

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
FACOLTÀ DI INGEGNERIA



LAUREA TRIENNALE IN INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE

Studio della Secrezione dell'Insulina
da Esperimenti IVGTT tramite
Modellistica Compartimentale

Relatore: Dott. Bertoldo Alessandra
Laureanda: Janjic Jovana
Novembre 2011

Sommario

Capitolo 1: presenta le nozioni base su aspetti fisiologici di interesse e su termini specifici trattati ed utilizzati nel seguito.

Capitolo 2: fornisce le definizioni relative ai modelli compartimentali, la classe modellistica utilizzata nello studio della secrezione di insulina.

Capitolo 3: a partire da analisi e osservazioni sperimentali, si giunge, per passi successivi, alla formulazione della necessità di un modello strutturale capace di descrivere efficacemente il fenomeno di secrezione e cinetica dell'insulina.

Capitolo 4: è presentato il modello minimo così come definito da TOFFOLO ET AL. nel 1995 in DIABETES, VOL 44. Dall'analisi di questo modello strutturale è possibile ottenere informazioni dettagliate sul processo di secrezione, quali gli indici di sensibilità.

Capitolo 5: viene realizzata ed analizzata l'implementazione in SAAM II del modello.

Indice

1	Introduzione	7
1.1	Insulina	7
1.2	Diabete	8
1.3	C-Peptide	9
1.4	IVGTT	9
2	Modellistica compartimentale	11
3	La storia del modello	13
3.1	Modello organico di secrezione dell'insulina	13
3.2	Stima della secrezione di insulina tramite deconvoluzione	19
3.3	Modello strutturale	21
4	Il modello minimo del C-Peptide	23
4.1	Modello cinetico del C-Peptide	23
4.2	Modello secrezione pancreatica	24
4.2.1	M1	24
4.2.2	M2	25
4.2.3	M3	26
4.2.4	Confronto	26
4.3	Il modello minimo finale	27
4.4	Secrezione ed indici di sensibilità	29
4.5	Parametri standard della cinetica	29
5	SAAM II	33
5.1	Implementazione del modello	33
5.2	Soggetti normali	36
5.2.1	Soggetto 1	36
5.2.2	Soggetto 2	38
5.2.3	Soggetto 3	39
5.2.4	Soggetto 4	40

5.2.5	Soggetto 5	41
5.3	Soggetti IFG	42
5.3.1	Soggetto 1	42
5.3.2	Soggetto 2	44
5.3.3	Soggetto 3	45
5.3.4	Soggetto 4	46
5.3.5	Soggetto 5	47
5.4	Conclusioni	48

Capitolo 1

Introduzione

I modelli compartimentali hanno dimostrato di essere uno strumento matematico molto utile per la spiegazione e descrizione di sistemi molto differenti tra loro quali i sistemi di fisiologia, medicina, economia, ecologia, termodinamica e in generale di tutti quelli descritti da variabili non negative la cui dinamica è legata a leggi di conservazione di massa, energia o informazione. Il fenomeno della secrezione di insulina rientra proprio in questa categoria di sistemi. La sfida consiste nell'individuare il modello matematico che meglio ne descrive gli aspetti e le caratteristiche principali, dando la possibilità di inferire sulla dinamica del sistema senza ricorrere ad esperimenti troppo invasivi e non sempre realizzabili. In questo elaborato si è voluto presentare, attraverso passi successivi, il percorso che ha portato al modello minimo presentato da TOFFOLO ET AL. nel 1995. Questo modello risulta ottimale in quanto rispetta una caratteristica fondamentale dei modelli compartimentali: la parsimonia. Il modello è, infatti, semplice, ma non semplicistico, permettendo una facile, ma efficace descrizione del fenomeno di secrezione dell'insulina tramite IVGTT. Quest'ultima affermazione trova riscontro nell'implementazione del modello effettuata tramite il software SAAM II e nella successiva analisi dei risultati ottenuti. Quanto presentato nei successivi capitoli richiede comunque la conoscenza preliminare di alcuni aspetti e termini fisiologici esposti qui di seguito.

1.1 Insulina

L'insulina è un ormone proteico la cui funzione principale è quella di regolatore dell'omeostasi del glucosio. E' prodotta dalle cellule β del pancreas e viene rilasciata nella vena portale (vena che trasporta il sangue al fegato) in risposta ad un aumento della concentrazione di glucosio. Prima di raggiun-

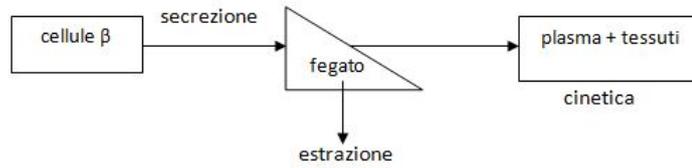


Figure 1.1: Sistema insulina: secrezione, estrazione epatica e cinetica.[1]

gere la circolazione sistemica (circolazione cuore-tessuti-cuore), attraversa il fegato, dove una consistente porzione, pari a circa il 50% del totale, viene trattenuta e metabolizzata. L'insulina residua raggiunge invece determinati organi e tessuti quali il fegato, i muscoli ed i tessuti adiposi, dove svolge la sua funzione ipoglicemica (promuove il consumo di glucosio e ne inibisce la produzione epatica) prima di essere eliminata dal fegato e da altri organi come i reni. L'azione dell'insulina dipende dalla sua concentrazione in prossimità delle cellule sensibili ad essa. Ciò è il risultato di tre processi: secrezione pancreatico, estrazione epatica e cinetica dell'insulina (Figura 1.1). L'insulinemia è la quantità di insulina presente nel sangue che corrisponde, in condizioni normali, a digiuno, ad un valore pari a circa 0,25-0,96 ng/mol. Valori anomali possono essere indicazione di complicanze e/o malattie. Sfortunatamente, una descrizione quantitativa di questi processi in un individuo non è facilmente realizzabile poiché non è possibile effettuare misure dirette senza l'ausilio di esperimenti molto complessi ed invasivi. Proprio per questo motivo, misurazioni indirette basate su modelli matematici diventano essenziali per determinare, a partire da variabili accessibili, quali la concentrazione di insulina e glucosio nel plasma, i parametri non accessibili di interesse.

1.2 Diabete

Il diabete è una malattia cronica caratterizzata dalla presenza di elevati livelli di glucosio nel sangue (iperglicemia) e dovuta ad un'alterata quantità o funzione dell'insulina. Esistono due tipi di diabete:

- **Diabete Tipo 1:** il pancreas non produce insulina a causa della distruzione delle cellule β che producono questo ormone; è quindi necessario che essa venga iniettata ogni giorno e per tutta la vita. La velocità di distruzione delle β -cellule è, comunque, piuttosto variabile, per cui l'insorgenza della malattia può avvenire rapidamente in alcune

persone, solitamente nei bambini e negli adolescenti, e più lentamente negli adulti.

- **Diabete Tipo 2:** è la forma più comune di diabete e rappresenta circa il 90% dei casi di questa malattia. La causa è ancora ignota, anche se è certo che il pancreas è in grado di produrre insulina, ma le cellule dell'organismo non riescono poi a utilizzarla. In genere, la malattia si manifesta dopo i 30-40 anni e numerosi fattori di rischio sono stati riconosciuti associarsi alla sua insorgenza. Tra questi: la familiarità per diabete, lo scarso esercizio fisico, il sovrappeso e l'appartenenza ad alcune etnie.

Esistono altre condizioni di alterazione glicemica che però non sono classificabili come diabete. In particolare modo, l'IFG (Impaired Fasting Glucose) descrive la condizione in cui i livelli di glucosio sono sopra la soglia di normalità, ma non abbastanza da classificare tale alterazione come diabete. E' considerata come una condizione di pre-diabete che solitamente sfocia in diabete di tipo 2.

1.3 C-Peptide

Il C-peptide è una molecola rilasciata durante la maturazione della pro-insulina in insulina. Quest'ormone proteico, infatti, non viene prodotto come tale, bensì in una forma precorritrice chiamata pre-proinsulina; una volta sintetizzata, la pre-proinsulina subisce alcune reazioni enzimatiche che la trasformano in proinsulina. Sempre per intervento di alcuni enzimi, la proinsulina si trasforma in insulina definitiva tramite allontanamento di un peptide, il cosiddetto peptide di coniugazione o C-peptide. Con ogni molecola di insulina viene messa in circolo anche una molecola di C-peptide, quindi l'insulina ed il C-peptide vengono secreti in quantità equimolari. Quest'ultimo però non è metabolizzato a livello epatico, ma è escreto per via renale.

1.4 IVGTT

L'IVGTT (Intravenous Glucose Tolerance Test) consiste in una rapida (generalmente della durata di 1 min) iniezione in vena di una dose standard di glucosio (300 mg kg^{-1}). Durante le 3 ore successive si procede con il prelievo frequente di campioni di sangue dai quali si ricavano i valori di concentrazione del glucosio, dell'insulina e del C-peptide e tramite l'opportuno modello è possibile studiare la cinetica e la secrezione.

Capitolo 2

Modellistica compartimentale

Come già detto nell'Introduzione, la crescente influenza dei modelli matematici ed ingegneristici in biologia, medicina e nelle scienze sociali è dovuta principalmente al ruolo chiave che la teoria dei sistemi dinamici ha nell'unire queste discipline così diverse. I modelli dinamici di molti sistemi biologici e fisiologici derivano da bilanci di massa ed energia che coinvolgono stati dinamici non negativi e sono caratterizzati da leggi di conservazione. È proprio per descrivere tali fenomeni che sono stati formulati i modelli compartimentali. Un compartimento rappresenta una quantità di materia che deve essere omogenea sia per quanto riguarda la concentrazione sia per quanto riguarda la cinetica. Un modello compartimentale è costituito da un numero finito di compartimenti con relative interconnessioni; queste possono rappresentare flussi di materia che fisiologicamente vengono trasportati da un posto ad un altro, ma anche trasformazioni chimiche. [6]

La figura 2.1 rappresenta l' i -esimo compartimento di un sistema. Le frecce rappresentano flussi da e verso il compartimento. La notazione adottata è la seguente: I_i indica il flusso entrante nel compartimento dall'esterno, F_{ij} il flusso proveniente dal compartimento j -esimo, F_{ji} il flusso uscente diretto al compartimento j -esimo, F_{0i} il flusso che dal compartimento i -esimo lascia definitivamente il sistema. Chiaramente ogni $F_{hk} \geq 0$. Le equazioni generali del sistema si ottengono scrivendo i bilanci di massa istantanei per ogni compartimento.

$$\dot{x}_i = F_i(x) = \sum_{j \neq i} (-F_{ji}(x) + F_{ij}(x)) + I_i(x) - F_{0i}(x) \quad (2.1)$$

Se F_{ji} è sufficientemente regolare può essere riscritta come:

$$F_{ji}(x) = k_{ji}(x)x_j \quad (2.2)$$

dove k_{ji} è detto coefficiente di trasferimento.

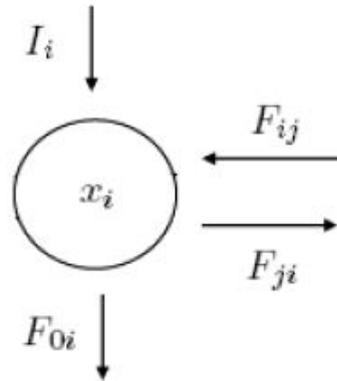


Figura 2.1: Modello di un compartimento

Capitolo 3

La storia del modello

3.1 Modello organico di secrezione dell'insulina

[1][2]

I meccanismi di controllo del glucosio sulla secrezione delle cellule β sono complessi e richiedono l'analisi di numerosi aspetti a livello molecolare. In questa sezione viene presentato un modello dell'insulina basato sulla teoria della soglia di secrezione (LICKO, 1973), teoria incentrata su due fondamentali assunzioni:

1. La concentrazione di glucosio è capace di stimolare la secrezione di insulina solo se supera un determinato valore di soglia;
2. Esistono popolazioni di cellule β (pacchetti) aventi differenti sensibilità al glucosio e quindi diversi valori di soglia.

Questa teoria è emersa dall'analisi dei dati sperimentali ottenuti tramite l'osservazione del pancreas isolato di un ratto, in assenza di effetti di feedback dell'insulina sul glucosio (condizione ad anello aperto). In questi esperimenti la concentrazione di glucosio viene variata all'ingresso al fine di riprodurre specifici pattern quali il gradino, la scala e la rampa. L'insulina si presenta come dato in uscita. La secrezione del pancreas è stata misurata moltiplicando la concentrazione di isulina all'uscita per il flusso attraverso l'organo (Figura 3.1).

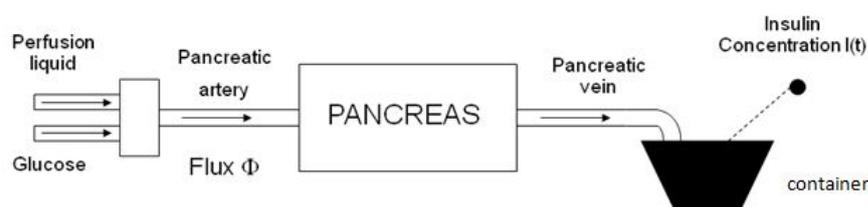


Figura 3.1: Studi su pancreas isolato di un ratto. Secrezione = $\Phi I(t)$

Sulla base dei risultati sperimentali ottenuti, gli aspetti distintivi del processo di secrezione possono essere così riassunti:

1. Un impulso a gradino del glucosio provoca un picco iniziale di rilascio dell'insulina, successivamente al quale la secrezione decresce indipendentemente dallo stimolo ricevuto dal glucosio o dalla secrezione dell'insulina stessa. Dopo questa prima fase ne segue una seconda, più lenta e ritardata rispetto alla prima. La secrezione cessa immediatamente dopo la fine dello stimolo (Figura 3.2).
2. Uno stimolo prolungato ed elevato prodotto dal glucosio rende le cellule β ipersensibili ad un eventuale stimolo successivo (Figura 3.3).
3. Un aumento rapido della concentrazione di glucosio produce un altrettanto rapido picco di secrezione che si riduce se il glucosio aumenta lentamente.
4. La quantità di insulina secreta durante la prima fase è additiva, nel senso che è la stessa indipendentemente dal fatto che il glucosio cresca da 0 a G attraverso un unico gradino o più di uno.

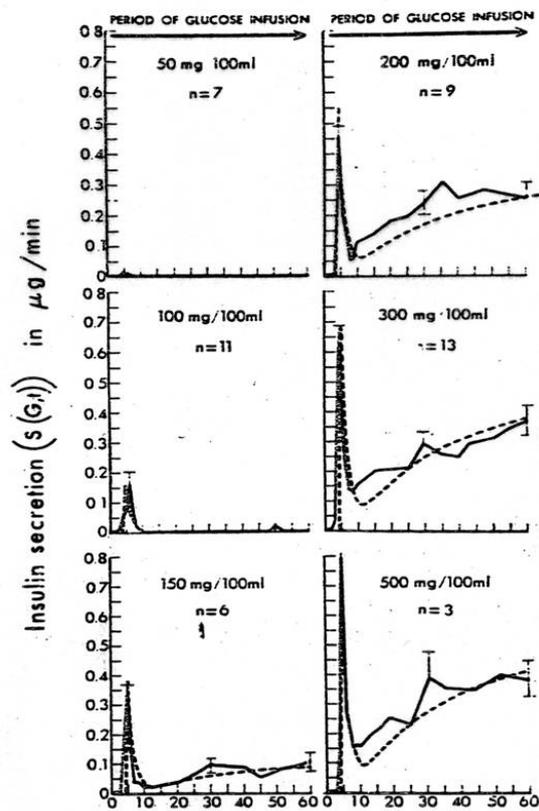


Figura 3.2: Secrezione di insulina durante uno stimolo di glucosio a gradino.[1]

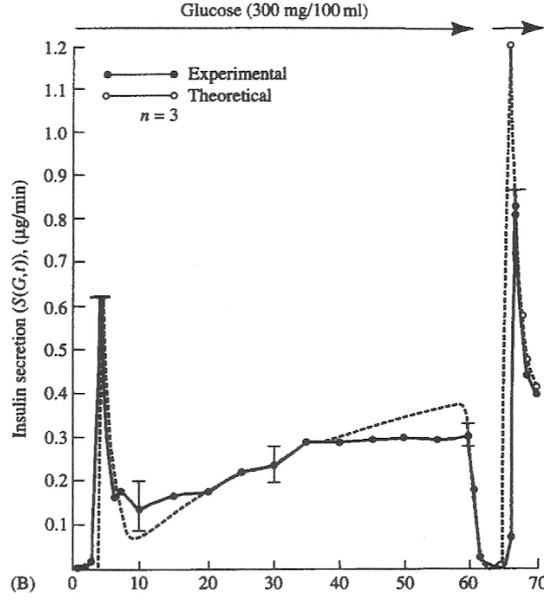


Figura 3.3: Secrezione di insulina durante uno stimolo di glucosio caratterizzato da due gradini.[1]

Sulla base dell'osservazione 1 nel 1970 venne proposto da Grodsky il modello compartimentale rappresentato in Figura 3.4A. Il 1° compartimento rappresenta l'insulina immagazzinata (98%), mentre il 2° compartimento indica l'insulina immediatamente rilasciabile o labile (2%). Gli scambi tra i due compartimenti avvengono lentamente, con una costante di tempo che è pari a 100 min per k_{12} e 1000 min per k_{21} . Il glucosio ha un effetto di potenziamento sulla quantità di insulina utilizzabile, poiché promuove l'approvvigionamento di nuova insulina e il trasferimento dalla forma immagazzinata a quella labile. Il modello è stato successivamente semplificato e ridotto ad un solo compartimento trascurando la conversione di insulina nella forma stabile (k_{12})(Figura 3.4B). Si ha quindi la seguente equazione di bilanciamento di massa:

$$\dot{X}(G, t) = -SR(G, t) + P(G, t) \quad X(0) = X_0 \quad (3.1)$$

dove X è l'insulina labile nelle cellule β , X_0 è la condizione iniziale, SR la secrezione di insulina, P l'approvvigionamento e G la concentrazione di glucosio.

Assumendo che SR dipenda linearmente da X e che P cresca lentamente con il tempo, il modello descritto da 3.1 è capace di riprodurre, almeno qualitativamente, il profilo di secrezione bifasica dopo un incremento a gradino di glucosio: X_0 è responsabile della prima fase di secrezione e l'approvvigio-

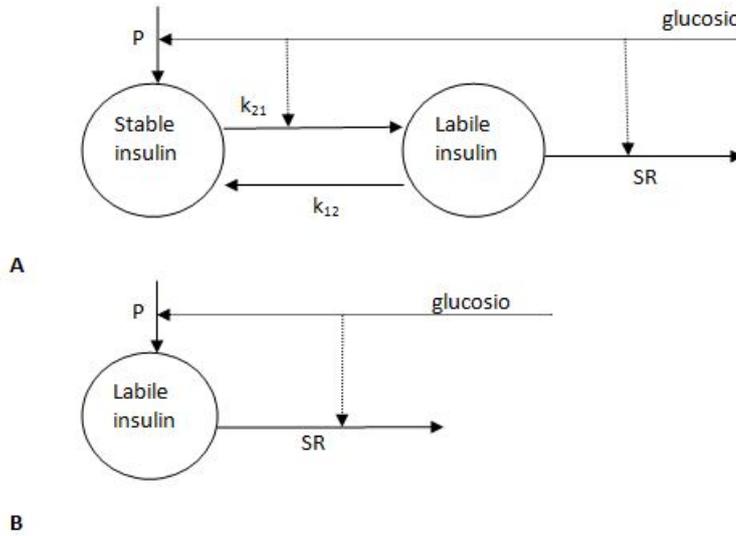


Figura 3.4: **A**: modello a due compartimenti. **B**: modello ad un compartimento.[1]

namento P della seconda. Tuttavia, 3.1 è inadeguata a descrivere il profilo di secrezione dopo uno stimolo a scala di glucosio. Il gradino iniziale promuove la prima fase di secrezione che esaurisce l'insulina labile; in questo modo il secondo gradino di glucosio potrebbe influenzare solamente la seconda fase, ma non dovrebbe agire in modo da produrre un secondo picco come invece si può osservare dai dati sperimentali (Figura 3.5).

Queste osservazioni hanno portato alla conclusione che per un dato gradino di glucosio, solo una frazione dell'insulina labile viene rilasciata per la prima fase, mentre una quantità maggiore è liberata in risposta ad un successivo gradino più elevato. Tenendo in considerazione questa caratteristica, il modello di Figura 3.4B è stato modificato (GRODSKY, 1972) considerando l'insulina labile distribuita in pacchetti aventi soglie di sensibilità al glucosio differenti. Ad ogni pacchetto è associato un valore di soglia ϑ tale che:

- se $G > \vartheta$, il pacchetto è "aperto" e rilascia insulina;
- se $G \leq \vartheta$, il pacchetto è "chiuso" e non rilascia insulina;

La funzione densità di soglia $\xi(\vartheta, t)$ descrive come l'insulina si distribuisce nei vari pacchetti. $\xi(\vartheta, t)d\vartheta$ rappresenta quindi la quantità di insulina presente nei pacchetti aventi un valore di soglia compreso tra ϑ e $\vartheta + d\vartheta$, che può essere rilasciata quando lo stimolo di glucosio cresce da ϑ a $\vartheta + d\vartheta$. La funzione densità di soglia dipende anche dal tempo, poichè la quantità di insulina stessa varia nel tempo a causa della secrezione, degli scambi tra pac-

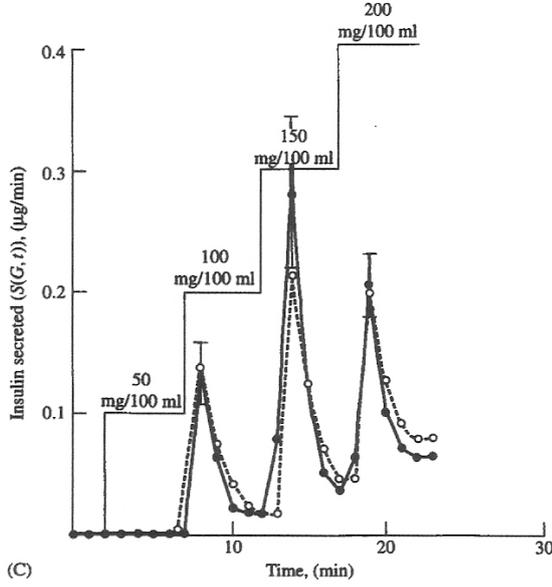


Figura 3.5: Secrezione di insulina in risposta ad uno stimolo di glucosio a scala.[1]

chetti e così via. Il glucosio promuove la secrezione di insulina dai pacchetti "aperti", in modo tale che la quantità totale di insulina rilasciabile per un dato stimolo di glucosio G è:

$$X(G, t) = \int_0^{G(t)} \xi(\vartheta, t) dt \quad (3.2)$$

La secrezione di insulina è considerata proporzionale a questa quantità:

$$SR(G, t) = mX(G, t) = m \int_0^{G(t)} \xi(\vartheta, t) dt \quad (3.3)$$

L'equazione di stato per $\xi(\vartheta, t)$ associata a 3.3 è:

$$\xi'(\vartheta, t) = -m\xi(\vartheta, t) + \gamma(\vartheta)P(G, t) - \Gamma'_\infty \xi(\vartheta, t) + \gamma' \int_0^\infty \xi(\vartheta', t) d\vartheta' \quad \text{per } \vartheta < G \quad (3.4)$$

$$\xi'(\vartheta, t) = +\gamma(\vartheta)P(G, t) - \Gamma'_\infty \xi(\vartheta, t) + \gamma' \int_0^\infty \xi(\vartheta', t) d\vartheta' \quad \text{per } \vartheta < G$$

dove:

- la condizione iniziale $\xi(\vartheta, 0)$ è la funzione densità di soglia al tempo zero, o in assenza di stimolo da parte del glucosio;
- $-m\xi(\vartheta, t)$ è il contributo alla secrezione di insulina da parte dei pacchetti aventi valore di soglia ϑ , con $\vartheta < G$.
- $\gamma(\vartheta)P(G, t)$ è la frazione di approvvigionamento che ricarica i pacchetti aventi valore di soglia ϑ , con l'approvvigionamento modellato come un processo del primo ordine, avente costante di tempo α e valore in condizione di equilibrio $P(G, \infty)$ dipendente da G :

$$\dot{P}(G, t) = -\alpha[P(G, t) - P(G, \infty)] \quad (3.5)$$

- $\Gamma'_\infty \xi(\vartheta, t) + \gamma' \int_0^\infty \xi(\vartheta', t) d\vartheta'$ descrive lo scambio di insulina tra pacchetti.

Complessivamente il modello consiste di tre equazioni:

1. una equazione differenziale del primo ordine (3.4) che descrive la cinetica dell'insulina nei pacchetti con $\xi(\vartheta, t)$ come variabile di stato;
2. un'equazione differenziale del primo ordine (3.5) che descrive il controllo del glucosio sull'approvvigionamento di insulina;
3. un'equazione integrale (3.3) che collega la variabile di stato alle misurazioni.

Questo modello è stato impiegato con successo nella simulazione dei dati di secrezione dell'insulina di Figura 3.2. I risultati, rappresentati tramite linee tratteggiate, mostrano una buona concordanza tra i dati e la predizione del modello, indice del fatto che il modello presentato da Grodsky è capace di descrivere la risposta di secrezione del pancreas a vari stimoli da parte del glucosio. Tuttavia, a causa della sua complessità, l'uso di questo modello è confinato ai soli fini di simulazione.

3.2 Stima della secrezione di insulina tramite deconvoluzione

[1]

Si consideri ora il problema di dover esaminare il profilo di secrezione dell'insulina "in vivo" durante una perturbazione, avendo accesso solamente ai dati relativi al plasma, quali la concentrazione di insulina nella zona periferica. Si tratta di un problema di stima dell'ingresso al quale va applicata

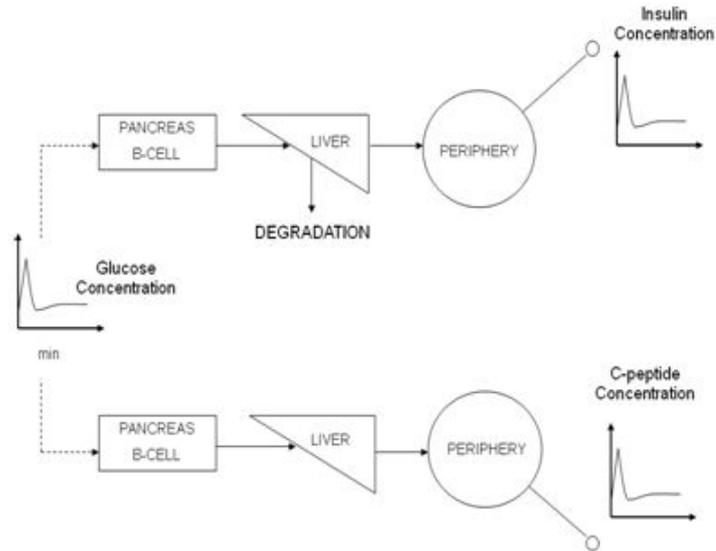


Figura 3.6: Il C-peptide presente nel plasma riflette la secrezione pancreatica, mentre l'insulina nel plasma riflette solo la secrezione postepatica.[1]

la tecnica di deconvoluzione. Tuttavia, non è possibile stimare la secrezione del pancreas a partire dalla concentrazione di insulina nel plasma, in quanto, come già precedentemente detto, circa il 50% dell'insulina secreta viene metabolizzata dal fegato. Per ovviare a questo problema si procede con la misurazione della concentrazione di C-peptide, molecola secreta equimolarmente all'insulina, con un'estrazione epatica trascurabile (Figura 3.6). In altre parole, la concentrazione di C-peptide nel plasma riflette ottimamente la secrezione pancreatica dello stesso, che a sua volta coincide con la secrezione di insulina.

La relazione tra SR e concentrazione del C-peptide (CP) è data dall'integrale di convoluzione:

$$CP(t) = \int_{-\infty}^t h(t - \tau)SR(\tau) d\tau \quad (3.6)$$

dove h è la risposta in concentrazione all'iniezione di un bolo di C-peptide. Il profilo di SR durante una perturbazione può quindi essere ricostruito risolvendo il problema inverso, derivando cioè SR tramite deconvoluzione, avendo come dati noti CP e h . La conoscenza della risposta impulsiva h è quindi un prerequisito che richiede un esperimento aggiuntivo, caratterizzato dalla

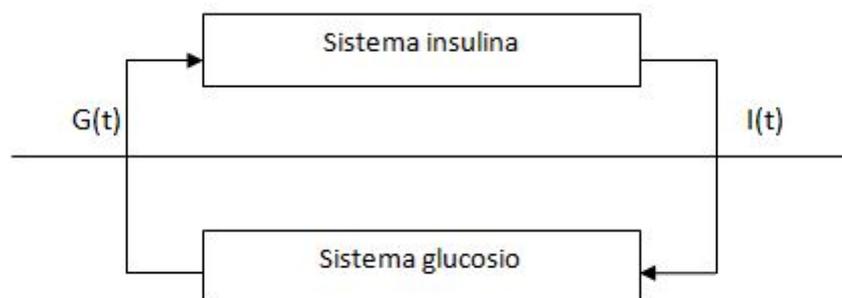


Figura 3.7: Scomposizione del sistema glucosio-insulina.[2]

somministrazione di un bolo di C-peptide con contemporanea infusione di somatostatina al fine di inibire la secrezione endogena della molecola.

3.3 Modello strutturale

[1]

Si è visto come la deconvoluzione permetta di ricostruire il profilo di secrezione dell'insulina durante una perturbazione. Tuttavia, è di fondamentale importanza completare questa informazione con la definizione di indici di sensibilità delle cellule β al glucosio, tramite un modello strutturale di secrezione dell'insulina. Questi indici permettono di quantificare il ruolo delle cellule β , del fegato e dei tessuti periferici nel metabolismo di un individuo. E' facilmente intuibile come il sistema glucosio-insulina richieda di postulare un modello ad anello chiuso data la forte interconnessione tra i processi. Per semplificare l'analisi, tuttavia, sono state sviluppate varie tecniche che "aprono" l'anello, come quello basato su un modello strutturale di secrezione di insulina durante un test che genera una determinata perturbazione. Il meccanismo di feedback glucosio-insulina è attivo durante la perturbazione, ma l'anello viene aperto "mentalmente" suddividendo l'intero sistema in due sottosistemi (Figura 3.7) collegati dalle misure di concentrazione del glucosio ed insulina. I due sottosistemi possono quindi essere modellati separatamente. Per il modello di secrezione dell'insulina, il glucosio è l'ingresso noto del sistema, mentre l'insulina è l'uscita. Il modello minimo presentato nel prossimo capitolo si fonda su queste assunzioni ed è basato sui dati relativi al C-peptide tramite IVGTT (TOFFOLO ET AL. 1995).

Capitolo 4

Il modello minimo del C-Peptide

4.1 Modello cinetico del C-Peptide

[1]

Poiché il modello di secrezione dell'insulina si basa sulle misurazioni di concentrazione del C-peptide nel plasma, è necessario definire un modello cinetico di questa molecola. Il modello è stato proposto da EATON ET AL. nel 1980 ed è mostrato in Figura 4.1.

Il compartimento 1, accessibile per le misurazioni, rappresenta il plasma e i tessuti a scambio rapido, mentre il compartimento 2 i tessuti a scambio lento con il plasma. Le equazioni del modello sono:

$$\begin{cases} \dot{CP}_1(t) = -(k_{21} + k_{01})CP_1(t) + k_{12}CP_2(t) + SR(t) & CP_1(0) = CP_{1b} \\ \dot{CP}_2(t) = +k_{21}CP_1(t) - k_{12}CP_2(t) & CP_2(0) = CP_{2b} \\ C_1(t) = CP_1(t)/V \end{cases} \quad (4.1)$$

Dove CP_1 ($pmol$) è la quantità di C-peptide nel compartimento 1, CP_2 ($pmol$) è la quantità nel compartimento 2, k_{12} e k_{21} (min^{-1}) sono i parametri relativi al trasferimento tra compartimenti, k_{01} (min^{-1}) è la perdita irreversibile dal compartimento 1, SR ($pmol/min$) è la secrezione pancreatica che raggiunge il compartimento accessibile, V (l) è la distribuzione del volume nel compartimento accessibile.

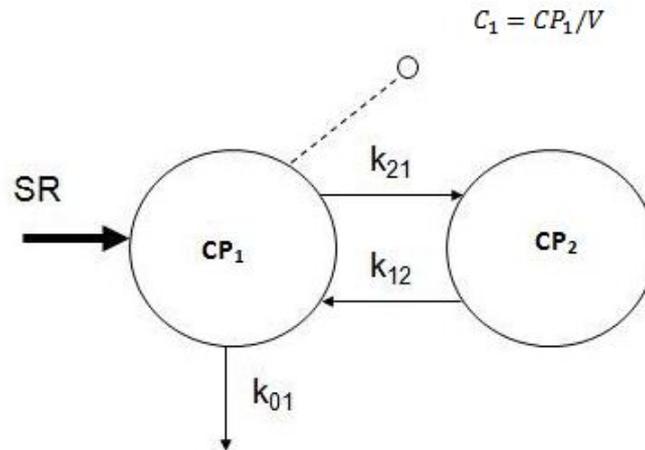


Figura 4.1: Modello a due compartimenti della cinetica del C-peptide.

4.2 Modello secrezione pancreatica

[3]

Nel corso degli anni sono stati presentati vari modelli di secrezione e ciò che cambia dall'uno all'altro è l'espressione di SR . Qui di seguito sono riportate le descrizioni del processo di secrezione relative a tre modelli: **M1**, **M2**, **M3**. In tutti e tre i modelli SR può essere espressa come la somma di due contributi: uno dovuto alla secrezione di prima fase ed uno relativo alla seconda.

$$SR(t) = SR^I(t) + SR^{II}(t) \quad (4.2)$$

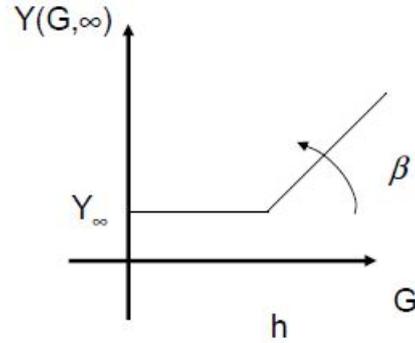
4.2.1 M1

Questo modello descrive la prima fase come un impulso di ampiezza CP_0 :

$$SR^I(t) = CP_0 \delta(t) \quad (4.3)$$

Dove $\delta(t)$ è la funzione di Dirac.

Nella seconda fase invece, la secrezione cresce linearmente con il tempo proporzionalmente alla deviazione della concentrazione di glucosio dal valore soglia h :

Figura 4.2: Rappresentazione grafica di $Y(G, \infty)$.

$$\begin{aligned} SR^{II}(t) &= \gamma[G(t) - h] & \text{se } G(t) \geq h \\ &= 0 & \text{se } G(t) < h \end{aligned} \quad (4.4)$$

4.2.2 M2

Questo modello mantiene l'espressione della secrezione di prima fase descritta da **M1**. Ciò che cambia è l'espressione della seconda fase, dove viene sfruttata l'ipotesi di immagazzinamento in pacchetti dell'insulina.

$$SR^{II}(t) = Y(t) \quad (4.5)$$

L'approvvigionamento Y è descritto come

$$\dot{Y}(t) = -\alpha[Y(G, t) - Y(G, \infty)] \quad Y(0) = Y_\infty \quad (4.6)$$

con

$$Y(G, \infty) = \begin{cases} Y_\infty & G < h \\ \beta(G - h) + Y_\infty & G \geq h \end{cases} \quad (4.7)$$

Y decade con costante di tempo α ed è stimolato dalla concentrazione di glucosio sopra una certa soglia h attraverso il parametro β .

β misura l'abilità stimolatoria del glucosio sulla secrezione dell'insulina, cioè la risposta ad un livello costante ed elevato di glucosio G .

Y_∞ è la produzione legata ad altri agenti di stimolo quali amminoacidi. Complessivamente:

$$\dot{Y}(t) = -\alpha\{Y(G, t) - \beta[G(t) - h] - Y_\infty\} \quad (4.8)$$

4.2.3 M3

Il terzo modello introduce rispetto ai primi due un ritardo tra l'approvvigionamento Y e la secrezione SR tramite la variabile di stato X , che rappresenta la quantità di C-peptide nelle cellule β . L'alzarsi della concentrazione di glucosio sopra il valore di soglia h causa un rilascio di C-peptide proporzionale ad X :

$$\begin{aligned} SR(t) &= mX(t) && \text{se } G(t) \geq h \\ &= 0 && \text{se } G(t) < h \end{aligned} \quad (4.9)$$

X è influenzato dall'approvvigionamento Y :

$$\dot{X}(t) = -SR(t) + Y(t) \quad X(0) = X_0 \quad (4.10)$$

dove Y è data da 4.8 e X_0 è la quantità di C-peptide immagazzinata nel sistema prima dello stimolo. È anche qui possibile suddividere SR nelle due componenti. La secrezione di prima fase è dovuta ad X_0 ed è descrivibile da un esponenziale decrescente:

$$SR^I(t) = mX_0e^{-mt} \quad (4.11)$$

La secrezione durante la seconda fase è il risultato dell'approvvigionamento Y e quindi è descritta dall'equazione 4.9 dove X è la soluzione dell'equazione 4.10 con $X(0) = 0$.

4.2.4 Confronto

M1 permette un buon fit dei dati quando i parametri di cinetica e secrezione sono stimati simultaneamente, tuttavia, nel momento in cui si procede con un esperimento separato per individuare i parametri cinetici, i valori di k_{21} , k_{12} e k_{01} sono significativamente differenti. **M2** ed **M3** permettono un buon fit dei dati anche quando i parametri cinetici risultano fissati da un esperimento separato e questo indica che questi due modelli forniscono una descrizione più realistica della secrezione durante la seconda fase rispetto ad **M1**. La predizione dei due modelli **M2** ed **M3** differisce in concomitanza della prima porzione della curva del C-peptide: all'istante $t = 0$, **M2** descrive un aumento troppo rapido della concentrazione dal valore basale a quello massimo

rispetto al reale, mentre **M3** riproduce bene il fronte di salita del primo picco. Ciò è dovuto al fatto che in **M3** viene introdotto un ritardo tra l'approvvigionamento e la secrezione. Sulla base di queste osservazioni **M3** è stato scelto come miglior modello nella descrizione del processo di secrezione.

4.3 Il modello minimo finale

[1][5]

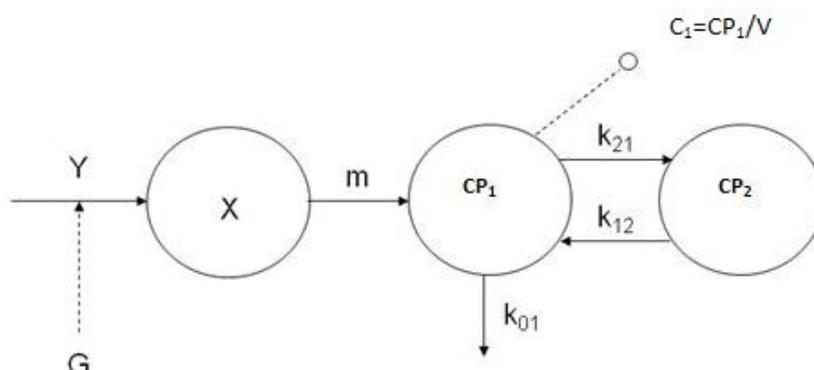


Figura 4.3: Modello minimo del C-Peptide

Il modello, complessivamente, è caratterizzato dalle seguenti equazioni:

$$\begin{cases} \dot{C}P_1(t) = -(k_{21} + k_{01})C P_1(t) + k_{12}C P_2(t) + mX(t) & C P_1(0) = C P_{1b} \\ \dot{C}P_2(t) = +k_{21}C P_1(t) - k_{12}C P_2(t) & C P_2(0) = C P_{2b} \\ \dot{X}(t) = -mX(t) + Y(G, t) & X(0) = X_0 \\ \dot{Y}(G, t) = -\alpha[Y(G, t) - Y(G, \infty)] & Y(0) = Y_\infty \\ C_1(t) = C P_1(t)/V \end{cases} \quad (4.12)$$

Le equazioni del modello (cinetico e di secrezione) sono lineari e possono essere riformulate considerando le variabili di stato come deviazioni dallo stato basale:

$$\begin{aligned}
cp_1(t) &= CP_1(t) - CP_{1b}(t) \\
cp_2(t) &= CP_2(t) - CP_{1b}(t) \\
x(t) &= X(t) - \frac{Y_\infty}{m} \\
y(t) &= Y(t) - Y_\infty
\end{aligned} \tag{4.13}$$

Da 4.13 e dalla seguente relazione in condizioni di stabilità:

$$Y_\infty = k_{01}CP_{1b} \tag{4.14}$$

il modello minimo di secrezione del C-peptide e la sua cinetica possono essere espressi, complessivamente, nel seguente modo:

$$\begin{cases}
\dot{cp}_1(t) = -(k_{21} + k_{01})cp_1(t) + k_{12}cp_2(t) + mx(t) & cp_1(0) = 0 \\
\dot{cp}_2(t) = +k_{21}cp_1(t) - k_{12}cp_2(t) & cp_2(0) = 0 \\
\dot{x}(t) = -mx(t) + y(t) & x(0) = x_0 \\
\dot{y}(t) = -\alpha[y(t) - \beta(G - h)] & y(0) = 0 \\
c_1(t) = cp_1(t)/V
\end{cases} \tag{4.15}$$

dove:

- k_{01} (min^{-1}), k_{12} (min^{-1}), k_{21} (min^{-1}) sono i parametri relativi alla cinetica del C-peptide;
- m (min^{-1}) è il coefficiente di secrezione;
- α (min^{-1}) è il coefficiente di approvvigionamento;
- β ($\frac{pM}{min\ mg}$)¹ è la sensibilità al glucosio durante la seconda fase;
- h (mg/dl) è il valore di soglia della concentrazione di glucosio;
- x_0 (pM) è la quantità di C-Peptide secreta durante la prima fase;
- V (l) è il volume relativo al compartimento cp_1 .

Dopo una opportuna riparametrizzazione, ottenuta normalizzando rispetto al volume, il modello risulta identificabile.

¹pM=pmol/litri e dl=100ml.

4.4 Secrezione ed indici di sensibilità

[5]

Una volta identificato il modello è possibile ricavare l'andamento della secrezione sfruttando la seguente equazione:

$$SR(t) = k_{01}CP_{1b} + mX(t) \quad (4.16)$$

In aggiunta al profilo della secrezione il modello permette di stimare tre indici della sensibilità del glucosio sulla prima fase, sulla seconda e sulla condizione basale di secrezione. La sensibilità relativa alla prima fase, ϕ_1 (adimensionale), è data dal rapporto tra l'incremento della quantità di C-peptide secreta durante la prima fase e il massimo incremento di concentrazione del glucosio nel plasma ΔG :

$$\phi_1 = \frac{X_0}{\Delta G} \quad (4.17)$$

La sensibilità relativa alla seconda fase, ϕ_2 (min^{-1}), dipende dal parametro β , il quale descrive l'effetto stimolatore della concentrazione di glucosio sull'approvvigionamento:

$$\phi_2 = \beta \quad (4.18)$$

In fine, la sensibilità basale al glucosio, ϕ_b (min^{-1}), è data da:

$$\phi_b = \frac{SR_b}{G_b} = \frac{k_{01}CP_{1b}}{G_b} \quad (4.19)$$

Dove G_b è la concentrazione finale di glucosio. Valori medi degli indici in un soggetto sano sono:

$$\phi_1 = 91.5 \pm 14.6 \quad \phi_2 = 11.3 \pm 1.1 \quad \phi_b = 4.11 \pm 0.45 \quad (4.20)$$

4.5 Parametri standard della cinetica

[4]

Il modello minimo presentato è affetto da carenza di precisione delle stime a causa della non univoca identificabilità. Per derivare gli indici di secrezione (α, β, h, m, x_0) sono quindi necessari due passaggi. Prima vengono stimati k_{12}, k_{21}, k_{01} e il volume di distribuzione del C-peptide V per ogni soggetto eseguendo un esperimento separato rispetto all'IVGTT. Questo esperimento aggiuntivo richiede la somministrazione in vena di C-peptide biosintetico con

infusione di somatostatina al fine di inibirne la secrezione endogena. In queste condizioni è quindi possibile determinare l'andamento temporale della concentrazione di C-peptide tramite le equazioni differenziali che ne descrivono la cinetica. Successivamente, si derivano matematicamente i parametri di secrezione. Questa procedura, richiedente due esperimenti separati, oltre ad essere molto costosa, risulta difficilmente realizzabile a causa della scarsa disponibilità di C-peptide biosintetico. Ci si può quindi chiedere se sia possibile avvalersi di parametri standard e come questi possano essere ricavati. E. Van Cauter nel 1992 ha studiato e definito i fattori che influenzano il metabolismo del C-peptide, giungendo alla definizione di formule che permettono di ottenere parametri cinetici di "popolazione". Lo studio condotto consiste nell'effettuare l'esperimento di somministrazione del C-peptide e somatostatina in un gruppo composto da individui sani, obesi e diabetici (diabete tipo 2); per ogni individuo vengono registrati anche i dati clinici quali sesso, età, peso, indice di massa corporea (BMI) e area della superficie corporea (BSA). Dai confronti sui dati ottenuti si è potuto concludere che:

- il volume di distribuzione dipende dalle misure relative all'obesità, in particolar modo dal BSA;
- la dipendenza della distribuzione dall'area di superficie corporea è più marcata negli uomini che nelle donne;
- la degradazione di C-peptide avviene più lentamente nei soggetti più anziani;
- se si tengono in considerazione i dati clinici, i parametri cinetici sono molto simili tra soggetti normali, obesi e diabetici.

Queste osservazioni indicano la necessità di tenere in considerazione i dati clinici nella determinazione dei parametri cinetici standard. Le cosiddette "formule di Van Cauter" sono riportate in Figura 4.4.

In conclusione, l'analisi condotta da Van Cauter indica che è possibile stimare i parametri di secrezione dell'insulina a partire dai dati relativi al C-peptide nel plasma, avvalendosi di parametri cinetici standard senza perdite significative in accuratezza (vedi tabella in Figura 4.5).

$$V = \begin{cases} 1.11 \cdot BSA + 2.04 & \text{women} \\ 1.92 \cdot BSA + 0.64 & \text{men} \end{cases}$$

$$k_{12} = FRA \cdot B + (1 - FRA) \cdot A$$

$$k_{21} = A + B - k_{12} - k_{01}$$

$$k_{01} = \frac{A \cdot B}{k_{12}}$$

where \longrightarrow

$BSA = \text{Body Surface Area} =$
 $= 0.007194 \cdot \text{height}^{0.725} \cdot \text{weight}^{0.425}$

$A = \begin{cases} 0.140 & \text{Normal} \\ 0.152 & \text{Obese} \end{cases}$

$B = \frac{0.6931}{0.14 \cdot \text{age} + 29.16}$

$FRA = \begin{cases} 0.76 & \text{Normal} \\ 0.78 & \text{Obese} \end{cases}$

Figura 4.4: Formule di Van Cauter.

#	INDIVIDUAL				POPULATION			
	k_{01} (min^{-1})	k_{21} (min^{-1})	k_{12} (min^{-1})	V_1 (ml/kg)	k_{01} (min^{-1})	k_{21} (min^{-1})	k_{12} (min^{-1})	V_1 (ml/kg)
1	0,074	0,050	0,056	56,7	0,060	0,052	0,050	60,9
2	0,071	0,049	0,052	47,1	0,060	0,051	0,050	55,3
3	0,053	0,045	0,047	76,9	0,058	0,053	0,049	71,5
4	0,069	0,061	0,056	52,3	0,061	0,051	0,050	59,7
5	0,051	0,062	0,056	71,6	0,059	0,052	0,050	67,8
6	0,071	0,067	0,065	53,0	0,060	0,051	0,050	51,3
7	0,055	0,047	0,064	54,3	0,060	0,051	0,050	58,7
Mean	0,064	0,054	0,056	58,8	0,060	0,052	0,050	60,7
SE	0,004	0,004	0,002	4,2	0,0003	0,0003	0,0001	2,6

Figura 4.5: Confronto tra parametri individuali e standard.

Capitolo 5

SAAM II

5.1 Implementazione del modello

In questo capitolo viene proposta l'implementazione del modello minimo del C-Peptide (Figura 4.3) in SAAM II, al fine di ricavare i parametri di secrezione tramite IVGTT. Questo software permette di creare sistemi di equazioni differenziali ordinarie a partire dalla struttura del modello compartimentale. Inoltre, è possibile simulare sul modello protocolli relativi a svariati e complessi esperimenti. Il modello può poi essere risolto dal software ed è possibile effettuare il fit. Il modello minimo del C-Peptide realizzato con SAAM II è riportato in Figura 5.1.

L'azione di controllo del glucosio sull'approvvigionamento è resa utilizzando la *forcing function* \mathbf{FF} , strumento messo a disposizione dal software nel momento in cui è necessario rappresentare elementi che guidano e regolano il sistema, ma di cui non interessa il sistema in sé. Nel caso in studio, il sistema del glucosio è considerato noto e ciò che interessa è l'effetto che esso ha sul processo di secrezione (condizione ad "anello aperto"). È quindi necessario un ulteriore compartimento $\mathbf{q4}$ dove viene definita la *forcing function*:

$$FF = \text{lin}(G) - h \quad (5.1)$$

La funzione $\text{lin}()$ invoca in SAAM II l'interpolatore al fine di calcolare i valori relativi al glucosio anche in corrispondenza di istanti temporali in cui il dato non viene campionato. In assenza di questa operazione l'applicazione non è in grado di calcolare i valori intermedi, necessari per l'integrazione.

I coefficienti di trasferimento sono così definiti:

- $k(5, 4) = \alpha\beta$;

- $k(0, 5) = \alpha$;
- $k(1, 3) = m$;
- $k(0, 1), k(1, 2), k(2, 1)$ sono i parametri cinetici calcolati tramite le formule di Van Cauter e sono quindi prefissati.

L'input **ex1** è dato in ingresso al compartimento x e consiste nell'approvvigionamento y e nella concentrazione iniziale x_0 .

s1 è la misurazione effettuata nel compartimento accessibile **q1** ed è data da

$$s1 = q1 + cp_b \quad (5.2)$$

Il sistema è normalizzato rispetto al volume, quindi **s1** tiene conto solamente del valore basale cp_b .

Di seguito è riportata l'analisi effettuata sui dati relativi a cinque soggetti sani e cinque affetti da IFG. Per ogni soggetto sono riportate le seguenti tabelle:

Tabella dei dati: contiene le informazioni note, cioè i valori di concentrazione del glucosio e del C-Peptide in diversi istanti successivi alla somministrazione del bolo.

Tabella dei parametri stimati: a partire dai dati, risolvendo il modello ed elaborando il fit, si ottengono i valori medi stimati dei parametri di secrezione x_0, α, h, β, m . Per ogni parametro è definito il coefficiente di variazione, cioè l'indice di dispersione e della precisione della stima così definito:

$$CV(\tilde{p}) = \frac{SD(\tilde{p})}{\tilde{p}} \times 100 \quad (5.3)$$

dove SD è la deviazione standard della stima \tilde{p} relativa al parametro p .

Tabella dei parametri fissi: riporta i valori dei parametri cinetici calcolati tramite le formule di Van Cauter (vedi Figura 4.4), evitando la necessità di un esperimento separato per la loro determinazione.

Tabella degli indici di secrezione: utilizzando le formule 4.17, 4.18 e 4.19 vengono calcolati gli indici di sensibilità basale e quelli relativi alla prima e seconda fase. Nel calcolo degli indici, al fine di renderli confrontabili con i valori standard (4.20), è necessario moltiplicare ciascun risultato per il fatto di conversione $\frac{1}{0,05551}$ che permette di passare da mg/dl a $mmol/l$. Inoltre, gli indici vengono moltiplicati per un valore di 10^9 , convertendo $pmol$ in $mmol$.

Oltre alle tabelle sono riportati per ogni soggetto i grafici relativi al fit e l'andamento dei residui. A titolo esemplificativo sono rappresentati anche due grafici (uno relativo al soggetto 1 normale e uno relativo al soggetto 1 affetto da IFG) del profilo di secrezione, ricavati utilizzando la formula (4.16).

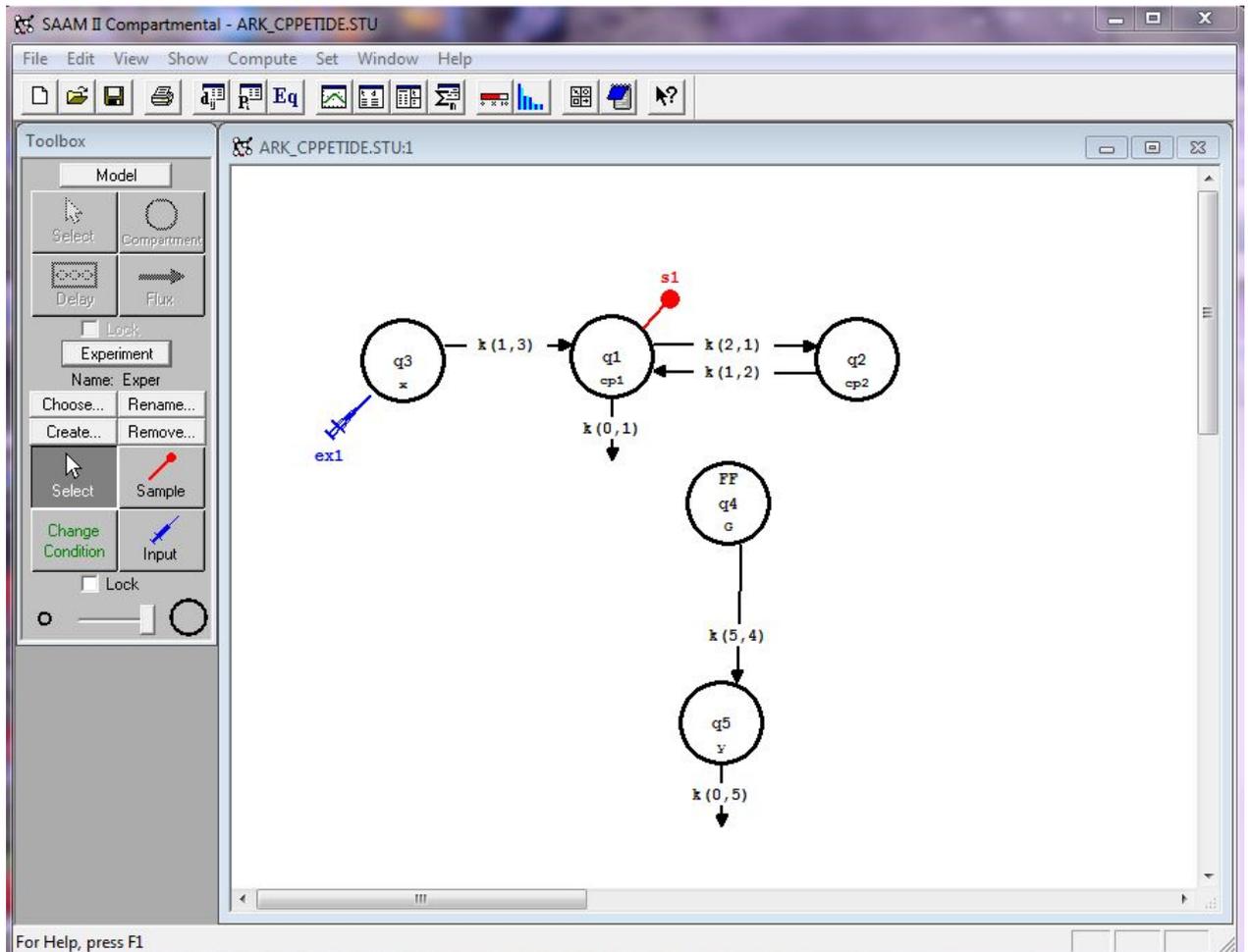


Figure 5.1: Implementazione del modello in SAAM II

5.2 Soggetti normali

5.2.1 Soggetto 1

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	94,968	650	49,219
2	254,915	660	49,352
4	281,906	2400	88,091
6	260,913	2400	88,091
8	248,917	2400	88,091
10	232,922	2300	85,381
15	219,927	2300	85,381
20	205,931	2200	82,704
22	188,937	2000	77,460
25	187,937	2000	77,460
26	180,940	1900	74,900
28	169,943	1900	74,900
31	173,942	2100	80,062
35	153,949	1900	74,900
45	124,958	1800	72,388
60	90,970	1300	60,745
75	76,974	1100	56,657
90	74,975	850	52,178
120	80,973	680	49,623
180	83,972	520	47,649

Tabella 5.1: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	5161,6	14
α (min ⁻¹)	0,123	166
h (mg/dl)	148,693	35
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	0,216	71
m (min ⁻¹)	0,074	19

Tabella 5.2: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min ⁻¹)	0,052
k_{12} (min ⁻¹)	0,047
k_{21} (min ⁻¹)	0,059

Tabella 5.3: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10 ⁻⁹)	497,4	14
Φ_2 (10 ⁻⁹ min ⁻¹)	3,9	166
Φ_b (10 ⁻⁹ min ⁻¹)	6,4	—

Tabella 5.4: Indici Secrezione

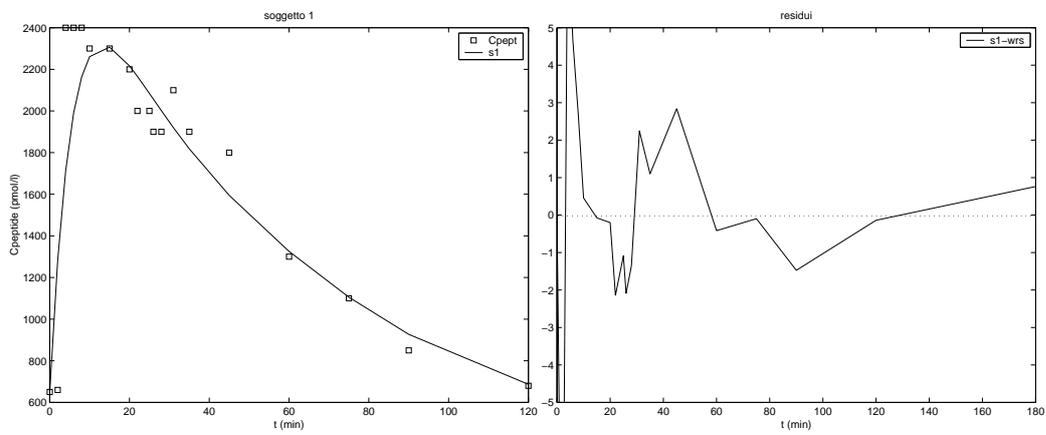


Figura 5.2: Plot e residui Soggetto 1

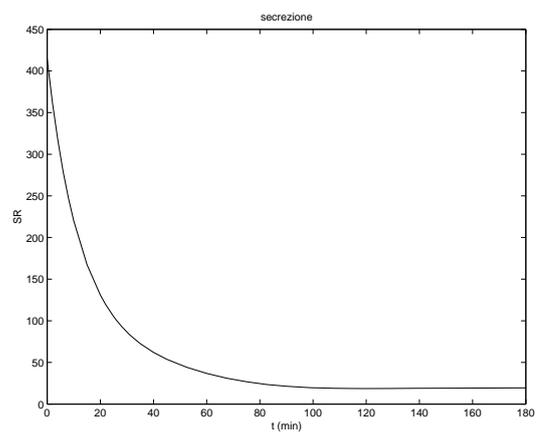


Figura 5.3: Secrezione Soggetto 1

5.2.2 Soggetto 2

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	354.882	2000	77,460
2	327.391	2500	90,830
4	299.9	3000	104,881
6	269.91	2900	102,029
8	236.921	2500	90,830
10	247.917	3100	107,750
15	225.925	3000	104,881
20	211.929	3100	107,750
22	207.931	3060	106,600
25	201.933	3000	104,881
26	195.935	2900	102,029
28	193.935	3000	104,881
31	177.941	2800	99,197
35	125.958	2900	102,029
45	176.941	2800	99,197
60	150.95	2700	96,385
75	107.964	2500	90,830
90	101.966	2300	85,381
120	96.968	1900	74,900
180	86.971	1600	67,528

Tabella 5.5: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	1052,4	23
α (min^{-1})	0,183	40
h (mg/dl)	128,691	2
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	0,787	6
m (min^{-1})	0,489	52

Tabella 5.6: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min^{-1})	0,051
k_{12} (min^{-1})	0,047
k_{21} (min^{-1})	0,059

Tabella 5.7: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10^{-9})	689,6	23
Φ_2 ($10^{-9}min^{-1}$)	14,2	6
Φ_b ($10^{-9}min^{-1}$)	5,2	—

Tabella 5.8: Indici Secrezione

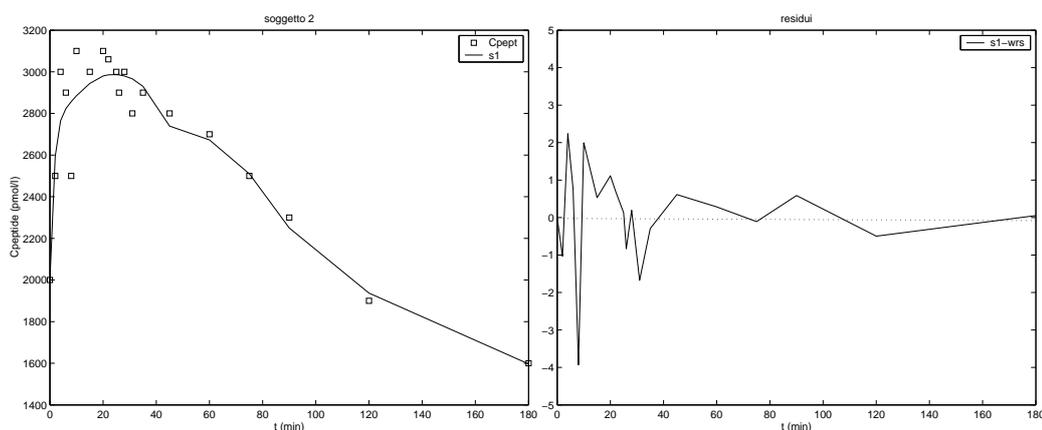


Figura 5.4: Plot e residui Soggetto 2

5.2.3 Soggetto 3

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	91,969	1200	58,652
2	361,879	3100	107,750
4	390,870	5100	167,362
6	288,904	4000	134,164
8	275,908	3600	122,311
10	255,915	3300	113,534
15	232,922	3300	113,534
20	215,928	3100	107,750
22	210,930	3100	107,750
25	201,933	2900	102,029
26	201,933	3000	104,881
28	194,935	2800	99,197
31	180,940	2900	102,029
35	172,942	2700	96,385
45	145,951	2700	96,385
60	120,960	2600	93,595
75	102,966	2100	80,062
90	91,969	1900	74,900
120	79,973	1400	62,929
180	67,977	1400	62,929

Tabella 5.9: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	4576,5	4
α (min^{-1})	0,150	32
h (mg/dl)	83,550	6
β ($\frac{pM}{min \cdot dl}$)	0,721	6
m (min^{-1})	0,405	11

Tabella 5.10: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min^{-1})	0,058
k_{12} (min^{-1})	0,048
k_{21} (min^{-1})	0,064

Tabella 5.11: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10^{-9})	275,8	4
Φ_2 ($10^{-9}min^{-1}$)	13,0	6
Φ_b ($10^{-9}min^{-1}$)	3,2	—

Tabella 5.12: Indici Secrezione

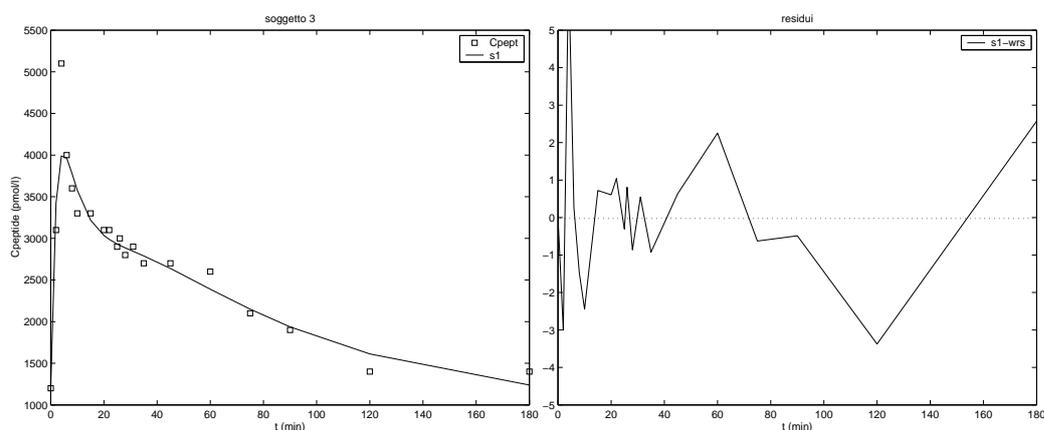


Figura 5.5: Plot e residui Soggetto 3

5.2.4 Soggetto 4

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	89,970	610	48,704
2	426,858	870	52,506
4	389,870	1000	54,772
6	328,890	1300	60,745
8	265,911	1700	69,929
10	248,917	1700	69,929
15	223,925	1600	67,528
20	210,930	1500	65,192
22	201,933	1400	62,929
25	197,934	1600	67,528
26	195,935	1500	65,192
28	192,936	1400	62,929
31	190,936	1500	65,192
35	182,939	1600	67,528
45	149,950	1700	69,929
60	119,960	1700	69,929
75	110,963	1550	66,351
90	101,966	1400	62,929
120	82,972	1200	58,652
180	65,978	820	51,695

Tabella 5.13: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	2313,5	14
α (min^{-1})	0,038	31
h (mg/dl)	84,920	11
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	0,631	15
m (min^{-1})	0,093	21

Tabella 5.14: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min^{-1})	0,051
k_{12} (min^{-1})	0,047
k_{21} (min^{-1})	0,059

Tabella 5.15: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10^{-9})	123,7	14
Φ_2 ($10^{-9}min^{-1}$)	11,4	15
Φ_b ($10^{-9}min^{-1}$)	6,2	—

Tabella 5.16: Indici Secrezione

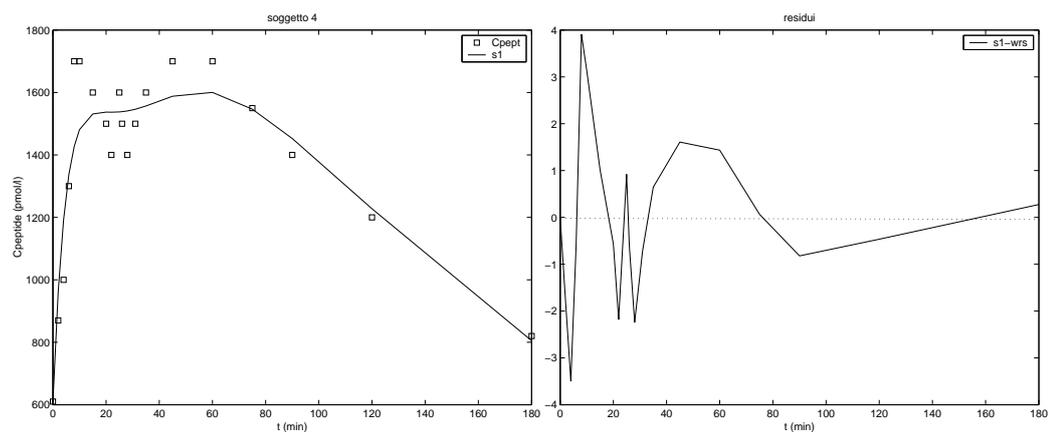


Figura 5.6: Plot e residui Soggetto 4

5.2.5 Soggetto 5

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	95,968	1100	56,657
2	439,853	1500	65,192
4	370,876	2400	88,091
6	317,894	2100	80,062
8	293,902	2000	77,460
10	275,908	2000	77,460
15	256,914	2200	82,704
20	236,921	2300	85,381
22	230,923	2400	88,091
25	228,924	2400	88,091
26	222,926	2400	88,091
28	217,927	2400	88,091
31	210,930	2500	90,830
35	200,933	2500	90,830
45	164,945	2700	96,385
60	132,956	2700	96,385
75	112,962	2500	90,830
90	98,967	2100	80,062
120	78,974	1600	67,528
180	69,977	1000	54,772

Tabella 5.17: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	1751,2	10
α (min ⁻¹)	0,058	10
h (mg/dl)	98,725	5
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	1,091	3
m (min ⁻¹)	0,248	21

Tabella 5.18: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min ⁻¹)	0,058
k_{12} (min ⁻¹)	0,048
k_{21} (min ⁻¹)	0,064

Tabella 5.19: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10 ⁻⁹)	91,7	10
Φ_2 (10 ⁻⁹ min ⁻¹)	19,7	10
Φ_b (10 ⁻⁹ min ⁻¹)	12,0	—

Tabella 5.20: Indici Secrezione

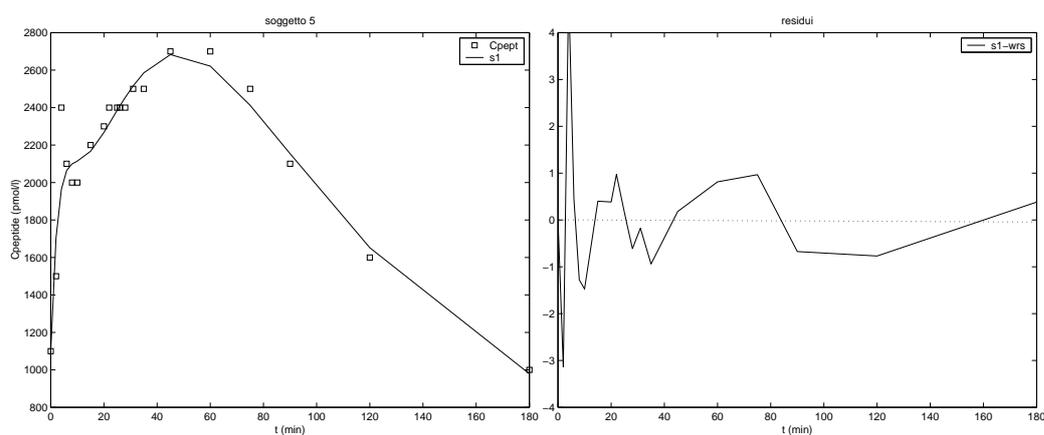


Figura 5.7: Plot e residui Soggetto 5

5.3 Soggetti IFG

5.3.1 Soggetto 1

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	109,963	790	51,226
2	355,881	890	52,840
4	314,895	2000	77,460
6	287,904	1800	72,388
8	272,909	1800	72,388
10	258,914	1800	72,388
15	240,920	1800	72,388
20	222,926	1900	74,900
22	220,926	1900	74,900
25	209,930	1900	74,900
26	206,931	1900	74,900
28	197,934	1900	74,900
31	191,936	1800	72,388
35	178,940	1800	72,388
45	147,951	1800	72,388
60	118,960	1400	62,929
75	101,966	1300	60,745
90	90,970	990	54,590
120	87,971	770	50,921
180	87,971	550	47,984

Tabella 5.21: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	2571,6	30
α (min^{-1})	0,170	57
h (mg/dl)	127,228	8
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	0,528	20
m (min^{-1})	0,106	40

Tabella 5.22: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min^{-1})	0,054
k_{12} (min^{-1})	0,048
k_{21} (min^{-1})	0,057

Tabella 5.23: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10^{-9})	188,4	30
Φ_2 ($10^{-9}min^{-1}$)	9,5	20
Φ_b ($10^{-9}min^{-1}$)	7,0	—

Tabella 5.24: Indici Secrezione

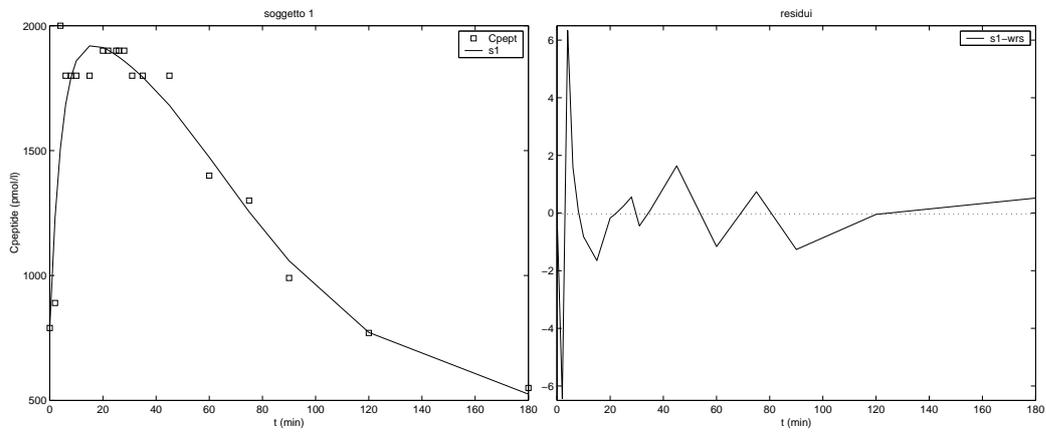


Figura 5.8: Plot e residui Soggetto 1

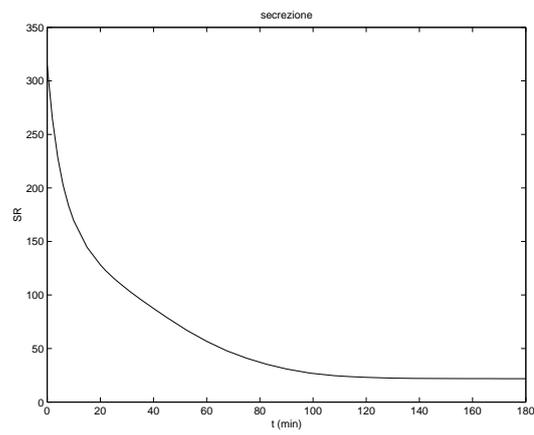


Figura 5.9: Secrezione Soggetto 1

5.3.2 Soggetto 2

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	98,967	460	47,028
2	278,907	560	48,100
4	266,911	720	50,184
6	239,920	750	50,621
8	224,925	730	50,328
10	218,927	760	50,770
15	206,931	830	51,855
20	196,934	850	52,178
22	195,935	850	52,178
25	193,935	890	52,840
26	191,936	890	52,840
28	186,938	880	52,673
31	181,939	910	53,180
35	173,942	940	53,699
45	156,948	970	54,230
60	144,952	1100	56,657
75	127,957	1100	56,657
90	120,960	1100	56,657
120	105,965	950	53,875
180	87,971	760	50,770

Tabella 5.25: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	813,6	31
α (min^{-1})	0,041	33
h (mg/dl)	86,142	16
β ($\frac{pM}{min} \frac{dl}{mg}$)	0,527	24
m (min^{-1})	0,098	48

Tabella 5.26: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min^{-1})	0,058
k_{12} (min^{-1})	0,047
k_{21} (min^{-1})	0,052

Tabella 5.27: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10^{-9})	81,5	31
Φ_2 ($10^{-9}min^{-1}$)	9,5	24
Φ_b ($10^{-9}min^{-1}$)	4,4	—

Tabella 5.28: Indici Secrezione

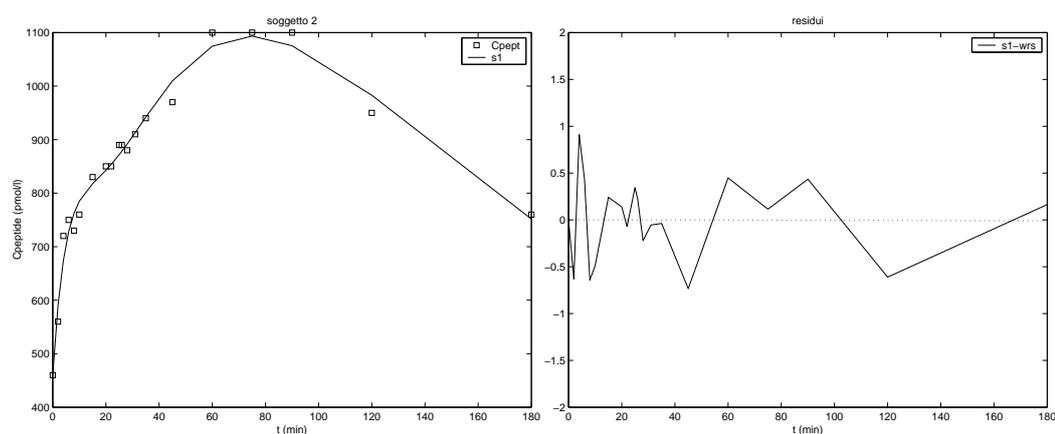


Figura 5.10: Plot e residui Soggetto 2

5.3.3 Soggetto 3

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	118,960	480	47,227
2	399,867	560	48,100
4	304,898	900	53,009
6	281,906	880	52,673
8	256,914	970	54,230
10	255,915	970	54,230
15	234,922	1100	56,657
20	220,926	1100	56,657
22	215,928	1100	56,657
25	215,928	1100	56,657
26	209,930	940	53,699
28	204,932	1100	56,657
31	196,934	1100	56,657
35	193,935	1100	56,657
45	164,945	1200	58,652
60	136,954	1200	58,652
75	116,961	1100	56,657
90	102,966	940	53,699
120	86,971	800	51,381
180	74,975	560	48,100

Tabella 5.29: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	1322,1	29
α (min^{-1})	0,067	32
h (mg/dl)	91,111	11
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	0,397	12
m (min^{-1})	0,093	41

Tabella 5.30: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min^{-1})	0,054
k_{12} (min^{-1})	0,047
k_{21} (min^{-1})	0,057

Tabella 5.31: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10^{-9})	84,8	29
Φ_2 ($10^{-9}min^{-1}$)	7,2	12
Φ_b ($10^{-9}min^{-1}$)	3,9	—

Tabella 5.32: Indici Secrezione

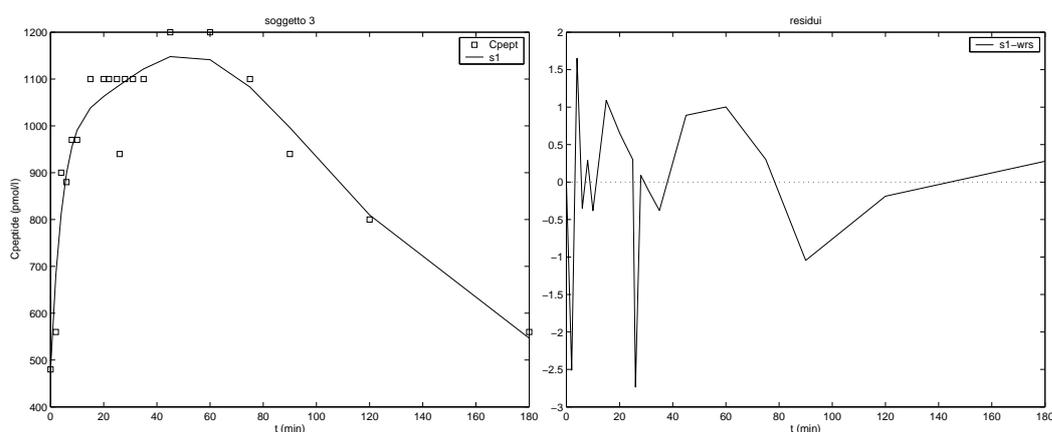


Figura 5.11: Plot e residui Soggetto 3

5.3.4 Soggetto 4

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	110,963	940	53,699
2	34,189	960	54,052
4	324,892	1400	62,929
6	288,904	1400	62,929
8	278,907	1300	60,745
10	262,912	1300	60,745
15	248,917	1600	67,528
20	241,919	2000	77,460
22	229,923	2000	77,460
25	196,934	1900	74,900
26	224,925	1800	72,388
28	220,926	2200	82,704
31	214,928	2200	82,704
35	203,932	2200	82,704
45	176,941	2400	88,091
60	156,948	2100	80,062
75	138,954	2300	85,381
90	125,958	2000	77,460
120	107,964	1500	65,192
180	82,972	1000	54,772

Tabella 5.33: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	638,8	55
α (min ⁻¹)	0,093	33
h (mg/dl)	107,745	3
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	0,987	6
m (min ⁻¹)	0,181	91

Tabella 5.34: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min ⁻¹)	0,054
k_{12} (min ⁻¹)	0,048
k_{21} (min ⁻¹)	0,057

Tabella 5.35: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10 ⁻⁹)	49,8	55
Φ_2 (10 ⁻⁹ min ⁻¹)	17,8	6
Φ_b (10 ⁻⁹ min ⁻¹)	8,2	—

Tabella 5.36: Indici Secrezione

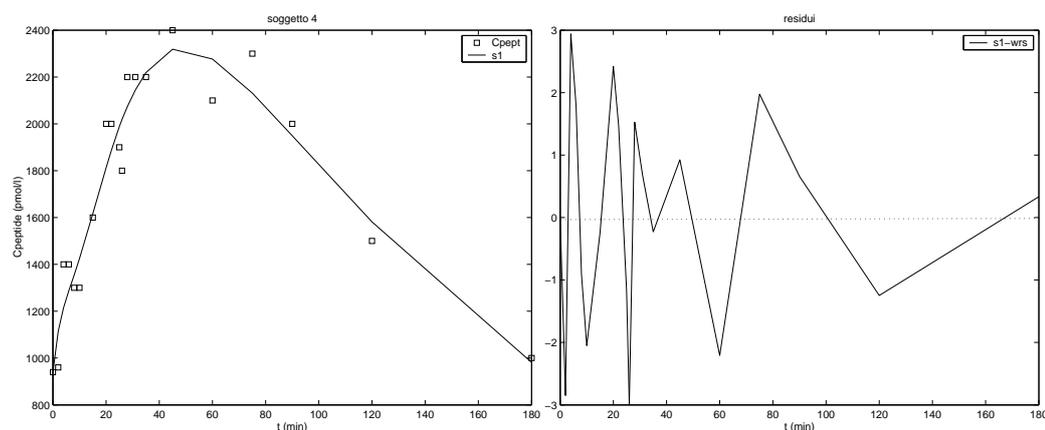


Figura 5.12: Plot e residui Soggetto 4

5.3.5 Soggetto 5

t (min)	G (mg/100ml)	C-Peptide (pmol/l)	SD
0	117,961	480	47,227
2	405,865	530	47,759
4	325,891	640	49,088
6	288,904	550	47,984
8	279,907	680	49,623
10	268,910	600	48,580
15	246,918	760	50,770
20	241,919	920	53,352
22	237,921	900	53,009
25	230,923	820	51,695
26	232,922	830	51,855
28	223,925	940	53,699
31	219,927	910	53,180
35	209,930	1100	56,657
45	192,936	1100	56,657
60	165,945	1100	56,657
75	149,950	1100	56,657
90	140,953	1100	56,657
120	118,960	990	54,590
180	95,968	690	49,760

Tabella 5.37: Dati

Parametro	stima	CV%
x_0 (pM)	149,6	61
α (min^{-1})	0,050	28
h (mg/dl)	94,94	12
β ($\frac{pM}{min \cdot mg}$)	0,443	15
m (min^{-1})	0,5	17

Tabella 5.38: Parametri di secrezione

Parametro	Valore
k_{01} (min^{-1})	0,056
k_{12} (min^{-1})	0,048
k_{21} (min^{-1})	0,055

Tabella 5.39: Parametri fissi

Indice	Valore	CV%
Φ_1 (10^{-9})	9,4	61
Φ_2 ($10^{-9}min^{-1}$)	8	15
Φ_b ($10^{-9}min^{-1}$)	4,1	—

Tabella 5.40: Indici Secrezione

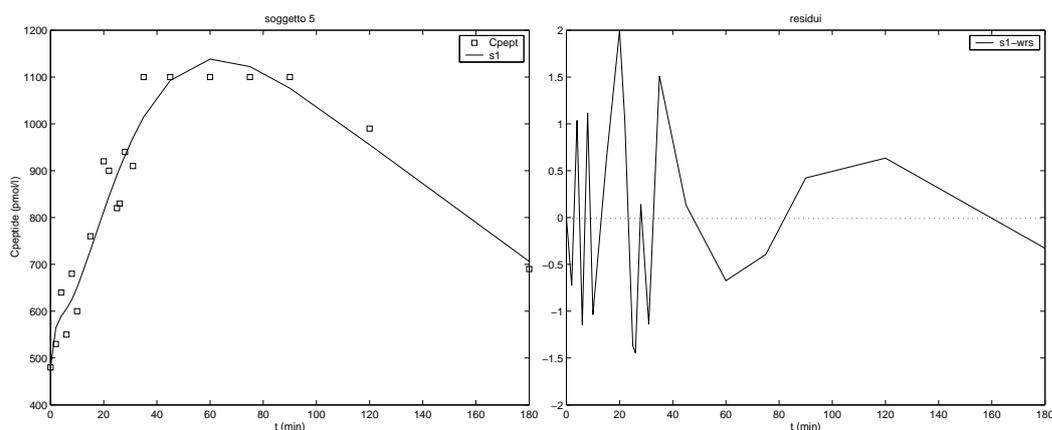


Figura 5.13: Plot e residui Soggetto 5

5.4 Conclusioni

Indipendentemente dal caso in esame (soggetto normale o soggetto IFG), è possibile fare una prima analisi della bontà dei risultati dell'identificazione.

Per quanto riguarda i residui, dalla teoria è noto che essi devono essere il più possibile scorrelati, a media nulla e per la maggior parte di ampiezza compresa tra -1 e 1. Osservando i grafici relativi ai residui di ciascun soggetto, esclusa la porzione iniziale, si nota una buona concordanza con la teoria. È necessario sottolineare che, trattandosi di dati biologici, è impossibile ottenere precisioni elevate. Negli istanti immediatamente successivi alla somministrazione del bolo previsto dall'IVGTT, la situazione è critica per quanto riguarda le misurazioni: si tratta di una fase di forte instabilità ed ecco perché i residui ad essa associati si discostano molto dai valori teorici. La precisione delle stime numeriche è data dai coefficienti di variazione che a parte qualche caso eccezionale, assumono valori abbastanza buoni. Anche in questo caso, l'impossibilità di avere coefficienti di variazione più piccoli è dovuta alle condizioni di svolgimento dell'esperimento.

Viste le considerazioni precedenti è possibile comprendere anche il perché dell'assenza del profilo bifasico nella secrezione di C-Peptide. L'IVGTT è un esperimento che permette di mettere in evidenza ed analizzare la prima fase di secrezione, mentre la seconda non viene rilevata a causa dei campionamenti a intervalli temporali troppo elevati per poter apprezzare piccole variazioni di concentrazione. Passando ad un confronto tra i risultati relativi ai soggetti normali e quelli associati ai soggetti affetti da IFG è possibile osservare che:

- La quantità x_o ($pmol/l$) di C-Peptide secreta durante la prima fase è maggiore nei soggetti normali;
- Il parametro di secrezione m (min^{-1}), la costante di approvvigionamento α (min^{-1}) e la sensibilità alla seconda fase di secrezione β (min^{-1}) sono generalmente inferiori nei soggetti caratterizzati da IFG;
- Il valore di soglia h ($mg/100ml$) relativo alla concentrazione di glucosio è maggiore nei casi di IFG;

Se si osserva l'andamento della concentrazione di C-Peptide, si nota un aumento iniziale molto rapido nei soggetti normali, mentre nei casi IFG si ha un ritardo nel raggiungimento del picco iniziale, dovuto ad un rallentamento della fase di secrezione. I coefficienti cinetici k_{01}, k_{12}, k_{21} , calcolati tramite le formule di Van Cauter, come previsto dalla teoria, assumono valori molto simili in ciascun soggetto.

Bibliografia

- [1] Ewart Carson, Claudio Cobelli: *Capitolo 11, Modelling Methodology for Physiology and Medicine*; New York, Academic Press, 2000 .
- [2] Ewart Carson, Claudio Cobelli: *Introduction to Modeling in Physiology and Medicine*; Academic Press, 2007.
- [3] Gianna Toffolo, Fabio De Grandi, Claudio Cobelli: *Estimation of β -Cell Sensitivity From Intravenous Glucose Tolerance Test C-Peptide Data*. Diabetes, vol 44, July 1995.
- [4] Eve Van Cauter, Fabienne Mestrez, Jeppe Sturis, Kenneth S. Polonsky: *Estimation of Insulin Secretion Rates from C-Peptide Levels*. Dabetes, vol 41, March 1992.
- [5] Gianna Toffolo, William T. Cefalu, Claudio Cobelli: *β -Cell Function During Insulin-Modified Intravenous Glucose Tolerance Test Successfully Assessed by the C-Peptide Minimal Model*. Metabolism, vol 48, No 9 (September), 1999: pp 1162-1166.
- [6] Francesca Parise: *Proprietà di stabilità di modelli compartimentali lineari*, 22 novembre 2010.