

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**FACOLTÀ DI INGEGNERIA**

Dipartimento di Ingegneria dell' Informazione

Corso di Laurea in Ingegneria Biomedica  
TESI DI LAUREA

**Modellizzazione della secrezione di insulina  
delle cellule  $\beta$**

Implicazioni per l' omeostasi del glucosio a catena chiusa

***Laureando:***

Umberto Genovese

Matricola 1004627

umberto.genovese@studenti.unipd.it

***Relatore:***

Professor Ferrante Augusto

A.A. 2013/2014

***Ringraziamenti:***

*Al relatore, professor Augusto Ferrante*

*A Giovanni Zambello*

*A Alberto Pellizzon*

# Indice

<b>1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Fisiologia del sistema glucosio - insulina</b>	<b>3</b>
2.1	L' insulina e i suoi effetti metabolici . . . . .	3
2.2	Secrezione dell' insulina . . . . .	4
2.3	Regolazione del glucosio plasmatico . . . . .	5
<b>3</b>	<b>Modellizzazione</b>	<b>7</b>
3.1	Analisi del modello di secrezione . . . . .	7
3.2	Modello a singolo compartimento dell' insulina . . . . .	8
3.3	Modello minimo del glucosio . . . . .	8
<b>4</b>	<b>Simulazioni a ciclo chiuso</b>	<b>10</b>
<b>5</b>	<b>Risultati</b>	<b>12</b>
5.1	Picchi iperglicemici del glucosio . . . . .	12
5.2	Simulazioni modello minimo . . . . .	13
<b>6</b>	<b>Linearizzazione del modello e studio della stabilità</b>	<b>16</b>
<b>7</b>	<b>Discussione e conclusioni</b>	<b>19</b>

# 1 Introduzione

Avanzamenti nella percezione del glucosio e nella tecnologia di infusione di insulina possono essere potenzialmente utilizzati per sviluppare un sistema di secrezione di insulina a circuito chiuso automatizzato. Idealmente, un tale sistema calcola il tasso di somministrazione di insulina che dovrebbe ricreare uno stato di *omeostasi*, cioè dei normali profili fisiologici che sono tipicamente osservati in individui con tolleranza al glucosio nella norma e con cellule  $\beta$  sane. A questo fine, capire come le cellule  $\beta$  sane mantengano tale tolleranza può fornire preziose indicazioni su come un sistema artificiale dovrebbe rispondere ai cambiamenti del glucosio. In definitiva, un modello che caratterizza la secrezione insulinica delle cellule  $\beta$  in funzione del glucosio potrebbe costituire la base di un algoritmo che collega un sensore del glucosio ad una pompa dell'insulina. Tuttavia, se un tale modello dovesse essere adattato a questo scopo, il caratteristico comportamento sotto circuito chiuso deve pertanto essere considerato applicabile.

Quando si opera a circuito chiuso, la struttura del modello di secrezione determina come il sistema dovrebbe rispondere ai cambiamenti repentini, dovuti ad esempio ai pasti e all'esercizio fisico, e ai cambiamenti del soggetto. Le variazioni del soggetto che influenzano il comportamento a ciclo chiuso, includono i cambiamenti della sensibilità dell'insulina ( $SI$ ) e le variazioni del tasso di comparsa del glucosio endogeno ( $R_a$ ). Molte proprietà a ciclo chiuso possono essere dedotte dalla struttura del modello delle cellule  $\beta$  di per sé, mentre altre sono determinate sia dalla struttura del modello di secrezione sia dalla struttura ipotizzata dell'intero sistema <sup>1</sup>.

Ad oggi, pochi modelli sono stati proposti per quantificare la risposta insulinica delle cellule  $\beta$  in funzione della glicemia. Di questi, quello sviluppato dal professor Cobelli e colleghi è forse quello che la caratterizza meglio. Questo modello, qui chiamato SD, separa la risposta di secrezione in una componente statica e una dinamica. La componente dinamica ( $SR_D$ ) reagisce al tasso di aumento del glucosio plasmatico ed è 0 quando il livello di glucosio è stabile o in diminuzione. La componente statica ( $SR_S$ ) fornisce una risposta con ritardo all'aumento del glucosio plasmatico. Il modello SD ha dimostrato di interpretare bene la risposta secretoria delle cellule  $\beta$  durante cambiamenti fisiologici relativamente lenti della glicemia <sup>2</sup>.

Nel presente studio è stata indagata anche la capacità del suddetto modello di adattare la secrezione insulinica dinamica durante una più rapida dinamica del glucosio osservata sotto il picco iperglicemico, insieme alle sue proprietà nell'ipotesi che l'azione dell'insulina sia caratterizzata dal modello minimo della cinetica del glucosio. Il modello SD è stato confrontato con un altro modello di secrezione fisiologica dell'insulina, il cosiddetto PID. Questo secondo modello descrive la risposta in termini di un elemento proporzionale senza ritardi ( $P$ ), una componente integrale che regola la liberazione basale in pro-

---

<sup>1</sup>Cioè le ipotesi di base per quanto riguarda la dinamica di azione dell'insulina.

<sup>2</sup>Ad esempio, il test di tolleranza al glucosio orale o un'infusione graduale di glucosio.

porzione alla iper/ipoglicemia ( $I$ ) e una componente derivativa che risponde al tasso di variazione del glucosio ( $D$ ). Entrambi i modelli sono stati valutati per la loro capacità di interpretare la secrezione delle cellule  $\beta$  durante i normali picchi glicemici, e per quella di creare e mantenere condizioni di *omeostasi* a digiuno durante cambiamenti simulati nella sensibilità dell' insulina ( $SI$ ) e nel tasso di comparsa di glucosio endogeno ( $R_a$ ).

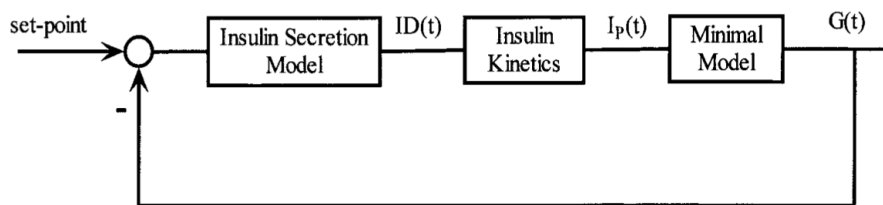


Figura 1: **Ciclo chiuso.** Da sinistra, il blocco del modello di secrezione è rappresentanto dai corrispettivi controllori  $SD$  e  $PID$  (Eq. (1) e (2), paragrafo 3.1), a seconda della simulazione, la cinetica di insulina dall' equazione (3), paragrafo 3.2 ed il modello minimo dall' equazione (4), paragrafo 3.3.

## 2 Fisiologia del sistema glucosio - insulina

### 2.1 L' insulina e i suoi effetti metabolici

Oltre a svolgere funzioni digestive, il pancreas secerne importanti ormoni, quali insulina e glucagone, destinati a svolgere azioni essenziali per la regolazione del metabolismo glucidico, lipidico e proteico.

L' insulina è il principale ormone ipoglicemizzante ed ha il compito di ridurre efficacemente la glicemia attraverso numerose azioni sul fegato, muscolatura e tessuto adiposo. I suoi effetti comportano la stimolazione dell'assorbimento sistemico di glucosio su tessuti insulino-dipendenti (principalmente tessuto muscolare e adiposo) e l' attivazione di pathway metabolici intracellulari che portano alla sintesi di glicogeno, trigliceridi (sostanze di deposito) e proteine<sup>3</sup>, nonché all' inibizione di processi epatici come glicogenolisi e gluconeogenesi.

Il processo di risposta dell' insulina ad un aumento del glucosio plasmatico mira a ristabilire il normale equilibrio fisiologico, uniformando il livello della glicemia a quello basale, nella cosiddetta condizione di *omeostasi*.

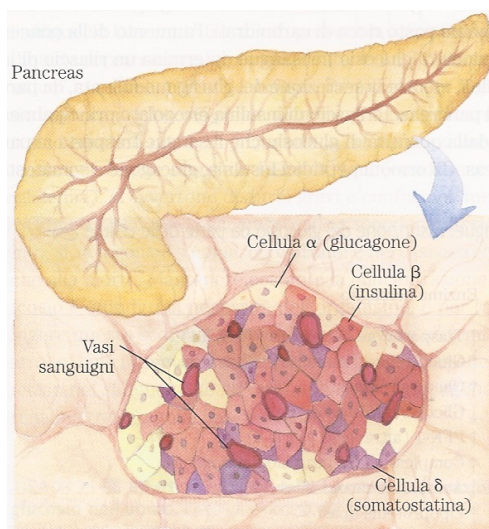


Figura 2: **Sistema endocrino del pancreas.** Oltre alle cellule esocrine, che secernono gli enzimi digestivi sotto forma di zimogeni, il pancreas ha anche un tessuto endocrino costituito dalle isole del Langherans. Queste contengono cellule  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\delta$  (note anche come cellule A,B e C, rispettivamente), ognuna delle quali secerne uno specifico ormone peptidico.

<sup>3</sup>Funzione anabolizzante dell' insulina.

## 2.2 Secrezione dell' insulina

Nel periodo postprandiale l'intestino immette nel flusso sanguigno il glucosio appena assimilato determinando un picco glicemico che scatena il rilascio di insulina da parte del pancreas. Questo rilascio è regolato principalmente dalla quantità di glucosio che il sangue trasporta al pancreas ed è attuato dalla componente endocrina di tale organo (isole del Langerhans, figura 2). Deputata al controllo metabolico, la componente endocrina comprende le succitate cellule  $\beta$ , promotrici della produzione e secrezione di insulina <sup>4</sup>.

Come mostrato in figura 3, quando la concentrazione di glucosio nel sangue aumenta, ① il glucosio viene convogliato immediatamente, tramite il trasportatore di membrana GLUT2, all'interno delle cellule  $\beta$  del pancreas dove l'aumento della velocità del catabolismo del glucosio ② causa un incremento della concentrazione di ATP che porta alla chiusura dei canali per il  $K^+$  ATP-dipendenti della membrana plasmatica. In questo modo la membrana si depolarizza, con l'effetto di indurre la cellula a secernere per esocitosi l'insulina direttamente nel flusso ematico.

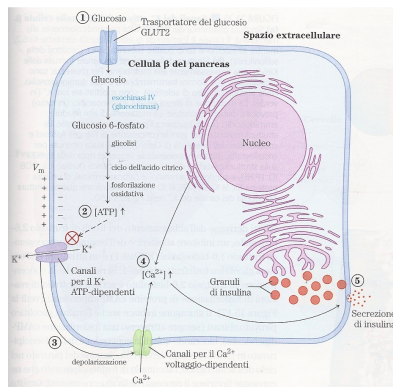


Figura 3: *Regolazione della secrezione di insulina ad opera delle cellule  $\beta$  del pancreas in base alla concentrazione di glucosio nel sangue.* Quando i livelli di glucosio nel sangue sono alti, l'attivazione del metabolismo del glucosio nelle cellule  $\beta$  del pancreas porta all'incremento della concentrazione intracellulare di ATP. L'aumento di ATP all'interno della cellula provoca la chiusura dei canali per il  $K^+$  sulla membrana plasmatica, depolarizzando. In risposta al cambiamento del potenziale elettrico di membrana, si aprono i canali per il  $Ca^{2+}$  voltaggio-dipendenti consentendo l'ingresso degli ioni calcio nella cellula. (Il  $Ca^{2+}$  viene rilasciato anche dal reticolo endoplasmatico, in risposta all'iniziale aumento della concentrazione di  $Ca^{2+}$  nel citosol.) L'aumento della concentrazione del calcio intracellulare porta alla liberazione dell'insulina per esocitosi.

<sup>4</sup>Da non dimenticare che tra le cellule endocrine delle isole del Langerhans fanno parte anche le cellule  $\alpha$  e  $\delta$ , destinate, rispettivamente, alla produzione di glucagone e somatostatina.

### 2.3 Regolazione del glucosio plasmatico

La concentrazione di glucosio plasmatico è regolata principalmente dal fegato che immette (o sequestra) glucosio nel sangue a seconda delle esigenze mantenendo sempre il regime di *omeostasi* glicemica. Il fegato immagazzina glucosio durante i pasti e lo rende disponibile durante il digiuno. Una disfunzione delle cellule  $\beta$  provocherebbe un'azione non corretta da parte del fegato, il quale, ora incapace di immagazzinare glucosio, permetterebbe ad esso di rimanere in circolo <sup>5</sup>.

Si inserisce, dunque, in questo contesto il pancreas, organo regolatore capace di sentire e comunicare al fegato, per via ormonale, la concentrazione glicemica. L'insulina stimola l'assunzione, il consumo e soprattutto l'immagazzinamento di glucosio nelle due forme di deposito: glicogeno e triacilgliceroli. Inibisce inoltre nel fegato la glicogenolisi e gluconeogenesi in modo che la maggior parte del glucosio venga incanalata verso l'immagazzinamento (Tabella 1).

Il glucagone, secreto durante condizioni di digiuno, stimola il rilascio di glucosio da parte del fegato inducendo i processi di glicogenolisi e gluconeogenesi (Tabella 2). I due ormoni hanno quindi effetti opposti e sono detti antagonisti; non di meno, il ruolo che entrambi ricoprono nell'intento di stabilire l'*omeostasi* glicemica all'interno dell'organismo è ugualmente rilevante.

Tabella 1: ***Effetti dell'insulina sulla concentrazione di glucosio nel sangue: assunzione del glucosio da parte delle cellule e sua trasformazione in depositi di glicogeno e trigliceridi.***

<i>Effetto metabolico</i>
↑ Assunzione di glucosio
↑ Consumo di glucosio
↑ Sintesi del glicogeno e trigliceridi
↓ Demolizione del glicogeno e degli acidi grassi (fegato, muscolo)

<sup>5</sup>Alti valori glicemici protratti nel tempo sono dannosi per l'organismo.

Tabella 2: *Effetti del glucagone sulla concentrazione di glucosio nel sangue: produzione e rilascio di glucosio da parte del fegato.*

<i>Effetto metabolico</i>
↑ Demolizione del glicogeno
↓ Sintesi del glicogeno
↑ Gluconeogenesi (fegato <sup>6</sup> )
↑ Mobilizzazione degli acidi grassi
↑ Chetogenesi (fegato)

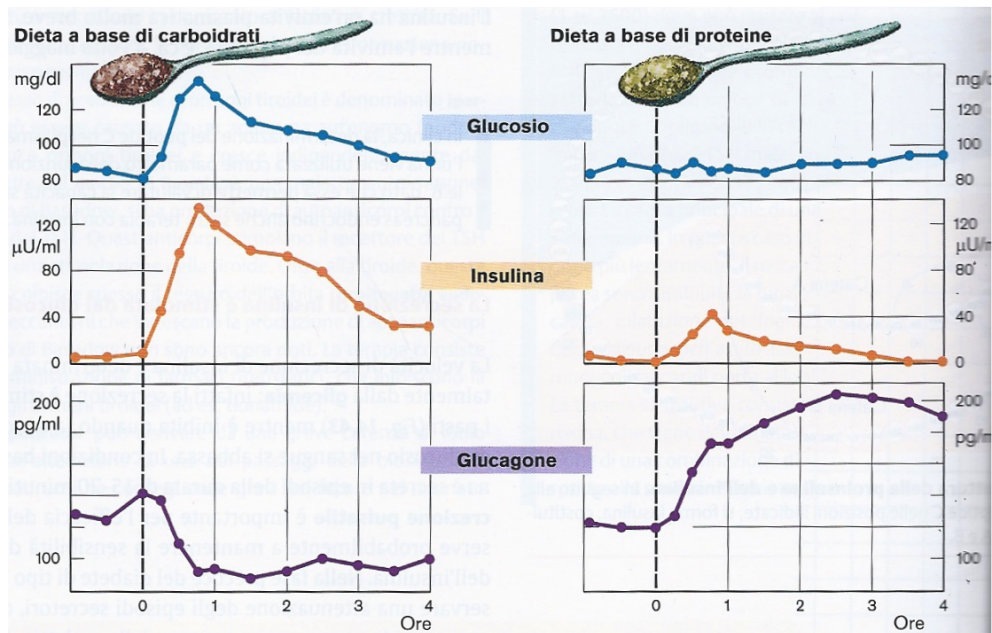


Figura 4: *Secrezione di insulina e glucagone in seguito all'assunzione di alimenti.* Una dieta esclusivamente a base di carboidrati stimola la secrezione di insulina e riduce quella di glucagone, mentre una dieta a base di proteine le stimola entrambe.

### 3 Modellizzazione

#### 3.1 Analisi del modello di secrezione

I dettagli del modello SD sono stati precedentemente riportati. In breve, il modello è composto da una risposta di secrezione statica ( $SR_S$ ) e una dinamica ( $SR_D$ ):

$$SR(t) = SR_S(t) + SR_D(t); \quad SR(0) = 0 \quad \forall t$$

dove

$$\frac{dSR_S(t)}{dt} = -\alpha\{SR_S(t) + \gamma[G(t) - h]\}; \quad SR_S(0) = \gamma(G_B - h)$$

$$SR_D(t) = \begin{cases} K_D \frac{dG(t)}{dt} & \text{if } \frac{dG(t)}{dt} > 0 \\ 0 & \text{if } \frac{dG(t)}{dt} \leq 0 \end{cases}$$

(1)

Come formulato,  $\frac{1}{\alpha}$  (*min*) determina il tempo di ritardo nella risposta statica <sup>7</sup>,  $\gamma$  ( $\mu U/min$  per  $mg/dL$ ) determina l' ampiezza della risposta statica e  $K_D$  ( $\mu U/min$  per  $mg/dL$  per  $min$ ) l' ampiezza di quella dinamica. Il valore in cui la secrezione raggiunge teoricamente lo 0 è dato da  $h$  ( $mg/dL$ ). La glicemia è stata assunta al di sotto della soglia di saturazione per la secrezione di insulina indotta dal glucosio. Il modello SD è stato confrontato con il modello PID. Quest' ultimo divide la risposta di secrezione in tre componenti: una componente proporzionale ( $P$ ) che reagisce alla differenza tra il glucosio plasmatico e il glucosio basale <sup>8</sup>, una componente integrale ( $I$ ) che reagisce alla persistente iper o ipoglicemia, e una derivativa ( $D$ ), che reagisce al tasso di variazione del glucosio plasmatico. Il modello è in parte basato sul ben noto controllore proporzionale-integrale-derivativo (PID), che è onnipresente nei sistemi di controllo industriale. Espresso come la somma delle sue singole componenti del modello è:

$$PID(t) = P(t) + I(t) + D(t); \quad PID(t) \geq 0 \quad \forall t$$

dove

$$P(t) = K_P(G - G_B)$$

$$dI(t) = \frac{K_P}{T_I}(G - G_B); \quad I(0) = I_{D_B}$$

$$D(t) = K_P T_D dG(t)$$

(2)

---

<sup>7</sup>tempo al 63% della risposta massima.

<sup>8</sup>Il set point putativo delle cellule  $\beta$  per il glucosio a digiuno.

Qui,  $K_P$  ( $\mu U/min$  per  $mg/dL$ ) determina il tasso di secrezione di insulina in risposta al glucosio sopra basale,  $T_I$  ( $min$ ) determina il rapporto tra il rilascio proporzionale ed integrale e  $T_D$  ( $min$ ) determina il rapporto tra il rilascio derivativo e quello proporzionale.

### 3.2 Modello a singolo compartimento dell' insulina

Entrambi i modelli SD e PID sono stati identificati dalla risposta dell' insulina plasmatica utilizzando un modello a singolo compartimento della liquidazione di insulina:

$$\frac{dI_p(t)}{dt} = -p_4 I_p(t) + p_5 ID(t) \quad (3)$$

Per questo modello,  $1/p_4$  definisce la costante di tempo di infusione dell' insulina ( $min$ ), mentre  $p_5$  è il reciproco del volume di distribuzione di insulina ( $V$ ; in  $mL$ ). Il termine riferito alla distribuzione di insulina ( $ID$ ) è impostato sull'  $SR(t)$  (Eq. (1)) e sul  $PID(t)$  (Eq. (2)), del paragrafo 3.1, per le rispettive identificazioni del modello. Seguendo questo approccio, il volume di distribuzione dell' insulina ( $p_5 = 1/V$ ) è non identificabile a priori ed è stato fissato sul valore di  $p_4$ . Ciò normalizza  $\gamma$ ,  $K_D$  (modello SD) e  $K_P$  (modello PID) al tasso di infusione dell' insulina (in  $mL/min$ ). I valori assoluti per questi parametri possono essere ottenuti adattando le stime sulla liquidazione di insulina evincibili dalla letteratura.

### 3.3 Modello minimo del glucosio

Per studiare le caratteristiche a ciclo chiuso di ogni modello, le simulazioni sono state effettuate utilizzando il modello minimo per la cinetica del glucosio:

$$\begin{cases} \frac{dG(t)}{dt} = -(GEZI + Y(t))G(t) + GEZI \cdot G_{ZI}; & G(0) = G_{ZI} \\ \frac{dY(t)}{dt} = -p_2 Y(t) + p_3 I_p(t); & Y(0) = 0 \end{cases}$$

con

$$G_{ZI} = K_{ZI} \cdot nR_a(t) \quad (4)$$

L' effetto dell' insulina sul miglioramento della liquidazione frazionaria del glucosio ( $Y(t)$ , in  $min^{-1}$ ) è espresso relativamente alla concentrazione di insulina plasmatica ( $I_p(t)$ ) ed è comunemente ritenuto proporzionale all' insulina nel compartimento remoto di fluido interstiziale. Il tasso con cui l' insulina entra nel compartimento remoto ( $p_3$ , in  $min^{-2}$  per  $\mu U/mL$ ) e il tasso con cui essa viene eliminata dal vano ( $p_2$ , in  $min^{-1}$ ) ne determinano la sensibilità ( $SI = p_3/p_2$ , in  $min^{-1}$  per  $\mu U/mL$ ). L' effetto del glucosio nell' aumentare

il suo assorbimento e sopprimere la comparsa di glucosio endogeno è stato espresso come "effetto glucosio a zero insulina" (*GEZI*). Il glucosio a zero insulina ( $G_{ZI}$ ) si è assunto in crescita con il tasso netto di comparsa del glucosio ( $nR_a(t)$ ) definito come l'equilibrio del glucosio epatico netto a zero glucosio meno l'assorbimento del glucosio a zero glucosio ( $B_0 - R_{d0}$  nella notazione di Bergman e al.).

## 4 Simulazioni a ciclo chiuso

I modelli di secrezione di insulina sono stati combinati con il modello di liquidazione dell' insulina (Paragrafo 3.2 , eq. (3)) e il modello minimo (Paragrafo 3.3, eq. (4)) per formare un sistema a circuito chiuso (Fig. 1). Le simulazioni sono state eseguite assumendo un livello iniziale di glucosio nel plasma ( $G_{ZI}$ ) di 150 ( $mg/dL$ ), un  $GEZI$  di 1/60 ( $min$ ), un tasso costante per l' azione dell' insulina ( $p_2$ ) di 1/30 ( $min$ ) e tasso costante di liquidazione dell' insulina ( $p_4$ ) di 1/5 ( $min$ ). Sotto le condizioni di ciclo chiuso, la secrezione di insulina, il guadagno di secrezione di insulina e la sensibilità dell' insulina ( $SI$ ) appaiono soltanto in combinazione <sup>9</sup>. Simulazioni in cui si è assunta la sensibilità dell' insulina variabile hanno determinato dei cambiamenti in  $p_3$ .

Per il modello SD, il glucosio in stato stazionario è funzione sia del guadagno di secrezione ( $\gamma$ ), sia del parametro di intercettazione del glucosio ( $h$ ). Così, per stabilire la normale concentrazione di glucosio nel sangue nelle simulazioni ( $G_B = 100 mg/dL$ ),  $h$  è stato calcolato dalle relazioni in stato stazionario delle equazioni (1), (3), e (4):

$$h = G_B - GEZI \left[ \frac{G_{ZI}}{G_B} - 1 \right] \frac{p_2 p_4}{p_3 p_5} \frac{1}{\gamma} \quad (5)$$

Per le simulazioni in cui gamma è stato cambiato, il rapporto  $\gamma/K_D$  ( $min$ ) si è tenuto costante. Una volta stabilita l' *omeostasi*, sono state valutate le suddette risposte a ciclo chiuso relative alle diminuzioni della sensibilità dell' insulina <sup>10</sup> e agli aumenti del tasso di apparizione del glucosio endogeno <sup>11</sup>.

Oltre alle simulazioni del modello, un' analisi della stabilità del sistema è stata eseguita utilizzando l' approccio del luogo delle radici (*Root Locus*). Questo metodo, brevemente descritto nel paragrafo 6, valuta l' effetto di aumentare il guadagno del sistema ( $\gamma \frac{p_3 p_5}{p_2 p_4}$ ), o alterare i tassi costanti definiti in ciascuno dei componenti di figura 1. Brevemente, ciascun componente viene contrassegnato dai propri parametri nella cinetica ad anello aperto (parametri le cui unità di misura siano  $min^{-1}$ ); tuttavia, il sistema a ciclo chiuso è caratterizzato da un diverso insieme di parametri e un requisito per la stabilità è che questi siano stabili <sup>12</sup>.

L' analisi mediante luogo delle radici è stata effettuata utilizzando le routine disponibili in Matlab (MathWorks Inc.). I grafici dell' andamento temporale di glucosio e insulina, invece, sono stati implementati in Simulink (MathWorks Inc.).

<sup>9</sup>Cioè, raddoppiando la secrezione di insulina e diminuendo la sensibilità dell' insulina di un fattore 2 non ha alcun effetto sulla risposta a ciclo chiuso del glucosio a condizione che i tassi costanti  $p_2$  e  $p_4$  non cambino.

<sup>10</sup>50% di riduzione in  $p_3$  con  $p_2$  costante.

<sup>11</sup>Un' aumento del 50% in  $G_{ZI}$ .

<sup>12</sup>Detta stabilità è determinata dal luogo delle radici; vedi paragrafo 6.



## 5 Risultati

Tabella 3: *Parametri identificati usando il modello SD (eq. (1)) e il modello PID (eq. (2)).*

<i>Model, parameter</i>	<i>values</i>
SD	
$\gamma$ ( $\mu U/min$ per $mg/dL$ )	$0.76 \pm 0.15$ (29.0%)
$1/\alpha$ ( $min$ )	$89.9 \pm 24$ (28.1%)
$K_D$ ( $\mu U/min$ per $mg/dL$ per $min$ )	$6.6 \pm 2.8$ (15.2%)
$h$ ( $mg/dL$ )	$92.5 \pm 8.1$ (9.8%)
PID	
$K_P$ ( $\mu U/min$ per $mg/dL$ )	$0.17 \pm 0.05$ (24.3%)
$T_I$ ( $min$ )	$98.8 \pm 34.5$ (14.4%)
$T_D$ ( $min$ )	$37.6 \pm 9.4$ (14.7%)

### 5.1 Picchi iperglicemici del glucosio

Entrambi i modelli PID e SD (Paragrafo 3.1, eq. (1) e (2)) interpretano bene il profilo di secrezione delle cellule  $\beta$  durante i picchi. I parametri del modello PID sono stati, comunque, costantemente identificati con FSD inferiori (Tabella 3). In aggiunta ai parametri del modello di secrezione, è stata anche identificata la costante di tempo di liberazione di insulina ( $1/p_4$  in eq. (4), paragrafo 3.3). Questa costante di tempo non era diversa quando identificata con il modello PID e l' SD (5  $min$ ). Degli altri parametri del modello, la sola coppia direttamente confrontabile è  $K_D$  nel modello SD e il prodotto di  $K_P$  e  $T_D$  nel modello PID. Anche questi non erano differenti (6.67 *vs* 6.39  $\mu U/ml$  per  $mg/dL$  per  $min$ ). La concentrazione di insulina allo stato stazionario basale stimata dal modello SD tendeva ad essere superiore al livello misurato (fig. 6), ma i valori medi non erano significativamente differenti (7,91 *vs* 6,98  $\mu U/mL$ ). Per il modello PID, il rilascio di insulina basale è stato determinato dalla condizione iniziale dell' integratore ( $I(0)$  in Paragrafo 3.1, eq. (2)).

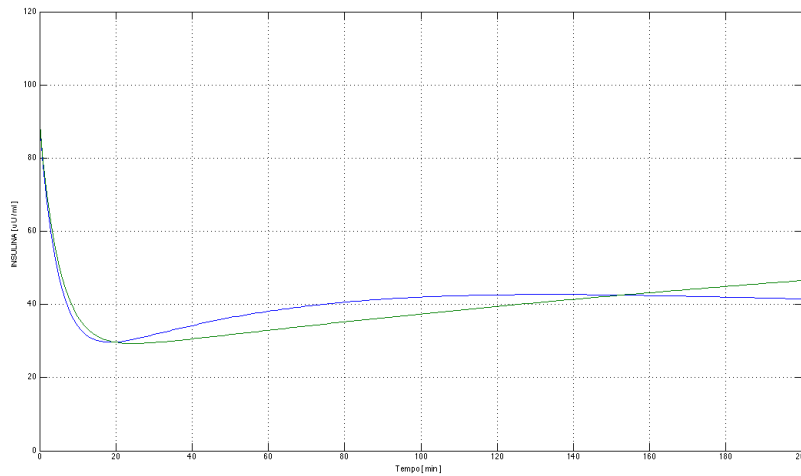


Figura 6: *Insulina plasmatica durante i picchi iperglicemici. In blu il modello SD, in verde il PID.*

## 5.2 Simulazioni modello minimo

Per valutare il comportamento dei modelli in condizioni di simulazione a ciclo chiuso, il diagramma a blocchi di figura 1 è stato utilizzato con parametri di secrezione definiti in tabella 3. Varie simulazioni sono state effettuate con ciascun modello sotto crescenti guadagni di secrezione. Per il sistema sotto controllo SD,  $h$  è stato calcolato in ogni simulazione in modo da raggiungere il tasso basale desiderato (fig.7); sotto il controllo PID la normale concentrazione basale di glucosio nel sangue è stata raggiunta indipendentemente dal guadagno del sistema (fig.8). Il guadagno massimo senza sottomodulazioni<sup>13</sup> (linee continue blu in fig.7 e 8) è stato determinato in ciascun caso, e le simulazioni sono state ripetute ad un mezzo, due e cinque volte questo guadagno. Per il modello SD questo ha reso  $h$  pari a  $-89$  (guadagno massimo senza sottoelongazione),  $-277$  (a metà del guadagno),  $6$  (al doppio del guadagno), e  $62$  ( $mg/dL$ ) (a cinque volte il guadagno). Per i sistemi che operano a guadagno massimo senza sottoelongazione, il PID ad anello chiuso ha simulato una normalizzazione più rapida (fig.9).

<sup>13</sup>Senza undershoot.

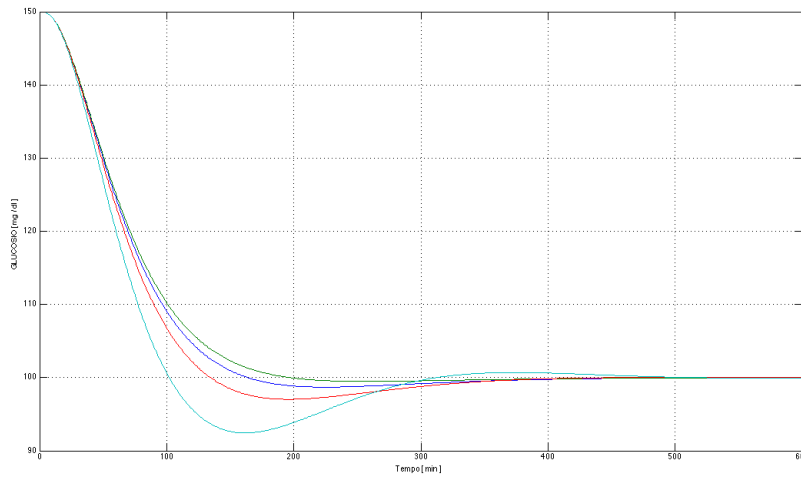


Figura 7: *Stabilità del modello minimo sotto il controllo SD, al variare di  $\gamma$* : blu, guadagno massimo senza sottoelongazione; verde, un mezzo del guadagno; rosso, doppio del guadagno; azzurro, cinque volte il guadagno.

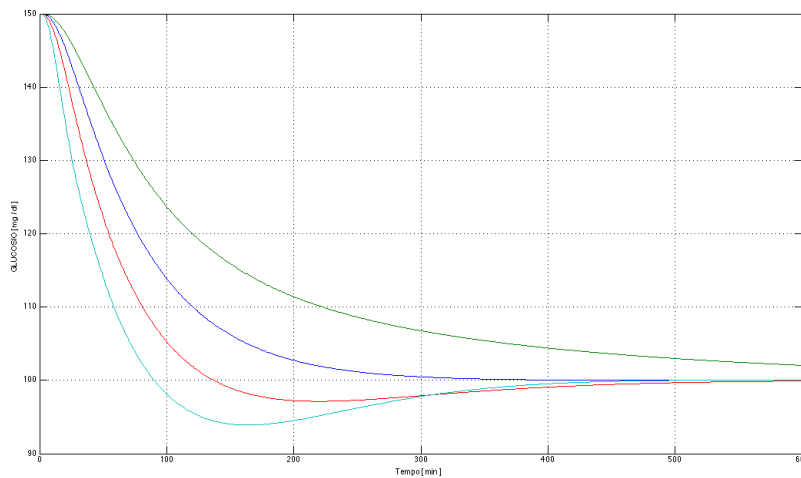


Figura 8: *Stabilità del modello minimo sotto il controllo PID, al variare di  $K_D$* : blu, guadagno massimo senza sottoelongazione; verde, un mezzo del guadagno; rosso, doppio del guadagno; azzurro, cinque volte il guadagno.

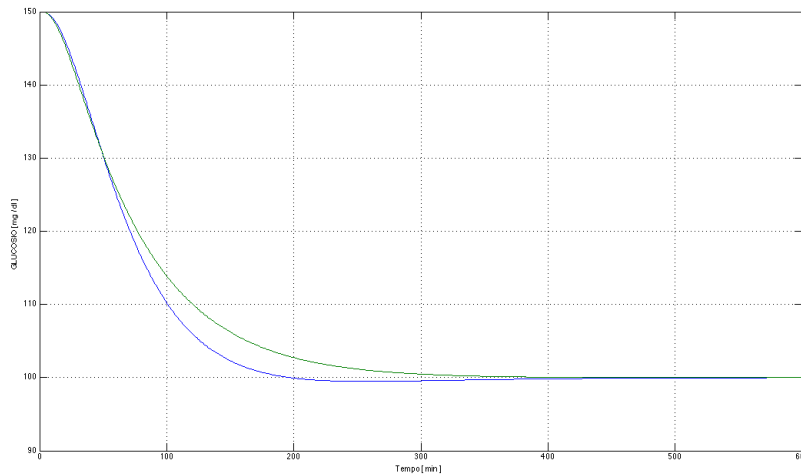


Figura 9: *Comparazione a guadagno critico: blu, modello SD; verde, modello PID.*

Sebbene entrambi i modelli siano riusciti a normalizzare il livello di glucosio al livello basale desiderato (fig.9), il modello SD ha richiesto che il parametro  $h$  venisse registrato per ciascun cambiamento del guadagno di secrezione statica. Sotto condizione di anello chiuso, il guadagno della secrezione è moltiplicato per il coefficiente di liquidazione ( $p_5$ ) e l'effetto dell'insulina nel modello minimo ( $p_3$ ). Dunque, i cambiamenti in entrambi questi parametri affliggeranno lo stato stazionario del modello SD in condizione di ciclo chiuso così come porterà cambiamenti nella produzione di glucosio endogeno. Per studiare questi fenomeni, i risultati della simulazione di figura 9 sono stati estesi per includere le condizioni in cui la sensibilità dell'insulina del soggetto diminuisce del 50% (riduzione di  $p_3$  con  $p_2$  invariato; fig.12) e dove il tasso di produzione di glucosio endogeno aumenta del 50% ( $G_{ZI}$  aumenta del 50%; fig.11). Ogni simulazione è stata eseguita utilizzando il guadagno massimo senza sottomodulazioni stabilite in Figura 9. In tutti i casi il modello di secrezione PID normalizza nuovamente il glucosio a digiuno in un periodo di 12h (simile ad una notte di digiuno). Al contrario, le stesse modifiche hanno comportato l'iperglicemia sistemica quando viene controllato utilizzando il modello SD.

## 6 Linearizzazione del modello e studio della stabilità

Il rapporto tra il guadagno e la stabilità del sistema può essere valutato utilizzando il metodo del luogo delle radici. L'analisi richiede che venga derivata una forma linearizzata del modello minimo e che le equazioni del sistema rimanenti (Eq. (1), (2) paragrafo 3.1, (3) paragrafo 3.2 e (4) paragrafo 3.3) siano trasformate in funzioni nel dominio  $s$  (trasformata di Laplace). Un' approssimazione lineare del modello minimo può essere ottenuta adattando la risposta al gradino dell' insulina plasmatica ad un modello dinamico di secondo ordine (Eq. (A1)). Questa approssimazione risulta evidente in un modello lineare, con costanti di tempo  $1/a_1$  e  $1/a_2$  entrambe uguali a  $33 \text{ min}$  e un guadagno linearizzato e  $K$  ( $G/I_p$ ) pari a  $3,3 \text{ mg/dL per } \mu\text{U/mL}$ :

$$\frac{G}{I_p} = \frac{a_1 a_2 K}{(s+a_1)(s+a_2)} \quad (\text{A1})$$

Il modello linearizzato è valido soltanto nell' intervallo di  $150 - 100 \text{ mg/dL}$  di glucosio con limitazioni meno stringenti se approssimato con un guadagno inferiore e costanti di tempo maggiori. La trasformata di Laplace per le restanti equazioni del modello è:

$$\begin{aligned} \frac{SD}{(G-h)} &= K_D \frac{(s^2 + \alpha s + \frac{\gamma}{K_D})}{(s+\alpha)} \quad (\text{rise}) \\ \frac{SD}{(G-h)} &= \frac{\gamma}{(s+a)} \quad (\text{fall}) \end{aligned} \quad (\text{A2})$$

$$\frac{PID}{(G-G_B)} = K_P \frac{(T_I T_D s^2 + T_I s + 1)}{s} \quad (\text{A3})$$

$$\frac{I_p}{ID} = \frac{p_5}{(s+p_4)} \quad (\text{A4})$$

Le equazioni A1-A4 formano un sistema a circuito chiuso completo con poli a circuito aperto, ovunque ci sia un denominatore uguale a 0 (ad esempio,  $s = -p_4$  in eq. (A4)) e zeri a circuito aperto, ovunque ci sia un numeratore uguale a 0 (ad esempio,  $s = (-T_I \pm \sqrt{T_I^2 - 4T_I T_D}) / (2T_I T_D)$  in eq. (A3)). Generalmente,  $s$  è un numero complesso, e le posizioni di zeri e poli sono tracciate nel cosiddetto "piano  $s$ ". In condizione di anello chiuso, ogni polo del sistema ad anello aperto si muove lungo un percorso caratteristico determinato dal guadagno del sistema; in specifico, i poli si muovono dalle loro posizioni

ad anello aperto verso un corrispondente 0<sup>14</sup>. Sistemi in cui tutti i poli si trovino sull'asse reale sono sovrasmorzati<sup>15</sup>. Aumentando il guadagno del sistema, i poli tendono a muoversi lungo l'asse reale per poi separarsi in quello complesso. Sistemi con poli complessi sono sottosmorzati<sup>16</sup>. Ulteriori aumenti di guadagno possono continuare a spostare i poli a ciclo chiuso verso la parte destra del piano  $s$ , in cui il sistema è instabile<sup>17</sup>. La traccia di tutti i poli del sistema a ciclo chiuso per diversi valori del guadagno del sistema è noto come luogo delle radici.

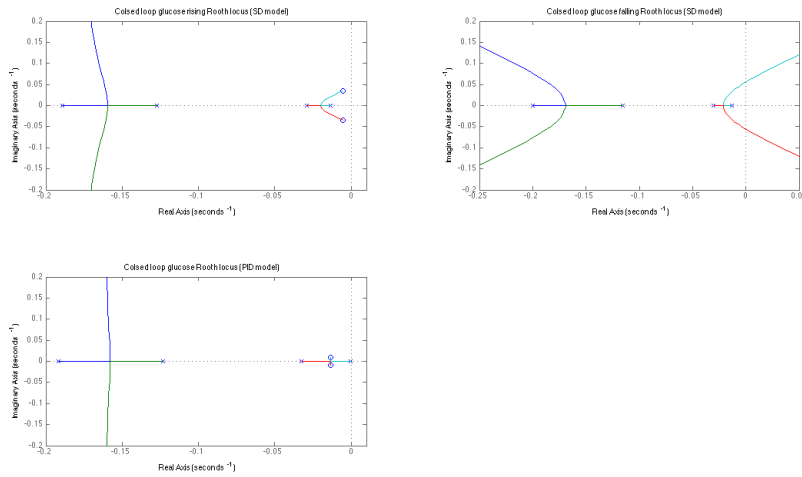


Figura 10: *Luogo delle radici ("Root Locus") del sistema di figura 1. In alto a sinistra, RL sotto il controllo SD e glucosio in crescita; in alto a destra, RL sotto il controllo SD e glucosio in calo; in basso, RL sotto il controllo PID.*

Per il sistema SD, in condizioni in cui il glucosio è in calo, si può notare che i poli del sistema a ciclo chiuso (fig.10, in alto a sinistra) possono essere visti spostarsi dalle loro posizioni ad anello aperto ( $s = -\alpha, -p_4, -a_1, -a_2$ ) lungo l'asse reale, fino a separarsi da questo, e infine passare alla destra del "piano  $s$ ". Quindi, per il controllo SD durante la caduta del glucosio aumentare il guadagno porta all'instabilità del sistema. Ciò si contrappone alla condizione

<sup>14</sup>ogni polo ha un corrispettivo 0 ad anello chiuso; nessun valore può tendere ad infinito

<sup>15</sup>non oscillanti

<sup>16</sup>oscillatori ma con oscillazioni che diminuiscono con il tempo

<sup>17</sup>oscillazioni che aumentano con il tempo

in cui il glucosio è in aumento (fig.10, in alto a sinistra), durante la quale la presenza della componente derivativa ( $K_D$ ) produce due zeri ad anello aperto, che prevengono efficacemente il passaggio del luogo alla parte destra del piano  $s$ . Così in condizioni in cui il glucosio è in aumento, il modello SD risulta stabile per tutti i guadagni del sistema a circuito chiuso. Il controllo PID è stabile per tutti i guadagni del sistema (fig.10, in basso); vincolare  $T_D < T_I/4$  può eliminare i poli complessi più vicini all'asse immaginario (cioè, impedisce  $s = (-T_I \pm \sqrt{T_I^2 - 4T_I T_D}) / (2T_I T_D)$  dall'essere complesso).

## 7 Discussione e conclusioni

Il presente studio ha valutato la capacità dei due modelli di secrezione di insulina di descrivere le dinamiche beta-cellulari durante i picchi iperglicemici, e la capacità dei modelli di stabilire e mantenere in condizioni di digiuno l'omeostasi glicemica sotto le condizioni di simulazione a ciclo chiuso del modello minimo. Entrambi i modelli di secrezione descrivono bene il profilo secretorio dell'insulina durante il picco (fig.6), ed entrambi stabilizzano i corretti livelli di glicemia a digiuno in condizioni simulate (fig.9). Tuttavia, tra i due modelli, solo il modello PID è stato in grado di adattarsi alla variabile necessità di insulina a seguito di modifiche nella sensibilità della stessa (fig.12) e nella comparsa del glucosio endogeno (fig.11).

La capacità del modello di secrezione insulinica PID di rispecchiare il profilo dell'insulina plasmatica durante i picchi iperglicemici del glucosio sostiene la tesi che la risposta bifasica dell'insulina agisce in modo analogo ad un regolatore proporzionale - integrale - derivativo. Sotto questa ipotesi, il lento aumento della seconda fase di risposta ( $I(t)$  in eq. (2), paragrafo 3.1) manterrebbe l'omeostasi glicemica a digiuno a prescindere dalle variazioni della sensibilità dell'insulina o della comparsa di glucosio endogeno. Così, l'iperglicemia a digiuno spesso osservata nei soggetti con diabete di tipo 2 richiederebbe necessariamente una falla nella seconda fase del rilascio di insulina. Questo stesso meccanismo di integrazione, potrebbe potenzialmente essere usato per stabilire i tassi di somministrazione di insulina basale nei soggetti con diabete di tipo 1 sottoposti a infusione di insulina a circuito chiuso. Ci sono due accorgimenti riguardo a queste conclusioni: (1) l'uso del picco iperglicemico come paradigma sperimentale per l'identificazione del modello di secrezione dell'insulina, e (2) l'uso del modello minimo di prevedere cambiamenti nel glucosio basale dati dei cambiamenti nell'insulina plasmatica.

Il picco iperglicemico è stato a lungo utilizzato per caratterizzare la prima e seconda fase del rilascio di insulina; tuttavia, il profilo del picco è chiaramente uno stimolo non fisiologico. Nel presente studio, entrambi i modelli, SD e PID, si adattano al profilo del picco ugualmente bene (fig.6). A questo proposito, il modello SD è stato convalidato per il test orale, più fisiologico, di tolleranza al glucosio (OGTT). Il comportamento del modello PID durante un pasto o mediante OGTT, e nelle condizioni in cui il glucosio cala molto rapidamente (post-picco), dovrà dunque essere valutato affinché vengano accertate le ipotesi di secrezione insulinica.

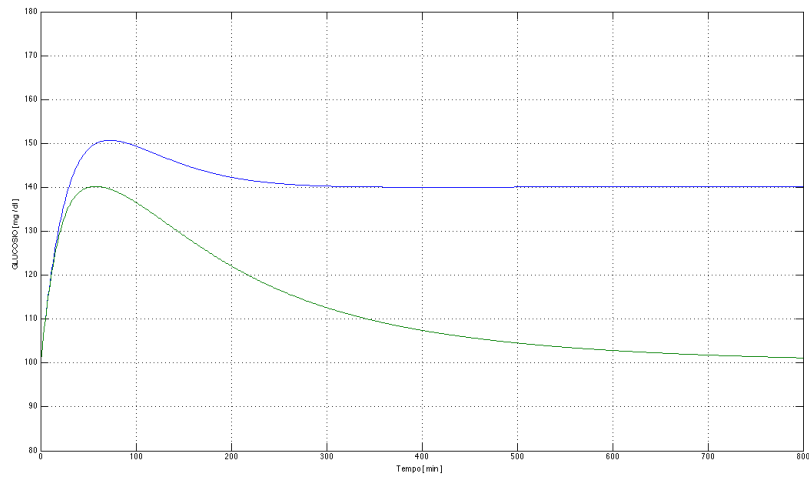


Figura 11: *Comparazione con  $R_a$  aumentato del 50%: blu, modello SD; verde, modello PID.*

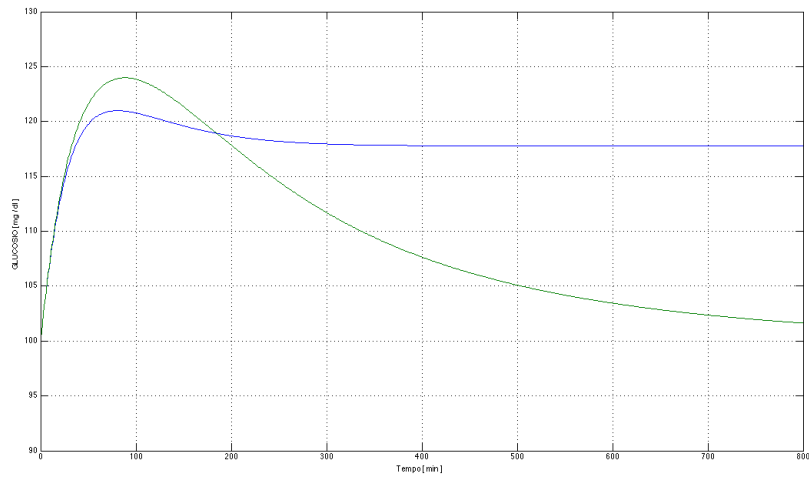


Figura 12: *Comparazione con SI diminuito del 50%: blu, modello SD; verde, modello PID.*

Il secondo accorgimento riguarda l' uso del modello minimo per prevedere cambiamenti nei livelli del glucosio in risposta ai cambiamenti dell' insulina nelle condizioni di digiuno. Sebbene il modello abbia avuto ampia convalida per la valutazione della sensibilità dell' insulina e per l' efficacia del glucosio, non sono stati sviluppati studi che lo convalidino per la predizione di cambiamenti nel glucosio in funzione dell' insulina in condizioni di digiuno. In particolare, non ne sono stati svolti per la risposta all' immissione di una dose (risposta impulsiva) e neppure per il prevedibile andamento nel tempo del glucosio in seguito ad un aumento di insulina plasmatica.

Al di là di queste precisazioni, ci sono diverse importanti conclusioni che possono derivare dal presente studio. Il fatto che entrambi i modelli caratterizzino la secrezione delle cellule  $\beta$  durante un picco glicemico sottolinea che essi sono simili: entrambi hanno una rapida prima fase seguita da una seconda fase più lenta. Tuttavia, le differenze che esistono nella struttura dei modelli hanno importanti implicazioni per la regolazione del glucosio a ciclo chiuso. Innanzitutto, il modello PID ha un termine di guadagno ( $K_D$ ), che viene applicato sia agli aumenti che ai cali del glucosio. In secondo luogo, lo stesso modello caratterizza la seconda fase di risposta delle cellule  $\beta$  con una componente che reagisce immediatamente all' iper/ipoglicemia e, terzo, la fase più lenta del PID è dovuta ad una componente di integrazione <sup>18</sup>. Queste differenze si traducono in un sistema a ciclo chiuso più stabile sotto il controllo del PID e in un' innata capacità di quest'ultimo ad adattarsi ai cambiamenti della sensibilità dell' insulina o della comparsa del glucosio.

La maggiore stabilità, intrinseca nel modello PID, è dovuta all' effetto derivativo sulla caduta del glucosio, e alla risposta immediata (proporzionale) alle variazioni di glicemia. Nel modello SD, la mancanza dell' azione derivativa durante la caduta del glucosio compromette la stabilità del sistema in quanto la caduta anticipa l' attesa dell' ipoglicemia. La stabilità è ulteriormente compromessa dal ritardo nella risposta statica. La capacità del modello PID di compensare le variazioni del fabbisogno di insulina basale è dovuta esclusivamente alla componente di integrazione ( $I$  in eq. (2), paragrafo 3.1), dal momento che la componente proporzionale ( $K_P(G - G_B)$ ) e quella derivativa ( $K_D dG/dt$ ) sono uguali a 0 nel corretto stato stazionario glicemico ( $G_B$ ).

Il modello SD potrebbe essere modificato per compensare questi cambiamenti imponendo  $\alpha=0$ , tuttavia, un tale adattamento comprometterebbe ulteriormente la stabilità <sup>19</sup>. La stabilità compromessa, insita nel modello SD insieme alla sua incapacità di adattarsi ai cambiamenti del fabbisogno di insulina basale, lo rende un candidato improbabile per la somministrazione di insulina a circuito chiuso.

L' ipotesi che le cellule  $\beta$  siano in grado di adattare il proprio tasso di secrezione basale in risposta alla resistenza dell' insulina è supportata dal precedente studio di Porte e colleghi, il quale ha mostrato che, tra gli individui,

<sup>18</sup>Da notare che il termine statico della SD può essere modificato per eguagliare il termine integrale nel modello PID impostando  $\alpha = 0$ .

<sup>19</sup>Sposta, infatti, il polo a  $s = -\alpha$ , vicino alla parte instabile destra del piano  $s$ .

l' insulina a digiuno è indipendente dal glucosio a digiuno. Un supporto per l' adeguamento all' aumento dei tassi di comparsa del glucosio è fornito da studi che dimostrano che le infusioni a basso livello di glucosio ( $100 \text{ mg/min}$ ) sono completamente normalizzate in alcuni soggetti, dopo 20h pur essendo richiesti tassi più elevati ( $300 \text{ mg/min}$  e  $400 \text{ mg/min}$ ) per generare un significativo aumento della glicemia. L' osservazione saliente in questi studi è che la secrezione delle cellule  $\beta$  può aumentare a dispetto di un abbassamento del glucosio plasmatico. Questo è coerente con il modello PID poiché entrambi i componenti, proporzionale e derivativo, possono cadere durante i periodi in cui l' integratore continua ad aumentare<sup>20</sup>; l' equilibrio delle tre componenti potrebbe così spiegare l' aumento di insulina plasmatica osservata nello studio a basso dosaggio di glucosio. Indipendentemente dal fatto che le cellule  $\beta$  possano integrare il glucosio sopra basale come mezzo di adattamento alle richieste di cambiamento dell' insulina, è chiaro che un sistema artificiale che raggiunge uno stato stazionario stabile sarebbe posto necessariamente al valore di riferimento desiderato del glucosio basale.

In conclusione, il presente studio ha dimostrato la realizzabilità del modello PID nel descrivere la secrezione delle cellule  $\beta$  durante un picco iperglicemico. Se l' ipotesi del PID è corretta, ciò implica che l' iperglicemia a digiuno, osservata in individui con diabete di tipo 2, può solo verificarsi con un difetto nella seconda fase del rilascio di insulina. Saranno necessari ulteriori lavori per validare il modello PID durante cambiamenti più fisiologici del glucosio, come i pasti e l' OGTT. Se il modello PID viene convalidato, potenzialmente può essere adattato per l' uso in un algoritmo di rilascio artificiale di insulina, perciò può rendere possibile la realizzazione di un dispositivo reale di controllo del diabete.

---

<sup>20</sup>l' integratore continua ad aumentare per tutta la durata in cui la glicemia è soprabasale.

## Riferimenti bibliografici

- [1] **David L. Nelson, Michael M. Cox:** *I principi di biochimica di Lenninger. Quinta edizione 2010;23:931-937*
- [2] **R. Klinke, H-C. Pape, A. Kurtz, S. Silbernagl:** *Fisiologia. Terza edizione 2012;14:554-561*
- [3] **Marcus AO., Fernandez PM.:** *Insulinpumptherapyacceptable alternative to injection therapy. Insulin Pump Therapy 1996;99:125-142.*
- [4] **Hovorka R., Chassin L., Luzio SD., Playle R., Owens DR.:** *Pancreatic beta-cell responsiveness during meal tolerance test: model assessment in normal subjects and subjects with newly diagnosed noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:744-750.*
- [5] **Breda E., Toffolo G., Polonsky KS., Cobelli C.:** *Insulin release in impaired glucose tolerance: oral minimal model predicts normal sensitivity to glucose but defective response times. Diabetes 2002;51(Suppl 1):S227-S233.*
- [6] **Ehrmann DA., Breda E., Cavaghan MK., Bajramovic S., Imperial J., Toffolo G., Cobelli C., Polonsky KS.:** *Insulin secretory responses to rising and falling glucose concentrations are delayed in subjects with impaired glucose tolerance. Diabetologia 2002;45:509-517.*
- [7] **Breda E., Cavaghan MK., Toffolo G., Polonsky KS., Cobelli C.:** *Oral glucose tolerance test minimal model indexes of beta-cell function and insulin sensitivity. Diabetes 2001;50:150-158.*
- [8] **Toffolo G., Breda E., Cavaghan MK., Ehrmann DA., Polonsky KS., Cobelli C.:** *Quantitative indexes of beta cell function during graded updown glucose infusion from C-peptide minimal models. Am J Physiol 2001;280:E2-E10.*
- [9] **Mari A., Camastra S., Toschi E., Giancaterini A., Gastaldelli A., Mingrone G., Ferrannini E.:** *A model for glucose control of insulin secretion during 24 h of free living. Diabetes 2001;50(Suppl 1):S164-S168.*
- [10] **Bergman RN., Steil GM., Bradley DC., Watanabe RM.:** *Modeling insulin action in vivo. Annu Rev Physiol 1992;54:861-883.*
- [11] **Ogata K.:** *Modern Control Engineering. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1997.*
- [12] **Audoly S., Bellu G., D'Angio L., Saccomani MP., Cobelli C.:** *Global identifiability of nonlinear models of biological systems. IEEE Trans Biomed Eng 2001;48: 55-65.*

- [13] **Byrne MM., Sturis J., Polonsky KS.:** *Insulin secretion and clearance during low-dose graded glucose infusion. Am J Physiol 1995;268:E21-E27.*
- [14] **Shapiro ET., Tillil H., Miller MA., Frank BH., Galloway JA., Rubenstein AH., Polonsky KS.:** *Insulin secretion and clearance. Comparison after oral and intravenous glucose. Diabetes 1987;36:1365-1371.*
- [15] **Kahn SE., Prigeon RL., McCulloch DK., Boyko EJ., Bergman RN., Schwartz MW., Neifing JL., Ward WK., Beard JC., Palmer JP., Porte D. Jr:** *The contribution of insulin-dependent and insulin-independent glucose uptake to intravenous glucose tolerance in healthy human subjects. Diabetes 1994;43:587-592.*
- [16] **Elahi D.:** *In praise of the hyperglycemic clamp: a method for assessment of B-cell sensitivity and insulin resistance. Diabetes Care 1996;19:278-286.*
- [17] **Bagdade JD., Bierman EL., Porte D. Jr:** *The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. J Clin Invest 1967;46:1549-1557.*
- [18] **Porte D. Jr, Pupo AA.:** *Insulin responses to glucose evidence for a two pool system in man. J Clin Invest 1969;48:2309-2319.*
- [19] **Ward WK., Halter JB., Beard JC., Porte D. Jr:** *Adaptation of B and A cell function during prolonged glucose infusion in human subjects. Am J Physiol 1984;246:E405-E411.*