al problema

$$\hat{p}_{MAP} = \underset{p}{\operatorname{argmin}} \left\{ [z - G(p)]^T \Sigma_v^{-1}[z - G(p)] + [p - \mu_p]^T \Sigma_p^{-1}[p - \mu_p] \right\} \quad (4.15)$$

Anche nelle ipotesi di gaussianità la funzione costo nella (4.15) non è quadratica a causa della non linearità in p di $G(p)$ e per la sua soluzione si devono quindi utilizzare degli algoritmi di tipo iterativo.

È possibile ottenere la precisione delle stime valutando la matrice:

$$\text{cov}(\hat{p}) = \Sigma_{\tilde{p}} = E[\tilde{p}\tilde{p}^T] \quad (4.16)$$

Nel caso di misure statisticamente indipendenti ed errore gaussiano, lo stimatore Bayesiano ha come proprietà asintotica la seguente:

$$\text{cov}(\hat{p}) = [F(p)|_{p=\hat{p}}]^{-1} \quad (4.17)$$

con $F(p)$, matrice di informazione di Fisher, che per la stima Bayesiana, in caso di rumore bianco gaussiano a campioni scorrelati è pari a

$$[F(p)]|_{p=\hat{p}} = S^T \Sigma_v^{-1} S + \Sigma_p^{-1} \quad (4.18)$$

e S matrice di elementi

$$S_{ij} = \left. \frac{\partial g(t_i, p)}{\partial p_j} \right|_{p=\hat{p}} \quad (4.19)$$

Risultati in forma esplicita esistono solo per il caso gaussiano. Negli altri casi va fatto ricorso a tecniche numeriche.

Si osservi che la funzione costo (4.15) consiste di due addendi i quali pesano rispettivamente l'aderenza ai dati e la vicinanza del vettore p all'informazione a priori su di esso disponibile. Più è elevata Σ_p (varianza a priori grande), meno è significativa l'informazione a priori. Al limite, per $\Sigma_p \rightarrow \infty$ lo stimatore si affida nella determinazione di \hat{p}_{MAP} alla sola informazione a posteriori, come nello stimatore ai minimi quadrati [2].

4.3 Implementazione

4.3.1 Informazione a posteriori

Per l'informazione a posteriori si è ipotizzato che l'errore di misura fosse rumore bianco gaussiano a media nulla con CV costante pari al 2%. Essendo

$$CV_k = \frac{\sigma_k}{z_k} \quad (4.20)$$

è ora possibile definire il coefficiente σ e la matrice B della (4.4). L'equazione (4.4) risulta ora esprimibile come:

$$\Sigma_v = \sigma^2 B = CV^2 \cdot \begin{bmatrix} z_1^2 & & & \\ & z_2^2 & & \\ & & \ddots & \\ & & & z_N^2 \end{bmatrix} \quad (4.21)$$

4.3.2 Informazione a priori

Attraverso lo studio con triplo tracciante condotto sui soggetti del database 1 é stato identificato il vettore dei parametri $\{p_1 p_2 \dots p_M\}$ per ciascuno dei 204 soggetti coinvolti. Da queste informazioni é stato quindi possibile calcolare la distribuzione statistica congiunta di p , che sar  impiegato come *prior* per la stima Bayesiana. Pi  precisamente, questa informazione a priori é costituita dal vettore delle medie μ_p e dalla matrice di covarianza Σ_p rispettivamente di elementi

$$\mu_{p,i} = \frac{1}{H} \sum_{h=1}^H p_i^h \quad i = 1, 2, \dots, M \quad (4.22)$$

$$\sigma_{ij}^2 = \frac{1}{H} \sum_{h=1}^H (p_i^h - \mu_{p,i})(p_j^h - \mu_{p,j}) \quad i, j = 1, 2, \dots, M \quad (4.23)$$

dove $\mu_{p,i}$ é l'i-esima componente del vettore μ_p , p_i^h é l'i-esima componente del vettore p associato all'h-esimo soggetto, H é il numero totale di soggetti e M il numero totale di parametri.

Per ogni singolo database sono stati apportati alcuni specifici adattamenti del prior. Innanzitutto bisogna considerare che il vettore p , cos  come   stato stimato per il modello del soggetto sano, contiene 26 parametri, mentre l'identificazione che si andr  ad effettuare interessa solo i parametri del sottomodello relativo alla cinetica del glucosio, quindi per le identificazioni sui soggetti sani (database 1 e 2) ne verr  impiegato un sottoinsieme di 16 elementi: $\{k_{abs} k_{max} k_{min} b d k_i k_{p2} k_{p3} k_{p4} V_g V_{mx} K_{m0} K_2 p_{2U} EGP_b\}$. Per le identificazioni sui soggetti diabetici (database 3), invece, sar  impiegato un sottoinsieme di 15 elementi: il parametro k_{p4} non   incluso nell'identificazione essendo riferito all'effetto dell'insulina portale sulla produzione endogena di glucosio (si confrontino le equazioni 3.6 e 3.6bis). Il vettore dei parametri   quindi costituito da $\{k_{abs} k_{max} k_{min} b d k_i k_{p2} k_{p3} V_g V_{mx} K_{m0} K_2 p_{2U} EGP_b\}$. Un'altra modifica specifica per il database 3   quella introdotta per simulare la maggiore produzione endogena basale tipica dei soggetti con diabete di tipo 1: la media del parametro EGP_b   stata aumentata di 0,7 mg/kg/min.

Per garantire la positività dei parametri è stata ipotizzata una distribuzione lognormale:

$$s = \log(p) \quad (4.24)$$

4.3.3 Impiego dell'insulina come funzione forzante

Pur avendo a disposizione l'informazione a priori sulla distribuzione statistica dei parametri e quella a posteriori sulle concentrazioni di glucosio ed insulina nel plasma, il modello risulta piuttosto complesso da identificare. Si è scelto quindi di impiegare la concentrazione di insulina come forzante, ovvero di considerarla come un ingresso noto e senza errore.

4.3.4 Minimizzazione della funzione obiettivo

Avendo scelto di considerare la forma logaritmica dei parametri, il problema di identificazione risulta esprimibile come:

$$\hat{p} = \exp(\hat{s}) \quad (4.25)$$

dove

$$\hat{s} = \underset{s}{\operatorname{argmin}} \left\{ [y - G(\exp(s))]^T \Sigma_v^{-1} [y - G(\exp(s))] + [\mu_s - s]^T \Sigma_s^{-1} [\mu_s - s] \right\} \quad (4.26)$$

y è il vettore delle concentrazioni di glucosio misurate nel plasma, μ_s e Σ_s sono rispettivamente il vettore della media e la matrice di covarianza calcolate per il logaritmo dei parametri.

Dal momento che il modello non è lineare, per la soluzione del problema si fa ricorso a tecniche numeriche iterative. Una prima strategia è stata quella di utilizzare la function di Matlab *lsqnonlin.m*, ma si è constatato che per questo tipo di problema la stima finale non riusciva ad allontanarsi dal prior e di conseguenza i fit risultanti non erano accettabili. È stata quindi inserita a monte di *lsqnonlin.m* una minimizzazione preliminare operata dalla function di Matlab *fminsearch.m*, il risultato di questa operazione veniva poi passato ad *lsqnonlin.m* come stima iniziale. La differenza principale tra queste due function è nell'algoritmo che sfruttano per la ricerca del minimo: *lsqnonlin.m* utilizza il metodo del gradiente, mentre *fminsearch.m* impiega il metodo del semplice, un metodo diretto che non fa uso di gradienti numerici o analitici. L'associazione di queste due minimizzazioni ha permesso di migliorare le stime ed ottenere dei fit migliori.

Nonostante la maggiore efficacia nella minimizzazione della funzione obiettivo, la function *fminsearch.m* presenta lo svantaggio di non consentire l'imposizione di vincoli al range dei parametri identificabili e questo comporterebbe la violazione di vincoli fisiologici ai quali i parametri del modello sono soggetti:

$$k_{max} > k_{min} \quad (4.27)$$

e

$$1 < b < d \quad (4.28)$$

Per ovviare a questo inconveniente è stata sfruttato la logaritmicità del prior che garantisce di avere risultati sempre positivi e sono stati sostituiti i parametri con la loro distanza dal vincolo imposto.

Per l'imposizione del vincolo (4.27), il parametro è stata adottata la seguente sostituzione:

$$k_{max} \leftarrow diff_{Kk} = k_{max} - k_{min} \quad (4.29)$$

in modo da poter essere ricalcolato, al termine dell'identificazione come

$$k_{max} = k_{min} + diff_{Kk} \quad (4.30)$$

si noti che se il parametro k_{diff} fosse stato inserito in sostituzione di k_{min} , al momento del ricalcolo l'operazione $k_{min} = k_{max} - k_{diff}$ avrebbe potuto restituire un valore negativo.

Il vincolo (4.28) è stato imposto grazie alle sostituzioni

$$b \leftarrow diff_{1b} = 1 - b \quad (4.31)$$

$$d \leftarrow diff_{bd} = b - d \quad (4.32)$$

i parametri b e d saranno ricalcolati come

$$b = 1 - diff_{1b} \quad (4.33)$$

e

$$d = b - diff_{bd} \quad (4.34)$$

Queste sostituzioni sono state applicate a ciascun vettore dei parametri stimato per i soggetti del database 1. Di ogni vettore è stato poi calcolato il logaritmo, e su questo nuovo set sono stati calcolati vettore delle medie e matrice di covarianza come descritto dalle equazioni (4.22) e (4.23).

Si è constatato che nelle identificazioni condotte sui database costituiti da soggetti reali (database 1 e 3) i parametri k_{abs} , k_i , k_{p2} , k_{p3} , V_{mx} , k_1 , p_{2u} , EGP_b tendevano ad allontanarsi

troppo dalla stima iniziale. In queste due situazioni si è scelto di fornire un prior nel quale le varianze dei parametri sono state ridotte del 50%.

Il vettore dei parametri stimati restituito da *fminsearch.m*, $\hat{s}_{fminsearch}$, viene impiegato per il calcolo dei vincoli da imporre a *lsqnonlin.m* nella minimizzazione successiva:

$$\begin{aligned} s_{up} &= \hat{s}_{fminsearch} + \log(10) \\ s_{down} &= \hat{s}_{fminsearch} - \log(10) \end{aligned} \quad (4.35)$$

s_{up} e s_{down} sono rispettivamente il limite superiore ed inferiore.

4.3.5 Operazioni conclusive

La function *lsqnonlin.m* restituisce il vettore dei parametri \hat{s} e la matrice dello Jacobiano della funzione obiettivo minimizzata J. A questo punto è necessario convertire le stime dalla forma logaritmica a quella naturale e ricalcolare i parametri sostituiti con i parametri differenza come anticipato nelle formule (4.30) (4.33) (4.34).

Per il calcolo dei coefficienti di variazione per prima cosa è stata ricavata la matrice di covarianza delle stime come

$$\Sigma_{\hat{s}} = (J^T J + \Sigma_p^{-1})^{-1} \quad (4.36)$$

La deviazione standard $SD_{\hat{s},i}$ di ciascuno dei parametri stimati \hat{s}_i stimati è

$$SD_{\hat{s},i} = \sqrt{\sigma_{\hat{s},ii}^2} \quad i = 1, 2, \dots, M \quad (4.37)$$

dove $\sigma_{\hat{s},ii}^2$ è l'i-esimo elemento che si trova lungo la diagonale della matrice $\Sigma_{\hat{s}}$.

Siccome

$$SD_{\hat{p},i} = \frac{dp}{ds} SD_{\hat{s},i} = \exp(\hat{s}_i) SD_{\hat{s},i} \quad i = 1, 2, \dots, M \quad (4.38)$$

e

$$CV_{\hat{p},i} = \frac{SD_{\hat{p},i}}{\hat{p}_i} \quad i = 1, 2, \dots, M \quad (4.39)$$

il coefficiente di variazione per i parametri stimati \hat{p}_i può essere calcolato come

$$CV_{\hat{p},i} = \frac{\exp(\hat{s}_i) SD_{\hat{s},i}}{\exp(\hat{s}_i)} = SD_{\hat{s},i} \quad i = 1, 2, \dots, M \quad (4.40)$$

Per quello che riguarda i coefficienti di variazione dei parametri k_{max} , b e d, questi sono stati calcolati sfruttando la proprietà secondo la quale

$$\text{var}(\hat{p}_i - \hat{p}_j) = \text{var}(\hat{p}_i) + \text{var}(\hat{p}_j) + 2\text{cov}(\hat{p}_i, \hat{p}_j) \quad (4.41)$$

Per i tre suddetti parametri abbiamo quindi

$$\begin{aligned} \text{var}(\widehat{k_{max}}) &= \text{var}(\widehat{k_{min}} - \widehat{diff_{Kk}}) \\ &= \text{var}(\widehat{k_{min}}) + \text{var}(\widehat{diff_{Kk}}) + 2\text{cov}(\widehat{k_{min}}, \widehat{diff_{Kk}}) \end{aligned} \quad (4.42)$$

$$\begin{aligned} \text{var}(\hat{b}) &= \text{var}(1 - \widehat{diff_{1b}}) = \text{var}(1) + \text{var}(\widehat{diff_{1b}}) + 2\text{cov}(1, \widehat{diff_{1b}}) \\ &= \text{var}(\widehat{diff_{1b}}) \end{aligned} \quad (4.43)$$

$$\text{var}(\hat{d}) = \text{var}(\hat{b} - \widehat{diff_{bd}}) = \text{var}(\hat{b}) + \text{var}(\widehat{diff_{bd}}) + 2\text{cov}(\hat{b}, \widehat{diff_{bd}}) \quad (4.44)$$

dove le varianze e le covarianze sono ricavabili rispettivamente come

$$\text{var}(\hat{p}_i) = \hat{p}_i^2 \sigma_{\hat{s},ii}^2 \quad (4.45)$$

$$\text{cov}(\hat{p}_i, \hat{p}_j) = \hat{p}_i \hat{p}_j \sigma_{\hat{s},ij}^2 \quad (4.46)$$

i termini del tipo $\sigma_{\hat{s},ij}^2$ sono gli elementi in posizione (i,j) della matrice $\Sigma_{\hat{s}}$. Una volta calcolate le varianze (4.42) (4.43) e (4.44), i coefficienti di variazione sono ricavabili analogamente a quanto riportato nelle formule (4.37) e (4.39).

Capitolo 5

Risultati

5.1 Identificazioni sui soggetti virtuali

5.1.1 Identificazione sul pasto singolo

Le simulazioni dei soggetti virtuali avevano lo scopo di fornire un termine di paragone privo di incertezze con il quale valutare quanto la tecnica Bayesiana fosse efficace nell'identificazione dei parametri del modello. Sono quindi stati confrontati i parametri virtuali con quelli stimati e i profili temporali dei principali flussi di glucosio simulati a partire dai due diversi set di parametri.

In tabella (5.1) sono confrontate medie e deviazioni standard dei parametri virtuali dei parametri stimati con la tecnica Bayesiana, i coefficienti di correlazione e il p-value del T-test per dati appaiati calcolato per ogni parametro. Le figure (5.1), (5.2), (5.3) e (5.4) mostrano gli stessi risultati riportati in forma grafica. Si può constatare che medie e deviazioni standard delle due serie di parametri sono piuttosto simili; b , k_{p3} e V_{mx} sono i parametri che correlano meglio, con correlazioni significative ($p\text{-value} < 0,05$), mentre per k_{abs} , k_{max} , k_{m0} , k_i , e p_{2u} i risultati del T-test confermano che le medie sono diverse. La tabella (5.2) e le figure (5.5) e (5.6) riportano in forma logaritmica rispettivamente i contenuti della tabella (5.1) e delle figure (5.3) e (5.4). I parametri con media diversa secondo il T-test sono k_{max} , d , k_{p2} , k_{m0} e $k_{1..}$. Vengono confermate le buone correlazioni di k_{p3} e V_{mx} . Per altri parametri si notano dei miglioramenti nelle correlazioni, pur sempre basse e poco significative: questi parametri sono k_{min} , k_{p2} , k_{m0} , k_2 , p_{2u} ed EGP_b .

In figura (5.7) sono mostrati gli andamenti (media \pm SD) delle concentrazioni di glucosio e dei flussi metabolici $R_a(t)$, $EGP(t)$ e $R_d(t)$ simulati a partire dal modello del soggetto virtuale e dal modello identificato. Il risultato migliore si ha per il fit del glucosio plasmatico, mentre si nota che la produzione epatica è sistematicamente sottostimata. Dal momento che il confronto per ispezione visiva dei profili medi non permette di capire a fondo quanto efficacemente siano questi stati riprodotti per ogni singolo soggetto (eventuali sovrastime e sottostime risultano compensate), è stato quindi calcolato per ogni coppia di flussi o concentrazioni e per ciascun soggetto un indice percentuale così definito:

$$FIT_{y,i} = \left(1 - \frac{\|y_{virtuale,i} - y_{bayesiano,i}\|}{\|y_{virtuale,i} - \bar{y}_{virtuale,i}\|} \right) \times 100 \quad i = 1, 2, \dots, H \quad (5.1)$$

dove y rappresenta la variabile considerata, che può essere la glicemia $g(t)$, la velocità di comparsa $R_a(t)$, la produzione epatica $EGP(t)$ o l'utilizzazione $U(t)$. L'indice i fa riferimento al soggetto i -esimo, H è il numero totale di soggetti. I pedici virtuale e Bayesiano indicano il set di parametri forniti al modello per la simulazione della variabile considerata. Per ciascuna variabile sono state calcolate le medie degli indici sugli H soggetti. Per gli indici di fit è stato inoltre calcolato l'errore standard come

$$SE = \frac{SD}{\sqrt{N}} \quad (5.2)$$

ovvero il rapporto tra la deviazione standard dell'indice di fit e la radice del numero N di soggetti esaminati.

Gli indici medi di fit e gli errori standard sono mostrati nella tabella (5.3) e confermano che i fit migliori si hanno per la glicemia, mentre quelli per l'EGP sono peggiori di quello che potrebbe sembrare dalla sola analisi delle concentrazioni medie.

5.1.2 Giornata tipo

In figura (5.8) sono riportati i grafici di $g(t)$, $R_a(t)$, $EGP(t)$ e $R_d(t)$ simulati durante una giornata tipo (45 g di glucosio a colazione, 75 g a pranzo 85 g a cena) a partire dai parametri virtuali e da quelli stimati con il metodo Bayesiano. La tabella (5.4) riporta gli indici medi di fit e gli errori standard medi calcolati rispettivamente come riportato nelle formule (5.1) e (5.2).

Dai grafici e dagli indici di fit risultano nuovamente evidenti le imprecisioni nella stima dei parametri che regolano la produzione epatica di glucosio, ciononostante la glicemia risulta ben riprodotta anche con questo diverso protocollo.

5.2 *Identificazioni sui soggetti sani*

Rispetto al caso dei soggetti virtuali, i risultati mostrati nella tabella (5.5) e nelle figure (5.9), (5.10), (5.11) e (5.12) mostrano maggiori differenze tra i parametri stimati con la tecnica Bayesiana e quelli stimati con la tecnica del triple tracer: secondo il t-test hanno media diversa i parametri k_{\max} , k_{p3} , k_{m0} , k_2 e k_1 . Le correlazioni sono peggiorate (la migliore si ha per V_{\max} , che comunque supera di poco 0,6) ed anche la loro significatività: i parametri con $p\text{-value} > 0,05$ sono k_{abs} , k_{\max} , k_{\min} , k_i , k_{p2} , k_{p4} , V_g , p_{2u} . La tabella (5.6) e le figure (5.13) e (5.14) riportano in forma logaritmica rispettivamente i contenuti della tabella (5.5) e delle figure (5.11) e (5.12). È possibile notare dei leggeri miglioramenti nelle correlazioni dei parametri k_{abs} , k_{\max} , k_{\min} , k_{p2} , k_{p3} , p_{2u} ed EGP_b queste sono comunque basse e poco significative.

Osservando le concentrazioni (media \pm SD) dei flussi $g(t)$, $R_a(t)$, $EGP(t)$ e $R_d(t)$ mostrate in figura (5.15) si può constatare come in media la tecnica Bayesiana permetta una buona riproduzione della glicemia, migliore rispetto a quello che si ottiene simulando il modello a partire dai parametri stimati con la tecnica triple tracer. Per quello che riguarda la riproduzione dei tre flussi invece, il metodo Bayesiano mostra nuovamente di essere meno efficace e ha prestazioni peggiori rispetto alla tecnica triple tracer.

Gli indici di fit sono stati calcolati per ciascun soggetto i come

$$FIT_{y,i} = \left(1 - \frac{\|y_{TT,i} - y_{\text{bayesiano},i}\|}{\|y_{TT,i} - \bar{y}_{TT,i}\|} \right) \times 100 \quad i = 1, 2, \dots, H \quad (5.3)$$

dove H è il numero totale di soggetti, y rappresenta una delle concentrazioni $g(t)$, $R_a(t)$, $EGP(t)$ e $R_d(t)$, i pedici TT e Bayesiano indicano se la grandezza in esame è frutto della simulazione basata sui parametri ricavati con la tecnica triple tracer o Bayesiana rispettivamente. Le medie sui 204 soggetti per ciascuna grandezza sono riportate nella tabella (5.7). Questi indici confermano la bontà dei fit sulla glicemia e fanno meglio risaltare le difficoltà nella riproduzione dell'EGP. R_a e R_d vengono riprodotte abbastanza bene.

5.3 *Identificazioni sui soggetti diabetici di tipo 1*

5.3.1 *Identificazione sulla colazione*

In tabella (5.8) sono mostrate le stime (medie, SD e CV) dei parametri identificati sui

soggetti diabetici di tipo 1. Le figure (5.16), (5.17) e (5.18) mostrano i grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati su colazioni di giorni diversi, si nota molta variabilità intra-individuale. In figura (5.19) è mostrato il confronto tra l'andamento medio della glicemia misurata e quello della glicemia simulata a partire dai parametri stimati con la tecnica Bayesiana, mentre la tabella (5.7) riporta la media e l'errore standard sugli indici di fit calcolati come

$$FIT_{y,i} = \left(1 - \frac{\| y_{dati,i} - y_{bayesiano,i} \|}{\| y_{dati,i} - \bar{y}_{dati,i} \|} \right) \times 100 \quad i = 1, 2, \dots, H \quad (5.4)$$

Sia per ispezione visiva del fit medio, sia dall'indice medio di fit si nota che il profilo glicemico risulta ben riprodotto. La figura (5.20) mostra alcuni esempi di fit sulle colazioni: basandosi sugli indici di fit si è scelto di presentare il caso migliore, il mediano e il peggiore.

5.3.2 Confronto sulla giornata completa

I profili della glicemia misurata e riprodotta durante i pasti successivi, sono mostrati in figura (5.21) mentre in tabella (5.9) si trovano la media e l'errore standard degli indici di fit. Possiamo constatare come per i pasti successivi alla colazione la concentrazione di glucosio sia sistematicamente sovrastimata, mentre durante la notte la glicemia viene sottostimata. Da questo risultato si deduce che i parametri del modello variano nel tempo.

parametro	Unità di misura	virtuali		stimati		correlazione		T TEST
		media	SD	media	SD	Coeff.	p-value	
k_{abs}	min^{-1}	0,179343	0,11781	0,143875	0,089558	0,319942	0,001175	0,00485
k_{max}	min^{-1}	0,038447	0,016517	0,030609	0,008623	0,384446	7,85E-05	1,75E-06
k_{min}	min^{-1}	0,009523	0,003171	0,0101	0,004421	0,496628	1,48E-07	0,147662
b	adimensionale	0,773006	0,106023	0,780799	0,070269	0,699969	5,35E-16	0,306563
d	adimensionale	0,164233	0,055636	0,182716	0,054507	0,583719	1,84E-10	0,000383
k_i	min^{-1}	0,010635	0,004806	0,011318	0,004526	0,478383	4,8E-07	0,15563
k_{p2}	min^{-1}	0,005339	0,003143	0,006123	0,004774	0,137733	ns	0,145259
k_{p3}	mg/kg/min/(pmol/l)	0,011501	0,008303	0,011907	0,00786	0,811246	1,42E-24	0,417019
k_{p4}	mg/kg/min/(pmol/kg)	0,041665	0,02604	0,037907	0,01282	-0,02669	ns	0,203089
V_g	dl/kg	1,819295	0,135785	1,821915	0,074506	0,261543	0,008577	0,848448
V_{mx}	mg/kg/min/(pmol/l)	0,065595	0,027811	0,063711	0,023761	0,716313	5,38E-17	0,343278
K_{m0}	mg/kg	242,8299	15,38123	231,0641	9,90896	0,181751	ns	2,56E-10
k_2	min^{-1}	0,112838	0,050142	0,114586	0,051337	0,43342	6,66E-06	0,746935
k_1	min^{-1}	0,072946	0,023378	0,066457	0,013554	0,658296	9,85E-14	0,000397
p_{2u}	min^{-1}	0,042502	0,016706	0,0393	0,010829	0,463945	1,16E-06	0,036674
EGP_b	mg/kg/min	1,932193	0,371435	1,899787	0,227039	0,186137	ns	0,417057

Tabella 5. 1: Media e SD dei valori parametri dei 100 soggetti virtuali generati, media e SD dei valori dei parametri stimati, coefficiente di correlazione e p-value. In verde i coefficienti di correlazione migliori, in rosso p-value del t-test dei parametri che risultano avere media diversa.

parametro	Unità di misura (scala logaritmica)	virtuali		stimati		Correlazione		T TEST
		media	SD	media	SD	Coeff.	p-value	
k_{abs}	$\log(\text{min}^{-1})$	-2,00692	0,861094	-2,05048	0,441181	0,294296	0,002958	0,607028
k_{max}	$\log(\text{min}^{-1})$	-3,33652	0,388103	-3,52532	0,281235	0,497681	1,38E-07	4,1E-07
k_{min}	$\log(\text{min}^{-1})$	-4,70491	0,316148	-4,66445	0,354575	0,583929	1,81E-10	0,19174
b	adimensionale	-0,26721	0,14212	-0,25157	0,092142	0,679873	7,37E-15	0,136938
d	adimensionale	-1,86362	0,342611	-1,76552	0,448306	0,510739	5,67E-08	0,016409
k_i	$\log(\text{min}^{-1})$	-4,64529	0,460954	-4,56037	0,403665	0,433852	6,5E-06	0,069362
k_{p2}	$\log(\text{min}^{-1})$	-5,38096	0,549099	-5,24422	0,509753	0,18494	ns	0,045987
k_{p3}	$\log(\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/l}))$	-4,66238	0,626138	-4,59444	0,562585	0,811942	1,21E-24	0,068939
k_{p4}	$\log(\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/kg}))$	-3,37502	0,65605	-3,33182	0,358046	-0,06311	ns	0,574469
V_g	$\log(\text{dl/kg})$	0,595651	0,075494	0,599042	0,041585	0,257941	0,00957	0,657346
V_{mx}	$\log(\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/l}))$	-2,81214	0,430429	-2,81222	0,341104	0,707489	1,9E-16	0,99802
K_{m0}	$\log(\text{mg/kg})$	5,490423	0,062203	5,441784	0,042913	0,193298	ns	1,82E-10
k_2	$\log(\text{min}^{-1})$	-2,28288	0,46243	-2,25346	0,417584	0,55185	2,66E-09	0,483717
k_1	$\log(\text{min}^{-1})$	-2,66283	0,294753	-2,73172	0,204322	0,635907	1,17E-12	0,003214
p_{2u}	$\log(\text{min}^{-1})$	-3,23256	0,391452	-3,27242	0,269196	0,508881	6,44E-08	0,249589
EGP_b	$\log(\text{mg/kg/min})$	0,640322	0,192995	0,634987	0,115989	0,231243	0,020622	0,791095

Tabella 5. 2: Scala logaritmica. Media e SD dei valori parametri dei 100 soggetti virtuali generati, media e SD dei valori dei parametri stimati, coefficiente di correlazione e p-value. In verde i coefficienti di correlazione migliori, in rosso i p-value del t-test dei parametri che risultano avere media diversa.

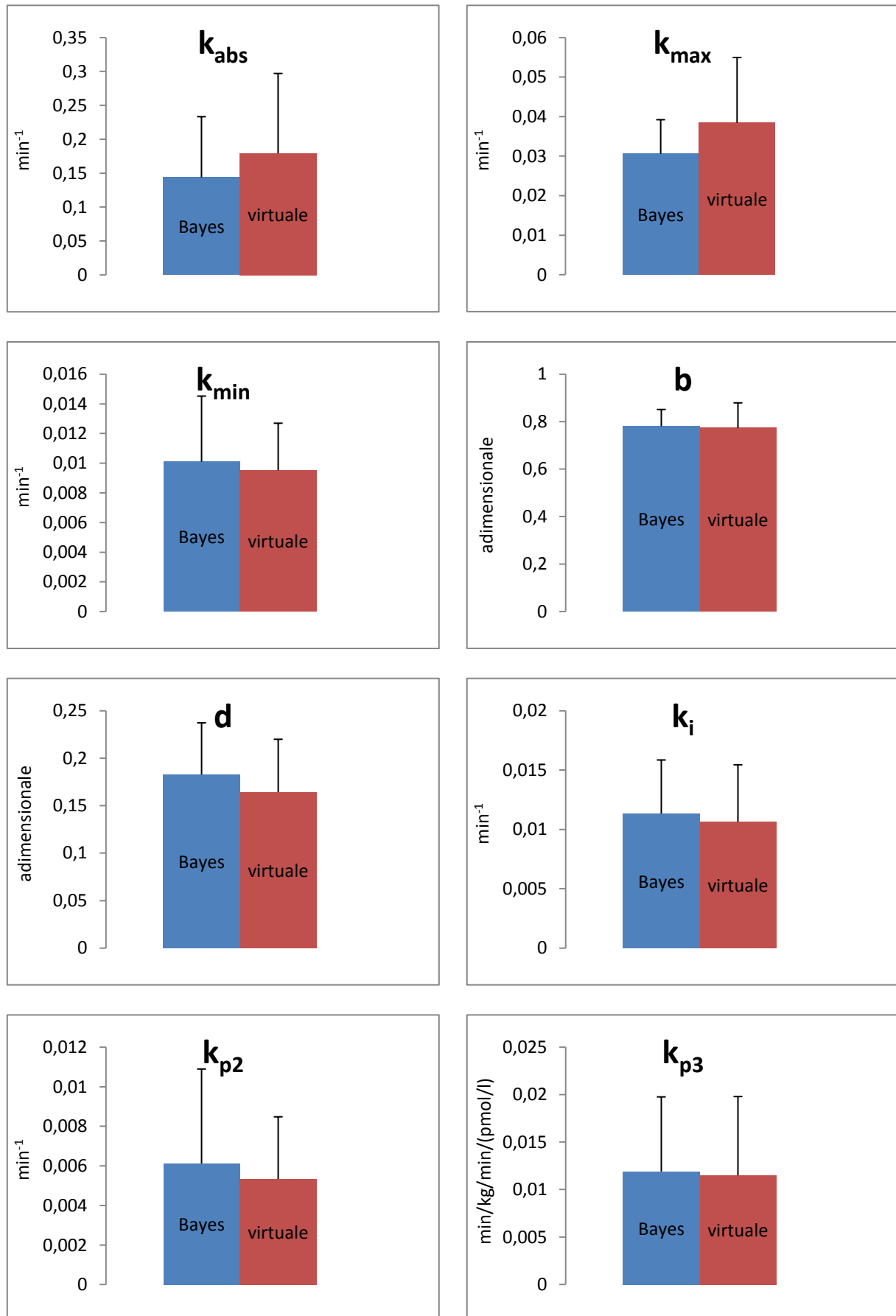


Figura 5.1: Confronto tra i parametri (media + SD) stimati con il metodo Bayesiano (in blu) e quelli dei soggetti virtuali (in rosso)

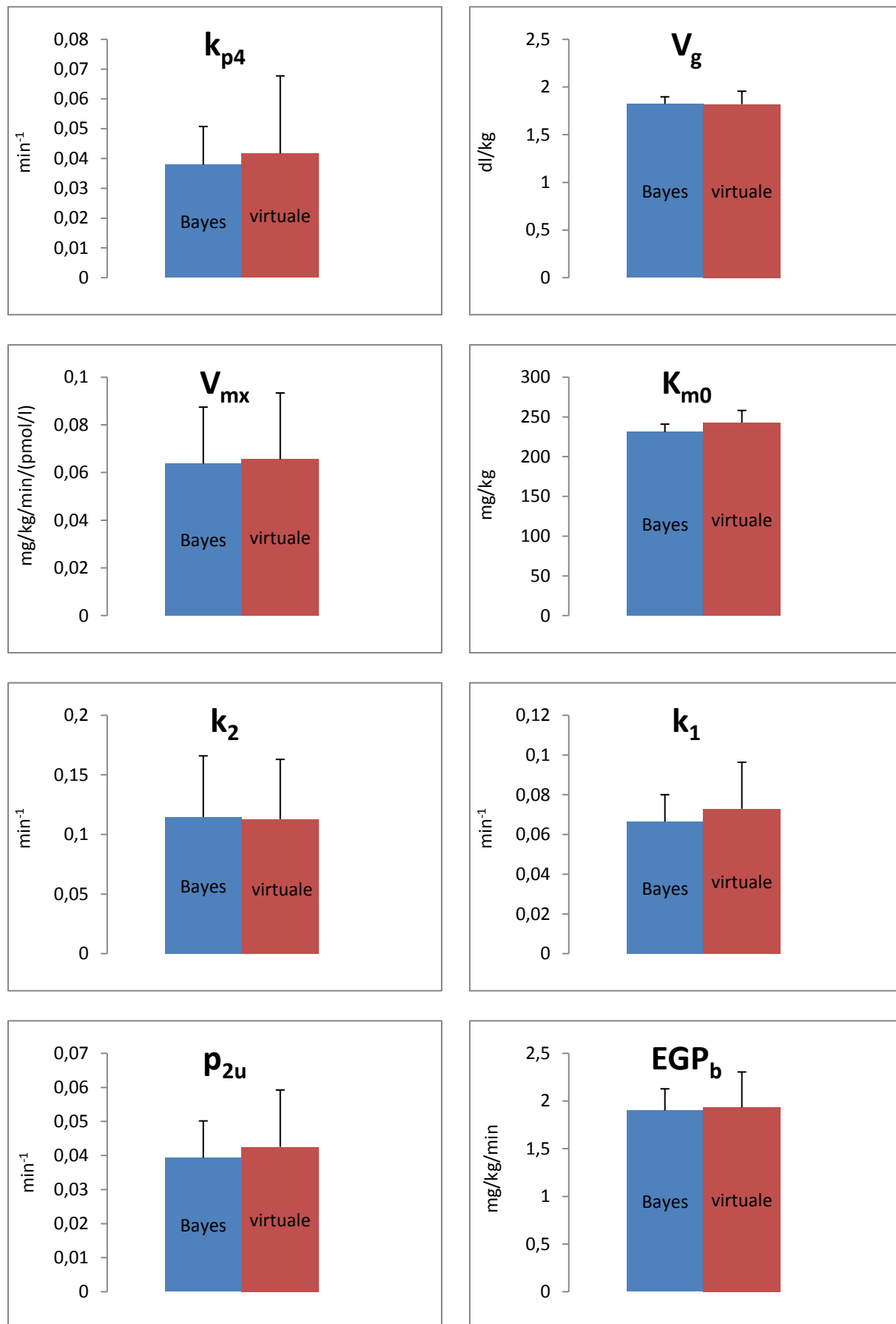


Figura 5.2: Confronto tra i parametri (media + SD) stimati con il metodo Bayesiano (in blu) e quelli dei soggetti virtuali (in rosso)

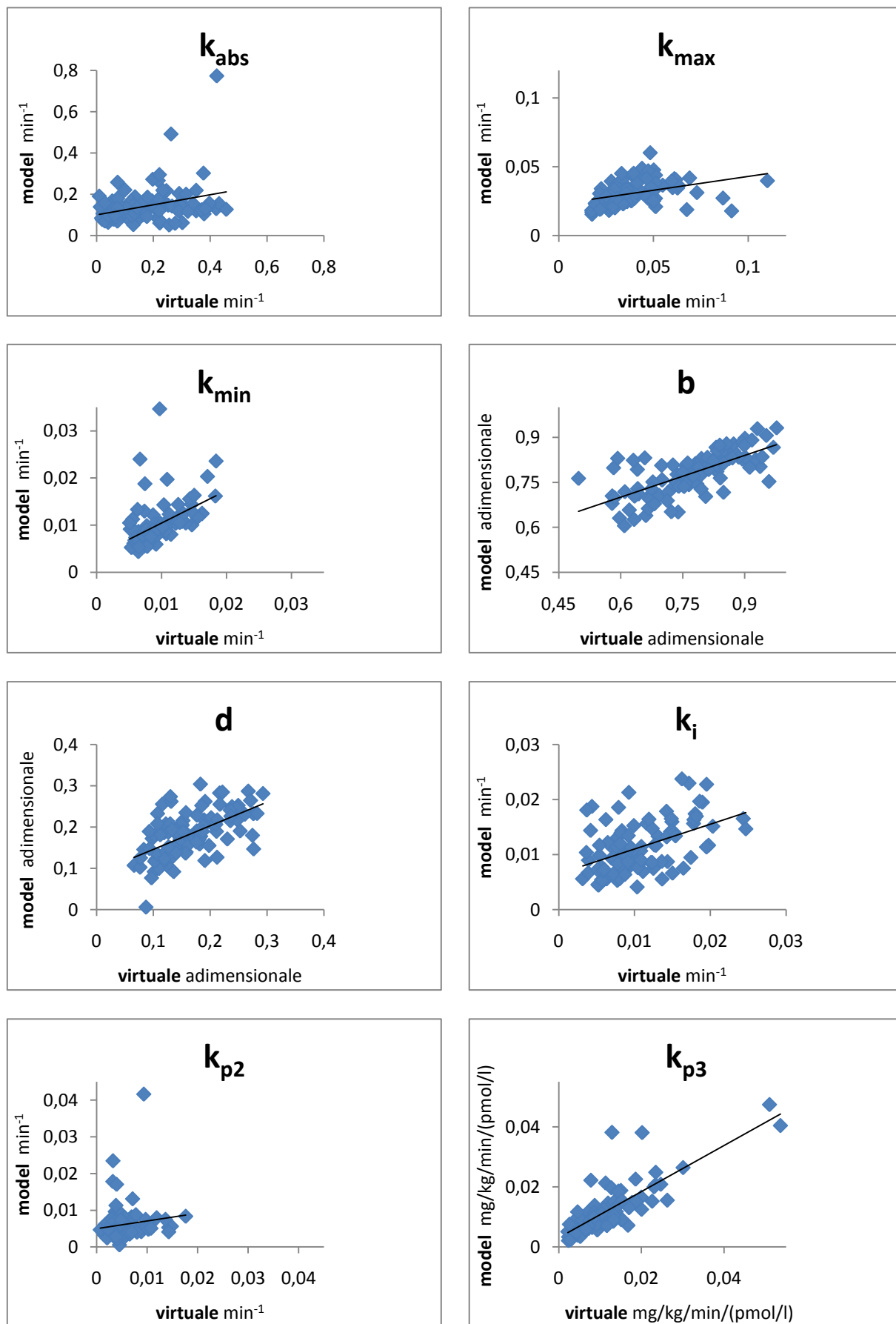


Figura 5.3: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli dei soggetti virtuali.

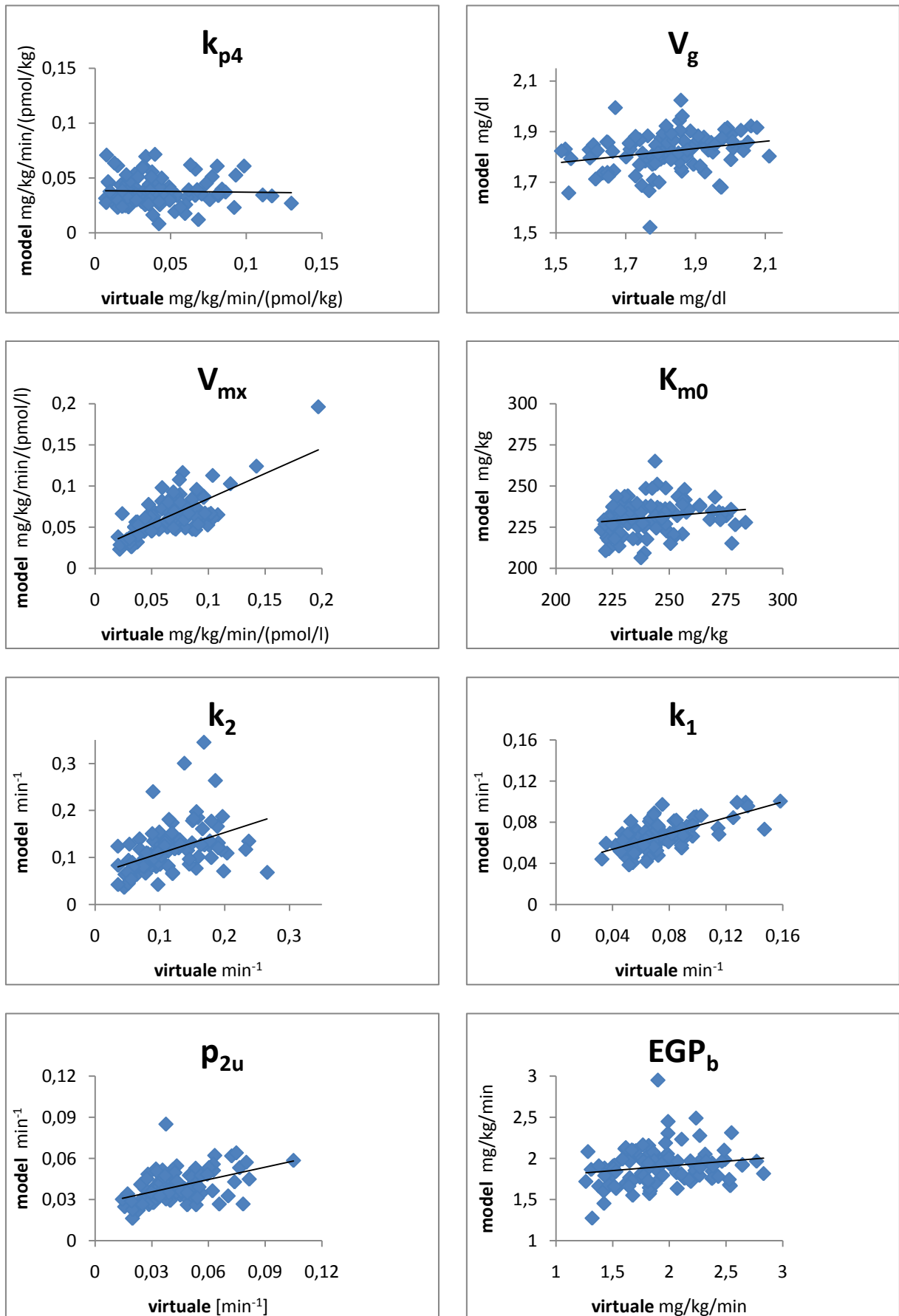


Figura 5.4: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli dei soggetti virtuali.

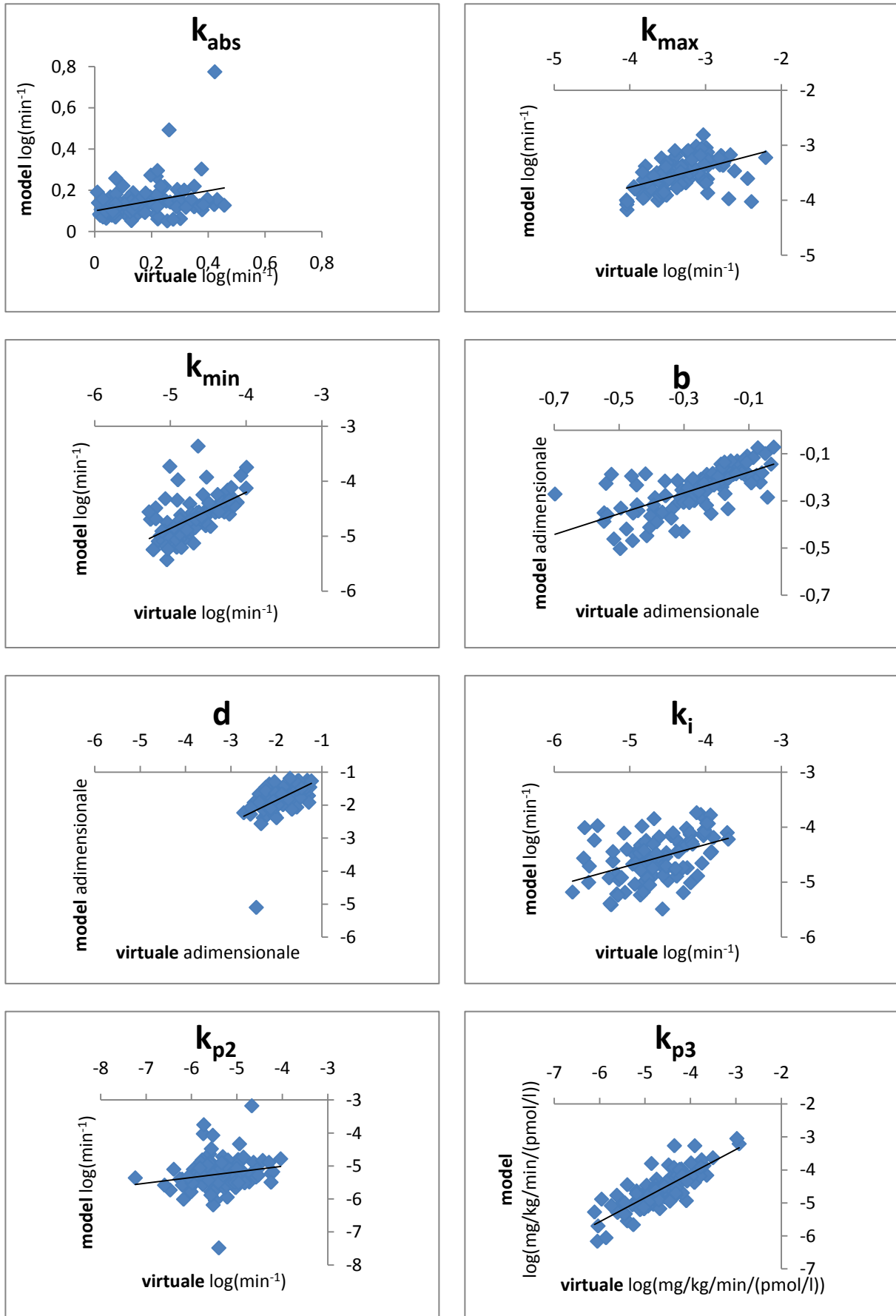


Figura 5.5: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli dei soggetti virtuali, in scala logaritmica.

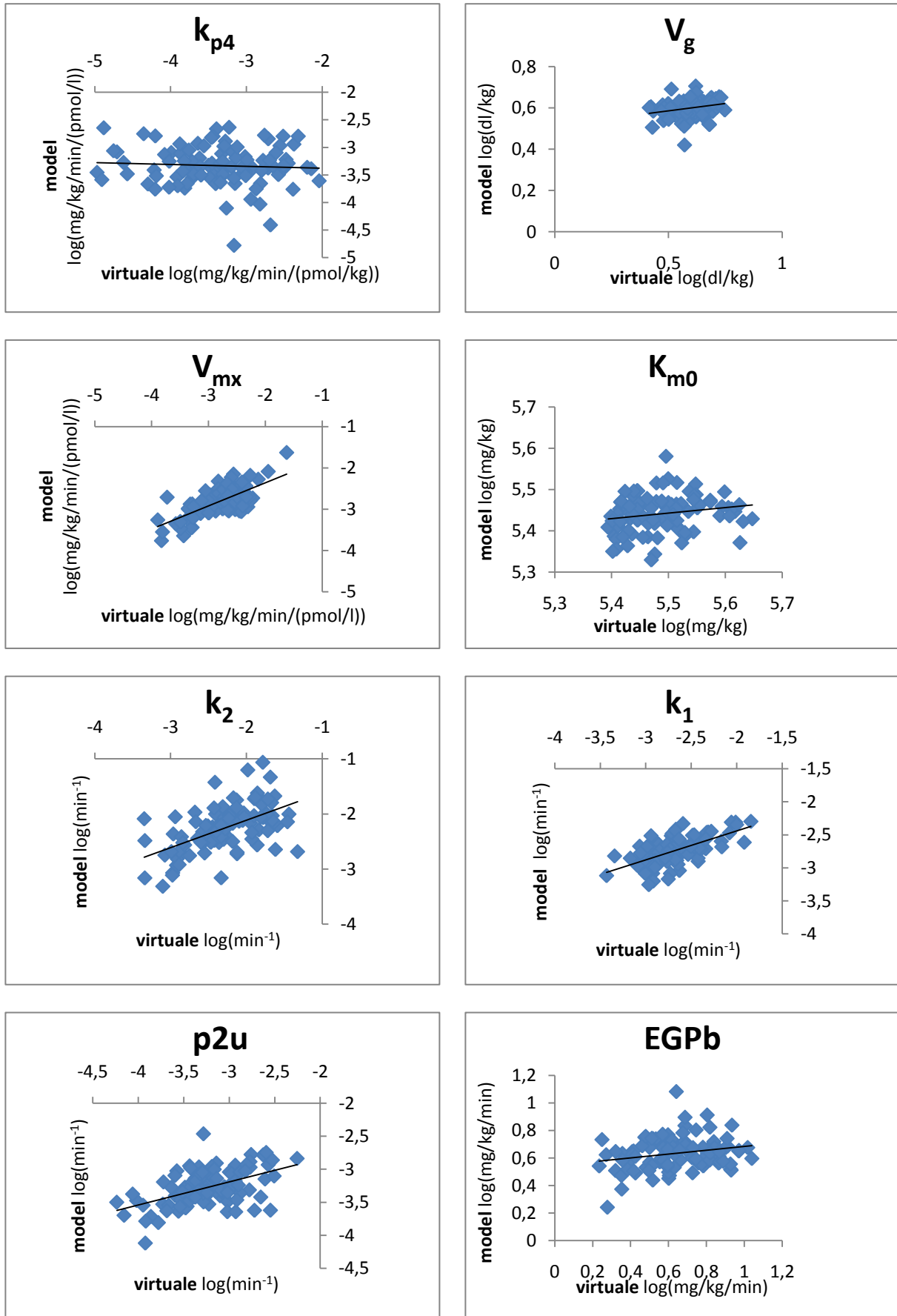


Figura 5.6: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli dei soggetti virtuali, in scala logaritmica.

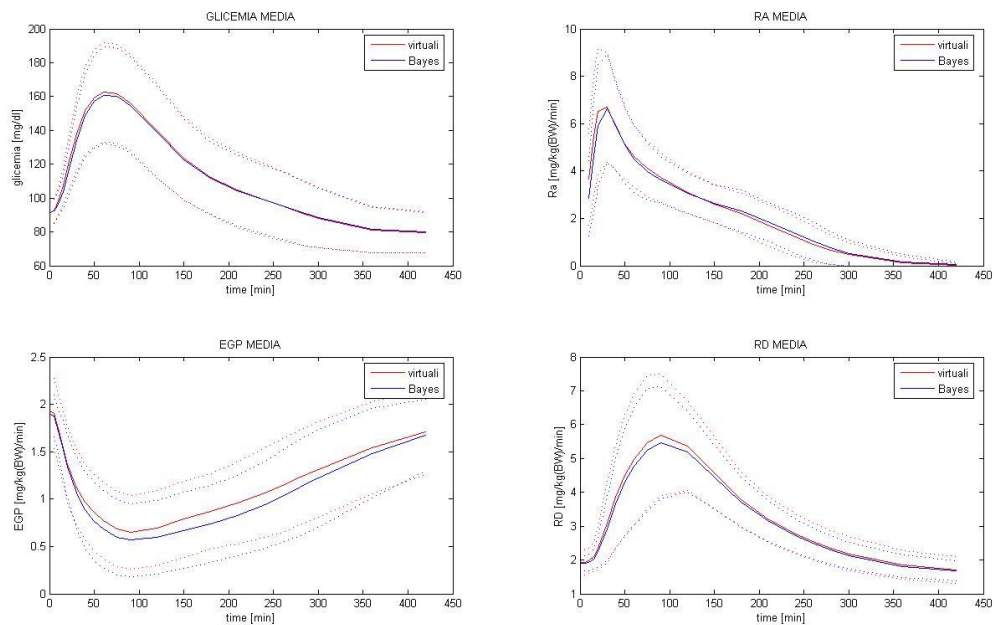


Figura 5.7: Andamenti (media \pm SD) delle concentrazioni e dei principali flussi di glucosio. Partendo dall'alto abbiamo la glicemia (a sinistra), la velocità di comparsa del glucosio nel plasma (a destra), nei riquadri sotto abbiamo la produzione epatica di glucosio (a sinistra) e l'utilizzazione di glucosio (destra). Quelli in rosso sono gli andamenti riprodotti a partire dai parametri dei soggetti virtuali, quelli in blu sono stati simulati impiegando nel modello i parametri stimati con tecnica Bayesiana.

Concentrazione	Valore medio dell'indice di fit	SE
Glicemia $g(t)$	88%	0,63%
Velocità di comparsa $R_a(t)$	74%	1,31%
Produzione epatica $EGP(t)$	24%	6,50%
Utilizzazione $R_d(t)$	64%	2,13%

Tabella 5.3: Indici di fit per la glicemia, la velocità di comparsa di glucosio nel plasma, la produzione epatica di glucosio e l'utilizzazione di glucosio.

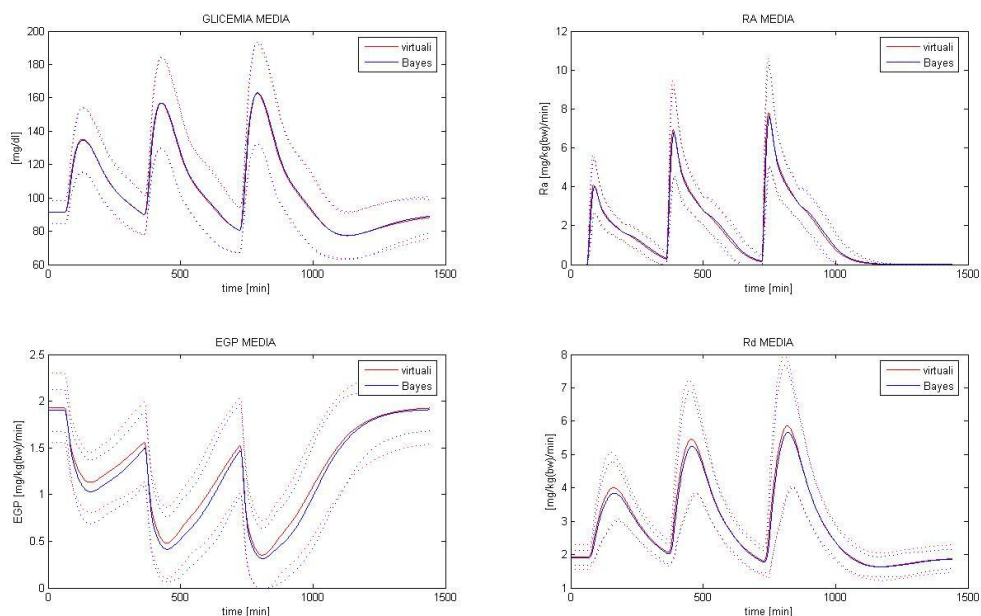


Figura 5.8: Andamenti (media \pm SD) delle concentrazioni e dei principali flussi di glucosio durante la simulazione. Partendo dall'alto abbiamo la glicemia (a sinistra), la velocità di comparsa del glucosio nel plasma (a destra), nei riquadri sotto abbiamo la produzione epatica di glucosio (a sinistra) e l'utilizzazione di glucosio (destra). Quelli in rosso sono gli andamenti riprodotti a partire dai parametri dei soggetti virtuali, quelli in blu sono stati simulati impiegando nel modello i parametri stimati con tecnica Bayesiana.

Concentrazione	Valore medio dell'indice di fit	SE
Glicemia $g(t)$	86%	1,0%
Velocità di comparsa $R_a(t)$	82%	0,8%
Produzione epatica $EGP(t)$	33%	2,8%
Utilizzazione $R_d(t)$	63%	2,2%

Tabella 5.4: Indici di fit per la glicemia, la velocità di comparsa di glucosio nel plasma, la produzione epatica di glucosio e l'utilizzazione di glucosio relativi al protocollo della giornata tipo.

parametro	Unità di misura	TT		stimati		correlazione		T-TEST
		media	SD	media	SD	Coeff.	p-value	
k_{abs}	min^{-1}	0,233971	0,168519	0,156064	0,084351	0,126691	ns	1,22E-08
k_{max}	min^{-1}	0,041125	0,022513	0,037377	0,014445	0,053089	ns	0,051049
k_{min}	min^{-1}	0,009862	0,004167	0,00903	0,00539	0,22484	0,004381	0,044917
b	adimensionale	0,772838	0,114679	0,742344	0,080713	0,276581	0,000127	0,000676
d	adimensionale	0,161716	0,049701	0,119445	0,064414	0,26545	0,000241	2,98E-14
k_i	min^{-1}	0,010697	0,005567	0,022102	0,016581	0,085424	ns	1,16E-16
k_{p2}	min^{-1}	0,006181	0,003869	0,0147	0,037581	-0,103	ns	0,003738
k_{p3}	mg/kg/min/(pmol/l)	0,011661	0,006757	0,01039	0,014732	0,207819	0,005929	0,289967
k_{p4}	mg/kg/min/(pmol/kg)	0,050103	0,032982	0,026821	0,017121	-0,04214	ns	1,63E-13
V_g	dl/kg	1,856223	0,117622	1,810822	0,200762	-0,03794	ns	0,009383
V_{mx}	mg/kg/min/(pmol/l)	0,062877	0,030121	0,071354	0,041883	0,602176	7,78E-20	0,000743
K_{m0}	mg/kg	227,5899	5,836753	227,2024	17,70847	0,393108	2,62E-08	0,745852
k_2	min^{-1}	0,110768	0,053635	0,108706	0,065208	0,37249	1,52E-07	0,675519
k_1	min^{-1}	0,071397	0,022843	0,069564	0,01819	0,505336	1,63E-13	0,229906
p_{2u}	min^{-1}	0,044069	0,016	0,05104	0,026488	-0,02996	ns	0,002702
EGP_b	mg/kg/min	1,858749	0,239509	1,973997	0,41377	0,193429	0,007991	0,000389

Tabella 5.5: Media e SD dei valori parametri stimati con la tecnica triple tracer sui 204 reali normali, media e SD dei valori dei parametri stimati, coefficiente di correlazione e p-value, in rosso i p-value del t-test dei parametri che risultano avere media diversa.

parametro	Unità di misura	TT		stimati		Correlazione		T-TEST
		media	SD	media	SD	coeff.	p-value	
k_{abs}	$\log(\text{min}^{-1})$	-1,93145	1,175936	-1,98654	0,521674	0,151708	0,038202	0,535025
k_{max}	$\log(\text{min}^{-1})$	-3,31075	0,467829	-3,34352	0,324198	0,166598	0,022675	0,392511
k_{min}	$\log(\text{min}^{-1})$	-4,72869	0,504659	-4,8178	0,465	0,360793	2,98E-06	0,040519
b	$\log(\text{adimensionale})$	-0,26987	0,161217	-0,30423	0,114556	0,304185	2,31E-05	0,005428
d	$\log(\text{adimensionale})$	-1,87484	0,340463	-2,30712	0,712893	0,228203	0,001682	2,82E-14
k_i	$\log(\text{min}^{-1})$	-4,65723	0,497805	-4,17924	0,976167	0,049551	ns	3,2E-09
k_{p2}	$\log(\text{min}^{-1})$	-5,26841	0,626899	-5,18505	1,199429	-0,09817	ns	0,505366
k_{p3}	$\log(\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/l}))$	-4,61506	0,588156	-4,9101	0,732227	0,320091	1,66E-05	1,53E-06
k_{p4}	$\log(\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/kg}))$	-3,22981	0,740567	-3,8084	0,649424	-0,0633	ns	4,61E-12
V_g	$\log(\text{dl/kg})$	0,616361	0,068226	0,587254	0,116987	-0,04895	ns	0,004466
V_{mx}	$\log(\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/l}))$	-2,85983	0,422127	-2,77554	0,511866	0,558498	9,94E-17	0,010505
K_{m0}	$\log(\text{mg/kg})$	5,427236	0,024594	5,422839	0,077666	0,388113	4,05E-08	0,403435
k_2	$\log(\text{min}^{-1})$	-2,30893	0,476524	-2,35688	0,515996	0,328912	4,3E-06	0,256305
k_1	$\log(\text{min}^{-1})$	-2,68499	0,29722	-2,69989	0,26637	0,486993	1,58E-12	0,478153
p_{2u}	$\log(\text{min}^{-1})$	-3,18412	0,356708	-3,10594	0,530158	0,000687	ns	0,095886
EGP_b	$\log(\text{mg/kg/min})$	0,611608	0,129637	0,662458	0,181581	0,199637	0,006157	0,000669

Tabella 5.5: Media e SD dei valori parametri stimati con la tecnica triple tracer sui 204 reali normali, media e SD dei valori dei parametri stimati, coefficiente di correlazione e p-value, in rosso i p-value del t-test dei parametri che risultano avere media diversa. In forma logaritmica.

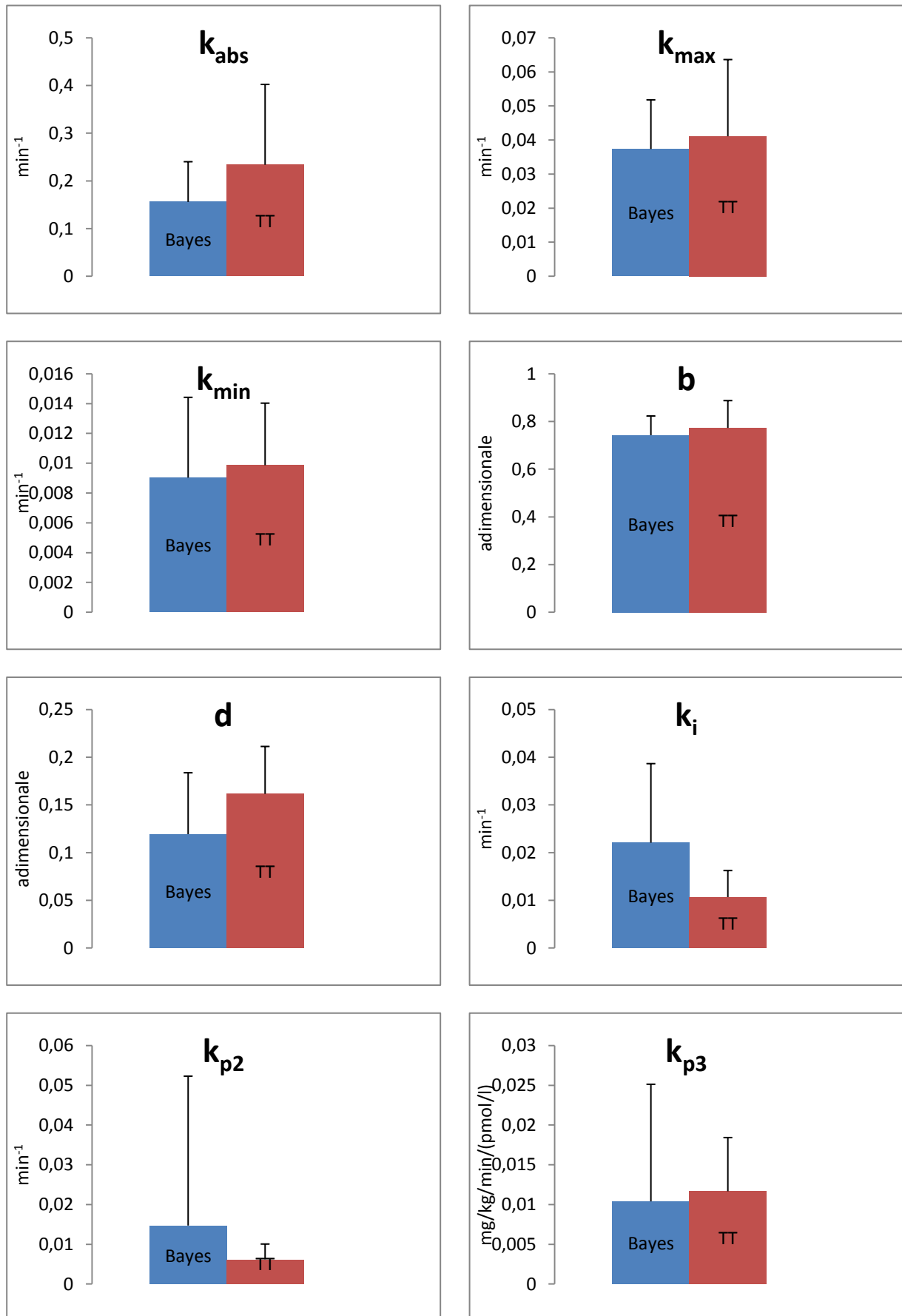


Figura 5.9: Confronto tra i parametri (media + SD) stimati con il metodo Bayesiano (in blu) e quelli stimati con la tecnica triple tracer (in rosso)

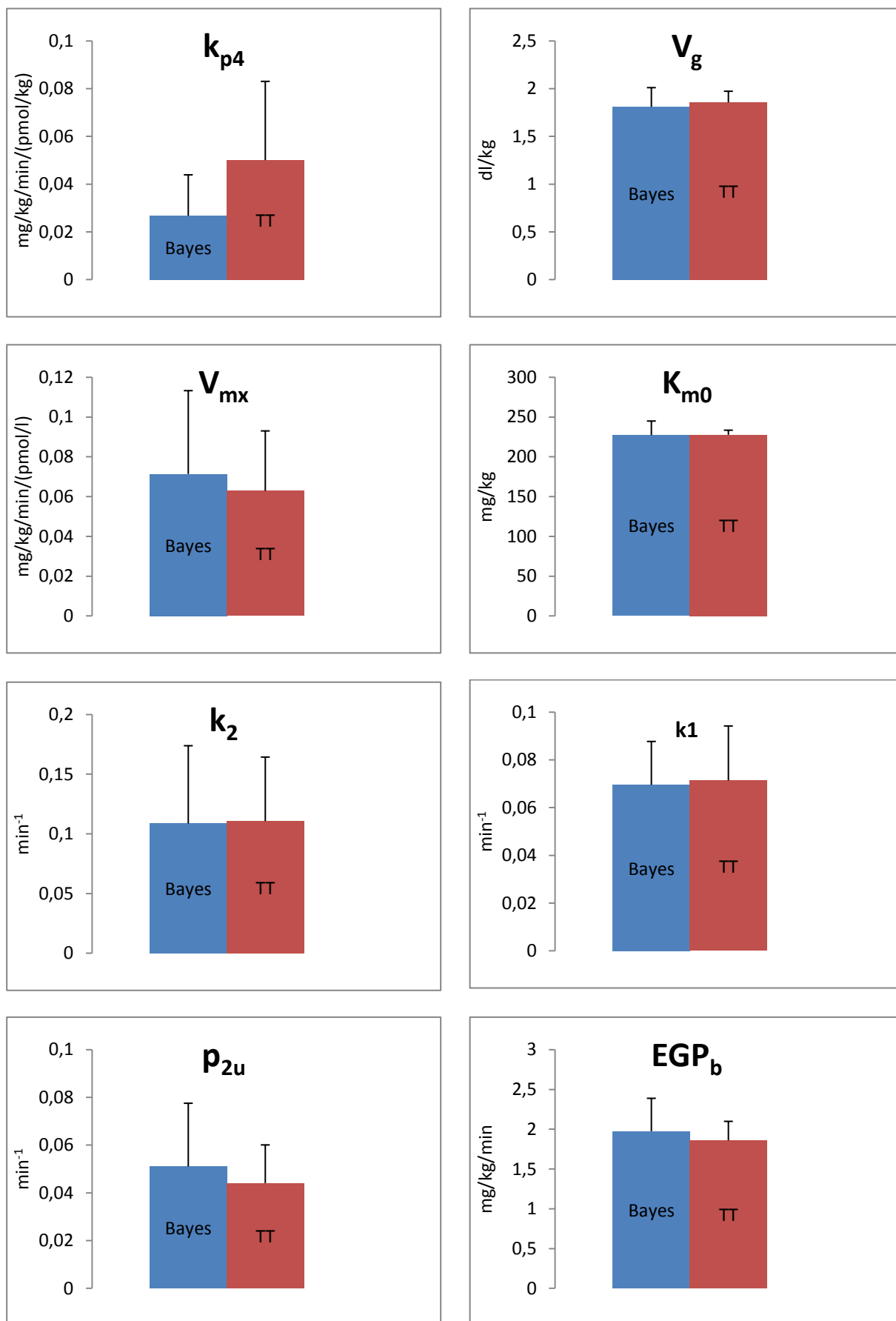


Figura 5.10: Confronto tra i parametri (media + SD) stimati con il metodo Bayesiano (in blu) e quelli stimati con la tecnica triple tracer (in rosso)

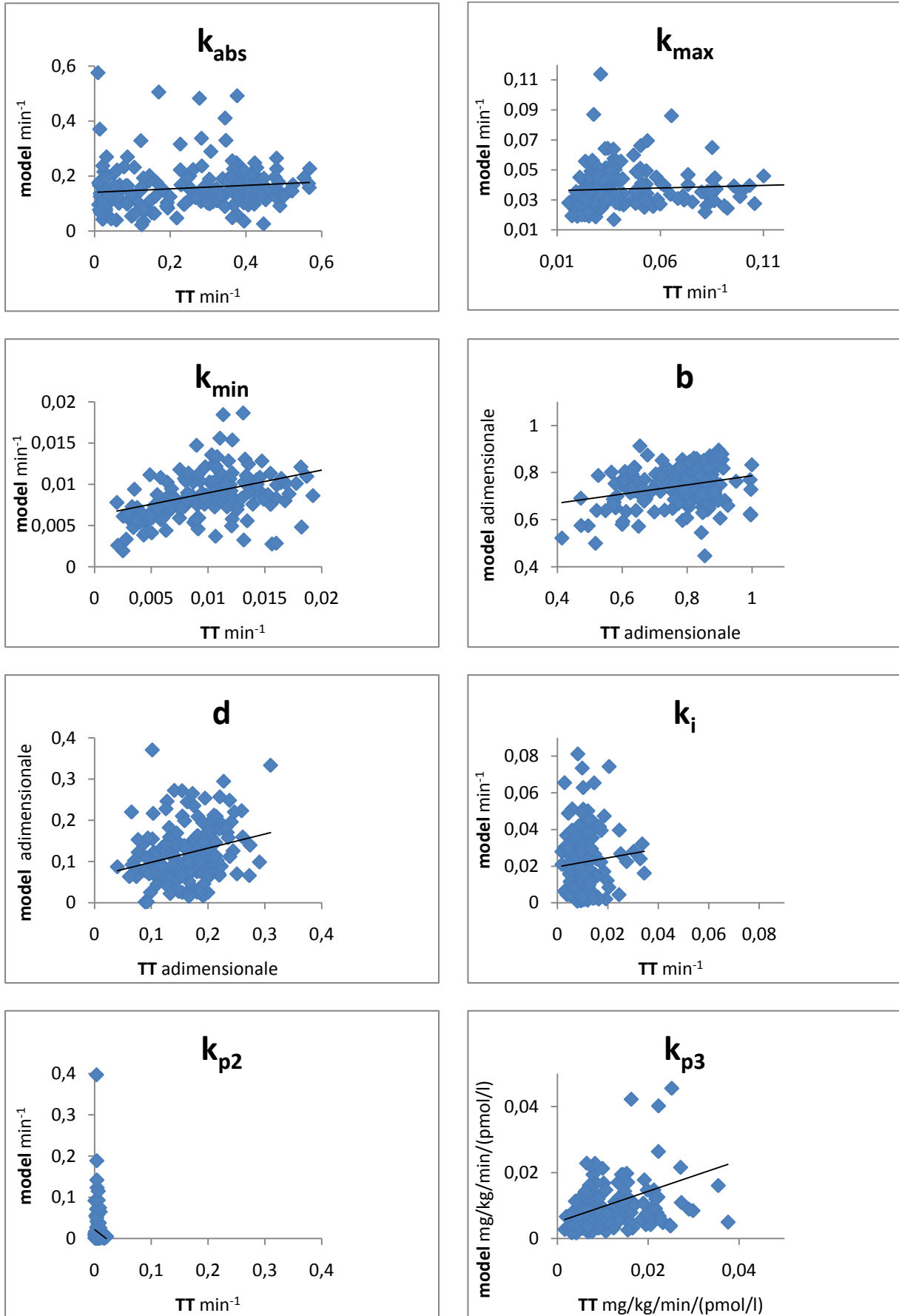


Figura 5.11: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli identificati con la tecnica triple tracer.

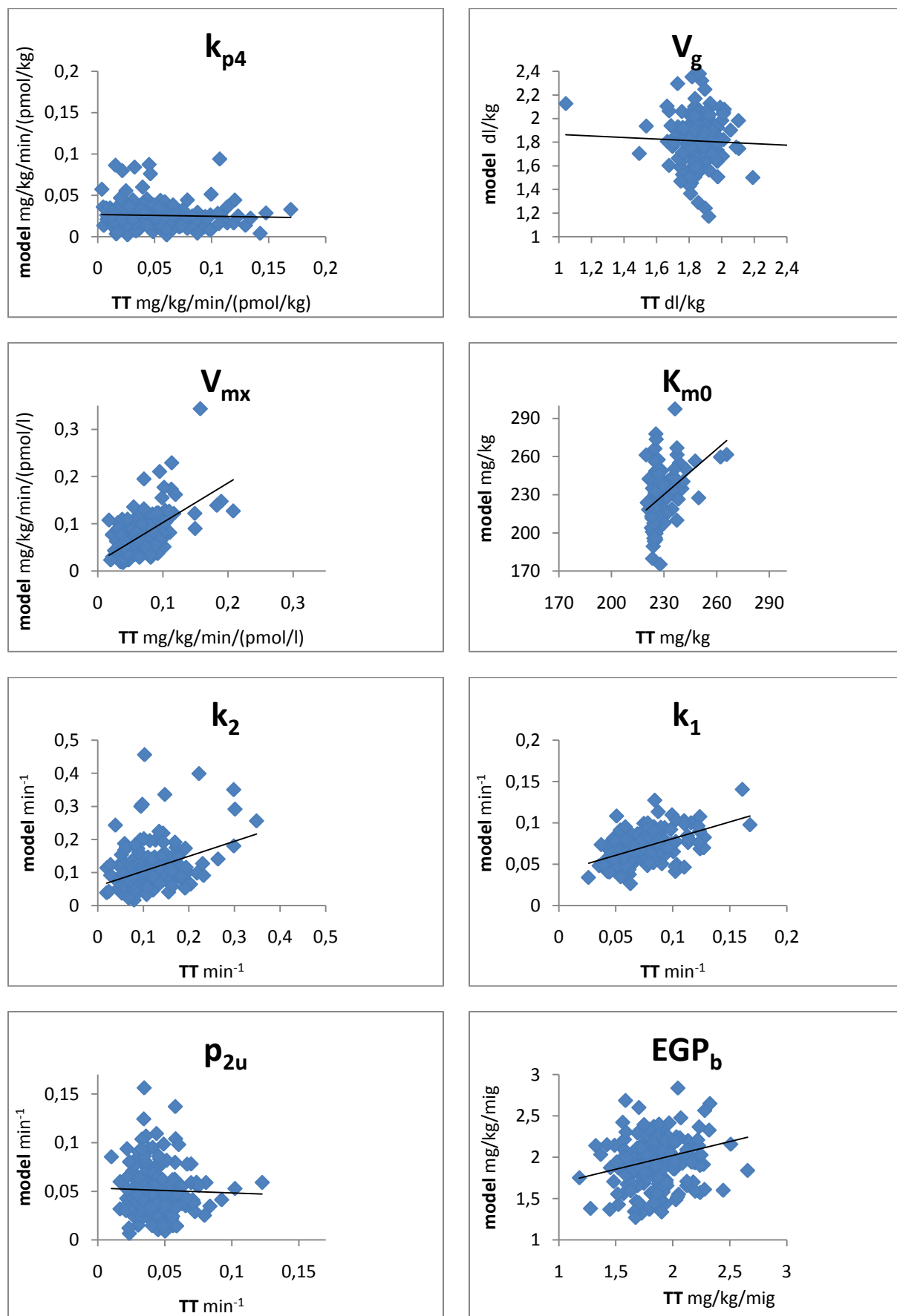


Figura 5.12: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli identificati con la tecnica triple tracer.

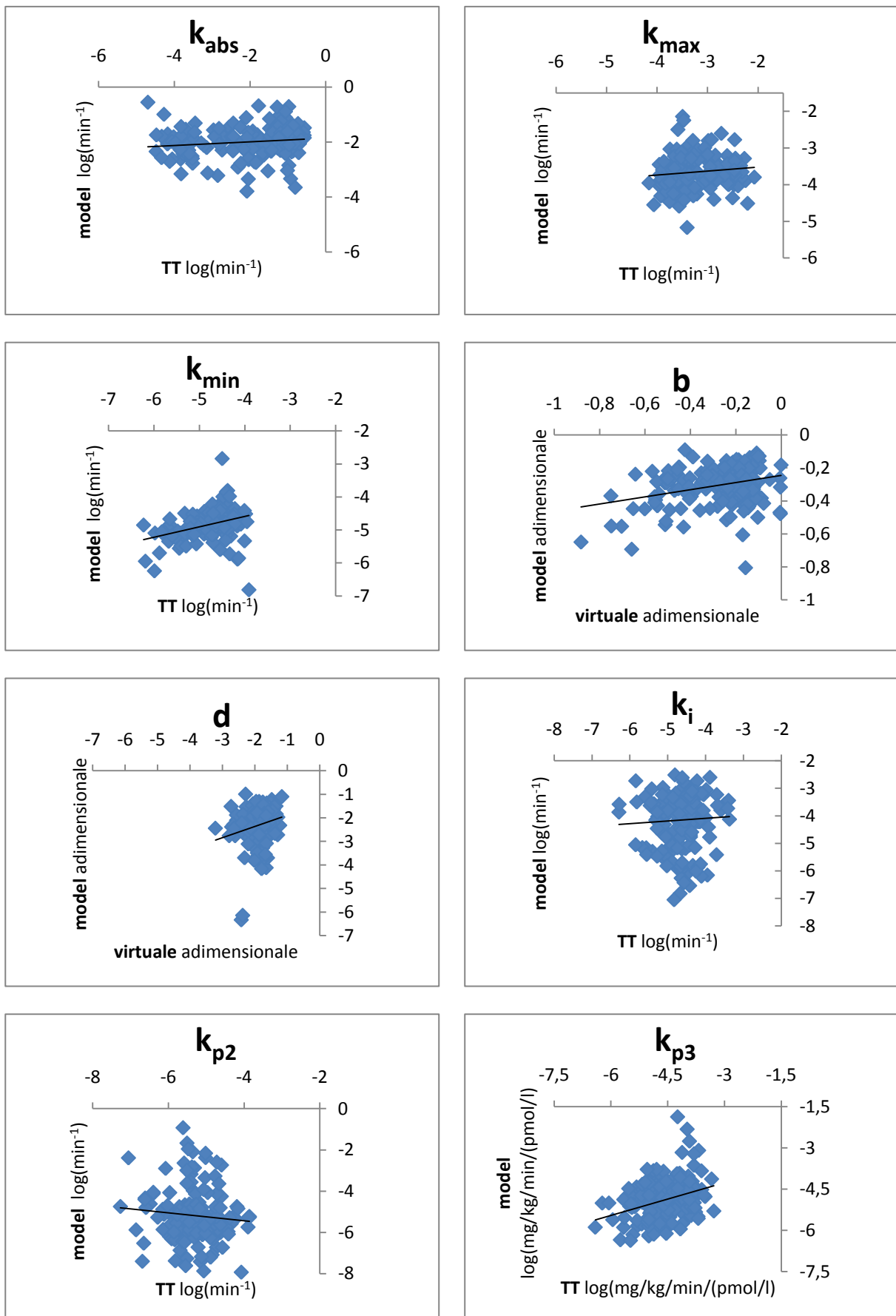


Figura 5.13: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli identificati con la tecnica triple tracer. In forma logaritmica.

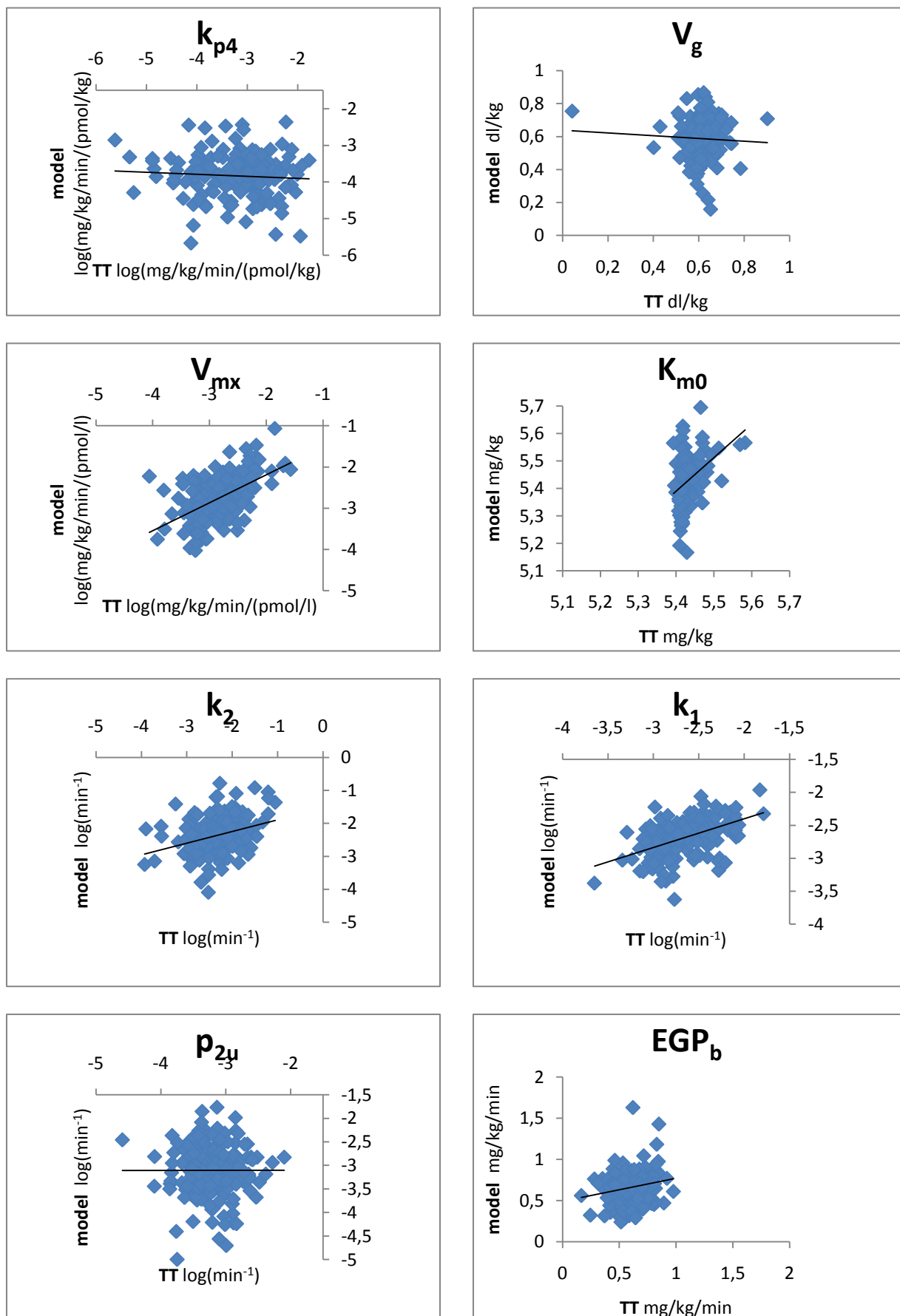


Figura 5.14: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati con il metodo Bayesiano e quelli identificati con la tecnica triple tracer. In forma logaritmica.

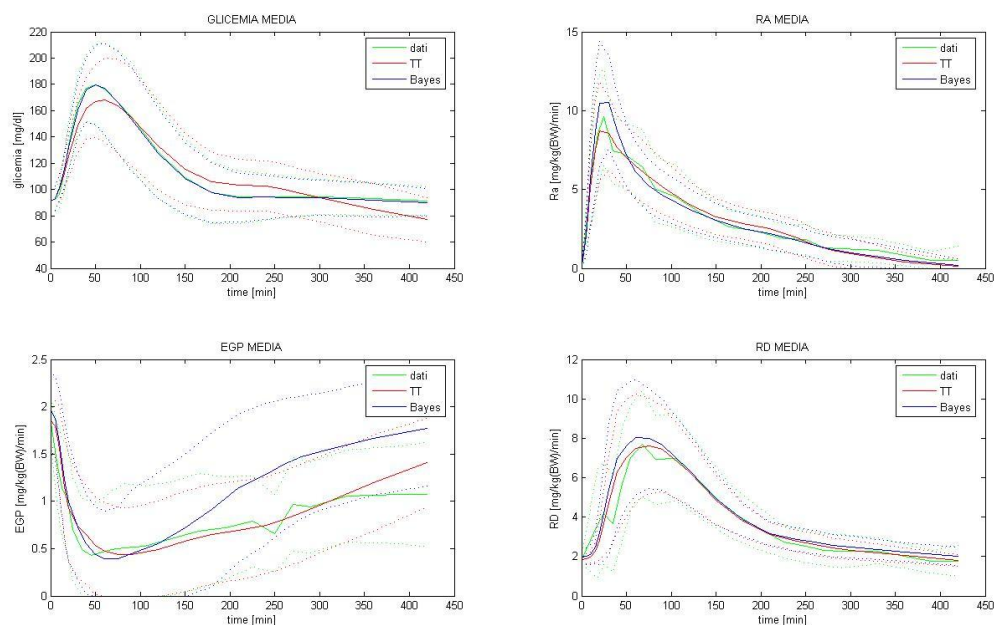


Figura 5.15: Andamenti (media \pm SD) delle concentrazioni e dei principali flussi di glucosio durante la simulazione. Partendo dall'alto abbiamo la glicemia (a sinistra), la velocità di comparsa del glucosio nel plasma (a destra), nei riquadri sotto abbiamo la produzione epatica di glucosio (a sinistra) e l'utilizzazione di glucosio (destra). Quelli in rosso sono gli andamenti riprodotti a partire dai parametri stimati con la tecnica triple tracer, quelli in blu sono stati simulati impiegando nel modello i parametri stimati con tecnica Bayesiana. In verde, la media dei valori delle varie concentrazioni rilevati o calcolati al momento dell'esperimento.

Concentrazione	Valore dell'indice di fit	SE
Glicemia $g(t)$	83%	0,6%
Velocità di comparsa $R_a(t)$	52%	1,5%
Produzione epatica $EGP(t)$	7%	1,0%
Utilizzazione $R_d(t)$	33%	1,7%

Tabella 5.7: Indici di fit per la glicemia, la velocità di comparsa di glucosio nel plasma, la produzione epatica di glucosio e

parametro	Unità di misura	stimati		
		media	SD	CV medi
k_{abs}	min^{-1}	0,246172	0,295034	0,136809
k_{max}	min^{-1}	0,079594	0,109215	0,049244
k_{min}	min^{-1}	0,014051	0,015229	0,110864
b	adimensionale	0,774606	0,156556	0,034628
d	adimensionale	0,201324	0,145175	0,024895
k_i	min^{-1}	0,012455	0,011998	0,480921
k_{p2}	min^{-1}	0,073037	0,295162	0,517592
k_{p3}	$\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/l})$	0,035229	0,065136	0,499353
V_g	dl/kg	1,743795	0,213085	0,066226
V_{mx}	$\text{mg/kg/min}/(\text{pmol/l})$	0,071411	0,053616	0,298488
K_{m0}	mg/kg	237,4137	25,31509	0,087847
k_2	min^{-1}	0,136055	0,081039	0,328801
k_1	min^{-1}	0,06437	0,032271	0,200738
p_{2u}	min^{-1}	0,051532	0,042582	0,167816
EGP_b	mg/kg/min	2,76986	0,856828	0,118385

Tabella 5.8: Media, SD e CV medi dei valori parametri stimati con la tecnica Bayesiana sui soggetti con diabete di tipo 1.

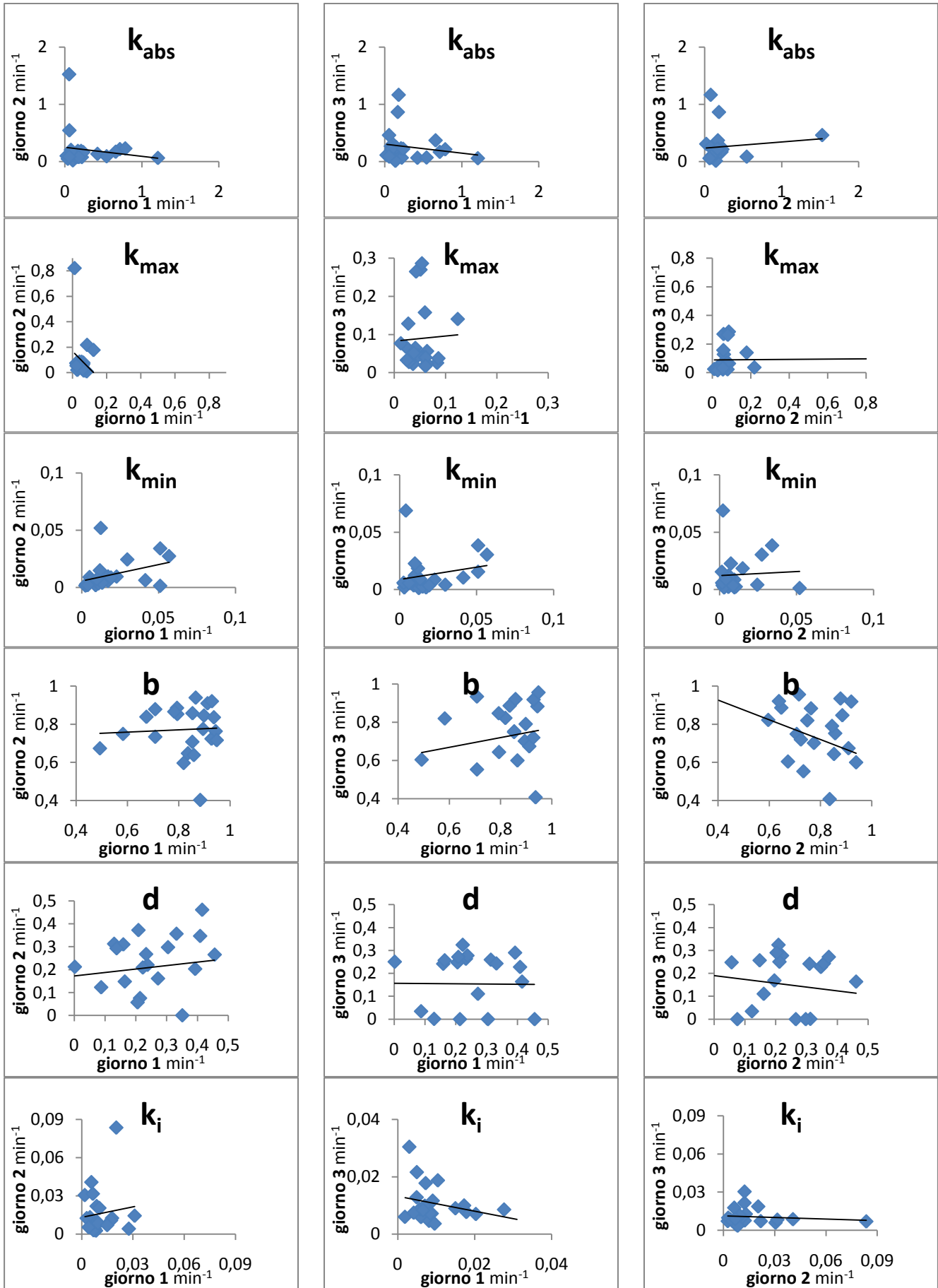


Figura 5.16: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati su colazioni di giorni diversi.

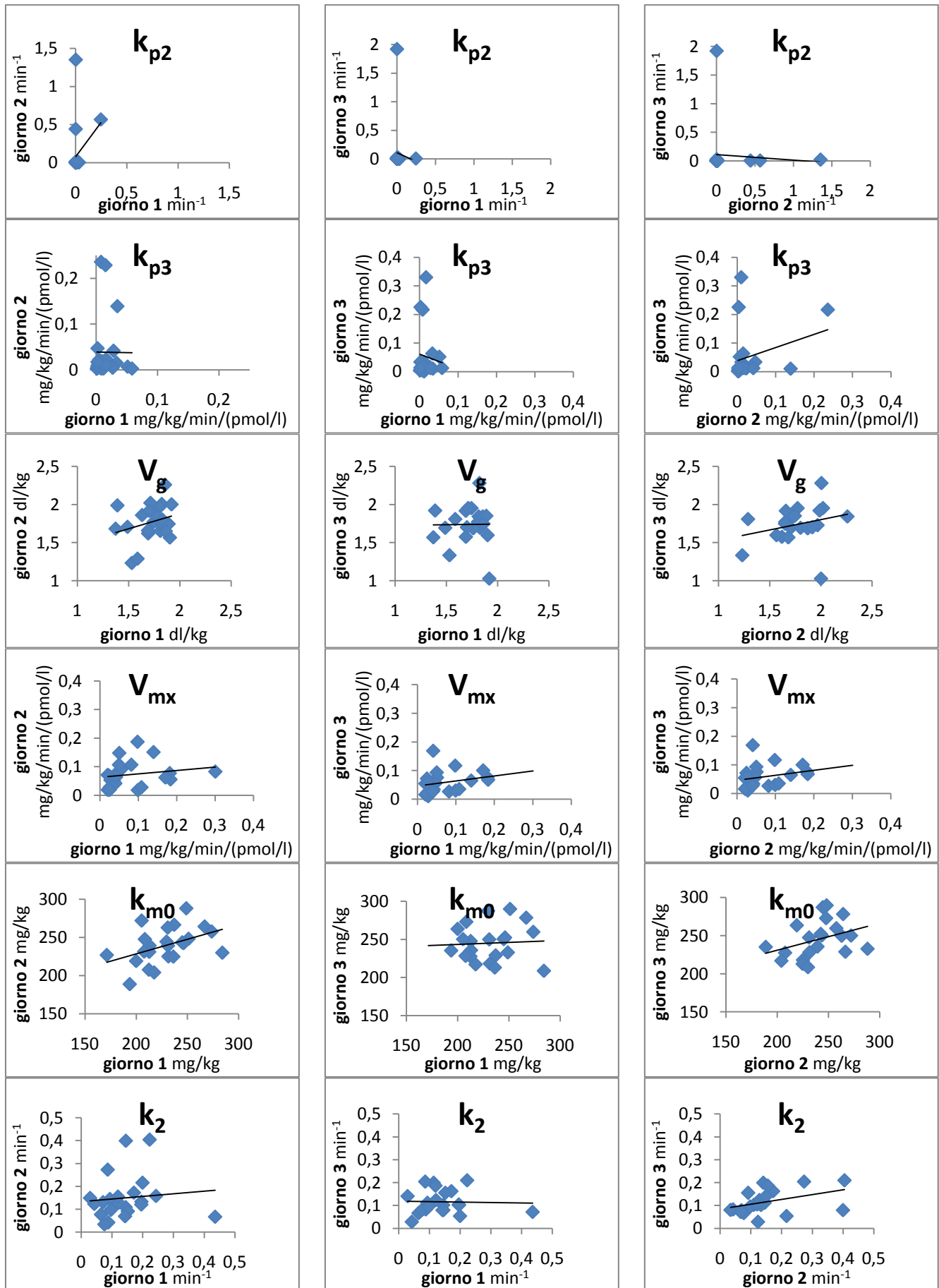


Figura 5.17: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati su colazioni di giorni diversi

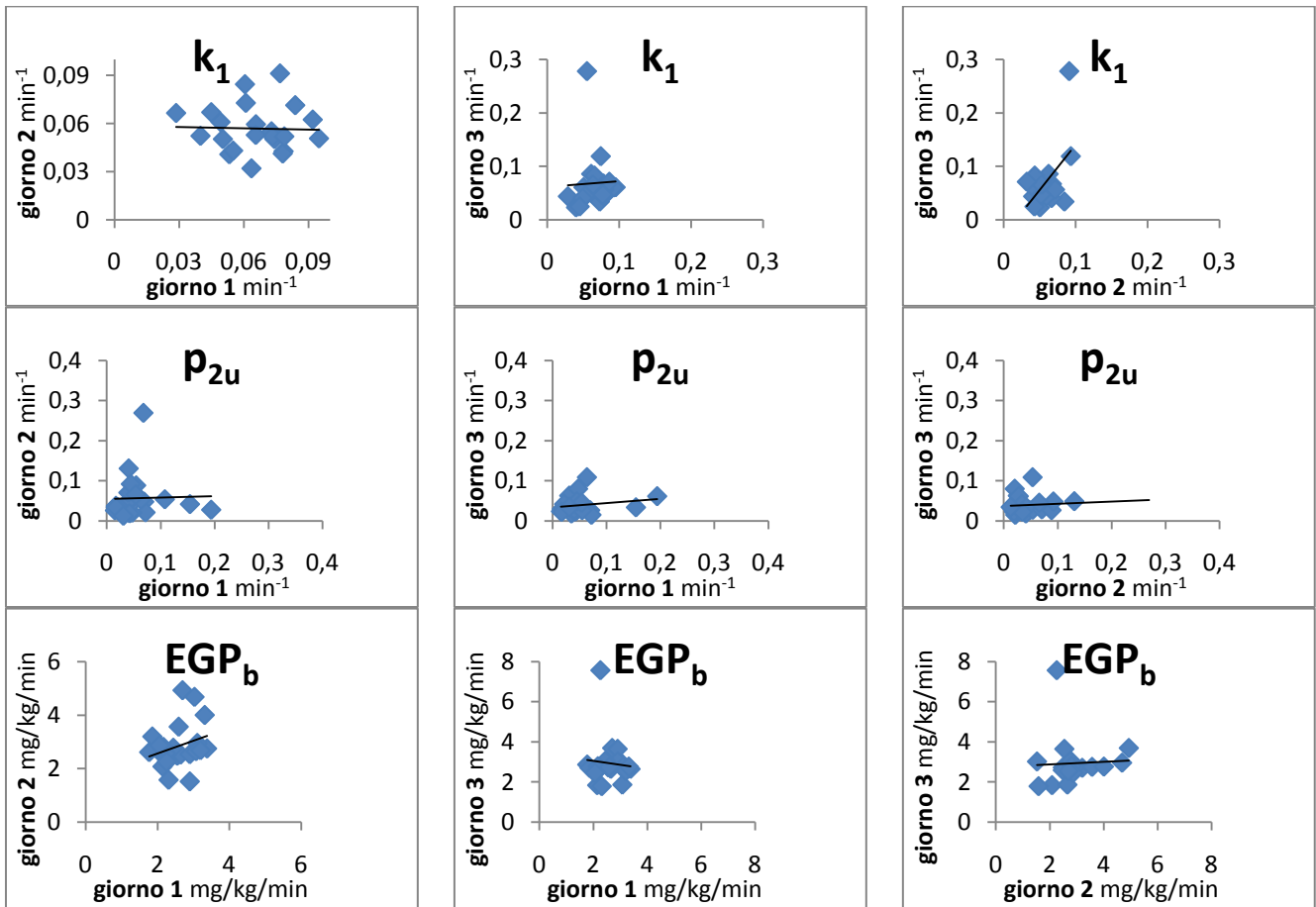


Figura 5.18: Grafici a dispersione per la valutazione della correlazione tra i parametri stimati su colazioni di giorni diversi.

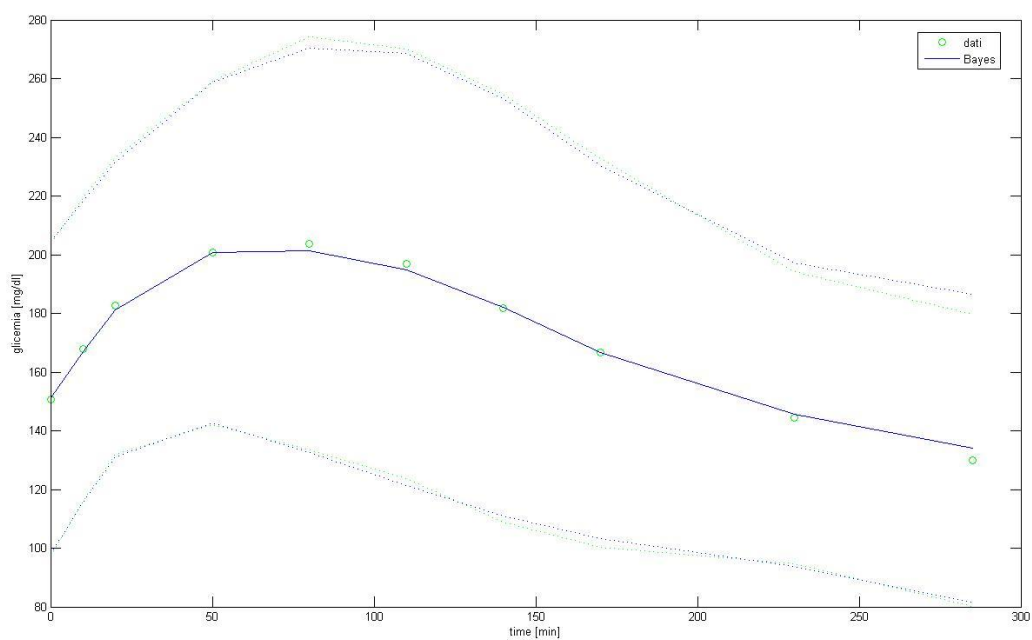


Figura 5.19: Andamento (media \pm SD) della glicemia nell'intervallo temporale della colazione. In verde, i dati. In blu la simulazione a partire dai parametri stimati con la tecnica Bayesiana.

Concentrazione	Valore dell'indice di fit	SE
Glicemia g(t)	61%	4,0%

Tabella 5. 8: Indice medio di fit per la glicemia nell'intervallo temporale della colazione.

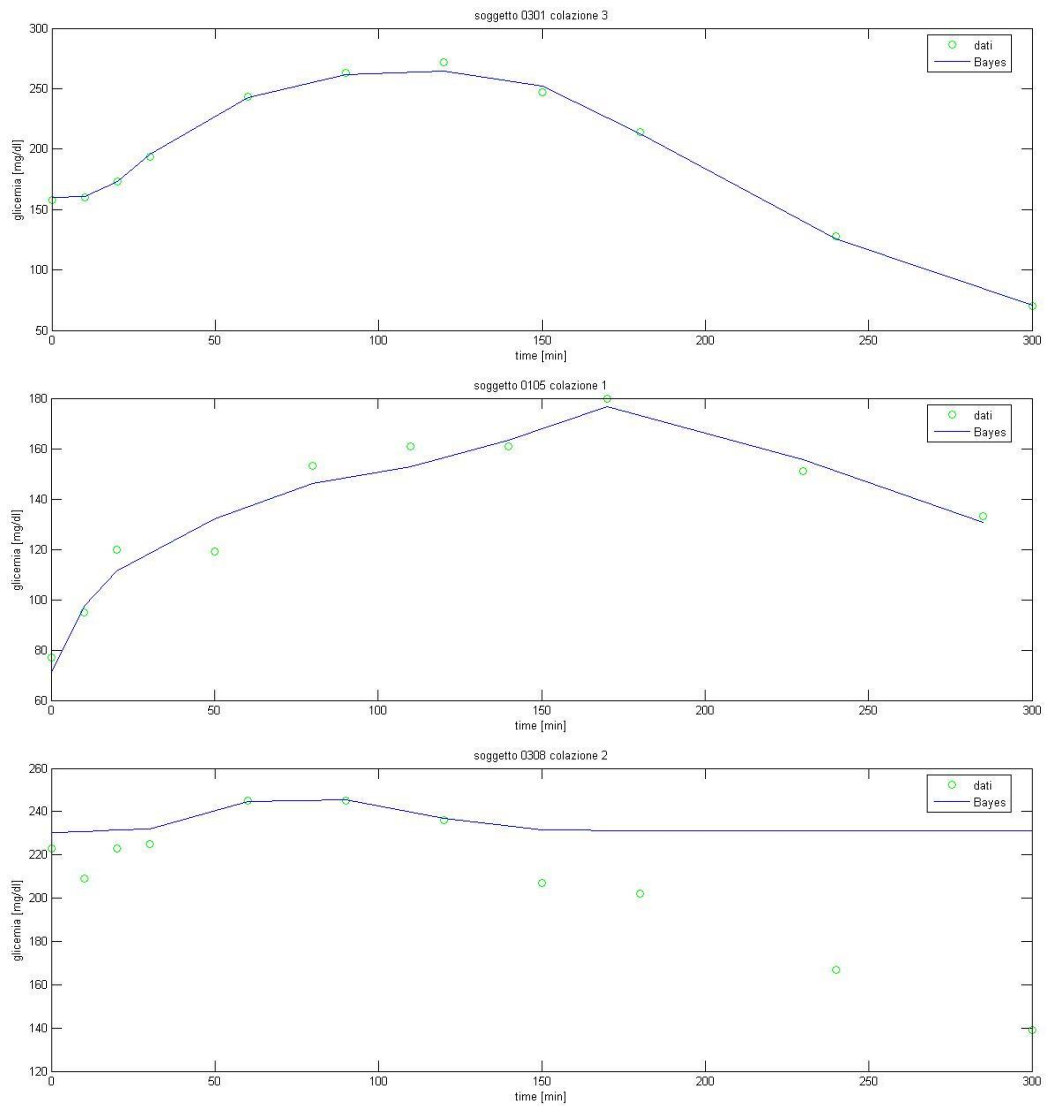


Figura 5.20: Alcuni esempi di fit sulle colazioni. Partendo dall'alto sono rappresentati il caso con il migliore indice di fit, pari al 96,6%; nel riquadro centrale il caso corrispondente all'indice di fit mediano, pari al 78,3% ed in basso il caso peggiore con indice di fit pari allo 0%.

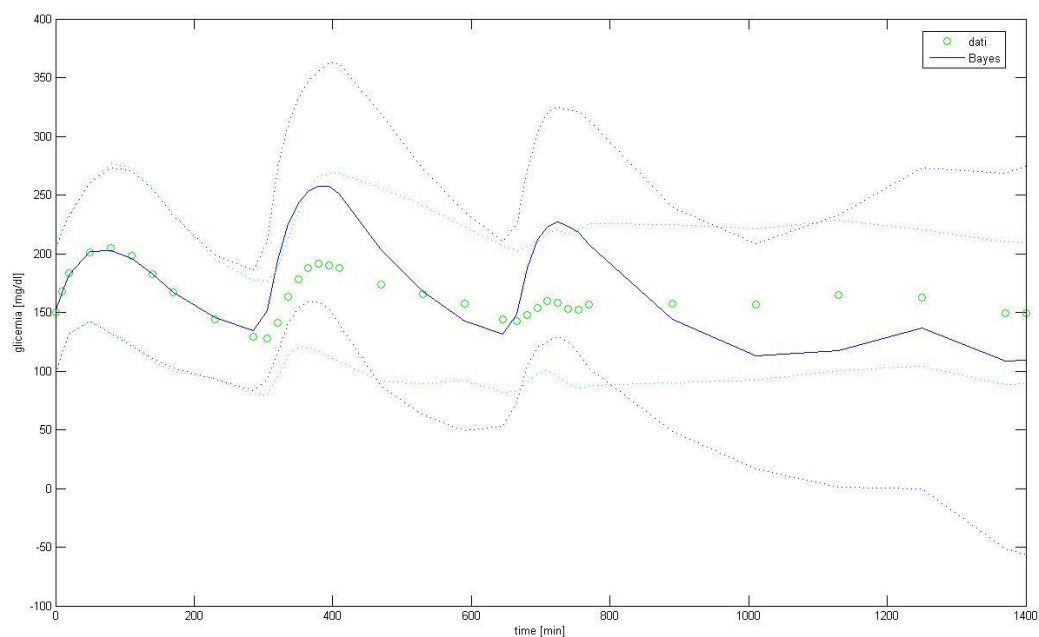


Figura 5.21: Andamento (media \pm SD) della glicemia lungo una giornata intera. In verde, i dati. In blu la simulazione a partire dai parametri stimati con la tecnica Bayesiana.

Concentrazione	Valore dell'indice di fit	SE
Glicemia $g(t)$	3%	1,1%

Tabella 5. 9: Indici di fit per la glicemia lungo una giornata intera.

Capitolo 6

Conclusioni

In questo lavoro è stato presentato un metodo Bayesiano per l'identificazione dei parametri del modello del sistema di regolazione glucosio-insulina del soggetto diabetico di tipo 1.

Le principali caratteristiche di questo metodo sono l'impiego di un prior a distribuzione lognormale, l'imposizione della concentrazione di insulina plasmatica come forzante del modello e l'uso di due diverse function per la minimizzazione della funzione obiettivo: *fminsearch* e *lsqnonlin*. Come conseguenza all'impiego di *fminsearch*, i vincoli fisiologici sono stati imposti attraverso la sostituzione dei parametri k_{\min} , b e d con i parametri differenza diff_{Kk} , diff_{1b} e diff_{bd} .

Il metodo è stato impiegato su tre diversi database: il primo costituito da soggetti normali per i quali i parametri del modello erano già stati ricavati con tecniche modello-indipendenti. Il secondo database costituito da soggetti virtuali, per i quali i parametri sono da ritenersi completamente noti; e un terzo database di soggetti con diabete di tipo 1.

Per i primi due database i risultati delle identificazioni sono stati confrontati con i parametri noti (database dei soggetti virtuali) o ricavati con tecniche modello-indipendente (database 1, relativo allo dello studio [9]). Per i soggetti virtuali sono stati inoltre simulate le concentrazioni ed i principali flussi di glucosio ($g(t)$, $R_a(t)$, $EGP(t)$ e $R_d(t)$) in risposta ad un protocollo di tre pasti rappresentanti una giornata tipo. Questi profili sono stati confrontati con la risposta alla stesso protocollo dei modelli simulati a partire dai parametri stimati con la tecnica Bayesiana.

In entrambi i casi i profili della glicemia plasmatica sono risultati meglio riprodotti, i flussi; $R_a(t)$ e $R_d(t)$ erano anch'essi aderenti ai dati, seppur in maniera meno precisa, mentre si sono riscontrate delle imprecisioni ben più pesanti nella simulazione della produzione endogena di glucosio.

Per il database dei soggetti diabetici abbiamo inizialmente confrontato i dati reali della glicemia con il profilo glicemico simulato a partire dai parametri stimati con la tecnica Bayesiana. Il fit era abbastanza buono, condizione che non si è verificata, invece, al momento del confronto sulla giornata completa. In questo secondo caso abbiamo riscontrato sistematiche sovrastime della glicemia al momento dei pasti successivi alla colazione e sottostime nella glicemia notturna. Queste differenze possono essere dovute alla variabilità circadiana dei parametri del sistema, sarebbe utile studiare e quantificare queste variazioni in modo da permettere una adeguata predizione dei profili glicemici lungo tutta la giornata.

Alcune proposte per gli sviluppi futuri di questo lavoro sono quindi le identificazioni del modello sul pranzo e sulla cena, e la quantificazione della variabilità intra-individuale.

Bibliografia

- [1] A. Guyton, J. Hall, “Fisiologia Medica”, EdiSES, Napoli, 2002.
- [2] C.Cobelli, R. Bonadonna, “Bioingegneria dei sistemi metabolici” Pàtron editore, Bologna, 1998.
- [3] <http://www.diabetesatlas.org>
- [4] <http://www.molecularlab.it>
- [5] C. Dalla Man, R. A. Rizza and C. Cobelli, *Fellow*, IEEE, “Meal Simulation Model of the Glucose-Insulin System”, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 54, no. 10, pp 1740-1749, Oct. 2007.
- [6] C. Dalla Man, D. M. Raimondo, R. A. Rizza and C. Cobelli, “GIM, Simulation Software of Meal Glucose-Insulin Model”, *J Diabetes Sci Technol*, vol. 1, no. 3, pp 323-330, May 2007.
- [7] R. Basu, D. Di Camillo, G. Toffolo, A. Basu, P. Shah, A. Vella, R.Rizza and C.Cobelli, “Use of a novel triple tracer approach to assess postprandial glucose metabolism”, *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol 284, pp E55-E69, 2003.
- [8] <http://wwwp.medtronic.com>
- [9] R. Basu, C. Dalla Man, M.Campioni, A. Basu, G. Klee, G. Jenkins, G. Toffolo, C.Cobelli and R. Rizza, “Mechanism of postprandial hyperglycemia in elderly men and women: Gender specific differences in insulin secretion and action”, *Diabetes*, vol 55, pp. 2001-2014, 2006
- [10] G. Pillonetto, G. Sparacino and C. Cobelli, “Reconstructing insulin secretion rate after a glucose stimulus by an improved stochastic deconvolution method”, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 48, no. 11, pp 1352-1354, Nov. 2001.
- [11] DIAdvisor/Data Acquisition Trial.

- [12] E.D. Lehmann, T. Deutsch, "A physiological model of glucose-insulin interaction in type 1 diabetes mellitus", *J. Biomed. Eng.*, vol 14, pp 235-242, 1992.
- [13] R. Hovorka, V. Canonico, L. J. Chassin, U. Haueter, M. Massi-Benedetti, M. O. Federici, T. R. Pieber, H. C. Schaller, L. Schaupp, T. Vering and M.E. Wilinska, "Nonlinear model predictive control of glucose concentration in subjects with type 1 diabetes", *Physiol. Meas.*, vol. 25, pp 905-920, 2004.
- [14] C. Dalla Man, M. Camilleri and C. Cobelli, *Fellow*, IEEE, "A System Model of Oral Glucose Absorption: Validation on Gold Standard Data", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 53, no. 12, pp 2472-2478, Dec. 2006.
- [15] E. Breda, M. K. Cavaghan, G. Toffolo, K. S. Polonsky, C. Cobelli, "Oral glucose tolerance test minimal model indexes of β -cell function and insulin sensitivity", *Diabetes*, vol 50, pag. 150-158, Jan 2001