



Università degli Studi di Padova

Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria

Facoltà di Ingegneria

TESI DI LAUREA

**Stima della variabilità giornaliera del
metabolismo del glucosio in soggetti
normali e diabetici di tipo 1**

Laureando: **Luban Michele**

Matricola 603942

Relatore: Ch.mo Prof. **Claudio Cobelli**

Correlatore: Dott. **Chiara Dalla Man**

Anno Accademico 2010-2011

5 Aprile 2011

INDICE

SOMMARIO	1
CAPITOLO 1: INTRODUZIONE	3
1.1 Il sistema di regolazione glucosio-insulina	3
1.2 il diabete	4
1.3 Modelli di simulazione	7
1.4 Scopo della tesi	8
CAPITOLO 2: SOGGETTI E PROTOCOLLO SPERIMENTALE	11
2.1 Soggetti	11
2.2 Protocollo meal con triplo tracciante	12
CAPITOLO 3: STIMA DEI FLUSSI POSTPRANDIALI DI GLUCOSIO	15
3.1 Stima dei flussi postprandiali	15
3.1.1 Stima dei flussi con un modello monocompartimentale	17
3.1.2 Stima dei flussi con un modello bicompartimentale	20
3.2 Utilizzo della deconvoluzione per lo smoothing dei dati e la stima della derivate	23
CAPITOLO 4: MODELLI	25
4.1 Modello minimo orale del glucosio (OMM) con R_a nota	25
4.2 Modello minimo orale del glucosio (OMM) con stima di R_a	26
4.3 Modello dell'assorbimento del glucosio	27
CAPITOLO 5: STIMA DEI FLUSSI POSTPRANDIALI DI GLUCOSIO: IMPLEMENTAZIONE	31
5.1 Acquisizione delle misure	31
5.2 Calcolo dei rapporti tracciante-tracciato	32
5.3 Stima delle derivate mediante deconvoluzione	33
5.4 Calcolo dei flussi	34
CAPITOLO 6: IDENTIFICAZIONE DEI MODELLI	35
6.1 Stima parametrica	35
6.1.1 Metodo Fisheriano: stimatore ai minimi quadrati pesati	36
6.1.2 Metodo Bayesiano: stimatore Maximum a Posteriori	39
6.2 Identificazione del modello minimo del glucosio con R_a nota	41
6.3 Identificazione del modello minimo del glucosio con stima di R_a	43
6.4 Modello dell'assorbimento del glucosio	46

CAPITOLO 7: RISULTATI **47**

7.1	Modello minimo del glucosio con R_a nota	47
7.1.1	Soggetti normali	47
7.1.1.1	Colazione	47
7.1.1.2	Pranzo	48
7.1.1.3	Cena	49
7.2	Modello minimo del glucosio con stima di R_a	51
7.2.1	Soggetti normali	51
7.2.1.1	Colazione	51
7.2.1.2	Pranzo	53
7.2.1.3	Cena	55
7.2.2	Soggetti diabetici di tipo 1	57
7.2.2.1	Colazione	57
7.2.2.2	Pranzo	59
7.2.2.3	Cena	61
7.3	Modello dell'assorbimento del glucosio	63
7.3.1	Soggetti normali	64
7.3.1.1	Colazione	64
7.3.1.2	Pranzo	65
7.3.1.3	Cena	67
7.3.2	Soggetti diabetici di tipo 1	68
7.3.2.1	Colazione	68
7.3.2.2	Pranzo	69
7.3.2.3	Cena	71

CAPITOLO 8: ANALISI STATISTICA DEI RISULTATI **73**

8.1	Soggetti normali	73
8.1.1	Concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide	73
8.1.2	Concentrazioni dei traccianti, del glucosio esogeno e del glucosio endogeno	79
8.1.3	Flussi postprandiali di glucosio	84
8.1.4	Modello minimo del glucosio con R_a nota	87
8.1.5	Modello minimo del glucosio con stima di R_a	89
8.1.6	Modello dell'assorbimento del glucosio	90
8.2	Soggetti diabetici di tipo 1	91
8.2.1	Concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide	91
8.2.2	Concentrazioni dei traccianti, del glucosio esogeno e del glucosio endogeno	95
8.2.3	Flussi postprandiali di glucosio	99
8.2.4	Modello minimo del glucosio con stima di R_a	101
8.2.5	Modello dell'assorbimento del glucosio	102
8.3	Confronto tra soggetti normali e soggetti diabetici di tipo 1	104
8.3.1	Concentrazioni di glucosio e insulina	104
8.3.2	Concentrazioni dei traccianti, del glucosio esogeno e del glucosio endogeno	104
8.3.3	Flussi postprandiali di glucosio	105
8.3.4	Sensibilità insulinica	105
8.3.5	Modello dell'assorbimento del glucosio	106

CAPITOLO 9: CONCLUSIONI	107
9.1 Conclusioni	107
9.2 Prospettive future	108
BIBLIOGRAFIA	111

SOMMARIO

In questa tesi si è studiata la variabilità giornaliera del metabolismo del glucosio in soggetti normali e diabetici di tipo 1. È importante, infatti, capire come varia il metabolismo del glucosio durante la giornata per sviluppare modelli matematici per testare algoritmi di controllo in catena chiusa della glicemia.

Il database utilizzato è relativo ad uno studio effettuato presso il *General Research Center* della Mayo Clinic di Rochester (Minnesota, USA) ed è composto da 14 soggetti sani e 12 soggetti diabetici di tipo 1, sottoposti ad un protocollo meal con triplo tracciante ripetuto in tre giorni successivi a colazione, pranzo e cena in ordine casuale.

L'applicazione del protocollo citato ha permesso la stima dei flussi postprandiali di glucosio (velocità di comparsa, produzione endogena, velocità di scomparsa) e l'identificazione del modello minimo orale del glucosio (con velocità di comparsa nota e con stima della velocità di comparsa) e del modello dell'assorbimento del glucosio.

I modelli utilizzati hanno fornito buone prestazioni in termini di aderenza ai dati sperimentali e precisione dei parametri stimati.

È stata effettuata un'analisi statistica mediante test di ipotesi sui dati di glucosio, insulina e C-peptide, sulle concentrazioni dei traccianti, sui flussi e sulle stime dei parametri dei modelli, mirata a valutare eventuali differenze statisticamente rilevanti tra i diversi pasti.

I risultati più rilevanti includono una riduzione significativa dell'escursione della glicemia a colazione, rispetto al pranzo ed alla cena, a parità di concentrazione di insulina, nei soggetti normali, mentre nei soggetti diabetici di tipo 1 si osserva un miglior controllo glicemico a cena.

Di conseguenza, nel corso della giornata l'indice di sensibilità insulinica decresce, sebbene non significativamente, nei soggetti normali ed aumenta nei soggetti diabetici di tipo 1.

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

1.1 Il sistema di regolazione della glicemia

Il glucosio è uno dei carboidrati più semplici e viene ricavato da zuccheri più complessi presenti nel cibo, attraverso la digestione; esso rappresenta la principale fonte di energia per le cellule, in particolar modo per il sistema nervoso centrale e per la zona midollare del rene: la disponibilità di glucosio è quindi fondamentale per il corretto svolgimento delle funzioni vitali.

È importante che la concentrazione di glucosio nel sangue venga mantenuta in un range ben preciso: in media, i valori di glicemia a digiuno sono compresi tra 60 e 100 mg/dL, mentre possono salire fino a 140 mg/dL dopo due ore di test da carico di glucosio [1]. Infatti, Se il valore della concentrazione del glucosio scende al di sotto del range fisiologico (*ipoglicemia*), si ha una condizione patologica che provoca una serie di segni e sintomi, la maggior parte dei quali originata da uno scarso apporto di glucosio all'encefalo (*neurogluopenia*), che ne riduce la funzionalità [2]. Se, al contrario, la concentrazione di glucosio risulta maggiore del range fisiologico si parla di *iperglicemia*, un'altra condizione patologica che, associata alla mancanza di insulina, può provocare complicanze gravi fino alla *chetoacidosi* (coma diabetico), provocata da un eccesso di chetoni nel sangue [3], e alla morte.

La concentrazione del glucosio nei soggetti sani è perciò strettamente regolata da un complesso sistema neuro-ormonale. L'insulina, secreta dalle cellule β del pancreas, rappresenta la principale fonte di regolazione dell'omeostasi del glucosio, promuovendone l'utilizzazione da parte dei tessuti e inibendone la produzione endogena; altri ormoni, quali il glucagone, l'epinefrina, il cortisolo e l'ormone della crescita, contribuiscono invece a prevenire l'ipoglicemia. L'azione di questi ormoni, com'è ben noto, è controllata dal sistema nervoso centrale [4].

In questo lavoro l'attenzione è focalizzata sul sistema di controllo glucosio-insulina, schematizzato in Fig. 1.1. Il glucosio, in assenza di assimilazione di carboidrati dal tratto gastro-intestinale, viene prodotto principalmente dal fegato; in seguito ad un pasto la fonte principale di glucosio è costituita invece dall'intestino. Una volta assimilato, il glucosio viene distribuito ed utilizzato dai vari tessuti e organi; sulla base degli specifici fabbisogni e ruoli nell'ambito del processo di regolazione della glicemia è possibile classificare i tessuti in:

- glucosio-dipendenti (es. sistema nervoso centrale, eritrociti): per questi tessuti il glucosio rappresenta il substrato elettivo e la sua utilizzazione avviene a velocità costante, anche in condizioni di iperglicemia;
- insulino-dipendenti (es. muscoli, tessuto adiposo): metabolizzano il glucosio in eccesso rispetto alle necessità dei tessuti glucosio-dipendenti in modalità fasica, vale a dire che l'utilizzazione del glucosio da parte di questi tessuti è regolata dalla quantità di insulina circolante;

- gluco-sensori (es. cellule β del pancreas, fegato, ipotalamo): sono in grado di rilevare la concentrazione di glucosio circolante ed organizzare un'adeguata risposta secretoria;
- glucoveri (es. intestino, reni): mediano l'ingresso (intestino) o il rientro (rene) del glucosio nel sangue [5].

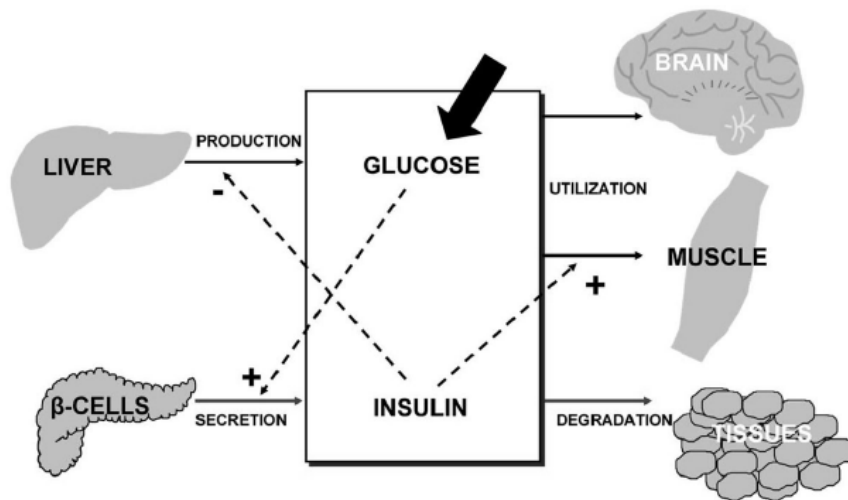


Fig. 1.1: Il sistema di regolazione glucosio-insulina

Glucosio ed insulina interagiscono attraverso un sistema di controllo ad anello chiuso: se la concentrazione plasmatica di glucosio aumenta, ad esempio in seguito ad un pasto, le cellule β secernono una quantità maggiore di insulina, che a sua volta promuove l'utilizzazione del glucosio ed inibisce la sua produzione endogena, in modo da riportare la glicemia al livello precedente alla perturbazione.

1.2 Il diabete

Il diabete mellito ("dolce") è una patologia cronica caratterizzata da iperglicemia, dovuta ad un'alterazione del sistema di regolazione glucosio-insulina descritto nel paragrafo precedente. Si tratta di una malattia ad incidenza talmente alta da essere considerata una vera e propria "patologia sociale": una stima effettuata dall'IDF (*International Diabetes Federation*) rivela infatti che nel 2011 più di 300 milioni di persone nel mondo sono affette da questa malattia, con rilevanti conseguenze non solo in termini sociali ma pure in termini economici, nella forma di spese sanitarie per il trattamento della patologia [6]. Si prevede, inoltre, che il numero delle persone malate di diabete possa superare abbondantemente i 400 milioni entro il 2030 (v. Fig. 1.2 e 1.3) [7].

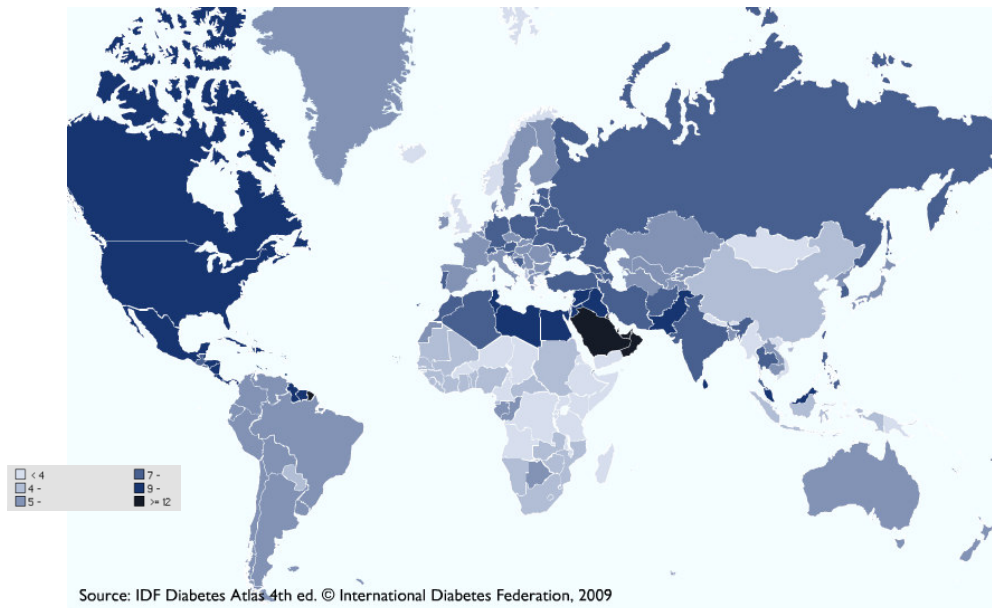


Fig. 1.2: Percentuale della popolazione malata di diabete mellito nel 2010

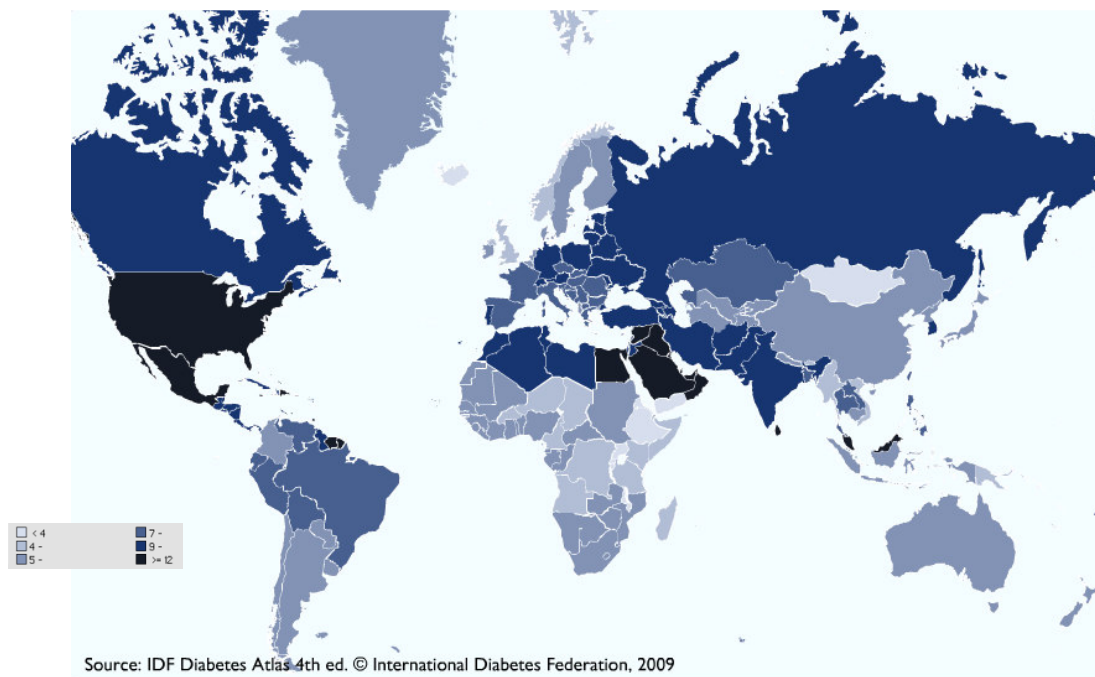


Fig. 1.3: Percentuale (stimata) della popolazione malata di diabete mellito nel 2030

In base alla sua eziologia ed al quadro clinico, la patologia si può presentare in due varianti, denominate diabete di tipo 1 e diabete di tipo 2 [1].

Il diabete di tipo 1 è detto anche insulino-dipendente o giovanile, in quanto si manifesta prevalentemente nell'età infantile o comunque in soggetti di età inferiore ai 35 anni. È causato da una reazione autoimmune che provoca la distruzione delle cellule β del pancreas, le quali non risultano perciò in grado di produrre insulina o ne producono in quantità molto ridotta.

L'incidenza del diabete di tipo 1 sta aumentando considerevolmente negli ultimi anni: le ragioni non sono molto chiare ma sono probabilmente costituite da cambiamenti nei fattori di rischio ambientale i quali, in concomitanza con altri fattori come l'aumento dell'altezza media e

del peso medio ed alcuni aspetti dovuti alla dieta ed all'esposizione ad alcune infezioni virali, possono scatenare la risposta autoimmune o accelerare il processo di distruzione delle cellule β , se già in corso.

Possibili terapie del diabete di tipo 1 sono costituite da:

1. trapianto di pancreas;
2. trapianto delle sole isole pancreatiche;
3. terapia sostitutiva basata sull'iniezione di analoghi dell'insulina, ottenuti tramite ingegneria genetica e somministrati per via sottocutanea;
4. pancreas artificiale: un dispositivo esterno, che realizza un controllo ad anello chiuso sul metabolismo del glucosio, analogamente a quello effettuato dalle cellule β del pancreas nei soggetti normali.

Il trattamento insulinico comporta serie problematiche da affrontare; le infusioni di insulina esogena comportano infatti il rischio di causare ipoglicemia e così i soggetti diabetici di tipo 1 devono affrontare per tutta la vita, a partire dal manifestarsi della patologia, un problema di ottimizzazione che condiziona pesantemente il loro modo di vivere: è necessario mantenere uno stretto controllo della glicemia con l'obiettivo da una parte di evitare l'iperglicemia, e dall'altra di non causare ipoglicemia.

Per quanto riguarda il pancreas artificiale, l'obiettivo è quello di realizzare un dispositivo completamente impiantabile ed automatizzato, dotato di un sensore per la rilevazione della glicemia e di un micro-infusore di insulina, entrambi sottocutanei, che sia in grado di normalizzare insulinemia e glicemia tenendo conto delle caratteristiche metaboliche individuali e della complessità della vita reale, tra cui la variabilità del metabolismo del glucosio durante la giornata.

In figura 1.4 è illustrato il principio di funzionamento del pancreas artificiale: il controllore effettua il confronto tra il valore desiderato della glicemia (set point, r) ed il valore misurato dal sensore nel paziente (y) e, istante per istante, calcola la velocità di infusione (u) dell'insulina che minimizza la differenza tra i due segnali; il micro-infusore, infine, rilascia la quantità programmata di insulina.

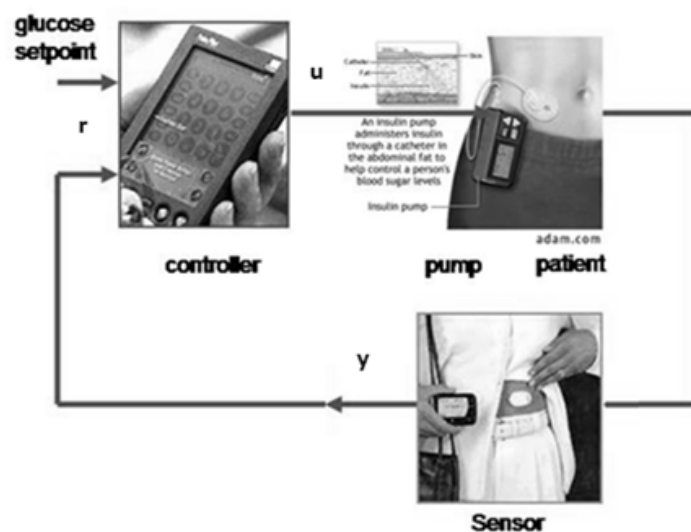


Fig. 1.4: Schema a blocchi del pancreas artificiale

Nel 2010 è stata avviata dal dipartimento di Medicina Clinica Sperimentale dell'Azienda Ospedaliera di Padova, in collaborazione con il corso di laurea di Bioingegneria dell'Università degli Studi di Padova, una sperimentazione clinica di un modello di pancreas artificiale su una ventina di soggetti malati di diabete di tipo 1 [8]-[9]. La sperimentazione è inserita in un progetto più ampio che coinvolge vari istituti universitari ed aziende.

Il diabete di tipo 2 è caratterizzato invece da resistenza all'insulina e conseguente insufficienza insulinica, che possono presentarsi contemporaneamente nel momento in cui la patologia diviene clinicamente manifesta; può rimanere asintomatico per molti anni: la diagnosi è solitamente associata a complicanze oppure incidentale, in seguito ad esempio ad analisi del sangue o delle urine.

Esistono molti possibili fattori che contribuiscono allo sviluppo del diabete di tipo 2: in particolare l'obesità (che causa essa stessa resistenza insulinica e alti livelli di glicemia), la resistenza all'insulina da parte dei tessuti oppure anche fattori genetici ed ereditari.

Al contrario di quanto accade per i soggetti malati di diabete di tipo 1, i soggetti malati di diabete di tipo 2 non sono dipendenti dall'insulina esogena, ma possono comunque necessitare di un trattamento insulinico, qualora non sia possibile ottenere un buon controllo della glicemia tramite una dieta specifica o agenti orali ipoglicemizzanti.

La crescente prevalenza del diabete di tipo 2 è associata a rapidi cambiamenti culturali e sociali, l'innalzamento dell'età media, l'aumento dell'urbanizzazione, cambiamenti nella dieta, riduzione dell'attività fisica e altri fattori culturali e riguardanti lo stile di vita della popolazione [7].

1.3 Modelli di simulazione

Nello studio della fisiopatologia del diabete è di cruciale importanza la disponibilità di modelli di simulazione del sistema di controllo glucosio-insulina, in particolar modo per quanto concerne la progettazione ed il collaudo di glucosensori, algoritmi di infusione dell'insulina e sistemi di supporto delle decisioni nell'ambito della terapia del diabete (in particolare del diabete di tipo 1). Nei casi citati, infatti, risulta spesso impossibile o non appropriato eseguire esperimenti direttamente sui soggetti diabetici, in quanto molti esperimenti non possono essere eseguiti perché troppo difficoltosi (frequenti campionamenti di sangue) o addirittura pericolosi e poco etici.

Sono stati dunque proposti molti modelli di simulazione, che hanno permesso di affrontare con successo vari aspetti della patofisiologia del diabete. Negli ultimi anni è stato possibile ottenere importanti conoscenze relative al metabolismo del glucosio ed al controllo effettuato dall'insulina durante un pasto, sia a livello di organi (ad esempio, la produzione epatica di glucosio) che a livello sistemico (ad esempio, l'utilizzazione del glucosio da parte dei muscoli), grazie soprattutto all'implementazione di protocolli con traccianti multipli ed il ricorso a tecniche quali la risonanza magnetica nucleare e la PET.

Nel 2007, in particolare, è stato proposto da Dalla Man et al. [10] un modello di simulazione del sistema glucosio-insulina per i soggetti normali in grado di descrivere gli eventi fisiologici conseguenti ad un pasto. Proprio questa era la novità rappresentata da tale modello, in contrasto con i modelli proposti in precedenza, sviluppati prevalentemente per studiare invece

una serie di perturbazioni intravenose del glucosio (pattern di infusione, IVGTT). L'utilizzo di protocolli con traccianti multipli e la conseguente disponibilità di stime quasi modello-indipendenti dei flussi di glucosio, unitamente alle concentrazioni plasmatiche di glucosio e insulina, ha poi permesso di mettere in relazione tutte le grandezze citate ed affinare ulteriormente il modello.

Il modello si compone di quattro sotto-modelli, ognuno dei quali descrive uno dei flussi che intervengono nel metabolismo del glucosio, vale a dire la produzione endogena, la velocità di comparsa, l'utilizzazione da parte dei tessuti insulino-dipendenti e la secrezione di insulina, utilizzando la strategia della funzione forzante. In figura 1.5 sono schematizzati i quattro sotto-modelli con le relative funzioni forzanti (gli ingressi considerati noti), rappresentate dalle frecce in ingresso ai sistemi rappresentati.

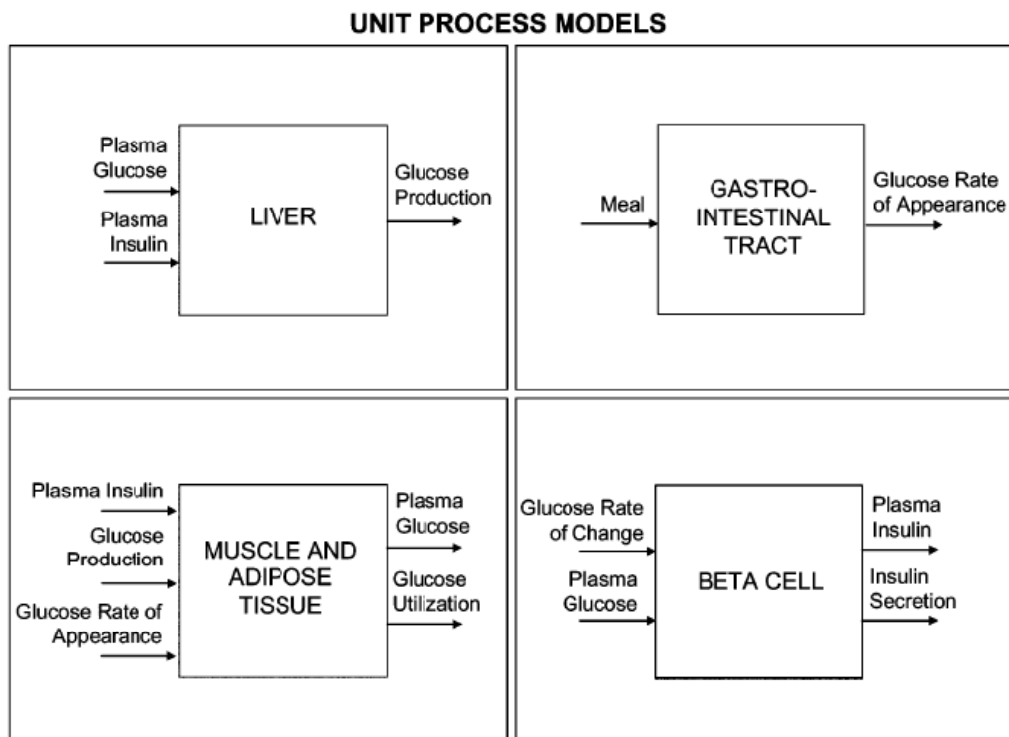


Fig. 1.5: Sotto-modelli e funzioni forzanti: produzione endogena di glucosio (in alto a sinistra), velocità di comparsa del glucosio (a destra), utilizzazione del glucosio (in basso a sinistra), secrezione dell'insulina (a destra); le frecce in ingresso ai modelli rappresentano le funzioni forzanti, le frecce in uscita gli output del modello.

1.4 Scopo della tesi

Questa tesi si inserisce nel lavoro di sviluppo del pancreas artificiale; allo scopo di fornire infusioni di insulina sempre più appropriate per i diversi soggetti e per ogni condizione fisiologica, risulta di cruciale importanza studiare innanzitutto se e come varia il metabolismo del glucosio durante l'intera giornata e soprattutto in seguito ai pasti.

Lo scopo della tesi è dunque la stima della variabilità del metabolismo del glucosio durante la giornata in soggetti normali e in soggetti diabetici di tipo 1, sottoposti presso il *General Clinic*

Research Center (GCRC) della Mayo Clinic di Rochester (Minnesota, USA) a protocollo *meal* con triplo tracciante in ognuno dei tre pasti principali (colazione, pranzo, cena), in ordine casuale.

Grazie ai dati raccolti è possibile stimare in modo quasi modello-indipendente i flussi di glucosio (velocità di comparsa, produzione endogena, velocità di scomparsa).

La disponibilità della velocità di comparsa del glucosio permette inoltre l'identificazione del modello minimo del glucosio (e la conseguente stima della sensibilità insulinica) e del modello dell'assorbimento del glucosio; quest'ultimo costituisce uno dei sotto-sistemi componenti il modello di simulazione visto nel paragrafo precedente.

Una volta stimati i flussi ed identificati i modelli per ogni soggetto e per ogni pasto è possibile, tramite opportuni test statistici, analizzare la variabilità dei flussi stessi e delle stime dei parametri dei modelli. Alla stessa analisi statistica si possono sottoporre anche le concentrazioni plasmatiche di glucosio, insulina e dei traccianti utilizzati.

Nel capitolo 2 è dunque descritto il database a disposizione e illustrato il protocollo sperimentale con triplo tracciante.

Nel capitolo 3 è descritto il procedimento di stima dei flussi postprandiali di glucosio a partire dai dati raccolti.

Nel capitolo 4 sono descritti i modelli utilizzati in questa tesi.

Nel capitolo 5 è illustrata l'implementazione della stima dei flussi.

Il capitolo 6 è dedicato alla descrizione delle procedure di identificazione dei modelli.

Nel capitolo 7 sono raccolti i risultati dell'identificazione dei modelli.

Nel capitolo 8 vengono esposti i risultati dell'analisi statistica sulla variabilità dei dati, delle concentrazioni dei traccianti, dei flussi stimati e delle stime dei parametri dei modelli.

Nel capitolo 9 vengono infine riassunte le conclusioni del lavoro.

CAPITOLO 2

SOGGETTI E PROTOCOLLO SPERIMENTALE

2.1 Soggetti

In questa tesi è stato utilizzato un database relativo ad uno studio condotto presso il *General Clinic Research Center* (GCRC) della Mayo Clinic di Rochester (Minnesota, USA).

Il database in questione è costituito da 14 soggetti sani (7 maschi e 7 femmine) e 12 soggetti diabetici di tipo 1 (7 maschi e 5 femmine), le cui caratteristiche antropometriche medie sono riassunte nelle tabelle 2.1-2.2.

Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad un mixed meal utilizzando un approccio con triplo tracciante. Tale tecnica, che verrà illustrata nella sezione seguente, è caratterizzata dall'impiego di tre traccianti (un tracciante orale e due intravenosi) e permette di ottenere di una stima sostanzialmente modello-indipendente della velocità di comparsa del glucosio orale (Rate of Appearance, $R_{a\text{ meal}}$) e della produzione endogena di glucosio (Endogenous Glucose Production, EGP).

	età (anni)	altezza (m)	peso (kg)	massa magra (LBM, FFM) (kg)	% di grasso corporeo
media	30	1.75	77.3	54.5	30.2
SD	8	0.09	15.6	12.7	7.5
SE	2	0.02	4.2	3.4	2.0

Tabella 2.1: Caratteristiche antropometriche medie relative ai soggetti sani: media, deviazione standard (SD), standard error (SE).

	età (anni)	altezza (m)	peso (kg)	massa magra (LBM, FFM) (kg)	% di grasso corporeo
media	40	1.74	78.3	55.8	28.1
SD	15	0.09	13.8	9.9	7.0
SE	4	0.03	4.0	2.9	2.0

Tabella 2.2: Caratteristiche antropometriche medie relative ai soggetti diabetici di tipo 1: media, deviazione standard (SD), standard error (SE).

2.2 Protocollo meal con triplo tracciante

Nell'arco di tre giorni, ogni soggetto è stato sottoposto al protocollo meal con triplo tracciante in uno dei tre pasti principali (un giorno a colazione, un giorno a pranzo e un giorno a cena) in ordine casuale.

Tre ore prima dell'inizio di ogni pasto è stata inserita una cannula calibro-18 in una vena di un avambraccio per l'infusione del tracciante $[6,6-^2\text{H}_2]\text{glucosio}$; un'altra cannula dello stesso tipo è stata inserita in modo retrogrado in una vena del dorso della mano del braccio opposto. La mano è stata successivamente posta in un ambiente riscaldato ($\sim 55\text{ }^\circ\text{C}$) per rendere possibile il campionamento del sangue venoso arterializzato, necessario alla determinazione della glicemia.

All'istante corrispondente al tempo $t = 0$ della griglia di campionamento ogni soggetto ha assunto un pasto misto costituito da 3 uova strapazzate (contenenti circa 1,5 g di glucosio) e una gelatina (Jell-O) contenente circa 50 g di glucosio arricchita per il 4 % circa di tracciante $[1-^{13}\text{C}]\text{glucosio}$.

Un'iniezione intravenosa del tracciante $[6-^3\text{H}]\text{glucosio}$ è iniziata sempre all'istante $t=0$ (in corrispondenza dell'inizio del pasto), secondo un profilo orientato ad anticipare l'andamento del flusso di comparsa nel sangue del tracciante $[1-^{13}\text{C}]\text{glucosio}$ contenuto nel pasto. Contemporaneamente, l'infusione di $[6,6-^2\text{H}_2]\text{glucosio}$ è stata variata in modo tale da approssimare l'evoluzione attesa del flusso EGP, come schematizzato nella figura seguente:

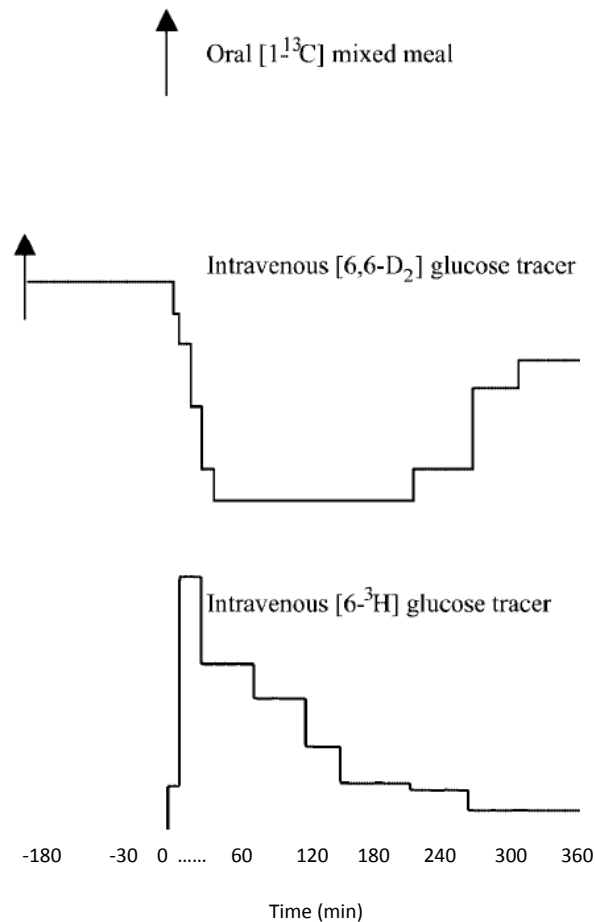


Fig. 2.1 Disegno sperimentale

Il sangue è stato prelevato dalla vena arterializzata di cui sopra secondo la seguente griglia di campionamento: $t_{\text{sample}} = [-180, -30, 0, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360]$ minuti.

I dati a disposizione sono stati ottenuti ponendo i campioni plasmatici su ghiaccio, centrifugandoli successivamente a 4 °C e conservandoli a -20 °C fino al momento della misura delle concentrazioni di interesse.

La concentrazione plasmatica del glucosio è stata ottenuta con il metodo della glucosio ossidasi; la concentrazione plasmatica dell'insulina è stata ottenuta tramite chemiluminescenza con reagenti specifici; il glucagone ed il C-peptide (quest'ultimo solo nei soggetti sani) tramite radioimmunoanalisi; il $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio e il $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ glucosio, infine, sono stati rilevati tramite metodologie di cromatografia-spettrografia di massa.

Nel capitolo 8 verranno mostrati i grafici relativi agli andamenti temporali medi dei dati delle concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide (quest'ultimo ovviamente solo per i soggetti sani) a colazione, pranzo e cena. Nel caso dei soggetti diabetici, il grafico relativo all'insulina rappresenta l'andamento di un'infusione di insulina esogena.

CAPITOLO 3

STIMA DEI FLUSSI POSTPRANDIALI DI GLUCOSIO

3.1 Stima dei flussi

Come accennato in precedenza (capitolo 2.1), il protocollo con tre traccianti permette, idealmente, di avere a disposizione una stima modello-indipendente di $R_{a\text{ meal}}$ e di EGP.

L'idea che sta alla base di questo approccio è che l'adozione di un'infusione opportuna del tracciante possa rendere la stima della produzione di glucosio relativamente indipendente dal modello assunto per il tracciante (si parla di tecnica del *clamp del rapporto tracciante-tracciato*); nel caso in esame, le infusioni si riferiscono ai traccianti intravenosi $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio e $[6\text{-}^3\text{H}]$ glucosio: supponendo di infondere i due traccianti in maniera tale da riprodurre gli andamenti di EGP e di tracciante orale $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ glucosio, e quindi mantenere (idealmente) costante i rapporti tracciante-tracciato, è possibile dunque ricavare gli andamenti di EGP e di $R_{a\text{ meal}}$ con un errore minimo.

Tuttavia, il ragionamento è circolare, in quanto è necessario variare l'infusione in modo da riprodurre un andamento che non si conosce. In realtà, disponendo di conoscenze a priori sui flussi e tramite l'implementazione di un protocollo sequenziale si riesce ad ovviare al problema; di solito si impiegano pompe pre-programmate costanti a tratti. La frequenza del campionamento plasmatico va chiaramente aumentata se il flusso in esame è previsto variare rapidamente.

Per ottenere le formule per il calcolo dei flussi, si sono dovute prima determinare le concentrazioni plasmatiche di glucosio tracciante e tracciato dalle misure. Nelle formule seguenti verranno utilizzate le seguenti definizioni [11]:

- tracciato: concentrazione di glucosio, proveniente dal glucosio ingerito e da EGP;
- tracciante^I: tracciante orale $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ glucosio;
- tracciante^{II}: tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio, costituito principalmente di $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio (per il 92% circa), una piccola percentuale di $[6,6\text{-}^2\text{H}_1\text{-}^1\text{H}_1]$ glucosio e una percentuale trascurabile di $[6,6\text{-}^1\text{H}_2]$ glucosio;
- tracciante^{III}: tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]$ glucosio;
- G_{nat} : concentrazione di tracciato nel plasma [mg/dL];
- $G_{13\text{C}}$: concentrazione di tracciante $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ glucosio nel plasma [mg/dL];
- $G_{2\text{H}}$: concentrazione di tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio nel plasma [mg/dL];
- $G_{3\text{H}}$: concentrazione di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]$ glucosio nel plasma [mg/dL];
- $F_{2\text{H}}$: velocità di infusione del tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio [mg/min];

- F_{3H} : velocità di infusione del tracciante $[6-^3H]$ glucosio [mg/min];
- MR_{13C} : rapporto tra tracciante $[1-^{13}C]$ glucosio e $[1-^{12}C]$ glucosio misurato nel plasma;
- $MR_{13C,meal}$: rapporto tra tracciante $[1-^{13}C]$ glucosio e $[1-^{12}C]$ glucosio misurato nel pasto;
- MR_{2H} : rapporto tra tracciante $[6,6-^2H_2]$ glucosio e tracciante $[6,6-^1H_2]$ glucosio nel plasma;
- *meal enrichment*: rapporto tra il glucosio totale (tracciante^I + tracciato) e il tracciante^I nel pasto;
- SA_{meal}^1 : rapporto tra concentrazione plasmatica di tracciante $[6-^3H]$ glucosio e concentrazione plasmatica di tracciante $[1-^{13}C]$ glucosio (G_{3H}/G_{13C});
- z_{end} : rapporto tra concentrazione plasmatica di tracciante $[6-^3H]$ glucosio e concentrazione di glucosio endogeno (G_{2H}/G_{end}).

Il tracciante^I contribuisce solamente al $[1-^{13}C]$ glucosio; il tracciante^{II} e il tracciato, avendo l'atomo di carbonio alla composizione naturale, contribuiscono al $[1-^{12}C]$ glucosio con $1/(1+MR_{13C,nat})$ (uguale al 98.9 % della loro massa), e al $[1-^{13}C]$ glucosio con il rimanente $MR_{13C,nat}/(1+MR_{13C,nat})$, uguale all'1.1 %:

$$MR_{13C} = \frac{\text{tracciante}^I}{(\text{tracciato} + \text{tracciante}^{II}) / (1 + MR_{13C,nat})} + MR_{13C,nat} \quad (3.1)$$

dove $MR_{13C,nat}$ rappresenta il rapporto tra ^{13}C e ^{12}C nel glucosio "naturale" ed è quindi uguale a 0.011.

$MR_{13C,meal}$ risulta proporzionale al rapporto tra il tracciante^I e il glucosio naturale nel pasto (quest'ultimo rapporto viene definito z_{meal}):

$$MR_{13C,meal} = z_{meal} \cdot (1 + MR_{13C,nat}) \quad (3.2)$$

MR_{2H} viene invece determinato nel modo seguente:

$$MR_{2H} = \frac{G_{2H} \cdot 0.9207}{G_{nat} + G_{13C}} \quad (3.3)$$

La concentrazione totale di glucosio nel plasma risulta dalla somma delle concentrazioni plasmatiche di tracciato, tracciante^I e tracciante^{II}:

$$G = G_{nat} + G_{13C} + G_{2H}. \quad (3.4)$$

Utilizzando le equazioni precedenti, G_{13C} , G_{2H} e G_{nat} possono quindi essere misurate in questo modo:

$$G_{13C} = \frac{(MR_{13C} - MR_{13C,nat})}{1 + MR_{13C}} \cdot G \quad (3.5)$$

¹ Specific Activity: nel caso di rapporti con traccianti radioattivi, com'è il caso del tracciante G_{3H} , si parla infatti di "attività specifica"

$$G_{2H} = \frac{MR_{2H}}{0.9207 + MR_{2H}} \cdot G \quad (3.6)$$

$$G_{nat} = G - G_{13C} - G_{2H} \quad (3.7)$$

La concentrazione del glucosio plasmatico derivante dalla produzione endogena si può calcolare sottraendo dalla concentrazione totale del glucosio nel plasma (G_{nat}) il contributo dovuto al glucosio naturale ingerito G_{meal} , proporzionale a G_{13C} secondo z_{meal} :

$$G_{end} = G_{nat} - G_{meal} = G_{nat} - G_{13C}/z_{meal} \quad (3.8)$$

Assumendo, a questo punto, di essere riusciti ad ottenere un clamp perfetto del rapporto tracciante-tracciato (vale a dire che le variazioni del rapporto G_{3H}/G_{13C} sono trascurabili), $R_{a_{13C}}$ risulta uguale all'infusione del tracciante ($[1-^{13}C]$ glucosio) divisa per il rapporto tracciante/tracciato:

$$R_{a_{13C}} = \frac{F_{3H}}{SA_{meal}} = \frac{F_{3H}}{G_{3H}/G_{13C}} \quad (3.9)$$

La R_a sistemica del glucosio ingerito ($R_{a_{meal}}$) viene dunque calcolata moltiplicando $R_{a_{13C}}$ per il meal enrichment:

$$R_{a_{meal}} = R_{a_{13C}} \cdot \left(\frac{\text{tracciato} + \text{tracciante}^I}{\text{tracciante}^I} \right) = R_{a_{13C}} \cdot \left(\frac{1}{z_{meal}} + 1 \right) \quad (3.10)$$

Infine, EGP si calcola dividendo l'infusione F_{2H} per il rapporto plasmatico tra G_{2H} e G_{end} :

$$EGP = \frac{F_{2H}}{z_{end}} = \frac{F_{2H}}{G_{2H}/G_{end}} \quad (3.11)$$

Dal momento che in realtà il rapporto tracciante-tracciato non è perfettamente costante, per compensare l'errore di stato non stazionario risulta necessario l'utilizzo di modelli: in particolare, si utilizza un modello monocompartimentale o bicompartimentale e le formule per il calcolo dei flussi risultano diverse nei due casi.

3.1.1 Stima dei flussi con un modello monocompartimentale

Se il clamp del rapporto tracciante-tracciato non è perfetto, come accennato in precedenza, una prima alternativa per compensare l'errore di stato non stazionario consiste nell'utilizzare le equazioni di un modello monocompartimentale.

Tale modello della cinetica del glucosio assume che R_a e R_d del glucosio e dei traccianti del glucosio siano nel compartimento accessibile, il quale ha un volume pari ad una frazione p (pool fraction) del volume totale di distribuzione del glucosio V [mL/kg].

Per ciascuna coppia tracciante-tracciato si utilizza il modello rappresentato nelle figure 3.1 e 3.2, nelle quali si ha:

- $q(t)$: quantità di tracciante nel compartimento;
- $Q(t)$: quantità di tracciato nel compartimento;
- $c(t)$: concentrazione del tracciante nel compartimento;
- $C(t)$: concentrazione del tracciato nel compartimento;
- k_{01} : coefficiente di trasferimento del tracciante o del tracciato (risulta uguale per il tracciante e il tracciato, per il principio di indistinguibilità tra il tracciante ed il tracciato²);
- $u(t)$: infusione di tracciante;
- $rd(t)$: Rate of Disappearance del tracciante
- $ra(t)$: Rate of Appearance del tracciante;
- $Rd(t)$: Rate of Disappearance del tracciato
- $Ra(t)$: Rate of Appearance del tracciato.

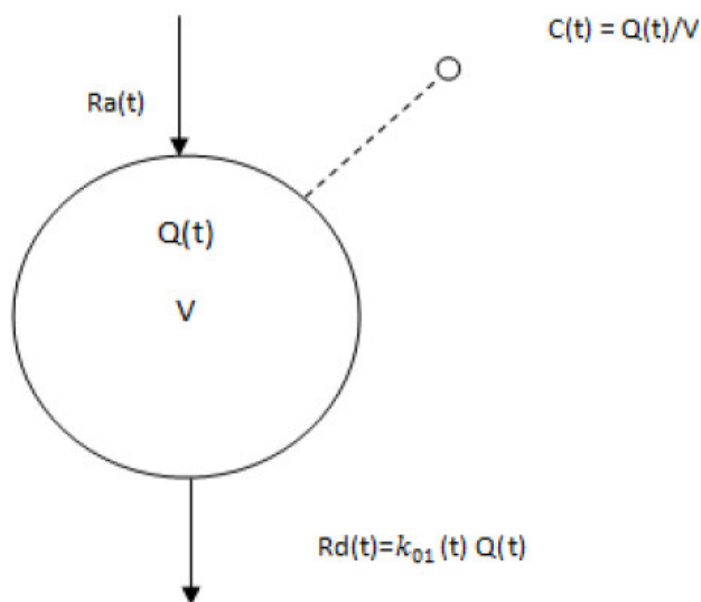


Fig. 3.1: Modello compartimentale per il tracciato.

Le equazioni per i due modelli risultano:

$$\begin{cases} \dot{Q}(t) = Ra(t) - Rd(t) = Ra(t) - k_{01}(t) \cdot Q(t) \\ C(t) = \frac{Q(t)}{V} \end{cases} \quad (3.12)$$

$$\begin{cases} \dot{q}(t) = u(t) - rd(t) = u(t) - k_{01}(t) \cdot q(t) \\ c(t) = \frac{q(t)}{V} \end{cases} \quad (3.13)$$

² Il principio di indistinguibilità tracciante-tracciato assume che la probabilità che una particella, presa a caso tra le particelle che escono dall'*i*-esimo compartimento, sia una particella di tracciante, è uguale alla probabilità che una particella scelta casualmente nel *i*-esimo compartimento sia di tracciante.

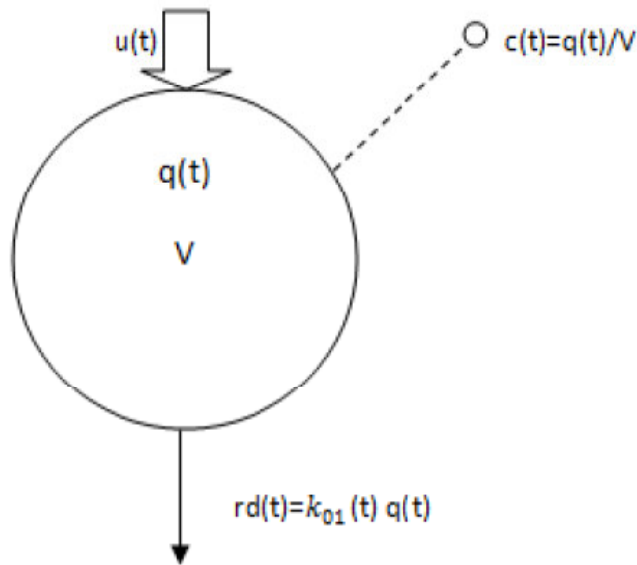


Fig. 3.2: Modello compartimentale per il tracciante.

Il parametro V e la pool fraction p sono tempo-invarianti e vengono solitamente fissati a valori medi di popolazione; il parametro k_{01} risulta invece tempo-variante.

Considerando i traccianti in esame, si ricava l'equazione di bilancio di massa per il [6- ^3H]glucosio:

$$pV \cdot \frac{dG_{3H}}{dt} = F_{3H} - R_{d_{3H}} \quad (3.14)$$

dove $R_{d_{3H}}$ è la Rate of Disappearance del tracciante [6- ^3H]glucosio nel plasma; allo stesso modo si procede per il [1- ^{13}C]-glucosio:

$$pV \cdot \frac{dG_{13C}}{dt} = R_{a_{13C}} - R_{d_{13C}} \quad (3.15)$$

dove $R_{a_{13C}}$ e $R_{d_{13C}}$ sono, rispettivamente, la Rate of Appearance e la Rate of Disappearance del tracciante [1- ^{13}C]-glucosio nel plasma.

Il principio di indistinguibilità tracciante-tracciato permette di mettere in relazione la Rate of Disappearance dei due traccianti con la loro concentrazione nel compartimento accessibile:

$$\frac{R_{d_{3H}}}{pVG_{3H}} = \frac{R_{d_{13C}}}{pVG_{13C}} = k_{01} \quad (3.16)$$

dove k_{01} è il parametro di disappearance, assunto variabile durante l'esperimento.

Utilizzando le ultime tre equazioni si ha:

$$pV \cdot \frac{dG_{3H}}{dt} = F_{3H} - k_{01}pVG_{3H} \quad (3.17)$$

e

$$pV \cdot \frac{dG_{13C}}{dt} = R_{a_{13C}} - k_{01}pVG_{13C} \quad (3.18)$$

Dall'equazione di bilancio di massa per il $[6\text{-}^3\text{H}]$ glucosio si può derivare un'espressione per k_{01} (che qui viene definito $k_{01_{3H}}$):

$$k_{01_{3H}} = -\frac{dG_{3H}/dt}{G_{3H}} + \frac{F_{3H}}{pVG_{3H}} \quad (3.19)$$

Usando ora le equazioni 3.18 e 3.19 si ottiene l'espressione per il calcolo di $R_{a_{13C}}$:

$$R_{a_{13C}} = \frac{F_{3H}}{G_{3H}/G_{13C}} - \frac{pVG_{13C}}{G_{3H}/G_{13C}} \cdot \frac{d(G_{3H}/G_{13C})}{dt}, \quad (3.20)$$

che, come si può vedere, contiene solo variabili note (F_{3H} , p , V) o misurate (G_{3H} e G_{13C}).

Applicando ora lo stesso principio al tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio ed al glucosio endogeno, l'espressione del parametro di disappearance del tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio $k_{01_{2H}}$ [min^{-1}] e EGP vengono ricavati in questo modo:

$$k_{01_{2H}} = -\frac{dG_{2H}/dt}{G_{2H}} + \frac{F_{2H}}{pVG_{2H}} \quad (3.21)$$

$$EGP = \frac{F_{2H}}{G_{2H}/G_{end}} - \frac{pVG_{end}}{G_{2H}/G_{end}} \cdot \frac{d(G_{2H}/G_{end})}{dt} \quad (3.22)$$

$R_{a_{meal}}$ viene calcolata con l'equazione 3.10, mentre R_d risulta:

$$R_d = (R_{a_{meal}} + EGP + F_{2H}) - pV \frac{dG}{dt} \quad (3.23)$$

3.1.2 Stima dei flussi con un modello bicompartimentale

Questo modello assume che il sistema in esame sia descrivibile con due compartimenti dei quali uno solamente è accessibile alla misura; l'uscita irreversibile si diparte da quest'ultimo. La struttura del modello è rappresentata nelle figure 3.3 e 3.4.

La simbologia adottata è analoga al caso precedente; applicando nuovamente il principio di conservazione di massa si ricavano le seguenti equazioni differenziali per il tracciato e per il tracciante:

$$\begin{cases} \dot{Q}_1(t) = Ra(t) + k_{12}(t) \cdot Q_2(t) - [k_{21}(t) + k_{01}(t)] \cdot Q_1(t) \\ \dot{Q}_2(t) = k_{21}(t) \cdot Q_1(t) - k_{12}(t) \cdot Q_2(t) \\ C_1(t) = \frac{Q_1(t)}{V_1} \end{cases} \quad (3.24a)$$

$$\begin{cases} \dot{q}_1(t) = u_1(t) + k_{12}(t) \cdot q_2(t) - [k_{21}(t) + k_{01}(t)] \cdot q_1(t) \\ \dot{q}_2(t) = k_{21}(t) \cdot q_1(t) - k_{12}(t) \cdot q_2(t) \\ c_1(t) = \frac{q_1(t)}{V_1} \end{cases} \quad (3.24b)$$

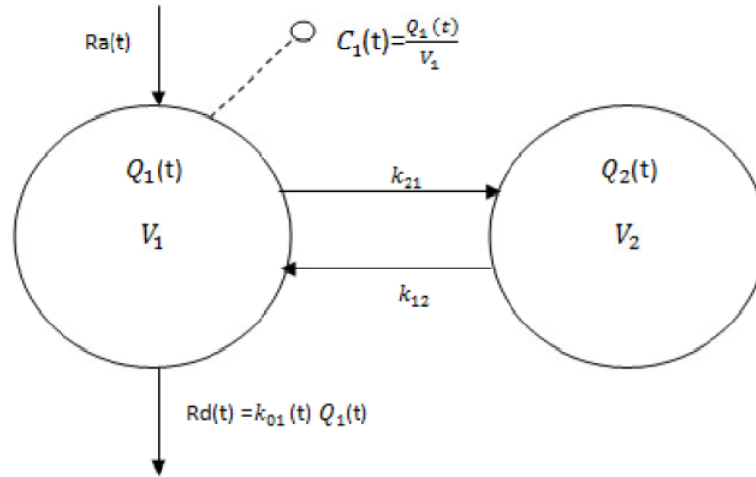


Fig. 3.3: Modello bicompartimentale per il tracciato.

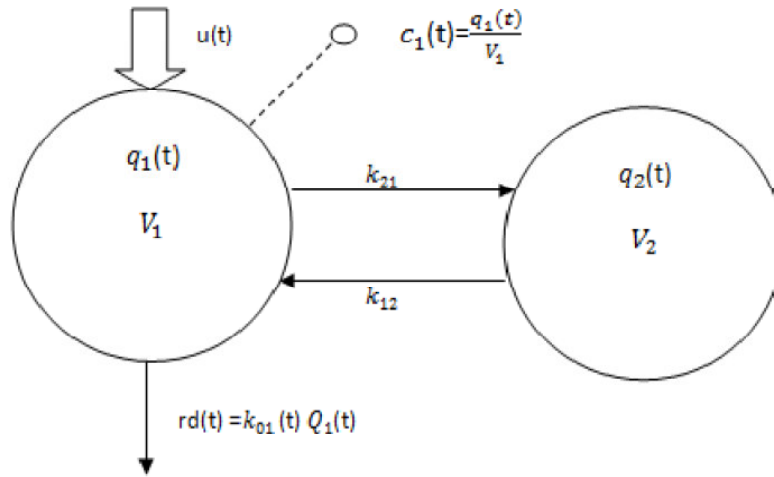


Fig. 3.4: Modello bicompartimentale per il tracciante.

I parametri k_{21} , k_{12} e V_1 sono tempo-invarianti e vengono fissati a valori medi di popolazione poiché, in assenza di dati dinamici di tracciante con sistema in stato stazionario, non risulta possibile stimarli; il parametro k_{01} risulta invece tempo-variante.

Ritornando al caso specifico per i traccianti $[6\text{-}^3\text{H}]$ glucosio e $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ glucosio si ha:

$$V_1 \cdot \frac{dG_{3H}}{dt} = F_{3H} - (R_{01_{3H}} + R_{21_{3H}}) + R_{12_{3H}} \quad (3.25)$$

$$V_1 \cdot \frac{dG_{13C}}{dt} = F_{13C} - (R_{01_{13C}} + R_{21_{13C}}) + R_{12_{13C}} \quad (3.26)$$

dove $R_{21_{3H}}$, $R_{12_{3H}}$, $R_{21_{13C}}$ e $R_{12_{13C}}$ rappresentano i flussi di scambio.

Per il principio di indistinguibilità tracciante-tracciato si ha allora:

$$\frac{R_{01_{3H}}}{V_1 G_{3H}} = \frac{R_{01_{13C}}}{V_1 G_{13C}} = k_{01} \quad (3.27a)$$

$$\frac{R_{213H}}{V_1 G_{3H}} = \frac{R_{2113C}}{V_1 G_{13C}} = k_{21} \quad (3.27b)$$

$$\frac{R_{123H}}{V_2 G_{3H}} = \frac{R_{1213C}}{V_2 G_{13C}} = k_{12} \quad (3.27c)$$

Utilizzando ora le equazioni 3.25, 3.26 e 3.27 si ottiene:

$$V_1 \cdot \frac{dG_{3H}}{dt} = F_{3H} - (k_{01} + k_{21})V_1 G_{3H} + k_{12}Q_{23H} \quad (3.28)$$

e

$$V_1 \cdot \frac{dG_{13C}}{dt} = F_{13C} - (k_{01} + k_{21})V_1 G_{13C} + k_{12}Q_{213C} \quad (3.29)$$

dove Q_{23H} e Q_{213C} sono le quantità di $[6-^3H]$ glucosio e di $[1-^{13}C]$ glucosio nel compartimento periferico, ottenute integrando le equazioni del modello.

Dalle equazioni 3.27 si può ricavare un'espressione di k_{01} (qui definito k_{013H}):

$$k_{013H} = -\frac{dG_{3H}/dt}{G_{3H}} + \frac{F_{3H}}{V_1 G_{3H}} - k_{21} + \frac{k_{12}Q_{23H}}{V_1 G_{3H}} \quad (3.30)$$

Dalle equazioni 3.29 e 3.30 si deriva la seguente espressione per R_{a13C} :

$$R_{a13C} = \frac{F_{3H}}{G_{3H}/G_{13C}} - \frac{V_1 G_{13C}}{G_{3H}/G_{13C}} \cdot \frac{d(G_{3H}/G_{13C})}{dt} + k_{12} \left(\frac{Q_{23H}}{G_{3H}/G_{13C}} - Q_{213C} \right) \quad (3.31)$$

Si noti ora che R_{a13C} è espressa in funzione di variabili note (F_{3H} , V_1 , k_{12}) o misurate (G_{3H} e G_{13C}), ma sono presenti anche Q_{23H} e Q_{213C} che non sono note né misurate; queste ultime variabili sono perciò state valutate risolvendo le equazioni di bilancio di massa dei traccianti $[6-^3H]$ glucosio e $[1-^{13}C]$ glucosio nel compartimento periferico:

$$\frac{dQ_{23H}}{dt} = -k_{12}Q_{23H} + k_{21}V_1 G_{3H} \quad (3.32)$$

$$\frac{dQ_{213C}}{dt} = -k_{12}Q_{213C} + k_{21}V_1 G_{13C} \quad (3.33)$$

Analogamente a quanto fatto prima, si ricavano il parametro tempo-variante k_{01} della Rate of Disappearance del tracciante $[6,6-^2H_2]$ glucosio e EGP:

$$k_{012H} = -\frac{dG_{2H}/dt}{G_{2H}} + \frac{F_{2H}}{V_1 G_{2H}} - k_{21} + \frac{k_{12}Q_{22H}}{V_1 G_{2H}} \quad (3.34)$$

$$EGP = \frac{F_{2H}}{G_{2H}/G_{end}} - \frac{V_1 G_{end}}{G_{2H}/G_{end}} \cdot \frac{d(G_{2H}/G_{end})}{dt} + k_{12} \left(\frac{Q_{22H}}{G_{2H}/G_{end}} - Q_{2end} \right) \quad (3.35)$$

dove $Q_{2_{2H}}$ e $Q_{2_{end}}$ sono le quantità di tracciante $[6,6-^2H_2]$ glucosio e di glucosio endogeno nel compartimento specifico, sempre determinate integrando le equazioni differenziali del modello in questione.

$R_{a_{meal}}$ viene calcolata come mostrato sempre tramite l'espressione 3.10, mentre R_d si determina con la seguente espressione:

$$R_d = (R_{a_{meal}} + EGP + F_{2H}) - V_1 \frac{dG}{dt} - k_{21}V_1G + k_{12}Q_2 \quad (3.36)$$

nella quale Q_2 costituisce la quantità di glucosio nel compartimento periferico e viene sempre valutata integrando le equazioni del modello.

3.2 Utilizzo della deconvoluzione per lo smoothing dei dati e stima delle derivate

In molti casi, nelle equazioni precedenti, è necessario calcolare derivate di grandezze misurate o calcolate. essendo in genere le misure rumorose e a maggior ragione le grandezze da queste derivate (es. SA_{meal} e z_{end}), il calcolo della derivata amplifica considerevolmente l'errore.

Per ovviare a questo problema si ricorre allo smoothing dei profili di SA_{meal} , z_{end} e della concentrazione del glucosio e a metodi che permettano di ottenere una stima il più possibile regolare delle loro derivate; in particolare, in questo lavoro si è ricorsi ad un metodo basato sulla deconvoluzione, che come criterio di regolarizzazione utilizza il criterio della massima verosimiglianza [12]. Il metodo prevede che la derivata della grandezza da calcolare venga considerata come l'uscita di un sistema dinamico costituito da un integratore, avente come uscita i dati (soggetti a rumore) e come ingresso (incognito) la derivata di tali valori. In pratica si ha:

$$\mathbf{y} = \mathbf{G}\mathbf{u} + \mathbf{v} \quad (3.37)$$

dove \mathbf{y} è il vettore dei dati, \mathbf{G} la matrice di Toeplitz che rappresenta la risposta impulsiva dell'integratore, \mathbf{u} il vettore contenente le derivate di SA e \mathbf{v} l'errore di misura.

L'idea è quella di determinare una stima dell'ingresso realizzando un compromesso tra l'esigenza di perseguire l'aderenza ai dati, da una parte, e di ottenere una stima regolare della derivata, dall'altra. Si ha perciò

$$\hat{\mathbf{u}} = \underset{\mathbf{u}}{\operatorname{argmin}} [(\mathbf{y} - \mathbf{G}\mathbf{u})^T \boldsymbol{\Sigma}_v^{-1} (\mathbf{y} - \mathbf{G}\mathbf{u}) + \gamma \mathbf{u}^T \mathbf{F}^T \mathbf{F} \mathbf{u}] \quad (3.38)$$

dove \mathbf{F} è una matrice quadrata della stessa dimensione di \mathbf{u} , costruita in modo tale che $\|\mathbf{F}\mathbf{u}\|^2$ costituisca un indice dell'irregolarità della stima della derivata; tipicamente $\mathbf{F}\mathbf{u}$ fornisce il vettore delle differenze m-esime di \mathbf{u} . Il valore del parametro γ è cruciale per privilegiare l'una o l'altra esigenza: viene perciò detto *parametro di regolarizzazione*.

Si supponga ora che \mathbf{u} e \mathbf{v} siano gaussiani e tra loro scorrelati, con media nulla e matrici di covarianza $\boldsymbol{\Sigma}_v$ (nota) e $\boldsymbol{\Sigma}_u = \lambda^2 (\mathbf{F}^T \mathbf{F})^{-1}$, nota a meno del parametro incognito $\lambda^2 = 1/\gamma$: la distribuzione di probabilità di \mathbf{y} è dunque gaussiana ed è nota a meno del parametro incognito γ .

Il criterio di regolarizzazione della massima verosimiglianza prevede che il valore di γ da scegliere sia quello che rende massima la likelihood (verosimiglianza) del vettore misurato \mathbf{y} ; si dimostra che tale valore di γ soddisfa l'equazione

$$WSSU(\gamma) = \|\mathbf{F}\hat{\mathbf{u}}\|^2 = \hat{\mathbf{u}}^T \mathbf{F}^T \mathbf{F} \hat{\mathbf{u}} = \frac{q(\gamma)}{\gamma}, \quad (3.39)$$

dove

$$q(\gamma) = \text{traccia} \left\{ \mathbf{G}(\mathbf{F}^T \mathbf{F})^{-1} \mathbf{G}^T [\mathbf{G}(\mathbf{F}^T \mathbf{F})^{-1} \mathbf{G}^T + \gamma \boldsymbol{\Sigma}_v]^{-1} \right\}. \quad (3.40)$$

Nel capitolo 5 si vedrà come è stata implementata ed affinata la procedura.

CAPITOLO 4

MODELLI

4.1 Modello minimo orale del glucosio (OMM) con R_a nota

Il modello minimo che descrive i processi di produzione e utilizzazione del glucosio da un test orale è illustrato in Fig. 4.1:

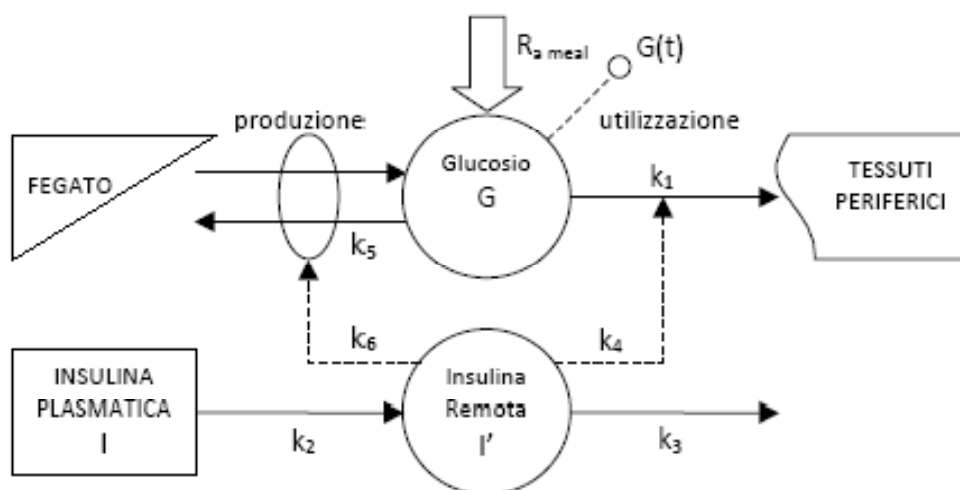


Fig. 4.1: Modello minimo orale del glucosio

L'ingresso nel sistema è rappresentato dalla velocità di comparsa (Rate of Appearance, $R_{a\ meal}$) del glucosio orale nel plasma, stimata con il procedimento descritto nel capitolo 3 (*Stima dei flussi postprandiali*).

Le equazioni del modello sono le seguenti:

$$\begin{cases} \dot{G}(t) = -[S_G + X(t)] \cdot G(t) + S_G \cdot G_b + \frac{R_{a\ meal}(t)}{V} & G(0) = G_b \\ \dot{X}(t) = -p_2 \cdot X(t) + p_3 \cdot [I(t) - I_b] & X(0) = 0 \end{cases} \quad (4.1)$$

nelle quali:

- G: concentrazione plasmatica di glucosio [mg/dL];
- I: concentrazione plasmatica di insulina [μ U/mL];
- X: azione insulinica [min^{-1}];
- $R_{a\ meal}$: velocità di comparsa del glucosio esogeno nel plasma [mg/kg/min];
- V: volume di distribuzione [dL/kg];

- G_b e I_b : valori basali di glucosio e insulina, calcolati come la media dei valori (rispettivamente di glucosio e insulina) negli istanti -30 e 0.

La parametrizzazione adottata nelle equazioni 4.1 [13] è legata ai parametri del modello rappresentato in Figura 4.1 tramite le relazioni:

$$S_G = k_1 + k_5 \quad (4.2a)$$

$$p_2 = k_3 \quad (4.2b)$$

$$p_3 = k_2(k_4 + k_6) \quad (4.2c)$$

$$X = (k_4 + k_6) \cdot I' \quad (4.2d)$$

Il parametro S_G [min^{-1}] corrisponde all'indice di efficacia del glucosio GE (*Glucose Effectiveness*) normalizzato al volume di distribuzione V e indica la capacità del glucosio di agire sui propri processi di produzione e utilizzazione. p_2 rappresenta la costante di velocità dell'azione insulinica X promossa dal compartimento di insulina remota. Il parametro p_3 , infine, rappresenta un fattore di scala che regola l'ampiezza dell'azione insulinica.

Dal modello in questione si può calcolare la *sensibilità insulinica* S_I , un indice molto importante che descrive la funzionalità del sistema e rappresenta la capacità dell'insulina di incrementare la velocità di scomparsa del glucosio, inibendone la produzione da parte del fegato e stimolandone l'utilizzazione da parte dei tessuti. S_I viene calcolato in questo modo:

$$S_I = - \left. \frac{\partial^2 [dG(t)/dt]}{\partial G(t) \partial I(t)} \right|_{SS} = \frac{p_3}{p_2} \text{ [min}^{-1} \text{ per } \mu\text{U/mL}]^3 \quad (4.3)$$

È possibile derivare un secondo indice, denominato GEZI (*Glucose Effectiveness at Zero Insulin*), definito come l'efficacia del glucosio a concentrazione di insulina nulla:

$$GEZI = GE - S_I \cdot V \cdot I_b \text{ [dL/kg/min]} \quad (4.4)$$

4.2 Modello minimo orale del glucosio (OMM) con stima di R_a

Il modello in questione è sostanzialmente identico a quello descritto nel paragrafo precedente; l'unica diversità consiste nel fatto che $R_{a, \text{meal}}$ non viene più considerata nota, ma viene stimata assieme ai parametri del modello e quindi è necessario, innanzitutto, fornirne una descrizione parametrica adeguata.

Nel caso in esame, $R_{a, \text{meal}}$ viene descritta tramite una curva lineare a tratti, con tempi di spezzamento t_i noti e ampiezze α_i incognite:

$$R_{a, \text{meal}}(\alpha, t) = \begin{cases} \alpha_{i-1} + \frac{\alpha_i - \alpha_{i-1}}{t_i - t_{i-1}} \cdot (t - t_{i-1}) & \text{per } t_{i-1} \leq t \leq t_i \\ 0 & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (4.5)$$

³ L'indice di sensibilità insulinica utilizzato nella pratica è $S_I \cdot V$ [dL/kg/min per $\mu\text{U/mL}$]

I parametri S_G e V risultano non identificabili a priori e devono perciò essere fissati a valori di popolazione; in questo modo, S_i , p_2 e i coefficienti α_i diventano univocamente identificabili a priori, ma le stime dei parametri risultano imprecise: è necessario allora impostare un prior di tipo bayesiano per la radice quadrata di p_2 .

Inoltre, i coefficienti α_i risultano legati dal vincolo

$$\alpha_2 = \frac{\left[2 \frac{D \cdot f}{BW} - \alpha_8 (t_8 - t_7) - \sum_{\substack{i=1 \\ i \neq 2}}^7 \alpha_i (t_{i+1} - t_{i-1}) \right]}{t_3 - t_1} \quad (4.6)$$

dove t_i è l'istante corrispondente al coefficiente α_i (cioè l'istante in cui $R_{a \text{ meal}}$ assume valore α_i); D è la dose di glucosio ingerita (cioè quanto glucosio era presente nel pasto), f è la frazione del glucosio ingerito che compare nel plasma (fissata anch'essa ad un valore di popolazione, nella fattispecie 0.9), BW il peso corporeo del soggetto. È noto, infatti, che non tutto il glucosio ingerito poi compare nel plasma, in quanto una frazione di esso viene estratta dal fegato (viene infatti definita *Hepatic Extraction*, HE).

4.3 Modello dell'assorbimento del glucosio

In seguito all'ingestione, com'è noto, il glucosio viene assorbito nel primo tratto dell'intestino, poi trasportato nel letto splancnico (principalmente nel fegato) e infine raggiunge la circolazione periferica.

Molti autori [14]-[15] concordano sul fatto che lo svuotamento dei liquidi dallo stomaco avviene in modo esponenziale e dipende dalla quantità di liquidi ingeriti, dalla densità di energia del pasto e dalla quantità di nutrienti presenti all'interno dello stomaco stesso. D'altra parte, se la quantità di nutrienti ed il contenuto calorico della fase liquida del pasto aumentano, il ritmo di smaltimento non è più esponenziale, ma diventa approssimativamente lineare.

Lo svuotamento lineare è perciò una caratteristica dei solidi omogenei e le composizioni di cibi utilizzati negli studi relativi alla glicemia postprandiale, nei quali il glucosio è solitamente in forma liquida o gelatinosa, vengono di solito smaltite in modo non lineare. Questi principi fisiologici sono alla base del modello utilizzato, schematizzato in figura 4.2 [16]:

Il modello descrive dunque il passaggio del glucosio attraverso lo stomaco ed il primo tratto dell'intestino come una catena lineare di tre compartimenti: i primi due (q_{sto1} e q_{sto2}) rappresentano lo stomaco (rispettivamente la fase solida e la fase liquida), il terzo (q_{gut}) rappresenta l'intestino. Le equazioni del modello sono le seguenti:

$$\begin{cases} \dot{q}_{sto1}(t) = -k_{21} \cdot q_{sto1}(t) + D\delta(t) & q_{sto1}(0) = 0 \\ \dot{q}_{sto2}(t) = -k_{empt} \cdot q_{sto2} + k_{21} \cdot q_{sto1}(t) & q_{sto2}(0) = 0 \\ \dot{q}_{gut}(t) = -k_{abs} \cdot q_{gut}(t) + k_{empt} \cdot q_{sto2}(t) & q_{gut}(0) = 0 \\ Ra(t) = f \cdot k_{abs} \cdot q_{gut}(t)/BW & \end{cases} \quad (4.7)$$

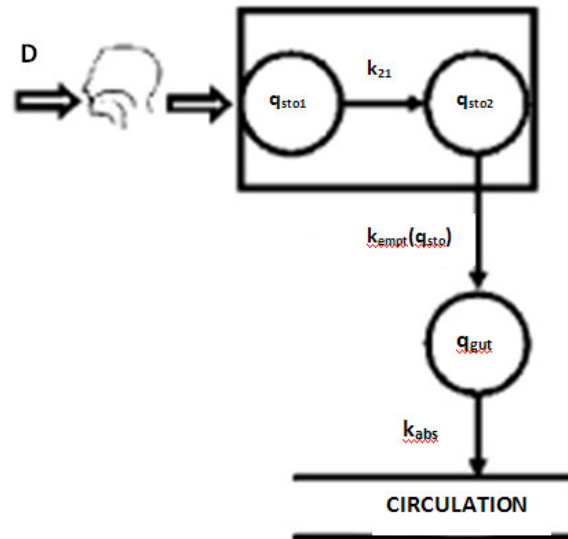


Fig. 4.2: Modello dell'assorbimento del glucosio

nelle quali si ha:

- q_{sto1} : fase solida del glucosio all'interno dello stomaco [mg];
- q_{sto2} : fase liquida del glucosio all'interno dello stomaco [mg];
- $\delta(t)$: funzione impulso;
- D : dose di glucosio ingerita [mg];
- q_{gut} : massa di glucosio all'interno dell'intestino [mg];
- k_{21} : velocità di triturazione [min^{-1}];
- k_{empt} : velocità di svuotamento dello stomaco [min^{-1}];
- k_{abs} : velocità di assorbimento intestinale [min^{-1}];
- BW (body weight): peso del soggetto [kg];
- f : frazione del glucosio assorbito che compare effettivamente nel plasma, calcolata nel modo seguente:

$$f = \frac{\int_0^{\infty} R_a \text{meal}(t) dt}{D} \cdot BW \quad (4.8)$$

Il parametro k_{empt} non è costante, bensì dipende dalla quantità q_{sto} di glucosio presente nello stomaco, secondo la seguente espressione:

$$k_{empt}(q_{sto}) = k_{min} + \frac{k_{max} - k_{min}}{2} \cdot \{ \tanh[\alpha(q_{sto} - b \cdot D)] - \tanh[\beta(q_{sto} - c \cdot D)] + 2 \} \quad (4.9)$$

con $q_{sto}(t) = q_{sto1}(t) + q_{sto2}(t)$.

Si può comprendere meglio il come agisce q_{sto} su k_{empt} osservando la rappresentazione grafica di quest'ultimo in Fig. 4.3.

k_{empt} risulta massimo (cioè uguale a k_{max}) quando lo stomaco contiene il totale D del glucosio ingerito (vale a dire, all'inizio dell'esperimento), successivamente decresce con velocità α fino al valore minimo k_{min} e poi ritorna nuovamente al valore k_{max} con velocità β .

b è la percentuale della dose ingerita alla quale k_{empt} raggiunge il valore $(k_{max}-k_{min})/2$ e corrisponde al punto di flesso della curva; c è invece la percentuale della dose ingerita alla quale k_{empt} ritorna al valore $(k_{max}-k_{min})/2$ e corrisponde al secondo flesso.

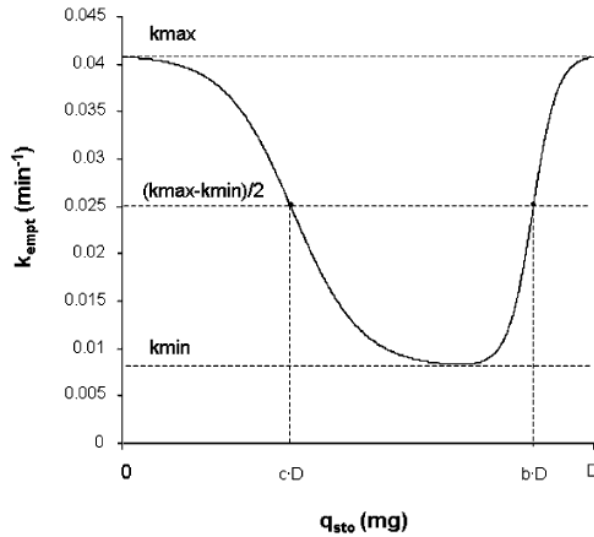


Fig. 4.3: Rappresentazione qualitativa della velocità di svuotamento gastrico (k_{empt}) in funzione del glucosio totale presente nello stomaco (q_{sto})

I parametri α e β sono vincolati, imponendo $k_{empt} = k_{max}$ per $q_{sto} = D$ e $q_{sto} = 0$; risulta perciò

$$\alpha = \frac{5}{2 \cdot D \cdot (1-b)} \quad (4.10)$$

$$\beta = \frac{5}{2 \cdot D \cdot c} \quad (4.11)$$

Se il valore di c è sufficientemente piccolo (come molto spesso accade), k_{empt} rimane al livello k_{min} finché lo stomaco non è completamente vuoto e l'equazione (4.7) si semplifica in

$$k_{empt}(q_{sto}) = k_{min} + \frac{k_{max}-k_{min}}{2} \cdot \{\tanh[\alpha(q_{sto} - b \cdot D)] + 1\} \quad (4.12)$$

CAPITOLO 5

STIMA DEI FLUSSI POSTPRANDIALI DI GLUCOSIO: IMPLEMENTAZIONE

La stima dei flussi postprandiali di glucosio è stata implementata in MATLAB® tramite lo script *analisi_completa.m*; in particolare, la procedura è stata suddivisa in quattro passaggi:

1. acquisizione delle misure;
2. calcolo dei rapporti tracciante-tracciato;
3. stima delle derivate tramite deconvoluzione;
4. calcolo dei flussi.

I passaggi elencati sono illustrati nel dettaglio nei paragrafi seguenti.

5.1 Acquisizione delle misure

I dati necessari al calcolo dei flussi sono stati acquisiti in modo automatico dai file Excel® tramite la function *xlsread*, all'interno dello script *importdata_stima_flussi.m* e salvati in file *.mat*.

In alcuni soggetti il valore di MR_{13C} risultava negativo, il che non è in teoria possibile, trattandosi di una percentuale; i valori negativi erano dovuti all'incertezza sulle misure relative ai traccianti $[1-^{13}C]$ glucosio e $[1-^{12}C]$ glucosio. Il problema è stato comunque risolto in fase di acquisizione dei dati ponendo uguali a 0 i valori negativi.

La dose riportata nei file Excel® non teneva conto del fatto che ai soggetti erano state somministrate anche tre uova, contenenti all'incirca 1.5 g di glucosio; di conseguenza, la dose è stata aggiornata (aggiungendo 1.5 g) ed il meal enrichment (ME) corretto nel modo seguente:

$$ME = ME_{old} \cdot \frac{D}{D+1.5} \quad (5.1)$$

Il valore ottenuto in questo modo non è in realtà formalmente corretto, dal momento che pur riferendosi al totale del glucosio ingerito, non tiene conto del fatto che le uova non contengono tracciante; bisognerebbe tenere conto del fatto che il Jell-O e le uova sono arricchiti in modo diverso. Tuttavia, quest'espressione è sembrata la più ragionevole e in ogni caso le differenze (in percentuale) tra i flussi calcolati senza tenere conto di questa correzione ed i flussi calcolati con dose aggiornata e meal enrichment ricalcolato secondo la (5.1) risultavano al massimo del 20 %.

5.2 Calcolo dei rapporti tracciante-tracciato

Successivamente, nello script *elaborazione*, sono stati calcolati i seguenti rapporti tracciante-tracciato:

- z_{meal} : rapporto tra concentrazione di tracciante orale [$1-^{13}C$]glucosio e concentrazione plasmatica del glucosio ingerito;
- z_{end} : rapporto tra concentrazione plasmatica di tracciante [$6-^3H$]glucosio e concentrazione plasmatica di glucosio endogeno (G_{2H}/G_{end});
- SA_{meal} : rapporto tra concentrazione plasmatica di tracciante [$6-^3H$]glucosio e concentrazione plasmatica di tracciante [$1-^{13}C$]glucosio (G_{3H}/G_{13C}).

Il rapporto z_{meal} , necessario per il calcolo della concentrazione plasmatica del glucosio ingerito (G_{meal}) è stato determinato moltiplicando il meal enrichment ottenuto tramite la formula (5.1) per la purezza del tracciante [$1-^{13}C$]glucosio (cioè, in percentuale, quanto del tracciante ingerito con il pasto era effettivamente [$1-^{13}C$]glucosio):

$$z_{meal} = ME * purity_{13C} \quad (5.2)$$

Le concentrazioni plasmatiche G_{13C} , G_{2H} , G_{meal} e G_{end} sono state calcolate tramite le equazioni (3.5), (3.6) e (3.8).

Una volta disponibili le concentrazioni G_{2H} , G_{end} , G_{3H} e G_{13C} è stato poi possibile calcolare i rapporti z_{end} e SA_{meal} . Tali rapporti dovrebbero risultare in teoria costanti per ogni istante della griglia di campionamento ma non lo sono, come già accennato nel capitolo 3, data l'impossibilità di effettuare un clamp perfetto; anzi, non è raro che soprattutto SA_{meal} assuma valore nullo (in corrispondenza di valori nulli di G_{3H}), infinito (in corrispondenza di valori nulli di G_{13C}) o NaN (nel momento in cui entrambe le concentrazioni siano nulle).

È stata quindi prevista una prima procedura di selezione dei dati (implementata tramite la function *selectdata*) per z_{end} e SA_{meal} , con l'obiettivo di eliminare eventuali valori nulli o troppo elevati (v. Fig. 5.1).

La stessa procedura di selezione è stata applicata ai dati relativi alla concentrazione plasmatica di glucosio, ma in nessun soggetto si è presentata la necessità di scartare dei punti, in quanto le curve relative alla concentrazione del glucosio si presentavano generalmente abbastanza regolari.

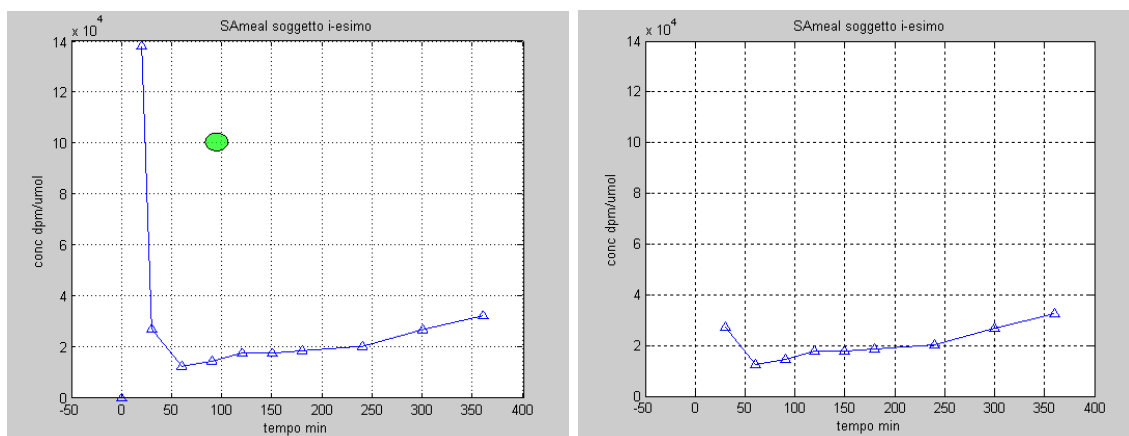


Fig. 5.1: Selezione dei valori di SA_{meal}

Il passo successivo è stato selezionare i tempi utili per la stima dei flussi: R_a , e conseguentemente anche R_d , sono state infatti calcolate a partire dal primo istante in cui fosse disponibile un valore (non nullo) di SA_{meal} .

5.3 Stima delle derivate mediante deconvoluzione

Il metodo della deconvoluzione, come spiegato nel paragrafo 3.2, è stato utilizzato per effettuare lo smoothing delle curve relative a SA_{meal} , z_{end} e alla concentrazione plasmatica del glucosio e per ottenere una stima quanto più regolare possibile delle loro derivate.

È stata dunque implementata (tramite le funzioni *calcola_derSA*, *calcola_derZE* e *calcola_der*) la procedura descritta nel paragrafo 3.2. Il codice MATLAB® prevedeva di fornire innanzitutto un valore iniziale del parametro di regolarizzazione (γ), che è stato impostato uguale a 10^{-4} ; inoltre γ è stato vincolato a variare tra 10^{-8} e 10^0 ; nei casi in cui il valore di γ diventava troppo elevato o troppo basso infatti l'algoritmo entrava in un loop infinito, non riuscendo a soddisfare il criterio di massima verosimiglianza: era perciò necessario fermarlo e fornire manualmente un valore del parametro di regolarizzazione.

Una volta terminata la procedura e trovato il valore di γ soddisfacente il criterio scelto, è stata prevista un'ulteriore procedura in MATLAB® che permettesse l'ispezione della curva ottenuta, il confronto con la curva relativa ai valori calcolati e la possibilità di cambiare il valore di γ a propria discrezione, nel caso in cui il risultato fosse stato giudicato inadeguato (v. Fig. 5.2).

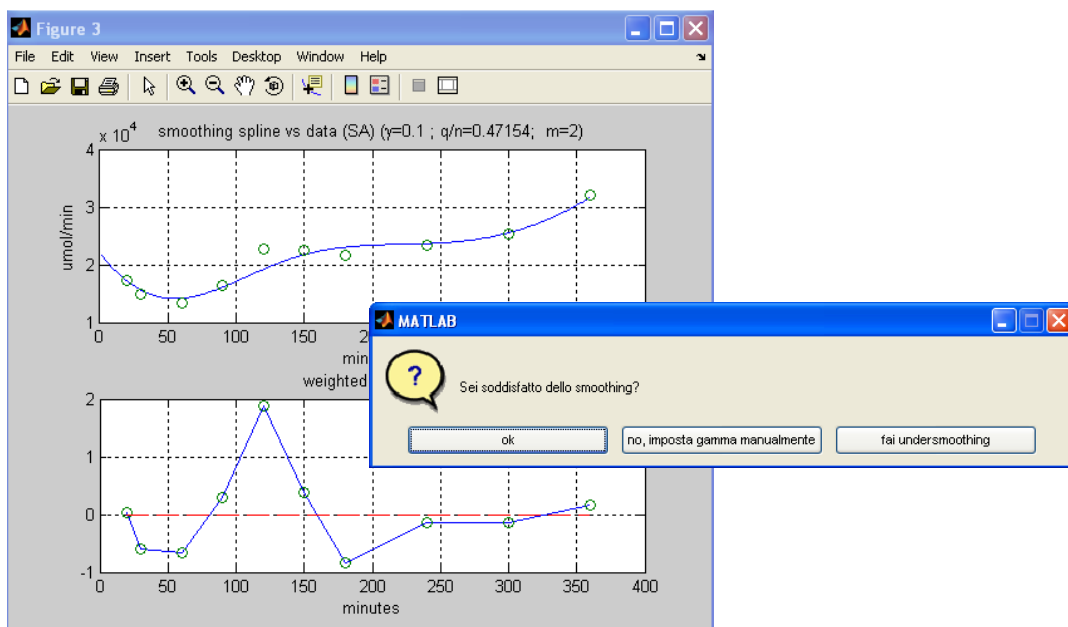


Fig. 5.2: Scelta del valore appropriato del parametro di regolarizzazione γ

Ad esempio, nei casi in cui l'algoritmo forniva una curva troppo smussata rispetto ai dati di partenza, il valore di γ è stato ridotto (undersmoothing) in modo che la curva risultante aderisse maggiormente ai dati; questa operazione è stata effettuata in particolare nei casi in cui la curva di partenza era già abbastanza regolare.

5.4 Calcolo dei flussi

A questo punto, tramite gli script *Stima_Flussi.m*, *Flussi_Steele.m* e *Flussi_Radziuk.m* si è potuto procedere alla stima dei flussi con i modelli monocompartimentale (di Steele) e bicompartimentale (di Radziuk). I parametri dei due modelli sono stati fissati a valori di popolazione e precisamente, per il modello monocompartimentale:

- V : 200 [mL/kg];
- p : 0.65,

I valori scelti per i parametri del modello bicompartimentale sono invece:

- V_1 : 130 [mL/kg];
- p : 0.65;
- k_{12} : 0.07 [min^{-1}];
- k_{21} : 0.05 [min^{-1}].

Una volta ottenute le stime di R_a , EGP e R_d , è stato necessario verificare la qualità dei flussi stimati, vale a dire la presenza o meno di valori negativi, troppo elevati o troppo bassi rispetto a quanto ci può ragionevolmente attendere dall'andamento del flusso in esame. Il modo più efficace (nonché l'unico, in pratica) per evitare l'occorrenza di valori negativi o picchi troppo elevati era intervenire nel corso delle procedure di smoothing, scartando altri punti (o punti diversi da quelli scartati in precedenza), oppure cambiando il valore di γ trovato con la deconvoluzione.

In alcuni casi, soprattutto riguardanti la stima di EGP, è risultato impossibile o estremamente difficoltoso evitare l'occorrenza di valori negativi; lo stesso si può dire a riguardo di R_a : in alcuni casi (limitati tuttavia agli istanti finali dell'esperimento) non è stato possibile evitare la presenza di valori negativi.

Gli andamenti medi stimati dei tre flussi (R_a , EGP, R_d) per ogni pasto e per le due tipologie di soggetti (normali e diabetici di tipo 1) sono riportati nel capitolo 8.

CAPITOLO 6

IDENTIFICAZIONE DEI MODELLI

In questo capitolo verranno spiegati nel dettaglio i metodi utilizzati per l'identificazione dei modelli presentati nel capitolo 4; prima di procedere a spiegare come sono stati implementati questi metodi in MATLAB® è opportuno premettere un'introduzione generale sulle metodologie di stima parametrica.

6.1 Stima parametrica

Le equazioni dei modelli presentati nel capitolo 4 derivano principalmente da conoscenze relative alla fisiologia umana (ed in particolare al complesso sistema endocrino-metabolico di regolazione glucosio-insulina) e da alcune assunzioni teoriche.

Si parla di "identificazione" di un modello [5] nel momento in cui vengono assegnati dei valori ai parametri $\{p_1, p_2, \dots, p_M\}$ che compaiono all'interno del modello stesso; ciò avviene sfruttando la disponibilità di uno o più segnali di misura (ad esempio, la concentrazione di glucosio nel plasma, la concentrazione di insulina nel plasma, la velocità di comparsa del glucosio nel plasma ecc.).

Si pensi ora di avere a disposizione un solo segnale misurato, denominato $y(t)$, e di esprimere tale segnale in funzione del vettore dei parametri $[p_1, p_2, \dots, p_M]^T$: esso assume la forma

$$y(t) = g(t, \mathbf{p}) \quad (6.1)$$

dove \mathbf{p} è il vettore dei parametri e g una funzione che lega il modello alle misure.

Nella pratica il segnale $y(t)$ è affetto da rumore e risulta disponibile in un numero limitato N di campioni in corrispondenza degli istanti di campionamento $\{t_1, t_2, \dots, t_N\}$; le misure si possono perciò esprimere nel modo seguente:

$$z_k = y(t_k) + v_k = g(t_k, \mathbf{p}) + v_k \quad (6.2)$$

dove v_k rappresenta l'errore sulla misura all'istante k . Tale errore solitamente si può ipotizzare di tipo additivo ed assimilabile ad una variabile aleatoria a valore atteso nullo (ipotizzando l'assenza di errori sistematici), della quale si ha a disposizione una descrizione statistica. In particolare, la varianza del processo può essere costante (in ogni istante k si ha cioè $\sigma_k^2 = \sigma^2$) oppure no (σ_k^2 dipende dall'istante k).

In molti casi per la varianza σ_k^2 si possono fornire dei modelli: generalmente si ha

$$\sigma_k^2 = \alpha + \beta(z_k)^\gamma. \quad (6.3)$$

Per valutare l'entità dell'errore di misura relativo ai dati si ricorre generalmente al *coefficiente di variazione* (CV), dato dal rapporto tra la deviazione standard dell'errore di misura e la misura stessa:

$$CV_k = \frac{\sigma_k}{z_k} \quad (6.4)$$

Riepilogando, il problema di stima parametrica consiste dunque nel determinare un valore $\hat{\mathbf{p}}$ del vettore dei parametri $\mathbf{p} = \{p_1, p_2, \dots, p_M\}$, una volta note le misure $\{z_1, z_2, \dots, z_N\}$ e la funzione $g(\mathbf{t}, \mathbf{p})$.

L'equazione (6.2) si può scrivere in forma matriciale:

$$\mathbf{z} = \mathbf{y} + \mathbf{v} = \mathbf{G}(\mathbf{p}) + \mathbf{v} \quad (6.5)$$

dove $\mathbf{G}(\mathbf{p}) = [g(\mathbf{t}_1, \mathbf{p}), g(\mathbf{t}_2, \mathbf{p}), \dots, g(\mathbf{t}_N, \mathbf{p})]^T$.

La matrice di covarianza del vettore \mathbf{v} si può allora esprimere come:

$$\Sigma_v = [\mathbf{v}\mathbf{v}^T] = \sigma^2 \mathbf{B} \quad (6.6)$$

dove lo scalare σ^2 può essere noto o incognito, mentre la matrice \mathbf{B} è sempre nota e se il rumore è a campioni scorrelati risulta diagonale [5]. Si possono distinguere i seguenti casi particolari:

- varianza generica non costante: $\sigma^2 = 1$, $\mathbf{B} = \text{diag}(\sigma_1^2, \sigma_2^2, \dots, \sigma_N^2)$;
- varianza costante σ^2 (nota o incognita): $\mathbf{B} = \mathbf{I}_N$;
- coefficiente di variazione (CV) costante, noto o incognito: $\sigma = CV$, $\mathbf{B} = \text{diag}(z_1^2, z_2^2, \dots, z_N^2)$.

6.1.1 Metodo Fisheriano: stimatore ai minimi quadrati pesati

Il problema della stima parametrica si può affrontare secondo vari approcci, sfruttando cioè solamente i dati a disposizione oppure utilizzando, se disponibili, anche la descrizione statistica del secondo ordine o completa del rumore di misura \mathbf{v} , oppure anche eventuali conoscenze a priori sul vettore \mathbf{p} dei parametri incogniti.

Il metodo di stima *ai minimi quadrati pesati* prevede l'utilizzo dei dati dell'esperimento e la descrizione statistica del secondo ordine del rumore di misura \mathbf{v} , secondo lo schema di Figura 5.1:



Fig. 5.1: Stimatore ai minimi quadrati pesati (WLS: Weighted Least Squares)

Prendendo spunto dall'equazione 6.5 si definisce, per un valore generico del vettore dei parametri \mathbf{p} , il vettore

$$\mathbf{e}(\mathbf{p}) = \mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p}) \quad (6.7)$$

il quale fornisce la "distanza" fra il vettore delle misure \mathbf{z} e la predizione del modello $\mathbf{G}(\mathbf{p})$, per quel valore di \mathbf{p} : \mathbf{e} si definisce dunque *errore di predizione*; l'idea che sta alla base dello stimatore ai minimi quadrati pesati è determinare \mathbf{p} in modo tale da rendere minimo il suddetto errore.

Consideriamo ora una matrice \mathbf{W} definita positiva; si può definire *distanza pesata tra il modello e i dati* la quantità

$$\|\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})\|_{\mathbf{W}^{-1}}^2 = [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]^T \mathbf{W}^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})] \quad (6.8)$$

\mathbf{W} può essere una matrice arbitraria ma, se è nota la matrice di covarianza dell'errore (Σ_v), si dimostra che la scelta migliore consiste nel porre $\mathbf{W} = \Sigma_v^{-1}$; si definisce allora stima WLS il valore di \mathbf{p} che, tra tutti i vettori possibili, rende minima la distanza pesata tra il modello e i dati, definita dalla seguente funzione costo:

$$J(\mathbf{p}) = [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]^T \Sigma_v^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})] \quad (6.9)$$

Il vettore $\hat{\mathbf{p}}_{WLS}$ che rende minima la funzione $J(\mathbf{p})$ risulta perciò:

$$\hat{\mathbf{p}}_{WLS} = \underset{\mathbf{p}}{\operatorname{argmin}} \|\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})\|_{\Sigma_v^{-1}}^2 = \underset{\mathbf{p}}{\operatorname{argmin}} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]^T \Sigma_v^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})] \quad (6.10)$$

Si osservi che, se il rumore è a campioni scorrelati, risulta

$$\|\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})\|_{\Sigma_v^{-1}}^2 = \sum_{k=1}^N \frac{1}{\sigma_k^2} e_k^2(\mathbf{p}) \quad (6.11)$$

vale a dire che l'operazione che si sta compiendo è perseguire l'aderenza ai vari dati in proporzione alla loro affidabilità relativa (cioè all'inverso della loro varianza).

Se, come spesso accade, il vettore delle predizioni $\mathbf{G}(\mathbf{p})$ non è lineare in \mathbf{p} , si parla di stima ai minimi quadrati *non lineari* pesati (WLNS): si vedrà in seguito che tutti i modelli utilizzati in questa tesi rientrano in questo caso.

Una volta ottenute le stime dei parametri è necessario valutare la loro attendibilità; la stima dipende infatti dalle misure z_k utilizzate, che sono affette dall'errore di misura v_k : anche la stima $\hat{\mathbf{p}}$ ottenuta sarà dunque affetta da errore.

L'*errore di stima* dei parametri è definito come

$$\tilde{\mathbf{p}} = \mathbf{p} - \hat{\mathbf{p}} \quad (6.12)$$

in cui \mathbf{p} è il valore vero (incognito) del vettore dei parametri. La capacità dell'errore di stima di variare si valuta calcolando la sua matrice di covarianza:

$$\operatorname{cov}(\tilde{\mathbf{p}}) = E[\tilde{\mathbf{p}}\tilde{\mathbf{p}}^T] \quad (6.13)$$

la quale fornisce una misura della precisione (ovvero dell'incertezza) con cui viene stimato il vettore \mathbf{p} [5]. Si definiscono allora:

- $SD(\hat{p}_i) = \sqrt{var(\hat{p}_i)}$: deviazione standard della stima;
- $\hat{p}_i \pm SD(\hat{p}_i)$: intervallo di confidenza;
- $CV(\hat{p}_i) = 100 \times \frac{SD(\hat{p}_i)}{\hat{p}_i}$: coefficiente di variazione (nei casi pratici si preferisce riportare l'incertezza in termini relativi).

Nel caso non lineare in esame la matrice di covarianza $cov(\tilde{\mathbf{p}})$ assume la seguente espressione:

$$cov(\tilde{\mathbf{p}}) = cov(\hat{\mathbf{p}}) \cong (\mathbf{S}^T \boldsymbol{\Sigma}_v^{-1} \mathbf{S})^{-1} = \mathbf{F}(\mathbf{p})|_{\hat{\mathbf{p}}} \quad (6.14)$$

dove $\mathbf{F}(\mathbf{p})$ è la matrice di informazione di Fisher, mentre la matrice \mathbf{S} viene calcolata nel modo seguente:

$$S_{ij} = \left. \frac{\partial g(t_i, \mathbf{p})}{\partial p_j} \right|_{\mathbf{p}=\hat{\mathbf{p}}} \quad (6.15)$$

Si accennava, in precedenza (paragrafo 6.1) al fatto che la matrice $\boldsymbol{\Sigma}_v$ può essere interamente nota, oppure nell'espressione (6.6) di tale matrice può essere nota solamente la matrice \mathbf{B} : nel primo caso si parla allora di *pesi assoluti* e il vettore delle stime $\hat{\mathbf{p}}_{WLS}$ si calcola utilizzando l'espressione (6.10), nel secondo caso si parla di *pesi relativi* e si utilizza allora la seguente espressione:

$$\hat{\mathbf{p}}_{WLS} = argmin_{\mathbf{p}} \|\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})\|_{\mathbf{B}^{-1}}^2 = argmin_{\mathbf{p}} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]^T \mathbf{B}^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})] \quad (6.16)$$

Il fatto di dover usare i pesi relativi invece dei pesi assoluti non influenza la stima del vettore dei parametri: la soluzione del problema, nei due casi, è la stessa; tuttavia, senza σ^2 non è possibile ricavare la precisione delle stime che, come si vede dall'Equazione 6.14, richiede la conoscenza della matrice $\boldsymbol{\Sigma}_v$. Si procede allora con una stima a posteriori di σ^2 , che viene calcolata dividendo il valore della funzione costo $WRSS(\hat{\mathbf{p}})$ (valutata cioè nel punto di minimo) per il numero di *gradi di libertà*, definito come la differenza tra il numero di campioni (N) e il numero dei parametri del modello (M):

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{WRSS(\hat{\mathbf{p}})}{N-M} = \frac{[\mathbf{z} - \mathbf{G}(\hat{\mathbf{p}})]^T \mathbf{B}^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\hat{\mathbf{p}})]}{N-M} \quad (6.17)$$

Allo scopo di valutare la qualità della predizione fornita dal modello si definisce, allo stesso modo dell'errore di predizione, il vettore dei *residui*:

$$\mathbf{r} = \mathbf{z} - \mathbf{G}(\hat{\mathbf{p}}) \quad (6.18)$$

Essendo $\mathbf{v} = \mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})$ si può ritenere che il vettore \mathbf{r} dei residui costituisca una stima dell'errore di misura; quindi se il modello è valido e la stima dei parametri è ragionevole è logico attendersi che i residui siano compatibili con le proprietà statistiche dell'errore di misura, ipotizzato a campioni gaussiani scorrelati con matrice di covarianza nota:

$$\Sigma_v = \text{diag}(\sigma_1^2, \sigma_2^2, \dots, \sigma_N^2) \quad (6.19)$$

Ora, essendo $\text{var}(v_k/\sigma_k) = 1$, definendo i *residui pesati* come

$$wr_k = \frac{r_k}{\sigma_k} \quad (6.20)$$

è ragionevole attendersi che siano poco correlati e che il loro valore sia compreso tra -1 e 1.

6.1.2 Metodo Bayesiano: stimatore Maximum a Posteriori (MAP)

Si accennava, nel paragrafo precedente, al fatto che è possibile affrontare il problema di stima parametrica secondo vari approcci che differiscono tra loro a seconda delle informazioni utilizzate.

L'approccio di Fisher, analizzato nel paragrafo precedente, prevede che \mathbf{p} venga stimato sfruttando solo i dati dell'esperimento. L'approccio di Bayes considera invece \mathbf{p} come una variabile aleatoria, della quale si può stimare una realizzazione utilizzando, oltre ai dati sperimentali (*informazione a posteriori*), anche *informazioni a priori* (indipendenti dai dati), costituite dalla densità di probabilità di \mathbf{p} , $f_p(\mathbf{p})$ (v. Fig. 6.2).

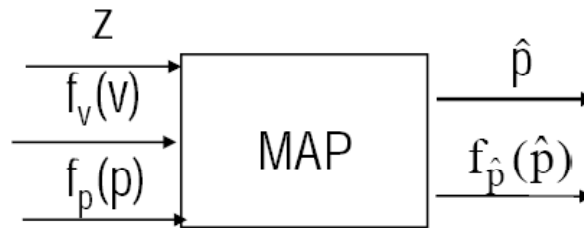


Fig. 6.2: Stimatore Maximum a Posteriori

Utilizzando i dati misurati è poi possibile definire la densità di probabilità a posteriori di tale vettore, $f_{p|z}(\mathbf{p}|\mathbf{z})$; in base alla regola di Bayes, quest'ultima si può scrivere come

$$f_{p|z}(\mathbf{p}|\mathbf{z}) = \frac{f_{z|p}(\mathbf{z}|\mathbf{p})f_p(\mathbf{p})}{f_z(\mathbf{z})} \quad (6.21)$$

dove $f_z(\mathbf{z})$ è la densità di probabilità a priori del vettore delle misure \mathbf{z} .

Lo stimatore MAP, una volta fissati gli N valori del vettore dei dati, rende massima la densità di probabilità a posteriori dei parametri: è definito perciò come

$$\hat{\mathbf{p}}_{MAP} = \text{argmax}_{\mathbf{p}} f_{p|z}(\mathbf{p}|\mathbf{z}) \quad (6.22)$$

L'espressione (6.21) in realtà si può semplificare: dal momento che il denominatore $f_z(\mathbf{z})$ non dipende da \mathbf{p} , la stima MAP si può determinare come

$$\hat{\mathbf{p}}_{MAP} = \text{argmax}_{\mathbf{p}} f_{z|p}(\mathbf{z}|\mathbf{p})f_p(\mathbf{p}) \quad (6.23)$$

L'espressione generica per $f_{\mathbf{p}|\mathbf{z}}(\mathbf{p}|\mathbf{z})$ risulta

$$f_{\mathbf{p}|\mathbf{z}}(\mathbf{p}|\mathbf{z}) = \frac{f_{\mathbf{z}|\mathbf{p}}(\mathbf{z}|\mathbf{p})f_{\mathbf{p}}(\mathbf{p})}{\int f_{\mathbf{z}|\mathbf{p}}(\mathbf{z}|\mathbf{p})f_{\mathbf{p}}(\mathbf{p})d\mathbf{p}} \quad (6.24)$$

che però in genere non è disponibile e quindi sarebbe impossibile procedere risolvendo un problema di ottimizzazione.

La funzione $f_{\mathbf{z}|\mathbf{p}}(\mathbf{z}|\mathbf{p})$ è legata alla densità di probabilità $f_{\mathbf{v}}(\mathbf{v})$ dell'errore di misura \mathbf{v} : supponendo che \mathbf{v} sia rumore bianco, gaussiano e a media nulla, con matrice di covarianza avente l'espressione (6.6), il vettore aleatorio \mathbf{z} noto \mathbf{p} ($\mathbf{z}|\mathbf{p}$) risulta gaussiano con valore atteso $\mathbf{G}(\mathbf{p})$ e matrice di covarianza sempre data dall'equazione (6.6); la densità di probabilità condizionata da \mathbf{p} risulta dunque:

$$f_{\mathbf{z}|\mathbf{p}}(\mathbf{z}|\mathbf{p}) = \frac{1}{[(2\pi)^N \det(\boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{v}})]^{\frac{1}{2}}} \exp\left(-\frac{1}{2}[\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]^T \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{v}}^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]\right) \quad (6.25)$$

La funzione $f_{\mathbf{p}}(\mathbf{p})$ che compare nella funzione costo (6.24) è invece legata all'informazione a priori disponibile sul vettore \mathbf{p} dei parametri incogniti e la sua formalizzazione risulta quindi necessaria per la stima; assumendo che il vettore dei parametri \mathbf{p} sia estratto da una distribuzione gaussiana con media $\boldsymbol{\mu}_{\mathbf{p}}$ e varianza $\boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{p}}$ si ha:

$$f_{\mathbf{p}}(\mathbf{p}) = \frac{1}{[(2\pi)^M \det(\boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{p}})]^{\frac{1}{2}}} \exp\left(-\frac{1}{2}[\mathbf{p} - \boldsymbol{\mu}_{\mathbf{p}}]^T \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{p}}^{-1} [\mathbf{p} - \boldsymbol{\mu}_{\mathbf{p}}]\right) \quad (6.26)$$

La funzione da massimizzare è data dal prodotto tra la (6.25) e la (6.26): tramite semplici passaggi algebrici si ottiene

$$\hat{\mathbf{p}}_{MAP} = \operatorname{argmin}_{\mathbf{p}} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]^T \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{v}}^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})] + [\mathbf{p} - \boldsymbol{\mu}_{\mathbf{p}}]^T \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{p}}^{-1} [\mathbf{p} - \boldsymbol{\mu}_{\mathbf{p}}] \quad (6.27)$$

Anche nel caso Bayesiano è possibile ricavare la precisione delle stime, valutando la matrice $\operatorname{cov}(\hat{\mathbf{p}})$; nel caso di misure statisticamente indipendenti e di errore gaussiano, lo stimatore Bayesiano gode della seguente proprietà asintotica:

$$\operatorname{cov}(\hat{\mathbf{p}}) = [\mathbf{F}(\mathbf{p})|_{\mathbf{p}=\hat{\mathbf{p}}}]^{-1} \quad (6.28)$$

dove $\mathbf{F}(\mathbf{p})$ è di nuovo la matrice di informazione di Fisher, che nel caso della stima bayesiana con rumore bianco a campioni scorrelati si calcola però nel modo seguente:

$$\mathbf{F}(\mathbf{p})|_{\mathbf{p}=\hat{\mathbf{p}}} = \mathbf{S}^T \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{v}}^{-1} \mathbf{S} + \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{p}}^{-1} \quad (6.29)$$

con \mathbf{S} calcolata come nella (6.18)

Si osservi che i due addendi che compongono la funzione costo presente nell'equazione (6.27) pesano, rispettivamente, l'aderenza ai dati (il primo) e la vicinanza del vettore \mathbf{p} all'informazione

a priori ad esso disponibile (il secondo): la funzione in esame realizza quindi un compromesso tra informazione a priori e informazione a posteriori [5].

Si vedrà ora come sono state messe in pratica le strategie di identificazione descritte nel paragrafo precedente, iniziando dal modello minimo del glucosio con $R_{a\text{ meal}}$ nota.

6.2 Identificazione del modello OMM con R_a nota

L'obiettivo dell'identificazione del modello consiste nella stima dei parametri che compaiono nelle equazioni (4.1), ognuno dei quali, come si è visto, assume un ben preciso significato fisiologico.

Si hanno a disposizione i dati di glucosio [mg/dL], $R_{a\text{ meal}}$ [mg/kg/min] e insulina [μ U/mL]: questi ultimi due, come si evince dalle equazioni (4.1), sono stati utilizzati come *funzioni forzanti*, ossia come ingressi noti (nel modello non sono infatti presenti equazioni dinamiche relative a queste due grandezze). Per ciascun soggetto, il vettore delle concentrazioni di glucosio costituisce dunque il vettore dei dati misurati (\mathbf{z}).

I dati di glucosio e insulina sono stati campionati secondo la seguente griglia temporale:

$t = [0\ 5\ 10\ 20\ 30\ 60\ 90\ 120\ 150\ 180\ 240\ 300\ 360]'$ min,

mentre per $R_{a\text{ meal}}$ è stata utilizzata una griglia di campionamento di volta in volta diversa, comprendente sempre l'istante $t = 0$ (in cui $R_{a\text{ meal}}$ è posta uguale a 0) e, a partire dal primo istante in cui si aveva un dato disponibile, identica alla griglia temporale relativa alla concentrazione del glucosio; ad esempio, se per un soggetto i dati di $R_{a\text{ meal}}$ sono disponibili dall'istante $t = 30'$ in poi, la griglia di campionamento risulta $t = [0\ 30\ 60\ 90\ 120\ 150\ 180\ 240\ 300\ 360]'$ min. Il campione di $R_{a\text{ meal}}$ in $t = 0$ è stato posto uguale a 0 perché è ragionevole supporre che all'inizio del pasto il glucosio ingerito non sia ancora comparso nel plasma.

L'errore di misura relativo ai dati del glucosio è stato ipotizzato bianco, gaussiano, a media nulla, con coefficiente di variazione costante e pari al 2 % dei dati.

Le equazioni relative al modello sono state implementate in un modo leggermente diverso rispetto a quanto mostrato nel capitolo 4:

$$\begin{cases} \dot{G}(t) = -[S_G + X(t)] \cdot G(t) + S_G \cdot G_b + \frac{R_{a\text{ meal}}(t)}{V} & G(0) = G_b \\ \dot{X}(t) = -p_2 \cdot X(t) + p_2 \cdot S_I \cdot [I(t) - I_b] & X(0) = 0 \end{cases} \quad (6.30)$$

Al posto di p_3 compare il prodotto $p_2 \cdot S_I$; i parametri da stimare risultano allora S_G , p_2 , S_I e V .

Per identificare il modello è stato utilizzato lo stimatore ai minimi quadrati pesati (con pesi assoluti, visto che la descrizione dell'errore sui dati è completamente nota), implementato in MATLAB® dalla funzione *lsqnonlin*; questa funzione calcola i valori dei parametri che minimizzano la funzione costo passata come argomento, utilizzando il metodo del gradiente. Nel caso in esame, tale funzione costo è costituita dalla somma dei quadrati delle differenze tra i dati misurati ed i valori predetti, pesate per l'errore sui dati (v. Eq. 6.9).

La function *lsqnonlin* necessita dei valori iniziali dei parametri da stimare; per tutti i soggetti sono stati dunque utilizzati i seguenti valori iniziali:

- S_G : 0.01 [min^{-1}];
- p_2 : 0.011 [min^{-1}];

- S_i : 0.0001 [min^{-1} per $\mu\text{U/mL}$];
- V : 1.45 [dL/kg].

La procedura di identificazione è la seguente:

- la funzione *lsqnonlin*, all'interno dello script *main*, valuta iterativamente la funzione obiettivo (6.8), restituendo in uscita i valori corrispondenti al punto di minimo di quest'ultima, finché le variazioni dei parametri e della funzione obiettivo non risultano minori di una certa soglia;
- il calcolo del valore della funzione obiettivo, per ogni valore del vettore dei parametri, viene svolto da un'altra function, richiamata da *lsqnonlin*, che provvede, ad ogni ciclo, ad assegnare i valori ai parametri, risolvere le equazioni differenziali del modello e calcolare il valore della funzione obiettivo;
- le equazioni del modello vengono risolte per ogni istante della griglia di campionamento tramite la function *ode45*, alla quale viene passata come argomento un'ultima function, all'interno della quale vengono scritte le equazioni.

La procedura è rappresentata nello schema a blocchi di Fig. 6.3:

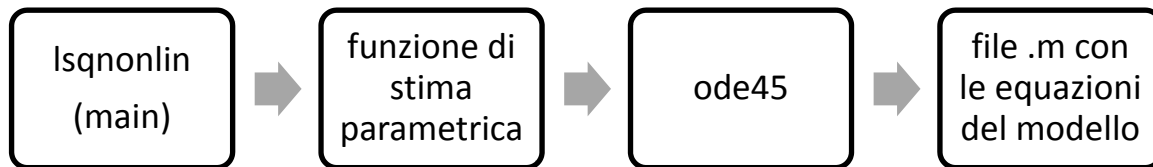


Fig. 6.3: rappresentazione della procedura di ottimizzazione

Una volta ottenute le stime dei parametri è stata calcolata l'incertezza sulle stime, tramite l'equazione (6.14): utilizzando la matrice Jacobiana del modello (fornita in uscita da *lsqnonlin*) è stata determinata la deviazione standard dell'errore sulle stime, con la quale poi è stato calcolato il CV delle stime. Tramite l'espressione (6.18) è stata poi ricavata la predizione per il glucosio ed infine sono stati calcolati i residui pesati, campione per campione, con l'espressione (6.20).

Le predizioni del modello non fittavano in modo soddisfacente i dati, principalmente perché le stime ottenute non si discostavano apprezzabilmente dai valori iniziali, costituendo un punto di minimo locale della funzione costo; è stato allora necessario effettuare stime iniziali migliori utilizzando la function *fminsearch*. Tale function opera in modo analogo a *lsqnonlin* (secondo lo schema di figura 6.3) ma permette di esplorare in modo più ampio lo spazio dei valori dei parametri, consentendo perciò una stima migliore del punto di minimo della funzione obiettivo. La differenza principale tra le due function (*lsqnonlin* e *fminsearch*) consiste nel fatto che *fminsearch* non fornisce in uscita lo Jacobiano né i residui e quindi per determinare le precisioni delle stime dei parametri è necessario eseguire comunque *lsqnonlin* (partendo però da valori iniziali migliori) dopo *fminsearch*.

I risultati ottenuti sono migliorati in termini di fit, a discapito però della complessità computazionale e delle precisioni delle stime. Per molti soggetti il CV relativo alla stima del parametro S_G assumeva valori molto alti (anche maggiori di 10^5). È stato perciò rifatto il procedimento di ottimizzazione utilizzando lo stimatore MAP, considerando S_G come una variabile aleatoria con media 0.0151 e deviazione standard 0.0063 (pari, rispettivamente, alla media e alla deviazione standard dei valori di S_G relativi ai soggetti con CV minore di 100).

Nonostante queste modifiche i coefficienti di variazione relativi alle stime del parametro S_G si sono rivelati in media ancora molto alti; la deviazione standard di S_G è stata perciò ristretta al 10 % del valore iniziale: questa ulteriore modifica ha permesso di ottenere stime dei parametri precise per tutti i soggetti. D'altra parte, ancora non tutti i fit si sono rivelati soddisfacenti.

Nei soggetti diabetici il modello è stato ulteriormente affinato in modo da tenere conto della non stazionarietà che contraddistingue le concentrazioni di glucosio ed insulina all'inizio dell'esperimento; il valore basale della concentrazione del glucosio è stato perciò posto uguale al valore in $t = 0$, mentre l'insulina basale è stata posta nulla. Le equazioni del modello sono state modificate nel modo seguente:

$$\begin{cases} \dot{G}(t) = -[S_G + X(t)] \cdot G(t) + (S_G + X_b) \cdot G_b + \dot{G}(0) + \frac{R_{a\ meal}(t)}{V} & G(0) = G_b \\ \dot{X}(t) = -p_2 \cdot X(t) + p_2 \cdot S_I \cdot I(t) & X(0) = X_b \end{cases} \quad (6.31)$$

ponendo

$$X_b = I(0) \cdot S_I \quad (6.32)$$

Si suppone, infatti, che la concentrazione di glucosio nel soggetto diabetico non si trovi in stato stazionario all'inizio dell'esperimento; ciò spiega anche la presenza della derivata del glucosio in $t = 0$ all'interno della prima equazione, calcolata dalla prima equazione delle (6.30):

$$\dot{G}(0) = -[S_G + X_b] \cdot G_b + p_4 \Rightarrow p_4 = \dot{G}(0) + [S_G + X_b] \cdot G_b \quad (6.33)$$

In questo modo si tiene conto del fatto che prima dell'inizio dell'esperimento la concentrazione plasmatica del glucosio potrebbe non essere in stato stazionario (in pratica, $G(-30)$ e $G(0)$ potrebbero essere apprezzabilmente diversi).

Inoltre i dati di R_a sono stati interpolati linearmente in modo che l'istante in cui era presente il primo campione di R_a fosse precedente al primo istante in cui era presente un campione non nullo di MR_{13c} : infatti, costituendo R_a l'ingresso del sistema (v. Fig. 4.1) è necessario che la velocità di comparsa preceda la comparsa del tracciante orale.

Nonostante queste ulteriori modifiche, non è stato possibile ottenere fit soddisfacenti né stime dei parametri precise; anzi, in qualche caso l'algoritmo di ottimizzazione portava a stime assolutamente non fisiologiche dei parametri.

6.3 Identificazione del modello OMM con R_a incognita

Le equazioni del modello sono state implementate nella forma (6.30); $R_{a\ meal}$ è stata descritta tramite 8 coefficienti secondo l'espressione (4.5). I parametri del modello risultano quindi S_I , S_G , V , p_2 e gli α_i ; i valori assegnati ai parametri S_G e V (che, come si accennava nel paragrafo 4.2, sono non identificabili a priori) sono rispettivamente $0.025\ \text{min}^{-1}$ per S_G e $1.45\ \text{dL/kg}$ per V . La radice quadrata del parametro p_2 (denominata d'ora in avanti pp_2) è stata considerata come una variabile aleatoria di media 0.11 e deviazione standard 0.011 ed è stata quindi implementata la stima MAP.

La griglia temporale per i dati di glucosio e insulina è la stessa del modello con R_a nota:
 $t = [0 \ 5 \ 10 \ 20 \ 30 \ 60 \ 90 \ 120 \ 150 \ 180 \ 240 \ 300 \ 360]$ min,
 mentre la griglia di campionamento per R_a è leggermente diversa:
 $t = [0 \ 5 \ 10 \ 20 \ 30 \ 60 \ 90 \ 150 \ 180 \ 360]$ min,
 sempre con la logica di campionare frequentemente all'inizio (perché ci si aspetta che R_a vari rapidamente) e in modo più rado verso la fine dell'esperimento.

L'errore di misura relativo ai dati del glucosio è stato sempre supposto bianco, gaussiano, a media nulla, con coefficiente di variazione costante e pari al 2 % dei dati; per quanto concerne i valori iniziali dei parametri da stimare, sono stati utilizzati i seguenti valori:

- $\sqrt{p_2}$: 0.11 [$\text{min}^{-1/2}$];
- S_1 : 0.0002 [min^{-1} per $\mu\text{U/mL}$];
- $[\alpha_1, \alpha_3, \alpha_4, \alpha_5, \alpha_6, \alpha_7, \alpha_8]$: [3, 9, 5, 2, 1, 1, 1] [mg/kg/min].

Anche in questo caso, inizialmente i fit non risultavano buoni perché le stime dei parametri non si discostavano dai valori iniziali e l'algoritmo di stima forniva quindi valori corrispondenti ad un punto di minimo relativo della funzione costo. Inoltre, nei casi in cui gli α_i venivano stimati molto vicini a 0, i relativi i coefficienti di variazione risultavano molto alti ($\gg 100$). È stata quindi nuovamente utilizzata la function *fminsearch* per fornire una prima stima dei valori iniziali da passare poi a *lsqnonlin*; in questo modo i fit sono migliorati considerevolmente. Per risolvere il problema dei CV troppo elevati sono stati posti a 0 i coefficienti α_i la cui stima risultava minore di 0.1 o il cui CV risultava maggiore di 100, ed è stato poi ripetuto il procedimento di ottimizzazione.

In seguito la procedura di identificazione del modello è stata ulteriormente modificata e differenziata per i soggetti normali ed i soggetti diabetici.

Per quanto riguarda i soggetti normali, sono stati innanzitutto cambiati leggermente i valori iniziali dei parametri pp_2 ($0.1 \text{ min}^{-1/2}$) e S_1 (0.0009 min^{-1} per $\mu\text{U/mL}$); è stato poi ridotto a 7 il numero dei coefficienti utilizzati per descrivere $R_{a \text{ meal}}$ ed è stata quindi conseguentemente modificata la griglia temporale per $R_{a \text{ meal}}$: $tRa = [0 \ 10 \ 20 \ 30 \ 60 \ 90 \ 120 \ 180 \ 360]$ min. Per i coefficienti α_i sono stati utilizzati i seguenti valori iniziali: 11, 10, 11, 1, 1, 1. Il codice prevedeva di stimare inizialmente i coefficienti $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_4, \alpha_5, \alpha_6$ e α_7 e calcolare α_3 utilizzando il vincolo (4.6); dal momento che in qualche caso α_3 risultava negativo, il procedimento di ottimizzazione è stato ripetuto stimando α_3 e ricavando α_2 . Nel caso in cui anche il calcolo di α_2 avesse fornito un risultato negativo sarebbe stato stimato α_2 e calcolato α_1 e così via finché il valore del coefficiente calcolato tramite gli altri fosse risultato positivo.

I tempi di esecuzione del codice si sono rivelati da subito molto minori e le stime dei parametri affidabili, anche senza il ricorso alla function *fminsearch*: questo fatto può essere dovuto a due fattori, vale a dire un minor numero di parametri (8 invece di 9) e la diversa griglia di campionamento adottata per R_a ; probabilmente tuttavia la maggiore efficienza del codice è dovuta alla scelta di una griglia di campionamento diversa per R_a , in particolar modo per quanto riguarda i primi istanti dell'esperimento. L'interpolazione dei valori di R_a nei primi istanti dell'esperimento, effettuata nel momento in cui vengono risolte le equazioni differenziali del modello, costituisce infatti una fase critica della procedura di ottimizzazione: la griglia di campionamento scelta in seconda battuta permette probabilmente un'interpolazione più efficiente e quindi una risoluzione più agevole delle equazioni differenziali.

Per quanto concerne i soggetti diabetici, sono stati adottati gli stessi accorgimenti riguardanti i soggetti normali; inoltre, il modello è stato riparametrizzato tramite l'utilizzo del parametro GEZI

(v. par. 4.1): il motivo di questa operazione sta nel fatto che il prior su S_G non è utilizzabile nei soggetti diabetici in quanto, se viene fissato il valore di S_G , il valore del parametro S_I tende ad essere stimato nullo o comunque troppo piccolo per essere accettabile, con CV conseguentemente molto alti.

Le equazioni del modello diventano pertanto:

$$\begin{cases} \dot{G}(t) = -[p_1 + X(t)] \cdot G(t) + S_G \cdot G_b + \frac{Ra_{meal}(t)}{V} & G(0) = G_b \\ \dot{X}(t) = -p_2 \cdot X(t) + p_2 \cdot S_I \cdot [I(t) - I_b] & X(0) = 0 \end{cases} \quad (6.34)$$

con

$$p_1 = \frac{GEZI + S_I \cdot V \cdot I_b}{V} \quad (6.35)$$

Il parametro GEZI è stato inizialmente considerato fisso e il suo valore posto a 0.01 dL/kg/min; successivamente, per tentare di migliorare i fit, è stato considerato come una variabile aleatoria di media 0.01 e deviazione standard 0.001 ed è stata implementato lo stimatore MAP.

I fit risultanti dall'identificazione del modello sono apparsi non soddisfacenti; il procedimento di identificazione è stato dunque modificato, ponendo il valore di insulina basale uguale a 0 (dato che, in linea di principio, nel soggetto diabetico all'istante 0 non è presente insulina endogena). Sono state poi modificate le equazioni del modello nel modo seguente:

$$\begin{cases} \dot{G}(t) = -[p_1 + X(t)] \cdot G(t) + (p_1 + X_b) \cdot G_b + \dot{G}(0) + \frac{Ra_{meal}(t)}{V} & G(0) = G_b \\ \dot{X}(t) = -p_2 \cdot X(t) + p_2 \cdot S_I \cdot I(t) & X(0) = X_b \end{cases} \quad (6.36)$$

ponendo

$$X_b = I(0) \cdot S_I \quad (6.37)$$

Si suppone, infatti, che la concentrazione di glucosio nel soggetto diabetico non si trovi in stato stazionario all'inizio dell'esperimento; ciò spiega anche la presenza della derivata del glucosio in $t = 0$ all'interno della prima equazione, calcolata dalla prima equazione del sistema (6.34):

$$\dot{G}(0) = -[p_1 + X_b] \cdot G_b + p_4 \Rightarrow p_4 = \dot{G}(0) + [p_1 + X_b] \cdot G_b \quad (6.38)$$

In questo modo si tiene conto del fatto che prima dell'inizio dell'esperimento la concentrazione plasmatica del glucosio potrebbe non essere in stato stazionario (in pratica, $G(-30)$ e $G(0)$ potrebbero essere apprezzabilmente diversi). Dunque, diversamente dai casi precedenti, come valore iniziale della concentrazione di glucosio è stato scelto il valore in $t = 0$ e non la media tra i valori assunti negli istanti $t = -30$ e $t = 0$, mentre il valore iniziale di insulina è stato posto nullo.

Non ottenendo ancora risultati soddisfacenti in termini di fit, in particolar modo nei primi istanti dell'esperimento, il modello è stato identificato a partire dall'istante $t = -30$, ottenendo infine buoni risultati per quasi tutti i soggetti.

Il problema, a questo punto, era costituito da alcuni soggetti il cui fit ancora non si dimostrava soddisfacente e le stime dei parametri non erano ancora affidabili (i CV erano molto alti); in questi pochi casi sono state dunque tentate diverse combinazioni di istante di partenza dell'identificazione, valore della derivata del glucosio in $t = 0$ (calcolata in avanti o all'indietro),

valore basale del glucosio e deviazione standard del parametro GEZI, finché non sono stati raggiunti buoni risultati sia in termini di fit che in termini di precisione delle stime dei parametri.

6.4 Identificazione del modello dell'assorbimento del glucosio

L'obiettivo dell'identificazione del modello è ottenere le stime dei parametri del modello dell'assorbimento del glucosio visto nel paragrafo 4.3, avendo a disposizione i dati di $R_{a\ meal}$ [mg/kg/min] dalla stima dei flussi e la dose D [mg/dL] di glucosio ingerito.

La griglia di campionamento per i dati di $R_{a\ meal}$ è stata costruita secondo lo stesso criterio descritto all'inizio del paragrafo 6.2 relativo al modello minimo del glucosio.

L'errore sui dati è stato calcolato a posteriori, seguendo il procedimento descritto alla fine del paragrafo 6.1.1.

I parametri da stimare risultano k_{max} , k_{min} , k_{abs} , b e c ; per favorire l'identificazione è stato infatti posto $k_{21} = k_{max}$; i valori iniziali assegnati ai parametri, desunti da uno studio riguardante il modello in esame [16], sono i seguenti:

- k_{max} : 0.054 [min^{-1}];
- k_{min} : 0.006 [min^{-1}];
- k_{abs} : 0.071 [min^{-1}];
- b : 0.69;
- c : 0.17.

Il modello è stato identificato tramite procedura ai minimi quadrati pesati (con pesi relativi): la varianza a posteriori è stata calcolata con la formula (6.17) e la matrice Σ_v tramite l'espressione (6.6). Le predizioni del modello hanno da subito riprodotto in modo soddisfacente i profili dei dati di $R_{a\ meal}$, ma i CV dei parametri risultavano elevati. Allora, per cercare di ottenere stime maggiormente precise è stato impostato un prior di tipo bayesiano sul parametro k_{abs} , considerato come una variabile aleatoria di media 0.07 e deviazione standard 0.035.

Il modello è stato quindi nuovamente identificato tramite stima MAP, fornendo ottimi risultati in termini di fit. L'unico problema, a questo punto, era costituito ancora da alcuni coefficienti di variazione molto alti per k_{min} e soprattutto c , nei casi in cui il valore stimato di questi parametri risultava molto basso; in questi casi i parametri in questione sono stati posti uguali a 0 e il modello è stato identificato di nuovo con un parametro (o due, a seconda dei casi) in meno da stimare.

CAPITOLO 7

RISULTATI

7.1 Modello minimo del glucosio con R_a nota

Verranno ora presentati i risultati dell'identificazione del modello minimo del glucosio con R_a nota per i 14 soggetti normali; i dati di R_a utilizzati sono quelli stimati tramite il modello monocompartimentale di Steele il cui andamento medio è riportato, per ciascun pasto, nel capitolo 8.

7.1.1 Soggetti normali

7.1.1.1 Colazione

Nelle figure 7.1 e 7.2 sono riportati, per la colazione nei soggetti normali, rispettivamente gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati; questi ultimi, come si è visto nel paragrafo 6.1.1, costituiscono una stima dell'errore di predizione.

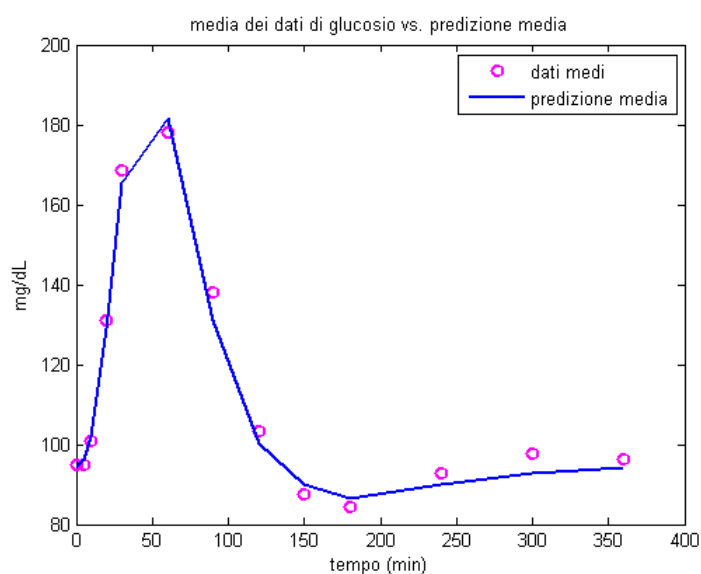


Fig. 7.1: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per la colazione nei soggetti normali.

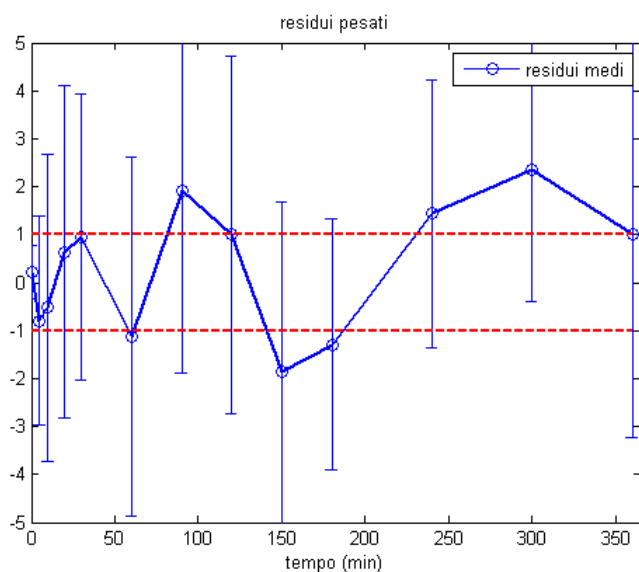


Fig. 7.2: Andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

La predizione del modello riproduce in modo soddisfacente l'andamento medio dei dati nella parte iniziale dell'esperimento, riuscendo a seguire bene il picco della concentrazione di glucosio; dall'istante $t = 150'$ in poi invece il modello tende prima a sovrastimare leggermente i dati e poi a sottostimarli nella fase finale dell'esperimento.

I residui pesati risultano poco scorrelati e spesso il loro valore risulta maggiore di 1 in valore assoluto.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono riassunti in tabella 7.1.

	S_G [min^{-1}]	CV %	p_2 [min^{-1}]	CV %	V [dL/kg]	CV %	$S_1 \cdot V \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %
media	0.0135	3.63	0.0269	1.70	1.50	0.07	14.2	2.36
SD	0.0063	2.38	0.0116	1.01	0.36	0,11	9.7	0,74
SE	0.0017	0.64	0.0031	0.27	0.10	0.03	2.6	0.20

Tabella 7.1: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (colazione)

Tutti i parametri sono stimati con precisioni molto buone: i CV medi sono sempre minori del 4 % e addirittura il CV di V risulta minore dell'1 ‰.

7.1.1.2 Pranzo

Nelle figure 7.3 e 7.4 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo dei soggetti normali.

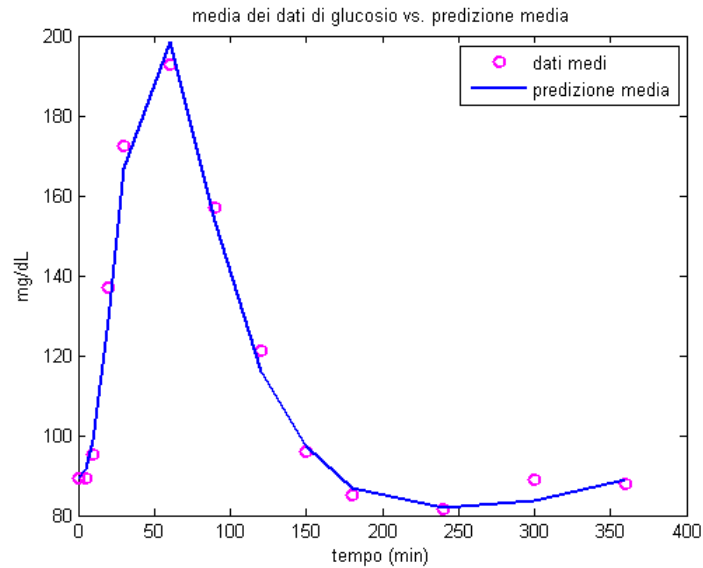


Fig. 7.3: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per il pranzo nei soggetti normali.

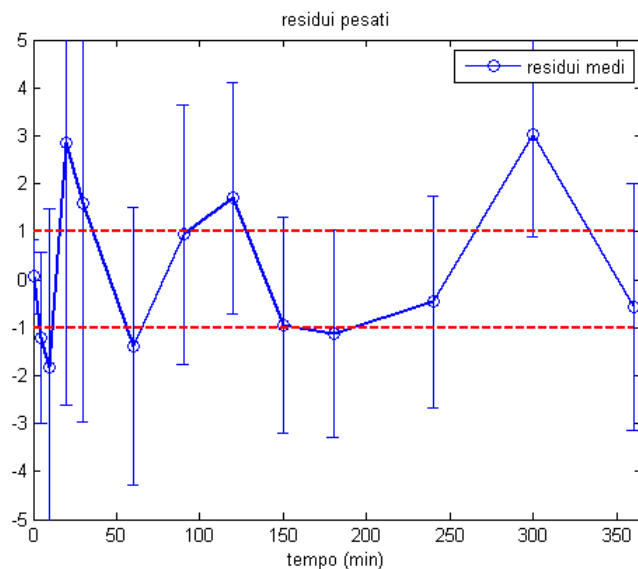


Fig. 7.4: Andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

Il fit del modello in questo caso risulta abbastanza buono, con la predizione media che riproduce abbastanza fedelmente l'andamento medio dei dati sperimentali, ad esclusione del picco che non è riprodotto fedelmente; i residui pesati medi risultano poco scorrelati e per la maggior parte i loro valori risultano esterni alla fascia $[-1, 1]$.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono invece presentati in tabella 7.2.

	S_G [min ⁻¹]	CV %	p_2 [min ⁻¹]	CV %	V [dL/kg]	CV %	$S_1 \cdot V \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %
media	0.0125	3.53	0.0210	2.89	1.79	0.05	11.4	3.44
SD	0.0048	2.29	0.0102	2.17	0.43	0.05	4.8	1.62
SE	0.0013	0.61	0.0027	0.58	0.11	0.01	1.3	0.43

Tabella 7.2: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (pranzo).

I risultati sono simili a quelli ottenuti durante la colazione: i parametri vengono stimati con precisioni molto alte, con il CV di V anche in questo caso molto basso.

7.1.1.3 Cena

Nelle figure 7.5 e 7.6 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la cena dei soggetti normali.

Il modello fatica a seguire in modo soddisfacente l'andamento sperimentale nei primi istanti dell'esperimento, mentre tende a sovrastimare il picco ed anche i dati a 300' e alla fine dell'esperimento.

I valori dei residui pesati risultano in qualche caso non compresi nella fascia [-1 1] e dalla semplice ispezione visiva si possono ritenere poco correlati, in linea con quanto accadeva nei due pasti precedenti.

In tabella 7.3 sono riportate le stime dei parametri con le relative precisioni.

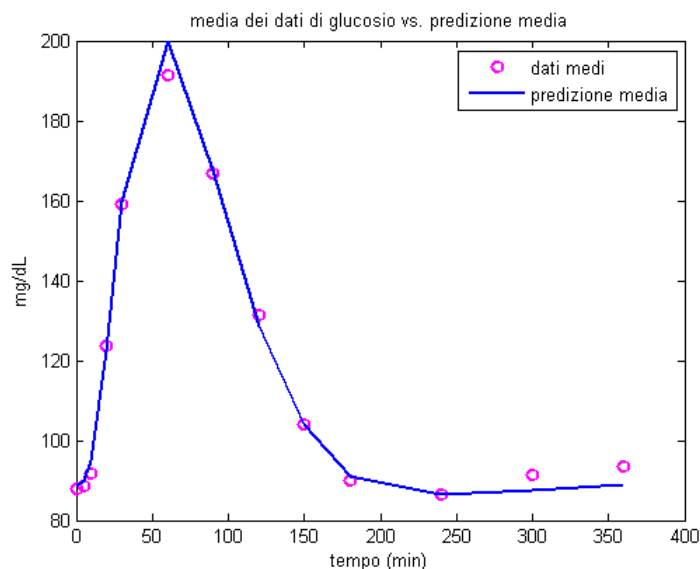


Fig. 7.5: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per la cena nei soggetti normali.

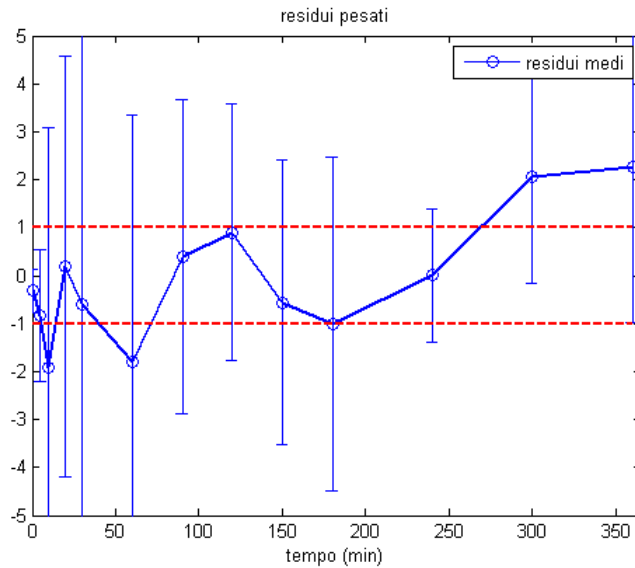


Fig. 7.6: Andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

	S_G [min^{-1}]	CV %	p_2 [min^{-1}]	CV %	V [dL/kg]	CV %	$S_1 \cdot V \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %
media	0.0135	9.91	0.0234	2.32	1.89	0.04	10.8	3.14
SD	0.0075	21.25	0.0087	2.30	0.98	0.03	4.0	1.59
SE	0.0020	5.68	0.0023	0.61	0.26	0.01	1.1	0.43

Tabella 7.3: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (cena).

Di nuovo, le stime dei parametri sono molto precise, con CV medi del 2-3 % per p_2 e l'indice di sensibilità insulinica, addirittura 0.04 % per V e circa 10% per S_G .

7.2 Modello minimo del glucosio con R_a incognita

In questo paragrafo verranno riportati i risultati dell'identificazione del modello minimo del glucosio con stima della R_a del glucosio, per i 14 soggetti normali e i 12 soggetti diabetici di tipo 1.

7.2.1 Soggetti normali

7.2.1.1 Colazione

Nelle figure 7.7 e 7.8 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti normali.

7. RISULTATI

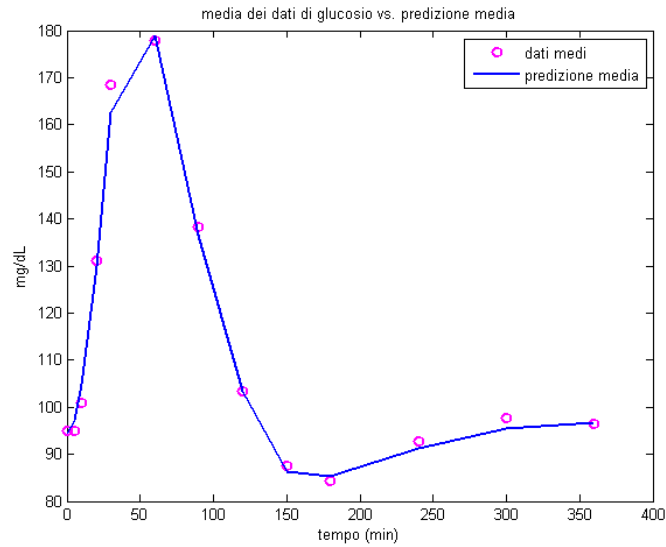


Fig. 7.7: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per la colazione nei soggetti normali.

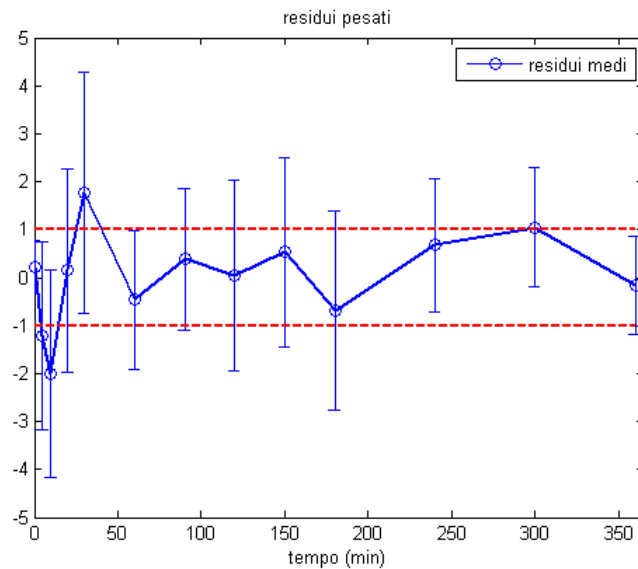


Fig. 7.8: Andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

Osservando le figure 7.7 e 7.8 si può affermare che la predizione media del modello segue in modo soddisfacente l'andamento medio dei dati sperimentali, a parte una leggera sottostima della concentrazione del glucosio negli istanti iniziali e tra gli istanti $t = 240'$ e $t = 300'$. I residui sono in massima parte compresi tra -1 e 1 e abbastanza scorrelati.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono riassunti in tabella 7.4.

	$S_i \cdot v \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %	$\sqrt{p_2}$ [$\text{min}^{-1/2}$]	CV %
media	10.3	5.35	0.1132	8.29
SD	7.9	1.32	0.0189	1.81
SE	2.1	0.35	0.0051	0.48

Tabella 7.4: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (colazione).

Sia l'indice di sensibilità insulinica che $\sqrt{p_2}$ sono stimati con un'ottima precisione, minore del 10 %; il valore stimato di $\sqrt{p_2}$ risulta quasi uguale al valore iniziale.

I valori stimati medi dei coefficienti α_i sono riportati nella tabella 7.5. L'andamento medio della R_a , ricostruito grazie ai coefficienti α_i stimati, è illustrato nella figura 7.9.

	α_1 [mg/kg/min]	α_2 [mg/kg/min]	α_3 [mg/kg/min]	α_4 [mg/kg/min]	α_5 [mg/kg/min]	α_6 [mg/kg/min]	α_7 [mg/kg/min]
media	3.2	8.0	2.9	2.4	0.9	1.1	0.4
SD	2.3	3.5	2.7	3.2	1.0	0.4	0.3
SE	0.6	0.9	0.7	0.9	0.3	0.1	0.1

Tabella 7.5: coefficienti α_i stimati – soggetti normali (colazione).

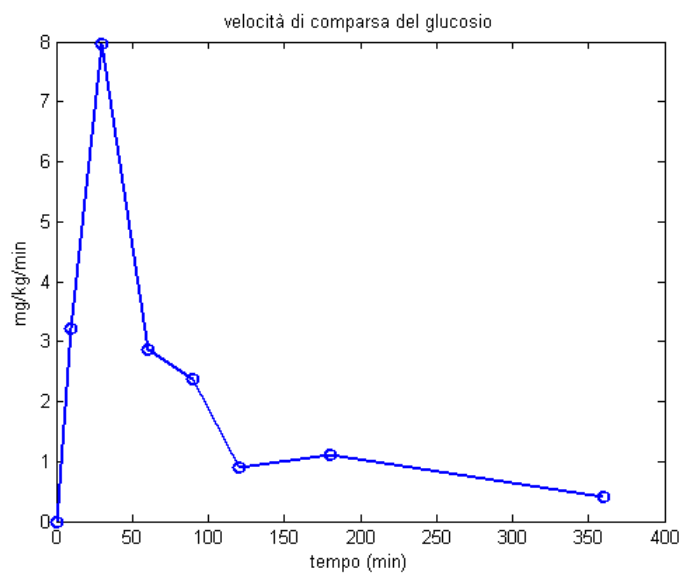


Fig. 7.9: Andamento medio della R_a stimata – soggetti normali (colazione).

7.2.1.2 Pranzo

Nelle figure 7.10 e 7.11 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo nei soggetti normali.

Il fit è soddisfacente, tuttavia il modello non riesce a riprodurre fedelmente l'andamento medio dei dati nella parte iniziale dell'esperimento (si vedano anche i residui maggiori di 1 in valore assoluto), come accadeva nella colazione; il picco e la fase di discesa invece sono riprodotti in media molto bene.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono invece presentati in tabella 7.6.

7. RISULTATI

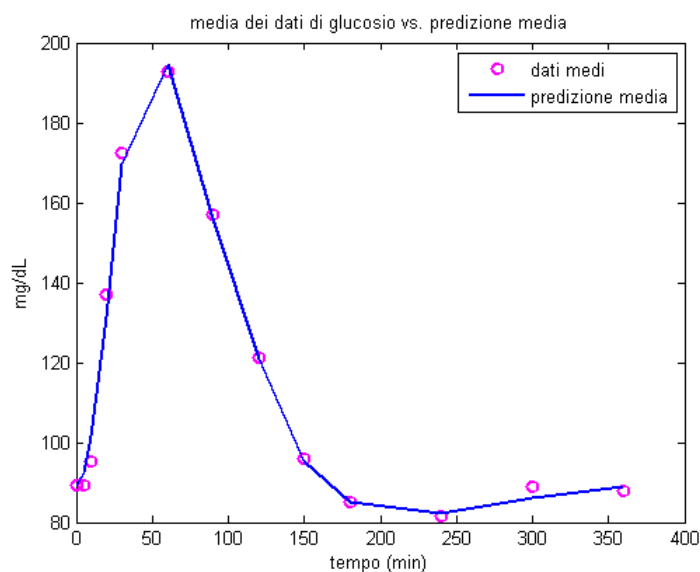


Fig. 7.10: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per il pranzo nei soggetti normali.

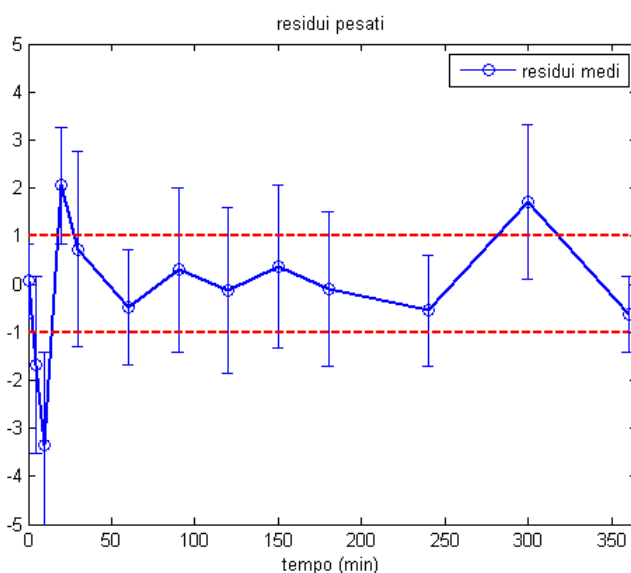


Fig. 7.11: Andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

	$S_i \cdot v \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %	$\sqrt{p_2}$ [$\text{min}^{-1/2}$]	CV %
media	7.6	7.23	0.1084	8.46
SD	3.3	2.60	0.0112	1.71
SE	0.9	0.69	0.0030	0.46

Tabella 7.6: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (pranzo).

Anche in questo caso l'indice di sensibilità insulinica e $\sqrt{p_2}$ sono stimati con un'ottima precisione, sempre minore del 10 %; come accadeva per la colazione, il valore stimato di $\sqrt{p_2}$ risulta molto vicino al valore iniziale.

In tabella 7.7 sono riportati i valori stimati medi dei coefficienti α_i . L'andamento medio della R_a , ricostruito grazie ai coefficienti α_i stimati, è illustrato in figura 7.12.

	α_1 [mg/kg/min]	α_2 [mg/kg/min]	α_3 [mg/kg/min]	α_4 [mg/kg/min]	α_5 [mg/kg/min]	α_6 [mg/kg/min]	α_7 [mg/kg/min]
media	3.8	9.1	2.8	3.1	1.1	0.7	0.3
SD	1.9	1.7	2.5	2.7	0.8	0.3	0.2
SE	0.5	0.4	0.7	0.7	0.2	0.1	0.1

Tabella 7.7: coefficienti α_i stimati – soggetti normali (pranzo).

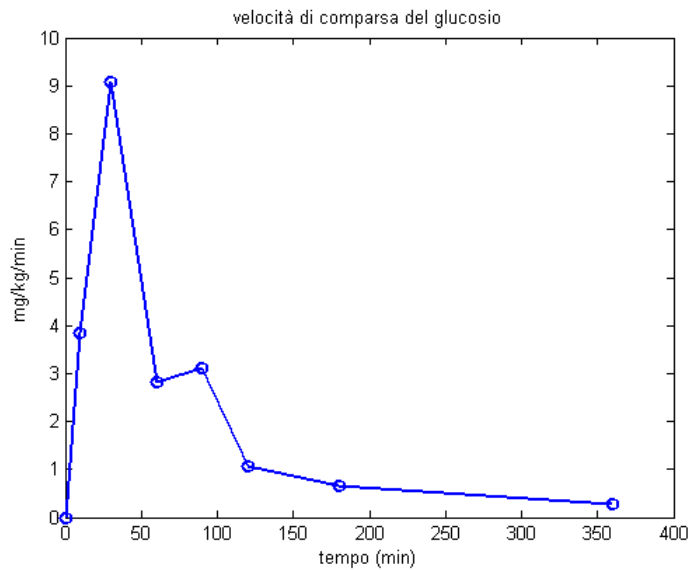


Fig. 7.12: Andamento medio della R_a stimata – soggetti normali (pranzo).

7.2.1.3 Cena

Nelle figure 7.13 e 7.14 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la cena dei soggetti normali.

Per quanto riguarda il fit, la situazione è molto simile al pranzo: il modello fatica a seguire l'andamento sperimentale nei primi istanti dell'esperimento (si vedano anche i residui pesati minori di -1 negli istanti considerati), mentre in seguito e fino alla fine dell'esperimento il fit risulta molto buono, con residui ampiamente compresi tra -1 e 1 ed evidentemente scorrelati.

In tabella 7.8 si riportano le stime dei parametri con le relative precisioni.

7. RISULTATI

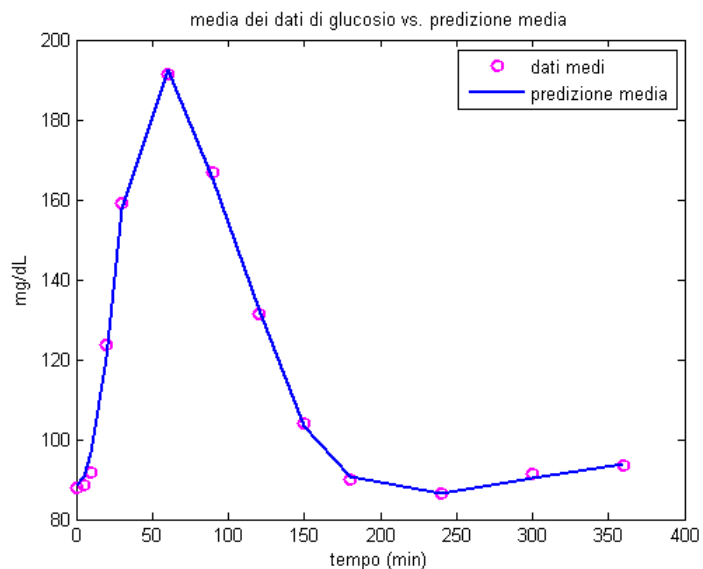


Fig. 7.13: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per la cena nei soggetti normali.

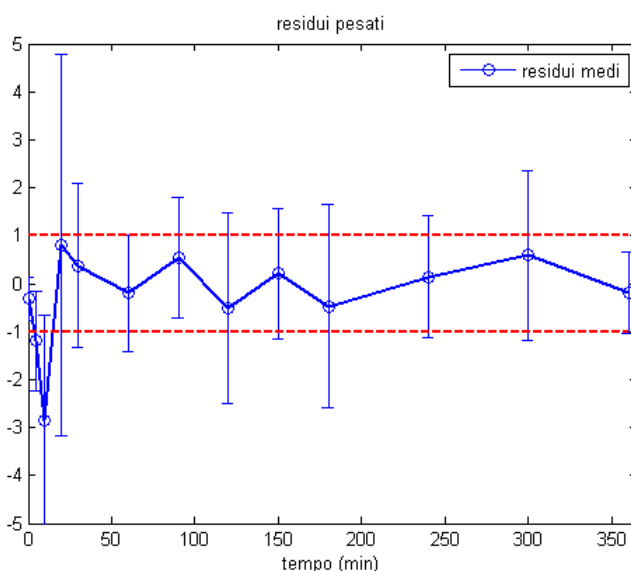


Fig. 7.14: Andamento temporale medio dei residui pesati per la cena nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

	$S_1 \cdot V \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %	$\sqrt{p_2}$ [$\text{min}^{-1/2}$]	CV %
media	7.3	7.04	0.1052	8.70
SD	3.2	3.22	0.0123	1.71
SE	0.8	0.86	0.0033	0.46

Tabella 7.8: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (cena).

Anche in questo caso l'indice di sensibilità insulinica e $\sqrt{p_2}$ sono stimati con un'ottima precisione, sempre minore del 10 %; come nei pasti precedenti il valore stimato di $\sqrt{p_2}$ risulta molto vicino al valore iniziale.

Nella tabella 7.9 sono riportati i valori stimati medi dei coefficienti α_i ; tutti i valori sono in mg/kg/min. L'andamento medio della R_a , ricostruito grazie ai coefficienti α_i stimati, è illustrato nella figura 7.15.

	α_1 [mg/kg/min]	α_2 [mg/kg/min]	α_3 [mg/kg/min]	α_4 [mg/kg/min]	α_5 [mg/kg/min]	α_6 [mg/kg/min]	α_7 [mg/kg/min]
media	2.6	8.7	2.8	3.2	1.0	0.7	0.5
SD	2.0	3.7	2.7	2.2	1.2	0.5	0.3
SE	0.5	1.0	0.7	0.6	0.3	0.1	0.1

Tabella 7.9: coefficienti α_i stimati – soggetti normali (cena).

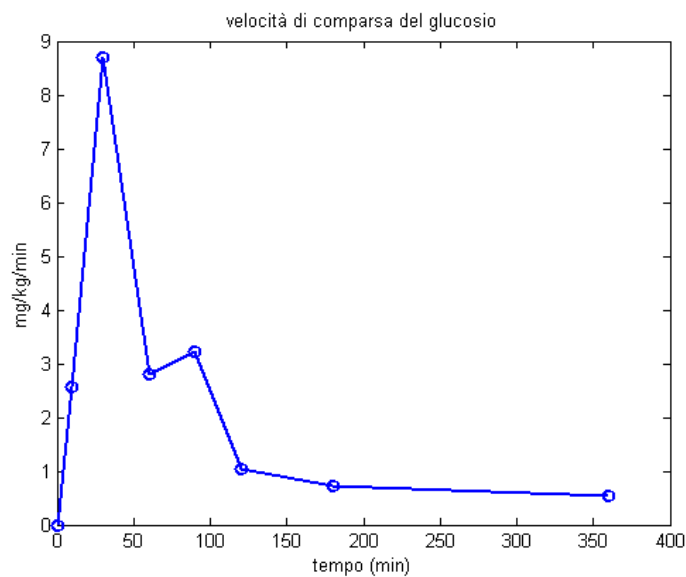


Fig. 7.15: Andamento medio della R_a stimata – soggetti normali (cena).

7.2.2 Soggetti diabetici di tipo 1

7.2.2.1 Colazione

Sono ora analizzati i risultati dell'identificazione del modello minimo con R_a incognita relativi ai nove soggetti diabetici. Nelle figure 7.16 e 7.17 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti diabetici.

Osservando le figure 7.16 e 7.17 si può dire che la predizione media del modello fitta in modo soddisfacente l'andamento temporale medio dei dati, ad esclusione degli istanti $t = 5'$ e $t = 10'$, in cui la predizione non riesce a riprodurre la discesa rapida dei valori della concentrazione del glucosio (dovuta molto probabilmente all'insulina esogena infusa per evitare che il soggetto andasse in iperglicemia) e nella parte finale dell'esperimento in cui vi è una sovrastima dei valori della concentrazione di glucosio. Nella rimanente parte dell'esperimento invece il fit è molto buono, come si vede anche dall'andamento dei residui pesati, sempre compresi tra -1 e 1 dal minuto 20 al minuto 240.

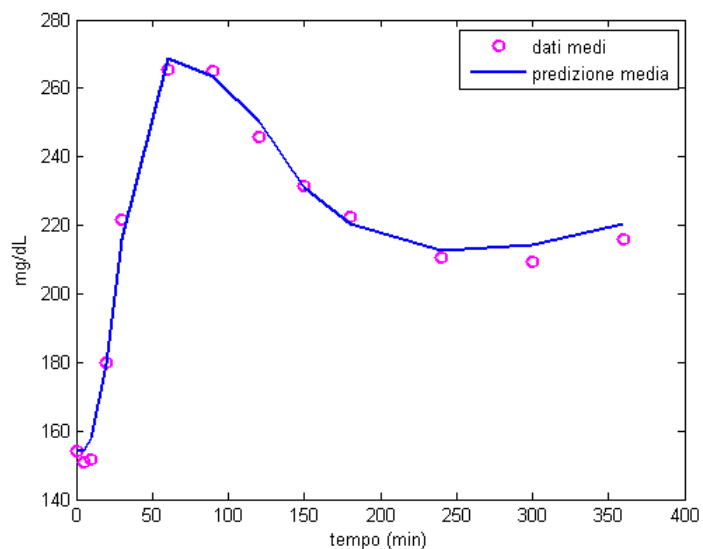


Fig. 7.16: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per la colazione nei soggetti diabetici.

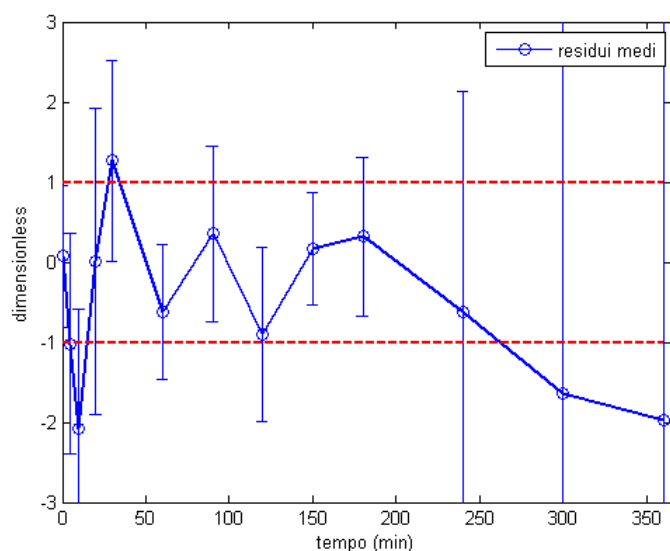


Fig. 7.17: Andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti diabetici. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono riassunti in tabella 7.1; si noti la presenza del parametro GEZI:

	$S_r \cdot V \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %	$\sqrt{p_2}$ [$\text{min}^{-1/2}$]	CV %	GEZI	CV %
media	6.5	18.39	0.0974	8.68	0.0056	16.00
SD	9.8	19.93	0.0122	4.00	0.0048	5.52
SE	2.8	5.75	0.0035	1.15	0.0014	1.59

Tabella 7.10: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti diabetici (colazione).

Si notano buone precisioni per tutti i parametri stimati, in particolare per $\sqrt{p_2}$ la cui stima, come accadeva nei soggetti normali, risulta molto simile al valore iniziale ($0.1 \text{ min}^{-1/2}$). Anche GEZI e la sensibilità insulinica comunque sono stimate con ottime precisioni, minori del 20%.

I valori stimati medi dei coefficienti α_i sono riportati in tabella 7.11. L'andamento medio della R_a , ricostruito grazie ai coefficienti α_i stimati, è illustrato in figura 7.18; osservando l'andamento stimato della R_a si può già effettuare un primo confronto con i soggetti normali, nei quali la R_a stimata tendeva a 0 negli istanti finali dell'esperimento, mentre in questo caso la discesa della curva è molto più lenta.

	α_1 [mg/kg/min]	α_2 [mg/kg/min]	α_3 [mg/kg/min]	α_4 [mg/kg/min]	α_5 [mg/kg/min]	α_6 [mg/kg/min]	α_7 [mg/kg/min]
media	2.3	7.6	2.1	2.9	0.9	1.0	0.8
SD	2.0	2.6	2.4	2.0	0.9	0.6	0.8
SE	0.6	0.7	0.7	0.6	0.3	0.2	0.2

Tabella 7.11: coefficienti α_i stimati – soggetti diabetici (colazione).

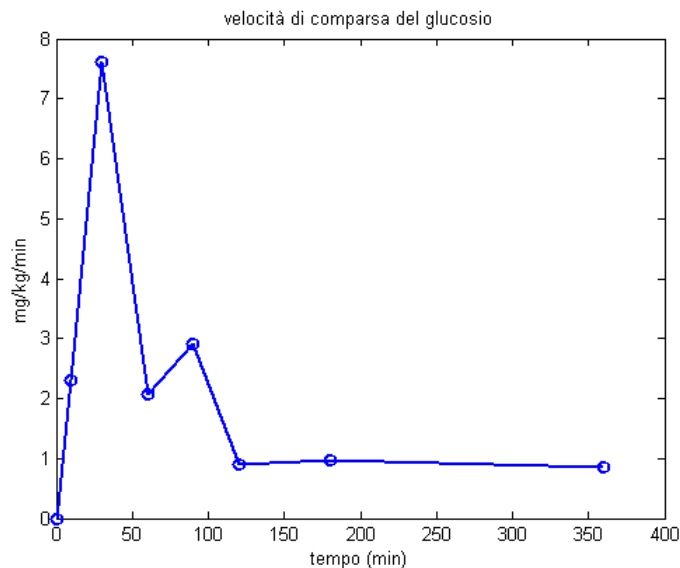


Fig. 7.18: Andamento medio della R_a stimata – soggetti diabetici (colazione).

7.2.2.2 Pranzo

Nelle figure 7.19 e 7.20 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo nei soggetti diabetici.

La predizione media riproduce fedelmente l'andamento medio dei dati nella parte centrale dell'esperimento, come si può anche notare osservando che i residui pesati relativi agli istanti compresi tra $t = 30'$ e $t = 240'$ sono sempre minori di 1 in valore assoluto. Anche nei primi istanti (fino al minuto 10) i residui pesati risultano esterni alla fascia $[-1, 1]$, tuttavia il fit negli istanti considerati si può dire soddisfacente. Il valore al minuto 300 tende ad essere sottostimato.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono invece presentati in tabella 7.12.

7. RISULTATI

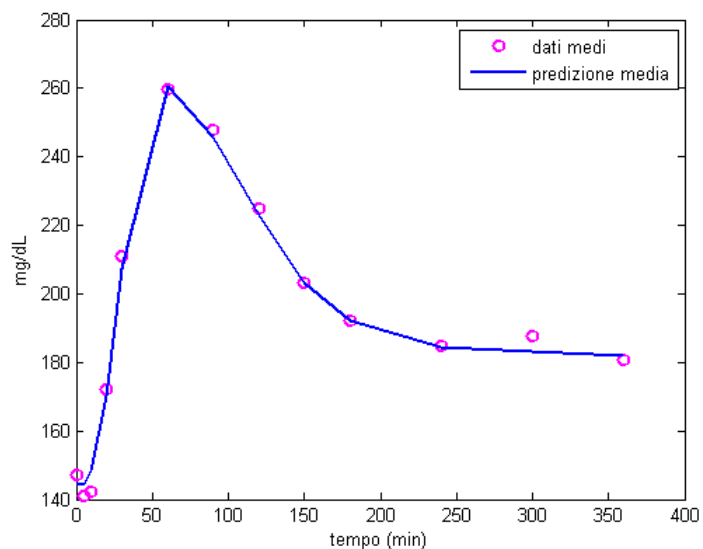


Fig. 7.19: andamento temporale medio della media dei dati e della predizione del modello per il pranzo dei soggetti diabetici.

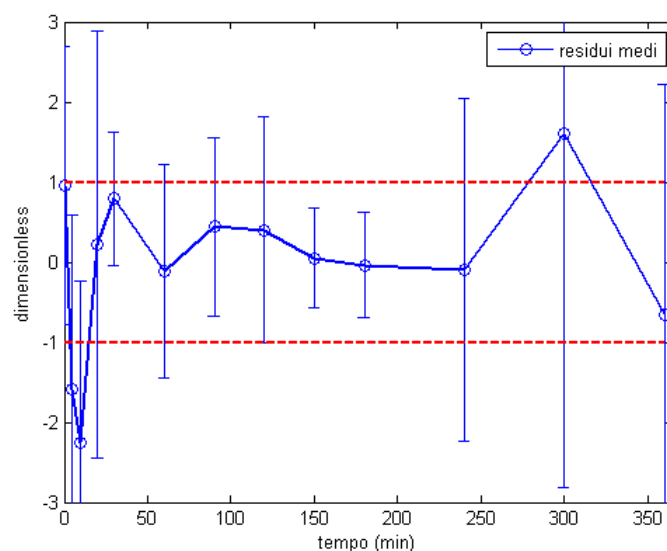


Fig. 7.20: andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo dei soggetti diabetici. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

	$S_I \cdot V \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %	$\sqrt{p_2}$ [$\text{min}^{-1/2}$]	CV %	GEZI	CV %
media	7,2	8,39	0,1050	9,23	0,0058	37,66
SD	5,3	7,31	0,0431	5,08	0,0059	72,56
SE	1,5	2,11	0,0124	1,47	0,0017	20,95

Tabella 7.12: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti diabetici (pranzo).

Anche in questo caso l'indice di sensibilità insulinica e $\sqrt{p_2}$ sono stimati con un'ottima precisione, inferiore al 10 %; come accadeva per la colazione, il valore stimato di $\sqrt{p_2}$ risulta molto vicino al valore iniziale. Il parametro GEZI è stimato con una precisione soddisfacente ma

non altrettanto buona, attorno al 35 %, peggiore rispetto alla colazione; tuttavia, il coefficiente di variazione medio nella tabella è inficiato dal CV relativo al soggetto 5, per il quale non è stato possibile ottenere una precisione migliore del 266 %. Non considerando il soggetto in questione la precisione si aggirerebbe comunque attorno al 17 %, risultando perciò molto buona.

In tabella 7.13 sono riportati i valori stimati medi dei coefficienti α_i . L'andamento medio della R_a , ricostruito grazie ai coefficienti α_i stimati, è illustrato in figura 7.21.

	α_1 [mg/kg/min]	α_2 [mg/kg/min]	α_3 [mg/kg/min]	α_4 [mg/kg/min]	α_5 [mg/kg/min]	α_6 [mg/kg/min]	α_7 [mg/kg/min]
media	2.4	7.9	3.1	2.3	1.3	1.1	0.3
SD	2.8	3.4	2.6	1.6	0.7	0.7	0.4
SE	0.8	1.0	0.8	0.5	0.2	0.2	0.1

Tabella 7.13: coefficienti α_i stimati – soggetti diabetici (pranzo).

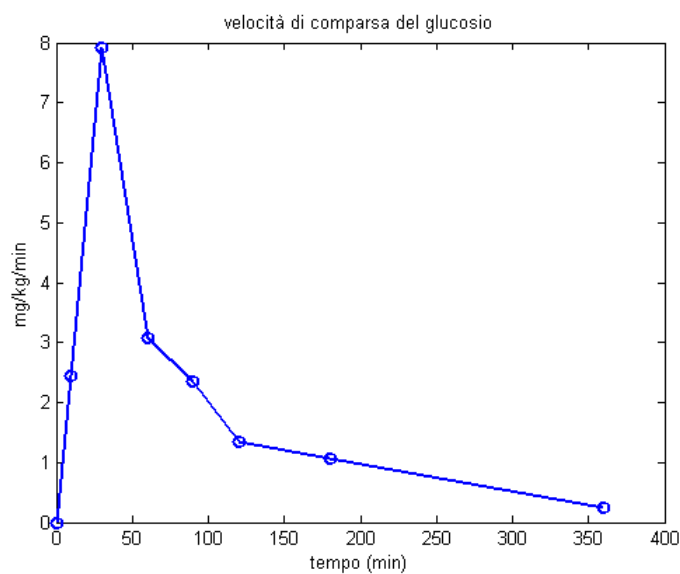


Fig. 7.21: Andamento medio della R_a stimata – soggetti diabetici (pranzo).

Si noti come, a differenza di quanto accadeva nella colazione, l'andamento temporale medio della R_a stimata sia molto più simile a quello tipico dei soggetti normali.

7.2.2.3 Cena

Nelle figure 7.22 e 7.23 sono illustrati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la cena dei soggetti diabetici.

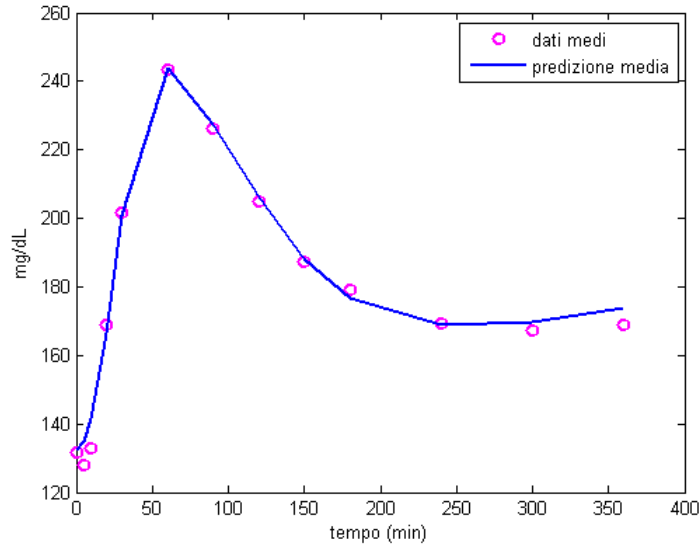


Fig. 7.22: Media dei dati di glucosio e andamento temporale medio della predizione del modello per la cena nei soggetti diabetici.

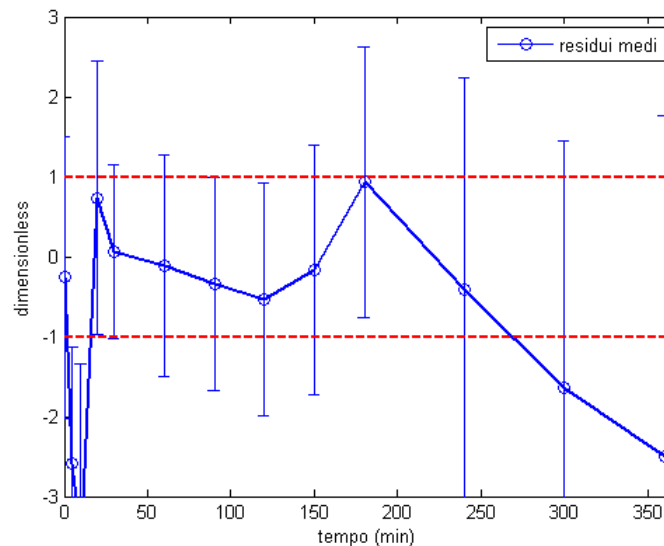


Fig. 7.23: Andamento temporale medio dei residui pesati per la cena nei soggetti diabetici. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

Per quanto riguarda il fit, la situazione è simile alla colazione: il modello fatica a seguire l'andamento sperimentale nei primi istanti dell'esperimento (si vedano anche i residui pesati minori di -1 negli istanti considerati); in seguito la predizione media rispecchia in modo soddisfacente l'andamento dei dati sperimentali, anche se alla fine dell'esperimento tende a sovrastimare leggermente i valori della concentrazione di glucosio, come si può notare anche dai residui pesati. Questi ultimi, rispetto ai due pasti precedenti, risultano anche meno scorrelati.

In tabella 7.14 si riportano le stime dei parametri con le relative precisioni; anche in questo caso l'indice di sensibilità insulinica e $\sqrt{p_2}$ sono stimati con un'ottima precisione, attorno al 13 %; il valore stimato di $\sqrt{p_2}$ si discosta maggiormente dal valore iniziale rispetto a quanto

accadeva nei due pasti precedenti. Anche il parametro GEZI viene stimato con una buona precisione, attorno al 20 %.

	$S_i \cdot V \cdot 10^4$ [dL/kg/min per $\mu\text{mol/mL}$]	CV %	$\sqrt{p_2}$ [$\text{min}^{-1/2}$]	CV %	GEZI	CV %
media	13.3	12.90	0.0878	13.20	0.0050	20.83
SD	13.7	14.11	0.0312	7.83	0.0046	16.90
SE	3.9	4.07	0.0090	2.26	0.0013	4.88

Tabella 7.14: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti diabetici (cena).

In tabella 7.15 sono riportati i valori stimati medi dei coefficienti α_i . L'andamento medio della R_a , ricostruito grazie ai coefficienti α_i stimati, è illustrato in figura 7.24.

	α_1 [mg/kg/min]	α_2 [mg/kg/min]	α_3 [mg/kg/min]	α_4 [mg/kg/min]	α_5 [mg/kg/min]	α_6 [mg/kg/min]	α_7 [mg/kg/min]
media	2.9	7.6	3.1	2.5	1.5	0.9	0.4
SD	3.1	2.4	3.0	1.7	0.7	0.7	0.5
SE	0.9	0.7	0.9	0.5	0.2	0.2	0.2

Tabella 7.15: coefficienti α_i stimati – soggetti diabetici (cena).

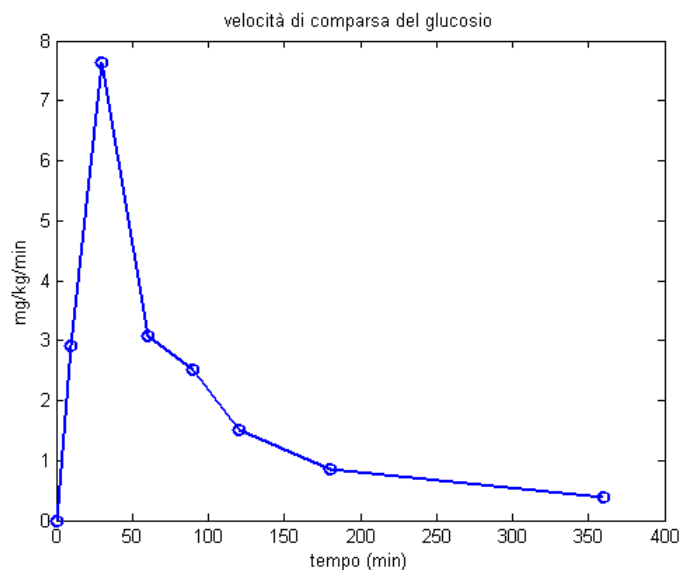


Fig. 7.24: Andamento medio della R_a stimata – soggetti diabetici (cena).

Anche per quanto riguarda la cena, dunque, l'andamento della R_a risulta simile a quello dei soggetti normali.

7.3 Modello dell'assorbimento del glucosio

Di seguito sono riportati i risultati dell'identificazione del modello dell'assorbimento del glucosio, per i 14 soggetti normali e i 12 diabetici; i dati di R_a utilizzati per l'identificazione del

modello sono relativi alla R_a calcolata tramite il modello monocompartimentale (Steele), come nei modelli precedenti. Come già specificato nel capitolo 5 (paragrafo 5.4) si ricorda che l'errore sui dati è stato calcolato a posteriori con il metodo di stima ai minimi quadrati non lineari pesati con pesi relativi.

7.3.1 Soggetti normali

7.3.1.1 Colazione

Nelle figure 7.25 e 7.26 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti normali.

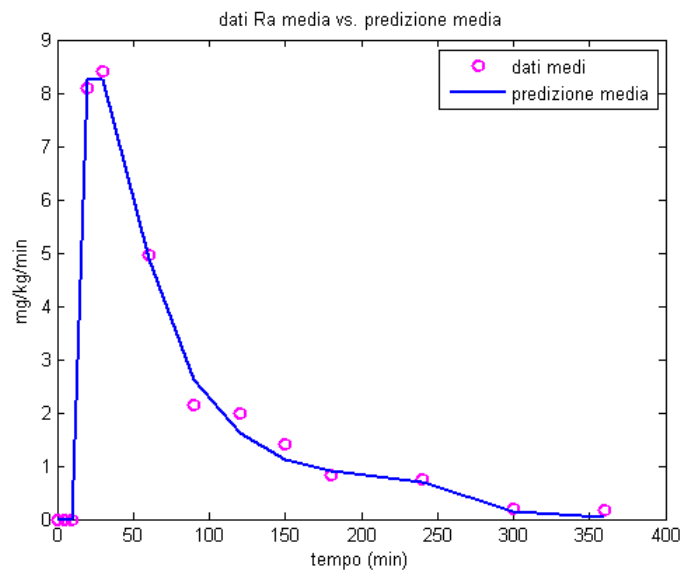


Fig. 7.25: Media dei dati di R_a e andamento temporale medio della predizione del modello per la colazione nei soggetti normali.

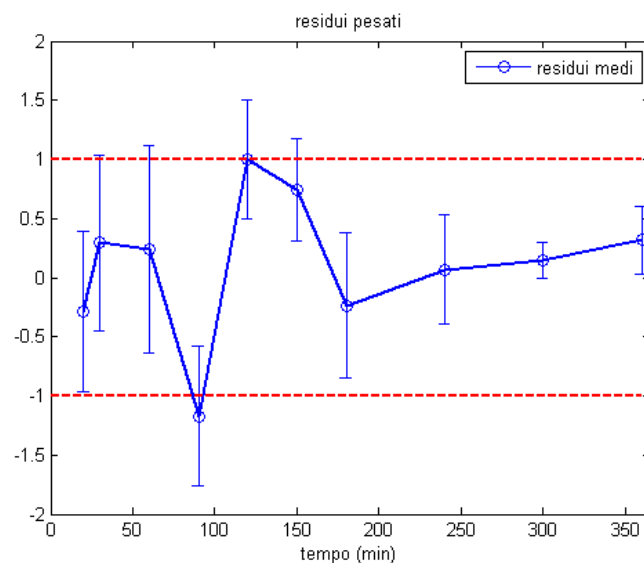


Fig. 7.26: Andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

Come si può osservare, i risultati sono molto buoni; la predizione media riproduce fedelmente l'andamento medio dei dati e i residui pesati medi sono quasi sempre compresi tra -1 e 1 e sufficientemente scorrelati. Si noti che i residui sono plottati a partire dall'istante $t = 20'$, in quanto negli istanti precedenti non erano disponibili misure.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono invece riassunti in tabella 7.16.

	k_{\max} [min^{-1}]	CV %	k_{\min} [min^{-1}]	CV %	k_{abs} [min^{-1}]	CV %	b	CV %	c	CV %
media	0.0552	25.62	0.0080	72.97	0.0716	26.79	0.5773	15.26	0.0662	45.18
SD	0.0277	24.42	0.0048	76.45	0.0131	17.81	0.1348	13.22	0.0461	20.50
SE	0.0074	6.53	0.0013	20.43	0.0035	4.76	0.0360	3.53	0.0123	5.48

Tabella 7.16: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (colazione).

Come si può notare, la stima dei parametri è molto buona per k_{\max} , k_{abs} e b (CV < 30 %); la stima per il parametro c è abbastanza buona, considerando che in alcuni casi il valore di c risulta nullo. La stima di k_{\min} risulta invece affetta da una maggiore incertezza, dovuta al fatto che in alcuni casi, pur essendo il valore stimato di k_{\min} maggiore del valore minimo stabilito, i corrispondenti CV erano comunque maggiori del 100 %.

In generale le stime non si discostano di molto dai valori iniziali, a parte il parametro c: ciò fa pensare che i valori iniziali impostati siano piuttosto buoni.

La varianza media stimata a posteriori risulta pari a $0.3426 \text{ (mg/kg/min)}^2$; la deviazione standard media risulta perciò pari a 0.5296 mg/kg/min , pari al 5.3 % circa rispetto al valore di picco della media dei dati, che rappresenta un ottimo valore.

7.3.1.2 Pranzo

Nelle figure 7.27 e 7.28 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo nei soggetti normali:

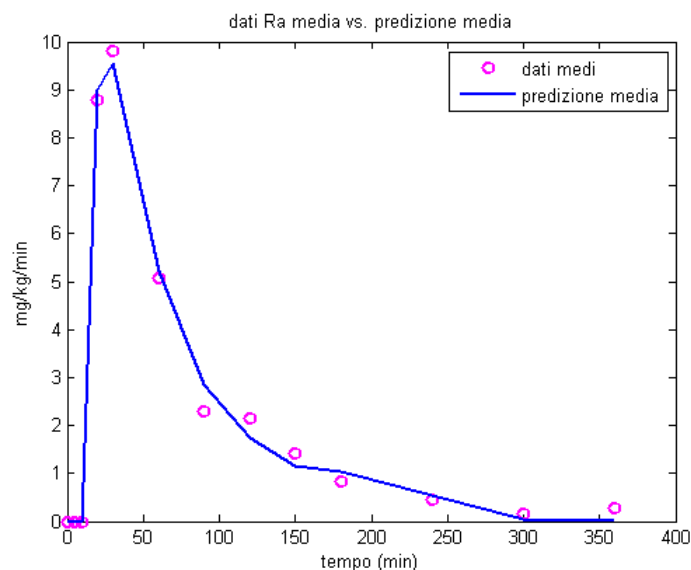


Fig. 7.27: Media dei dati di R_a e andamento temporale medio della predizione del modello per il pranzo nei soggetti normali.

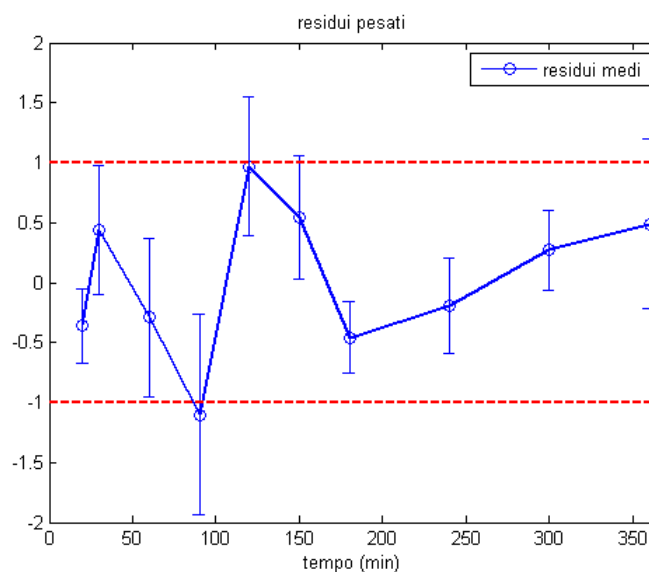


Fig. 7.28: Andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

Anche in questo caso, il fit si può considerare buono, nonostante una leggera sottostima nella parte finale dell'esperimento; i residui pesati sono comunque buoni, quasi tutti compresi tra -1 e 1 e sufficientemente scorrelati.

I valori medi dei parametri stimati, con le relative precisioni, sono invece presentati in tabella 7.17.

	k_{\max} [min^{-1}]	CV %	k_{\min} [min^{-1}]	CV %	k_{abs} [min^{-1}]	CV %	b	CV %	c	CV %
media	0.0615	26.22	0.0106	62.31	0.0729	27.69	0.6093	11.41	0.0639	49.66
SD	0.0263	34.85	0.0053	66.82	0.0102	8.89	0.1229	4.68	0.0431	17.28
SE	0.0070	9.31	0.0014	17.86	0.0027	2.38	0.0328	1.25	0.0115	4.62

Tabella 7.17: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (pranzo).

Come per la colazione, molto buone risultano le stime dei parametri k_{\max} , k_{abs} e b (CV < 30 %); la stima per il parametro c è abbastanza buona, considerando che anche in questa circostanza per alcuni soggetti il valore di c risulta nullo. Una maggiore incertezza si riscontra nella stima del parametro k_{\min} , anche se minore rispetto alla colazione, questo perché in nessun soggetto la stima assume valore nullo e solo in un caso il corrispondente CV risulta > 100.

Anche in questo caso le stime risultano vicine ai valori iniziali, a parte per quanto riguarda il parametro c.

La varianza media stimata a posteriori risulta pari a $0.4093 \text{ (mg/kg/min)}^2$; la deviazione standard media risulta perciò pari a 0.6398 mg/kg/min , pari al 6.5 % circa rispetto al valore di picco della media dei dati.

7.3.1.3 Cena

Nelle figure 7.29 e 7.30 sono riportati, rispettivamente, gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la cena nei soggetti normali:

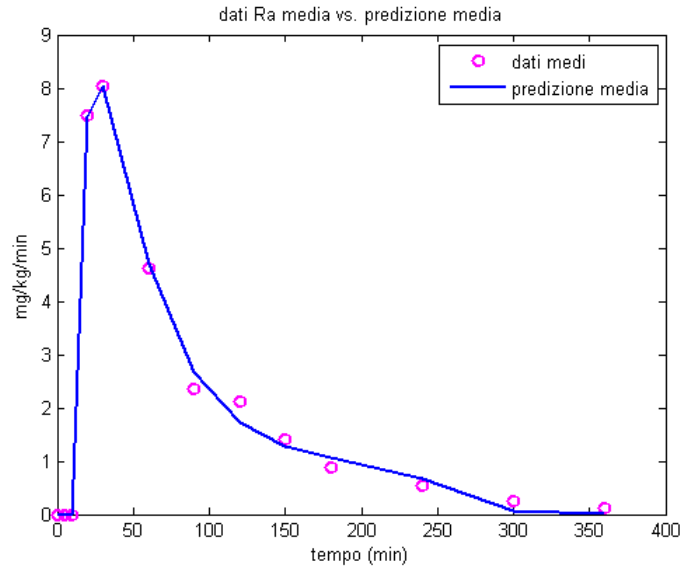


Fig. 7.29: Media dei dati di R_a e andamento temporale medio della predizione del modello per la cena nei soggetti normali.

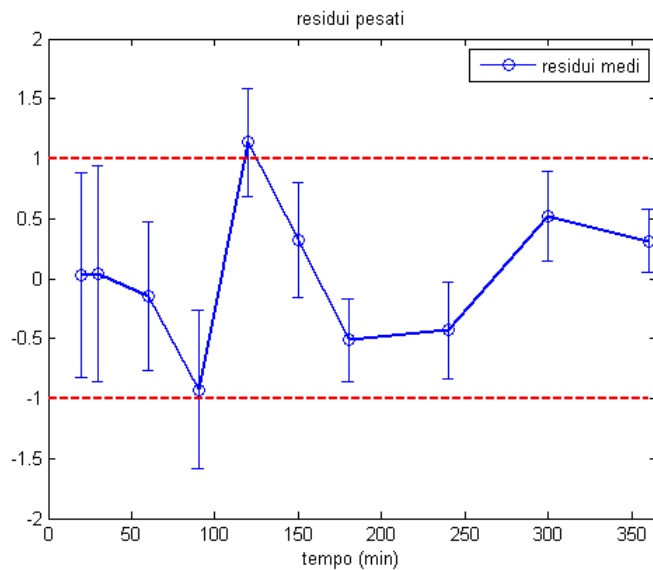


Fig. 7.30: Andamento temporale medio dei residui pesati per la cena nei soggetti normali. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

La predizione media, come si può osservare, riproduce abbastanza bene il profilo medio dei dati, riuscendo tra l'altro a fittare molto bene il picco di R_a . I residui sono scorrelati e quasi tutti compresi tra -1 e 1. In tabella 7.18 si riportano le stime dei parametri con le relative precisioni.

	k_{\max} [min^{-1}]	CV %	k_{\min} [min^{-1}]	CV %	k_{abs} [min^{-1}]	CV %	b	CV %	c	CV %
media	0.0499	14.42	0.0103	53.14	0.0735	22.93	0.5665	16.99	0.1437	43.42
SD	0.0163	10.62	0.0075	33.69	0.0082	11.08	0.1497	18.87	0.2286	23.30
SE	0.0044	2.84	0.0020	9.00	0.0022	2.96	0.0400	5.04	0.0611	6.23

Tabella 7.18: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti normali (cena).

Le stime, in accordo con i risultati dei pasti precedenti, risultano piuttosto precise per i parametri k_{\max} , k_{abs} e b (minori addirittura del 25 %); i CV relativi ai parametri k_{\min} e c risultano attorno al 50%, costituendo in entrambi i casi un miglioramento rispetto alla colazione e al pranzo: per quanto riguarda k_{\min} , in particolare, in un solo soggetto è stato stimato uguale a 0 e in un solo altro soggetto la stima risultava avere un CV > 100%; per quanto riguarda c, invece, è stato possibile ottenere una stima diversa da 0 in tutti i soggetti, con due soli CV > 70%.

La varianza media stimata a posteriori risulta pari a $0.3245 \text{ (mg/kg/min)}^2$; la deviazione standard media risulta perciò pari a 0.5697 mg/kg/min , pari al 7.1 % circa rispetto al valore di picco della media dei dati.

7.3.2 Soggetti diabetici di tipo 1

7.3.2.1 Colazione

In questo paragrafo sono riportati i risultati riguardanti i soggetti diabetici; le figure 7.31 e 7.32 illustrano il confronto tra gli andamenti temporali medi dei dati e della predizione del modello e l'andamento temporale medio dei residui pesati.

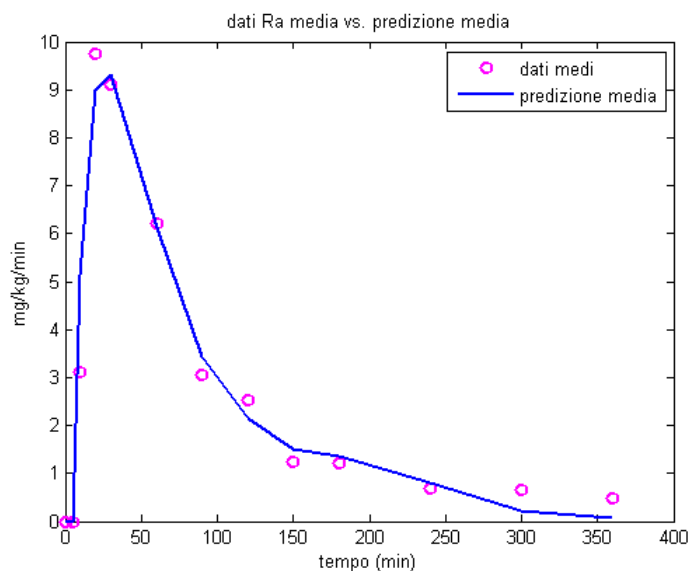


Fig. 7.31: Media dei dati di R_a e andamento temporale medio della predizione del modello per la colazione nei soggetti diabetici.

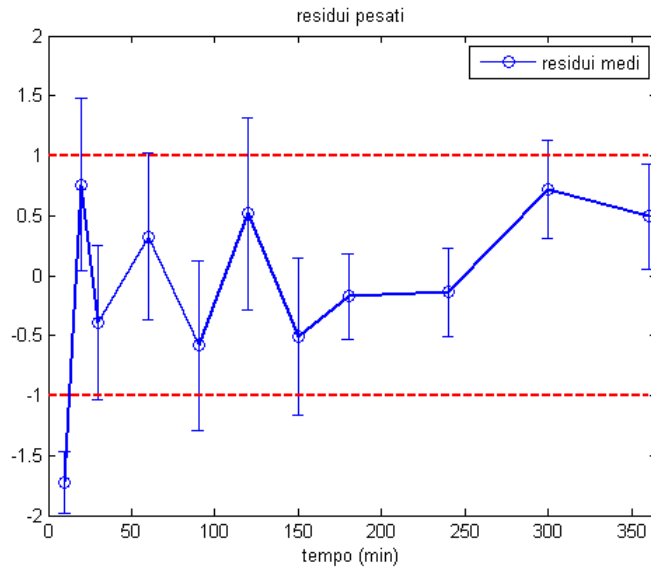


Fig. 7.32: Andamento temporale medio dei residui pesati per la colazione nei soggetti diabetici. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

Si noti come la predizione media del modello non riproduca l'andamento medio dei dati di R_a altrettanto bene che nel caso del pasto precedente, ma vi sia qualche difficoltà a fittare il picco e nella parte finale l'andamento medio venga leggermente sottostimato. I residui sono comunque molto buoni, quasi tutti compresi tra -1 e 1 e ottimamente scorrelati.

In tabella 7.19 sono riassunti i risultati della stima parametrica. I parametri che vengono stimati con la maggiore precisione risultano k_{max} e b , con CV attorno al 15-20 %; un po' meno buona risultano le precisioni di k_{abs} (attorno al 35 %) la precisione del parametro c , con un CV attorno al 50 %. La precisione del parametro k_{min} risulta invece influenzata dal CV relativo al soggetto 10, pari all'830 %; senza considerare il soggetto 10 la precisione di k_{min} sarebbe del 49 % circa, in linea con quanto accadeva nei pasti relativi ai soggetti normali.

	k_{max} [min^{-1}]	CV %	k_{min} [min^{-1}]	CV %	k_{abs} [min^{-1}]	CV %	b	CV %	c	CV %
media	0,0444	15,81	0,0060	136,13	0,0710	33,66	0,4866	21,60	0,0726	45,57
SD	0,0144	6,44	0,0043	261,09	0,0074	14,03	0,1409	16,25	0,0415	16,49
SE	0,0042	1,86	0,0012	75,37	0,0021	4,05	0,0407	4,69	0,0120	4,76

Tabella 7.19: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti diabetici (colazione).

La varianza media sui dati, stimata a posteriori, risulta pari a $0.6624 \text{ (mg/kg/min)}^2$: la deviazione standard media risulta dunque pari a 0.8139 mg/kg/min , uguale circa al 8.4 % del valore massimo medio dei dati.

7.3.2.2 Pranzo

Nelle figure 7.33 e 7.34 sono rappresentati, rispettivamente, la predizione media del modello contro l'andamento temporale medio dei dati e l'andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo nei soggetti diabetici.

7. RISULTATI

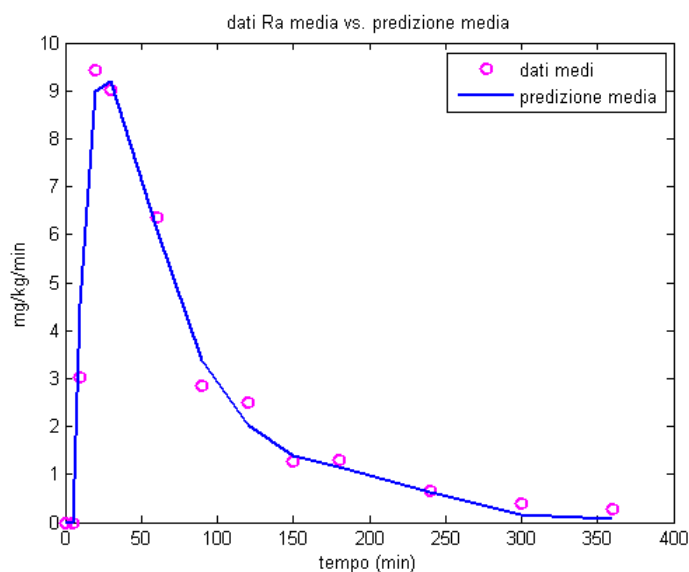


Fig. 7.33: Media dei dati di R_a e andamento temporale medio della predizione del modello per il pranzo nei soggetti diabetici.

La predizione del modello descrive piuttosto bene, in media, l'andamento dei dati: il picco di R_a viene fittato bene e anche nella parte centrale dell'esperimento (cioè tra gli istanti $t = 90'$ e $t = 180'$) il modello riesce bene, laddove invece nei casi precedenti non si erano ottenuti risultati così brillanti. C'è da dire che anche in questo caso i dati non vengono fittati particolarmente bene verso la fine dell'esperimento.

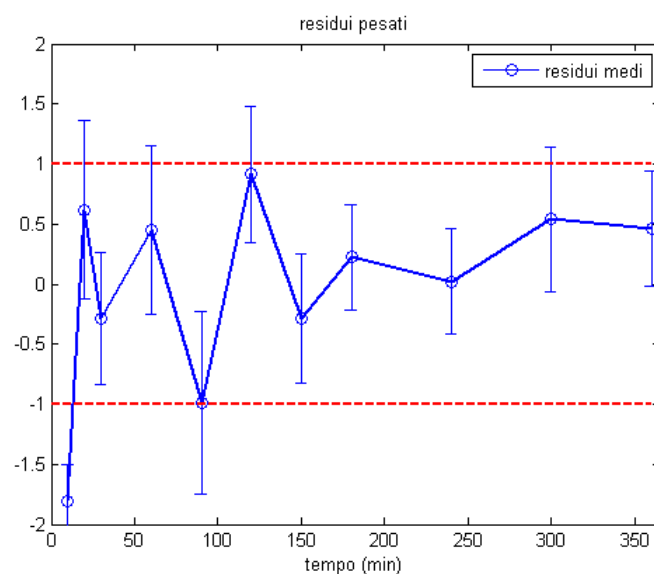


Fig. 7.34: Andamento temporale medio dei residui pesati per il pranzo nei soggetti diabetici. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

In tabella 7.20 sono presentati i valori medi dei parametri stimati con il relativo coefficiente di variazione. Risultano buone le stime per k_{max} , k_{abs} e b (CV minore o attorno al 25 %), un po' meno per k_{min} , in linea comunque con i casi precedenti. La precisione per c risulta molto buona alla luce del fatto che è stato possibile ottenere stime non nulle solamente in metà dei soggetti.

	k_{\max} [min^{-1}]	CV %	k_{\min} [min^{-1}]	CV %	k_{abs} [min^{-1}]	CV %	b	CV %	c	CV %
media	0.0567	23.71	0.0060	62.03	0.0715	25.27	0.4834	22.95	0.0456	35.68
SD	0.0364	35.86	0.0051	55.78	0.0040	11.03	0.1792	18.13	0.0515	22.10
SE	0.0105	10.35	0.0015	16.10	0.0012	3.18	0.0517	5.23	0.0149	6.38

Tabella 7.20: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti diabetici (pranzo).

La varianza media stimata a posteriori risulta pari a $0.3495 \text{ (mg/kg/min)}^2$: la media della deviazione standard risulta dunque uguale a 0.5912 mg/kg/min , pari circa al 6.3 % del valore di picco della media dei dati.

7.3.2.3 Cena

Nelle figure 7.35 e 7.36 seguenti sono rappresentati, rispettivamente, la predizione media del modello contro l'andamento temporale medio dei dati e l'andamento temporale medio dei residui pesati per la cena nei soggetti diabetici.

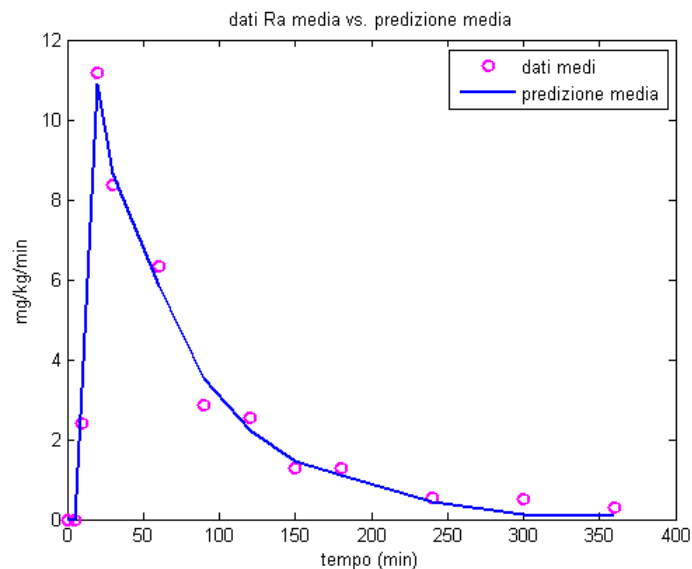


Fig. 7.35: Media dei dati di R_a e andamento temporale medio della predizione del modello per la cena nei soggetti diabetici.

Come si può osservare dai grafici, il fit risulta piuttosto buono, a parte negli istanti finali della griglia di campionamento, in corrispondenza dei quali il modello tende a sottostimare i dati; i residui sono quasi tutti compresi tra -1 e 1 e scorrelati. Le stime dei parametri, con le relative precisioni, sono presentate in tabella 7.21.

7. RISULTATI

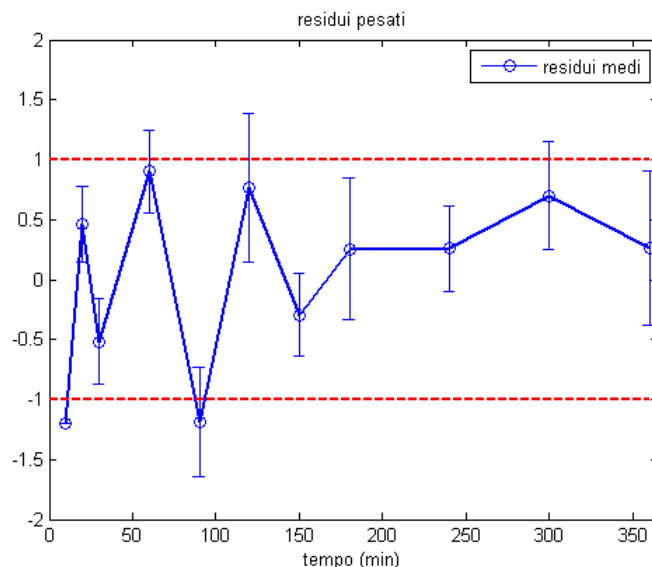


Fig. 7.36: Andamento temporale medio dei residui pesati per la cena nei soggetti diabetici. Le barre verticali indicano la deviazione standard.

	k_{\max} [min^{-1}]	CV %	k_{\min} [min^{-1}]	CV %	k_{abs} [min^{-1}]	CV %	b	CV %	c	CV %
media	0.0744	37.83	0.0117	30.83	0.0712	25.12	0.6190	13.44	0.0327	55.83
SD	0.0421	28.12	0.0063	14.89	0.0098	9.78	0.1836	11.27	0.0344	22.58
SE	0.0122	8.12	0.0018	4.30	0.0028	2.82	0.0530	3.25	0.0099	6.52

Tabella 7.21: valori medi e relative precisioni delle stime dei parametri - soggetti diabetici (cena).

Il parametro che viene stimato con una precisione migliore è b (circa 13 %); k_{abs} è stimato con una buona precisione (attorno al 25 %), mentre la scarsa precisione della stima del parametro c è ancora una volta influenzata dal fatto che è stato possibile determinarne solo cinque stime diverse da 0. La precisione della stima di k_{\max} risulta in controtendenza rispetto a tutti i casi precedenti, risultando addirittura peggiore rispetto a quella di k_{\min} .

La varianza media stimata a posteriori risulta pari a $0.3102 \text{ (mg/kg/min)}^2$; la deviazione standard media risulta perciò pari a 0.5570 mg/kg/min , pari al 5,0 % circa rispetto al valore di picco della media dei dati.

CAPITOLO 8

ANALISI STATISTICA DEI RISULTATI

In questo capitolo sono riportati i risultati dell'analisi statistica che è stata compiuta con lo scopo di valutare la variabilità giornaliera delle grandezze viste finora, vale a dire le concentrazioni plasmatiche di glucosio, insulina e C-peptide, le concentrazioni dei traccianti, i flussi del glucosio (R_a , EGP, R_d) e le stime dei parametri dei modelli identificati.

L'analisi statistica è consistita nell'esecuzione di test di ipotesi sui valori istantanei di concentrazioni e flussi nei diversi pasti e sui valori dei parametri; i test effettuati sono di due tipi:

- test parametrico (in particolare, il test t di Student), implementato in MATLAB® dalla function *ttest*;
- test non parametrico sui ranghi, implementato in MATLAB® dalla function *signrank*.

Eventuali differenze sono state ritenute significative se per almeno uno dei due test effettuati risultavano tali. I risultati sono riportati separatamente per i soggetti normali e diabetici; alla fine del capitolo vengono confrontati i risultati relativi alle due tipologie di soggetti.

8.1 Soggetti normali

8.1.1 Concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide

L'andamento medio dei dati di glucosio nei tre pasti è riportato in Fig. 8.1.

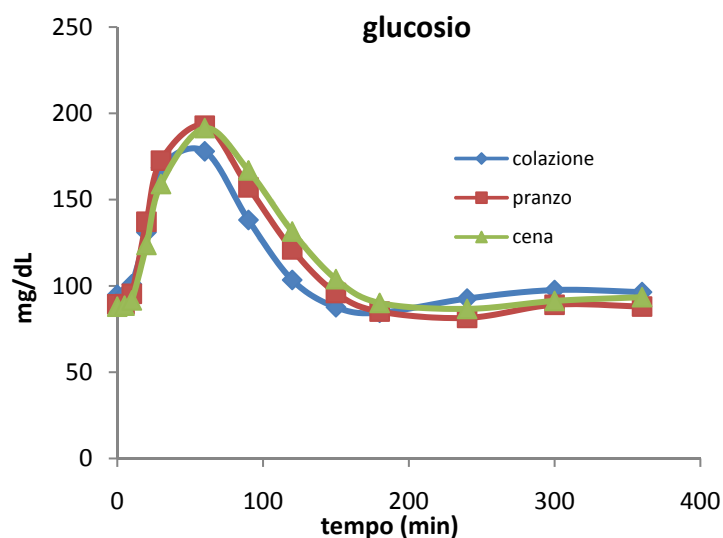


Fig. 8.1: Andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di glucosio nei soggetti normali.

Da una prima ispezione visiva delle curve riportate, si può affermare che gli andamenti medi della concentrazione di glucosio a pranzo e a cena sono piuttosto simili; la curva relativa alla colazione si discosta invece leggermente dalle altre due: in particolare, il picco è leggermente più basso e i valori nella parte finale sono più alti. Le differenze tra la colazione e gli altri due pasti risultano effettivamente significative: i test parametrici effettuati sui valori istantanei delle concentrazioni evidenziano differenze statisticamente rilevanti all'inizio (nei primi 10 minuti) e nella seconda metà dell'esperimento.

I valori massimi medi raggiunti dalle concentrazioni di glucosio sono molto simili ed in effetti non risultano significativamente differenti fra i tre pasti; non molto diversi sono anche gli istanti di occorrenza del picco, come si può vedere da tabella 8.1, in cui sono riportati i valori massimi con i rispettivi istanti di occorrenza:

	colazione	pranzo	cena
valore del picco [mg/dL]	194.69	200.24	195.94
istante di occorrenza [min]	54	51	59

Tabella 8.1: Valori di picco della concentrazione di glucosio, con relativi istanti di occorrenza.

I valori riportati in tabella 8.1 risultano diversi da quelli supposti osservando gli andamenti in Fig. 8.1 perché in quest'ultima i valori di ogni curva si ricavano dalla media dei valori di tutti i soggetti in ogni istante e non necessariamente il valore massimo si presenta nello stesso momento in ogni soggetto; i valori riportati in tabella 8.1 costituiscono invece le medie dei valori di picco di tutti i soggetti, per ogni pasto.

Per ogni soggetto è stata poi valutata l'area sotto la curva della concentrazione di glucosio e sono state ricercate eventuali differenze tra i pasti. L'area sotto la curva risulta statisticamente differente tra la colazione e gli altri due pasti nei primi 5 minuti, molto probabilmente a causa del valore iniziale più alto; inoltre, risulta statisticamente differente a metà dell'esperimento (a 180'), soprattutto tra colazione e cena, come si può notare anche dal grafico in Fig. 8.2. Alla fine dell'esperimento invece non sono riscontrabili differenze significative tra gli integrali delle concentrazioni.

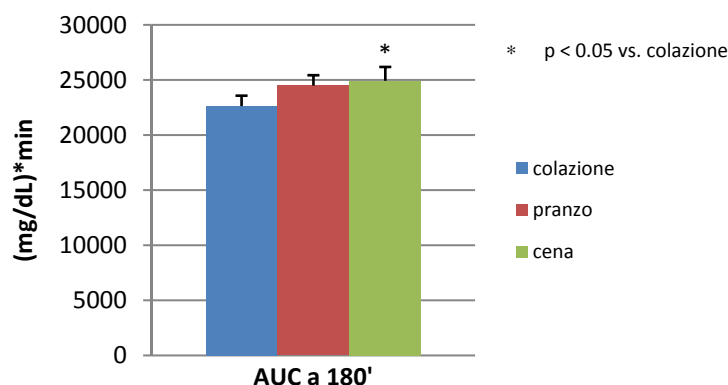


Fig. 8.2: Integrale della concentrazione di glucosio a 180' nei soggetti normali.

Sono state infine valutate, per ogni istante, anche le aree sotto le curve delle concentrazioni di glucosio sopra il basale, illustrate in Fig. 8.3. In Fig. 8.4 sono riportati i valori delle aree sotto la curva alla fine dell'esperimento: le differenze fra i tre pasti sono evidenti e la differenza è

supportata dai risultati dei test di ipotesi, che indicano differenze statisticamente significative tra la colazione e gli altri due pasti dal minuto 150 in poi, mentre nel confronto tra pranzo e cena l'unica differenza significativa tra le aree si ha alla fine dell'esperimento.

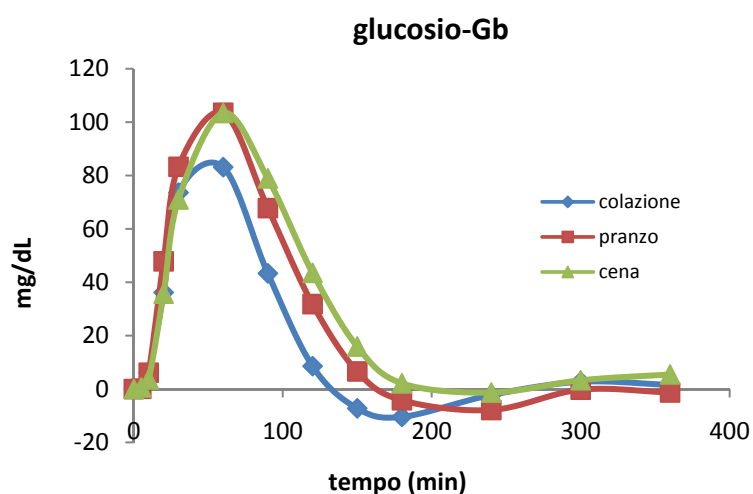


Fig. 8.3: Andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di glucosio sopra il basale nei soggetti normali.

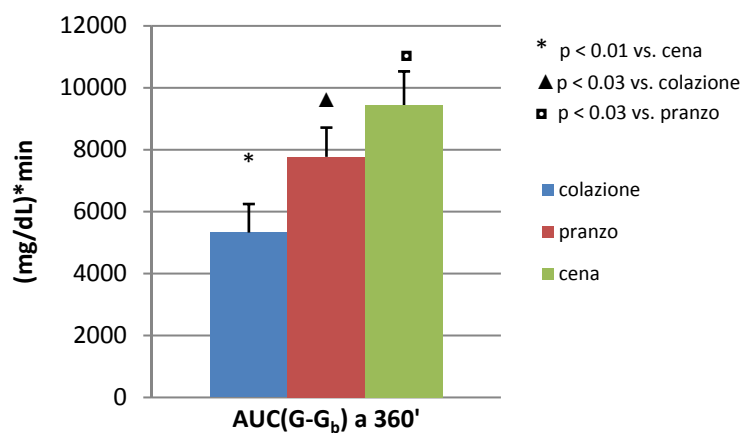


Fig. 8.4: Integrale di (G-G_b) a 360' nei soggetti normali.

In Fig. 8.5 sono riportati invece gli andamenti medi delle concentrazioni di insulina nei tre pasti nei soggetti normali.

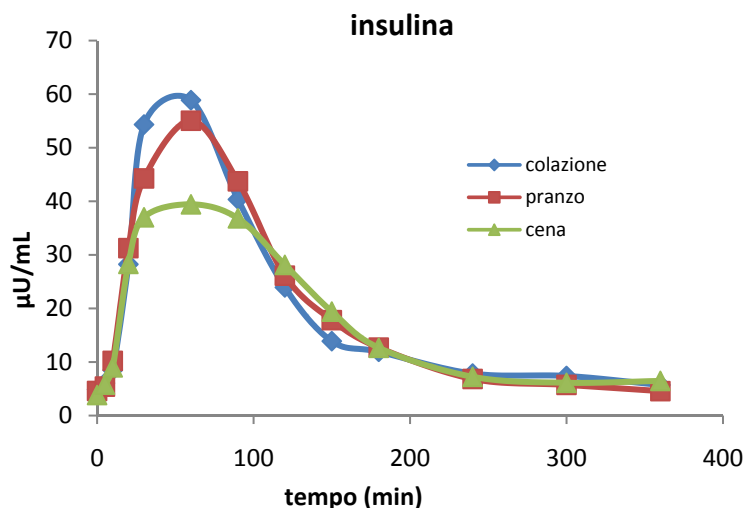


Fig. 8.5: Andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di insulina nei soggetti normali.

Si può osservare un'evidente differenza tra l'andamento medio relativo alla cena e quelli relativi agli altri due pasti: in particolare, la curva della concentrazione di insulina risulta in media molto più bassa durante la cena, tra 30 e 90 minuti. L'intervallo in questione comprende anche il picco dell'insulina il cui valore, come si può apprezzare da Fig. 8.6, decresce dalla colazione alla cena e risulta anche statisticamente differente tra la colazione e la cena.

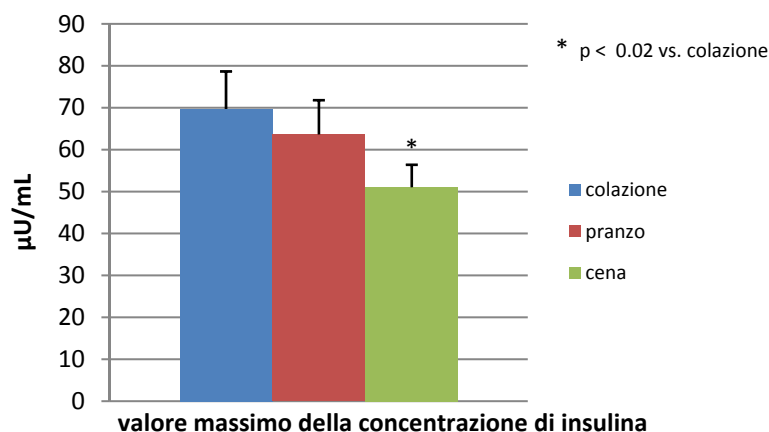


Fig. 8.6: Valore massimo medio della concentrazione di insulina nei tre pasti nei soggetti normali.

Le medie dei valori massimi della concentrazione di insulina, con i relativi istanti di occorrenza calcolati facendo la media dell'istante di occorrenza del valore massimo in tutti i soggetti, sono riportate in tabella 8.2.

	colazione	pranzo	cena
valore del picco [$\mu\text{U/mL}$]	69.70	63.64	51.05
istante di occorrenza [min]	51	74	72

Tabella 8.2: Valori di picco della concentrazione di insulina, con relativi istanti di occorrenza.

Dunque, il valore massimo della concentrazione di insulina risulta significativamente più basso a cena rispetto agli altri due pasti: la differenza rispetto al pranzo non risulta statisticamente

rilevante, mentre lo è la differenza rispetto alla colazione; inoltre, l'istante di occorrenza del picco risulta significativamente anticipato nella colazione rispetto agli altri due pasti: si tratta di un segno probabile di una maggiore reattività nella produzione di insulina a colazione (ne viene prodotta di più e prima rispetto a quanto accade negli altri due pasti) e, viceversa, di una minore reattività a cena (ne viene prodotta meno e dopo). C'è da dire, inoltre, che l'istante di occorrenza del picco dell'insulina risulta di poco in ritardo rispetto a quello del glucosio a colazione, mentre negli altri due pasti appare ritardato di circa un quarto d'ora (sempre rispetto al corrispondente picco della concentrazione di glucosio).

La differenza tra la cena e gli altri due pasti si può apprezzare anche valutando le differenze tra le aree sotto le curve a 90', i cui valori medi sono rappresentati in Fig. 8.7; il valore medio relativo alla cena risulta significativamente minore rispetto agli altri due pasti, mentre non risultano esserci differenze statisticamente significative fra i valori degli integrali delle concentrazioni di insulina alla fine dell'esperimento.

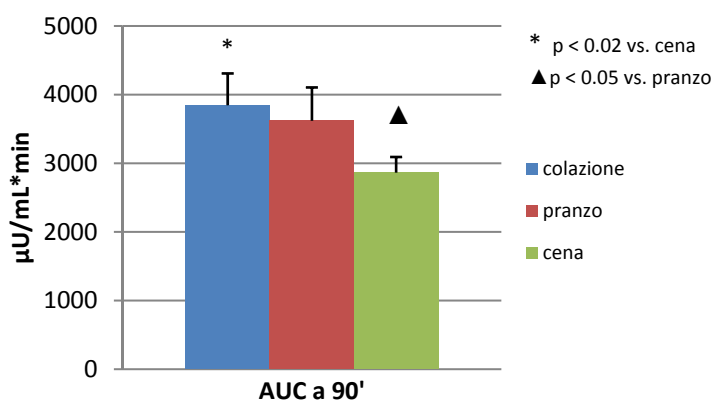


Fig. 8.7: Integrale della concentrazione di insulina a 90' nei soggetti normali.

Essendo i valori iniziali (in $t = 0$) di insulina molto simili nei tre pasti, analizzando i valori istantanei delle concentrazioni sottratte del valore iniziale viene sostanzialmente confermato quanto già detto: le differenze maggiori, in termini di aree sotto la curva, si ritrovano tra 60 e 90 minuti e sempre tra colazione e cena.

In Fig. 8.8 sono infine rappresentati gli andamenti medi della concentrazione di C-peptide nei tre pasti nei soggetti normali.

Le curve relative ai tre pasti manifestano alcune differenze, ma queste non sono così evidenti come quelle visibili tra gli andamenti dell'insulina (v. Fig. 8.5).

Si nota una leggera differenza tra la colazione e gli altri due pasti nella fase di discesa e tra la cena e gli altri due pasti dal minuto 30 al minuto 240; inoltre, gli istanti di occorrenza del picco sono diversi nei tre pasti e particolarmente ritardato risulta il picco del C-peptide a cena. Il confronto tra i valori massimi di C-peptide è illustrato in Fig. 8.9.

Le differenze tra i valori di picco, nonostante non siano evidenti dall'ispezione visiva, risultano in realtà statisticamente rilevanti tra il pranzo e la cena; inoltre, risultano statisticamente diversi gli istanti di occorrenza del picco tra la colazione e la cena, come evidenziato anche in tabella 8.3.

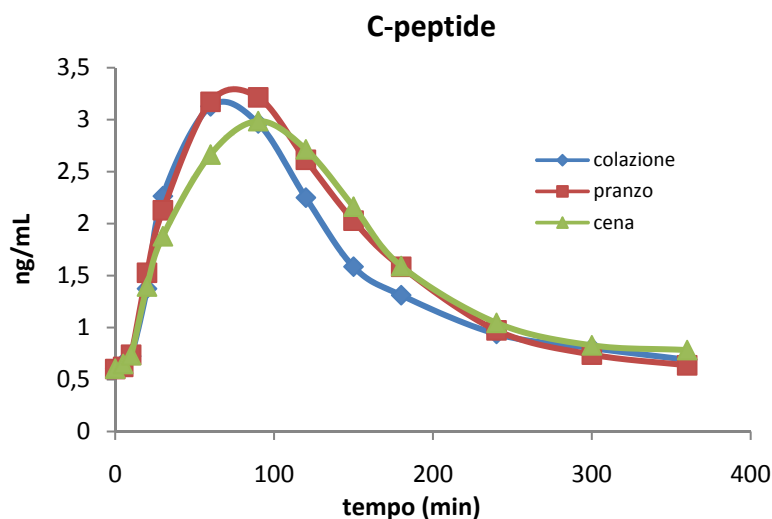


Fig. 8.8: Andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di C-peptide nei soggetti normali.

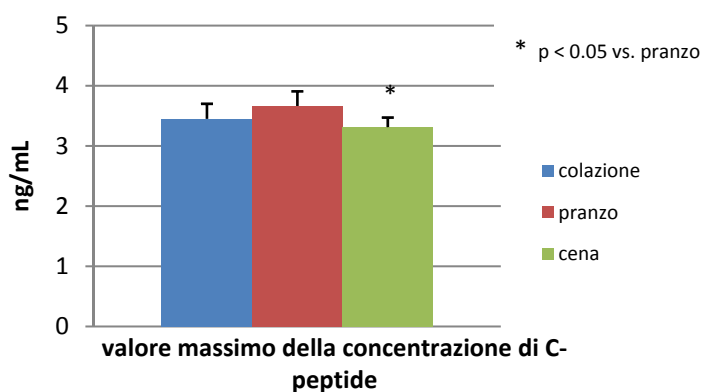


Fig. 8.9: Valore massimo medio della concentrazione di C-peptide nei tre pasti nei soggetti normali.

	colazione	pranzo	cena
valore del picco [ng/mL]	3.45	3.66	3.31
istante di occorrenza [min]	73	84	94

Tabella 8.3: Valori di picco della concentrazione di C-peptide, con relativi istanti di occorrenza.

Il picco del C-peptide a cena appare ritardato di una decina di minuti rispetto al pranzo e di una ventina di minuti rispetto alla colazione, in linea con quanto accade per la concentrazione di insulina.

Valutando infine gli integrali delle concentrazioni di C-peptide nei tre pasti si può apprezzare nuovamente la differenza tra la cena e gli altri due pasti nell'intervallo compreso tra 60 e 90 minuti, all'interno del quale le aree sotto la curva differiscono in modo statisticamente rilevante, come già accadeva per l'insulina; in Fig. 8.10 è riportato il confronto tra i valori dell'area sotto la curva a 90'.

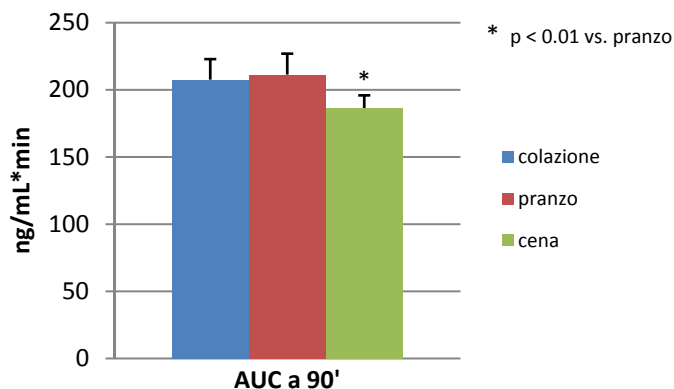


Fig. 8.10: Integrale della concentrazione di C-peptide a 90' nei soggetti normali.

Valutando poi le diversità nelle differenze tra le concentrazioni di C-peptide nei tre pasti ed i rispettivi valori basali si ritrovano gli stessi risultati, dal momento che i valori basali nei tre pasti sono in media molto simili.

8.1.2 Concentrazioni dei traccianti

Vengono ora analizzate le concentrazioni plasmatiche dei traccianti, del glucosio esogeno e del glucosio naturale ingerito tramite i pasti.

In Fig. 8.11 sono riportati gli andamenti medi della concentrazione plasmatica di tracciante orale [$1\text{-}^{13}\text{C}$]glucosio (G_{13C}).

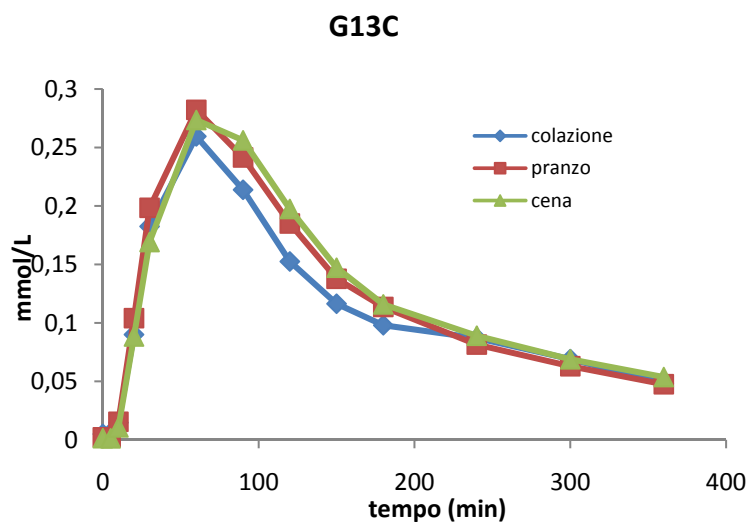


Fig. 8.11: Andamento medio delle concentrazioni di tracciante [$1\text{-}^{13}\text{C}$]glucosio nei soggetti normali.

Si notano differenze in particolare tra la colazione e gli altri due pasti, nell'intervallo compreso tra il minuto 60 e il minuto 240; in effetti nell'intervallo considerato (in particolare tra 90' e 150') risultano statisticamente significative le differenze nei valori istantanei delle concentrazioni di tracciante tra la colazione e la cena; la differenza è notevole anche tra la colazione ed il pranzo, ma non risulta statisticamente significativa.

Inoltre l'area sotto la curva calcolata al minuto 180 risulta significativamente diversa tra la colazione ed il pranzo, mentre tra colazione e cena risulta statisticamente rilevante la diversità tra gli integrali delle concentrazioni alla fine dell'esperimento, come si può notare anche dalle Fig. 8.12 e 8.13 che rappresentano, rispettivamente, i valori delle aree sotto la curva a 180' e a 360'.

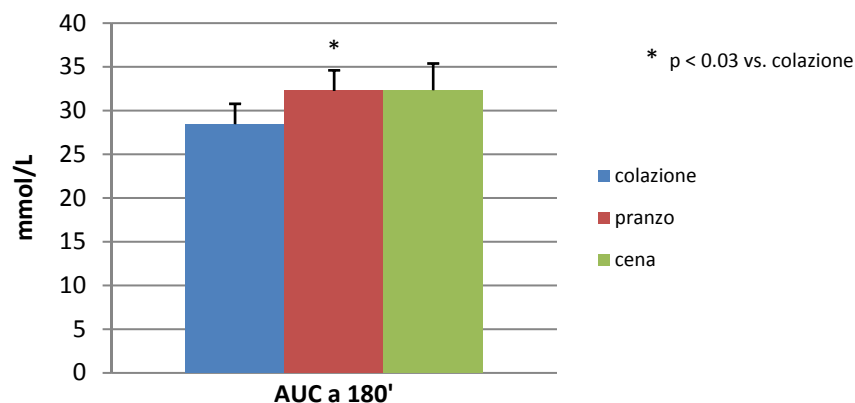


Fig. 8.12: Integrale della concentrazione di tracciante $[1-^{13}\text{C}]$ glucosio a 180' nei soggetti normali.

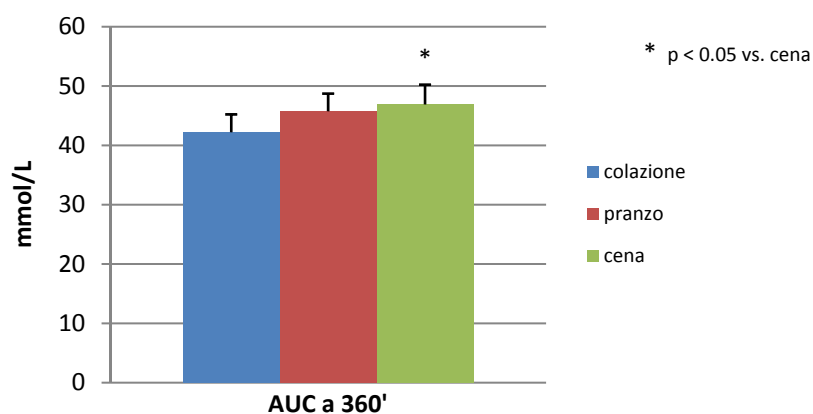


Fig. 8.13: Integrale della concentrazione di tracciante $[1-^{13}\text{C}]$ glucosio a 360' nei soggetti normali.

Per quanto riguarda le concentrazioni di tracciante $[6,6-^2\text{H}_2]$ glucosio, si può notare una differenza tra i valori relativi alla colazione rispetto agli altri due pasti nella parte iniziale dell'esperimento; una notevole differenza è visibile invece tra la cena e gli altri due pasti nell'intervallo compreso tra il minuto 90 e il minuto 240, come si può osservare anche da Fig. 8.14, nella quale sono riportati gli andamenti medi della concentrazione di tracciante $[6,6-^2\text{H}_2]$ glucosio nei tre pasti nei soggetti normali.

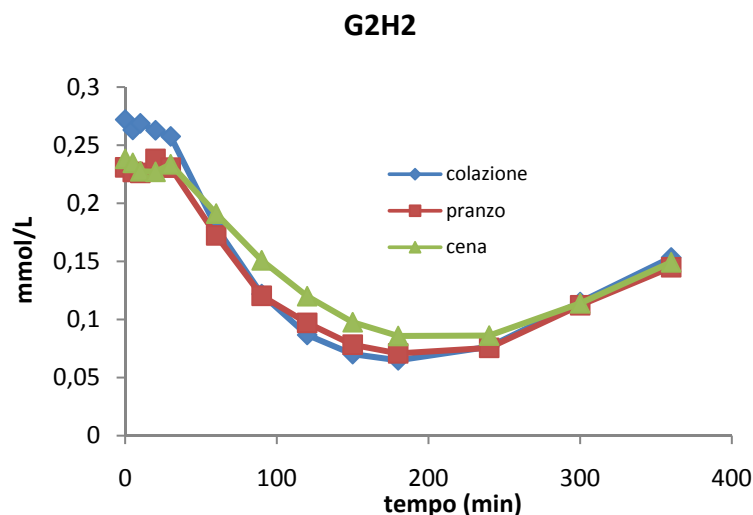


Fig. 8.14: Andamento medio delle concentrazioni di tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucosio}$ nei soggetti normali.

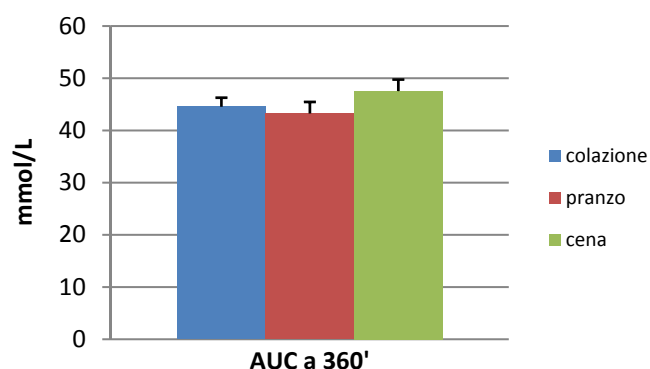


Fig. 8.15: Integrale della concentrazione di tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucosio}$ a 360' nei soggetti normali.

Il confronto tra gli integrali delle concentrazioni effettuato tramite test di ipotesi non fornisce differenze statisticamente significative fra i tre pasti, né a metà dell'esperimento né alla fine. Vengono comunque riportati in Fig. 8.15 i valori dell'area sotto la curva a 360', così che siano visibili le differenze fra i tre pasti, pur se non statisticamente significative.

In Fig. 8.16 sono riportati gli andamenti medi della concentrazione plasmatica di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]\text{glucosio}$ nei tre pasti, nei soggetti normali. Si può notare una certa differenza tra l'andamento relativo alla colazione e quelli relativi agli altri due pasti, in particolare dal minuto 120 in poi; questa differenza risulta significativa a 120', a 150', a 180' e a 300', per quanto riguarda il confronto tra colazione e pranzo, mentre nel raffronto tra i valori della concentrazione la differenza è statisticamente rilevante in tutti gli istanti a partire dal minuto 120 fino alla fine dell'esperimento.

Il confronto tra gli integrali fornisce differenze significative dal punto di vista statistico per quanto riguarda le aree sotto la curva a 360', che risultano significativamente minori a colazione rispetto agli altri due pasti; questa differenza si può apprezzare anche dal grafico in Fig. 8.17.

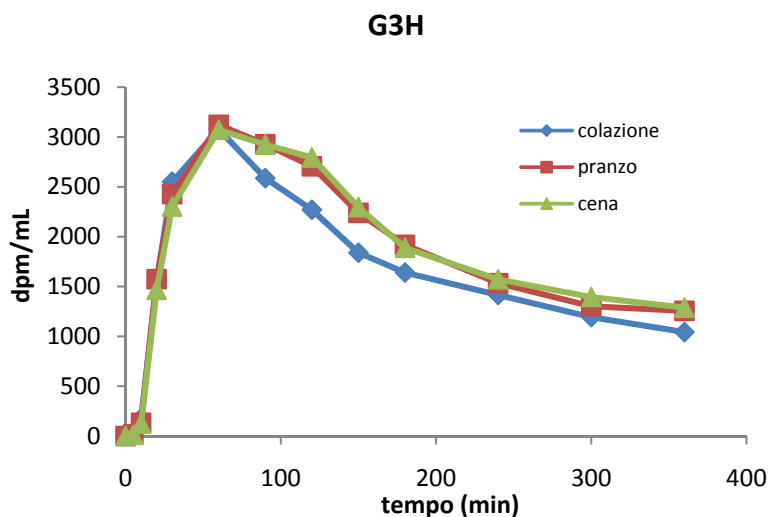


Fig. 8.16: Andamento medio delle concentrazioni di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]\text{glucosio}$ nei soggetti normali.

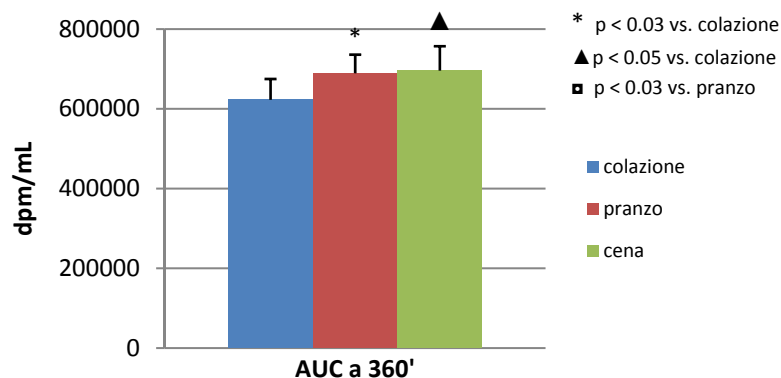


Fig. 8.17: Integrale della concentrazione di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]\text{glucosio}$ a 360' nei soggetti normali.

Per quanto concerne la concentrazione plasmatica di glucosio esogeno ingerito valgono in tutto e per tutto le considerazioni effettuate per il tracciante $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{glucosio}$: esistono differenze significative tra la colazione e gli altri due pasti, in particolare all'inizio dell'esperimento e tra 90' e 150', come si può apprezzare da Fig. 8.18, nella quale sono riportati gli andamenti medi della concentrazione di glucosio esogeno nei tre pasti nei soggetti normali.

Gli integrali delle concentrazioni di glucosio esogeno differiscono in misura significativa tra la colazione e gli altri due pasti, rispettivamente a metà dell'esperimento tra colazione e pranzo e alla fine tra colazione e cena; in Fig. 8.19 e 8.20 sono riportati, per un raffronto visivo, i valori delle aree sotto la curva a 180' e a 360'.

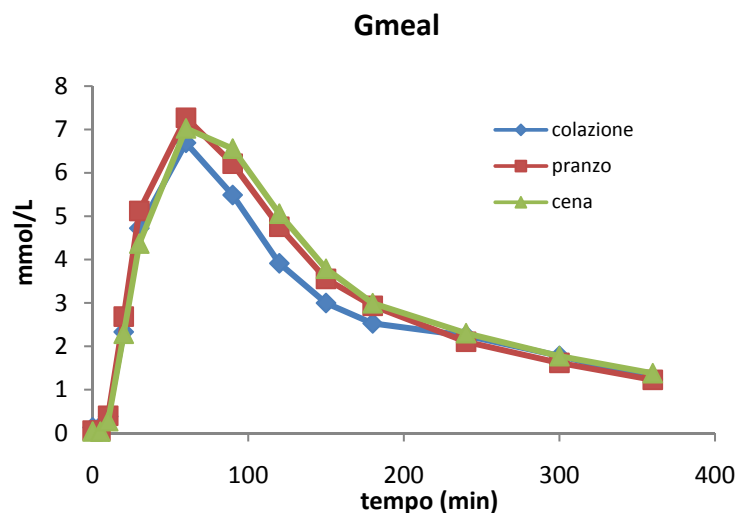


Fig. 8.18: Andamento medio delle concentrazioni di glucosio esogeno nei soggetti normali.

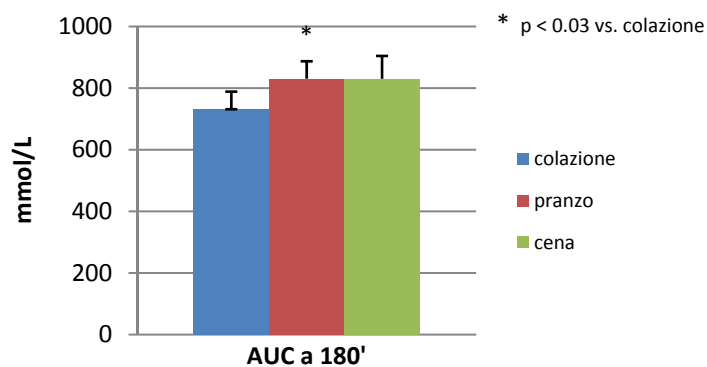


Fig. 8.19: Integrale della concentrazione di glucosio esogeno a 180' nei soggetti normali.

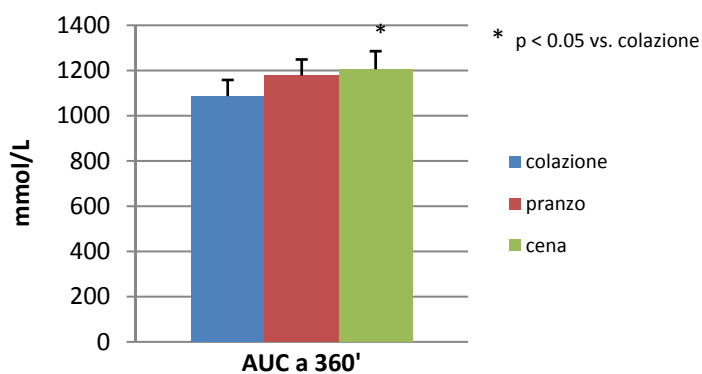


Fig. 8.20: Integrale della concentrazione di glucosio esogeno a 360' nei soggetti normali.

Vengono infine riportati, in Fig. 8.21, gli andamenti medi della concentrazione di glucosio endogeno.

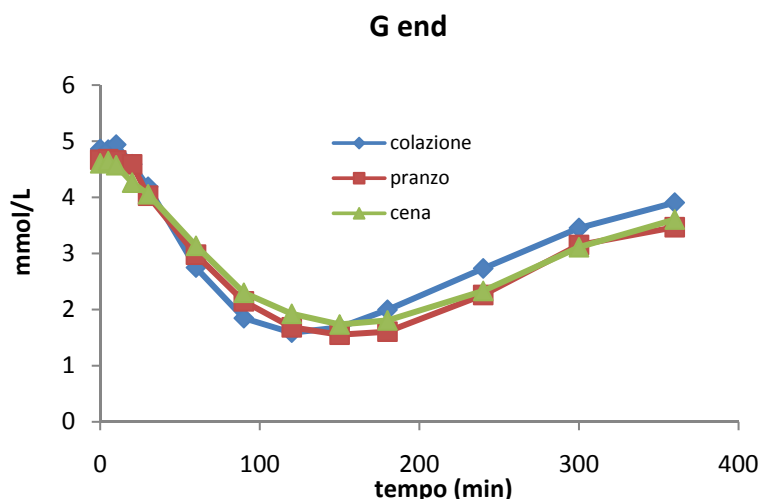


Fig. 8.21: Andamento medio delle concentrazioni di glucosio endogeno nei soggetti normali.

Ancora una volta è la colazione il pasto più dissimile rispetto agli altri due, in particolar modo dal minuto 120 fino alla fine dell'esperimento. Esistono in realtà poche differenze statisticamente significative nei valori istantanei delle concentrazioni tra i diversi pasti; gli integrali delle concentrazioni, inoltre, non differiscono mai in misura significativa tra i pasti.

8.1.3 Stime dei flussi postprandiali

In questo paragrafo vengono esposti i risultati dell'analisi statistica effettuata sui flussi postprandiali di glucosio, stimati secondo il modello monocompartimentale (di Steele) e bicompartimentale (di Radziuk).

In Fig. 8.22 si riportano gli andamenti medi di R_a nei tre pasti nei soggetti normali; nel riquadro a sinistra sono illustrati gli andamenti relativi a R_a stimata secondo il modello di Steele, nel riquadro a destra sono invece riportati gli andamenti medi di R_a stimata secondo il modello di Radziuk.

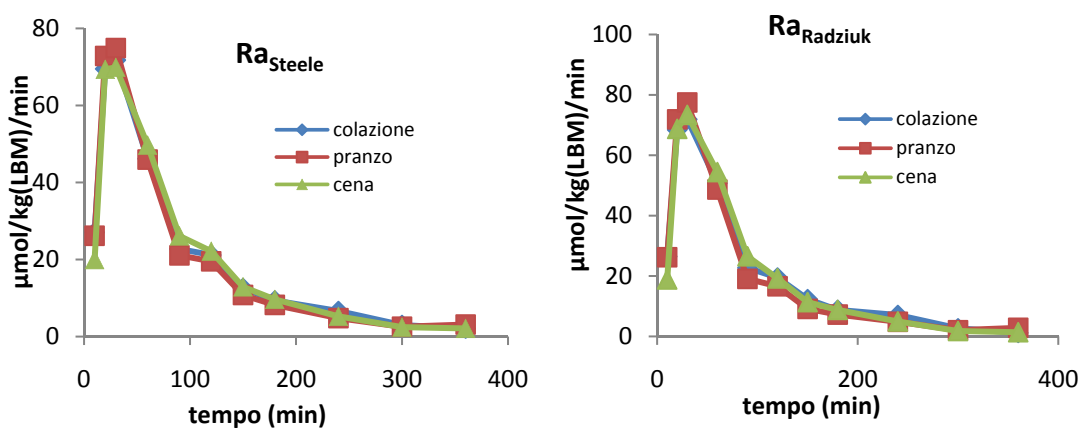


Fig. 8.22: R_a di Steele e di Radziuk stimate nei soggetti normali.

I test di ipotesi hanno rinvenuto pochissime differenze statisticamente significative nelle velocità di comparsa del glucosio, come ci si può legittimamente aspettare osservando gli andamenti medi in Fig. 8.22, che risultano piuttosto simili; l'unica differenza degna di nota riguarda l'istante di occorrenza del picco per la R_a di Radziuk, che risulta statisticamente differente tra la colazione ed il pranzo. La differenza è difficilmente apprezzabile osservando gli andamenti medi dei due flussi ma diventa più evidente calcolando le medie degli istanti di occorrenza del massimo, che risultano pari a circa 39' a colazione, circa 26' a pranzo e circa 32' a cena.

Si osservino ora, in Fig. 8.23, gli andamenti medi delle stime della produzione endogena di glucosio (EGP) nei tre pasti. Le differenze tra la colazione e gli altri due pasti sembrano evidenti, sia considerando le stime effettuate tramite il modello monocompartimentale che quelle effettuate tramite il modello bicompartimentale; le differenze statisticamente significative rilevate dai test di ipotesi non sono però molte e riguardano principalmente l'istante di occorrenza del minimo nelle stime di Steele (differente nella cena) e la soppressione percentuale, il cui valore alla fine dell'esperimento risulta significativamente diverso nella colazione rispetto agli altri due pasti.

In tabella 8.4 sono dunque riportati i valori minimi di EGP con il relativo istante di occorrenza, mentre in Fig. 8.24 sono riportati i valori della soppressione percentuale a 360'.

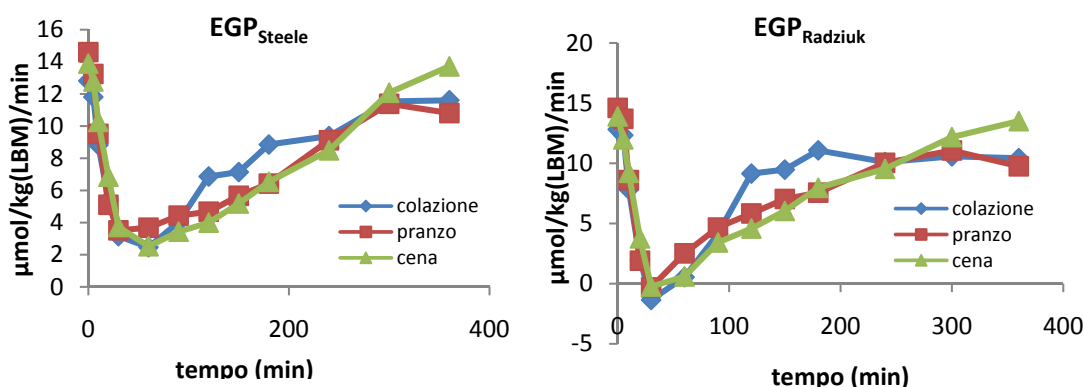


Fig. 8.23: EGP di Steele e di Radziuk stimate nei soggetti normali.

	colazione	pranzo	cena
valore minimo [$\mu\text{mol}/\text{kg}(\text{LBM})/\text{min}$]	1.51	1.31	1.34
istante di occorrenza [min]	46	47	75

Tabella 8.4: Valori minimi di EGP stimato con il modello monocompartimentale, con relativi istanti di occorrenza.

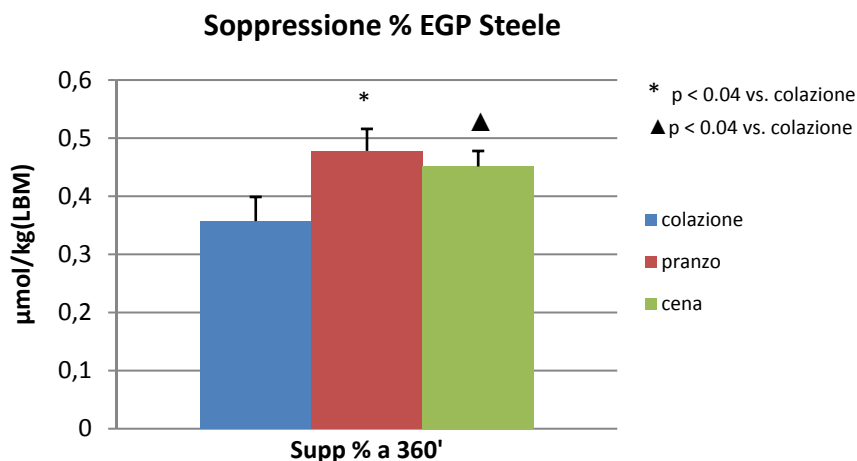


Fig. 8.24: Soppressione percentuale di EGP di Steele a 360' nei soggetti normali

In Fig. 8.25 sono infine riportati gli andamenti medi di R_d nei tre pasti relativi ai soggetti normali.

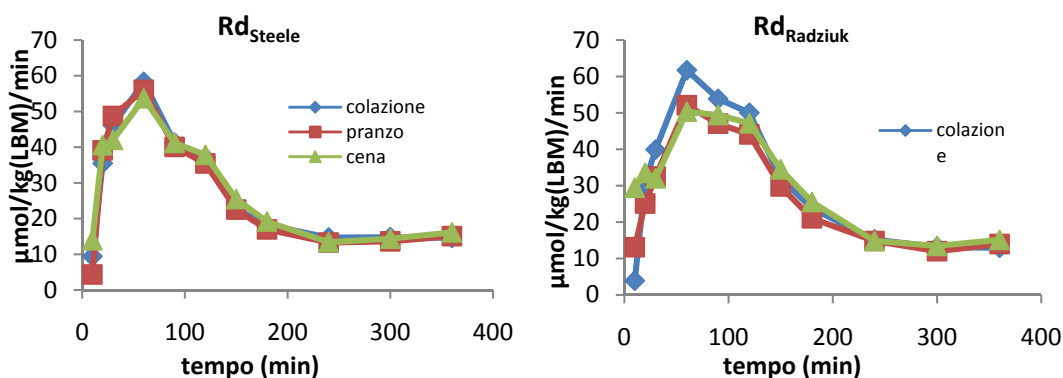
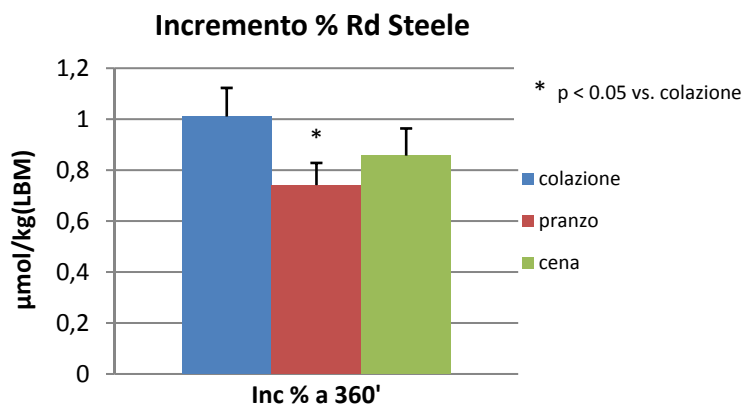
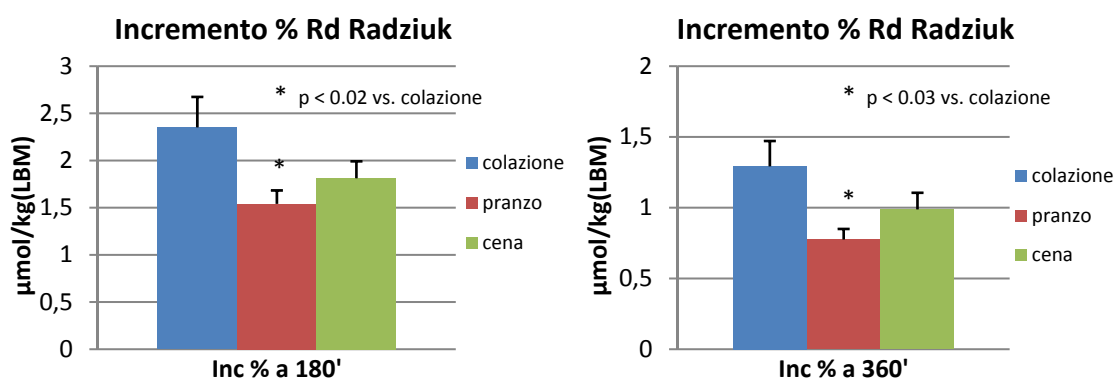


Fig. 8.25: R_d di Steele e di Radziuk stimate nei soggetti normali.

Mentre gli andamenti stimati con il modello monocompartimentale risultano piuttosto simili, è possibile notare una differenza evidente tra la colazione e gli altri due pasti negli andamenti medi di R_d stimati secondo il modello di Radziuk. In realtà si riscontrano differenze statisticamente significative solamente negli incrementi percentuali relativi alla colazione e al pranzo (a 180' e a 360') e in alcuni valori istantanei di R_d a pranzo e a cena compresi tra il minuto 150 e il minuto 300. Risultano statisticamente differenti anche i valori degli incrementi percentuali della R_d di Steele, ma solo alla fine dell'esperimento.

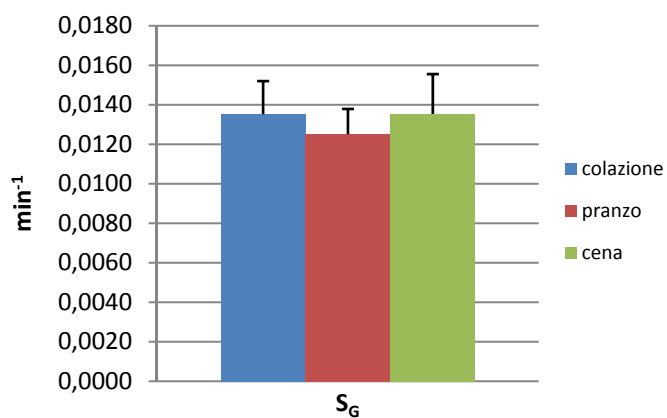
Nelle Fig. 8.26, 8.27 e 8.28 sono rappresentati, rispettivamente, i valori dell'incremento percentuale a 360' relativi alle R_d di Steele, i valori dell'incremento percentuale a 180' relativi alle R_d di Radziuk ed i valori dell'incremento percentuale a 360' relativi alle R_d di Radziuk.

Fig. 8.26: Incremento percentuale di R_d di Steele a 360' nei soggetti normaliFig. 8.27: Incremento percentuale di R_d di Radziuk a 180' e a 360' nei soggetti normali

8.1.4 Modello minimo del glucosio con R_a nota

Di seguito sono riportati i risultati dell'analisi statistica effettuata sulle stime dei parametri del modello minimo del glucosio con velocità di comparsa del glucosio nota.

In Fig. 8.28 sono riportati i valori medi stimati del parametro S_G , con i relativi errori standard.

Fig. 8.28: Confronto tra i valori medi di S_G nei soggetti normali.

Non sono visibili grandi differenze fra i tre pasti: il valore stimato di S_G risulta quasi identico nella colazione e nella cena, mentre a pranzo risulta di poco minore; in effetti, I test di ipotesi non hanno evidenziato differenze statisticamente significative tra i valori medi del parametro S_G .

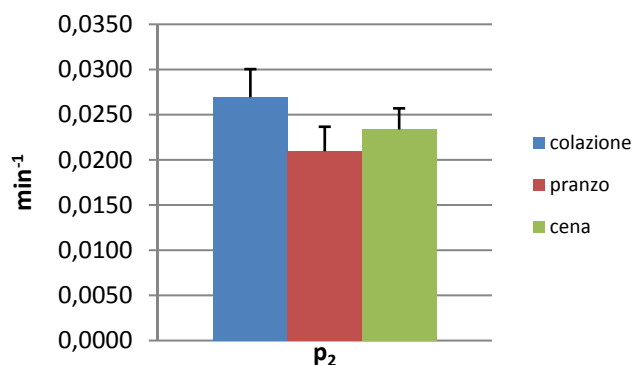


Fig. 8.29: Confronto tra i valori medi di p_2 nei soggetti normali.

Nemmeno tra i valori stimati del parametro p_2 sono state trovate differenze statisticamente significative; la differenza maggiore si ha tra la colazione ed il pranzo, come si può apprezzare anche da Fig. 8.29, tuttavia questa differenza non risulta rilevante.

I test statistici effettuati sui valori stimati della sensibilità insulinica permettono di valutare come varia durante il giorno la capacità dell'insulina di promuovere la scomparsa del glucosio. Il valore stimato della sensibilità insulinica tende a diminuire nel corso della giornata, come si vede in Fig. 8.30, nella quale sono riportati i valori medi del prodotto $S_I \cdot V$ con i relativi errori standard: il risultato è in accordo con i dati di glucosio e insulina, in quanto a colazione l'area sotto la curva della concentrazione del glucosio sopra il basale è minore rispetto alla cena (v. Fig. 8.4), mentre per l'insulina è il contrario (l'area della concentrazione sopra il basale è minore a colazione e maggiore a cena) (v. Fig. 8.5). Le differenze tra i valori medi della sensibilità insulinica non risultano tuttavia statisticamente rilevanti.

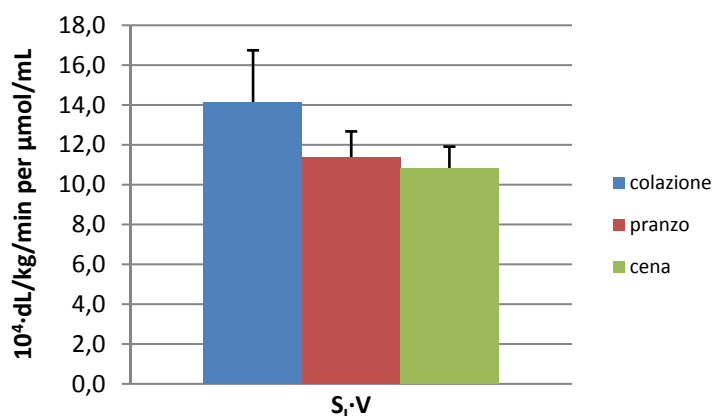


Fig. 8.30: Confronto tra i valori medi della sensibilità insulinica nei soggetti normali.

In Fig. 8.31 sono riportati infine i valori medi stimati del parametro V . Il valore medio stimato del parametro aumenta durante la giornata e la differenza tra i valori relativi alla colazione ed al pranzo risulta statisticamente rilevante; è visibile anche una discreta differenza tra la colazione e la cena, tuttavia non risulta statisticamente significativa.

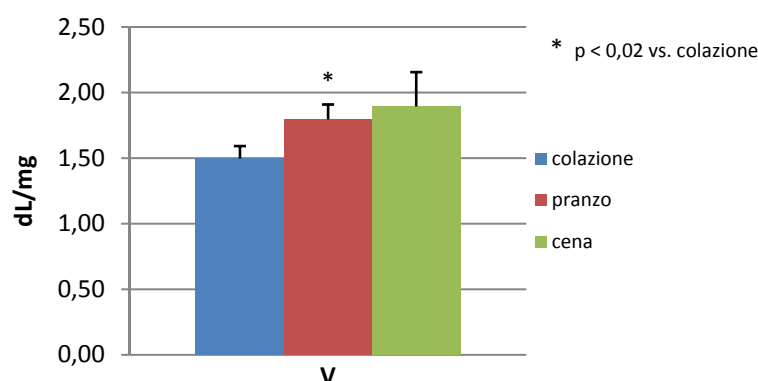


Fig. 8.31: Confronto tra i valori medi di V nei soggetti normali.

8.1.5 Modello minimo del glucosio con stima di R_a

I valori medi del prodotto $S_1 \cdot V$ nei tre pasti, con il relativo errore standard, sono rappresentati in Fig. 8.32.

Come si può notare dalla figura, il valore stimato della sensibilità insulinica tende a diminuire durante la giornata; tuttavia, né il test parametrico né il test non parametrico evidenziano variazioni significative fra i valori stimati nei tre pasti.

I risultati relativi alla sensibilità insulinica rispecchiano quanto visto in precedenza osservando le concentrazioni di glucosio ed insulina nei vari pasti, come già accadeva per le stime ottenute tramite il modello con R_a nota.

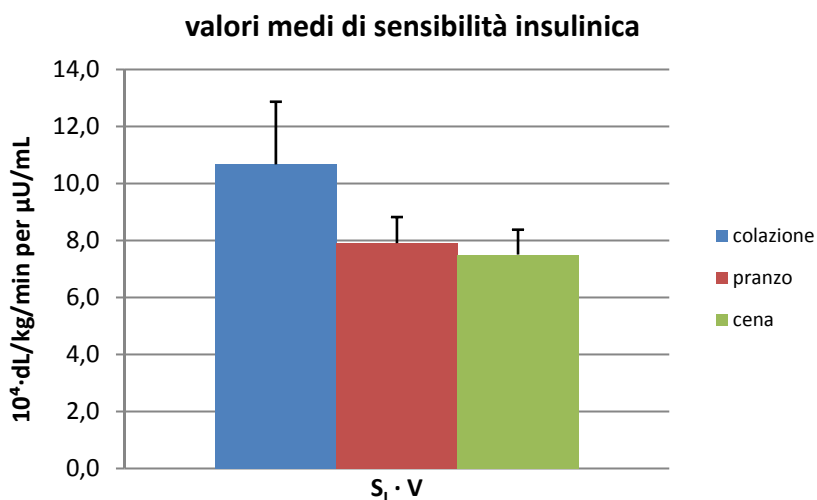


Fig. 8.32: Confronto tra i valori medi della sensibilità insulinica nei soggetti normali.

C'è da osservare, in ogni caso, che a colazione il soggetto 7 presenta un valore di sensibilità insulinica molto maggiore rispetto agli altri soggetti: senza considerare il soggetto 7, il valore medio della sensibilità insulinica dei soggetti esaminati a colazione sarebbe pari a $8,8 \cdot 10^{-4}$ dL/kg/min per μ U/mL, molto più in linea con i valori degli altri pasti.

In Fig. 8.33 sono riportati i valori medi stimati del parametro pp_2 ($\sqrt{p_2}$), con i relativi errori standard;

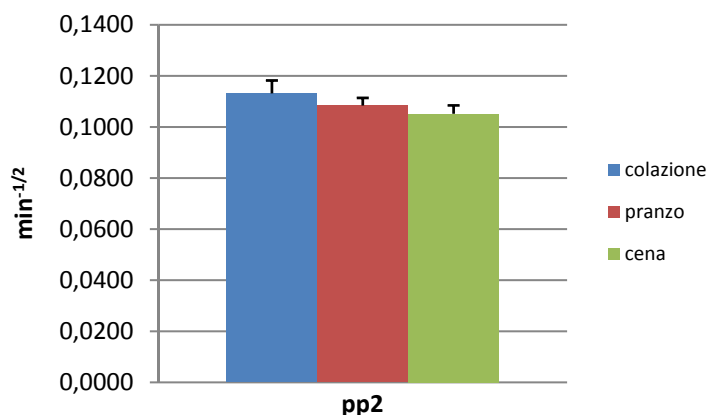


Fig. 8.33: Confronto tra i valori medi di pp2 nei soggetti normali.

Il valore del parametro cambia di poco durante la giornata: è maggiore a colazione e minore a cena, ma le differenze tra i pasti non risultano statisticamente significative.

8.1.6 Modello dell'assorbimento del glucosio

I risultati dei test di ipotesi sulle stime dei parametri hanno confermato quanto l'analisi statistica sui flussi aveva già anticipato, e cioè che non sono presenti grandissime differenze nelle velocità di comparsa del glucosio a colazione, pranzo e cena: i test di ipotesi sulle stime dei parametri non hanno infatti rinvenuto variazioni significative.

Non sono stati effettuati test di ipotesi sui valori stimati dei parametri k_{\max} e c , in quanto essi risultano spesso nulli ed i loro coefficienti di variazione alti.

Nelle Fig. 8.34-8.36 sono riportati i valori medi dei parametri stimati per ogni pasto, con relativo errore standard.

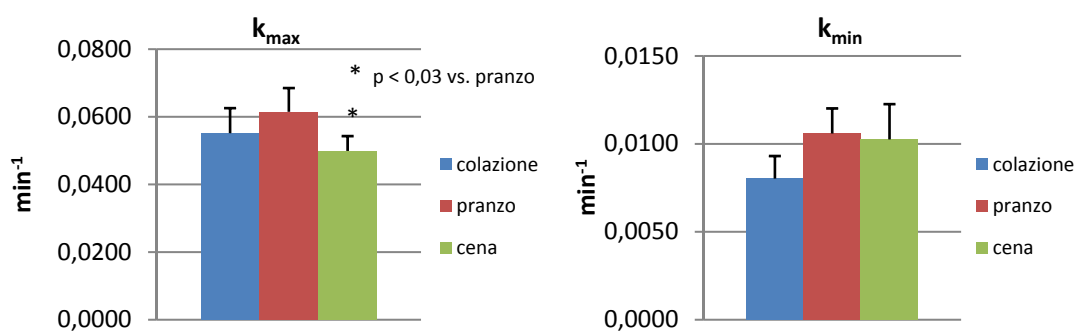


Fig. 8.34: Confronto tra i valori medi di k_{\max} e k_{\min} nei soggetti normali.

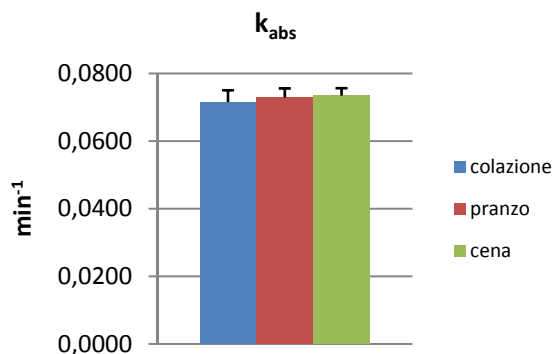
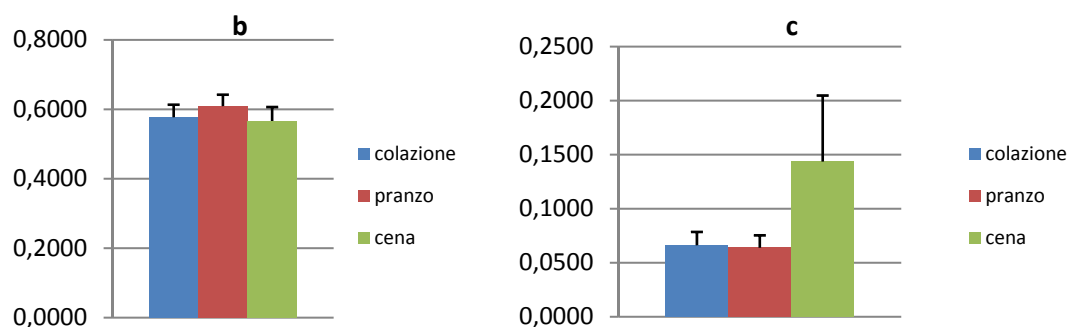
Fig. 8.35: Confronto tra i valori medi di k_{abs} nei soggetti normali.

Fig. 8.36: Confronto tra i valori medi di b e c nei soggetti normali.

8.2 Soggetti diabetici di tipo 1

8.2.1 Concentrazioni di glucosio e insulina

In Fig. 8.37 sono riportati gli andamenti medi della concentrazione plasmatica di glucosio nei tre pasti nei 12 soggetti diabetici. Le tre curve differiscono tra loro in particolar modo dal minuto 90 fino alla fine dell'esperimento; in precedenza, gli andamenti relativi alla colazione ed al pranzo sono piuttosto simili, mentre la curva relativa alla cena, partendo da un valore iniziale apprezzabilmente più basso, si discosta leggermente dalle altre due.

Confrontando i valori istantanei della concentrazione di glucosio tramite test di ipotesi emergono differenze statisticamente significative tra la colazione e la cena, tra il minuto 90 e il minuto 240, mentre le differenze tra colazione e pranzo, sempre nello stesso intervallo, non appaiono statisticamente significative.

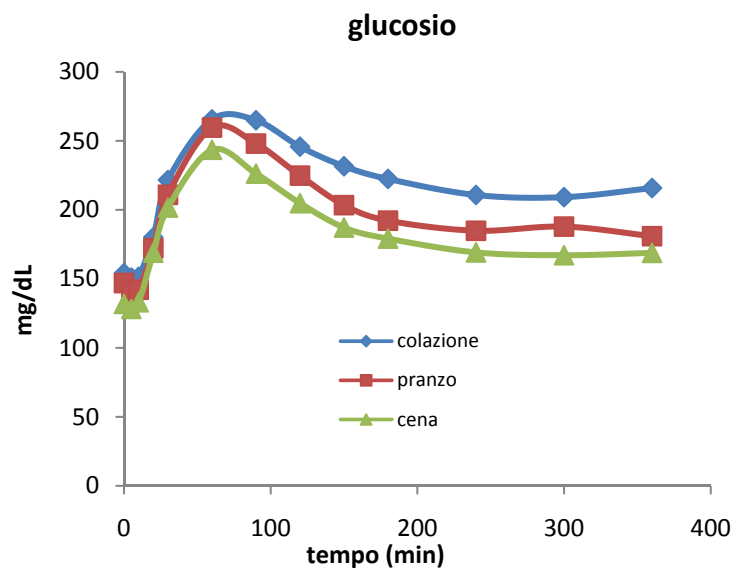


Fig. 8.37: Andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di glucosio nei soggetti diabetici.

A partire dal minuto 120 risultano statisticamente significative anche le aree sottese dalle curve relative alla colazione ed alla cena, come si può apprezzare da Fig. 8.38, nella quale sono rappresentati i valori dell'integrale delle tre concentrazioni calcolato al minuto 180.

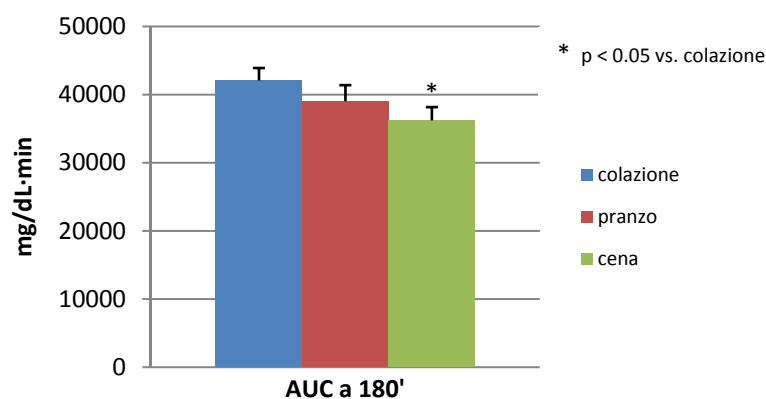


Fig. 8.38: Integrale della concentrazione di glucosio a 180' nei soggetti diabetici.

Non risultano invece significative le differenze tra gli integrali delle concentrazioni sopra il valore basale, come si può apprezzare anche da Fig. 8.39; ciò nonostante la curva relativa alla colazione si manifesti differente rispetto alle altre due, come si può vedere da Fig. 8.40.

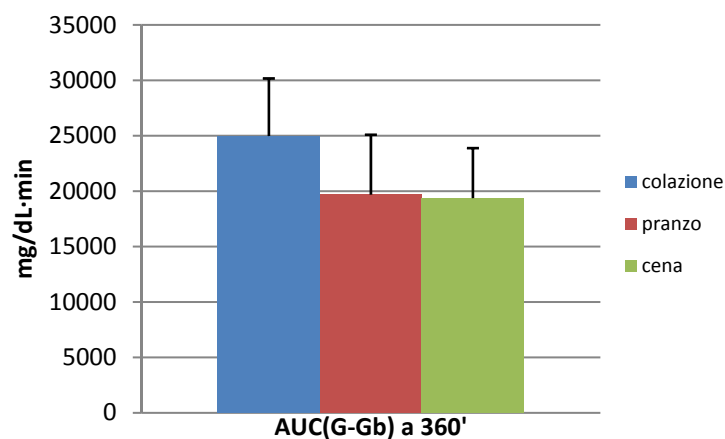


Fig. 8.39: Integrale della concentrazione di glucosio sopra il basale a 180' nei soggetti diabetici.

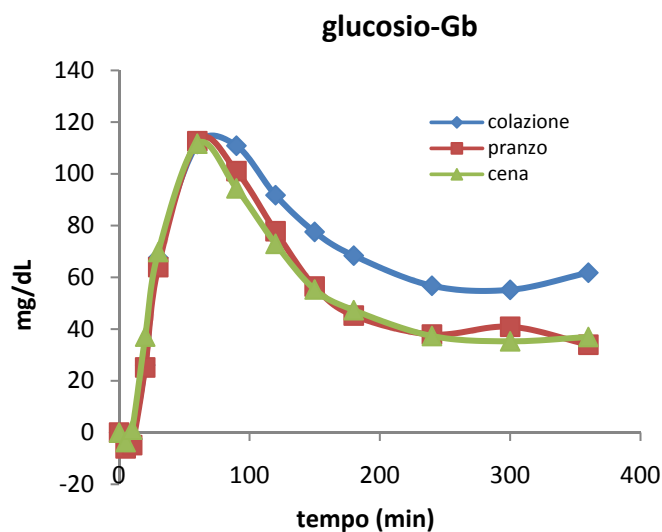


Fig. 8.40: Andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di glucosio sopra il basale nei soggetti diabetici.

Tra colazione e cena risulta anche significativamente diverso il valore di picco della concentrazione plasmatica di glucosio, come si può vedere da Fig. 8.41, nella quale sono riportati i valori di picco nei tre pasti con relativi errori standard e da tabella 8.5, nella quale viene riportato anche, per ogni pasto, l'istante medio di occorrenza del valore di picco.

	colazione	pranzo	cena
valore del picco [mg/dL]	284.05	269.86	247.72
istante di occorrenza [min]	145	95	83

Tabella 8.5: Valori di picco della concentrazione di glucosio, con relativi istanti di occorrenza.

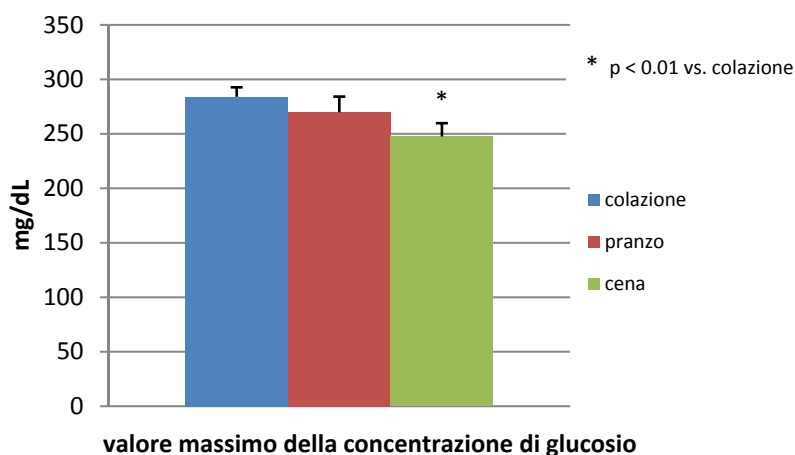


Fig. 8.41: Valore massimo medio della concentrazione di glucosio nei tre pasti nei soggetti diabetici.

Gli istanti di occorrenza appaiono in media molto diversi; la differenza non è in realtà statisticamente significativa perché in alcuni soggetti il valore massimo della concentrazione di glucosio viene raggiunto alla fine dell'esperimento, al minuto 360: questi soggetti costituiscono dunque degli outlier che influenzano in misura trascurabile il risultato dei test di ipotesi.

Non sono state invece trovate differenze significative negli andamenti medi della concentrazione di insulina, riportati in Fig. 8.42.

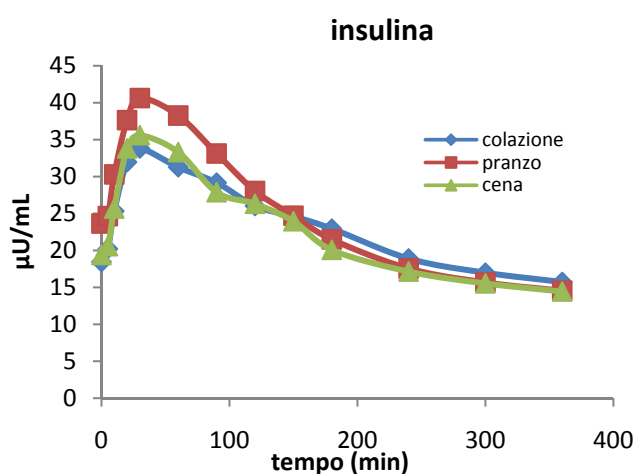


Fig. 8.42: Andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di insulina nei soggetti diabetici.

Si nota una certa differenza tra la curva relativa al pranzo e quelle relative agli altri due pasti; tale differenza tuttavia non risulta statisticamente significativa, se non in un solo istante (a 90') tra il valore istantaneo medio relativo al pranzo e quello relativo alla cena (è molto probabile che si tratti di una casualità). Diversamente a quanto accadeva per il glucosio, per il quale era l'andamento relativo alla colazione a presentare valori mediamente più alti, nel caso dell'insulina i valori maggiori si presentano a pranzo, mentre gli andamenti relativi a colazione e cena risultano piuttosto simili.

Non sono state rilevate altre differenze statisticamente significative riguardanti la concentrazione di insulina tra i vari pasti; anche i valori medi di picco e i relativi istanti di occorrenza, pur differenti, non lo sono in modo significativo.

8.2.2 Concentrazioni dei traccianti

Anche nell'analisi statistica delle concentrazioni plasmatiche dei traccianti, del glucosio esogeno ingerito con il pasto e del glucosio endogeno è stata rilevata una quantità minore di differenze rispetto a quanto accadeva nei soggetti normali, in linea con i risultati ottenuti dall'analisi statistica delle concentrazioni di glucosio ed insulina. Le uniche differenze statisticamente significative sono state trovate nel confronto tra la colazione e la cena ed in particolare tra le concentrazioni del tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucosio}$ e nella concentrazione del glucosio endogeno.

In Fig. 8.43 sono riportati gli andamenti temporali medi del tracciante orale $[^{13}\text{C}]\text{glucosio}$ nei tre pasti. Si può notare una differenza tra le curve a partire dal minuto 60 fino alla fine dell'esperimento: in effetti, in alcuni istanti all'interno di questo intervallo i valori istantanei di concentrazione del tracciante risultano statisticamente diversi tra la colazione e la cena; non risultano tuttavia significativamente diversi dal punto di vista statistico gli integrali delle curve relative ai due pasti considerati, né a 180' ne alla fine dell'esperimento.

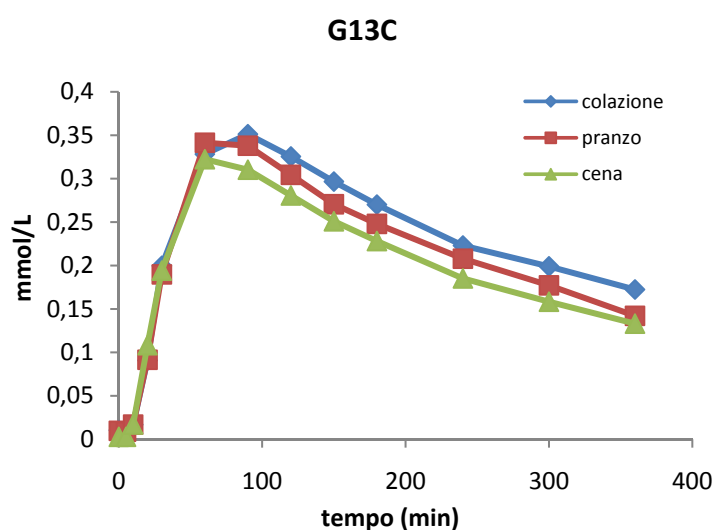


Fig. 8.43: Andamento medio delle concentrazioni di tracciante $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{glucosio}$ nei soggetti diabetici.

Come già accennato in precedenza, risultano invece piuttosto differenti gli andamenti temporali delle concentrazioni di tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucosio}$ (riportati in Fig. 8.44) fra i tre pasti; confrontando i valori istantanei della concentrazione di tracciante tramite test di ipotesi sono state rinvenute differenze statisticamente rilevanti tra la colazione e la cena, per tutta la durata dell'esperimento. Significativamente diversi sono anche i valori degli integrali delle curve relative ai due pasti considerati, come si può apprezzare da Fig. 8.45, nelle quale sono riportati i valori

degli integrali delle concentrazioni di tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio nei tre pasti, rispettivamente a 180' (grafico a sinistra) e a 360' (a destra), con i relativi errori standard.

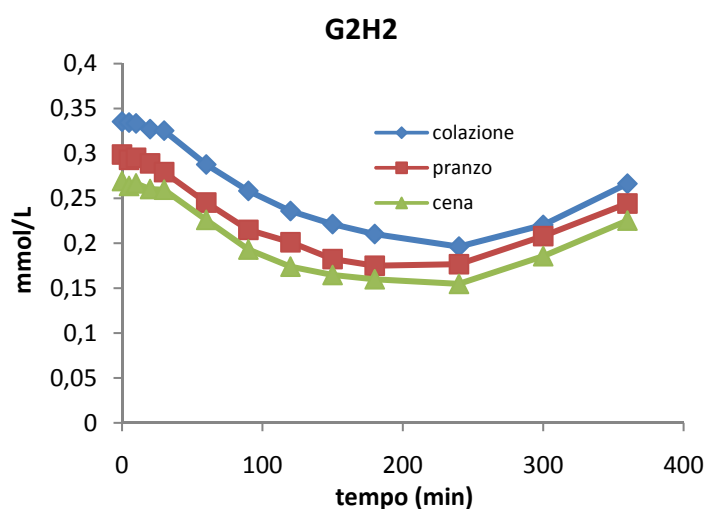


Fig. 8.44: Andamento medio delle concentrazioni di tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio nei soggetti diabetici.

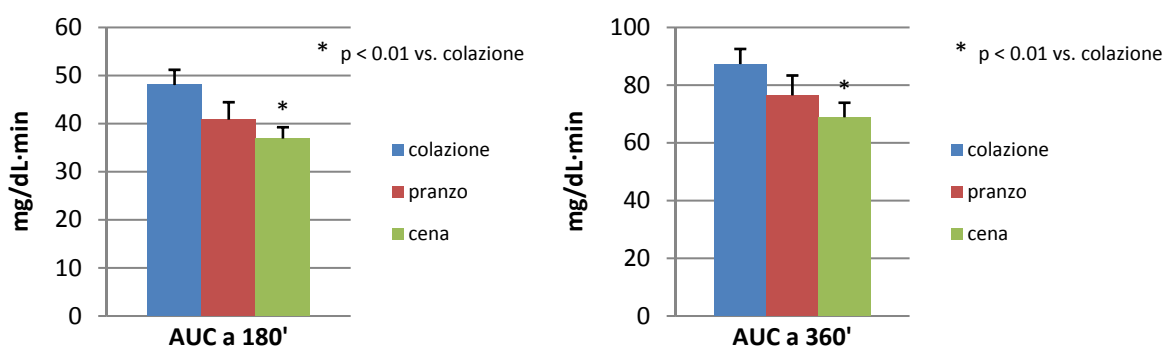


Fig. 8.45: Integrale della concentrazione di tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucosio a 180' e a 360' nei soggetti diabetici.

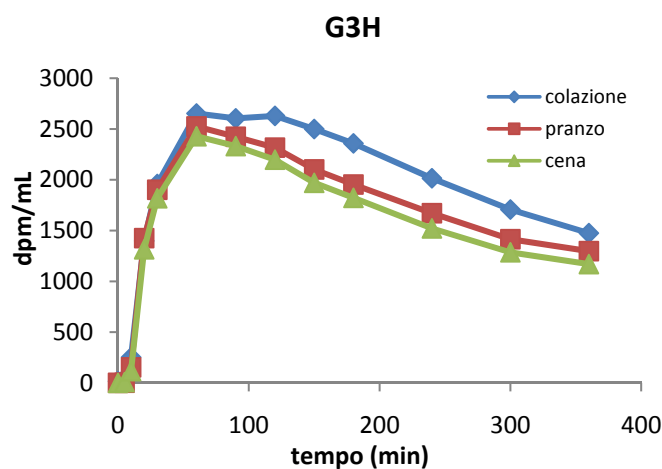


Fig. 8.46: Andamento medio delle concentrazioni di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]$ glucosio nei soggetti diabetici.

Anche nei valori della concentrazione di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]\text{glucosio}$ (i cui andamenti medi nei tre pasti sono riportati in Fig. 8.46) sono state trovate differenze statisticamente significative tra colazione e cena, in particolare tra 10 e 120 minuti; inoltre gli integrali delle concentrazioni nei due pasti considerati differiscono in misura statisticamente significativa sia a metà che alla fine dell'esperimento. È possibile apprezzare la differenza osservando Fig. 8.47, nella quale sono riportati i valori degli integrali della concentrazione di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]\text{glucosio}$ a 180' (a sinistra) e a 360' (a destra) nei tre pasti, con relativi errori standard.

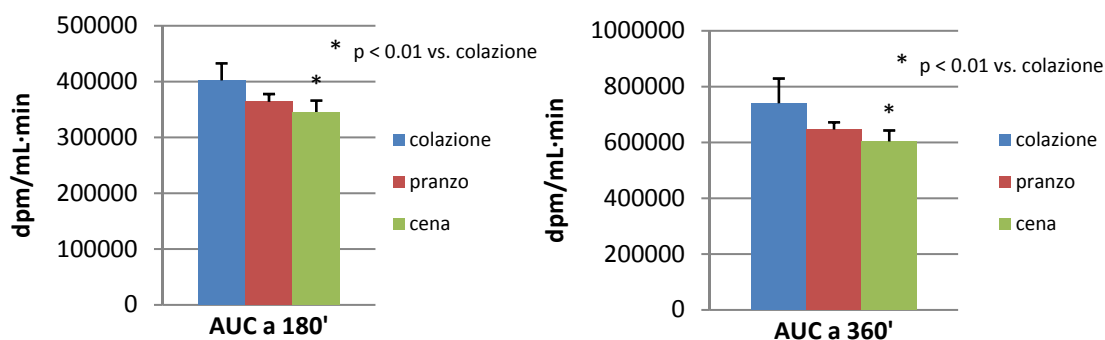


Fig. 8.47: Integrale della concentrazione di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]\text{glucosio}$ a 180' e a 360' nei soggetti diabetici.

In Fig. 8.48 sono riportati gli andamenti temporali medi della concentrazione plasmatica di glucosio esogeno; sono visibili discrete differenze fra i tre pasti in particolare dal minuto 60 in poi. I test di ipotesi hanno rilevato differenze statisticamente rilevanti fra i valori istantanei della concentrazione a colazione e a cena, negli stessi istanti nei quali risultavano statisticamente differenti anche le concentrazioni di tracciante orale $[^{13}\text{C}]\text{glucosio}$. Come per quanto accadeva per il tracciante, non risultano diversi gli integrali delle concentrazioni, né a metà né alla fine dell'esperimento.

In Fig. 8.49 sono riportati invece gli andamenti temporali medi delle concentrazioni plasmatiche di glucosio endogeno; è presente una differenza notevole tra l'andamento relativo alla colazione e quelli relativi agli altri due pasti. Diversamente da quanto visto nel caso del tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucosio}$, le differenze tra i valori istantanei della concentrazione di glucosio endogeno riguardano esclusivamente i valori compresi tra il minuto 150 e il minuto 240; risultano poi statisticamente differenti, sempre tra colazione e cena, gli integrali delle concentrazioni di glucosio endogeno calcolati alla fine dell'esperimento, come si può vedere da Fig. 8.50.

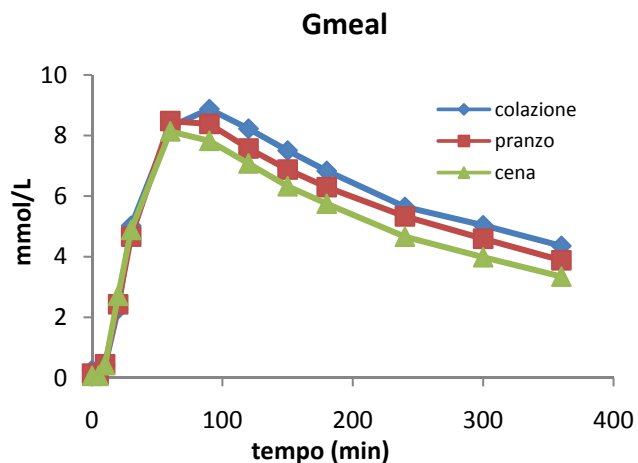


Fig. 8.48: Andamento medio delle concentrazioni di glucosio esogeno nei soggetti diabetici.

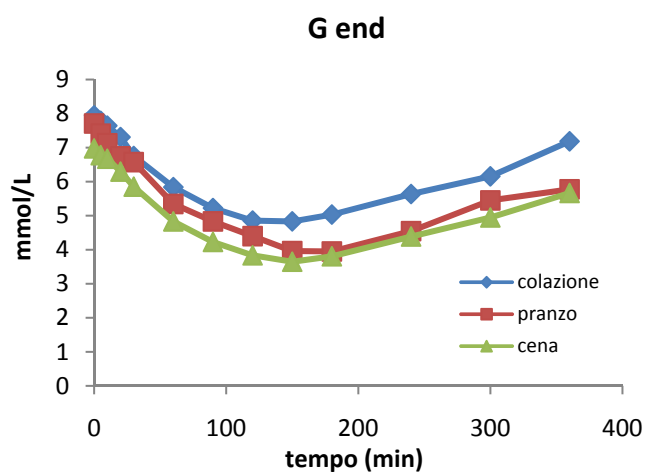


Fig. 8.49: Andamento medio delle concentrazioni di glucosio esogeno nei soggetti diabetici.

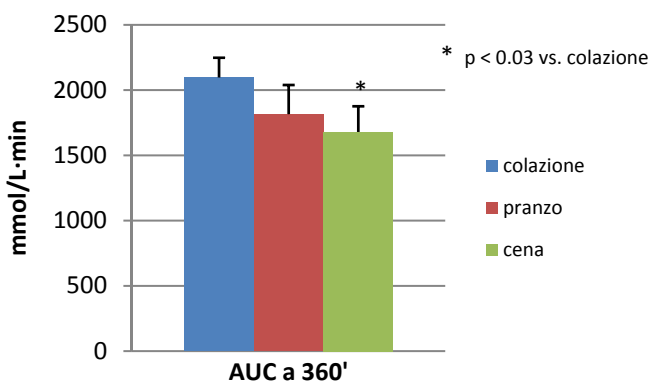


Fig. 8.50: Integrale della concentrazione di glucosio endogeno a 360' nei soggetti diabetici.

8.2.3 Stime dei flussi postprandiali

Poche sono le differenze statisticamente rilevanti trovate in seguito all'analisi statistica sui flussi postprandiali di glucosio, tant'è che appare arduo attribuire queste differenze ad una effettiva diversità tra i valori istantanei o tra gli integrali dei flussi, mentre risulta più naturale attribuirle ad effetti casuali dipendenti da un clamp non perfetto o legati ad errori di misura.

Gli andamenti della velocità di comparsa del glucosio R_a nei tre pasti nei soggetti diabetici sono riportati in Fig. 8.51, dalla quale si può apprezzare come essi siano abbastanza simili; gli andamenti nel riquadro a sinistra si riferiscono alle R_a stimate tramite il modello monocompartimentale, quelli a destra alle R_a stimate tramite il modello bicompartimentale.

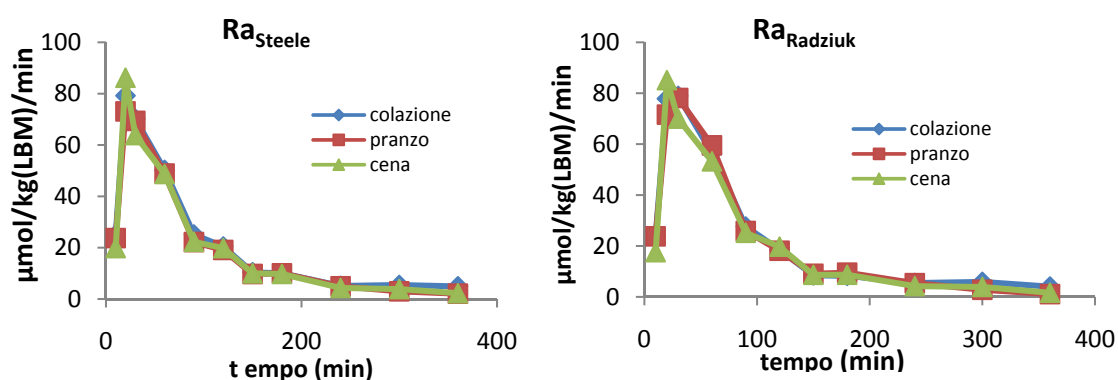


Fig. 8.51: R_a di Steele e di Radziuk stimate nei soggetti diabetici.

L'unica differenza statisticamente significativa riguardante le R_a riguarda il valore al minuto 300 delle R_a di Steele della colazione e del pranzo; tuttavia è molto probabile, come già accennato in precedenza, che si tratti di una pura casualità.

In Fig. 8.52 sono illustrati gli andamenti della produzione endogena di glucosio; come in Fig. 8.51, nel riquadro a sinistra sono riportati i flussi stimati tramite il modello monocompartimentale, in quello a destra i flussi stimati tramite il modello bicompartimentale.

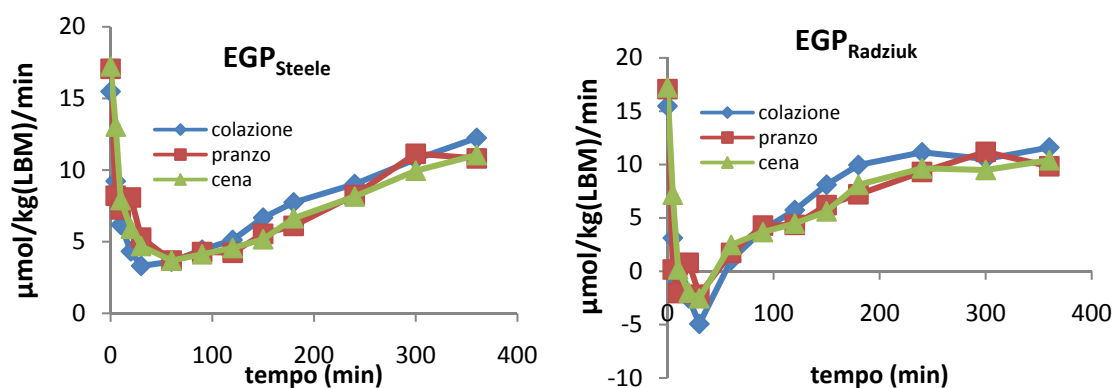


Fig. 8.52: EGP di Steele e di Radziuk stimate nei soggetti diabetici.

È possibile osservare una certa diversità tra le curve relative alla colazione e quelle relative agli altri due pasti; le differenze statisticamente rilevanti ritrovate in seguito ai test di ipotesi

riguardano però esclusivamente il valore istantaneo in $t = 0$ a colazione e a pranzo e il valore a 180', sempre a colazione e a pranzo e solamente per EGP di Steele.

Si vedano infine, in Fig. 8.53, gli andamenti temporali medi di R_d .

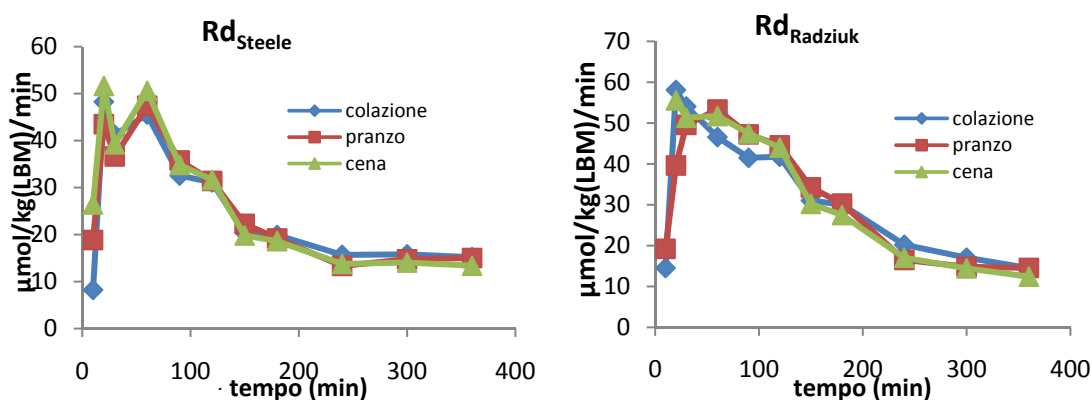


Fig. 8.53: R_d di Steele e di Radziuk stimate nei soggetti diabetici.

Dalla semplice ispezione visiva si può notare una certa diversità fra l'andamento medio di R_d di Radziuk relativa alla cena rispetto a quello relativo agli altri due pasti; i test di ipotesi confermano che in alcuni istanti (tra 240 e 300 minuti) questa diversità si traduce in una differenza statisticamente significativa nei valori istantanei di R_d , tuttavia come nei casi precedenti è plausibile che tale risultato sia il frutto di una pura casualità.

Anche valutando la soppressione percentuale di EGP e l'incremento percentuale di R_d non emergono differenze statisticamente significative; nelle Fig. 8.54 e 8.55 sono comunque riportati rispettivamente i valori medi della soppressione percentuale di EGP a 360' (nel riquadro a sinistra i valori relativi a EGP di Steele, a destra quelli relativi a EGP di Radziuk) e i valori medi dell'incremento percentuale di R_d (nel riquadro a sinistra i valori relativi a R_d di Steele, a destra quelli relativi a R_d di Radziuk), sempre a 360'.

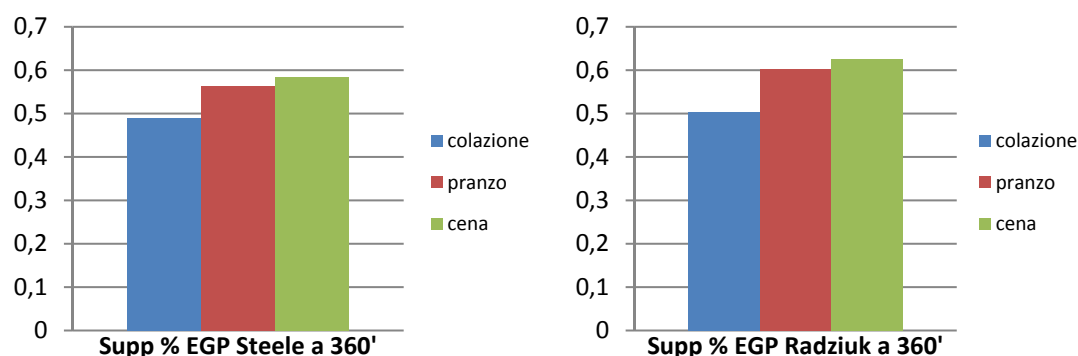


Fig. 8.54: Soppressione percentuale a 360' di EGP di Steele (sin.) e di Radziuk (des.) stimate nei soggetti diabetici.

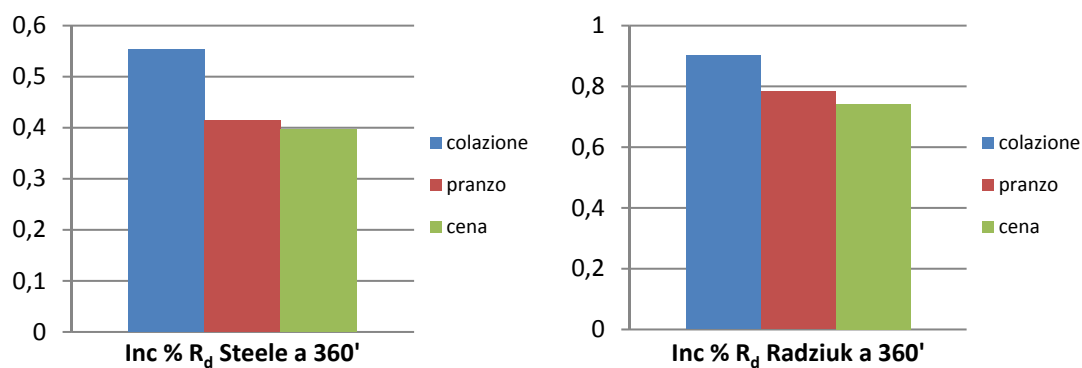


Fig. 8.55: Incremento percentuale a 360' di R_d di Steele (a sin.) e di Radziuk (a des.) stimate nei soggetti diabetici.

8.2.4 Modello minimo del glucosio con stima di R_a

Anche per i soggetti diabetici sono stati effettuati i test di ipotesi sui valori stimati della sensibilità insulinica, con l'obiettivo di valutare l'entità delle sue variazioni durante la giornata.

I valori medi del prodotto $S_1 \cdot V$ nei tre pasti, con il relativo errore standard, sono rappresentati in Fig. 8.56.

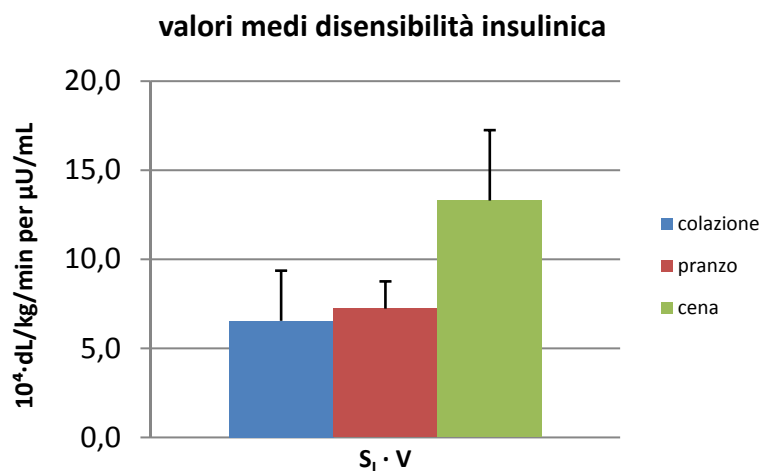


Fig. 8.56: Confronto tra i valori medi della sensibilità insulinica nei soggetti diabetici.

Dunque, in controtendenza rispetto a quanto accadeva nei soggetti normali, il valore della sensibilità insulinica cresce durante la giornata, in linea comunque con quanto emerge dai dati. Dalle Fig. 8.40 e 8.42 si può osservare ad esempio che a colazione sia la concentrazione di glucosio sopra il basale che la concentrazione di insulina assumono in media valori maggiori rispetto che negli altri due pasti: ciò significa che la sensibilità dei tessuti all'insulina è più bassa a colazione.

Le differenze nei valori della sensibilità insulinica tra i vari pasti non risultano tuttavia significative: sia il test t che il test non parametrico non hanno infatti rinvenuto differenze statisticamente significative tra i vari pasti.

In Fig. 8.57 sono riportati i valori medi stimati del parametro pp_2 ($\sqrt{p_2}$) nei tre pasti, con relativi errori standard.

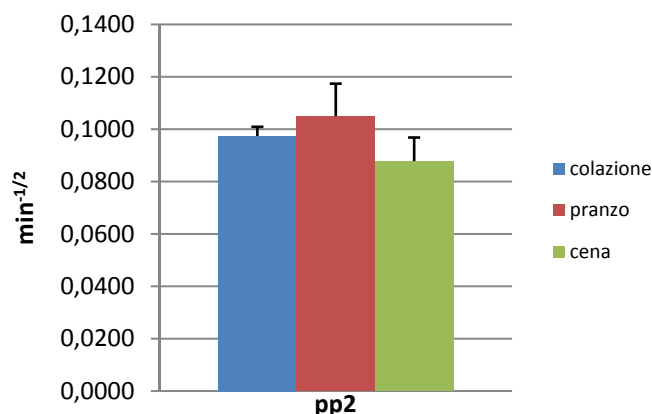


Fig. 8.57: Confronto tra i valori medi di pp_2 nei soggetti diabetici.

Il parametro pp_2 assume il valore maggiore nel pranzo e rispetto agli altri due pasti differisce maggiormente rispetto al valore stimato per la cena; le differenze tra i vari pasti non risultano però statisticamente significative.

Nemmeno tra i valori medi stimati del parametro GEZI sono state trovate differenze significative tra i pasti; in Fig. 8.58 sono comunque riportati i valori medi stimati per ogni pasto, con i relativi errori standard.

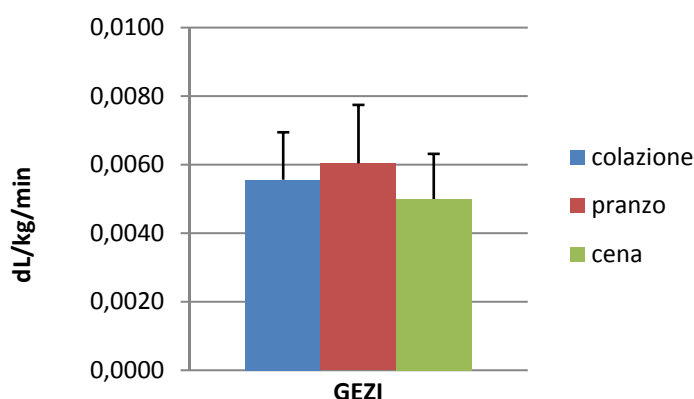


Fig. 8.58: Confronto tra i valori medi di GEZI nei soggetti diabetici.

8.2.5 Modello dell'assorbimento del glucosio

Diversamente da quanto visto per i soggetti normali, nei quali non sono state trovate grandi differenze fra i pasti nelle stime dei parametri del modello, nei soggetti diabetici è possibile affermare che esiste qualche diversità significativa tra i valori stimati per la cena rispetto ai valori stimati per gli altri due pasti.

In particolare, tra la colazione e la cena risultano significativamente differenti le stime dei parametri k_{max} e b , mentre tra il pranzo e la cena sono di nuovo le stime di b ad essere diverse in misura significativamente rilevante. Per quanto riguarda i parametri k_{min} e c , come nel caso dei soggetti normali non sono stati eseguiti i test di ipotesi: infatti, dato il gran numero di casi in cui

questi parametri sono stati stimati nulli o il loro coefficiente di variazione era alto, è probabile che eventuali test effettuati sulle stime dei parametri k_{\min} e c non forniscano risultati molto affidabili.

Nelle Fig. 8.59-8.61 sono riportati i valori medi stimati per i parametri k_{\max} , k_{\min} , k_{abs} , b e c rispettivamente; le barrette verticali indicano l'errore standard.

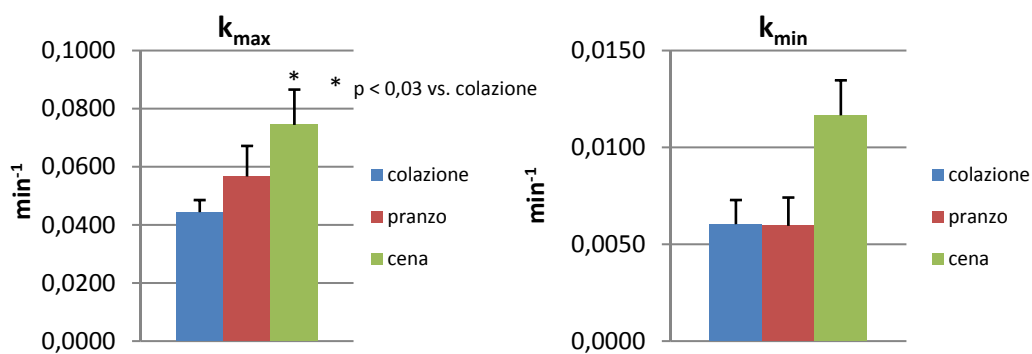


Fig. 8.59: Confronto tra i valori medi di k_{\max} e k_{\min} nei soggetti diabetici.

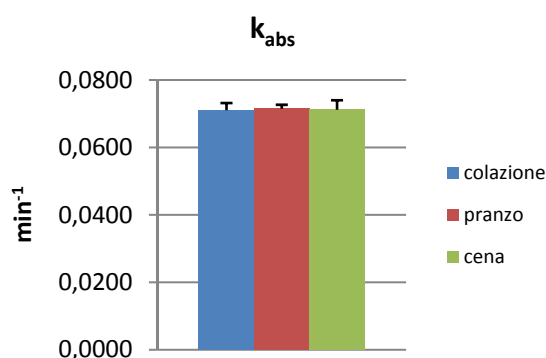


Fig. 8.60: Confronto tra i valori medi di k_{abs} nei soggetti diabetici.

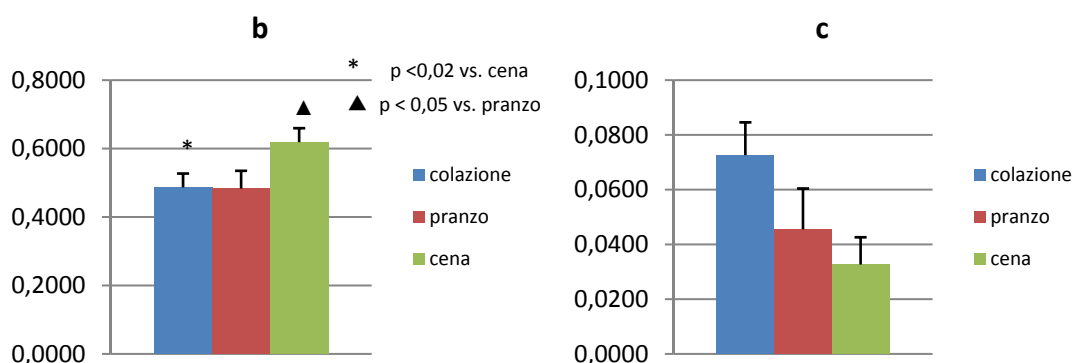


Fig. 8.61: Confronto tra i valori medi di b e c nei soggetti diabetici.

8.3 Confronto tra soggetti normali e soggetti diabetici di tipo 1

È stato effettuato il confronto tra dati relativi ai diversi pasti e alle due tipologie di soggetti (normali e diabetici di tipo 1) con l'obiettivo di indagare se, considerando contemporaneamente i due fattori di variabilità (presenza o meno della patologia e pasto diverso), emergessero differenze statisticamente significative tra le grandezze analizzate separatamente per i soggetti normali e diabetici nei paragrafi precedenti. Trattandosi di confronti tra dati non appaiati, è stata implementata l'analisi della varianza tramite la function di MATLAB® *anovan*.

8.3.1 Concentrazioni di glucosio e insulina

La concentrazione plasmatica di glucosio risulta significativamente diversa tra soggetti normali e diabetici per tutta la durata dell'esperimento; considerando sia i soggetti normali che i diabetici, non risultano invece differenze statisticamente significative tra i diversi pasti, se non alla fine dell'esperimento. La combinazione dei due fattori (presenza o meno della malattia e diversità del pasto) produce invece una differenza significativa nei valori istantanei della concentrazione di glucosio dal minuto 90 al minuto 180.

La concentrazione di insulina risulta significativamente diversa tra soggetti normali e diabetici per quasi tutta la durata dell'esperimento, mentre non risultano differenze statisticamente rilevanti tra i vari pasti. Anche la combinazione dei due fattori non produce differenze statisticamente rilevanti.

8.3.2 Concentrazioni dei traccianti, del glucosio esogeno e del glucosio endogeno

Per quanto concerne le concentrazioni dei traccianti, le differenze maggiori tra soggetti sani e diabetici si hanno nella concentrazione del tracciante $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucosio}$, che risulta diversa per tutta la durata dell'esperimento tra le due tipologie di soggetti; sono state trovate anche differenze statisticamente rilevanti tra i vari pasti nella prima mezz'ora dell'esperimento, mentre la combinazione dei due fattori produce differenze significative a partire dal minuto 60 fino al minuto 180.

Anche la concentrazione di tracciante orale $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{glucosio}$ risulta statisticamente differente tra soggetti normali e diabetici, ma solo a partire dal minuto 60; non sembra invece che esistano differenze rilevanti tra i diversi pasti, neppure considerando contemporaneamente la presenza o meno della patologia.

La concentrazione di tracciante $[6\text{-}^3\text{H}]\text{glucosio}$ risulta significativamente diversa tra soggetti normali e diabetici solo tra il minuto 30 e il minuto 90, mentre non sono state evidenziate differenze significative tra i pasti; anche la combinazione dei due fattori non produce differenze statisticamente significative.

Per la concentrazione di glucosio esogeno valgono le stesse considerazioni compiute per il tracciante orale $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{glucosio}$: la diversità tra soggetti normali e diabetici è evidente per tutta la durata del pasto ed esistono anche differenze significative tra i vari pasti, all'inizio

dell'esperimento (anche se ristrette ai primi 5 minuti); invece considerando contemporaneamente i due fattori di variabilità non risultano differenze statisticamente rilevanti.

Come nel caso del tracciante $[6,6-^2\text{H}_2]$ glucosio, anche le concentrazioni di glucosio esogeno risultano statisticamente differenti tra soggetti normali e diabetici, per tutta la durata dell'esperimento; non sono state invece trovate differenze statisticamente significative tra i vari pasti, nemmeno considerando la combinazione con la presenza o meno del diabete di tipo 1.

8.3.3 Flussi postprandiali di glucosio

La produzione endogena di glucosio non sembra differire significativamente tra le due tipologie di soggetti, né tantomeno tra i vari pasti; anche considerando contemporaneamente i due fattori non emergono differenze statisticamente significative. Ciò è abbastanza inusuale, dal momento che sia la concentrazione di tracciante $[6,6-^2\text{H}_2]$ glucosio, utilizzata per il calcolo di EGP, che la concentrazioni di glucosio endogeno risultano differenti in misura rilevante tra soggetti normali e diabetici.

Le considerazioni fatte per EGP valgono sia per le stime ottenute tramite il modello di Steele che per quelle ottenute tramite il modello di Radziuk.

Le velocità di comparsa del glucosio (sia quella stimata tramite il modello monocompartimentale che quella stimata tramite il modello bicompartimentale) risultano statisticamente diverse tra soggetti normali e diabetici dal minuto 20 al minuto 240, mentre la concentrazione di tracciante orale $[1-^{13}\text{C}]$ glucosio risultava diversa a partire dal minuto 60 fino alla fine dell'esperimento. Ancora una volta, non esistono differenze statisticamente rilevanti tra i vari pasti, neppure considerando l'interazione con il diabete.

R_d risulta diversa in misura statisticamente significativa tra soggetti normali e diabetici dal minuto 20 in poi (fino al termine dell'esperimento), mentre non risultano esserci differenze tra i vari pasti; anche considerando contemporaneamente la presenza o meno della malattia non vengono evidenziate diversità statisticamente rilevanti.

8.3.4 Sensibilità insulinica

L'analisi della varianza effettuata sui valori dell'indice di sensibilità insulinica stimato tramite il modello minimo del glucosio non evidenzia differenze statisticamente significative tra soggetti normali e diabetici, né tra i vari pasti. La combinazione dei due fattori (presenza o meno della patologia e diversità del pasto) produce invece una differenza più evidente, ma non statisticamente rilevante ($p \sim 0.1$).

In Fig. 8.62 sono posti a confronto i valori della sensibilità insulinica nei tre pasti, nei soggetti normali (in blu) e nei soggetti diabetici (in rosso); i valori riportati sono quelli ottenuti dal modello minimo orale del glucosio con stima di R_a .

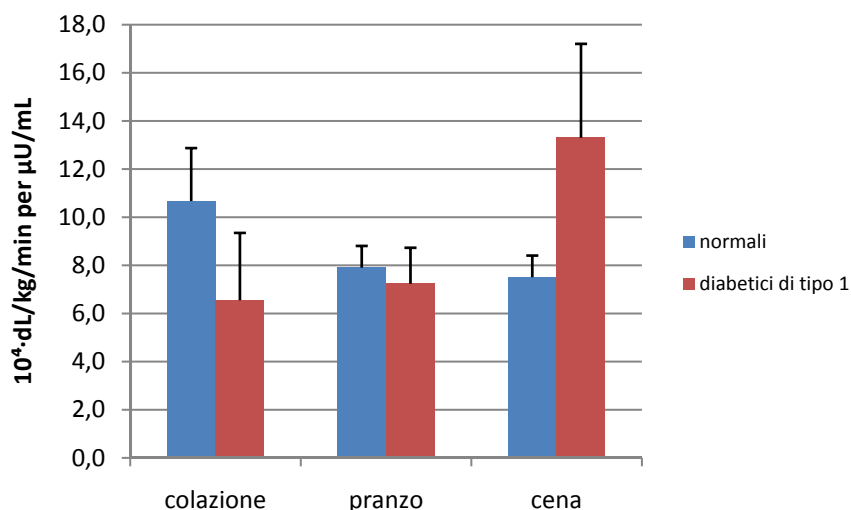


Fig. 8.62: Confronto tra i valori medi di SI dei soggetti normali e diabetici nei tre pasti.

8.3.5 Modello dell'assorbimento del glucosio

Per quanto riguarda le stime dei parametri del modello dell'assorbimento del glucosio, l'analisi della varianza non ha evidenziato differenze statisticamente rilevanti tra soggetti normali e diabetici, nonostante valori di R_a stimati con i modelli di Steele e Radziuk risultino invece statisticamente differenti tra le due tipologie di soggetti.

L'unico parametro che presenta variazioni significative tra i pasti è k_{\min} , mentre gli altri parametri non risultano variare in modo significativo tra un pasto e l'altro. Invece effettuando il confronto tra le stime dei parametri relative ai vari pasti e considerando l'interazione con il diabete non emergono differenze statisticamente rilevanti, nemmeno in k_{\min} .

CAPITOLO 9

CONCLUSIONI

9.1 Conclusioni

Lo scopo di questo compiuto è lo studio della variabilità giornaliera del metabolismo del glucosio, in soggetti sani e in soggetti diabetici insulino-dipendenti; gli esperimenti e la successiva fase di elaborazione dei dati sono stati realizzati utilizzando dati relativi a 26 soggetti, dei quali 14 erano sani e 12 affetti da diabete di tipo 1.

I soggetti in questione sono stati sottoposti, nei tre pasti principali della giornata (colazione, pranzo e cena), ad un protocollo meal con triplo tracciante. I dati rilevati hanno permesso di ottenere stime modello-indipendenti dei flussi di glucosio R_a , EGP e R_d e sono stati utilizzati inoltre per l'identificazione del modello minimo del glucosio (con R_a nota e incognita) e del modello dell'assorbimento del glucosio. Infine è stata effettuata un'analisi statistica mediante test di ipotesi sui dati a disposizione, sulle concentrazioni dei traccianti e sulle stime dei parametri dei modelli.

L'identificazione del modello con stima di R_a del glucosio ha fornito una buona predizione rispetto ai dati a disposizione e stime dei parametri fisiologiche e precise sulla quasi totalità dei soggetti, con qualche leggera difficoltà nei soggetti diabetici. Maggiormente problematica è risultata l'identificazione del modello minimo con R_a nota, soprattutto nei soggetti diabetici. Le stime dei parametri sono risultate infatti in numerosi casi poco attendibili.

Sia per quanto riguarda il modello con R_a nota che il modello con stima di R_a è stato comunque evidenziato un netto miglioramento nel momento in cui si sia tenuto conto della non stazionarietà che contraddistingue i soggetti diabetici all'inizio dell'esperimento.

Ottime prestazioni sono state evidenziate dal modello dell'assorbimento del glucosio, che ha fornito predizioni molto buone della velocità di comparsa del glucosio stimata tramite il modello di Steele, con stime dei parametri precise e fisiologiche. Anche l'errore sui dati, stimato a posteriori, ha confermato la bontà del modello, con una deviazione standard massima del 7 % circa rispetto al picco di R_a .

L'analisi statistica sui dati di glucosio, insulina e C-peptide ha evidenziato significative differenze tra soggetti normali e diabetici, com'era logico aspettarsi, differenze riscontrate anche nell'analisi statistica effettuata sulle concentrazioni dei traccianti nel corso dell'esperimento e sulle concentrazioni calcolate di glucosio endogeno e naturale ingerito.

D'altra parte, queste differenze non sono apparse così evidenti analizzando i risultati dei test di ipotesi sui flussi di glucosio stimati (sia con il modello monocompartimentale che bicompartimentale) e sulle stime dei parametri dei modelli identificati. Il flusso che risulta maggiormente diverso (in termini statistici) tra soggetti normali e diabetici è R_d , in particolar modo nel corso delle prime tre ore dell'esperimento; anche R_a risulta differente tra soggetti

normali e diabetici, ma non nella stessa misura di quanto differivano le concentrazioni dei traccianti utilizzati per la sua stima. Le differenze in EGP sono invece limitate agli istanti iniziali dell'esperimento, nonostante gli andamenti temporali delle concentrazioni del tracciante corrispondente ([6,6-²H₂]glucosio) siano molto diverse tra soggetti normali e diabetici.

Considerando sia i soggetti normali che i soggetti diabetici, poche sono le differenze statisticamente rilevanti tra i diversi pasti; le uniche differenze rinvenute riguardano le concentrazioni plasmatiche di tracciante orale [1-¹³C]glucosio e di glucosio naturale esogeno negli istanti iniziali dell'esperimento e la concentrazione di tracciante [6,6-²H₂]glucosio per un intervallo temporale più ampio (fino a mezz'ora dall'inizio dell'esperimento).

Osservando invece le analisi statistiche effettuate sulle stime dei parametri dei modelli identificati, non si nota alcuna differenza rilevante tra soggetti normali e diabetici, sia per quanto riguarda i parametri del modello minimo (in particolare la sensibilità insulinica) che i parametri del modello dell'assorbimento del glucosio. Lo stesso discorso si può fare per il confronto tra i diversi pasti, in seguito al quale non emergono differenze statisticamente rilevanti.

9.2 Sviluppi e prospettive future

Indubbiamente il lavoro va sviluppato e completato identificando anche gli altri tre sotto-modelli che compongono il modello di simulazione descritto nel capitolo 1, i quali descrivono rispettivamente la produzione endogena di glucosio, l'utilizzazione di glucosio e la secrezione di insulina.

Una volta identificati i parametri degli altri sotto-modelli sarà poi possibile effettuare un'analisi statistica per valutare la loro variabilità durante la giornata e tra soggetti normali e diabetici, analogamente a quanto effettuato in questo lavoro per dati, flussi e parametri del modello minimo del glucosio e del modello dell'assorbimento del glucosio.

Il modello minimo del glucosio necessita di un maggiore affinamento, soprattutto quando identificato in soggetti diabetici. In particolare, va tenuto conto dell'incidenza della non stazionarietà delle concentrazioni di glucosio e insulina prima e all'inizio dell'esperimento.

È auspicabile infine che in futuro sia disponibile un database maggiormente numeroso, requisito imprescindibile per rendere maggiormente robusti i risultati dei test di ipotesi.

BIBLIOGRAFIA

- [1] <http://www.diabeteclicktocare.it>
- [2] <http://diabetes.niddk.nih.gov> (National Diabetes Information Clearinghouse)
- [3] <http://www.diabetes.org>
- [4] C.Cobelli, C. Dalla Man, G. Sparacino, L. Magni, G. De Nicolao, B. P. Kovatchev, *Diabetes: models, signals and control*, IEEE Rev Biomed Eng no. 2, pp. 54-96, 2009.
- [5] C. Cobelli, R.Bonadonna, *Bioingegneria dei sistemi metabolici*, Patron Editore, Bologna, 1998.
- [6] <http://www.idf.org> (International Diabetes Federation)
- [7] <http://www.diabetesatlas.org>
- [8] Clarke et al., *Journal of Diabetes Science and Technology* , 2009.
- [9] Bruttomesso et al., *Journal of Diabetes Science and Technology* , 2009.
- [10] C. Dalla Man, R.Rizza, C.Cobelli, *Meal simulation model of the glucose-insulin system*, IEEE Trans Biomed Eng. vol. 54, no. 10, ottobre 2007.
- [11] R. Basu, B. Di Camillo, G. Toffolo, A. Basu, P. Shah, A. Vella, R. Rizza, C.Cobelli, *Use of a novel triple-tracer approach to assess post-prandial glucose metabolism*, Am J Physiol Endocrinol Metab no. 84, pp. 55–69, 2003.
- [12] G. Sparacino, G. Pillonetto, G. De Nicolao, C. Cobelli, *Deconvoluzione per l'analisi di segnali fisiologici in Metodi avanzati di elaborazione di segnali biomedici*, a cura di S. Cerutti e C. Marchesi, Parton Editore, Bologna, pp. 163-188, 2004.
- [13] C. Dalla Man, A. Caumo, C. Cobelli, *The oral glucose minimal model: estimation of insulin sensitivity from a meal test*, IEEE Trans Biomed Eng no. 49, pp. 419–429, 2002.
- [14] J. N. Hunt, J. L. Smith, C. L. Jiang, *Effect of meal volume and energy density on the gastric emptying of carbohydrates*, Gastroenterology, vol. 89, pp. 1326–1330, 1985.
- [15] P. J. Collins, L. A. Houghton, N. W. Read, M. Horowitz, B. E. Chatterton, R. Heddl, J. Dent, *Role of the proximal and distal stomach in mixed solid and liquid meal emptying*, Gut, vol. 32, pp. 615–9, 1991.
- [16] C. Dalla Man, M Camilleri, C.Cobelli, *A system model of oral glucose absorption: validation on gold standard data*, IEEE Trans Biomed Eng. no. 53, 2006.

Ringraziamenti

Ringrazio innanzitutto il mio relatore, il professor Cobelli, per avermi dato la possibilità di lavorare sull'argomento che più mi ha suscitato il mio interesse in questi cinque anni di università.

Mi sento decisamente fortunato ad avere avuto come correlatrice la prof. Dalla Man: a lei va un ringraziamento particolare per la pazienza con la quale mi ha seguito quasi quotidianamente nei sei mesi di gestazione di questo lavoro e soprattutto per avermi fatto raggiungere un nuovo livello di capacità critica e analitica: insomma, mi ha fatto capire cosa significa essere un ingegnere.

Ringrazio i miei genitori per tutto: in particolar modo, per aver finanziato (con non pochi sacrifici) gran parte della mia carriera scolastica, permettendomi di accedere all'università e realizzare un obiettivo che mi ero posto fin da bambino, per il loro supporto quotidiano e per la loro infinita pazienza, perché sicuramente non è stato facile sopportarmi durante le sessioni di esame e soprattutto in questo ultimo periodo.

Grazie ai miei compagni di corso Francesca, Lisa, Marco, Elena, Elisabetta, Francesco e soprattutto Guglielmo, per la loro disponibilità e per aver contribuito a rendere molto più "leggera" le ore di lezione.

Grazie ai miei compari Roby e Fausto, perché mi sono sempre stati vicini e soprattutto durante le sessioni di esami ed il periodo della tesi sono stati fondamentali per ammortizzare nervosismo e stress.