



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**“STIMA DELLA FUNZIONE BETA-CELLULARE IN SOGGETTI SANI
CON DIVERSA TOLLERANZA AL GLUCOSIO”**

Relatore: Dott. Michele Schiavon

Laureando: Francesco Andretta

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

Data di laurea: 27 settembre 2023

Indice

1	Introduzione	1
1.1	Sistema di regolazione glucosio-insulina	1
1.2	Funzione beta cellulare	3
1.3	Diabete mellito di tipo 2 e obesità	4
1.4	Obiettivo della tesi	7
2	Database e protocollo sperimentale	9
2.1	Database	9
2.2	Protocollo sperimentale	9
2.3	Dati	10
3	Metodi	13
3.1	Modello Minimo Orale del C-peptide	13
3.2	Modello Minimo Orale del C-peptide e dell'Insulina	15
3.3	Stima parametrica	17
3.4	Identificazione	19
3.5	Analisi statistica	19
4	Risultati	21
4.1	Identificazione	21
4.2	Analisi statistica	27
5	Conclusioni	29

Sommario

In questa tesi è stata stimata la funzionalità beta-cellulare in soggetti con diversi livelli di tolleranza al glucosio e di peso, a partire da dati di concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide.

Infatti, il diabete e l'obesità, oltre ad essere patologie sempre più diffuse, possono essere collegati tra loro. L'obesità può essere considerata come una forma grave di sovrappeso e consiste in un accumulo eccessivo di massa grassa nel tessuto adiposo. Una conseguenza di tale condizione può essere il diabete di tipo 2, la tipologia più comune: le cellule risultano essere resistenti all'insulina prodotta dall'organismo, causando una condizione di iperglicemia cronica.

In questa tesi il database era composto in tutto da 54 soggetti, suddivisi in tre gruppi: magri sani, obesi sani e obesi con alterati livelli di glicemia a digiuno.

Per poter determinare differenze di funzionalità beta-cellulare tra i gruppi presi in esame, è stato utilizzato il Modello Minimo Orale del C-peptide e Insulina, sfruttando i dati di glucosio plasmatico come input e identificando contemporaneamente sui dati di C-peptide e Insulina.

Infine è stata compiuta anche un'analisi statistica sui parametri chiave stimati dal modello, i quali sono stati confrontati tra loro, in modo tale da comprendere quali fossero le maggiori differenze tra i tre gruppi in esame.

1 Introduzione

1.1 Sistema di regolazione glucosio-insulina

L'organismo umano svolge quotidianamente molte funzioni, le quali richiedono tutte diverse forme di dispendio energetico (energia meccanica per il movimento, energia chimica per la biosintesi delle proteine, ecc.). I diversi tipi di energia necessari allo svolgimento delle funzioni vitali derivano dall'energia chimica contenuta negli alimenti, i quali, una volta digeriti, forniscono le sostanze essenziali al sostentamento dell'organismo [1].

In particolare, il glucosio costituisce la fonte di energia principale del corpo umano e viene assunto principalmente tramite la dieta. Esso viene assorbito dall'intestino ed entra in circolo tramite la vena porta. Tramite il sistema circolatorio il glucosio giunge ai vari organi e tessuti, nei quali svolge la sua funzione principale: fornire energia istantanea alle cellule o essere immagazzinato. A questo scopo agiscono i gluco-trasportatori (GLUT), delle proteine situate sulla membrana cellulare che permettono l'assorbimento del glucosio stesso. Una volta assorbito, una parte di esso viene utilizzata durante la respirazione cellulare per produrre l'adenosintrifosfato (ATP), molecola contenente legami che, in seguito alla loro idrolisi, rilasciano molta energia [2]. I meccanismi di produzione di ATP grazie all'utilizzo di glucosio sono schematizzati nella figura 1.

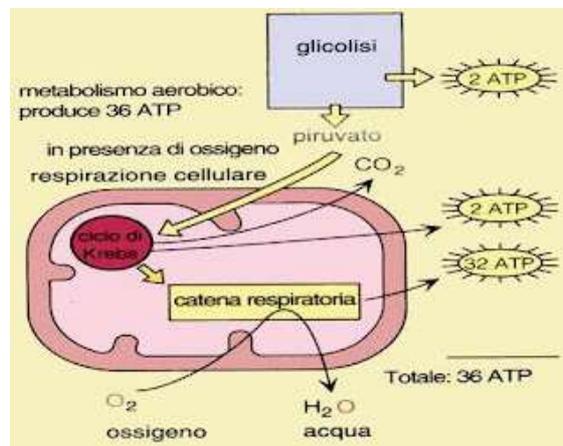


Figura 1: Utilizzo del glucosio durante la respirazione cellulare [3]

Il glucosio rimanente, non utilizzato nell'immediato, viene immagazzinato sotto forma di glicogeno e di grassi che vanno a costituire la riserva energetica.

Il principale utilizzatore di glucosio è il muscolo scheletrico che lo immagazzina sotto forma di glicogeno e lo utilizza in seguito. Anche il fegato assorbe buona parte del glucosio trasformandolo in glicerolo-3-fosfato e acidi grassi che verranno utilizzati in seguito per la sintesi di trigliceridi nel tessuto adiposo. Questa prima fase, in cui il glucosio viene utilizzato sia per dare energia che per

aumentare le riserve energetiche, viene detta fase di assorbimento e dura circa 3-4 ore dopo ogni pasto: nonostante la demolizione istantanea di glucosio, durante l'assorbimento prevale l'anabolismo poiché la maggior parte delle reazioni metaboliche portano alla sintesi di nuove molecole (glicogeno, grassi, ecc.) [1]. In seguito, si passa alla fase di post-assorbimento, il periodo tra un pasto e l'altro in cui gli alimenti sono stati assorbiti e non sono più presenti sostanze nutritive nel tratto gastrointestinale. In questa fase, a differenza della precedente, prevale il catabolismo: infatti il glicogeno e i trigliceridi accumulati in precedenza vengono demoliti per ottenere energia. Durante questa fase è importante mantenere costante il livello di glucosio nel sangue, detto glicemia, (circa 100 mg/dL) poiché le cellule del sistema nervoso centrale utilizzano come principale, se non esclusiva, fonte di energia proprio le molecole di glucosio [1]. Il controllo dei livelli di glucosio nel sangue viene compiuto da insulina e glucagone, ormoni proteici del sistema endocrino prodotti dal pancreas. Essi vengono secreti in continuazione e di conseguenza sono sempre presenti nel sangue. Dato che sono antagonisti tra loro, la predominanza di un ormone sull'altro e, di conseguenza, l'effetto sulla glicemia vengono determinati dal rapporto delle loro concentrazioni nel sangue [2]:

- Nello stato assimilativo, in cui prevalgono processi anabolici, è maggiormente presente l'insulina che ha lo scopo di abbassare la glicemia (funzione ipoglicemica). Infatti, durante la fase di assorbimento, la glicemia inizialmente aumenta e la maggiore concentrazione plasmatica di glucosio stimola la secrezione di insulina. Essa, a livello delle cellule muscolari e degli adipociti, aumenta l'esocitosi di vescicole che contengono il GLUT4, trasportatore che aumenta l'ingresso di glucosio nelle cellule. L'insulina, inoltre, stimola la sintesi di glicogeno e grassi e, allo stesso tempo, inibisce l'attività degli enzimi responsabili della degradazione degli stessi [1]. Il ruolo dell'insulina e dei gluco-trasportatori è illustrato nella figura 2.

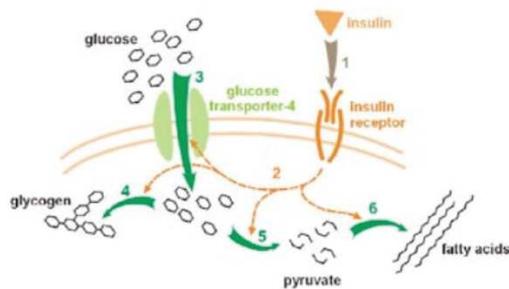


Figura 2: Assorbimento del glucosio per azione dell'insulina e dei gluco-trasportatori [4]

- Il glucagone, invece, è dominante nello stato post-assimilativo poiché viene secreto in seguito ad un abbassamento della glicemia: il suo compito è quello di aumentare i livelli glicemici, l'esatto opposto dell'insulina. Il fegato risulta essere il principale bersaglio del glucagone perché è proprio nel fegato che viene stimolato il rilascio di glucosio attraverso la glicogenolisi e la gluconeogenesi. Come l'insulina, anche il glucagone ha un'azione inibitoria: in questo caso, però, viene inibita la sintesi di proteine e trigliceridi (che veniva stimolata proprio dall'insulina) [1].

1.2 Funzione beta cellulare

Sia l'insulina che il glucagone vengono prodotti dal pancreas, rispettivamente dalle cellule beta e alpha. Questi tipi di cellule costituiscono la principale componente endocrina delle isole di Langerhans (o isole pancreatiche), delle strutture rotondeggianti e ovali che costituiscono circa l'1-2 % dell'intero pancreas. Queste isole contengono diversi tipi di cellule endocrine ma le più numerose sono appunto quelle beta (60-80 %) e quelle alpha (20-30 %) [5].

Le cellule alpha secernono il glucagone, un ormone che induce il rilascio di glucosio da parte del fegato durante i periodi di digiuno (in cui il glucosio non può essere ottenuto dagli alimenti), impedendo che la glicemia scenda al di sotto del livello di soglia (circa 70-80 mg/dL). Invece, le cellule beta secernono l'insulina per impedire l'eccessivo aumento di glicemia in seguito ad un pasto contenente carboidrati, stimolando l'ingresso del glucosio nelle cellule e riducendo la glicemia. In un'isola pancreatica ci sono circa 1000 beta cellule e ciascuna di esse contiene circa 10000 granuli di insulina. La produzione dell'insulina è basata su diversi passaggi: inizialmente viene sintetizzata la pre-insulina la quale viene trasformata in proinsulina che, a sua volta, viene trasformata in insulina separandola dal C-peptide, come si vede nella figura 3. La secrezione di questo peptide e dell'insulina avviene in quantità equimolari tra loro [5].

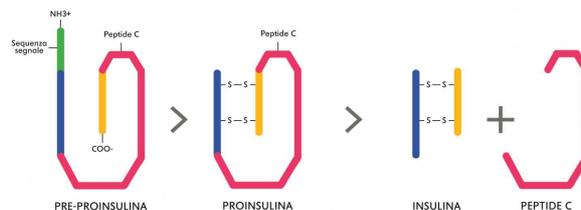


Figura 3: Formazione dell'insulina in seguito all'allontanamento del C-peptide [6]

La normale funzione beta cellulare dipende dall'integrità dei meccanismi di sintesi e rilascio dell'insulina ma anche dalla massa complessiva delle cellule beta. Il regolatore più importante della secrezione insulinemica è proprio il glucosio e, infatti, il suo aumento è il fattore che maggiormente stimola la produzione di

insulina. Il glucosio entra nelle cellule beta per diffusione facilitata (tramite il GLUT2) e, attraverso la glicolisi, viene utilizzato per la produzione di ATP. Il conseguente aumento del rapporto ATP/ADP causa la chiusura dei canali del potassio ATP-dipendenti, causando quindi la depolarizzazione della membrana. In seguito, vengono stimolati l'apertura dei canali del calcio voltaggio-dipendenti e l'ingresso di ioni calcio Ca^{++} . L'aumento della concentrazione interna di ioni calcio causa l'esocitosi delle vescicole che contengono l'insulina [5]. Tutto il processo è descritto dalla figura 4.

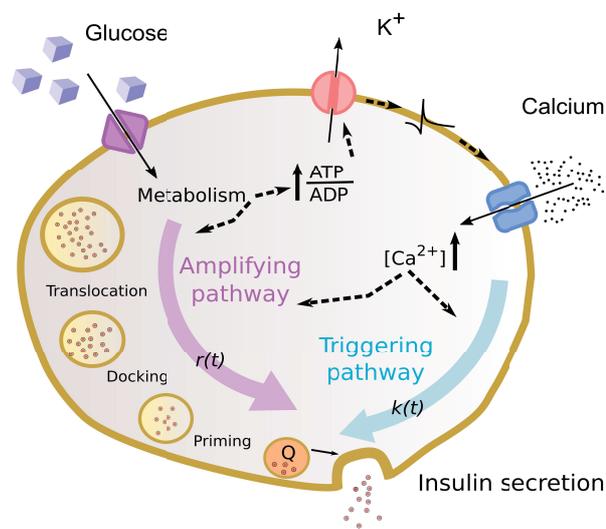


Figura 4: Cellula beta [7]

Dal punto di vista dinamico, il rilascio dell'insulina non è sempre costante: infatti, dopo un aumento improvviso della concentrazione di glucosio nel sangue, la secrezione di insulina è caratterizzata da una prima fase veloce, in cui si svuotano le vescicole che contengono l'insulina già pronta al rilascio, seguita poi da una fase più lenta e prolungata, caratterizzata dallo svuotamento di vescicole di riserva [5].

1.3 Diabete mellito di tipo 2 e obesità

Il diabete è una malattia cronica caratterizzata da elevati livelli di glucosio nel sangue (iperglicemia), dovuti ad una secrezione di insulina inadeguata e/o ad una risposta alterata da parte delle cellule bersaglio nei confronti dell'insulina (cellule insulino-dipendenti) [1]. Le anomalie metaboliche riguardanti il diabete causano diverse complicanze a livello dei vasi sanguigni, della retina, dei reni e del sistema nervoso, tanto che il diabete risulta essere la maggiore causa di cecità, insufficienza renale, infarto, ictus e amputazione degli arti inferiori [1] [8].

Il diabete è una patologia diffusa: infatti, secondo l'International diabetes foundation, nel 2021 si evidenziano a livello globale circa 536,6 milioni di pazienti diabetici, con un numero di decessi legati alla patologia pari a 6,7 milioni, di cui oltre il 32 % ha interessato pazienti under 60. A livello nazionale, in Italia si stimano circa 3,5 milioni di persone che hanno ricevuto una diagnosi di diabete con una maggiore incidenza negli uomini (il 5,3 %, rispetto al 4,1 % delle donne) e nelle fasce di popolazione economicamente svantaggiate [9].

Il diabete racchiude diversi disordini metabolici, tra i quali i più importanti sono senza dubbio il diabete mellito di tipo 1 e quello di tipo 2. In entrambi i casi il risultato è una iperglicemia cronica con diverse conseguenze:

1. Ridotta assunzione ed utilizzazione di glucosio da parte dei tessuti biologici;
2. Aumento della gluconeogenesi e della glicolisi nel fegato con conseguente rilascio elevato di glucosio da parte di esso;
3. Aumentata produzione di glucagone (che aumenta i livelli di glucosio nel sangue) [1].

Il diabete di tipo 1 viene anche detto diabete giovanile poiché generalmente insorge durante l'infanzia o l'adolescenza e rappresenta circa il 10-15 % delle persone affette da diabete. In questo caso il pancreas non produce l'insulina a causa della distruzione delle cellule beta che, quindi, deve essere iniettata per via esogena (generalmente sottocute). Non è nota la causa di questo tipo di diabete, ma una caratteristica comune è la presenza nel sangue di anticorpi che contrastano gli antigeni per la produzione dell'insulina. Per questo motivo il diabete di tipo 1 viene classificato tra le malattie autoimmuni, cioè dovute a una reazione immunitaria. Il diabete di tipo 1 potrebbe essere legato sia a fattori ambientali (come la dieta) che a fattori genetici, attraverso la trasmissione di geni che interessano la risposta immunitaria e causano una sorta di "predisposizione alla malattia" [1].

Il diabete di tipo 2, invece, è la forma di diabete più comune dato che rappresenta circa il 90 % dei casi della malattia. In questo caso il pancreas è ancora in grado di produrre l'insulina, ma le cellule dei vari tessuti non riescono ad utilizzarla efficacemente. Per tale motivo questo tipo di diabete viene detto anche non-insulino-dipendente. Generalmente si manifesta dopo i 30-40 anni e sono stati riconosciuti diversi fattori di rischio quali la familiarità per diabete ma anche l'appartenenza a particolari etnie. Per questo tipo di diabete si possono, però, attuare strategie di prevenzione, come uno stile di vita adeguato che consiste in una dieta equilibrata ed esercizio fisico: infatti, il diabete di tipo 2 può essere una conseguenza grave di uno stato di obesità.

Considerata come una forma grave di sovrappeso, l'obesità è una patologia cronica caratterizzata da un accumulo di sostanza grassa nel tessuto adiposo dell'organismo, che risulta essere eccessivo rispetto alla massa magra [10]. Quando le entrate energetiche superano la capacità di contenimento degli adipociti, aumenta il numero degli adipociti stessi (in seguito al differenziamento

dei pre-adipociti). Così facendo il tessuto adiposo perde le sue proprietà: tale disfunzionalità è la causa principale delle patologie che caratterizzano proprio l'obesità ovvero l'aumento dello stato infiammatorio, l'aumento dei lipidi circolanti e la riduzione della sensibilità all'insulina [1]. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, dal 1975 l'obesità è triplicata nel mondo ed è diventata tra i problemi di salute più frequenti. In Italia il 35 % della popolazione è in sovrappeso mentre l'11 % soffre di obesità [10].

Per valutare l'eccesso di peso ed eventualmente classificarlo, si utilizza principalmente l'indice di massa corporea BMI (Body Mass Index). Esso viene definito come il rapporto tra il peso corporeo e il quadrato dell'altezza (e quindi si misura in Kg/m^2). In base al BMI si può suddividere il peso corporeo in vari gruppi: sottopeso, normopeso, sovrappeso e obesità (che a sua volta si divide in primo, secondo e terzo grado) [11].

Le cause dell'obesità possono essere di diverso tipo e vengono ricondotte a tre principali categorie:

1. Fattori genetici come una predisposizione familiare all'obesità o anche alcune malattie endocrine;
2. Comportamento alimentare errato, ovvero un'alimentazione ricca di grassi e zuccheri che comporta un'eccessiva quantità di calorie;
3. Fattori ambientali e comportamentali come la sedentarietà (la più frequente) ma anche fattori psicologici che, se non gestiti correttamente, possono portare a sfogarsi nel cibo e a mettere su peso (la cosiddetta "fame da ansia") [10].

In casi gravi, in cui le terapie farmacologiche o comportamentali (come la dieta) non sono sufficienti, è necessario ricorrere alla chirurgia bariatrica. Alcuni esempi di questo tipo di chirurgia sono illustrati nella figura 5.

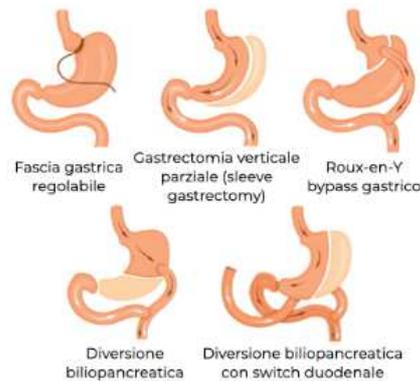


Figura 5: Tipi di chirurgia bariatrica [12]

Il diabete di tipo 2 e l'obesità sono strettamente correlati poiché si ritiene che ci sia un'eccessiva produzione di ormoni da parte del tessuto adiposo che modulano

la risposta delle cellule all'insulina che risultano essere resistenti a quest'ultima. Per questo motivo si riduce il conseguente utilizzo di glucosio da parte delle cellule dei tessuti insulino-dipendenti [1].

Nella maggior parte dei casi, se non sempre, il diabete di tipo 2 non colpisce all'improvviso bensì passa per una condizione reversibile e non propriamente patologica che può durare anni. Tale condizione viene chiamata alterata glicemia a digiuno o IFG (Impaired Fasting Glucose) e si riscontra quando, in un prelievo i valori di glicemia, rilevati a digiuno da almeno 8 ore, superano eccessivamente i limiti di normalità (100-110 mg/dL) ma rimangono al di sotto dei valori caratteristici dello stato diabetico (126 mg/dL). L'IFG è spesso accompagnata dall'insulino-resistenza e dall'aumento del rischio cardiovascolare e, inoltre, tale condizione può progredire verso il diabete mellito di tipo 2, motivo per cui l'IFG viene comunemente chiamato anche pre-diabete. Nonostante ciò, il passaggio dall'IFG al diabete di tipo 2 non è inevitabile, anche se il rischio è comunque abbastanza alto (circa il 50 % dei casi).

All'IFG è spesso associata un'altra condizione, ovvero l'alterata tolleranza al glucosio o IGT (Impaired Glucose Tolerance). Tale condizione può essere diagnosticata in seguito a un test chiamato OGTT o curva da carico orale di glucosio: dopo un digiuno di 8 ore, il paziente ingerisce 75 g di glucosio in 250-300 mL di acqua e, in seguito, viene monitorata la glicemia. In particolare, se dopo circa 2 ore i valori di glicemia sono compresi tra i 140 mg/dL e i 200 mg/dL allora il paziente presenta un'alterata tolleranza al glucosio. Inoltre, se i livelli glicemici a digiuno sono normali o solo leggermente aumentati anche in presenza di IGT allora si tratta di IFG associata a IGT. Le due condizioni, quindi, sono distinte tra loro anche se spesso sono associate l'una all'altra.

1.4 Obiettivo della tesi

In questa tesi l'obiettivo consiste nello stimare la funzionalità delle beta cellule in gruppi di soggetti con caratteristiche diverse, ossia sani magri, sani obesi e obesi IFG a partire da dati di concentrazioni plasmatiche di glucosio, insulina e C-peptide. Per raggiungere tale scopo si utilizzeranno dei modelli matematici di letteratura basati su sistemi di equazioni differenziali che descrivono i processi fisiologici interni di regolazione del sistema di regolazione glucosio-insulina.

In particolare verranno stimati i parametri caratteristici del modello e confrontati i risultati ottenuti tra le varie popolazioni.

2 Database e protocollo sperimentale

2.1 Database

Il database utilizzato in questa tesi è costituito in tutto da 54 soggetti suddivisi in tre gruppi in funzione del peso e della sensibilità al glucosio: magri e sani (18 soggetti), obesi e sani (18 soggetti) e obesi con glucosio alterato a digiuno IFG (16 soggetti). Tutti i soggetti hanno tra i 25 e i 65 anni, non fumano, non hanno subito interventi chirurgici per perdere peso e il loro peso è stabile [13]. I dati demografici del database sono riportati in media (standard deviation, SD) in tabella 1:

	OBESI SANI	OBESI IFG	MAGRI SANI
Età (anni)	42,6 ± 14,8	54,3 ± 5,5	45,7 ± 15,4
BMI (kg/m²)	33,7 ± 4,4	33,5 ± 5,3	24,4 ± 2,0
Altezza (m)	168,7 ± 9,3	167,6 ± 9,2	168,5 ± 8,7
Peso (kg)	96,7 ± 16,3	94,3 ± 16,7	69,5 ± 9,6
LBM (kg)	54,7 ± 13,5	52,7 ± 9,7	50,2 ± 10,0

Tabella 1: Media ± deviazione standard dei dati antropometrici e demografici dei soggetti divisi nei tre gruppi

Il *BMI* rappresenta l'indice di massa corporea, già citato in precedenza, mentre l'*LBM* è la massa magra. In particolare si può notare che i magri sani presentano un BMI inferiore a 25 kg/m², mentre gli obesi (sia sani che col IFG) hanno un BMI nel range 30-45 kg/m².

2.2 Protocollo sperimentale

I dati di questa tesi sono stati presi da uno studio riguardante l'effetto dell'esercizio fisico sulle concentrazioni notturne di glucosio, insulina e C-peptide in gruppi di soggetti con diversa sensibilità al glucosio, come già citato in precedenza.

Inizialmente i soggetti sono stati sottoposti a una fase di test e screening e, in seguito, alla fase di studio vera e propria. Durante i tre giorni precedenti ad un giorno di studio, i soggetti sono stati monitorati sia per quanto riguarda la dieta che durante il sonno.

Durante il giorno di studio, essi hanno consumato dei pasti specifici (con precise kcal e percentuali di macronutrienti) a degli orari prestabiliti: colazione 07:00-08:00, pranzo 12:00-13:00 e cena dalle 18:00. In particolare, i dati utilizzati in questa tesi provengono da quest'ultima in cui i soggetti hanno mangiato un pasto misto corrispondente a 10 kcal/kg di peso corporeo e 1 gram/kg di carboidrati (fino a un massimo di 90 g) e composto da 40 % di carboidrati, 35 % di grassi e 25 % di proteine. Terminata la cena i soggetti sono andati a letto: il sonno è durato dalle 22:00 alle 6:30 ed è stato monitorato. In aggiunta, sebbene

non oggetto di studio in questo lavoro, per ogni soggetto, il protocollo è stato ripetuto in tre occasioni: no esercizio (NOEX), esercizio mattutino (AMEX) ed esercizio la sera (PMEX). Durante un giorno di studio NOEX i soggetti seguono la routine appena descritta e, inoltre, non hanno praticato esercizio fisico per 48 ore prima della notte sottoposta allo studio. Mentre, negli altri due casi, in AMEX i soggetti praticano esercizio fisico (una camminata controllata su tapis roulant della durata di 45 min al 60 % di VO_2 max) dalle ore 07:00 mentre in un giorno di studio PMEX alle ore 20:00 (due ore dopo la cena) e alla stessa intensità. Tra un giorno di studio e l'altro il periodo di wash-out è di almeno tre settimane [13].

2.3 Dati

In questa tesi ci si concentra sulla visita senza esercizio fisico (NOEX), quindi i dati utilizzati riguardano le concentrazioni e i rispettivi andamenti delle concentrazioni plasmatiche di glucosio, C-peptide e insulina dell'esperimento in questione.

In seguito, si riportano i dati relativi alle concentrazioni nell'esperimento NOEX: ogni curva rappresenta la media delle concentrazioni di ciascun gruppo.

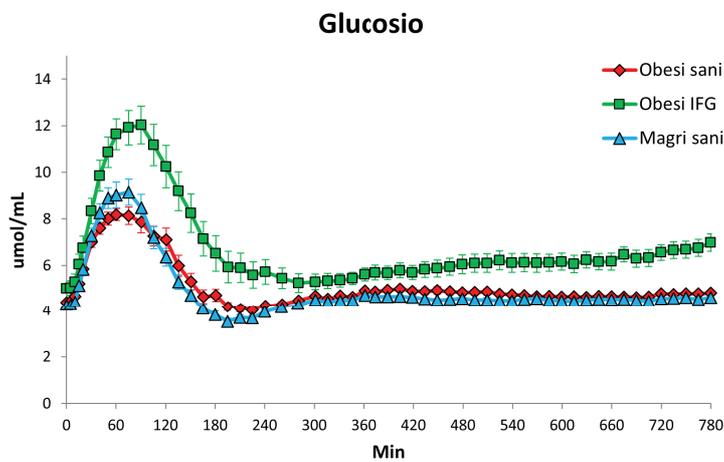


Figura 6: Concentrazione plasmatica di glucosio dei tre gruppi in esame

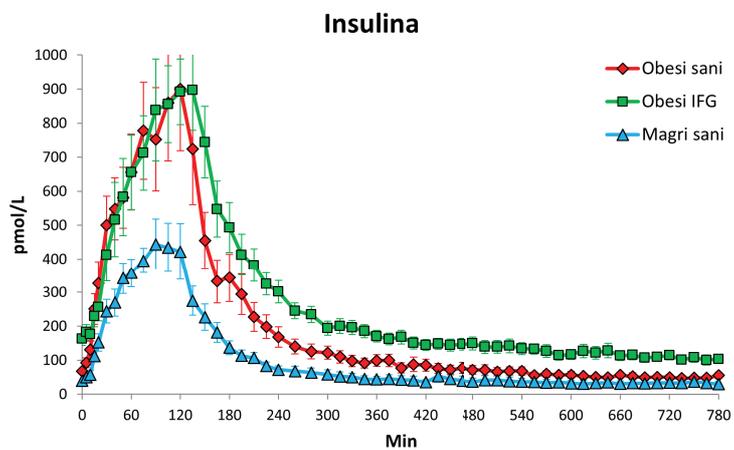


Figura 7: Concentrazione plasmatica di insulina dei tre gruppi in esame

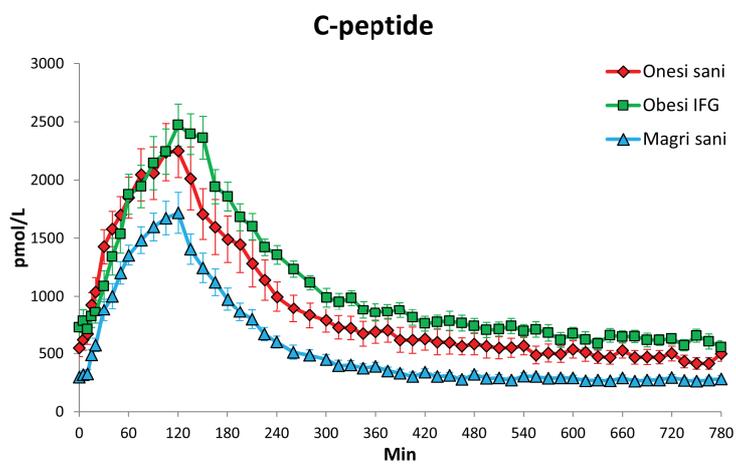


Figura 8: Concentrazione plasmatica di C-peptide dei tre gruppi in esame

3 Metodi

I modelli matematici sono un mezzo importante attraverso il quale si riesce a descrivere processi fisiologici, che possono essere anche molto complessi, utilizzando equazioni matematiche. In questo modo si rende possibile la stima di parametri caratteristici del processo che altrimenti sarebbero difficili da misurare poiché richiederebbero misure più invasive.

In questa tesi, si utilizzeranno modelli che fanno parte di una classe specifica, i modelli compartimentali. Essi sono costituiti appunto da un numero finito di compartimenti, che possono rappresentare una particolare sostanza in diversi distretti anatomici o sostanze differenti nello stesso distretto anatomico, legati tra loro tramite delle interconnessioni. Le interconnessioni rappresentano il trasporto di materia da un compartimento ad un altro e/o una trasformazione chimica che ha come reagenti le sostanze che costituiscono il compartimento di partenza e come prodotti quelle del compartimento di arrivo. Questi modelli sono basati sul principio di massa. Grazie a queste loro proprietà, essi vengono utilizzati spesso in biologia e fisiologia per la descrizione di processi come produzione, distribuzione, trasporto di vari tipi di sostanze (ormoni, proteine, enzimi, ecc.) e interazione substrato-ormone.

In questa tesi, si utilizzerà un modello formato da due parti [14]: il Modello Minimo Orale del C-peptide [15] e il Modello Minimo dell'Insulina [16]. Essi permettono di descrivere la cinetica del C-peptide e dell'insulina, di stimare la loro secrezione da parte delle cellule beta e, per l'insulina, anche l'estrazione.

3.1 Modello Minimo Orale del C-peptide

Il Modello Minimo Orale del C-peptide (OCMM) permette l'interpretazione del C-peptide, fornendo come ingresso i dati di concentrazione di glucosio plasmatico, permettendo quindi la misurazione della secrezione dell'insulina, non direttamente misurabile in vivo. Questo modello permette una quantificazione della responsività al glucosio da parte delle beta cellule [15] [17].

Le equazioni del modello sono:

$$\begin{cases} \dot{CP}_1 = -(k_{01} + k_{21}) \cdot CP_1(t) + k_{12} \cdot CP_2(t) + SR(t) & CP_1(0) = 0 \\ \dot{CP}_2 = -k_{12} \cdot CP_2(t) + k_{21} \cdot CP_1(t) & CP_2(0) = 0 \end{cases} \quad (1)$$

Dove:

- CP_1 e CP_2 indicano le concentrazioni di C-peptide rispetto al livello basale rispettivamente nel compartimento centrale e periferico generalmente misurate in pmol/L;
- k_{12} , k_{21} , k_{01} sono i parametri relativi alla cinetica del C-peptide (espressi in min^{-1}). k_{12} e k_{21} rappresentano gli scambi tra i due compartimenti del C-peptide mentre k_{01} è il tasso di clearance metabolica frazionaria (MCR) del C-peptide;

- SR indica la secrezione pancreatica di C-peptide rispetto al livello basale, normalizzata rispetto al volume di distribuzione del compartimento centrale (misurata in pmol/L/min).

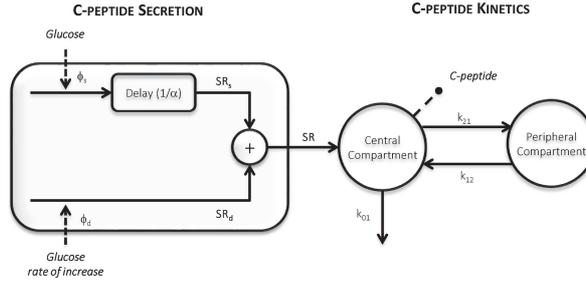


Figura 9: Modello Minimo Orale del C-peptide [17]

Come si può vedere anche dalla figura 9, SR è la somma di due componenti SR_s e SR_d , dove SR_s indica la componente statica e rappresenta la riserva di C-peptide/insulina ed è controllata dalla concentrazione di glucosio. La legge che regola la dinamica di questa componente è:

$$SR_s(t) = Y(t) \quad (2)$$

$$\dot{Y}(t) = -\alpha \cdot [Y(t) - \beta \cdot (G(t) - h)] \quad Y(0) = 0 \quad (3)$$

La velocità di rilascio di C-peptide/insulina è legata alla concentrazione di glucosio e SR_s tende ad uno stato stazionario con una costante di tempo pari a $T = 1/\alpha$ (min). Il parametro β (min^{-1}) lega linearmente questo stato stazionario alla concentrazione di glucosio quando viene superato il livello di soglia h (mg/dL). SR_d , invece, indica la componente dinamica e in particolare la riserva di C-peptide/insulina pronta al rilascio proporzionale alla velocità di incremento del glucosio, dove k_d è la costante di proporzionalità adimensionale. In formule:

$$SR_d(t) = \begin{cases} k_d \cdot \dot{G}(t) , & \dot{G}(t) > 0 \\ 0 , & \dot{G}(t) < 0 \end{cases} \quad (4)$$

Si può notare che tale componente è presente solo per incrementi della concentrazione del glucosio. Dal modello si possono individuare gli indici relativi alla responsività delle beta cellule al glucosio. Essi sono un indice statico (ϕ_s), un dinamico (ϕ_d) e uno basale (ϕ_b):

$$\phi_s = \beta \quad (5)$$

$$\phi_d = k_d \quad (6)$$

$$\phi_b = \frac{SR_b}{G_b} \quad (7)$$

Si può anche trovare un indice della responsività complessiva:

$$\phi = \phi_s + \frac{\phi_d \cdot (G_{max} - G_b)}{\int_0^\infty [G(t) - h] dt} \quad (8)$$

In particolare, i parametri ϕ_s , ϕ_d e T hanno un preciso significato fisiologico. ϕ_s rappresenta la traslocazione e la maturazione dei granuli di insulina, ϕ_d è legato all'esocitosi dell'insulina ad opera delle vescicole e infine T rappresenta il ritardo presente tra lo stimolo di glucosio e la secrezione dell'insulina [17].

3.2 Modello Minimo Orale del C-peptide e dell'Insulina

Il Modello Minimo dell'Insulina (IMM) permette la descrizione della cinetica dell'insulina, avendo come ingresso il profilo di secrezione dell'insulina stessa. Infatti, una volta secreta dalle beta cellule, circa il 50 % dell'insulina secreta viene estratta dal fegato al primo passaggio, successivamente passa alla circolazione periferica dove viene principalmente eliminata tramite i reni e, nuovamente, dal fegato. Quindi, anche se C-peptide e insulina vengono secreti in quantità equimolari, dopo il passaggio attraverso il fegato, il C-peptide rimane invariato mentre solo una parte dell'insulina viene rilasciata nel plasma.

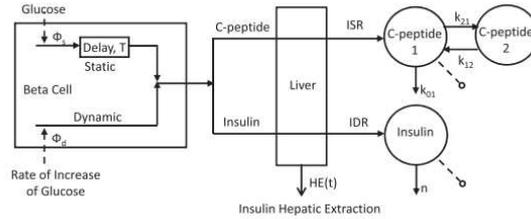


Figura 10: Modello Minimo Orale del C-peptide e dell'Insulina [14]

La misura diretta dell'estrazione epatica (HE) richiede delle misure invasive e, per questa ragione, si utilizza tale modello matematico per la stima parametrica relativa all'estrazione dell'insulina. Il valore dell'estrazione epatica, espresso in percentuale, può essere sia istantaneo (in un preciso istante temporale) che totale:

$$HE(t) = \frac{ISR(t) - IDR(t)}{ISR(t)} = 1 - \frac{IDR(t)}{ISR(t)} \quad (9)$$

$$HE_{tot} = \frac{\int_0^\tau ISR(t) dt - \int_0^\tau IDR(t) dt}{\int_0^\tau ISR(t) dt} \quad (10)$$

Dove:

- τ è il tempo in cui le concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide hanno raggiunto i rispettivi valori finali in seguito alla perturbazione;

- $ISR(t)$ indica il tasso di secrezione pancreatica di insulina (misurato in pmol/min). Esso può essere stimato utilizzando il Modello Minimo Orale del C-peptide;
- $IDR(t)$ rappresenta il tasso di rilascio di insulina nel sangue dopo il passaggio attraverso il fegato e la relativa estrazione (misurato anch'esso in pmol/min).

Per stimare IDR è necessario introdurre il Modello Minimo dell'Insulina, che viene integrato al Modello Minimo Orale del C-peptide. Il Modello Minimo dell'Insulina descrive la cinetica dell'insulina e la sua estrazione, integrando i parametri HE e IDR . L'input di questo sistema è il flusso di C-peptide/insulina che viene calcolato grazie all'utilizzo dell'OCMM mentre come output si pone la concentrazione plasmatica di insulina. Si può individuare un legame tra IDR e la concentrazione plasmatica di insulina I , misurata in pmol/L:

$$\dot{I}(t) = -n \cdot I(t) + \frac{IDR(t)}{V_I} \quad I(0) = I_b \quad (11)$$

Dove:

- n è la costante frazionaria di eliminazione post-epatica dell'insulina e si misura in min^{-1} ;
- V_I rappresenta il volume di distribuzione dell'insulina, misurato in L;
- I_b è la concentrazione basale di insulina (in pmol/L).

Con n e V_I si può calcolare la clearance dell'insulina, misurata in L/min:

$$CL = n \cdot V_I \quad (12)$$

Inoltre, usando questa equazione e sostituendo $IDR(t)$ si ottiene un'equazione che lega ISR (input del sistema) e I (output del sistema):

$$\dot{I}(t) = -n \cdot I(t) + ISR(t) \cdot \frac{1 - HE(t)}{V_I} \quad I(0) = I_b \quad (13)$$

In questo caso l'estrazione epatica $HE(t)$ viene descritta tramite una funzione lineare a tratti in un numero finito di istanti (ovvero punti di spezzamento):

$$HE(t) = \begin{cases} HE_{i-1} + \frac{HE_i - HE_{i-1}}{t_i - t_{i-1}} \cdot (t_i - t_{i-1}), & t_{i-1} \leq t \leq t_i \\ HE_0 = HE_b, & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (14)$$

In questa tesi gli istanti di spezzamento sono posti a 15, 45, 90, 150, 210 e 420 minuti e HE_i sono i parametri da stimare che rappresentano i valori di $HE(t)$ in tali istanti. Invece, il termine HE_b rappresenta l'estrazione epatica di insulina a livello basale, funzione di ISR_b e IDR_b , i livelli basali di ISR e IDR . Il primo può essere determinato dal Modello Minimo Orale del C-peptide, il secondo a

partire dai parametri n , V_I e I_b ricavabili dal Modello Minimo dell'Insulina. In formule HE_b si ricava così:

$$HE_b = \frac{ISR_b - IDR_b}{ISR_b} = 1 - \frac{I_b \cdot n \cdot V_I}{ISR_b} \quad (15)$$

[18]

3.3 Stima parametrica

Una volta valutata l'identificabilità a priori dei modelli precedentemente descritti, riportata in [15] [16], in questa sezione viene descritta la stima dei parametri tramite esperimenti input-output: essi consistono nell'osservazione del comportamento del sistema e della sua risposta in seguito a diverse perturbazioni del sistema stesso.

Innanzitutto, si definisce un vettore $\mathbf{p} = [p_1, p_2, \dots, p_n]^T$ costituito da tutti i parametri incogniti. L'obiettivo è trovare i valori di questi parametri affinché la risposta del modello all'input sia il più vicino possibile all'output che viene misurato.

Idealmente la risposta del modello, o predizione del modello, $g(t, \mathbf{p})$ e il segnale misurato $y(t)$ in uscita dal sistema coincidono:

$$y(t) = g(t, \mathbf{p}) \quad (16)$$

Però, l'output è rappresentato da N campioni discreti z_k che sono affetti da un errore di misura v_k . Quindi, la k -esima misura si può esprimere come:

$$z_k = y(t_k) + v_k = g(t, \mathbf{p}) + v_k \quad \text{con } k = 1, 2, \dots, N \quad (17)$$

Questo appena introdotto è il caso scalare. L'equazione precedente può essere anche riscritta in forma matriciale con $\mathbf{z} = [z_1, z_2, \dots, z_N]^T$, $\mathbf{G}(\mathbf{p}) = [g(t_1, \mathbf{p}), g(t_2, \mathbf{p}), \dots, g(t_N, \mathbf{p})]$ e $\mathbf{v} = [v_1, v_2, \dots, v_N]^T$:

$$\mathbf{z} = \mathbf{y} + \mathbf{v} = \mathbf{G}(\mathbf{p}) + \mathbf{v} \quad (18)$$

Normalmente l'errore viene assunto con media nulla, deviazione standard nota e campioni di misura non correlati tra loro. In formule:

$$E[v_i] = 0 \quad (19)$$

$$C[v_i, v_j] = 0 \quad \text{per } i \neq j \quad (20)$$

$$Var[v_i] = \sigma_i^2 \quad (21)$$

Su queste basi, si può considerare il vettore degli errori \mathbf{v} come una variabile aleatoria con $f_v(\mathbf{v})$ come funzione di probabilità. Quindi si può definire anche la matrice di covarianza di \mathbf{v} , che servirà in seguito:

$$\Sigma_v = \begin{bmatrix} \sigma_1^2 & & & \\ & \sigma_2^2 & & \\ & & \ddots & \\ & & & \sigma_N^2 \end{bmatrix} \quad (22)$$

Per la stima parametrica in questa tesi è stato utilizzato uno stimatore Bayesiano Massimo a Posteriori (MAP): la sua ipotesi è che il vettore dei parametri \mathbf{p} si comporti come una variabile aleatoria e possa essere stimato sulla base delle informazioni e sui dati sperimentali già noti. Utilizzando questo metodo si stimano i parametri che costituiscono il vettore $\hat{\mathbf{p}}$ come:

$$\hat{\mathbf{p}} = \arg \max_{\mathbf{p}} f_{p|z}(\mathbf{p}|\mathbf{z}) \quad (23)$$

Dove $f_{p|z}(\mathbf{p}|\mathbf{z})$ è la funzione densità di probabilità a posteriori e indica le aspettative sui parametri dopo aver conosciuto i dati tramite gli esperimenti input-output. La formula precedente può essere riscritta come:

$$\hat{\mathbf{p}} = \arg \max_{\mathbf{p}} f_{z|p}(\mathbf{z}|\mathbf{p}) \cdot f_p(\mathbf{p}) \quad (24)$$

grazie all'utilizzo del teorema di Bayes e del fatto che la funzione di densità di probabilità di $z f_z(z)$ non dipende da \mathbf{p} e, quindi può essere trascurata:

$$f_{p|z}(\mathbf{p}|\mathbf{z}) = \frac{f_{z|p}(\mathbf{z}|\mathbf{p}) \cdot f_p(\mathbf{p})}{f_z(z)} \quad (25)$$

Dove:

- $f_p(p)$ è la funzione di probabilità del vettore dei parametri nota a priori e indica le aspettative che si hanno su \mathbf{p} ;
- $f_{z|p}(\mathbf{z}|\mathbf{p})$ è la funzione di probabilità di z conoscendo \mathbf{p} e dipende sia dal modello che dalla funzione di probabilità dell'errore sulla misura.

Inoltre, se \mathbf{p} e \mathbf{v} sono variabili aleatorie con distribuzione gaussiana la stima di \mathbf{p} diventa un problema di ottimizzazione:

$$\hat{\mathbf{p}}_{map} = \arg \min_{\mathbf{p}} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})]^T \Sigma_v^{-1} [\mathbf{z} - \mathbf{G}(\mathbf{p})] + (\mathbf{p} - \mu_p)^T \Sigma_p^{-1} (\mathbf{p} - \mu_p) \quad (26)$$

Dove μ_p e Σ_p sono rispettivamente la media e la matrice di covarianza di \mathbf{p} . Una volta stimati i parametri e ottenuto il vettore $\hat{\mathbf{p}}$ risulta importante determinare quanto è affidabile la stima appena compiuta. A tale scopo si utilizzano la deviazione standard SD o il coefficiente di variazione CV che forniscono il grado di imprecisione dei parametri stimati. Per ciascun elemento di $\hat{\mathbf{p}}$:

$$CV(\hat{p}_i) = \frac{SD(\hat{p}_i)}{\hat{p}_i} \cdot 100 \quad (27)$$

Inoltre, per valutare se il modello è capace di predire correttamente i dati, si possono utilizzare i residui pesati:

$$wr_i = \frac{r_i}{\sigma_i} \quad (28)$$

In conclusione, questo tipo di stimatore rappresenta un compromesso tra informazioni a priori (riguardanti modelli già sviluppati) e a posteriori (in seguito a esperimenti input-output).

3.4 Identificazione

In questa tesi per descrivere la secrezione e la cinetica di C-peptide e insulina è stato utilizzato il Modello Minimo Orale del C-peptide e dell'Insulina. In particolare nel processo di identificazione del modello sono stati stimati i parametri della secrezione del C-peptide (K , α , β e h), dell'estrazione epatica (ossia i punti di spezzamento delle funzione $HE(t)$ descritti in precedenza), della clearance CL dell'insulina e della cinetica del C-peptide (k_{01} , k_{21} e k_{12}). In particolare, i parametri sono stati stimati con una procedura MAP utilizzando l'informazione a priori disponibile per alcuni parametri:

- α : è stata sfruttata l'informazione a priori da letteratura [19];
- k_{01} , k_{12} , k_{21} : è stata sfruttata l'informazione a priori ottenuta dal modello di popolazione Van Cauter [20];
- CL : è stata sfruttata l'informazione a priori ottenuta dal modello di popolazione Campioni [16].

Inoltre, in tutte le identificazioni sono stati calcolati i parametri che indicano la responsività della funzione beta-cellulare (ϕ_b , ϕ_s , ϕ_d) e l'estrazione epatica basale (HE_b) e totale (HE_{tot}).

3.5 Analisi statistica

Tramite il modello introdotto in questo capitolo vengono riportati valori medi \pm deviazioni standard SD e precisione, espressa attraverso il coefficiente di variazione CV (in percentuale).

Per ogni parametro stimato viene fatto un confronto tra i tre gruppi tramite ANOVA (ovvero analisi della varianza) con valore critico posto a 0,05. Nel caso si evincano delle differenze tra i gruppi di uno specifico parametro, la post-hoc analysis viene effettuata mediante il t-test di Student a doppia coda, per analizzare tali differenze e capire tra quali gruppi in particolare sono presenti: anche in questo caso si è scelto il valore critico uguale a 0,05.

4 Risultati

4.1 Identificazione

Come già citato nel precedente capitolo, sono stati stimati i parametri della secrezione del C-peptide (K , α , β e h), della cinetica del C-peptide (k_{01} , k_{21} e k_{12}), della cinetica dell'insulina (CL) e dell'estrazione epatica (HE). Inoltre, tramite le formule introdotte sempre nel capitolo precedente, sono stati calcolati i parametri relativi alla responsività beta-cellulare (ϕ) e altri parametri relativi all'estrazione epatica. Nella tabella 2, sono riportati i vari parametri (mantenuti fissi, stimati o calcolati) di questa identificazione, con le rispettive deviazioni standard (SD) e precisioni (CV).

	PARAMETRI	OBESI SANI	OBESI IFG	MAGRI SANI
PARAMETRI FISSI	V_c [L]	$4,38 \pm 0,35$	$4,39 \pm 0,37$	$4,06 \pm 0,27$
	V_i [L]	$10,06 \pm 1,42$	$10,10 \pm 1,61$	$8,34 \pm 1,02$
PARAMETRI STIMATI	K [pmol/L/min per mg/dL/min]	$46,04 \pm 28,30$ (13 %)	$17,94 \pm 15,29$ (25 %)	$21,17 \pm 8,53$ (13 %)
	α [min^{-1}]	$0,08 \pm 0,07$ (15 %)	$0,08 \pm 0,06$ (19 %)	$0,06 \pm 0,06$ (16 %)
	β [pmol/L/min per mg/dL]	$1,97 \pm 1,14$ (15 %)	$1,22 \pm 0,68$ (17 %)	$1,24 \pm 0,80$ (17 %)
	h [mg/dL]	$83,27 \pm 7,29$ (1 %)	$98,00 \pm 24,40$ (2 %)	$81,85 \pm 11,45$ (1 %)
	k_{01} [min^{-1}]	$0,06 \pm 0,03$ (12 %)	$0,05 \pm 0,02$ (16 %)	$0,05 \pm 0,03$ (13 %)
	k_{21} [min^{-1}]	$0,06 \pm 0,04$ (34 %)	$0,08 \pm 0,03$ (25 %)	$0,04 \pm 0,03$ (36 %)
	k_{12} [min^{-1}]	$0,04 \pm 0,02$ (18 %)	$0,04 \pm 0,01$ (20 %)	$0,038 \pm 0,02$ (22 %)
	CL [L/min]	$0,69 \pm 0,67$ (20 %)	$0,51 \pm 0,39$ (26 %)	$0,65 \pm 0,49$ (23 %)
PARAMETRI CALCOLATI	ϕ_b [10^{-9}min^{-1}]	$7,10 \pm 5,24$	$7,36 \pm 4,83$	$3,56 \pm 1,84$
	ϕ_d [10^{-9}]	$829,37 \pm 509,77$	$323,10 \pm 275,43$	$381,28 \pm 153,59$
	ϕ_s [10^{-9}min^{-1}]	$35,48 \pm 20,45$	$21,98 \pm 12,27$	$22,24 \pm 14,32$
	ϕ_{tot} [10^{-9}min^{-1}]	$12,69 \pm 7,70$	$10,36 \pm 3,77$	$7,83 \pm 4,18$
	HE_b [%]	$0,73 \pm 0,13$	$0,56 \pm 0,18$	$0,70 \pm 0,23$
	HE_{tot} [%]	$0,51 \pm 0,18$	$0,46 \pm 0,25$	$0,50 \pm 0,20$

Tabella 2: Media \pm SD (CV %) dei parametri relativi ai tre gruppi in esame

In seguito, vengono riportati i grafici degli andamenti medi nei tre gruppi riguardo le concentrazioni di C-peptide e insulina (con i rispettivi dati reali) e riguardo l'estrazione epatica. Inoltre, per dare un'idea dell'aderenza ai dati, si riportano anche i relativi grafici dei residui pesati per C-peptide e insulina.

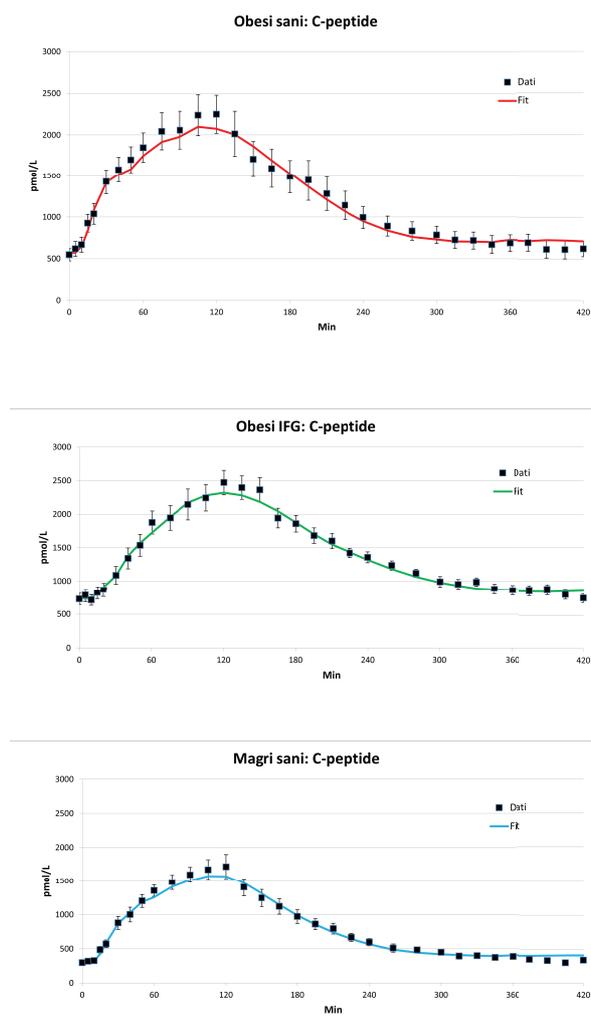


Figura 11: Fit del C-peptide contro i dati delle concentrazioni del C-peptide in ciascuno dei tre gruppi in esame.

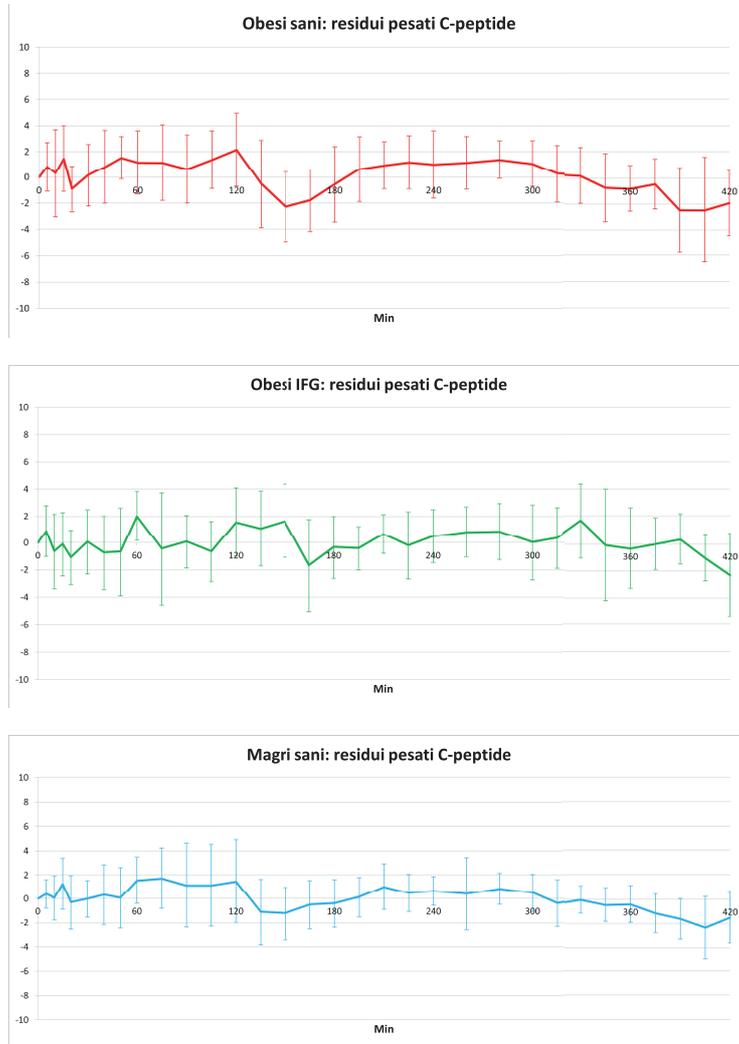


Figura 12: Residui pesati del fit del C-peptide per ciascuno dei tre gruppi in esame. Ciascun campione presenta la rispettiva SD.

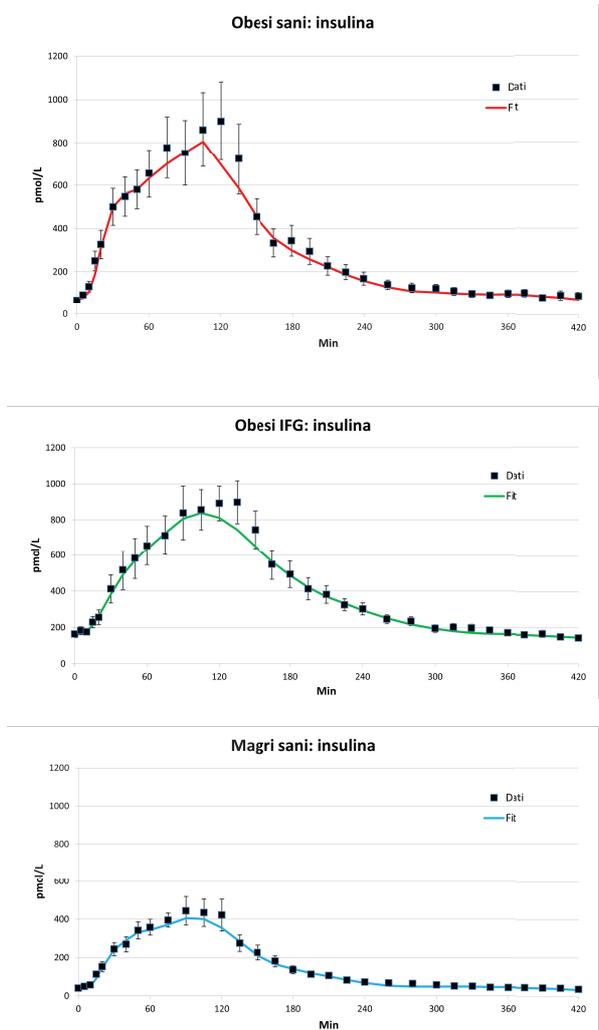


Figura 13: Fit dell'insulina contro i dati delle concentrazioni di insulina in ciascuno dei tre gruppi in esame.

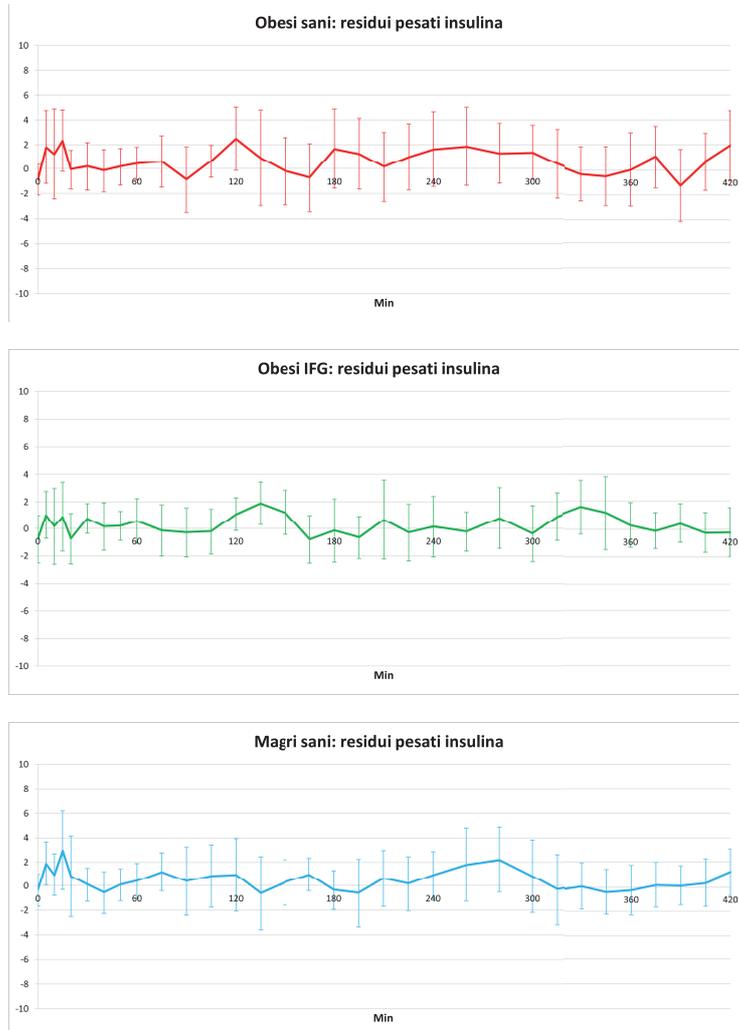


Figura 14: Residui pesati del fit dell'insulina per ciascuno dei tre gruppi in esame. Ciascun campione presenta la rispettiva SD.

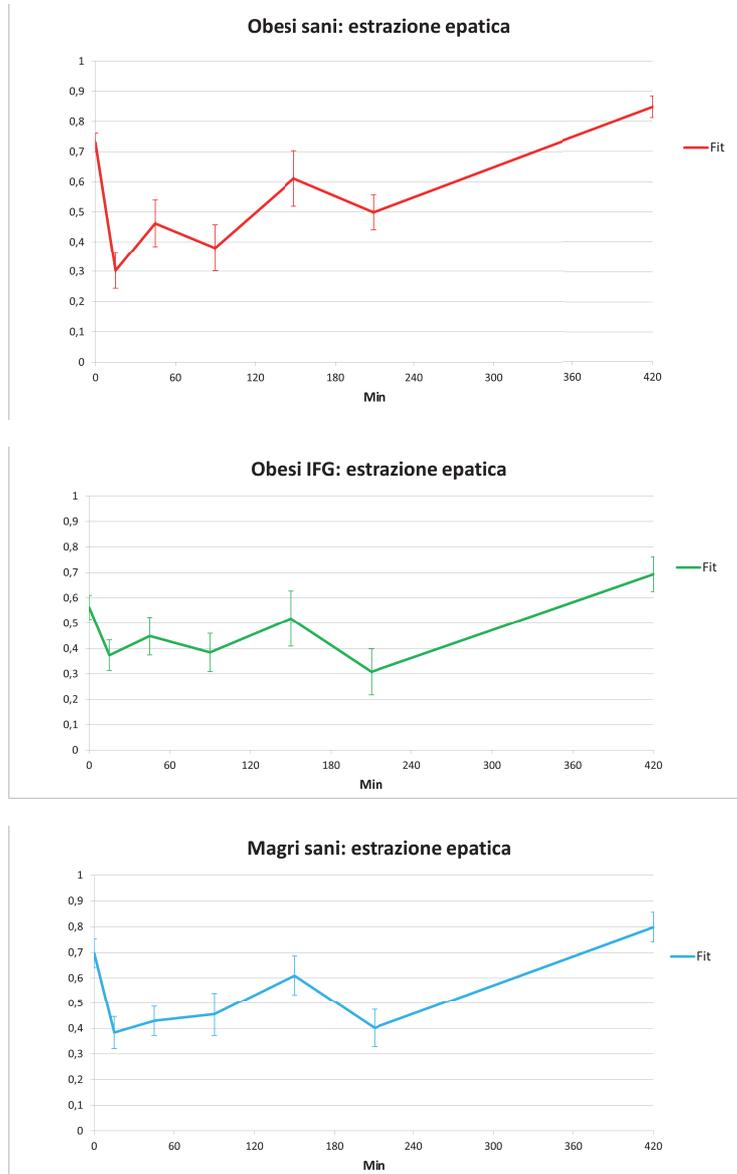


Figura 15: Fit dell'estrazione epatica per ciascuno dei tre gruppi in esame.

4.2 Analisi statistica

L'analisi statistica consiste in un test ANOVA che permette di analizzare se sono presenti differenze significative nei valori di alcuni parametri stimati all'interno dei tre gruppi di interesse.

In particolare, sono stati analizzati:

- k_{01} , k_{21} e k_{12} per la cinetica del C-peptide;
- CL , HE_b e HE_{tot} per la cinetica dell'insulina;
- α , h , ϕ_b , ϕ_d , ϕ_s e ϕ_{tot} per la responsività beta-cellulare.

In seguito, vengono riportate le tabelle 3 e 4 contenenti i p-value associati a ciascun parametro calcolati dal test ANOVA.

ANOVA						
	α	h	k_{01}	k_{21}	k_{12}	CL
p-value	0.5226	0.0112	0.6490	0.0015	0.9819	0.6150

Tabella 3: p-value dei parametri calcolati da ANOVA

ANOVA						
	PHI_b	PHI_d	PHI_s	PHI_{tot}	HE_b	HE_{tot}
p-value	0.0216	0,0002	0.0332	0.0499	0.0372	0.7880

Tabella 4: p-value dei parametri calcolati da ANOVA

In questo caso, quindi, osservando i risultati delle tabelle 3 e 4, il test ANOVA ha evidenziato delle differenze tra i tre gruppi riguardanti i parametri: h , k_{21} , PHI_b , PHI_d , PHI_s , PHI_{tot} e HE_b .

A questo punto è necessario capire quali siano le differenze tra i tre gruppi per tali parametri. Infatti, tramite un test t di Student, sono stati confrontati i gruppi a due a due per ciascun parametro in questione. I risultati del test sono riportati nella tabella 5.

T-TEST			
	obesi sani vs obesi IFG	obesi sani vs magri sani	obesi IFG vs magri sani
h	0,0282	0,6764	0,0205
k_{21}	0,1079	0,0529	0,0001
ϕ_b	0,8873	0,0137	0,0053
ϕ_d	0,0019	0,0016	0,4592
ϕ_s	0,0352	0,0382	0,9557
ϕ_{tot}	0,2997	0,0302	0,0832
HE_b	0,0058	0,6099	0,0790

Tabella 5: p-value dei parametri calcolati dal t-test di Student

I risultati del test evidenziano differenze per i vari parametri:

- h : la differenza è tra gli obesi IFG ed entrambi i gruppi sani (obesi e magri). In particolare, per gli obesi IFG il parametro risulta essere maggiore rispetto agli altri due gruppi, infatti h rappresenta un livello di soglia (in questo caso il livello di glucosio basale) che deve essere superato per la secrezione di insulina e C-peptide;
- k_{21} : la differenza sostanziale è tra gli obesi IFG e i magri sani (i primi presentano un valore maggiore rispetto ai secondi);
- ϕ_b : in questo caso sono i magri sani che differiscono dai gruppi di obesi (sia sani che IFG). I valori del parametro sono maggiori nei gruppi degli obesi rispetto al gruppo dei magri;
- ϕ_d e ϕ_s : la differenza sta sia tra gli obesi sani e gli obesi IFG che tra gli obesi sani e i magri sani;
- ϕ_{tot} : in questo caso differiscono tra loro obesi sani e magri sani (i primi presentano valori maggiori);
- HE_b : la differenza è tra gli obesi sani e IFG. In particolare, i valori sono maggiori per gli obesi sani, indice del fatto che, a parità di secrezione, essi raggiungono livelli di concentrazione di insulina minori rispetto agli IFG.

5 Conclusioni

In questa tesi è stato utilizzato il Modello Minimo Orale del C-peptide e dell'insulina in modo tale da studiare la funzione beta-cellulare in gruppi con caratteristiche diverse. Infatti, lo studio è stato fatto su un database di 54 soggetti divisi in tre gruppi: obesi sani, obesi IFG (pre-diabetici) e magri sani. Sono stati utilizzati i dati relativi alle concentrazioni plasmatiche di glucosio, insulina e C-peptide dei tre gruppi esaminati.

Una volta definito il modello, sono state fatte diverse assunzioni sui parametri che descrivono la cinetica e la secrezione di C-peptide e insulina e l'estrazione epatica dell'insulina: alcuni di essi sono stati mantenuti fissi mentre altri sono stati stimati.

Su tale modello, quindi, si è cercato di determinare quali fossero i parametri che più differivano tra i tre gruppi, attraverso un'analisi statistica. Essa consisteva inizialmente in un test ANOVA (analisi della varianza), grazie al quale sono stati individuati quei parametri che presentavano una differenza statisticamente significativa (p -value $\leq 0,05$) tra i tre gruppi.

In seguito, su questi parametri è stato applicato un t-test di Student per capire tra quali gruppi in particolare ci fossero le differenze emerse tramite l'ANOVA. Una differenza importante è emersa per quanto riguarda il parametro h tra il gruppo obesi IFG e gli altri due gruppi: infatti, i valori dei due gruppi sani si avvicinano mentre quelli dei pre-diabetici sono più elevati (come era ragionevole aspettarsi). Si può concludere che gli obesi IFG presentano un valore di soglia h di secrezione più elevato rispetto agli altri.

Un altro parametro importante da analizzare è ϕ_b : riguardo esso ci sono delle differenze tra il gruppo di magri sani ed entrambi i gruppi di obesi. Questi ultimi presentano dei valori più alti di questo parametro rispetto ai magri: si può concludere, quindi, che la secrezione basale dei magri sani è minore rispetto a quella degli obesi (sia sani che pre-diabetici).

Come per ϕ_b , anche per ϕ_d e ϕ_s si può notare che gli obesi sani presentano valori più alti rispetto ai magri sani.

Infine, si possono fare delle osservazioni anche per il parametro HE_b poiché ci sono delle differenze significative tra i due gruppi di obesi (sani e IFG). In particolare i valori del parametro per gli IFG è maggiore rispetto ai sani: grazie a questo fatto si può concludere che i prediabetici presentano una estrazione epatica basale maggiore rispetto ai soggetti obesi sani.

Riferimenti bibliografici

- [1] V. Taglietti. *Fondamenti di fisiologia generale e integrata*. Edises, 2019.
- [2] D. U. Silverthorn. *Fisiologia umana*. Pearson, 2020.
- [3] La respirazione cellulare. *Ricerche di scienze*, 2007. Available online:<http://ricerchescienze.blogspot.com/2007/09/scambi-gassosi.html>.
- [4] G. Merlini. I trasportatori del glucosio (glut). *Corebo*, 2017. Available online:<https://www.corebosport.com/blog/trasportatori-glucosio-fisiologia>.
- [5] P. Marchetti and F. Campi. Il ruolo delle cellule alpha e delle cellule beta nel diabete mellito di tipo 2. *Rivista della società italiana di medicina generale e delle cure primarie*, 2008. Available online:https://www.simg.it/Riviste/rivista_simg/2008/02_2008/8.pdf.
- [6] L. Montesi. Peptide c: che cos'è e cosa misura. 2017. Available online:<https://www.diabete.com/peptide-c-che-cose-e-che-cosa-misura>.
- [7] E. Grespan. Different mechanism of gip and glp-1 action explain their different therapeutic efficacy in type 2 diabetes. *Metabolism Clinical and Experimental*, 2021.
- [8] A. Loke. Diabetes. *World Health Organization*, 2023. Available online:<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
- [9] E. D'Alessandri. Diabete, dai dati globali a quelli italiani emersi dalla relazione al parlamento 2021. *Farmacia, notizie e informazione*, 2021. Available online:<https://www.farmacianews.it/diabete-dai-dati-globali-a-quelli-italiani-emersi-dalla-relazione-al-parlamento-2021/#:~:text=Stando%20ai%20numeri%20diramati%20dell,ha%20interessato%20pazienti%20under%2060>.
- [10] Gruppo ospedaliero italiano. Obesità. Available online:<https://www.gvmnet.it/patologie/obesita>.
- [11] G. Silecchia and S. Olmi. Chirurgia dell'obesità. *Società italiana di chirurgia endoscopica e nuove tecnologie*, 2019. Available online:<https://siceitalia.com/chirurgia-dellobesita>.
- [12] Vitamina b12 e chirurgia bariatrica. Available online:<https://www.nutra-be.it/vitamina-b12-e-chirurgia-bariatrica>.
- [13] J. Kanaley, J. Porter, N. Winn, G. Lastra, A. Chockalingam, R. Pettit-Mee, G. Petroski, C. Cobelli, M. Schiavon, and E. Parks. Temporal optimization of exercise to lower fasting glucose levels. *The Journal of Physiology*, 2023.

- [14] C. Cobelli, C. Dalla Man, G. Toffolo, R. Basu, A. Vella, and R. Rizza. The oral minimal model method. *Diabetes*, 63:1203–1213, 2014.
- [15] E. Breda, M. K. Cavaghan, G. Toffolo, K. A. S. Polonsky, and C. Cobelli. Oral glucose tolerance test minimal model indexes of β -cell function and insulin sensitivity. 2001.
- [16] M. Campioni, G. Toffolo, R. Basu, R. A. Rizza, and C. Cobelli. Minimal model assessment of hepatic insulin extraction during an oral test from standard insulin kinetic parameters. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297:E941–E948, 2009.
- [17] M. Schiavon, D. Herzig, M. Hepprich, M. Y. Donath, L. Bally, and C. Dalla Man. Model-based assessment of c-peptide secretion and kinetics in post gastric bypass individuals experiencing postprandial hyperinsulinemic hypoglycemia. *Frontiers in Endocrinology*, 2021.
- [18] G. Toffolo, M. Campioni, R. Basu, R. A. Rizza, and C. Cobelli. A minimal model of insulin secretion and kinetics to assess hepatic insulin extraction. *American Journal of Physiology*, 2005.
- [19] E. Breda, G. Toffolo, K. S. Polonsky, and C. Cobelli. Insulin release in impair glucose tolerance. oral minimal model predicts normal sensitivity to glucose but defective response times. *Diabetes*, 51:227–233, 2002.
- [20] E. Van Cauter, F. Mestrez, J. Sturie, and K. S. Polonsky. Estimation of insulin secretion rated from c-peptide levels: comparison of individual and standard kinetic parameters from c-peptide clearance. *Diabetes*, 41:368–377, 1992.