

TESI DI LAUREA

**Modelli della produzione
epatica di glucosio durante
pasto nel prediabete**

Laureanda: Francesca Piccinini

Relatore: Prof. Claudio Cobelli

Correlatore: Prof. Chiara Dalla Man

Corso di Laurea Magistrale in
Bioingegneria

Data di Laurea: 6 dicembre 2010

Anno Accademico: 2010-2011

INDICE

| | |
|--|-----------|
| SOMMARIO | 1 |
| 1. INTRODUZIONE | 3 |
| 1.1 Il sistema di regolazione della glicemia | 3 |
| 1.2 Il diabete | 7 |
| 1.3 Patogenesi del pre-diabete | 11 |
| 1.4 Scopo della tesi | 14 |
| 2. DATA BASE E PROTOCOLLI SPERIMENTALI | 17 |
| 2.1 Data Base | 17 |
| 2.2 Protocollo meal con triplo tracciante | 19 |
| 2.2.1 Stima dei flussi postprandiali di glucosio | 23 |
| 2.2.1.1 Clamp ideale del rapporto tracciante-tracciato | 24 |
| 2.2.1.2 Modello monocompartimentale | 25 |
| 2.2.1.3 Modello bicompartimentale | 28 |
| 2.3 Protocollo clamp euglicemico iperinsulinemico con tracciante | 32 |
| 3. MODELLI | 39 |
| 3.1 Modelli della produzione endogena di glucosio (EGP) | 39 |
| 3.1.1 Modello lineare della soppressione di EGP | 39 |
| 3.1.2 Modello non lineare della soppressione di EGP | 41 |
| 3.2 Modello minimo del glucosio “freddo” | 43 |
| 3.2.1 Modello a un compartimento (1C) | 43 |
| 3.2.2 Modello a due compartimenti (2C) | 44 |
| 3.3 Modello minimo del glucosio con tracciante | 46 |
| 3.3.1 Modello a un compartimento (1C) | 46 |
| 3.3.2 Modello a due compartimenti (2C) | 48 |
| 4. TECNICHE DI IDENTIFICAZIONE | 49 |
| 4.1 Stima parametrica | 49 |
| 4.1.1 Metodo Fisheriano: stimatore ai minimi quadrati pesati | 50 |
| 4.1.2 Metodo Bayesiano: stimatore Maximum a Posteriori (MAP) | 52 |
| 4.2 Identificazione: modelli di EGP | 54 |
| 4.2.1 Modello lineare della soppressione di EGP | 54 |
| 4.2.2 Modello non lineare della soppressione di EGP | 56 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 4.3 | Identificazione: modello minimo del glucosio “freddo” | 56 |
| 4.3.1 | Modello monocompartimentale (1C) | 56 |
| 4.3.2 | Modello bicompartimentale (2C) | 57 |
| 4.4 | Identificazione: modello minimo del glucosio con tracciante | 59 |
| 4.4.1 | Modello monocompartimentale (1C) | 59 |
| 4.4.2 | Modello bicompartimentale (2C) | 59 |
| 5. | RISULTATI | 61 |
| 5.1 | Identificazione | 61 |
| 5.1.1 | Modelli della soppressione di EGP | 61 |
| 5.1.1.1 | Modello lineare della soppressione di EGP | 61 |
| 5.1.1.2 | Modello non lineare della soppressione di EGP | 63 |
| 5.1.1.3 | Modelli della soppressione di EGP: effetto della patologia | 71 |
| 5.1.2 | Modelli minimi del glucosio | 82 |
| 5.1.2.1 | Modello minimo del glucosio “freddo” | 82 |
| 5.1.2.2 | Modello minimo del glucosio con tracciante | 84 |
| 5.1.2.3 | Modelli minimi del glucosio “freddo” e del glucosio con tracciante: effetto della patologia | 87 |
| 5.2 | Confronti e validazione | 102 |
| 5.2.1 | Modello lineare vs. modello non lineare della soppressione di EGP | 102 |
| 5.2.2 | Modelli minimi del glucosio vs. formule di stato stazionario | 105 |
| 5.2.3 | Modelli di EGP vs. modelli minimi del glucosio | 113 |
| 5.3 | Applicazioni | 114 |
| 6. | CONCLUSIONI | 117 |
| | APPENDICE | 119 |
| | BIBLIOGRAFIA | 127 |

SOMMARIO

L'obiettivo di questa tesi è validare un modello della produzione epatica di glucosio (EGP) in seguito ad un pasto proposto recentemente da Dalla Man et al. Questo modello permette la stima degli indici di sensibilità insulinica epatica ed efficacia del glucosio sulla produzione, utili allo studio della fisiopatologia e della patogenesi del diabete.

Sessantadue soggetti normali, diabetici e pre-diabetici sono stati sottoposti a due diversi protocolli sperimentali: un clamp euglicemico iperinsulinemico con tracciante, che è il metodo cosiddetto "gold standard" per la misura della sensibilità insulinica epatica, ed un mixed meal con triplo tracciante. Da quest'ultimo è stato possibile ricavare in modo modello-indipendente i profili di produzione epatica di glucosio. Il modello della soppressione di EGP è stato quindi identificato sui dati così ricavati.

Il modello della soppressione dell'EGP fornisce una buona predizione dei dati, e delle stime degli indici metabolici epatici.

Per validare il suddetto modello, le stime della sensibilità insulinica epatica da esso fornite sono confrontate con quelle ricavate dal clamp, e la correlazione trovata è soddisfacente. Infine il modello proposto è risultato in grado di discriminare i diversi livelli patologici dei soggetti sulla base delle stime dell'indice di sensibilità insulinica epatica.

1. INTRODUZIONE

1.1 Il sistema di regolazione della glicemia

Il sistema di regolazione del glucosio nella circolazione è molto complesso, esso è di grande rilevanza dal punto di vista della fisiologia e patologia: infatti un suo malfunzionamento è la causa del diabete, la più diffusa malattia metabolica, che risulta essere una patologia cronica ad altissima rilevanza socioeconomica.

Il glucosio è un substrato molto importante poiché è la fonte primaria di energia per organi vitali come il sistema nervoso centrale; la sua concentrazione plasmatica viene mantenuta in un range molto circoscritto nell'arco della giornata (come è mostrato in Figura 1.1), è quindi chiara l'importanza della presenza di un sistema di controllo della glicemia.

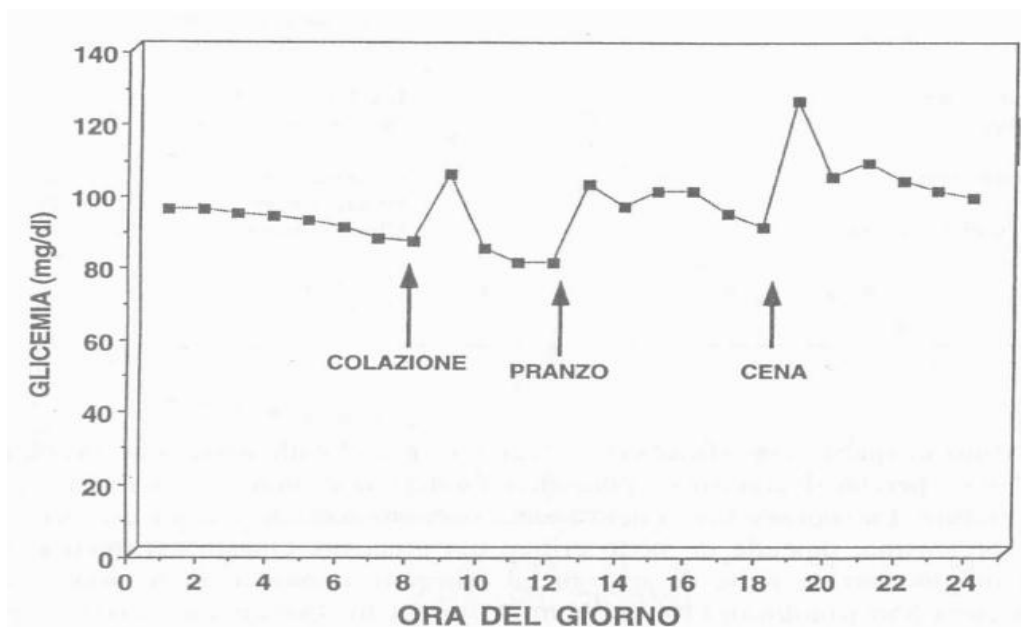


Figura 1.1: Profilo diurno della glicemia in un gruppo di soggetti sani (dati tratti da Reaven et al. 1987).

1. INTRODUZIONE

Per poter comprendere la complessità di tale sistema è necessario descrivere i principali organi coinvolti e i fondamentali meccanismi di regolazione.

Nello stato di digiuno non prolungato l'unica fonte di glucosio in circolo è il fegato, e in piccola parte il rene. Al contrario, durante l'assorbimento di un pasto ricco di carboidrati, l'intestino risulta essere un'altra risorsa di glucosio, in alcuni momenti addirittura preponderante rispetto al fegato.

Dal punto di vista biochimico il metabolismo del glucosio può essere schematizzato come in Figura 1.2. Il livello di glucosio nel sangue è il risultato dell'equilibrio dinamico fra la reazione di defosforilazione del glucosio-6-fosfato a glucosio negli organi produttori di glucosio (fegato e rene) e la fosforilazione del glucosio a glucosio-6-fosfato nelle cellule utilizzatrici di glucosio. I processi atti alla generazione di glucosio-6-fosfato sono la glicogenolisi e la gluconeogenesi, mentre la sua utilizzazione avviene ad opera della glicogeno-sintesi e della glicolisi.

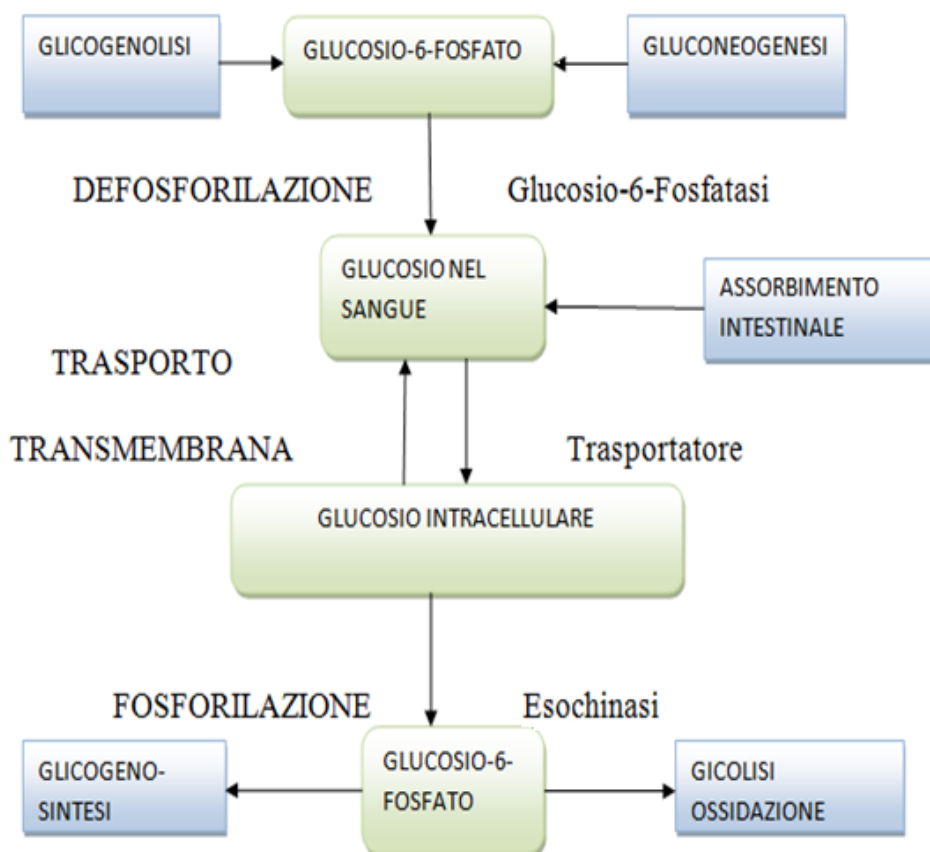


Figura 1.2: Schema delle reazioni e delle vie metaboliche del glucosio.

In Tabella 1.1 vengono classificati gli organi in base al tipo di utilizzazione che essi fanno del glucosio.

| Organo | Classe |
|--------------------------|---------------------|
| Cervello | Glucosio-dipendente |
| Globuli rossi | Glucosio-dipendente |
| Tessuto muscolare | Insulino-dipendente |
| Tessuto adiposo | Insulino-dipendente |
| Pancreas endocrino | Gluco-sensore |
| Fegato | Gluco-sensore |
| Ipotalamo ventro-mediale | Gluco-sensore |
| Intestino | Glucovoro |
| Rene | Glucovoro |

Tabella 1.1: Classificazione degli organi coinvolti nell'omeostasi del glucosio in base alle loro funzioni.

Come si vede cervello e globuli rossi sono organi “glucosio-dipendenti”, per i quali il glucosio risulta quindi essere l'unico substrato utilizzabile. È perciò evidente come una corretta regolazione della glicemia sia fondamentale per la sopravvivenza del sistema nervoso centrale e degli eritrociti, di conseguenza anche dell'intero organismo. L'utilizzazione del glucosio da parte di neuroni e eritrociti in un adulto è di circa 556 $\mu\text{mol}/\text{min}$ (100 mg/min, 150 g/24 h). Tale flusso resta praticamente invariato anche in situazioni di iperglicemia. Al contrario in ipoglicemia, quando cioè la concentrazione di glucosio scende sotto i 65 mg/dl, la quantità di glucosio ricevuta risulta insufficiente per il normale funzionamento dei neuroni [1].

In assenza di assimilazione di carboidrati dal tratto gastro-intestinale la principale fonte di glucosio per il nostro organismo è il fegato. In alcuni periodi della giornata però l'assorbimento del glucosio dall'intestino supera i bisogni di cervello e globuli rossi, e questo surplus di glucosio è metabolizzato da organi che lo utilizzano in modo fasico. Tra questi vi sono il muscolo e il tessuto adiposo che fanno parte della categoria degli “insulino-dipendenti”.

L'insulina ha infatti un ruolo fondamentale nella regolazione della glicemia. Essa è un ormone secreto dalle β -cellule del pancreas endocrino ogni volta che la

glicemia sale sopra un certo livello. Il suo effetto è ipoglicemizzante, ovvero riduce la produzione endogena di glucosio nel fegato e ne stimola l'utilizzazione negli organi "insulino-dipendenti" sopra menzionati, come si vede in Figura 1.3. Nella parte superiore della raffigurazione si vede come il glucosio sia prodotto dal fegato ed utilizzato dai tessuti periferici o dal fegato stesso, mentre nella parte inferiore si mostra come l'insulina, secreta appunto dalle β -cellule pancreatiche, venga poi degradata da fegato e reni.

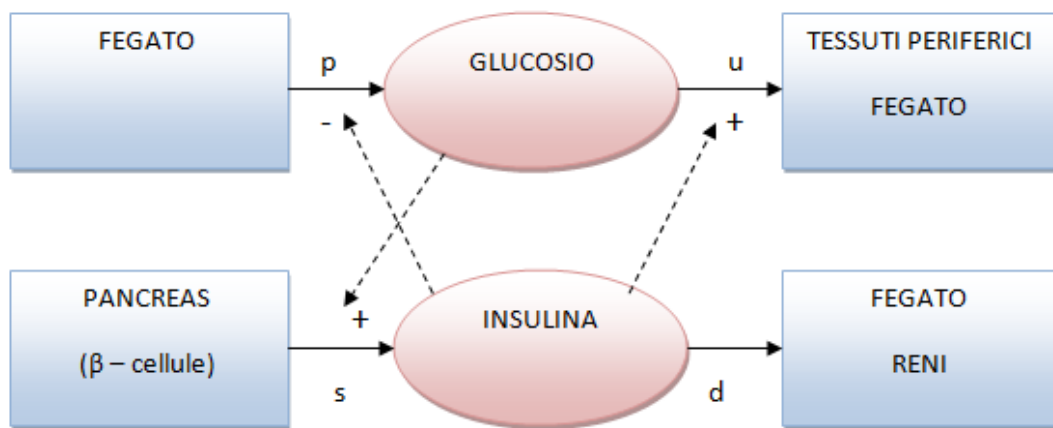


Figura 1.3: Sistema glucosio-insulina

L'insulina controlla i flussi di produzione e utilizzazione del glucosio, il sistema di controllo è quindi ad anello chiuso: cioè il glucosio favorisce la secrezione di insulina da parte delle β -cellule pancreatiche, mentre la stessa insulina, come detto, inibisce la produzione di glucosio da parte dal fegato e stimola la sua utilizzazione nei tessuti periferici (Figura 1.4).



Figura 1.4: Schema del controllo in catena chiusa del sistema glucosio-insulina.

Un altro organo che utilizza l'eccesso fasico di glucosio ingerito è il fegato. Esso è efficiente nella metabolizzazione di fruttosio e galattosio ma non in quella del glucosio della dieta, del quale circa l'80% sfugge al primo passaggio alla circolazione intraepatica e viene reso disponibile all'utilizzazione extraepatica.

Il gruppo di organi "gluco-sensori" è caratterizzato dalla capacità di rilevare il livello di glucosio circolante e mettere in atto un'adatta risposta secretoria. Tra questi vi sono evidentemente le β -cellule che secernono insulina a seguito di un innalzamento della glicemia e ne limitano invece la secrezione in caso di ipoglicemia. Anche il fegato fa parte di questa categoria poiché la sua produzione di glucosio è regolata dalla stessa concentrazione di glucosio (autoregolazione epatica). Infine vi è anche l'ipotalamo, che è in grado di rilevare l'ipoglicemia e organizzare poi la secrezione di ormoni antagonisti l'insulina che hanno effetto iperglicemizzante.

L'ultima categoria di organi che intervengono nel controllo del sistema glicemico è rappresentata dai "glucovori", che mediano l'ingresso (intestino) o il rientro (rene) del glucosio [1].

1.2 Il diabete

Il diabete mellito è una malattia tanto comune da essere considerato una vera e propria patologia sociale. Infatti l'*International Diabetes Federation* (IDF) ha stimato circa 284 milioni di persone affette dal diabete nel 2010 in tutto il pianeta (il che significa circa il 6% dell'intera popolazione mondiale), e secondo un calcolo dell'Organizzazione Mondiale della Sanità questa cifra potrebbe addirittura raddoppiare entro il 2030, come si mostra in Figura 1.5 [2]. Bisogna per altro considerare che questa misura rappresenta in realtà una sottostima del fenomeno, dato che vi è almeno un paziente con diabete non diagnosticato per ogni due pazienti noti [1].

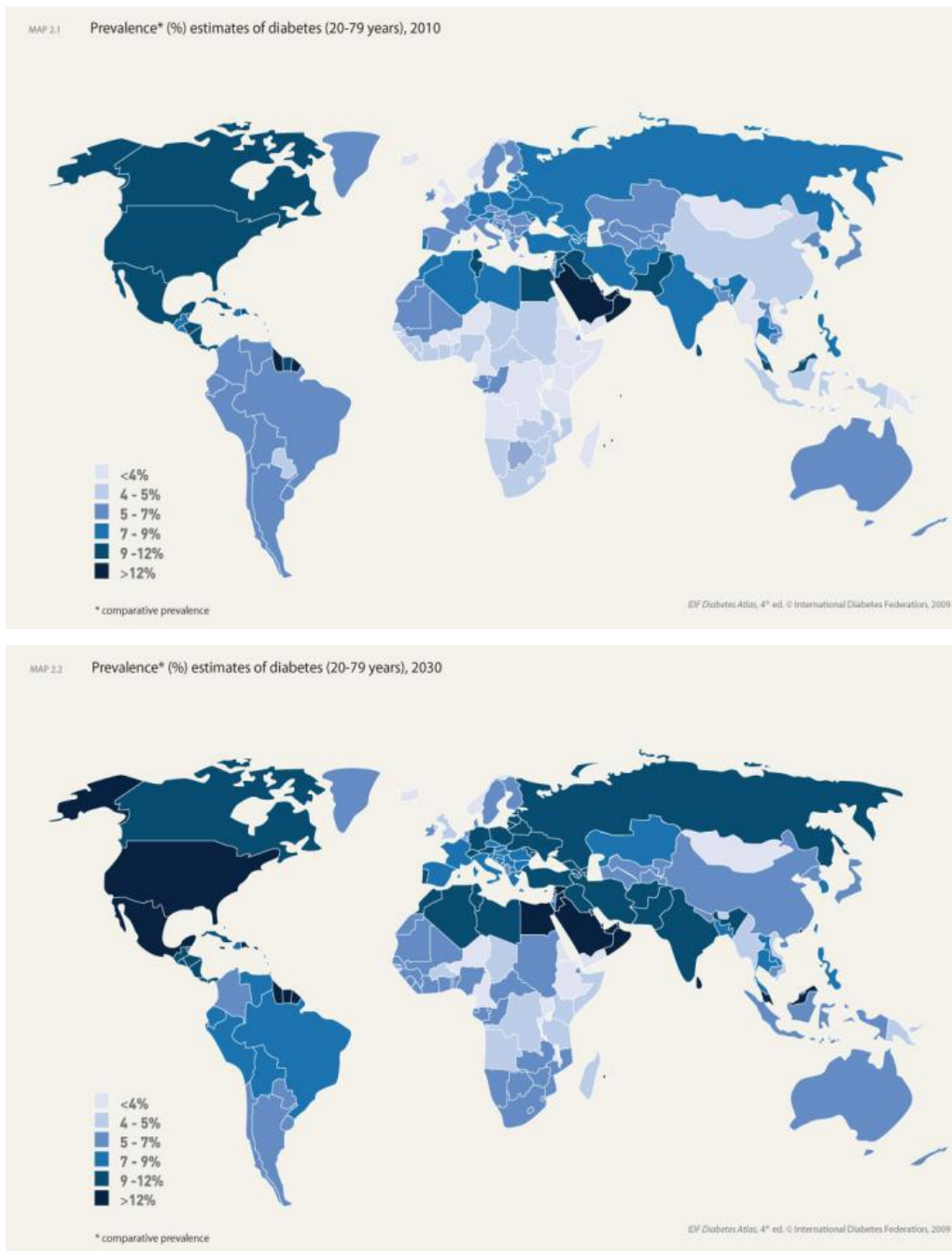


Figura 1.5: Diffusione mondiale del diabete nel 2010 (in alto) e previsione per il 2030 (in basso).

Il diabete consiste in un insieme di disordini eterogenei con degli elementi comuni: iperglicemia e ridotta tolleranza al glucosio dovute alla scarsa presenza di insulina, alla sua azione limitata o entrambe le cause [2]. In base alla sua eziologia e al quadro clinico tale stato patologico può essere di due diversi tipi:

- Diabete di tipo 1 (5-10% del totale): è detto “insulino-dipendente” e si manifesta solitamente nell’età infantile o nei giovani adulti. Esso è dovuto alla distruzione su base auto-immune delle β -cellule pancreatiche che non sono in grado di

secernere insulina se non in misura estremamente ridotta . L'esatto motivo del perché in questi soggetti il sistema immunitario non riconosca più come proprie alcune strutture antigeniche non è stato ancora completamente compreso. Sicuramente esiste una predisposizione di natura genetica, e probabilmente interviene anche un trigger, forse virale, in grado di attivare l'auto-distruzione. Questo difetto di insulina provoca chiaramente iperglicemia (aumento della glicemia oltre i 180 mg/dl) e se non corretto può addirittura sfociare nel coma chetoacidotico [1]. I principali sintomi di tale patologia sono solitamente: sete anormale, frequente urinazione, grande stanchezza, costante fame, improvvisa perdita di peso, visioni confuse, e infezioni ricorrenti [2].

Possibili terapie sono il trapianto di pancreas (effettuato solitamente in soggetti che richiedono un contemporaneo trapianto di rene data la necessità di una terapia immuno-repressiva per evitare il rigetto), il trapianto delle sole isole pancreatiche, ma soprattutto una terapia sostitutiva basata sull'iniezione di analoghi dell'insulina ottenuti tramite l'ingegneria genetica e somministrati per via sottocutanea, che permettono di ottenere diversi profili plasmatici dell'ormone.

Un'altra valida soluzione potrebbe essere l'utilizzo di un pancreas artificiale, ovvero un controllore esterno che realizza un controllo in anello chiuso sul metabolismo del glucosio come mostrato in Figura 1.6. Tale dispositivo richiede il monitoraggio continuo del glucosio e la disponibilità di un micro-infusore di insulina sottocutaneo. Oltre a normalizzare glicemia e insulinemia, dovrebbe essere in grado di tenere conto delle caratteristiche metaboliche individuali e della complessità della vita reale, essere affidabile per lungo tempo e disponibile in versioni portatili e impiantabili.

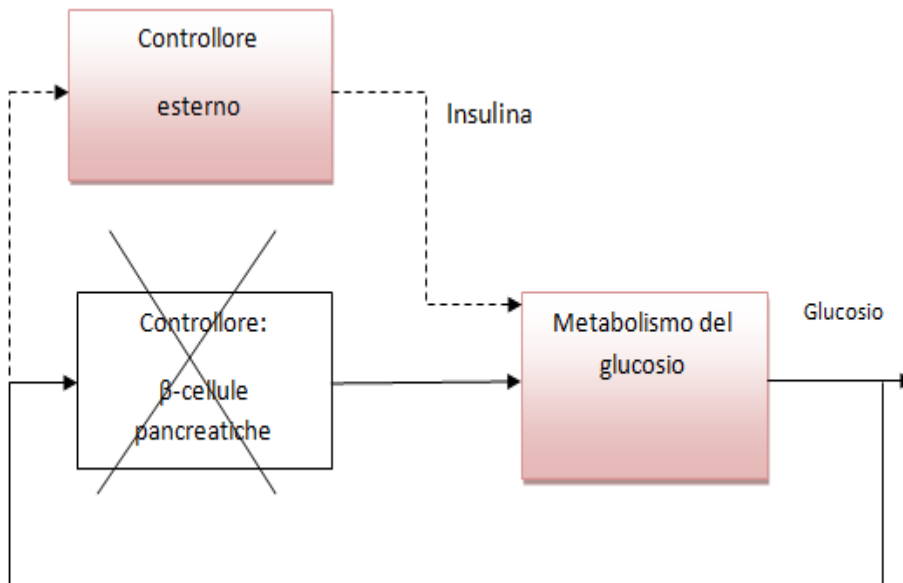


Figura 1.6: Schema di controllo ad anello chiuso del pancreas artificiale.

- Diabete di tipo 2 (90-95% del totale): è detto “insulino-indipendente”, ed è caratterizzato da insulino-resistenza. Infatti al contrario dei diabetici di tipo 1, in questi pazienti è sempre possibile trovare insulina in circolo, l’iperglicemia in tale caso non è quindi da pensarsi come conseguenza di una carenza insulinica assoluta. Vi è comunque sempre un difetto più o meno ampio di secrezione insulinica poiché i valori insulinemici sono inappropriati rispetto a quelli glicemici [1]. Solitamente questo tipo di patologia si manifesta nei soggetti sopra i 40 anni, e può restare asintomatico anche per anni. E’ spesso, ma non sempre, associato all’obesità o comunque allo stile di vita e se ne riconosce una predisposizione genetica [2].

Le terapie di tale genere di patologia possono semplicemente consistere in una modifica della dieta, volta a raggiungere e mantenere un peso corporeo adeguato per evitare le alterazioni metaboliche, magari associata a esercizio fisico che migliora la sensibilità insulinica e favorisce il controllo glicemico; a volte è richiesto anche un trattamento farmacologico a base di farmaci segretagoghi e stimolatori della sensibilità insulinica.

Una fondamentale caratteristica della patologia diabetica è costituita dalle gravi complicanze altamente invalidanti. I pazienti risultano infatti a rischio di mortalità raddoppiato rispetto ai soggetti normali a causa della maggiore possibilità di

contrarre malattie cardio-vascolari che possono portare a infarto, ictus, arteriopatia obliterante agli arti inferiori ed impotenza. La causa di tutti questi problemi sembra essere proprio la cronica iperglicemia del paziente, che tra l'altro può portare anche altre alterazioni come retinopatia e conseguente cecità, nefropatia e neuropatia [1].

E' chiaro dunque che tutti gli aspetti illustrati costituiscono non solo un gravissimo danno alla salute degli individui, ma rappresentano un vero e proprio problema sociale, medico, farmacologico, sperimentale che implica un grande investimento di denaro da parte del sistema sanitario. Quindi sono di grandissima importanza e interesse lo studio e la cura di questa diffusissima patologia.

1.3 Patogenesi del pre-diabete

In molti casi la diagnosi di diabete di tipo 2 è preceduta dal riconoscimento di uno stato di alterazione del meccanismo di controllo del glucosio, detto pre-diabete, caratterizzato da livelli di glucosio nel sangue superiori alla norma, ma non così elevati da determinare il diabete conclamato e da alte concentrazioni di insulina circolanti (insulino-resistenza e iperinsulinemia). Si evince quindi che nel mondo moltissimi soggetti possono essere affetti da pre-diabete senza ancora esserne consapevoli.

Esistono essenzialmente tre tipi di test per capire se l'individuo è affetto da patologia diabetica o pre-diabete:

- valutazione della glicemia a digiuno con un semplice esame del sangue
- determinazione della glicemia plasmatica occasionale
- test di tolleranza al glucosio orale.

I livelli di glucosio misurati in questi test permettono di rilevare se il metabolismo è normale, se vi è una condizione di pre-diabete con alterata glicemia a digiuno (Impaired Fasting Glucose, IFG) e/o ridotta tolleranza al glucosio (Impaired Glucose Tolerance, IGT), o diabete (DM), come si vede in Figura 1.7.

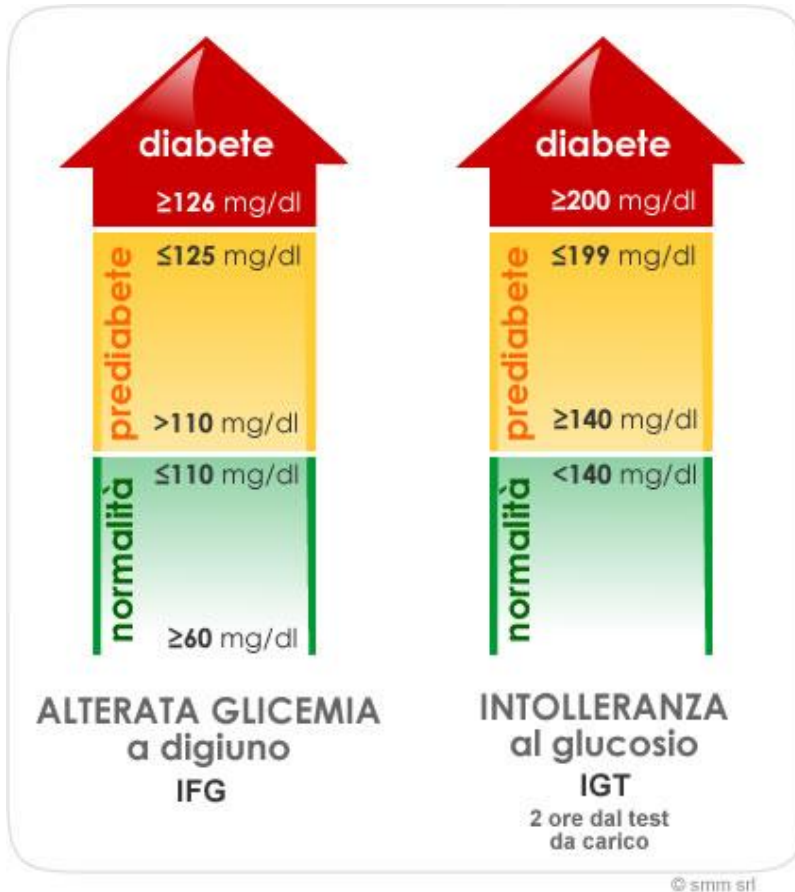


Figura 1.7: Rappresentazione dei livelli di glicemia post-test che determinano normalità, pre-diabete o diabete.

Se la glicemia a digiuno è compresa tra 110 e 126 mg/dl (alterata glicemia a digiuno IFG), è utile fare il test di tolleranza al glucosio orale, che permette di accertare la presenza di ridotta tolleranza glucidica (vi è un'intolleranza al glucosio con glicemia fino a 199 mg/dl dopo 2 ore dal test) o di diabete (se i valori sono maggiori o uguali a 200 mg/dl dopo 2 ore di prova da carico di glucosio) [3].

Gli individui affetti da IFG hanno circa il 20-30% di possibilità di sviluppare il diabete entro i successivi 5-10 anni. Il rischio diventa addirittura superiore se essi presentano contemporaneamente anche IGT; inoltre questi soggetti hanno un elevato pericolo di problemi al sistema cardio-vascolare. Ecco perché anche la patogenesi dell'IFG con o senza IGT ha generato un considerevole interesse [4].

Per comprendere a pieno la patologia del pre-diabete è indispensabile descrivere qui di seguito i principali flussi e meccanismi coinvolti.

La concentrazione di glucosio nel sangue inizia solitamente a crescere quando la velocità di comparsa (Rate of appearance, R_a) del glucosio supera la velocità di

scomparsa (Rate of disappearance, R_d) e continua ad alzarsi finchè queste due non si eguagliano di nuovo. Nello stato di digiuno la R_a del glucosio è determinata dalla percentuale di glucosio rilasciato dal fegato, con anche un piccolo contributo del rene. Questi due processi formano insieme l'EGP (Endogenous Glucose Production). La situazione risulta invece più complessa a seguito dell'assunzione di cibo, quando la R_a del glucosio eguaglia la somma di EGP e della R_a del glucosio ingerito [4].

E' essenziale sottolineare che soggetti con IFG possono essere affetti anche da IGT o diabete, mentre alcuni possono avere NGT (Normal Glucose Tolerance); d'altra parte certi individui con NFG (Normal Fasting Glucose) sono caratterizzati da IGT, quindi è molto importante riuscire a ottenere dei dati in grado di spiegare la regolazione del metabolismo del glucosio post-prandiale nei vari casi [4].

Numerosi studi hanno dimostrato che l'IFG è associata a difetti sia nella secrezione che nell'azione insulinica, entrambi particolarmente evidenti quando IFG è accompagnata da IGT o diabete diagnosticato dal test di tolleranza orale al glucosio. Alcune ricerche si sono occupate della patogenesi dell'iperglicemia a digiuno, caratteristica importante dell'IFG. Molti studiosi hanno capito che, nonostante maggiori concentrazioni di insulina e di glucosio, l'EGP non differisce di molto in individui con IFG rispetto invece a quelli con NFG. Tutto ciò implica la presenza di resistenza insulinica epatica ed è simile alla situazione osservata nei soggetti interessati da diabete di tipo 2, in cui l'EGP risulta eccessiva se considerata alla luce delle concentrazioni di glucosio e insulina. Attualmente l'unico studio che ha valutato l'azione insulinica epatica in soggetti con IFG è quello di Weyer et al., in cui la soppressione dell'EGP durante il clamp euglicemico iperinsulemico è risultata ridotta in giovani soggetti nativi americani e affetti da IFG [5].

L'EGP si correla con la concentrazione di glucosio a digiuno quando persone con NFG e diabete sono incluse nella stessa analisi. Quindi sta prendendo piede l'ipotesi che l'IFG sia causata da un inappropriato aumento percentuale di EGP. Comunque recentemente è stato notato che mentre l'EGP non cambia in soggetti con IFG o NFG nello stato di digiuno nonostante le più elevate concentrazioni di glucosio e insulina, dimostrando resistenza epatica all'insulina, la soppressione dell'EGP è normale a seguito di un pasto misto con associata iperglicemia post-prandiale, il che è interamente giustificato dalla minore utilizzazione post-prandiale di glucosio

dovuta alla ridotta stimolazione del suo uptake da parte dell'insulina. Questo spinge ad indagare sul fatto che, se i soggetti con IFG hanno resistenza insulinica epatica, essa è abbastanza modesta e quindi influisce soprattutto sull'omeostasi del glucosio quando le concentrazioni di insulina sono basse (ad esempio dopo una notte di digiuno), ma non ha un grande impatto sulla tolleranza del glucosio quando l'insulinemia e la glicemia risultano a livelli elevati (ad esempio dopo un pasto). Inoltre se i tessuti periferici sono più insulino-resistenti del fegato, la ridotta stimolazione dell'uptake del glucosio operata dall'insulina potrebbe contribuire all'iperglicemia a digiuno e post-prandiale in soggetti con IFG [5].

Da queste considerazioni si evince una sostanziale eterogeneità nella regolazione del metabolismo del glucosio in individui affetti da IFG e/o IGT, ne seguono quindi molte differenze nella patogenesi del pre-diabete e nel successivo rischio di sviluppare il diabete, ma anche una grande varietà nelle risposte alle terapie farmacologiche atte a prevenire la patologia. Si rende perciò indispensabile e di grande interesse proseguire negli studi delle varie casistiche di forme di pre-diabete per poter capire le modalità di sviluppo di una futura possibile più grave malattia.

1.4 Scopo della tesi

Lo scopo di questa tesi è la validazione del modello della soppressione di EGP proposto recentemente da Dalla Man et al. [7]. Tale modello consente di stimare gli indici metabolici epatici di sensibilità insulinica e efficacia del glucosio, tramite i quali è possibile studiare l'insorgenza della patologia diabetica.

I 62 soggetti (di cui 9 IFG/DM, 16 IFG/IGT, 7 IFG/NGT, 12 NFG/IGT e 18 NFG/NGT) sono stati sottoposti dal *Mayo General Clinical Research Center (GCRC)* di Rochester in Minnesota a due diversi protocolli sperimentali: mixed meal con triplo tracciante e clamp euglicemico iperinsulinemico con tracciante, preceduti da un test di tolleranza orale al glucosio (OGTT) per la classificazione iniziale del grado patologico dei pazienti. Con tecnica modello indipendente è stato possibile ricavare dal protocollo di triplo tracciante i profili di produzione epatica di glucosio; sui dati così ottenuti si può quindi identificare il modello della soppressione di EGP proposto e confrontare le stime di sensibilità insulinica epatica da esso ottenute con i corrispondenti valori ricavati dal clamp euglicemico

iperinsulinemico, che costituisce la tecnica “gold standard” per la misura della sensibilità insulinica.

Infine, sarà possibile testare la capacità del modello di discriminare significativamente i livelli patologici dei soggetti analizzati

Nel capitolo 2 sono illustrati il data base a disposizione e le tecniche sperimentali adottate.

Nel capitolo 3 sono descritti i modelli usati per l’analisi dei dati raccolti.

Nel capitolo 4 sono trattate le tecniche di identificazione utilizzate per i modelli precedentemente presentati.

Nel capitolo 5 sono riportati i risultati.

Nel capitolo 6 vengono riassunte le conclusioni principali dello studio.

2. DATA BASE E PROTOCOLLI SPERIMENTALI

In questa tesi viene usato un data base relativo a degli studi condotti dal *Mayo General Clinical Research Center (GCRC)* di Rochester in Minnesota.

Il primo protocollo utilizza la tecnica del triplo tracciante che consente di avere una stima dei flussi $R_{a\ MEAL}$ e EGP in modo essenzialmente modello indipendente, in quanto si riesce a minimizzare l'errore di stato non stazionario.

Secondariamente viene invece descritta la tecnica del clamp euglicemico-iperinsulinemico con l'utilizzo aggiuntivo di tracciante.

2.1 Data Base

Il data base consiste di 62 soggetti di cui 32 caratterizzati da IFG, e altri 30 NFG, che hanno dato consenso scritto alla loro partecipazione agli esperimenti. Alcuni soggetti sono stati esclusi dal protocollo clamp a causa di nausea dovuta alla somatostatina.

I partecipanti allo studio sono stati selezionati usando il *Mayo Clinic electronic medical record system* per cercare individui che avessero livelli di glucosio a digiuno tra 100 e 126 *mg/dl*, BMI tra 20 e 40 *kg/m²*, età tra i 40 e i 70 anni e che fossero in salute.

Le caratteristiche antropometriche dei soggetti sono riassunte nelle Tabelle 2.1-2.8.

Tutti i soggetti sono Caucasici, in buona salute, con peso stabile e non impegnati in un esercizio fisico regolare e pesante. Al momento dello studio i soggetti non assumevano medicinali eccetto una dose stabile di ormone tiroideo, una piccola dose di aspirina, inibitori dell'idrossimetilglutaril-coa, antidepressivi inibitori selettivi del re-uptake della serotonina, o antipertensivi: tutte sostanze neutre dal punto di vista metabolico [4].

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 52.7 | 170.7 | 86.7 | 29.7 |
| SD | 8.1 | 10.4 | 17.2 | 4.5 |
| SE | 1.0 | 1.3 | 2.2 | 0.6 |

Tabella 2.1: Caratteristiche antropometriche di tutti i soggetti: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 56.7 | 165.3 | 86.7 | 31.7 |
| SD | 7.5 | 8.7 | 13.1 | 4.1 |
| SE | 2.5 | 2.9 | 4.4 | 1.4 |

Tabella 2.2: Caratteristiche antropometriche dei soggetti IFG/DM: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 52.8 | 173.7 | 93.6 | 30.8 |
| SD | 7.5 | 10.3 | 21.9 | 5.5 |
| SE | 1.9 | 2.6 | 5.5 | 1.4 |

Tabella 2.3: Caratteristiche antropometriche dei soggetti IFG/IGT: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 53.6 | 173.9 | 86.7 | 30.4 |
| SD | 8.0 | 13.5 | 21.3 | 4.9 |
| SE | 3.0 | 5.1 | 8.0 | 1.9 |

Tabella 2.4: Caratteristiche antropometriche dei soggetti IFG/NGT: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 53.6 | 172.4 | 86.7 | 29.1 |
| SD | 8.5 | 12.4 | 17.2 | 4.5 |
| SE | 2.4 | 3.6 | 5.0 | 1.3 |

Tabella 2.5: Caratteristiche antropometriche dei soggetti NFG/IGT: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 49.6 | 168.3 | 78.3 | 27.7 |
| SD | 8.2 | 7.6 | 8.8 | 3.1 |
| SE | 1.9 | 1.8 | 2.1 | 0.7 |

Tabella 2.6: Caratteristiche antropometriche dei soggetti NFG/NGT: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 54.1 | 171.4 | 91.44 | 31.0 |
| SD | 7.6 | 11.0 | 19.3 | 4.9 |
| SE | 1.3 | 1.9 | 3.4 | 0.9 |

Tabella 2.7: Caratteristiche antropometriche dei soggetti IFG: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

| | Age (years) | Height (cm) | Body Weight (kg) | BMI (kg/m ²) |
|-------|-------------|--------------|------------------|--------------------------|
| media | 51.2 | 170.0 | 81.7 | 28.3 |
| SD | 8.4 | 9.9 | 13.3 | 3.7 |
| SE | 1.5 | 1.8 | 2.4 | 0.7 |

Tabella 2.8: Caratteristiche antropometriche dei soggetti NFG: media, standard deviation (SD), standard error (SE).

2.2 Protocollo meal con triplo tracciante

I soggetti sono stati studiati in tre diverse occasioni in ordine casuale (le prime due descritte in questo paragrafo, la terza in quello successivo).

Ad ogni soggetto è stata assegnata una dieta di mantenimento del peso, contenente il 55% di carboidrati, 30% di grassi, 15% di proteine per almeno tre giorni prima dell'inizio delle analisi.

La concentrazione di glucosio plasmatico a digiuno è stata misurata dopo una notte di digiuno in due occasioni ad almeno una settimana di distanza. Individui con un livello di glucosio medio a digiuno < 94.1 *mg/dl* o tra 101.3 e 126.7 *mg/dl* sono stati selezionati per lo studio e divisi in NFG o IFG rispettivamente. Soggetti con valori tra 94.1 e 101.3 *mg/dl* sono stati esclusi poiché, nonostante avessero concentrazioni di glucosio in un range normale, precedenti studi hanno mostrato

che questi individui hanno circa l'8% di rischio di contrarre il diabete entro i prossimi 10 anni, e quindi possono rappresentare una prima forma di IFG.

I soggetti scelti sono stati ammessi al *Mayo General Clinical Research Center* in due occasioni successive alle ore 17 della sera prima dello studio, entrambe le volte hanno ricevuto un pasto standard di 10 kcal/kg (55% di carboidrati, 30% di grassi, 15% di proteine) tra le ore 18.30 e le 19 e sono rimasti a digiuno fino al mattino seguente.

1) OGTT

I soggetti hanno ingerito 75 g di glucosio dopo un digiuno notturno di 12 ore. Se dopo due ore dall'assunzione dei carboidrati il glucosio plasmatico era minore di 141.2 mg/dl sono stati classificati come NGT, se compreso tra 141.2 e 200.9 mg/dl come IGT, se invece maggiore di 200.9 mg/dl come diabetici (DM).

2) Mixed meal test

I soggetti hanno ingerito un pasto misto con triplo tracciante.

Una cannula calibro-18 è stata inserita alle 6.00 in una vena dell'avambraccio per l'infusione di tracciante; un'altra cannula dello stesso tipo è stata inserita in modo retrogrado in una vena del dorso della mano nel braccio opposto, la mano è stata posizionata in un ambiente riscaldato (~55° C) per rendere possibile il campionamento del sangue venoso arterializzato.

Alle ore 7 è stato somministrato un bolo di [6,6-²H₂]glucosio (12 mg/kg, necessario a portare rapidamente in equilibrio il tracciante), poi è iniziata un'infusione continua (0.12 mg/kg/min) di [6,6-²H₂]glucosio fino alla fine dello studio.

All'istante t=0 della griglia di campionamento (circa le ore 10) i soggetti hanno ingerito un pasto misto standard in 15 minuti, consistente in 3 uova strapazzate, 55 g di bacon (o 47 g di bistecca) e una gelatina contenente 75 g di glucosio arricchita per il 4% di [1-¹³C]glucosio.

Un'infusione intravenosa del terzo tracciante [6-³H]glucosio è iniziata sempre in t=0 e secondo un profilo che anticipa l'andamento del flusso di comparsa di [1-¹³C]glucosio contenuto nel pasto. Inoltre l'infusione di [6,6-²H₂]glucosio è stata variata in modo da simulare l'evoluzione attesa del flusso EGP [4], come schematizzato in Figura 2.1.

E' importante notare che tutti i profili di infusione sono stati scelti in modo tale da minimizzare l'errore di stato non stazionario nel rapporto tracciante-tracciato (si veda par. 2.2.1) [5].

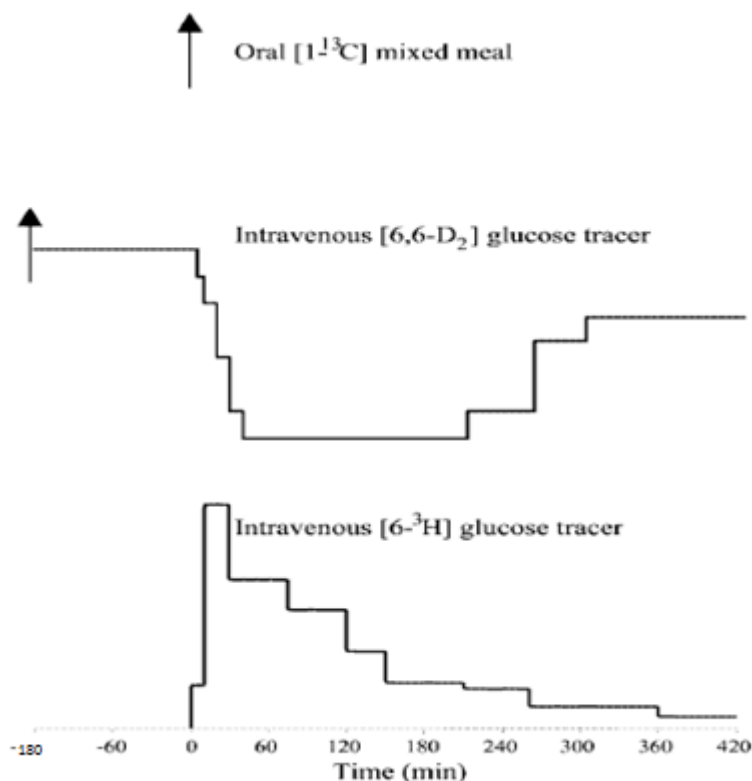


Figura 2.1: Disegno sperimentale. Un pasto misto contenente $[1-^{13}\text{C}]$ glucosio è ingerito al tempo 0 (in alto). Un'infusione "primed" (bolo) e poi continua di $[6,6-^2\text{H}_2]$ glucosio viene somministrata in $t=-180$ min e quindi variata dal tempo 0 per mimare il flusso EGP (al centro). Un'infusione intravenosa di $[6-^3\text{H}]$ glucosio inizia al tempo 0 e quindi varia per mimare la rate of appearance del glucosio ingerito (in basso).

L'inizio delle infusioni segna anche l'avvio del prelievo di sangue dalla vena arterializzata sopra descritta seguendo la griglia di campionamento:

$t = [-30, -20, -10, 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 280, 300, 360]$ min.

I dati a nostra disposizione sono stati ricavati ponendo i campioni plasmatici su ghiaccio, centrifugandoli a 4°C , e conservandoli a -20°C fino al momento della misura delle concentrazioni di interesse: il glucosio è stato ottenuto con il metodo della glucosio ossidasi, l'insulina plasmatica con la chemiluminescenza, il glucagone e il C-peptide tramite radioimmunoanalisi, infine il $[6,6-^2\text{H}_2]$ glucosio e $[1-^{13}\text{C}]$ glucosio sono stati rilevati con cromatografia-spettrometria di massa [4].

Sono mostrati in Figure 2.2-2.5 i grafici relativi agli andamenti temporali medi (totali, per gruppi e sottogruppi) dei dati delle concentrazioni di glucosio e insulina.

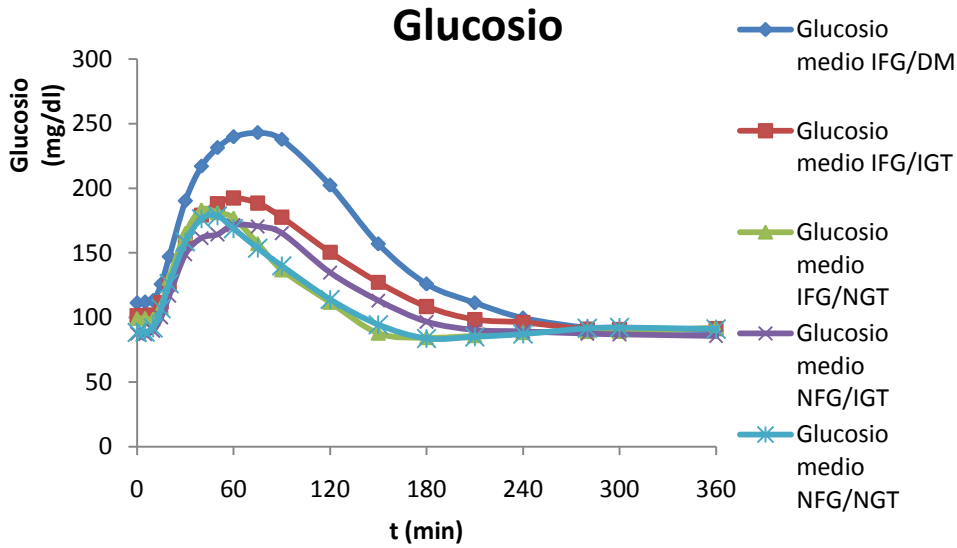


Figura 2.2: Andamento temporale medio della concentrazione di glucosio nei 5 sottogruppi: IFG/DM, IFG/IGT, IFG/NGT, NFG/IGT, NFG/NGT.

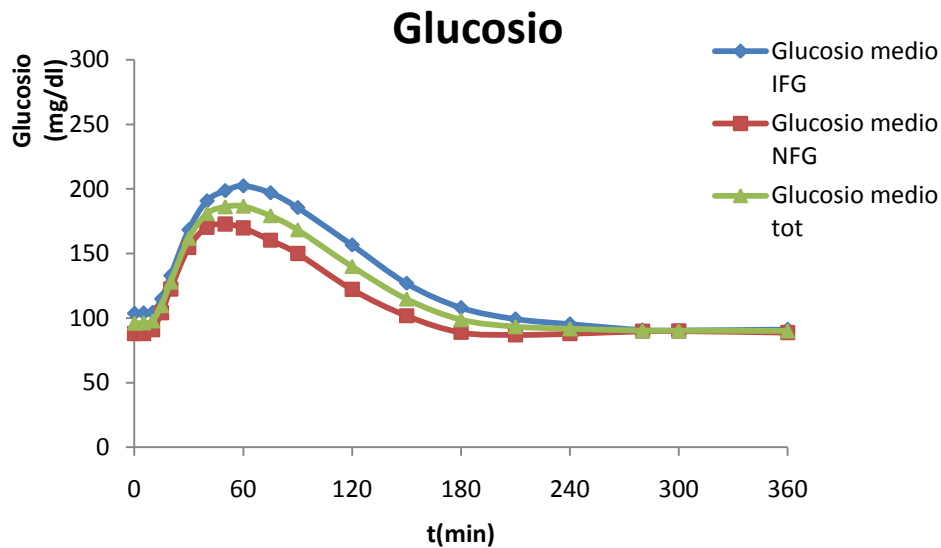


Figura 2.3: Andamento temporale medio della concentrazione di glucosio nei 2 gruppi IFG, NFG, e globale.

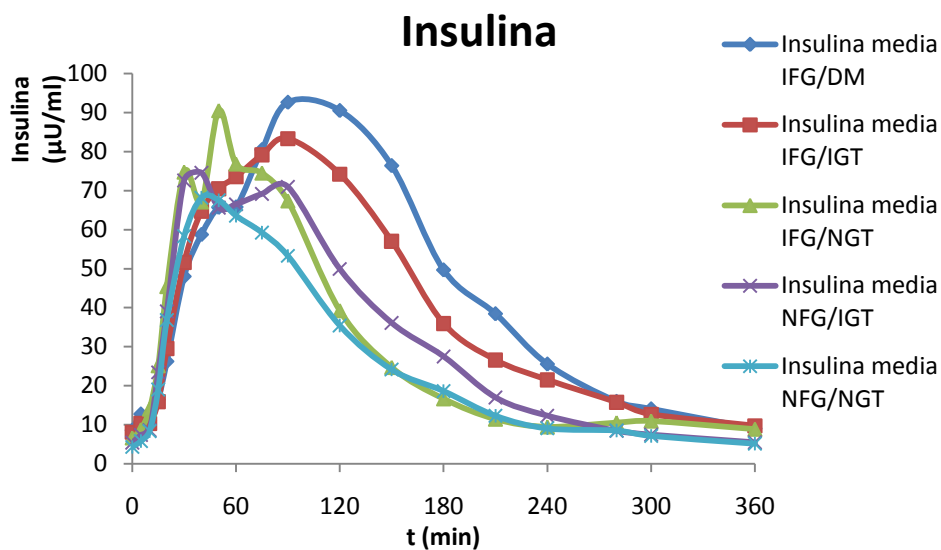


Figura 2.4: Andamento temporale medio della concentrazione di insulina nei 5 sottogruppi: IFG/DM, IFG/IGT, IFG/NGT, NFG/IGT, NFG/NGT.

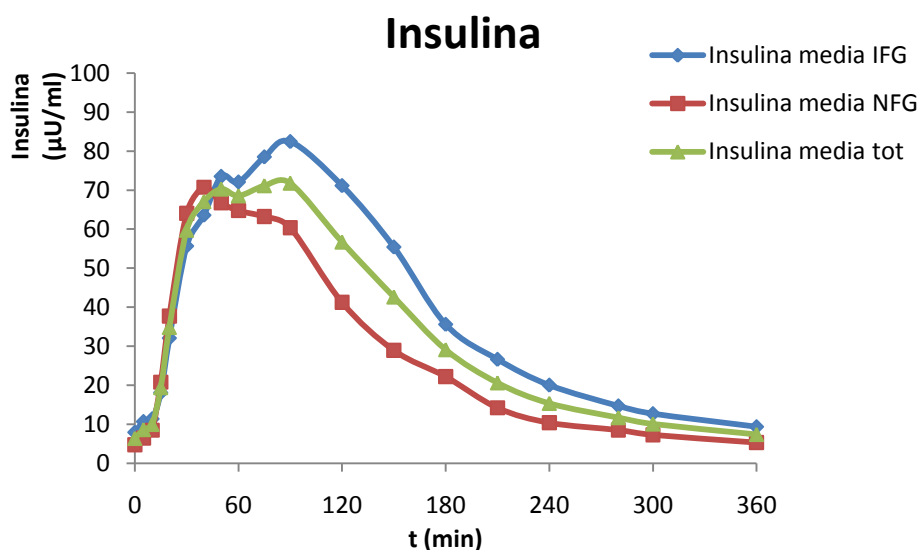


Figura 2.5: Andamento temporale medio della concentrazione di insulina nei 2 gruppi IFG, NFG, e globale.

2.2.1 Stima dei flussi postprandiali di glucosio

Per arrivare alle formule per il calcolo dei flussi, bisogna prima derivare le concentrazioni di glucosio tracciante e tracciato nel plasma dalle misure. Sono necessarie a tale scopo queste definizioni:

Tracce: glucosio di composizione naturale, proveniente da glucosio ingerito e EGP

Tracer^I: tracciante [1-¹³C]glucosio

Tracer^{II}: tracciante [6,6-²H₂]glucosio

Tracer^{III}: tracciante [6-³H]glucosio

G_{nat}: concentrazione di tracciato nel plasma ($\mu\text{mol/ml}$)

G_{13C}: concentrazione di *Tracer^I* nel plasma ($\mu\text{mol/ml}$)

G_{2H}: concentrazione di *Tracer^{II}* nel plasma ($\mu\text{mol/ml}$)

G_{3H}: concentrazione di *Tracer^{III}* nel plasma (dpm/ml)

F_{2H}: infusione intravenosa di *Tracer^{II}* ($\mu\text{mol/kg/min}$)

F_{3H}: infusione intravenosa di *Tracer^{III}* (dpm/kg/min)

G: concentrazione di glucosio plasmatico nei campioni di sangue venoso arterializzato della mano ($\mu\text{mol/ml}$)

Teoricamente dovrebbe esserci un clamp perfetto del rapporto tracciante-tracciato z (ovvero z costante), nella realtà però questo non avviene, e risulta quindi necessario l'utilizzo di modelli per compensare l'errore di stato non stazionario.

2.2.1.1 Clamp ideale del rapporto tracciante-tracciato

Assumendo un clamp perfetto del rapporto tracciante-tracciato plasmatico (quindi senza variazioni nel rapporto tra G_{3H} e G_{13C}), $R_{a\ 13C}$ eguaglia l'infusione di [6-³H]glucosio tracciante divisa per il rapporto tracciante-tracciato nel plasma (ovvero tra G_{3H} e G_{13C}):

$$R_{a\ 13C} = \frac{F_{3H}}{G_{3H}/G_{13C}} \quad (\text{Eq. 2.1})$$

La R_a sistemica del glucosio ingerito, detta $R_{a\ MEAL}$, si calcola moltiplicando $R_{a\ 13C}$ per l'arricchimento del pasto (cioè il rapporto tra glucosio totale *tracce+tracer^I* e *tracer^I* nel pasto):

$$R_{a\ MEAL} = R_{a\ 13C} \cdot \left(\frac{\text{tracce+tracer}^I}{\text{tracer}^I} \right)_{meal} = R_{a\ 13C} \cdot \left(\frac{1}{ttr_{meal}} + 1 \right) \quad (\text{Eq. 2.2})$$

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

$$EGP = \frac{F_{2H}}{G_{2H}/G_{end}} \quad (\text{Eq. 2.3})$$

dove G_{end} è la concentrazione plasmatica di glucosio endogeno:

$$G_{end} = G_{nat} - G_{13C}/ttr_{meal} \quad (\text{Eq. 2.4})$$

[5].

2.2.1.2 Modello monocompartimentale

Se il clamp non è perfetto, come accennato prima, è possibile compensare l'errore di stato non stazionario usando le equazioni di un modello monocompartimentale (1C). Tale modello della cinetica del glucosio assume che R_a e R_d del glucosio e dei traccianti del glucosio siano nel compartimento accessibile, che ha un volume uguale alla frazione p del totale volume di distribuzione del glucosio V (ml/kg).

Per ciascuna coppia tracciante-tracciato si utilizza perciò un modello rappresentato come in Figure 2.6 e 2.7 in cui, a seconda del caso faremo le seguenti sostituzioni:

$q(t)$: quantità di tracciante nel compartimento

$Q(t)$: quantità tracciato nel compartimento

$c(t)$: concentrazione di tracciante nel compartimento

$C(t)$: concentrazione di tracciato nel compartimento

k_{01} : coefficiente di trasferimento di tracciante o tracciato (per il principio di indistinguibilità tra i due)

$u(t)$: 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

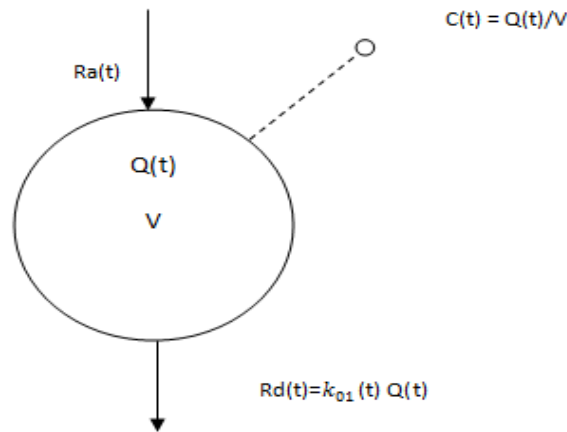


Figura 2.6: Modello monocompartimentale: tracciato.

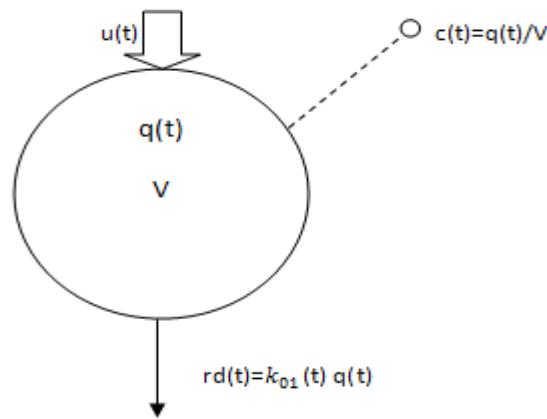


Figura 2.7: Modello monocompartimentale: tracciante.

Le equazioni per tale modello di tracciato e tracciante sono rispettivamente:

$$\begin{cases} \dot{Q}(t) = Ra(t) - Rd(t) = Ra(t) - k_{01}(t) \cdot Q(t) \\ C(t) = Q(t)/V \end{cases} \quad (\text{Eq. 2.5a})$$

$$\begin{cases} \dot{q}(t) = u(t) - rd(t) = u(t) - k_{01} \cdot q(t) \\ c(t) = q(t)/V \end{cases} \quad (\text{Eq. 25b})$$

Da qui, considerando il caso specifico dei traccianti in esame, ricaviamo l'equazione di bilancio di massa del [6-³H]glucosio:

$$pV \cdot dG_{^3H}/dt = F_{^3H} - R_{d \ ^3H} \quad (\text{Eq. 2.6})$$

dove $R_{d \ ^3H}$ è la rate of disappearance del [6-³H]glucosio tracciante nel plasma.

Allo stesso modo per [1-¹³C]glucosio:

$$pV \cdot dG_{13C}/dt = R_{a^{13C}} - R_{d^{13C}} \quad (\text{Eq. 2.7})$$

dove $R_{a^{13C}}$ e $R_{d^{13C}}$ sono rispettivamente rate of appearance e rate of disappearance del $[1-^{13}C]$ glucosio tracciante nel plasma.

L'indistinguibilità isotopica permette di mettere in relazione la rate of disappearance dei due traccianti con la loro concentrazione nel compartimento accessibile:

$$\frac{R_{d^{3H}}}{pVG_{3H}} = \frac{R_{d^{13C}}}{pVG_{13C}} = k_{01} \quad (\text{Eq. 2.8})$$

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

Usando Eq. 2.6, Eq. 2.7, Eq. 2.8:

$$pV \cdot dG_{3H}/dt = F_{3H} - k_{01}pVG_{3H} \quad (\text{Eq. 2.9})$$

$$pV \cdot dG_{13C}/dt = R_{a^{13C}} - k_{01}pVG_{13C} \quad (\text{Eq. 2.10})$$

Dall'equazione del bilancio di massa del $[6-^3H]$ glucosio Eq. 2.9, si può derivare un'espressione per k_{01} (qui chiamato $k_{01, 3H}$):

$$k_{01, 3H} = - \frac{dG_{3H}/dt}{G_{3H}} + \frac{F_{3H}}{pVG_{3H}} \quad (\text{Eq. 2.11})$$

Usando ora Eq. 2.10 e Eq. 2.11 si ottiene l'equazione per il calcolo di $R_{a^{13C}}$, dato che servono variabili note (F_{3H} e pV) o misurate (G_{3H} e G_{13C}):

$$R_{a^{13C}} = \frac{F_{3H}}{G_{3H}/G_{13C}} - \frac{pVG_{13C}}{G_{3H}/G_{13C}} \cdot \frac{d(G_{3H}/G_{13C})}{dt} \quad (\text{Eq. 2.12})$$

Applicando ora lo stesso principio al tracciante $[6,6-^2H_2]$ glucosio e al glucosio endogeno, l'espressione del parametro di disappearance del $[6,6-^2H_2]$ glucosio tracciante $k_{01, 2H}$ (min^{-1}) e EGP vengono così ricavati:

$$k_{01, 2H} = - \frac{dG_{2H}/dt}{G_{2H}} + \frac{F_{2H}}{pVG_{2H}} \quad (\text{Eq. 2.13})$$

$$EGP = \frac{F_{2H}}{G_{2H}/G_{end}} - \frac{pVG_{end}}{G_{2H}/G_{end}} \cdot \frac{d(G_{2H}/G_{end})}{dt} \quad (\text{Eq. 2.14})$$

$R_{a\ MEAL}$ è calcolata con l'Eq. 2.2, e R_d ($\mu mol/kg/min$) è calcolata come:

$$R_d = (R_{a\ MEAL} + EGP + F_{2H}) - pV \frac{dG}{dt} \quad (\text{Eq. 2.15})$$

[5].

2.2.1.3 Modello bicompartimentale

Sempre nel caso in cui il clamp non sia perfetto, è possibile compensare l'errore di stato non stazionario tramite le equazioni relative a un modello bicompartimentale (2C). Questo modello assume che vi siano due compartimenti di cui uno accessibile alla misura, dal quale si diparte anche l'uscita irreversibile. La struttura di tale modello è quella che si vede in Figura 2.8, 2.9 per ogni coppia di tracciato e tracciante rispettivamente.

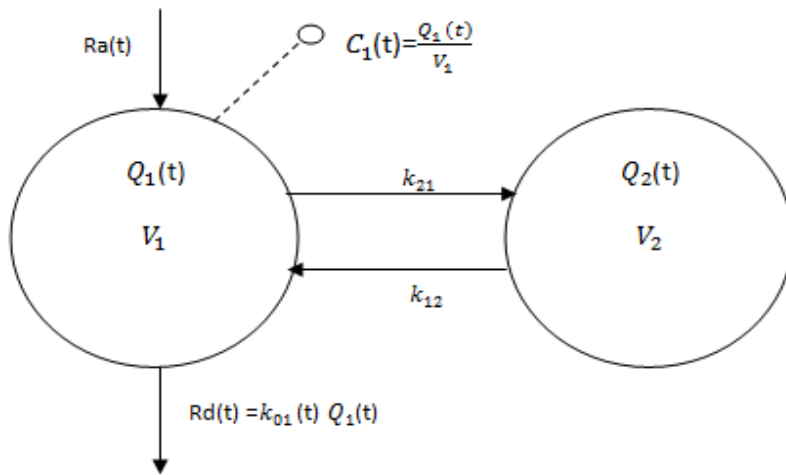


Figura 2.8: Modello bicompartimentale: tracciato.

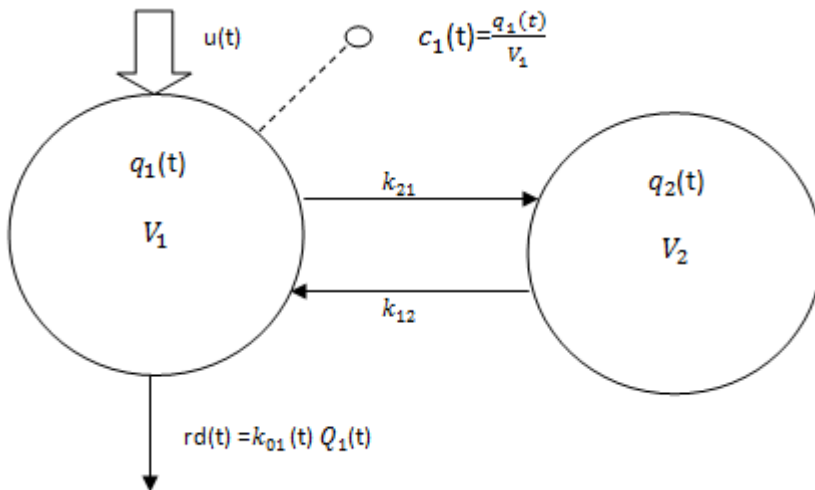


Figura 2.9: Modello bicompartimentale: tracciante.

Analogamente al caso precedente applicando il principio di conservazione di massa si ricavano le seguenti equazioni differenziali per tracciato e tracciante:

$$\begin{cases} \dot{Q}_1(t) = Ra(t) + k_{12}(t) \cdot Q_2(t) - [k_{21}(t) + k_{01}(t)] \cdot Q_1(t) \\ \dot{Q}_2(t) = k_{21}(t) \cdot Q_1(t) - k_{12}(t) \cdot Q_2(t) \\ C_1(t) = Q_1(t)/V_1 \end{cases} \quad (\text{Eq. 2.16a})$$

$$\begin{cases} \dot{q}_1(t) = u_1(t) + k_{12}(t) \cdot q_2(t) - [k_{21}(t) + k_{01}(t)] \cdot q_1(t) \\ \dot{q}_2(t) = k_{21}(t) \cdot q_1(t) - k_{12}(t) \cdot q_2(t) \\ c_1(t) = q_1(t)/V_1 \end{cases} \quad (\text{Eq. 2.16b})$$

in cui i parametri k_{21} , k_{12} , 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 è possibile stimarli. Pertanto assumiamo:

$$V_1 = 30 \text{ ml/kg} \quad k_{12} = 0.07 \text{ min}^{-1} \quad k_{21} = 0.05 \text{ min}^{-1}$$

Diversamente il parametro k_{01} risulta tempo-variante.

Pensando al nostro specifico caso per i traccianti $[6-^3H]$ e il $[1-^{13}C]$ glucosio nei compartimenti accessibili:

$$V_1 \cdot dG_{^3H}/dt = F_{^3H} - (R_{01,^3H} + R_{21,^3H}) + R_{12,^3H} \quad (\text{Eq. 2.17})$$

$$V_1 \cdot dG_{^{13}C}/dt = F_{^{13}C} - (R_{01,^{13}C} + R_{21,^{13}C}) + R_{12,^{13}C} \quad (\text{Eq. 2.18})$$

dove $R_{01,^3H}$ e $R_{01,^{13}C}$ denotano il flusso irreversibile dal compartimento accessibile dei due traccianti, mentre $R_{21,^3H}$, $R_{12,^3H}$, $R_{21,^{13}C}$, $R_{12,^{13}C}$ rappresentano i flussi di scambio.

Per l'indistinguibilità:

$$\frac{R_{01,^3H}}{V_1 G_{^3H}} = \frac{R_{01,^{13}C}}{V_1 G_{^{13}C}} = k_{01} \quad (\text{Eq. 2.19a})$$

$$\frac{R_{21,^3H}}{V_1 G_{^3H}} = \frac{R_{21,^{13}C}}{V_1 G_{^{13}C}} = k_{21} \quad (\text{Eq. 2.19b})$$

$$\frac{R_{12,^3H}}{V_2 G_{^3H}} = \frac{R_{12,^{13}C}}{V_2 G_{^{13}C}} = k_{12} \quad (\text{Eq. 2.19c})$$

Usando ora le Eq. 2.19, 2.18, 2.17 si ottiene:

$$V_1 \cdot dG_{^3H}/dt = F_{^3H} - (k_{01} + k_{21})V_1 G_{^3H} + k_{12}Q_{2,^3H} \quad (\text{Eq. 2.20})$$

$$V_1 \cdot dG_{^{13}C}/dt = F_{^{13}C} - (k_{01} + k_{21})V_1 G_{^{13}C} + k_{12}Q_{2,^{13}C} \quad (\text{Eq. 2.21})$$

dove $Q_{2,^3H}$ e $Q_{2,^{13}C}$ sono le quantità di $[6-^3H]$ e $[1-^{13}C]$ glucosio nel compartimento periferico ottenute integrando le equazioni del modello.

Dall'Eq. 2.19 ricaviamo un'espressione per k_{01} (qui chiamato $k_{01,^3H}$):

$$k_{01,^3H} = -\frac{dG_{^3H}/dt}{G_{^3H}} + \frac{F_{^3H}}{V_1 G_{^3H}} - k_{21} + \frac{k_{12}Q_{2,^3H}}{V_1 G_{^3H}} \quad (\text{Eq. 2.22})$$

Ora dalle Eq. 2.21, 2.22 deriviamo la seguente equazione per $R_{a^{13}C}$:

$$R_{a^{13}C} = \frac{F_{3H}}{G_{3H}/G_{13C}} - \frac{V_1 G_{13C}}{G_{3H}/G_{13C}} \cdot \frac{d(G_{3H}/G_{13C})}{dt} + k_{12} \left(\frac{Q_{2,3H}}{G_{3H}/G_{13C}} - Q_{2,13C} \right) \quad (\text{Eq. 2.23})$$

L'Eq. 2.23 esprime $R_{a^{13}C}$ in funzione di variabili note (F_{3H}, V_1, k_{12}) o misurate (G_{3H} e G_{13C}), ma sono presenti anche $Q_{2,3H}$ e $Q_{2,13C}$ che non sono misurate. Le ultime variabili sono state valutate risolvendo le equazioni di bilancio di massa dei traccianti $[6-^3H]$ e $[1-^{13}C]$ glucosio nel compartimento periferico:

$$dQ_{2,3H}/dt = -k_{12}Q_{2,3H} + k_{21}V_1G_{3H} \quad (\text{Eq. 2.24})$$

$$dQ_{2,13C}/dt = -k_{12}Q_{2,13C} + k_{21}V_1G_{13C} \quad (\text{Eq. 2.25})$$

Quindi analogamente a quanto mostrato prima ricaviamo il parametro k_{01} tempo-variante della rate of disappearance del $[6,6-^2H_2]$ glucosio tracciante, e il flusso EGP:

$$k_{01}^{2H} = -\frac{dG_{2H}/dt}{G_{2H}} + \frac{F_{2H}}{V_1G_{2H}} - k_{21} + \frac{k_{21}Q_{2,2H}}{V_1G_{2H}} \quad (\text{Eq. 2.26})$$

$$EGP = \frac{F_{2H}}{G_{2H}/G_{end}} - \frac{V_1 G_{end}}{G_{2H}/G_{end}} \cdot \frac{d(G_{2H}/G_{end})}{dt} + k_{12} \left(\frac{Q_{2,2H}}{G_{2H}/G_{end}} - Q_{2,end} \right) \quad (\text{Eq. 2.27})$$

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

R_{aMEAL} viene calcolata come mostrato in precedenza in Eq. 2.2; R_d si esprime come:

$$R_d = (R_{aMEAL} + EGP + F_{2H}) - V_1 \frac{dG}{dt} - k_{21}V_1G + k_{12}Q_2 \quad (\text{Eq. 2.28})$$

[5].

Sono mostrati quindi in Figure 2.10 e 2.11 i grafici relativi agli andamenti temporali medi (totali, per gruppi e sottogruppi) dell'EGP.

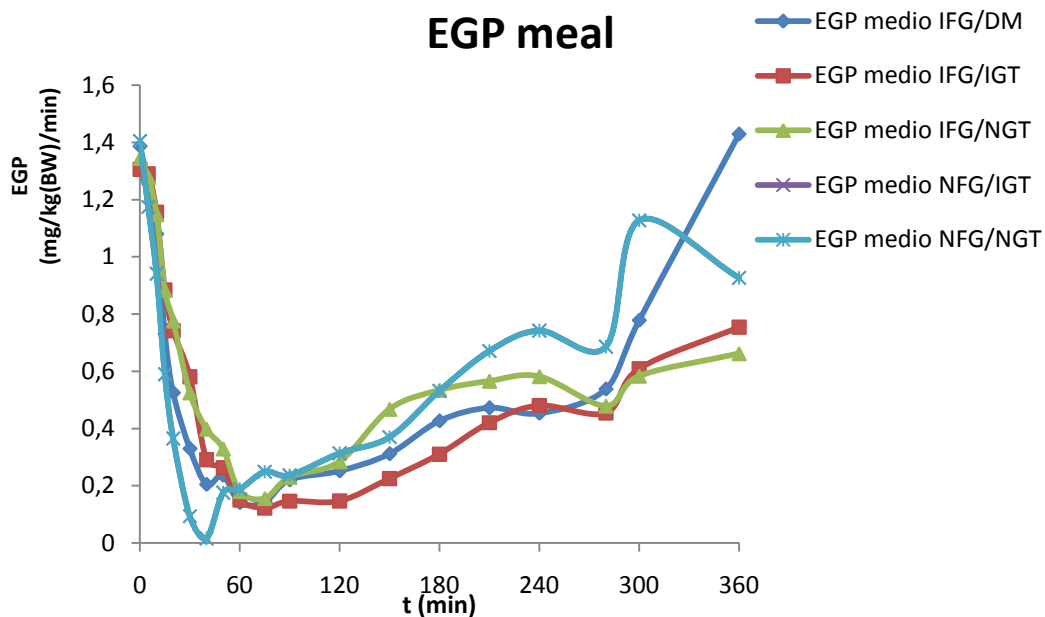


Figura 2.10: Andamento temporale medio dell'EGP nei 5 sottogruppi: IFG/DM, IFG/IGT, IFG/NGT, NFG/IGT, NFG/NGT.

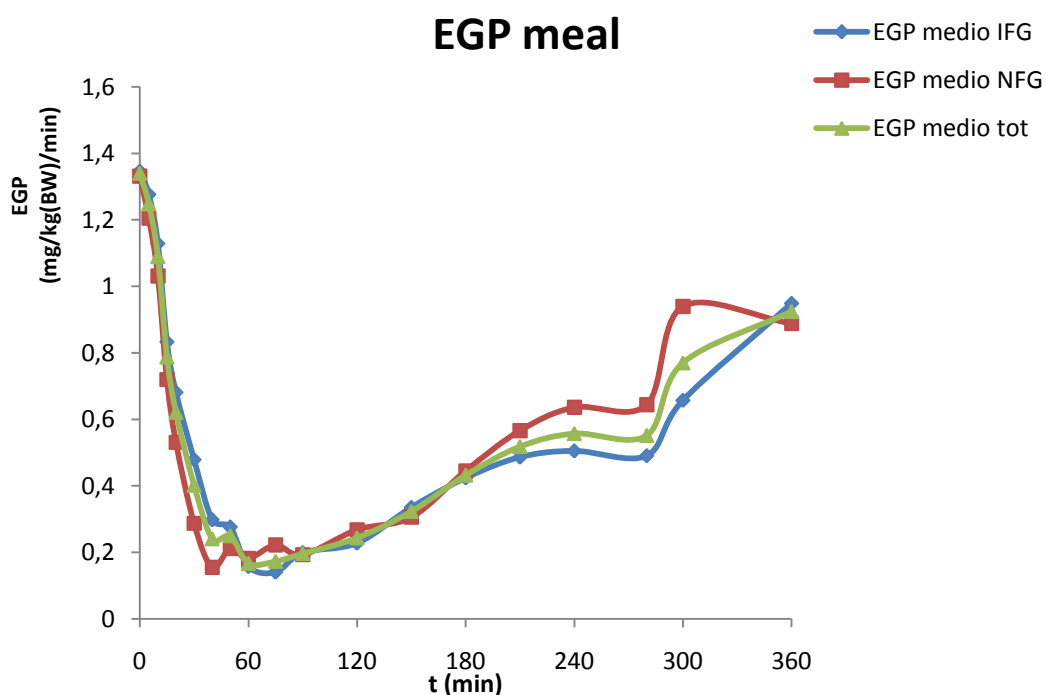


Figura 2.11: Andamento temporale medio dell'EGP nei 2 gruppi IFG, NFG, e globale.

2.3 Protocollo clamp euglicemico iperinsulinemico con tracciante

Come precedentemente riportato i soggetti sono stati studiati in tre occasioni in ordine casuale. In una di queste sono stati sottoposti a clamp euglicemico iperinsulinemico durante il quale hanno ricevuto $0.25 \text{ mU}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ (preprandial) o $0.5 \text{ mU}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ (prandial) di infusione di insulina; in questo paragrafo viene descritta proprio la fase di clamp.

Tutti i soggetti hanno seguito nei 3 giorni precedenti il test la dieta sopra menzionata e sono entrati nel centro di ricerca alle ore 17 della sera prima dell'inizio dello studio; hanno ricevuto un pasto standard di $10 \text{ kcal}/\text{kg}$ (55% di carboidrati, 30% di grassi, 15% di proteine) tra le ore 18.30 e le 19. Sono stati somministrati $1.67 \text{ mg}/\text{kg}$ di $^2\text{H}_2\text{O}$ in tre distinte dosi alle ore 18, 20, 22. Durante la notte sono stati permessi piccoli sorsi di acqua (contenente $^2\text{H}_2\text{O}$). Alle ore 6 una cannula calibro-18 è stata inserita in una vena dell'avambraccio per l'infusione del tracciante e dell'ormone. Un'altra cannula è stata inserita in modo retrogrado in una vena del dorso della mano del braccio opposto, e la mano è stata messa in un ambiente riscaldato ($\sim 55^\circ \text{ C}$) per facilitare il campionamento del sangue venoso arterializzato [6].

Nella tecnica del clamp euglicemico iperinsulinemico si infonde insulina attraverso una vena periferica: inizialmente si utilizza un'infusione "primed" (cioè con bolo) per raggiungere rapidamente il livello desiderato, per poi mantenerlo tramite un'infusione continua. Per evitare a questo punto una situazione di ipoglicemia, si infonde glucosio in modo variabile nel tempo, permettendo così di mantenerne una concentrazione abbastanza costante. Una volta raggiunto lo stato stazionario è possibile quindi ottenere la sensibilità insulinica (S_I). Tale approccio diventa molto efficace se viene utilizzato anche un tracciante: la sua infusione, preceduta da un bolo, permette infatti di ottenere anche la sensibilità insulinica "disposal" (S_I^*), ovvero il contributo dell'insulina sulla sola utilizzazione di glucosio (senza contare anche la sua produzione, come invece succede per la S_I).

Nel nostro caso è usata un'infusione "primed" (glucosio a digiuno in millimoli per litro diviso per $5.5 \text{ mmol}/\text{l} \times 12 \text{ } \mu\text{Ci}$) continua ($0.12 \text{ } \mu\text{Ci}/\text{min}$) di [$3\text{-}^3\text{H}$]glucosio iniziata alle ore 7 e continuata fino alla fine dello studio. Un'infusione costante

contenente somatostatina ($60 \text{ ng}/(\text{kg}\cdot\text{min})$), glucagone ($0.65 \text{ ng}/(\text{kg}\cdot\text{min})$), e ormone della crescita ($3 \text{ ng}/(\text{kg}\cdot\text{min})$) è iniziata alle ore 10 ($t=0$ nella griglia di campionamento) e proseguita 4 ore. È iniziata anche un'infusione di insulina rispettivamente di 0.25 o $0.5 \text{ mU}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ nei soggetti con livello "preprandial" (15 IFG e 13 NFG) o "prandial" (16 IFG e 15 NFG). Destrosio contenente [$3\text{-}^3\text{H}$]glucosio è stato infuso poiché necessario per mantenere la concentrazione di glucosio nel plasma a circa 5 mmol/l nelle 4 ore dello studio. Inoltre l'infusione di [$3\text{-}^3\text{H}$]glucosio basale è stata abbassata iniziando dal tempo 0 mimando l'andamento anticipato della discesa dell'EGP nel tentativo di minimizzare il cambiamento dell'attività specifica del [$3\text{-}^3\text{H}$]glucosio plasmatico. I campioni di sangue venoso arterializzato sono stati raccolti a intervalli di tempo regolari per le misure di concentrazione di glucosio, tracciante e ormone.

I tempi di campionamento qui utilizzati sono:

$t = [-180, -178, -170, -140, -100, -30, -20, -10, 0, 60, 120, 180, 210, 220, 230, 240]$ min.

Per l'analisi sono state usate le concentrazioni medie da -30 a 0 min, e tra 210 e 240 min. Tutte le quantità sono espresse in funzione di kg di massa magra (LBM). R_a e R_d del glucosio sono state ottenute con le equazioni di stato stazionario di Steele. L'EGP del clamp è stata calcolata sottraendo l'infusione di glucosio dalla sua R_a determinata con tracciante [6].

Si riportano di seguito in Fig. 2.12-2.16 i grafici relativi agli andamenti temporali medi dei dati usati in questa tesi e relativi al secondo esperimento: concentrazioni di glucosio plasmatico, tracciante [$3\text{-}^3\text{H}$]glucosio, le rispettive infusioni e concentrazione di insulina.

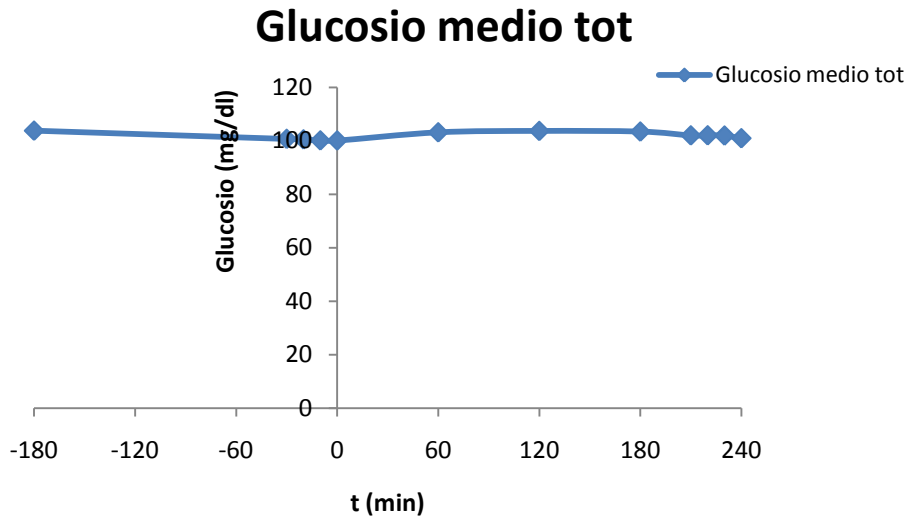


Figura 2.12: Andamento temporale medio della concentrazione del glucosio globale.

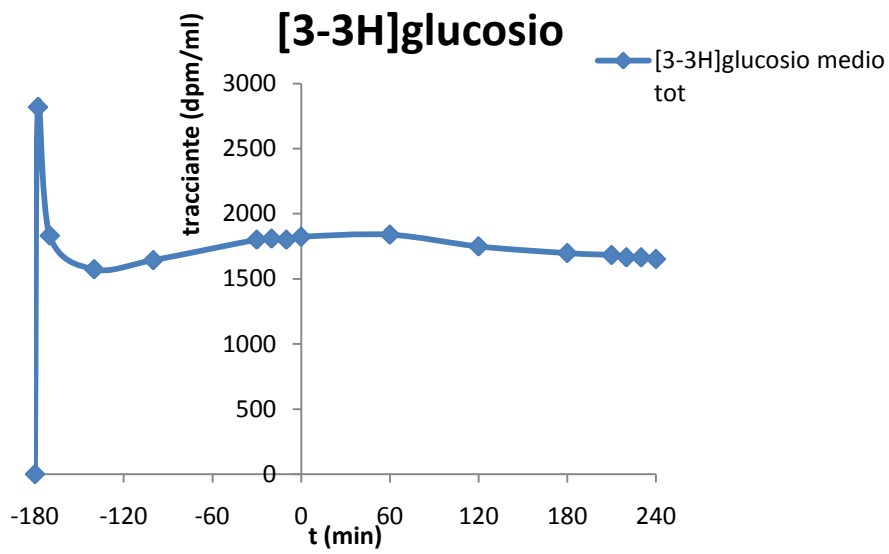


Figura 2.13: Andamento temporale medio della concentrazione di [3-3H]glucosio globale.

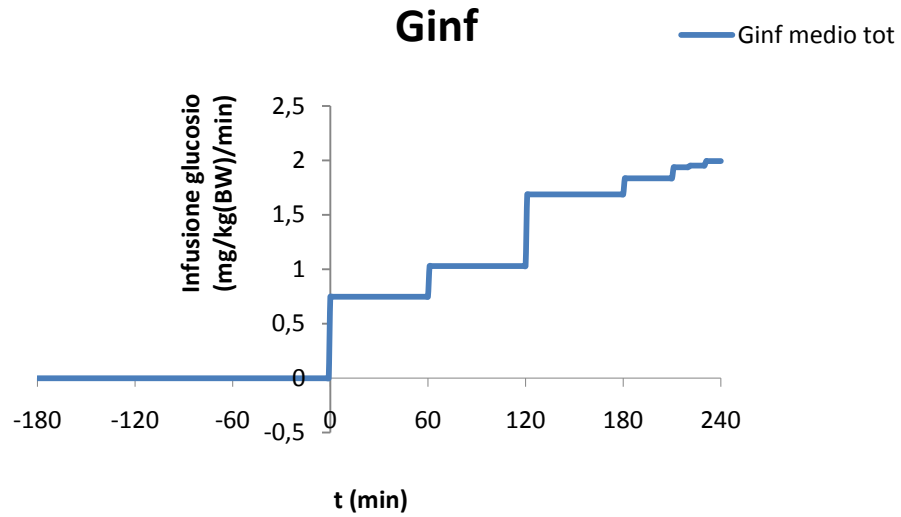


Figura 2.14: Andamento temporale medio dell'infusione di glucosio globale.

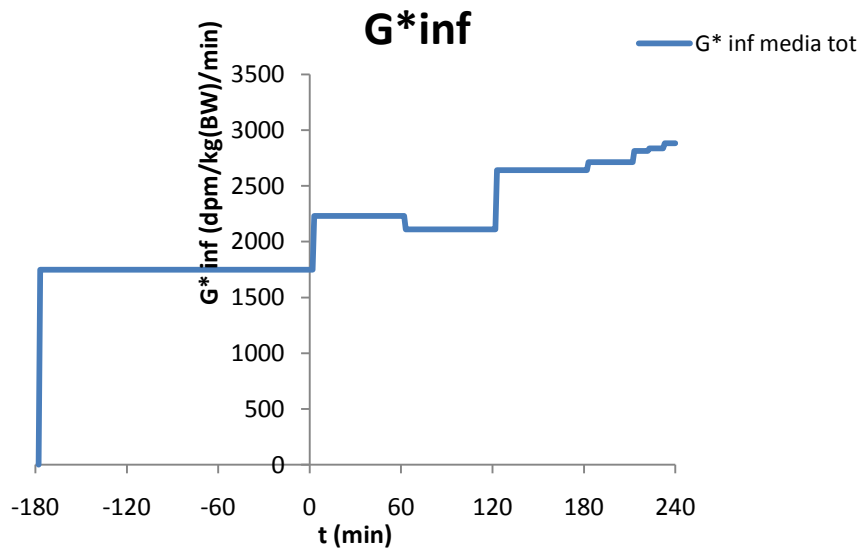


Figura 2.15: Andamento temporale medio dell'infusione di tracciante globale.

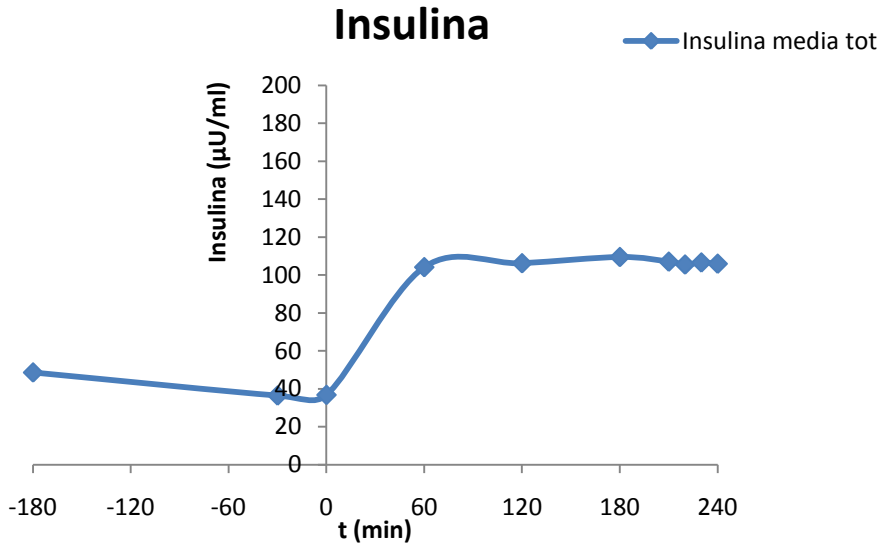


Figura 2.16: Andamento temporale medio della concentrazione dell'insulina globale.

Come precedentemente accennato, tramite il clamp euglicemino iperinsulinemico con tracciante è possibile ottenere gli indici S_I , S_I^* e per differenza S_I^L (ovvero il solo contributo sulla produzione epatica di glucosio); avendo a disposizione i dati appena descritti e raffigurati si è in grado quindi di ricavare tali quantità grazie alle seguenti formule [8]:

$$S_I \cdot V = \frac{G_{inf,ss}}{G_{ss}(I_{ss} - I_b)} \quad (\text{Eq. 2.29})$$

$$S_I^* \cdot V^* = G_{inf,ss}^* / G_{ss} SA_{ss} (I_{ss} - I_b) \quad (\text{Eq. 2.30})$$

in cui:

- V è il volume di distribuzione
- I è la concentrazione plasmatica di insulina
- G è la concentrazione plasmatica di glucosio
- SA è l'attività specifica
- G_{inf} è l'infusione di glucosio
- il pedice ss indica che il valore associato è quello di stato stazionario
- il pedice b sta per valore basale
- l'apice $*$ sta a significare che il dato è relativo al caso con tracciante.

E' fondamentale tenere presente che formule sopra trattate sono relative al caso ideale di clamp perfetto del rapporto tracciante tracciato, ovvero a uno stato stazionario. Nella realtà però il clamp perfetto non c'è, perciò è opportuno derivare S_I e S_I^* tramite l'identificazione dei modelli presentati di seguito al cap. 3.

E' comunque possibile apportare una correzione di stato non stazionario alle Eq. 2.29 e 2.30, ottenendo tuttavia dei valori approssimati rispetto al reale:

$$S_I \cdot V = \frac{G_{inf,ss} + S_G(G_b - G_{ss})V}{G_{ss}(I_{ss} - I_b)} \quad (\text{Eq. 2.31})$$

$$S_I^* \cdot V^* = \frac{G_{inf,ss}^* - S_G^* G_{ss}^* V^*}{G_{ss}^* S_{A_{ss}}(I_{ss} - I_b)} \quad (\text{Eq. 2.32})$$

dove vediamo in più rispetto a prima il simbolo dell'efficacia del glucosio S_G .

3. MODELLI

In questo capitolo si presentano i modelli utilizzati nella tesi: due modelli della produzione endogena di glucosio (uno lineare e uno non lineare) applicati per il primo protocollo sperimentale descritto, cioè la tecnica del triplo tracciante, e due modelli minimi (uno senza e uno con tracciante) a uno (1C) e due compartimenti (2C) applicati per il secondo protocollo, ovvero il clamp.

3.1 Modelli della produzione endogena di glucosio (EGP)

Inizialmente è stato applicato un modello lineare ideato da Dalla Man et al. [7] che potesse descrivere la produzione endogena di glucosio a partire da dati EGP modello indipendenti ottenuti con la tecnica del triplo tracciante. Poiché i suddetti dati a disposizione contenevano per alcuni soggetti dei valori negativi di EGP, e quindi non fisiologici dato che esso per definizione resta sempre positivo nel tempo, è stato successivamente elaborato un altro modello basato sul precedente. Quest'ultimo modello risulta non lineare e permette di avere, nonostante valori negativi, un fit dell'EGP sempre positivo o al massimo nullo.

3.1.1 Modello lineare della soppressione di EGP

Il modello di seguito descritto (che schematizza una situazione rappresentata in Figura 3.1) è in grado di distinguere i contributi di glucosio e insulina sulla soppressione della produzione di glucosio. Su di essa intervengono infatti tre segnali di controllo:

- X^L : azione insulinica epatica ritardata, di ampiezza k_1 , fisiologicamente rappresenta la soppressione del livello di acidi grassi liberi (free fatty acids, FFA).
- X^{Der} : azione insulinica proporzionale alla variazione della concentrazione di glucosio (secondo il parametro k_{GR})
- $G(t) - G_b$: concentrazione di glucosio oltre il livello basale (secondo il parametro k_G).

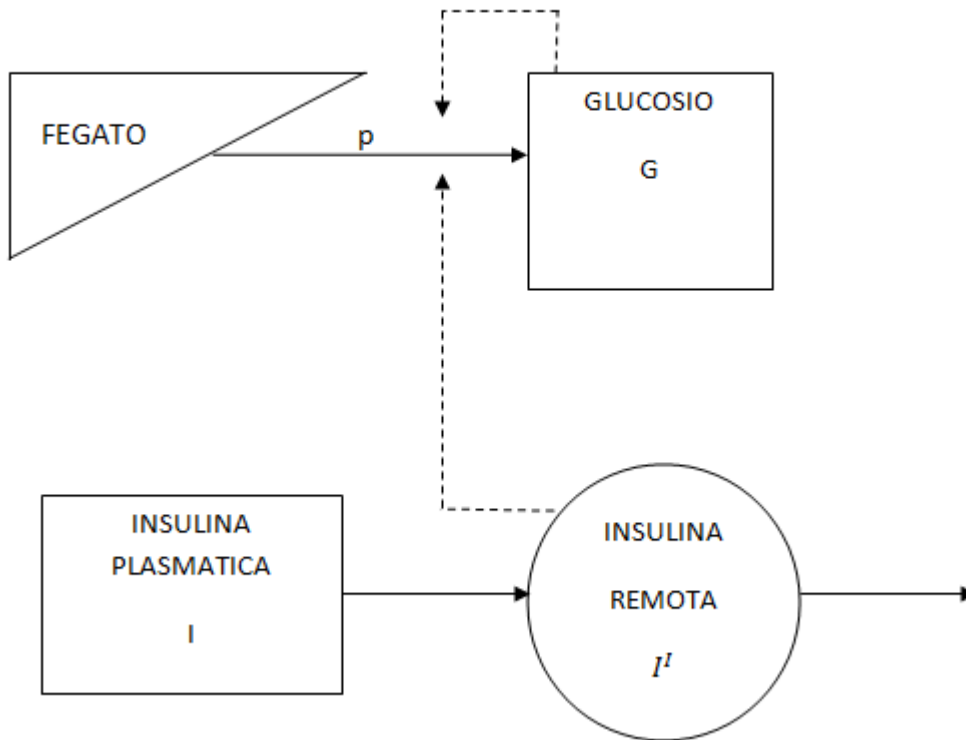


Figura 3.1: Schema del modello di produzione di EGP: glucosio e insulina plasmatici sono funzioni forzanti; glucosio e insulina remota controllano la produzione epatica.

Le equazioni del modello sono le seguenti:

$$EGP(t) = EGP_b - k_G(G(t) - G_b) - X^L(t) - X^{Der}(t) \quad (\text{Eq. 3.1})$$

$$EGP(0) = EGP_b$$

$$\begin{cases} \dot{X}^L(t) = -k_1 X^L(t) + k_1 X_1(t) & X^L(0) = 0 \\ \dot{X}_1(t) = -k_1 [X_1(t) - k_2 (I(t) - I_b)] & X_1(0) = 0 \end{cases} \quad (\text{Eq. 3.2})$$

$$X^{Der}(t) = \begin{cases} k_{GR} \frac{dG}{dt} & se \frac{dG}{dt} \geq 0 \\ 0 & se \frac{dG}{dt} < 0 \end{cases} \quad (\text{Eq. 3.3})$$

in cui:

- EGP_b è il valore basale di EGP [$mg/kg(BW)/min$]
 - k_G è l'ampiezza del controllo proporzionale [$dl/kg/min$]
 - k_{GR} è l'ampiezza del controllo derivativo [dl/kg]
 - k_1 descrive la dinamica dell'azione insulinica sulla produzione di glucosio [min^{-1}]
 - k_2 governa l'ampiezza dell'azione insulinica [$mg/kg/min$ per $\mu U/ml$]
- [7].

Possiamo ora ricavare gli indici epatici (cosiddetti "liver") di efficacia del glucosio GE^L e di sensibilità insulinica S_I^L :

$$GE^L = \left. \frac{\partial EGP}{\partial G} \right|_{ss} = k_G \quad [dl/kg/min] \quad (\text{Eq. 3.4})$$

$$S_I^L = \left. \frac{\partial EGP}{\partial I} \right|_{ss} \cdot \frac{1}{G_b} = \left. \frac{\partial X^L}{\partial I} \right|_{ss} \cdot \frac{1}{G_b} = \left. \frac{\partial X_1}{\partial I} \right|_{ss} \cdot \frac{1}{G_b} = \frac{k_2}{G_b} \quad [dl/kg/min \text{ per } \mu U/ml] \quad (\text{Eq. 3.5})$$

Tali parametri hanno un significato fisiologico preciso:

- GE^L esprime l'abilità del glucosio di promuoverne la soppressione della produzione epatica
- S_I^L rappresenta la capacità dell'insulina di incrementare l'inibizione della produzione da parte del fegato.

Il modello suddetto risulta a priori univocamente identificabile.

3.1.2 Modello non lineare della soppressione di EGP

Il modello precedentemente esposto sarebbe utilizzabile solo in caso di andamenti temporali positivi di EGP, purtroppo però il data set è caratterizzato da alcuni soggetti con dei campioni negativi, e quindi non fisiologici, che favoriscono una predizione di tale flusso con valori inferiori a zero. Al fine perciò di ottenere una predizione di EGP sempre positiva o al più nulla, è stato pensato un nuovo modello basandosi su quello prima trattato, introducendo però una non linearità.

Il modello ideato a questo scopo viene descritto dalle seguenti equazioni:

$$EGP(t) = EGP_b - SUPP(t) \quad EGP(0) = EGP_b \quad (\text{Eq. 3.6})$$

$$SUPP(t) = \frac{EGP_b \cdot SUPPlin(t)}{\beta + SUPPlin(t)} \quad (\text{Eq. 3.7})$$

$$SUPPlin(t) = k_G(G(t) - G_b) + X^L(t) + X^{Der}(t) \quad (\text{Eq. 3.8})$$

$$\begin{cases} \dot{X}^L(t) = -k_1 X^L(t) + k_1 X_1(t) & X^L(0) = 0 \\ \dot{X}_1(t) = -k_1[X_1(t) - k_2(I(t) - I_b)] & X_1(0) = 0 \end{cases} \quad (\text{Eq. 3.9})$$

$$X^{Der}(t) = \begin{cases} k_{GR} \frac{dG}{dt} & se \frac{dG}{dt} \geq 0 \\ 0 & se \frac{dG}{dt} < 0 \end{cases} \quad (\text{Eq. 3.10})$$

Dall'Eq. 3.7 infatti è evidente che il termine $SUPP(t)$ potrà valere al più EGP_b e di conseguenza dall'Eq. 3.6 si nota che il valore minimo di $EGP(t)$ è zero. Quello che è stato fatto è semplicemente portare in saturazione il termine $SUPPlin(t)$ che, come chiaro dalle Eq. 3.8 e 3.1, non è altro che parte dell'espressione di $EGP(t)$ del modello precedente.

Il significato dei parametri è esattamente quello spiegato nello scorso paragrafo, con la sola aggiunta del parametro β pari alla metà del livello massimo di soppressione. Ciò che cambia rispetto al modello prima descritto sono le unità di misura dei parametri, ottenuti da quelli precedenti divisi per EGP_b , quindi:

- k_G [dl/mg]
- k_{GR} [dl·min/mg]
- k_1 [min⁻¹]
- k_2 [1/(μU/ml)]
- β [adimensionale]

Analogamente a quanto fatto sopra sono stati definiti e ricavati anche in questo caso gli indici GE^L e S_I^L :

$$GE^L = - \left. \frac{\partial EGP}{\partial G} \right|_{SS} = \left. \frac{\partial SUPP}{\partial G} \right|_{SS} = \frac{EGP_b \cdot k_G}{\beta} \quad [\text{dl/kg/min}] \quad (\text{Eq. 3.11})$$

$$\begin{aligned} S_I^L &= - \left. \frac{\partial EGP}{\partial I} \right|_{SS} \cdot \frac{1}{G_b} = \left. \frac{\partial SUPP}{\partial I} \right|_{SS} \cdot \frac{1}{G_b} = \\ &= EGP_b \cdot \partial \left(\frac{SUPPlin}{\beta + SUPPlin} \right) / \partial I \Big|_{SS} = \frac{EGP_b \cdot k_2}{G_b \cdot \beta} \quad [\text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}] \end{aligned} \quad (\text{Eq. 3.12})$$

Anche questo modello è a priori univocamente identificabile.

3.2 Modello minimo del glucosio “freddo”

Per quanto riguarda la fase di studio di clamp euglicemico iperinsulinemico, è stato impiegato un modello minimo del glucosio (in gergo “freddo”, ovvero senza tracciante) che viene descritto in questo paragrafo.

3.2.1 Modello a un compartimento (1C)

Una prima versione utilizzata in questa tesi è quella del modello minimo “freddo” a un compartimento, illustrata in Figura 3.2.

Come si può osservare l’ingresso del sistema è rappresentato dall’infusione di glucosio G_{inf} nel plasma, tale ingresso è noto, per come è stato descritto il protocollo nel cap. 2, e fa quindi parte del nostro data-set.

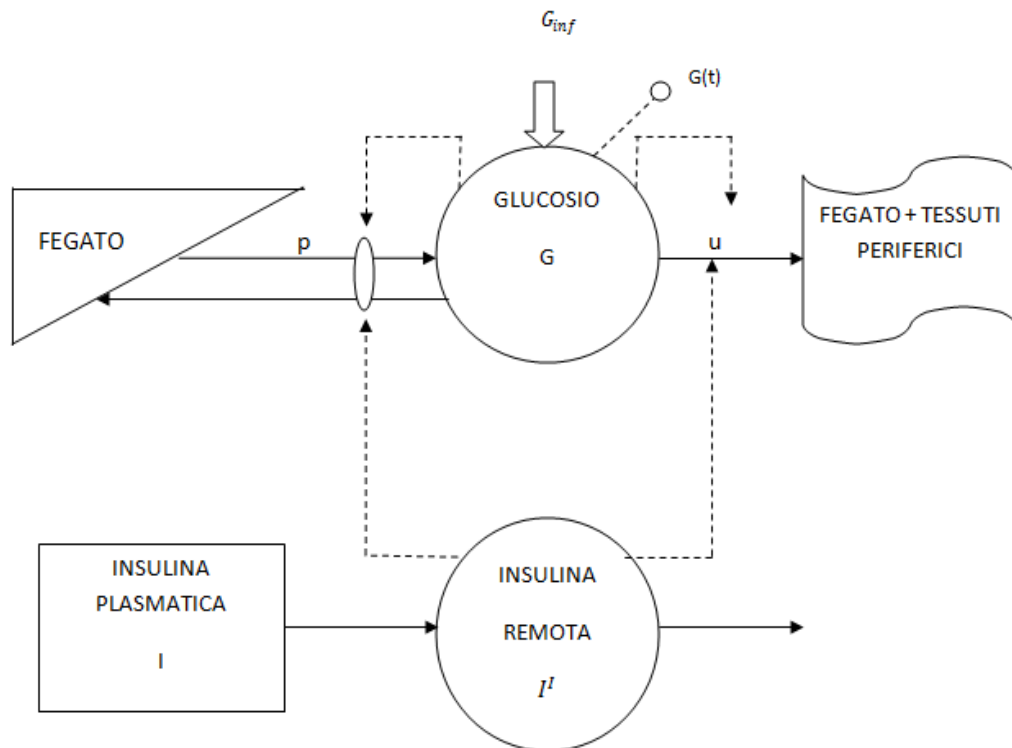


Figura 3.2: Modello minimo del glucosio “freddo” 1C.

Le equazioni del modello sono le seguenti:

$$\begin{cases} \dot{G}(t) = -[S_G + X(t)]G(t) + S_G \cdot G_b + \frac{G_{inf}(t)}{V} \\ \dot{X}(t) = -p_2 X(t) + p_2 \cdot S_{If} \cdot (I(t) - I_b) \end{cases} \quad \begin{aligned} G(0) &= G_b \\ X(0) &= 0 \end{aligned} \quad (\text{Eq. 3.13})$$

in cui:

- G è la concentrazione plasmatica di glucosio [mg/dl]
- G_b è il livello di glucosio basale
- I è la concentrazione plasmatica di insulina [$\mu U/ml$]
- I_b è il livello di insulina basale
- V è il volume di distribuzione [dl/kg]
- G_{inf} come detto prima è l'infusione di glucosio [$mg/kg/min$]
- X è l'azione insulinica [min^{-1}]
- p_2 è la costante di velocità dell'azione insulinica X [min^{-1}]
- S_G è l'efficacia del glucosio frazionaria [min^{-1}]
- S_{If} è la sensibilità insulinica frazionaria [min^{-1} per $\mu U/ml$].

Tramite S_G e S_{If} possiamo ottenere i parametri GE e S_I (nella forma concretamente usata nella pratica) con semplice moltiplicazione per il volume:

$$GE = S_G \cdot V \text{ [dl/kg/min]} \quad (\text{Eq. 3.14})$$

$$S_I = S_{If} \cdot V \text{ [dl/kg/min per } \mu U/ml] \quad (\text{Eq. 3.15})$$

Analogamente a quanto detto prima, questi due parametri hanno un significato ben preciso:

- GE rappresenta l'abilità del glucosio di inibire la sua stessa produzione da parte del fegato e contemporaneamente promuovere la sua utilizzazione da parte dei tessuti
- S_I indica la capacità dell'insulina remota di inibire la produzione epatica di glucosio e stimolarne l'utilizzazione.

Il modello appena descritto risulta a priori univocamente identificabile.

3.2.2 Modello a due compartimenti (2C)

In un secondo momento, dopo l'utilizzo del modello "freddo" 1C, è stato impiegato un modello bicompartimentale (2C), come illustrato in Figura 3.3, allo scopo di ottenere risultati migliori soprattutto in termini di abilità di predire i dati sperimentali. Come si può notare il modello risulta simile a quello descritto prima, eccezion fatta per la presenza di due compartimenti di glucosio (G_1 e G_2) e non più uno. Questi due compartimenti sono collegati reciprocamente da due flussi di

scambio, ciascuno espresso dai coefficienti di trasferimento k_{12} (da G_2 a G_1) e k_{21} (da G_1 a G_2).

Le equazioni del modello sono:

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{G}_2(t) = k_{21}G_1(t) - k_{12}G_2(t) \\ \dot{G}_1(t) = -[S_G + X(t) + k_{21}] \cdot G_1(t) + S_G \cdot G_b + k_{12}G_2(t) + \frac{G_{inf}(t)}{V} \\ \dot{X}(t) = -p_2X(t) + p_2 \cdot S_{If}(I(t) - I_b) \end{array} \right. \quad \begin{array}{l} G_2(0) = \frac{k_{21}}{k_{12}}G_b \\ G_1(0) = G_b \\ X(0) = 0 \end{array}$$

(Eq. 3.16)

in cui i simboli impiegati hanno il medesimo significato illustrato sopra (con V volume di distribuzione del compartimento 1).

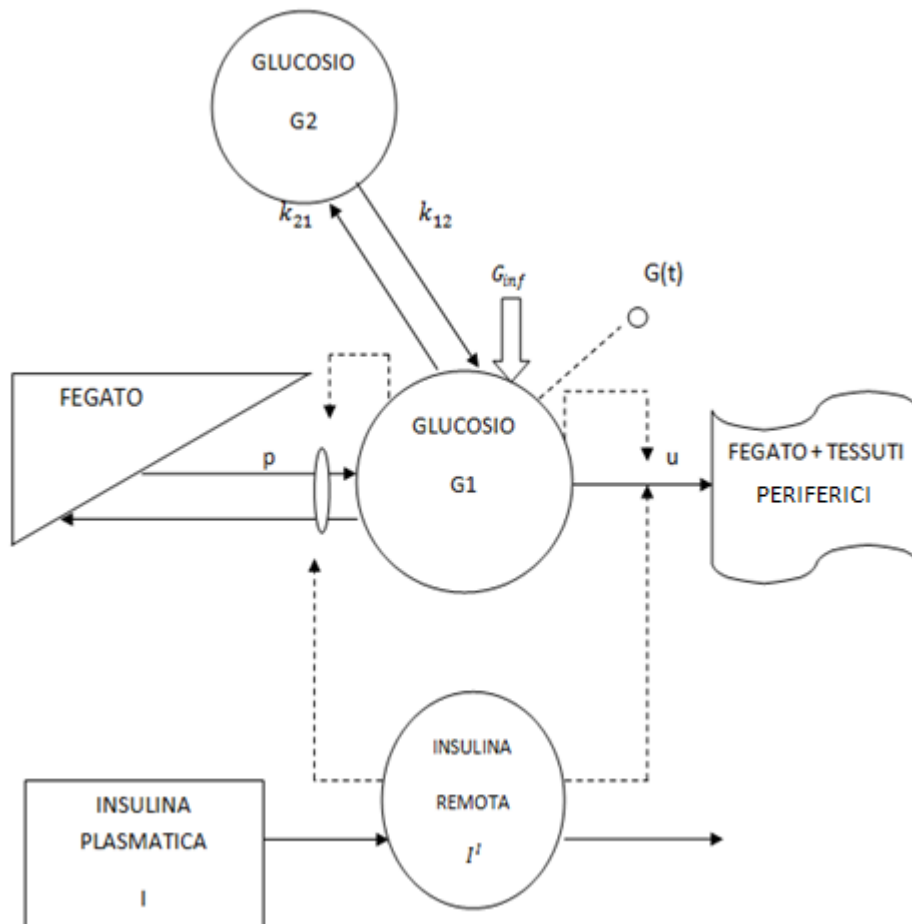


Figura 3.3: Modello minimo del glucosio "freddo" 2C.

In questo modello viene utilizzata però un'informazione a priori sui parametri k_{21} e k_{12} per poi procedere con l'identificazione con metodo Bayesiano (si veda il cap. 4).

3.3 Modello minimo del glucosio con tracciante

Oltre al modello “freddo” appena descritto, è stato utilizzato anche un modello minimo del glucosio con tracciante (detto in gergo “caldo”). Esso, a differenza del precedente, è in grado di isolare il processo di utilizzazione del glucosio, mediante la somministrazione di un tracciante, oltre a quella del glucosio stesso.

3.3.1 Modello a un compartimento (1C)

Come primo tentativo è stato utilizzato un modello minimo con tracciante ad un solo compartimento (1C), la cui struttura è quella rappresentata in Figura 3.4.

E' evidente come la struttura compartimentale sia molto simile all'analogo caso 1C “freddo”, l'unica differenza è rappresentata dall'assenza del contributo della produzione epatica di glucosio.

Le equazioni del modello in questo caso sono:

$$\begin{cases} \dot{G}^*(t) = -[S_G^* + X^*(t)] \cdot G^*(t) + \frac{G_{inf}^*(t)}{V^*} & G^*(0) = 0 \\ \dot{X}^*(t) = -p_2^* X^*(t) + p_2^* \cdot S_{If}^* \cdot [I(t) - I_b] & X^*(0) = 0 \end{cases} \quad (\text{Eq. 3.17})$$

in cui:

- G^* è la concentrazione plasmatica di tracciante [dpm/ml]
- I è la concentrazione plasmatica di insulina [$\mu U/ml$]
- I_b è il livello di insulina basale
- V^* è il volume di distribuzione [ml/kg]
- G_{inf}^* è l'infusione di tracciante nota [$mg/kg/min$]
- X^* è l'azione insulinica [min^{-1}]
- p_2^* è la costante di velocità dell'azione insulinica X [min^{-1}]
- S_G^* è l'efficacia del glucosio frazionaria “disposal” [min^{-1}]

- S_{If}^* è la sensibilità insulinica frazionaria “disposal” [min^{-1} per $\mu U/ml$].

Grazie a questo modello che utilizza tracciante è possibile ottenere il solo contributo sull'utilizzazione del glucosio sia in termini di efficacia del glucosio che di sensibilità insulinica, ovvero i parametri cosiddetti “disposal”:

$$GE^* = S_G^* \cdot V^*/100 \quad [dl/kg/min] \quad (\text{Eq. 3.18})$$

$$S_I^* = S_{If}^* \cdot V^*/100 \quad [dl/kg/min \text{ per } \mu U/ml] \quad (\text{Eq. 3.19})$$

Essi, come si può intuire, risultano legati a quelli descritti nei paragrafi 3.1 e 3.2 dalle seguenti relazioni:

$$GE^L = GE - GE^* \quad (\text{Eq. 3.20})$$

$$S_I^L = S_I - S_I^* \quad (\text{Eq. 3.21})$$

Questo modello è a priori univocamente identificabile.

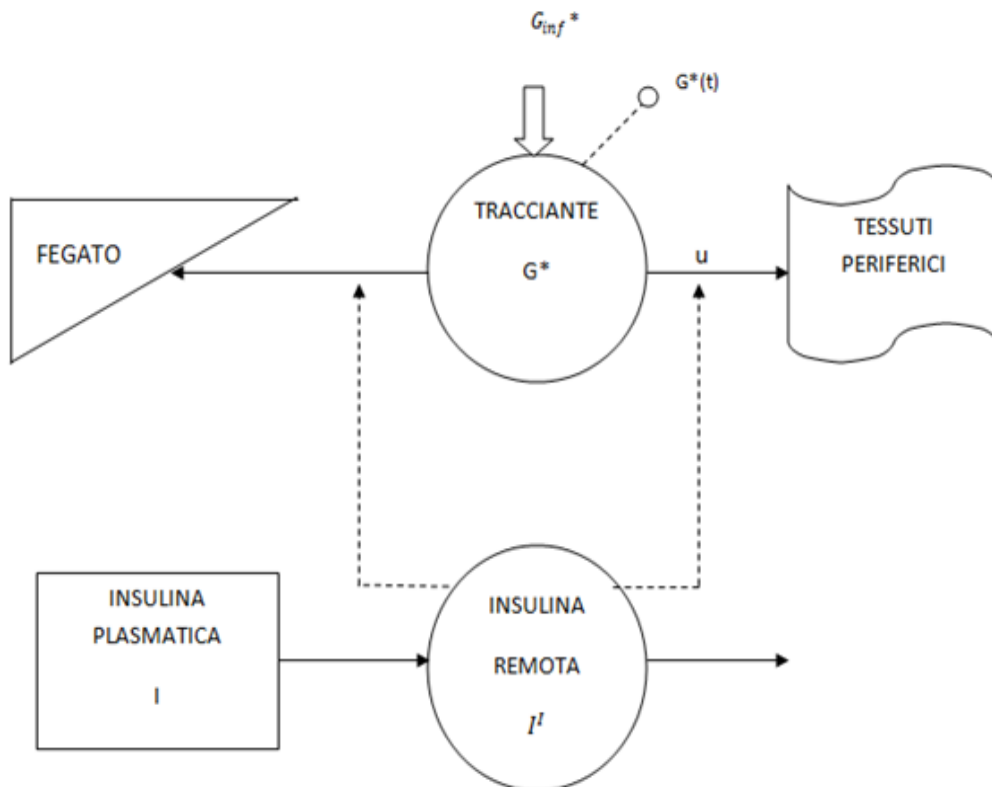


Figura 3.4: Modello minimo del glucosio “caldo” 1C.

3.3.2 Modello a due compartimenti (2C)

Analogamente a quanto fatto nel caso del modello “freddo”, anche per il “caldo” si è deciso in un secondo momento di utilizzare una struttura bicompartimentale, come quella di Figura 3.5.

Le equazioni del modello sono:

$$\begin{cases} \dot{G}_2^*(t) = k_{21}^* G_1^*(t) - k_{12}^* G_2^*(t) & G_2^*(0) = 0 \\ \dot{G}_1^*(t) = -[S_G^* + k_{21}^* + X^*(t)] \cdot G_1^*(t) + k_{12}^* G_2^*(t) + \frac{G_{inf}^*(t)}{V^*} & G_1^*(0) = 0 \\ \dot{X}^*(t) = -p_2^* X^*(t) + p_2^* \cdot S_I^*(I(t) - I_b) & X^*(0) = 0 \end{cases} \quad (\text{Eq. 3.22})$$

I parametri hanno sempre lo stesso significato del caso prima illustrato (tenendo a mente che V^* è il volume di distribuzione del compartimento 1).

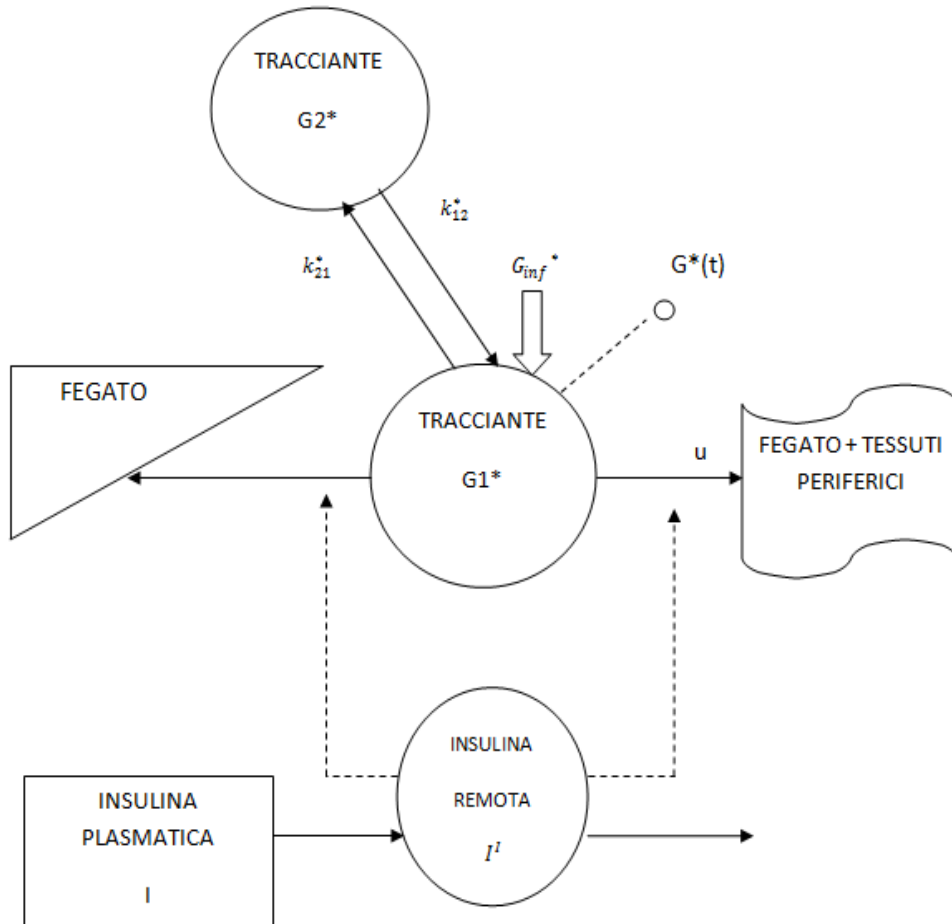


Figura 3.5: Modello minimo del glucosio “caldo” 2C.

Questo modello risulta a priori univocamente identificabile.

4. TECNICHE

DI

IDENTIFICAZIONE

In questo capitolo vengono spiegati i metodi utilizzati per l'identificazione dei modelli trattati precedentemente nel cap. 3, prima dal punto di vista teorico della stima parametrica e poi da quello pratico dell'applicazione in Matlab.

4.1 Stima parametrica

Dopo avere definito, grazie a conoscenze fisiologiche e assunzioni, le equazioni che costituiscono il modello di un sistema endocrino-metabolico, per completare il modello è necessario dare dei valori ai parametri $\{p_1, p_2, \dots, p_M\}$ che vi compaiono. Concretamente viene sfruttata la conoscenza di uno o più segnali di misura. Pensando ora di avere un solo segnale di misura, in funzione del vettore dei parametri, esso ha una forma:

$$y(t) = g(t, p) \quad (\text{Eq. 4.1})$$

dove $g(t, p)$ lega il modello alle misure, e p è il vettore dei parametri.

L'uscita predetta $y(t)$ è disponibile solo in un certo numero di campioni N ai tempi $\{t_1, t_2, \dots, t_N\}$ affetti da errore di misura spesso additivo:

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

in cui v_k è l'errore compiuto sulla k -esima misura z_k assimilabile a una variabile aleatoria a valore atteso nullo. Spesso su v_k sono disponibili informazioni statistiche come la varianza del processo, essa può essere costante $\forall k$ ($\sigma_k^2 = \sigma^2$) oppure no (σ_k^2 dipende da k).

Una grandezza spesso comoda a valutare l'entità dell'errore di misura relativamente ai dati è il coefficiente di variazione CV , dato dal rapporto tra standard deviation σ dell'errore di misura e misura stessa:

$$CV_k = \frac{\sigma_k}{z_k} \quad (\text{Eq. 4.3})$$

L'Eq. 4.2 si può scrivere per le N misure in forma vettoriale:

$$z = y + v = G(p) + v \quad (\text{Eq. 4.4})$$

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

La matrice di covarianza del vettore v è quindi esprimibile come:

$$\Sigma_v = E[vv^t] = \sigma^2 B \quad (\text{Eq. 4.5})$$

in cui σ^2 è uno scalare noto o incognito, e B è una matrice quadrata di dimensione N che supporremo sempre nota e che in caso di rumore a campioni scorrelati risulta diagonale [1]. Ad esempio possiamo distinguere la forma di B in alcuni casi:

- Varianza generica non costante: $\sigma^2 = 1$, $B = \text{diag}(\sigma_1^2, \sigma_2^2, \dots, \sigma_N^2)$
- Varianza costante nota o incognita: $B = I_N$
- CV costante (noto o incognito): $\sigma = CV$, $B = \text{diag}(z_1^2, z_2^2, \dots, z_N^2)$.

4.1.1 Metodo Fisheriano: stimatore ai minimi quadrati pesati

Nel caso dello stimatore ai minimi quadrati pesati, il vettore dei parametri p , di cui si ipotizza esista un valore vero, è stimato sfruttando solo i dati dell'esperimento.

Dall'Eq. 4.2, per un valore p del vettore dei parametri possiamo definire l'errore di predizione del modello:

$$e(p) = z - G(p) \quad (\text{Eq. 4.6})$$

E' intuitivo che tale errore su una misura è tanto più significativo quanto più questa è attendibile. Lo scalare:

$$\|z - G(p)\|_{\Sigma_v^{-1}}^2 = [z - G(p)]^T \Sigma_v^{-1} [z - G(p)] \quad (\text{Eq. 4.7})$$

misura la distanza tra i dati z e le predizioni del modello $G(p)$ per il valore p del vettore dei parametri, con pesi inversi alla varianza dell'errore di misura. Pensando ora a p incognito nell'Eq. 4.7, la tecnica dei minimi quadrati pesati (weighted least squares *WLS*) ne determina il valore ottimo minimizzando la distanza tra predizione fornita dal modello e dati:

$$\hat{p}_{WLS} = \underset{p}{\text{argmin}} \|z - G(p)\|_{\Sigma_v^{-1}}^2 = \underset{p}{\text{argmin}} \underbrace{[z - G(p)]^T \Sigma_v^{-1} [z - G(p)]}_{\text{funzione costo } J(p)} \quad (\text{Eq. 4.8})$$

dove spesso il vettore predizioni $G(p)$ non è lineare in p , e quindi si parla di stima ai minimi quadrati non lineari pesati *WNLS* (come accade infatti nei modelli utilizzati in questa tesi).

Quando il problema è formulato come in Eq. 4.8, cioè con matrice Σ_v interamente nota, si parla di *pesi assoluti*, mentre se di tale matrice è nota solo B , come nel caso di SD costante e incognita che si presenta nel modello per l'EGP descritto al cap. 3, si parla di *pesi relativi* e si utilizza questa espressione:

$$\hat{p}_{WLS} = \underset{p}{\operatorname{argmin}} \|z - G(p)\|_{B^{-1}}^2 = \underset{p}{\operatorname{argmin}} [z - G(p)]^T B^{-1} [z - G(p)] \quad (\text{Eq. 4.9})$$

in cui si nota che la variabile σ^2 dell'Eq. 4.5 non influenza la minimizzazione della funzione costo rispetto al valore p , quindi anche quando tale grandezza è nota si può considerare direttamente il problema in Eq. 4.9. Se il valore di σ^2 è incognito, una volta risolta l'Eq. 4.9, esso è stimabile a posteriori dividendo il valore della funzione costo (weighted residual sum of squares, *WRSS*) nel punto di minimo per il numero di gradi di libertà (ovvero numero di dati usati N nell'identificazione, e numero di parametri M del modello):

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{WRSS(\hat{p})}{N-M} = \frac{[z-G(\hat{p})]^T B^{-1} [z-G(\hat{p})]}{N-M} \quad (\text{Eq. 4.10})$$

Una volta stimati i parametri come appena spiegato, è importante valutare la precisione di tali stime; infatti i dati da cui si ottiene la stima risultano incerti a causa dell'errore di misura, perciò anche il vettore delle stime dei parametri è incerto.

L'errore di stima è definito come:

$$\tilde{p} = p - \hat{p} \quad (\text{Eq. 4.11})$$

in cui p è il valore vero ma incognito del vettore parametri. Se $E[\tilde{p}]$ ha media nulla, ovvero $E[\hat{p}] = p$, si misura la precisione delle stime dalla matrice di covarianza dell'errore di stima:

$$\operatorname{cov}[\tilde{p}] = E[\tilde{p}\tilde{p}^T] \quad (\text{Eq. 4.12})$$

Questa matrice dà un'informazione quantitativa sul range di valori che l'errore di stima può assumere, fornendo dunque una misura della precisione con cui stimiamo il vettore p [1].

Possiamo a questo punto definire:

- Standard deviation della stima: $SD(\tilde{p}_i) = \sqrt{\operatorname{var}(\tilde{p}_i)}$
- Intervallo di confidenza: $\hat{p}_i \pm SD(\hat{p}_i)$
- Coefficiente di variazione della stime: $CV(\hat{p}_i) = 100 \cdot \frac{SD(\hat{p}_i)}{\hat{p}_i}$

Nel caso non lineare in esame detta matrice di covarianza delle stime ha la seguente espressione:

$$\text{cov}(\hat{p}) = \text{cov}(\hat{p}) \cong (S^T \Sigma_v^{-1} S)^{-1} = F(p)|_{\hat{p}} \quad (\text{Eq. 4.13})$$

dove $F(p)$ è la matrice di informazione di Fisher e S matrice di elementi:

$$S_{ij} = \left. \frac{\partial g(t_i, p)}{\partial p_j} \right|_{p=\hat{p}} \quad (\text{Eq. 4.14})$$

4.1.2 Metodo Bayesiano: stimatore Maximum a Posteriori (MAP)

Contrariamente al metodo Fisheriano, quello Bayesiano utilizza delle informazioni statistiche e considera p un vettore aleatorio di cui si stima una realizzazione usando non solo i dati sperimentali (informazione *a posteriori*), ma che dell'informazione *a priori* indipendente dai dati.

Con il metodo Bayesiano il vettore p ha una densità di probabilità *a priori* data da:

$$f_p(p) = f_{p_1 p_2 \dots p_M}(p_1, p_2, \dots, p_M) \quad (\text{Eq. 4.15})$$

E' possibile definire anche la densità di probabilità *a posteriori* di tale vettore:

$$f_{p|z}(p|z) = f_{p_1 p_2 \dots p_M | z_1 z_2 \dots z_M}(p_1, p_2, \dots, p_M | z_1, z_2, \dots, z_M) \quad (\text{Eq. 4.16})$$

dove z è il vettore aleatorio delle misure. In base alla regola di Bayes la densità di probabilità a posteriori del vettore p può essere anche scritta come:

$$f_{p|z}(p|z) = \frac{f_{z|p}(z|p)f_p(p)}{f_z(z)} = \frac{f_{z_1 z_2 \dots z_M | p_1 p_2 \dots p_M}(z_1, z_2, \dots, z_M | p_1, p_2, \dots, p_M) f_{p_1 p_2 \dots p_M}(p_1, p_2, \dots, p_M)}{f_{z_1 z_2 \dots z_M}(z_1, z_2, \dots, z_M)} \quad (\text{Eq. 4.17})$$

$$\text{in cui: } f_z(z) = f_{z_1 z_2 \dots z_M}(z_1, z_2, \dots, z_M) \quad (\text{Eq. 4.18})$$

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

A questo punto si può utilizzare uno stimatore Bayesiano di tipo Maximum a Posteriori (MAP), definito come quello per cui, fissato il valore z del vettore dei dati l'Eq. 4.16 è massima:

$$\hat{p}_{MAP} = \underset{p}{\text{argmax}} f_{p|z}(p|z) \quad (\text{Eq. 4.19})$$

Sfruttando ora la regola di Bayes si verifica che trovare il vettore p che massimizza l'Eq. 4.17, essendo $f_z(z)$ indipendente da p , equivale a massimizzarne il solo numeratore:

$$\hat{p}_{MAP} = \underset{p}{\operatorname{argmax}} f_{z|p}(z|p)f_p(p) \quad (\text{Eq. 4.20})$$

La funzione $f_{z|p}(z|p)$ è strettamente legata alla densità di probabilità $f_v(v)$ del vettore errore di misura v . Nel caso poi di rumore v gaussiano, a media nulla e matrice di covarianza dell'Eq. 4.5, il vettore aleatorio z noto p è gaussiano con valore atteso $G(p)$ e matrice di covarianza sempre data dall'Eq. 4.5, per cui:

$$f_{z|p}(z|p) = \frac{1}{[(2\pi)^N \det(\Sigma_v)]^{1/2}} \exp\left(-\frac{1}{2}[z - G(p)]^T \Sigma_v^{-1}[z - G(p)]\right) \quad (\text{Eq. 4.21})$$

La funzione $f_p(p)$ è invece legata all'informazione a priori disponibile sul vettore p incognito; assumendo poi che p sia estratto da una distribuzione gaussiana con media μ_p e varianza Σ_p si ha:

$$f_p(p) = \frac{1}{[(2\pi)^M \det(\Sigma_p)]^{1/2}} \exp\left(-\frac{1}{2}(p - \mu_p)^T \Sigma_p^{-1}(p - \mu_p)\right) \quad (\text{Eq. 4.22})$$

Poiché la funzione da massimizzare rispetto a p è data dal prodotto delle Eq. 4.21 e 4.22, componendo col logaritmo e cambiando il segno si ottiene che il problema di Eq. 4.20 equivale qui a:

$$\hat{p}_{MAP} = \underset{p}{\operatorname{argmin}} [z - G(p)]^T \Sigma_v^{-1}[z - G(p)] + (p - \mu_p)^T \Sigma_p^{-1}(p - \mu_p) \quad (\text{Eq. 4.23})$$

E' bene notare che anche in caso di gaussianità la funzione costo di Eq. 4.23 non è quadratica a causa della non linearità in p di $G(p)$ e per la sua soluzione è quindi necessario impiegare algoritmi iterativi.

Anche nel caso Bayesiano è possibile valutare la precisione delle stime tramite la matrice:

$$\operatorname{cov}(\tilde{p}) = \Sigma_{\tilde{p}} = E[\tilde{p}\tilde{p}^T] \quad (\text{Eq. 4.24})$$

A differenza dell'approccio Fisheriano, la matrice $F(p)$ risulta ora:

$$F(p)|_{p=\hat{p}} = S^T \Sigma_v^{-1} S + \Sigma_p^{-1} \quad \text{con} \quad p \sim N(\mu, \Sigma_p) \quad (\text{Eq. 4.25})$$

Appare evidente che la funzione costo rappresentata in Eq. 4.23 è costituita da due addendi che realizzano un compromesso tra informazione a posteriori e informazione a priori. Se l'informazione a priori è "vaga" (Σ_p molto elevata, al limite tendente a ∞), la stima di p tende a basarsi sul solo contributo dell'informazione a posteriori, come accade nel metodo *WLS* [1].

4.2 Identificazione: modelli di EGP

4.2.1 Modello lineare della soppressione di EGP

L'obiettivo con questo modello era ottenere una predizione dei valori di EGP nei 62 soggetti, disponendo dei dati relativi a EGP ($mg/kg/min$), glucosio (mg/dl) e insulina ($\mu U/ml$). Questi ultimi due, come si può notare dalle Eq. 3.1, 3.2, 3.3, sono stati utilizzati come funzioni forzanti, ovvero ingressi noti; è infatti evidente la mancanza di equazioni del modello relative a queste due grandezze. Diversamente per ciascun soggetto il vettore EGP costituisce il vettore di dati misurati, chiamato z in base a quanto spiegato prima. Tutti i dati a disposizione hanno una griglia di campionamento:

$t = [-30 \ -20 \ -10 \ 0 \ 5 \ 10 \ 15 \ 20 \ 30 \ 40 \ 50 \ 60 \ 75 \ 90 \ 120 \ 150 \ 180 \ 210 \ 240 \ 280 \ 300 \ 360]$ min

da cui i campioni tra -30 min e 0 sono stati mediati per ottenere i valori basali G_b , I_b e EGP_b .

Per fare ciò, è stato utilizzato uno stimatore ai minimi quadrati non lineari pesati, del tipo spiegato nel paragrafo precedente, implementato in Matlab dalla funzione *lsqnonlin* (che minimizza la WRSS di una funzione data in input, usando il metodo del gradiente). Il caso in questione è quello dei pesi relativi; infatti l'errore è stato supposto bianco, gaussiano, a media nulla e con SD costante ma incognita; la matrice di covarianza dell'errore risulta quella mostrata in Eq. 4.5 nella quale la variabile σ^2 non è nota, mentre la matrice B risulta unitaria. Per ottenere quindi la SD delle misure a posteriori, essa è stata inizialmente posta paria 1 in corrispondenza dei valori positivi di EGP.

Per potere applicare lo stimatore descritto, è necessario avere dei valori iniziali dei parametri che si andranno poi a stimare; per quasi tutti i soggetti sono stati utilizzati:

$$k_G = 0.013 \text{ dl/kg/min}$$

$$k_{GR} = 0.148 \text{ dl/kg}$$

$$k_1 = 0.021 \text{ min}^{-1}$$

$$k_2 = 0.0458 \text{ mg/kg/min per } \mu\text{U/ml}$$

mentre per alcuni di essi sono state usate delle piccole variazioni di tali punti di partenza, per evitare che l'algoritmo iterativo di ricerca del minimo si fermasse in un minimo locale della funzione obiettivo.

Dopo aver stimato i parametri con *lsqnonlin* (che richiama a sua volta anche un solutore delle equazioni differenziali del modello, per l'appunto la funzione *ode45*), sono stati ricavati gli indici di sensibilità insulinica e efficacia del glucosio epatici S_I^L e GE^L tramite le Eq. 3.4, 3.5.

Quindi, essendo $M = 4$ parametri, $N = 18$ lunghezza del vettore dati di EGP (con $t > 0$) e $WRSS$ risultato di *lsqnonlin*, è stato ottenuto il valore σ^2 con l'Eq. 4.10, in modo da poter finalmente ottenere la SD delle misure:

$$SD = \sqrt{\sigma^2} \quad (\text{Eq. 4.26})$$

A questo punto è stata applicata l'Eq. 4.13 per ottenere la covarianza delle stime, tale espressione diventa concretamente nel caso dei pesi relativi:

$$\text{cov}(\tilde{p}) = \text{cov}(\hat{p}) \cong \sigma^2 (S^T \Sigma_v^{-1} S)^{-1} \quad (\text{Eq. 4.27})$$

in cui, grazie ad un'altra variabile in uscita di *lsqnonlin* (si veda l'Appendice) detta Jacobian (J), è possibile effettivamente operare il calcolo nella forma equivalente:

$$\text{cov}(\tilde{p}) = \text{cov}(\hat{p}) \cong \sigma^2 (J^T J)^{-1} \quad (\text{Eq. 4.28})$$

Da qui è stato poi ottenuto il CV delle stime, in base a quanto prima spiegato.

Infine dall'espressione:

$$y = z - r \quad (\text{Eq. 4.29})$$

dove r rappresenta il vettore dei *residui* (che descrivono l'errore di misura), è stata ricavata la predizione di EGP (essendo i residui un'altra variabile ottenibile da *lsqnonlin*). Come ultimo risultato sono stati ricavati anche i *residui pesati*, dati per definizione, campione per campione, da:

$$wr_k = \frac{r_k}{SD_k} \quad (\text{Eq. 4.30})$$

4.2.2 Modello non lineare della soppressione di EGP

Per tale modello è stato utilizzato esattamente lo stesso procedimento spiegato per quello precedente, tenendo però conto della diversa espressione dell'EGP mostrata in Eq. 3.6. Di conseguenza i parametri da stimare risultano ora $M=5$ per la presenza di β , e le loro unità di misura e i valori iniziali cambiano rispetto al caso precedente in questo modo:

$$k_G = 0.013/EGP_b \text{ dl/mg}$$

$$k_{GR} = 0.148/EGP_b \text{ dl}\cdot\text{min/mg}$$

$$k_1 = 0.021/EGP_b \text{ min}^{-1}$$

$$k_2 = 0.0458/EGP_b \text{ 1}/(\mu\text{U/ml})$$

$$\beta = EGP_b/2 \text{ adimensionale}$$

Da qui si nota che per ciascun soggetto sono state utilizzate delle stime iniziali leggermente diverse, essendo infatti EGP_b un valore individuale; come detto prima, anche in questo caso all'occorrenza sono stati variati tali punti di partenza, sempre per evitare di fermarsi in minimi locali.

4.3 Identificazione: modello minimo del glucosio “freddo”

4.3.1 Modello monocompartimentale (1C)

Con questo modello si procede in modo da ottenere una predizione dell'andamento della concentrazione plasmatica di glucosio per ciascuno dei 57 soggetti (di cui 30 “prandial” e 27 “pre-prandial”), disponendo nel data-set di dati relativi al glucosio (mg/dl), insulina ($\mu\text{U/ml}$) e infusione di glucosio ($mg/kg/min$). Come si può notare dall'Eq. 3.13, l'insulina anche in questo caso è stata utilizzata come funzione forzante, ovvero ingresso noto, mentre il glucosio costituisce per ogni soggetto il vettore di dati misurati z .

I dati a disposizione hanno la seguente griglia di campionamento:

$t = [-180 -178 -170 -140 -100 -30 -20 -10 0 60 120 180 210 220 230 240]$ min
in cui i valori precedenti l'istante $t=0$ sono stati mediati per ottenere i valori basali di glucosio e insulina G_b e I_b .

Anche per questo modello è stato utilizzato uno *stimatore ai minimi quadrati non lineari pesati*, implementato in Matlab dalla funzione *lsqnonlin*, nel caso però dei *pesi assoluti*. Infatti l'errore è stato qui ipotizzato bianco, gaussiano, a media nulla e con un CV del 2%.

Come valori iniziali dei parametri sono stati utilizzati:

$$S_G = 0.02 \text{ min}^{-1}$$

$$p_2 = 0.013 \text{ min}^{-1}$$

$$S_I = 0.0005 \text{ min}^{-1} \text{ per } \mu\text{U/ml}$$

$$V = 1.75 \text{ dl/kg}$$

Dopo aver ottenuto le stime dei parametri tramite *lsqnonlin*, è stata ricavata la covarianza delle stime come segue:

$$\text{cov}(\hat{p}) = \text{cov}(\hat{p}) \cong (S^T \Sigma_v^{-1} S)^{-1} \quad (\text{Eq. 4.31})$$

ovvero:

$$\text{cov}(\hat{p}) = \text{cov}(\hat{p}) \cong (J^T J)^{-1} \quad (\text{Eq. 4.32})$$

Quindi sono stati ricavati la *SD* e il *CV* delle stime:

$$SD(\hat{p}_i) = \sqrt{\text{diag}(\text{cov}(\hat{p}))} \quad (\text{Eq. 4.33})$$

$$CV(\hat{p}_i) = 100 \cdot \frac{SD(\hat{p}_i)}{\hat{p}_i} \quad (\text{Eq. 4.34})$$

Infine, come risultato diretto di *lsqnonlin*, sono stati ottenuti i residui pesati wr , da cui, tramite formule inverse di quelle spiegate in precedenza, è stata derivata una predizione y della concentrazione plasmatica di glucosio:

$$y = z - r = z - wr \cdot SD \quad (\text{Eq. 4.35})$$

4.3.2 Modello bicompartimentale (2C)

Dopo avere utilizzato un modello 1C, è stato implementato, ai fini di migliorare le predizioni finali, un modello 2C descritto dall'Eq. 3.16. La sua realizzazione in Matlab è molto simile a quella del caso precedente, solo che sono ora presenti due ulteriori parametri: k_{12} e k_{21} , i coefficienti di trasferimento tra i due compartimenti di glucosio, che rendono così il numero di parametri pari a $M=6$.

I valori iniziali dei parametri sono gli stessi elencati prima, a differenza del volume V che è ora abbassato a 1 dl/kg a causa dell'aggiunta del secondo compartimento; per i due coefficienti aggiuntivi sono stati usati:

$$k_{21} = 0.05 \text{ min}^{-1}$$

$$k_{12} = 0.07 \text{ min}^{-1}$$

A differenza di prima, qui viene impiegato uno *stimatore MAP*: è infatti a disposizione una conoscenza a priori sui due parametri k_{12} e k_{21} :

$$\mu = \begin{bmatrix} k_{21} \\ k_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.05 \\ 0.07 \end{bmatrix} \quad (\text{Eq. 4.36})$$

$$\Omega = \begin{bmatrix} \omega_1^2 & \rho\omega_1\omega_2 \\ \rho\omega_1\omega_2 & \omega_2^2 \end{bmatrix} \quad (\text{Eq. 4.37})$$

$$\text{con } \omega_1 = 0.013, \omega_2 = 0.018, \rho = 0.9$$

dove μ e Ω sono rispettivamente media e covarianza della distribuzione gaussiana da cui è estratto il vettore dei parametri.

Detto questo, si procede come spiegato per il modello monocompartimentale con l'ausilio di *lsqnonlin*, tenendo però conto dell'esistenza dell'informazione a priori sia nella costruzione della funzione obiettivo (si veda l'Appendice), che andrà modificata secondo l'Eq. 4.23 aggiungendo quindi il relativo termine, sia nel calcolo della covarianza delle stime, che in base all'Eq. 4.25 diventa ora:

$$\text{cov}(\tilde{p}) = \text{cov}(\hat{p}) \cong (S^T \Sigma_v^{-1} S + \Omega_p^{-1})^{-1} \quad (\text{Eq. 4.38})$$

ovvero:

$$\text{cov}(\tilde{p}) = \text{cov}(\hat{p}) \cong (J^T J + \Omega_p^{-1})^{-1} \quad (\text{Eq. 4.39})$$

in cui Ω_p^{-1} è una matrice 6×6 (poiché 6 sono i parametri da stimare) che ha l'inversa di Ω nelle posizioni relative a k_{12} e k_{21} (di cui disponiamo effettivamente di un'informazione a priori), e zero nelle rimanenti posizioni (corrispondenti agli altri 4 parametri di cui non abbiamo alcuna informazione a priori).

4.4 Identificazione: modello minimo del glucosio con tracciante

4.4.1 Modello monocompartimentale (1C)

I metodi utilizzati per il modello 1C con tracciante sono analoghi a quelli adoperati nel caso monocompartimentale “freddo”, tenendo conto però della differenza presente nelle equazioni differenziali mostrata in Eq. 3.17. I dati qui utilizzati sono la concentrazione di tracciante [$3\text{-}^3\text{H}$]glucosio (in dpm/ml), di cui si mira ad ottenere la predizione, e la sua infusione (in $dpm/kg(BW)/min$).

La griglia di campionamento è chiaramente la stessa impiegata per il modello freddo 1C, come anche la stima iniziale dei parametri, facendo però qui attenzione alla presenza del volume V in ml/kg e quindi moltiplicandone il valore precedente per un fattore 100; anche le altre informazioni a posteriori a disposizione sono le medesime. Fatte tali precisazioni la procedura è quindi la stessa, tramite l'impiego di uno *stimatore ai minimi quadrati non lineari pesati* implementato in Matlab nel caso dei *pesi assoluti*; l'errore è stato ipotizzato bianco, gaussiano, a media nulla e con un CV del 5%.

4.4.2 Modello bicompartimentale (2C)

Per questo modello è stato usato uno *stimatore ai minimi quadrati non lineari pesati*, implementato in Matlab dalla funzione *lsqnonlin*, nel caso dei *pesi assoluti*. L'errore è stato ipotizzato bianco, gaussiano, a media nulla e con un CV del 5%.

I valori iniziali dei parametri sono:

$$S_G^* = 0.04 \text{ min}^{-1}$$

$$V^* = 100 \text{ ml/kg}$$

$$p_2^* = 0.013 \text{ min}^{-1}$$

$$S_I^* = 0.0005 \text{ min}^{-1} \text{ per } \mu U/ml$$

$$k_{21}^* = 0.05 \text{ min}^{-1}$$

$$k_{12}^* = 0.07 \text{ min}^{-1}$$

Dopo l'applicazione di *lsqnonlin* si è proceduto come spiegato prima per il modello freddo 1C (si veda l'Appendice).

5. RISULTATI

5.1 Identificazione

In questo paragrafo sono riportati i risultati delle identificazioni dei modelli precedentemente descritti, in particolare i grafici dei fit e dei residui pesati medi, attraverso cui è possibile valutare l'adeguatezza dei modelli usati per descrivere i dati a disposizione.

Sono inoltre presentati i valori medi, *standard deviation* (SD), e *standard error* ($SE = SD/\sqrt{\text{num.sogg}}$) delle stime dei parametri, in particolare quelle relative agli indici metabolici S_I , GE , S_I^L , GE^L , S_I^* , GE^* , e le loro precisioni in termini di *coefficiente di variazione* (CV).

5.1.1 Modelli della soppressione di EGP

5.1.1.1 Modello lineare della soppressione di EGP

Di seguito vengono mostrati i risultati dell'identificazione del modello lineare della soppressione di EGP sull'intero data base iniziale di 62 soggetti, nel caso in cui vengono pesati tutti i valori (inclusi quelli negativi e quindi non fisiologici) di EGP.

Dalle Figure 5.1-5.2 si può notare che il modello fornisce una buona descrizione dei dati di EGP sia in termine di fit (che tra l'altro nella media appare sempre positivo), sia di residui pesati, che risultano infatti del tutto compresi tra -1 e 1 e piuttosto scorrelati.

In Tabella 5.1 sono presentati medie, SD, e SE dei parametri, con i loro CV. In Tabella 5.2 si trovano invece gli indici metabolici S_I^L (il cui valore per comodità comparirà sempre moltiplicato per 10^4) e GE^L .

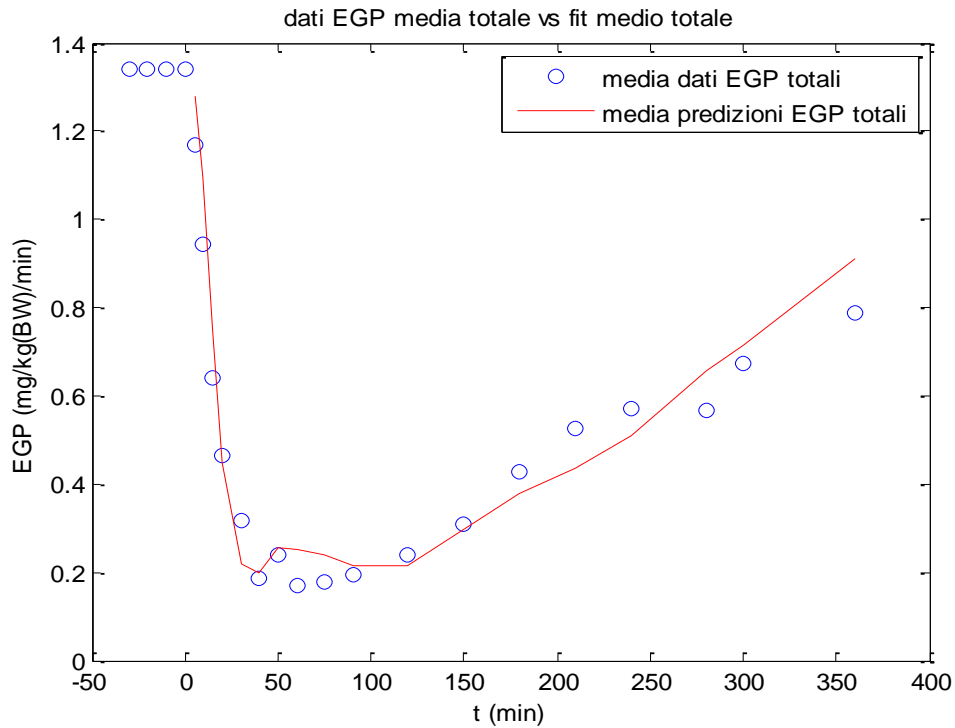


Figura 5.1: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP ottenuto col modello lineare per tutti i 62 soggetti, pesando anche i campioni negativi.

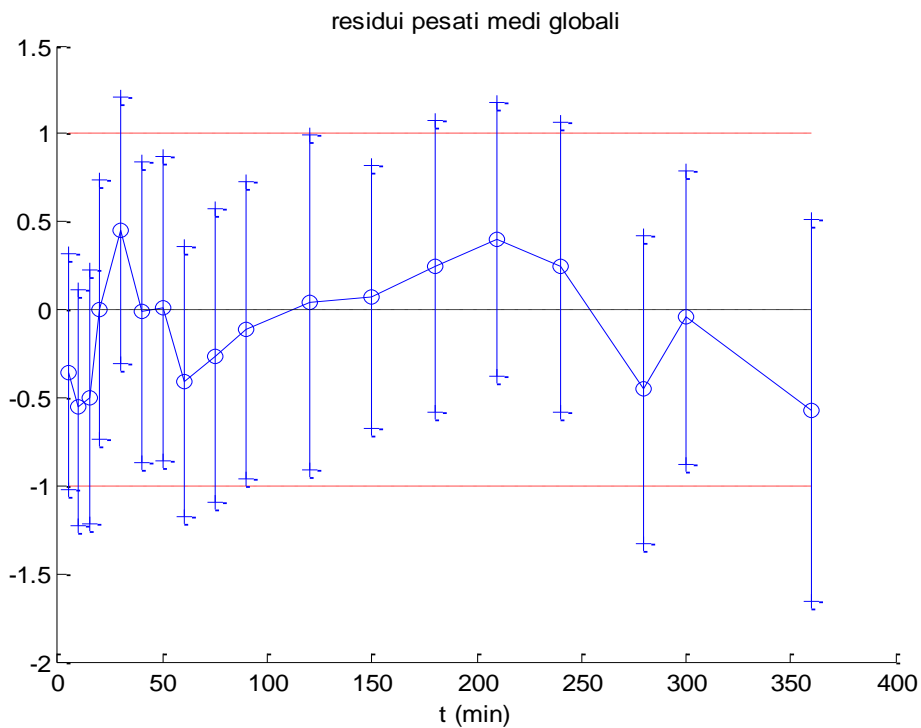


Figura 5.2: Andamento temporale medio dei residui pesati ottenuto col modello lineare per tutti i 62 soggetti, pesando anche i campioni negativi di EGP (le barre verticali indicano la SD).

| | k_G (dl/kg/ min) | CV (%) | k_{GR} (dl/kg) | CV (%) | k_1 (min ⁻¹) | CV (%) | k_2 (mg/kg /min per μU/ml) | CV (%) |
|--------------|--------------------------|-----------|---------------------|-----------|-------------------------------|-----------|--|-----------|
| Media | 0.0098 | 18 | 0.1950 | 68 | 0.0156 | 14.099 | 0.0374 | 22 |
| SD | 0.0051 | 15 | 0.1544 | 55 | 0.0062 | 15.568 | 0.0244 | 31 |
| SE | 0.0006 | 2 | 0.0196 | 26 | 0.0008 | 1.9772 | 0.0031 | 4 |

Tabella 5.1: Valori medi delle stime dei parametri e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a tutti i 62 soggetti del modello lineare dell'EGP.

| | S_I^L (10 ⁻⁴ ·dl/kg/min per μU/ml) | CV (%) | GE^L (dl/kg/min) | CV (%) |
|--------------|---|--------|--------------------|--------|
| Media | 3.9446 | 22 | 0.0099 | 18 |
| SD | 2.5928 | 31 | 0.0051 | 15 |
| SE | 0.3293 | 6 | 0.0007 | 2 |

Tabella 5.2: Valori medi degli indici metabolici e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a tutti i 62 soggetti del modello lineare dell'EGP.

5.1.1.2 Modello non lineare della soppressione di EGP

Qui di seguito si espongono i risultati dell'identificazione del modello non lineare della soppressione di EGP. Analogamente a prima si presentano i grafici relativi ai fit e i residui pesati medi, quindi delle tabelle che riportano valori medi, SD e SE dei parametri stimati e degli indici metabolici, con corrispondenti CV.

Si ricorda che questo modello, come spiegato nei capitoli precedenti, fornirà sempre delle predizioni positive o al più nulle di EGP. Vengono presentati comunque i risultati delle tre modalità di identificazione impiegate: pesando tutti i campioni (positivi o negativi che siano), azzerando o non pesando i valori negativi (poiché non fisiologici).

1) Tutti i campioni di EGP (negativi inclusi) pesati nella funzione obiettivo

I risultati qui presentati sono relativi a 55 dei 62 soggetti, poiché 7 sono stati scartati a causa di CV troppo elevati.

Dalla Figura 5.3 si nota che tale modello fornisce una descrizione dei dati abbastanza buona. Si vede però che rispetto al corrispondente caso nel modello lineare, la predizione dei campioni compresi tra 0.1 e 0.3 $mg/kg(BW)/min$ sovrastima notevolmente i dati, questo perché la media dei dati include anche i campioni negativi di EGP, e risulta quindi inferiore rispetto alla media delle predizioni, che invece può comprendere valori solo positivi o al limite nulli.

Per quanto riguarda i residui pesati medi, rappresentati in Figura 5.4, si può notare che essi risultano sempre compresi tra -1 e 1 ma meno scorrelati nei primi minuti rispetto al modello precedente.

In Tabella 5.3 sono presentati i valori medi, SD, e SE dei parametri, accompagnati dai loro CV, mentre in Tabella 5.4 vi sono i valori medi degli indici metabolici S_I^L e GE^L . Si nota subito che, rispetto al modello precedente, i CV risultano più elevati: è infatti ragionevole aspettarsi che, all'aumentare del numero di parametri del modello, diminuisca la precisione delle stime e aumenti la sensibilità dei valori puntuali delle stime al rumore di misura. Tanto è vero che, inserendo una non linearità nel modello, è stato aggiunto il parametro β , ottenendo così $M=5$ e non più 4 parametri.

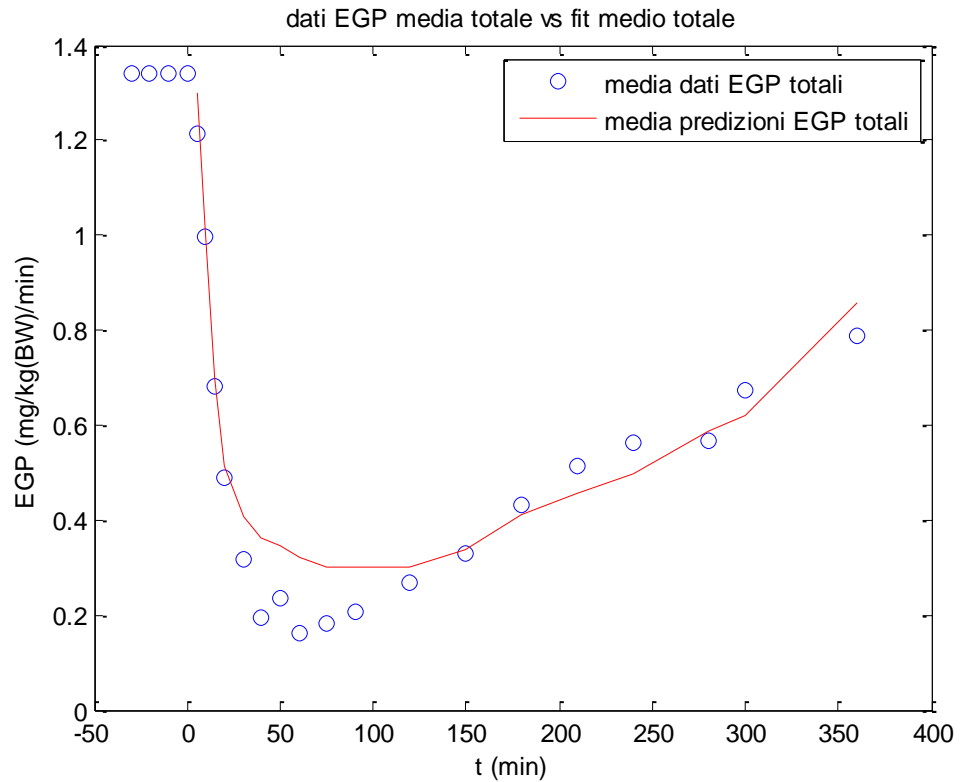


Figura 5.3: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP ottenuto col modello non lineare per 55 soggetti, pesando anche i campioni negativi.

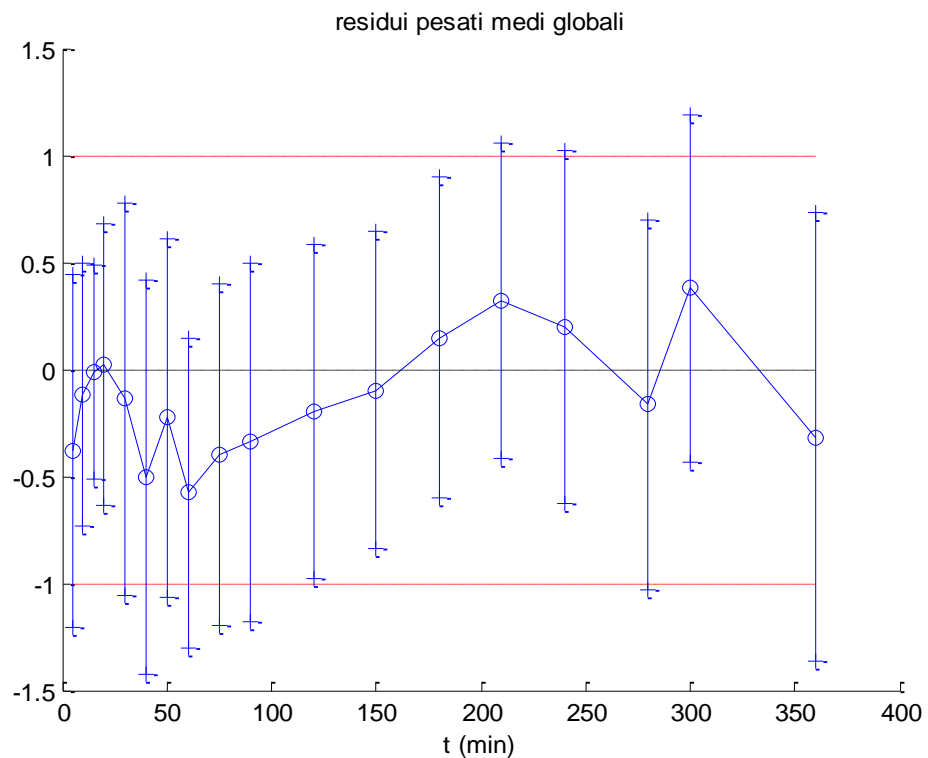


Figura 5.4: Andamento temporale medio dei residui pesati ottenuto col modello non lineare per 55 soggetti, pesando anche i campioni negativi di EGP (le barre verticali indicano la SD).

5. RISULTATI

| | k_G (dl/mg) | CV (%) | k_{GR} (dl·min/kg) | CV (%) |
|--------------|---------------|--------|-------------------------|--------|
| Media | 0.0209 | 164 | 0.2079 | 190 |
| SD | 0.0164 | 204 | 0.2596 | 177 |
| SE | 0.0022 | 28 | 0.0350 | 24 |

| | k_1 (min ⁻¹) | CV (%) | k_2 (1/(μ U/ml)) | CV (%) | β | CV (%) |
|--------------|-------------------------------|--------|----------------------------|--------|---------|--------|
| Media | 0.0221 | 48 | 0.0476 | 68 | 0.6266 | 101 |
| SD | 0.0104 | 89 | 0.0159 | 96 | 0.3599 | 109 |
| SE | 0.0014 | 12 | 0.0021 | 13 | 0.0459 | 15 |

Tabella 5.3: Valori medi delle stime dei parametri e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 55 soggetti del modello non lineare dell'EGP, nel caso in cui si pesano anche i campioni negativi.

| | S_I^L (10^{-4} ·dl/kg/min per μ U/ml) | CV (%) | GE^L (dl/kg/min) | CV (%) |
|--------------|---|--------|--------------------|--------|
| Media | 15.3638 | 130 | 0.0614 | 200 |
| SD | 15.6269 | 138 | 0.0656 | 225 |
| SE | 2.1071 | 25 | 0.0088 | 40 |

Tabella 5.4: Valori medi degli indici metabolici e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 55 soggetti del modello non lineare dell'EGP, nel caso in cui si pesano anche i campioni negativi.

2) Campioni negativi di EGP sostituiti con valori nulli nella funzione obiettivo

I risultati qui presentati sono relativi a 57 dei 62 soggetti, poiché 5 di questi sono stati scartati a causa di CV troppo elevati.

Dalla Figura 5.5 si nota che il fit medio, rispetto al caso precedente risulta più vicino al valore medio dei dati (in cui infatti i campioni negativi sono stati azzerati). In Figura 5.6 si vedono i residui pesati medi, che dimostrano avere caratteristiche simili a quelli mostrati in Figura 5.4.

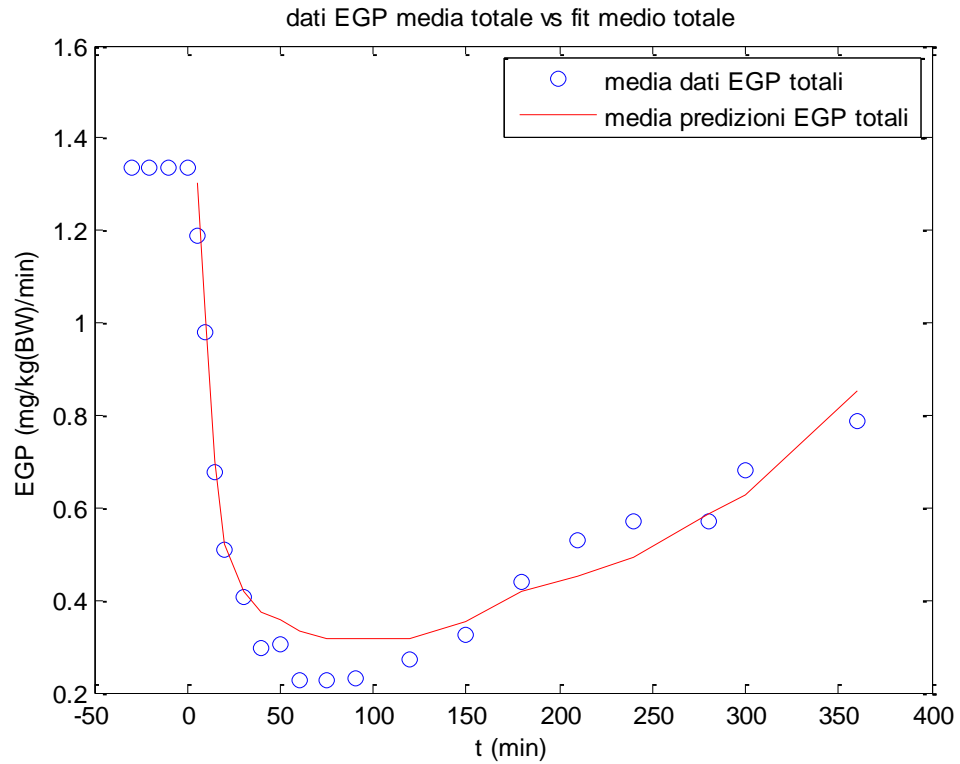


Figura 5.5: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP ottenuto col modello non lineare per 57 soggetti, azzerando i campioni negativi.

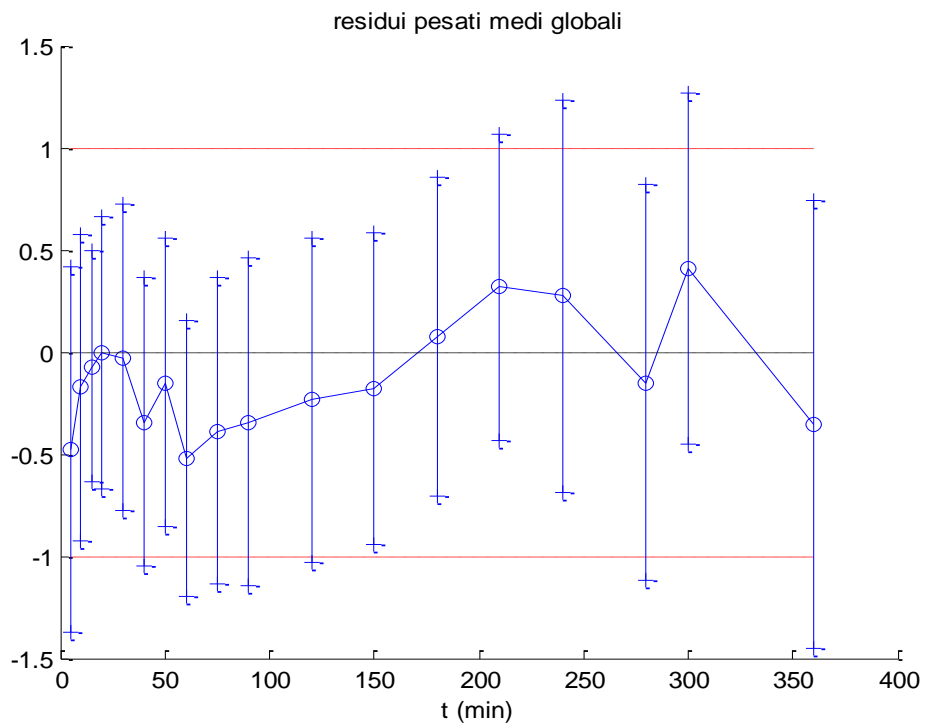


Figura 5.6: Andamento temporale medio dei residui pesati ottenuto col modello non lineare per 57 soggetti, azzerando i campioni negativi di EGP (le barre verticali indicano la SD).

5. RISULTATI

In Tabella 5.5 sono presentati valori medi, SD, e SE dei parametri, accompagnati dai loro CV, mentre in Tabella 5.6 vi sono le medie degli indici metabolici S_I^L e GE^L . Si può vedere che, confrontandoli col caso prima trattato, i CV risultano appena meno elevati per k_G e k_{GR} , mentre per gli altri parametri i valori restano quasi gli stessi. Inoltre gli indici metabolici risultano di poco inferiori, in media, SD, SE, e i CV appaiono paragonabili.

| | k_G (dl/mg) | CV (%) | k_{GR} (dl·min/kg) | CV (%) |
|--------------|---------------|--------|----------------------|--------|
| Media | 0.0189 | 158 | 0.2305 | 179 |
| SD | 0.0134 | 147 | 0.2588 | 162 |
| SE | 0.0018 | 20 | 0.0343 | 21 |

| | k_1 (min ⁻¹) | CV (%) | k_2 (1/(μ U/ml)) | CV (%) | β | CV (%) |
|--------------|----------------------------|--------|-------------------------|--------|---------|--------|
| Media | 0.0214 | 48 | 0.0470 | 78 | 0.6380 | 102 |
| SD | 0.0089 | 70 | 0.0230 | 103 | 0.3456 | 94 |
| SE | 0.0012 | 9 | 0.0031 | 14 | 0.0458 | 12 |

Tabella 5.5: Valori medi delle stime dei parametri e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 57 soggetti del modello non lineare dell'EGP, nel caso in cui si azzerano i campioni negativi.

| | S_I^L (10^{-4} ·dl/kg/min per μ U/ml) | CV (%) | GE^L (dl/kg/min) | CV (%) |
|--------------|--|--------|--------------------|--------|
| Media | 13.1893 | 138 | 0.0500 | 192 |
| SD | 10.0206 | 130 | 0.0429 | 172 |
| SE | 1.3272 | 23 | 0.0057 | 31 |

Tabella 5.6: Valori medi degli indici metabolici con relativi CV, SD e SE, corrispondenti a 57 soggetti del modello non lineare dell'EGP, nel caso in cui si azzerano i campioni negativi.

3) Campioni negativi di EGP non pesati nella funzione obiettivo

I risultati qui riportati sono relativi a 54 dei 62 soggetti di partenza, 8 sono stati scartati per CV troppo alti. La non pesatura dei campioni negativi di EGP è stata ottenuta imponendo una varianza elevata (10^{10}) per i suddetti campioni.

In Figura 5.7 è riportato l'andamento temporale medio del fit di EGP verso i dati, è possibile notare un comportamento migliore dei due casi prima descritti: la predizione risulta più prossima ai dati, nei quali infatti non sono considerati i campioni negativi. I residui pesati, rappresentati in Figura 5.8, risultano meno correlati rispetto a quelli riportati in Figure 5.4 e 5.6.

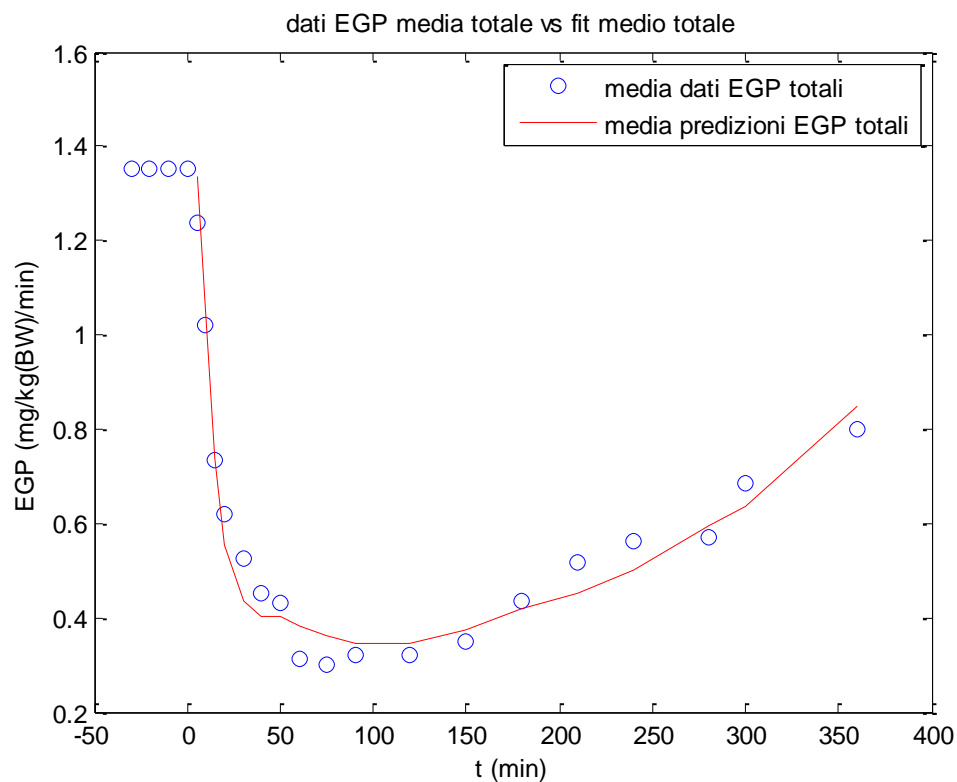


Figura 5.7: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP ottenuto col modello non lineare per 54 soggetti, non pesando i campioni negativi.

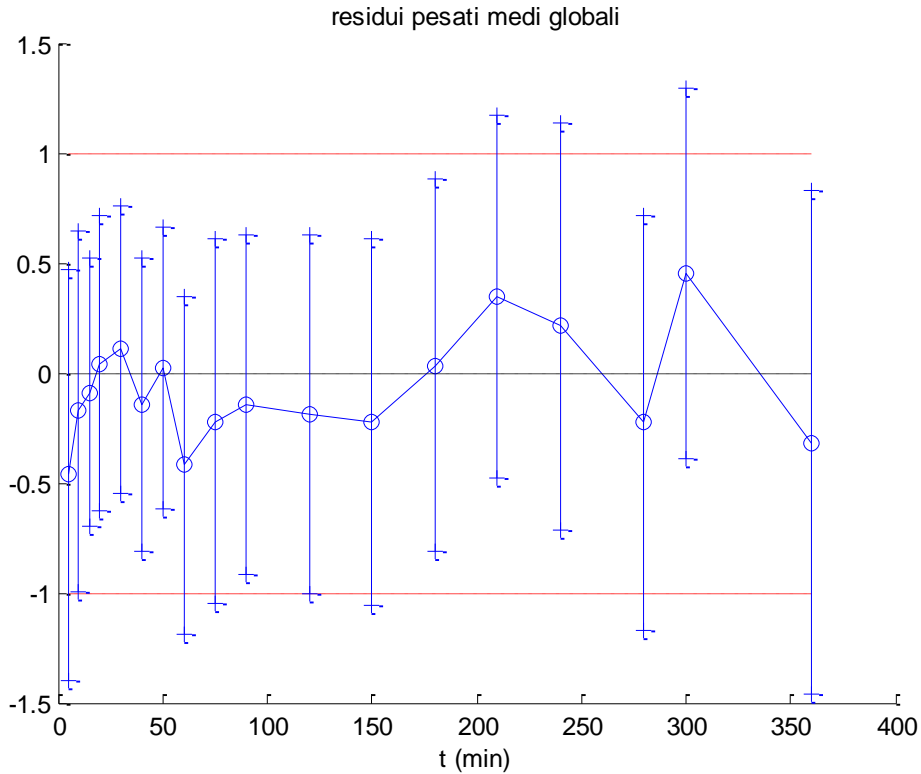


Figura 5.8: Andamento temporale medio dei residui pesati ottenuto col modello non lineare, non pesando i campioni negativi di EGP (le barre verticali indicano la SD) per 54 soggetti.

In Tabella 5.7 sono riportati i valori medi, SD, e SE dei parametri, accompagnati dai loro CV, mentre in Tabella 5.8 vi sono i valori medi degli indici metabolici S_I^L e GE^L . Qui i CV sono molto elevati rispetto ai casi appena visti, questo dipende anche dall'elevata varianza imposta in corrispondenza dei valori negativi dell'EGP, presenti nel 50% dei soggetti a disposizione. Si notano poi dei valori più bassi degli indici metabolici, in media, SD e SE, e ancora dei CV più elevati.

| | k_G (dl/mg) | CV (%) | k_{GR} (dl·min/kg) | CV (%) |
|--------------|---------------|--------|----------------------|--------|
| Media | 0.0159 | 310 | 0.1989 | 300 |
| SD | 0.0124 | 1219 | 0.2118 | 1217 |
| SE | 0.0017 | 166 | 0.0288 | 166 |

| | k_1 (min^{-1}) | CV (%) | k_2 ($1/(\mu\text{U/ml})$) | CV (%) | β | CV (%) |
|--------------|--------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|---------|--------|
| Media | 0.0208 | 38 | 0.0455 | 226 | 0.6833 | 246 |
| SD | 0.0068 | 41 | 0.01288 | 1224 | 0.3382 | 1223 |
| SE | 0.0009 | 6 | 0.0017 | 167 | 0.0460 | 166 |

Tabella 5.7: Valori medi delle stime dei parametri e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 54 soggetti del modello non lineare dell'EGP, nel caso in cui non si pesano i campioni negativi.

| | S_I^L ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | CV (%) | GE^L (dl/kg/min) | CV (%) |
|--------------|--|--------|--------------------|--------|
| Media | 12.1142 | 340 | 0.0382 | 145 |
| SD | 8.6187 | 1729 | 0.0331 | 115 |
| SE | 1.1729 | 311 | 0.0045 | 21 |

Tabella 5.8: Valori medi degli indici metabolici e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 54 soggetti del modello non lineare dell'EGP, nel caso in cui non si pesano i campioni negativi.

5.1.1.3 Modelli della soppressione di EGP: effetto della patologia

Di seguito si riportano i risultati, in termini di fit medi, residui pesati medi, e indici metabolici medi, ottenuti con i due modelli della soppressione di EGP nei gruppi NFG/NGT, IFG, IFG/NGT, NFG/IGT, IFG/IGT, IFG/DM nei soli soggetti con tutti valori positivi di tale flusso (N=31).

- NFG/NGT

In Figure 5.9-5.10 sono presentati rispettivamente gli andamenti medi temporali dei dati vs. il fit di EGP, e dei residui pesati medi per i soggetti NFG/NGT. Si nota nel complesso una buona descrizione dei dati, specialmente nella prima fase (tra $t=0$ e $t=50$ min) da parte di entrambi i modelli. I residui pesati risultano sufficientemente scorrelati e sempre compresi tra -1 e 1 nel caso non lineare, nel

caso lineare l'ultimo campione eccede il valore -1, infatti il fit corrispondente risulta sovrastimare il valore dato.

In Tabella 5.9 sono riportati i valori di entrambi gli indici metabolici. Essi risultano superiori, sia in media che SD, nel modello non lineare rispetto a quello lineare (il pedice *lin* sta per il caso lineare, *nonlin* per quello non lineare).

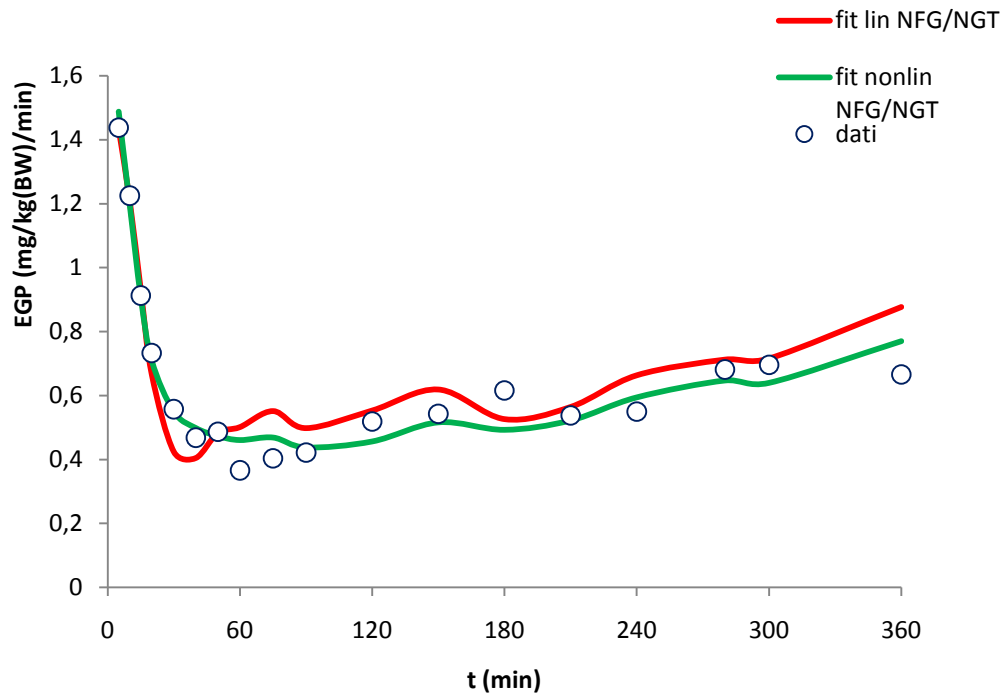


Figura 5.9: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP, nei soggetti NFG/NGT.

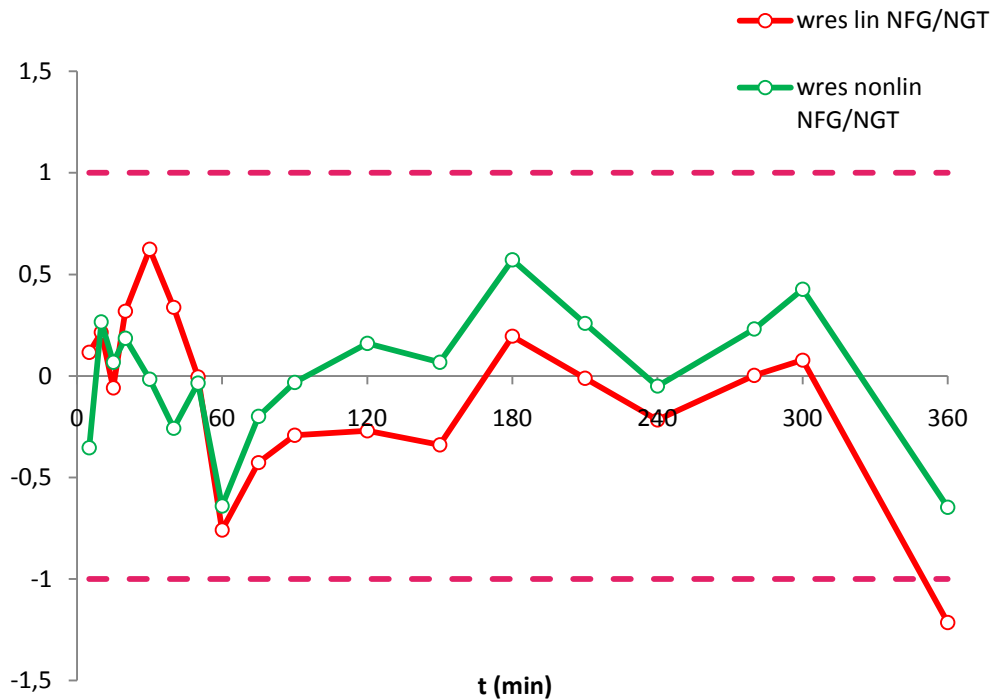


Figura 5.10: Andamento temporale medio dei residui pesati, nei soggetti NFG/NGT.

| | $S_{l,lin}^L$ ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | $S_{l,nonlin}^L$ ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | GE_{lin}^L (dl/kg/min) | GE_{nonlin}^L (dl/kg/min) |
|--------------|---|--|--|---|
| Media | 6.0100 | 18.1821 | 0.00955 | 0.0395 |
| SD | 3.1179 | 8.4168 | 0.003809 | 0.036638 |
| SE | 1.2729 | 3.4362 | 0.0016 | 0.0150 |

Tabella 5.9: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici nei due modelli, nei soggetti NFG/NGT.

- IFG

In Figura 5.11-5.12 sono rappresentati la media dei fit vs. i dati di EGP, e i residui pesati medi per i soggetti IFG. Si nota in entrambi i modelli una buona efficacia nel descrivere i dati a disposizione.

In Tabella 5.10 sono rappresentati gli indici metabolici medi per i soggetti IFG ottenuti con i due modelli. Anche in questo caso è evidente il valore superiore degli indici del modello non lineare. Rispetto poi ai valori trovati nel gruppo NFG/NGT si hanno degli indici evidentemente inferiori, specie per la S_I^L che in entrambi i casi si dimezza.

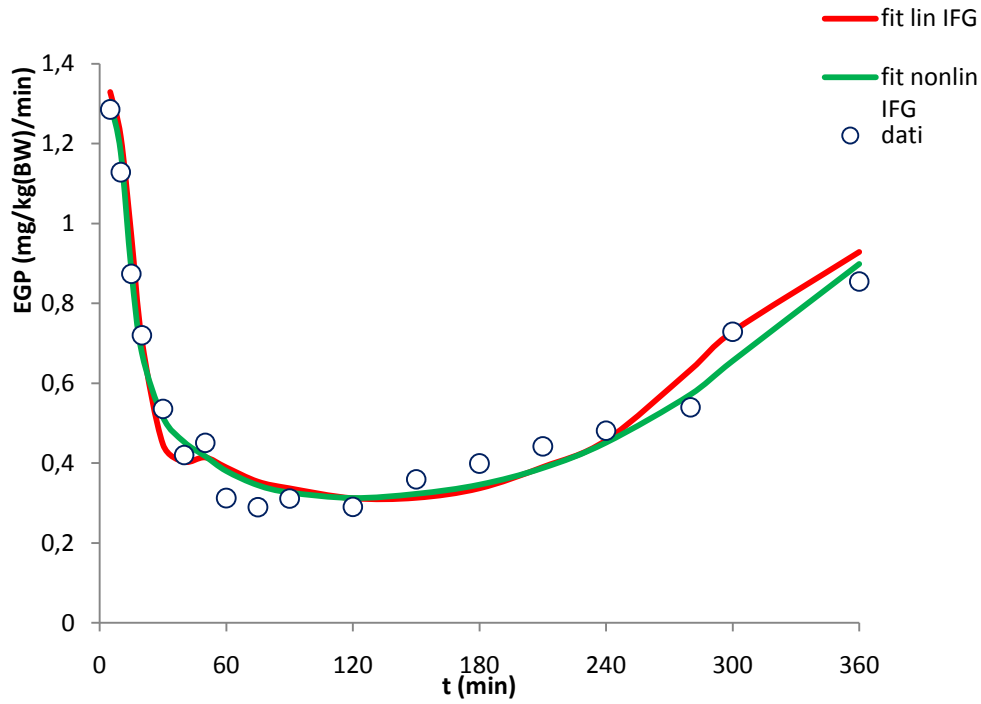


Figura 5.11: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP, nei soggetti IFG.

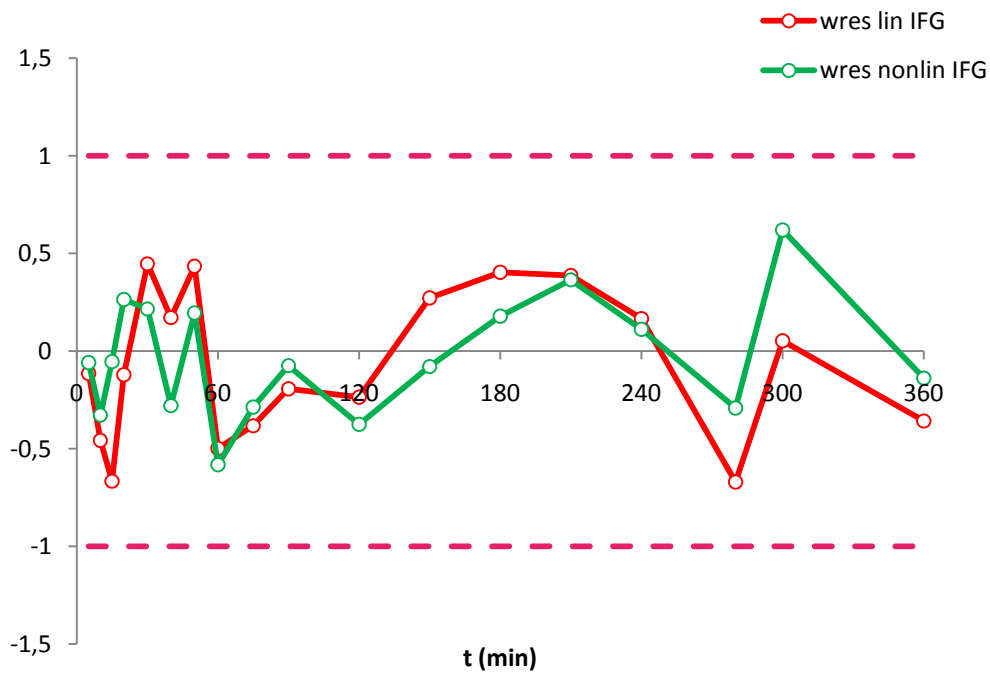


Figura 5.12: Andamento temporale medio dei residui pesati, nei soggetti IFG.

| | $S_{I,lin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | $S_{I,nonlin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | GE_{lin}^L ($dl/kg/min$) | GE_{nonlin}^L ($dl/kg/min$) |
|-------|--|---|---------------------------------|------------------------------------|
| Media | 3.1464 | 9.9609 | 0.0083 | 0.0304 |
| SD | 2.2007 | 6.9038 | 0.0042 | 0.0218 |
| SE | 0.5187 | 1.6272 | 0.0010 | 0.0051 |

Tabella 5.10: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici nei due modelli, per i soggetti IFG.

- IFG/NGT

In Figure 5.13-5.14 si nota ancora una volta una descrizione complessivamente accettabile dei dati da parte di entrambi i modelli. Nello specifico si vede un buon fit del modello non lineare da $t=0$ a $t=30$ min, dopo di che il modello lineare risulta fornire una predizione dei dati migliore; infine nell'ultima porzione (da $t=240$ min a $t=360$ min) il comportamento dei due modelli torna ad essere simile. Il tutto è osservabile anche dai residui pesati, che appaiono sufficientemente scorrelati e quasi tutti compresi tra -1 e 1.

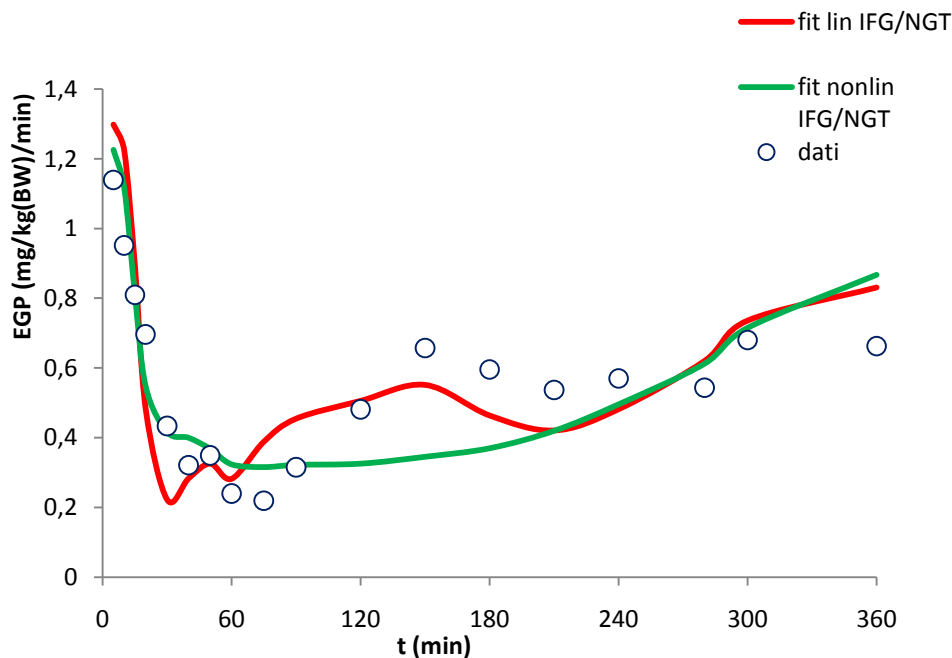


Figura 5.13: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP, nei soggetti IFG/NGT.

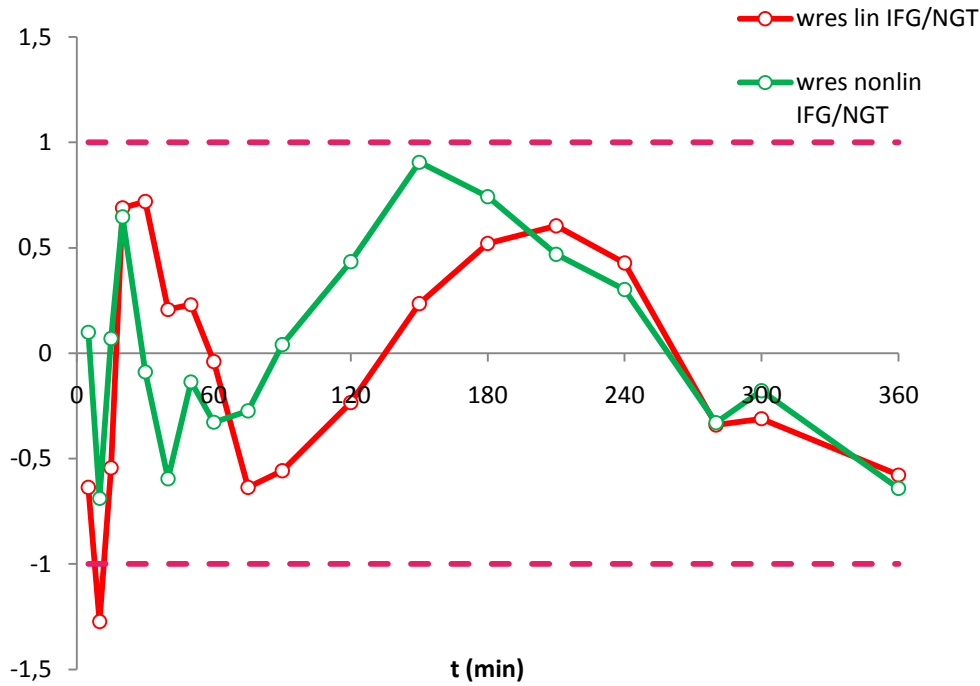


Figura 5.14: Andamento temporale medio dei residui pesati, nei soggetti IFG/NGT.

In Tabella 5.11 si osservano le medie degli indici metabolici che, come ci si poteva aspettare, risultano superiori rispetto a quelli del gruppo IFG per entrambi i modelli (eccetto la GE^L del modello non lineare che resta praticamente la stessa), e inferiori di quelli del gruppo NFG/NGT (tranne GE^L del modello lineare che appare quasi invariata).

| | $S_{I,lin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | $S_{I,nonlin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | GE_{lin}^L ($dl/kg/min$) | GE_{nonlin}^L ($dl/kg/min$) |
|-------|--|---|---------------------------------|------------------------------------|
| Media | 3.9423 | 10.7812 | 0.0100 | 0.0291 |
| SD | 3.0566 | 6.4280 | 0.0045 | 0.0216 |
| SE | 1.5283 | 3.2140 | 0.0023 | 0.0108 |

Tabella 5.11: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici nei due modelli, nei soggetti IFG/NGT.

- NFG/IGT

In Figure 5.15-5.16 si nota che per i soggetti NFG/IGT entrambi i modelli danno una accettabile predizione dei dati. Il primo e l'ultimo campione di EGP risultano di

difficile predizione in entrambi i casi; la porzione iniziale (tra $t=0$ e $t=50$ min) risulta molto fedele ai dati sia nel caso lineare che in quello non lineare, di qui in poi entrambe le predizioni sottostimano i dati, specie nel caso del modello lineare. Tutto ciò si può evincere anche dall'osservazione dei residui pesati medi.

In Tabella 5.12 sono presenti i risultati relativi agli indici metabolici, da cui si possono notare, come da letteratura, dei valori medi inferiori rispetto al gruppo precedentemente trattato.

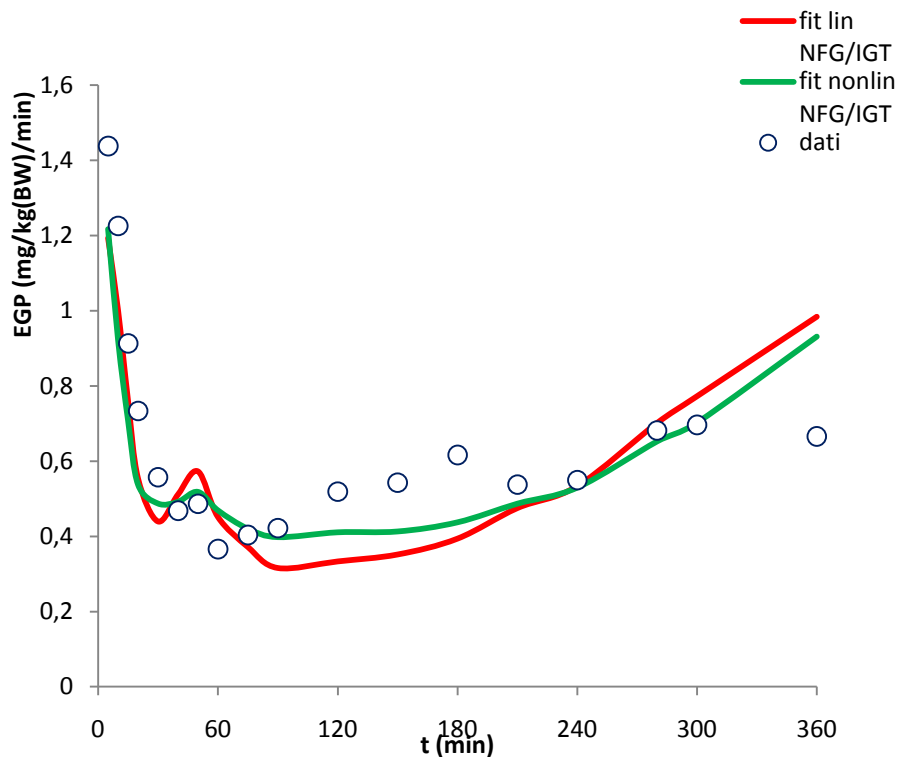


Figura 5.15: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP, nei soggetti NFG/IGT.

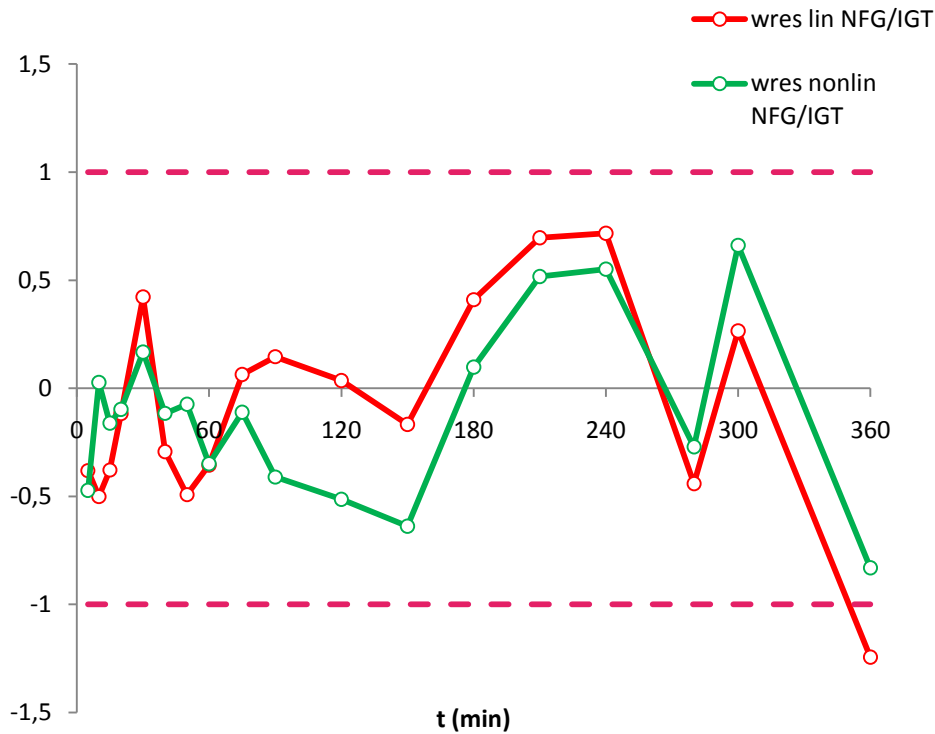


Figura 5.16: Andamento temporale medio dei residui pesati, nei soggetti NFG/IGT.

| | $S_{i,lin}^L$ ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | $S_{i,nonlin}^L$ ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | GE_{lin}^L (dl/kg/min) | GE_{nonlin}^L (dl/kg/min) |
|-------|---|--|--|---|
| Media | 3.2148 | 9.7731 | 0.0075 | 0.0246 |
| SD | 1.9429 | 7.0958 | 0.0036 | 0.0207 |
| SE | 0.7344 | 2.6820 | 0.0014 | 0.0078 |

Tabella 5.12: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici nei due modelli, nei soggetti NFG/IGT.

- IFG/IGT

In Figure 5.17-5.18 è evidente, sia dai fit medi che dai residui pesati medi, una buona descrizione dei dati da parte di entrambi i modelli.

Osservando gli indici metabolici di Tabella 5.13 si trovano dei valori di poco superiori rispetto a quelli rilevati nei soggetti NFG/IGT, ma comunque inferiori rispetto al caso NFG/NGT.

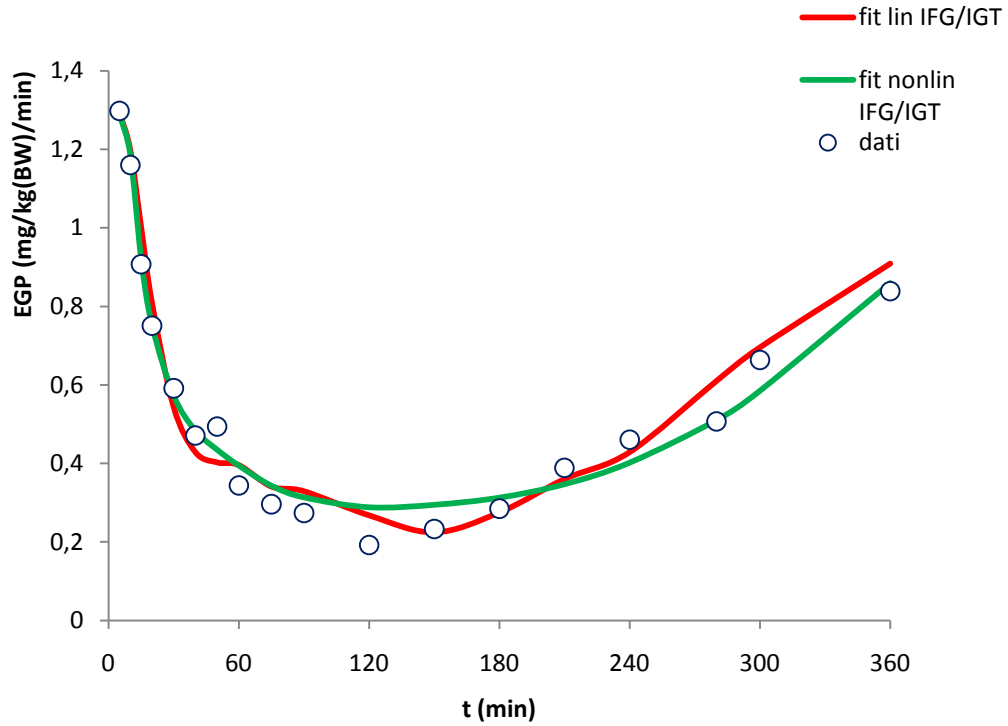


Figura 5.17: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP, nei soggetti IFG/IGT.

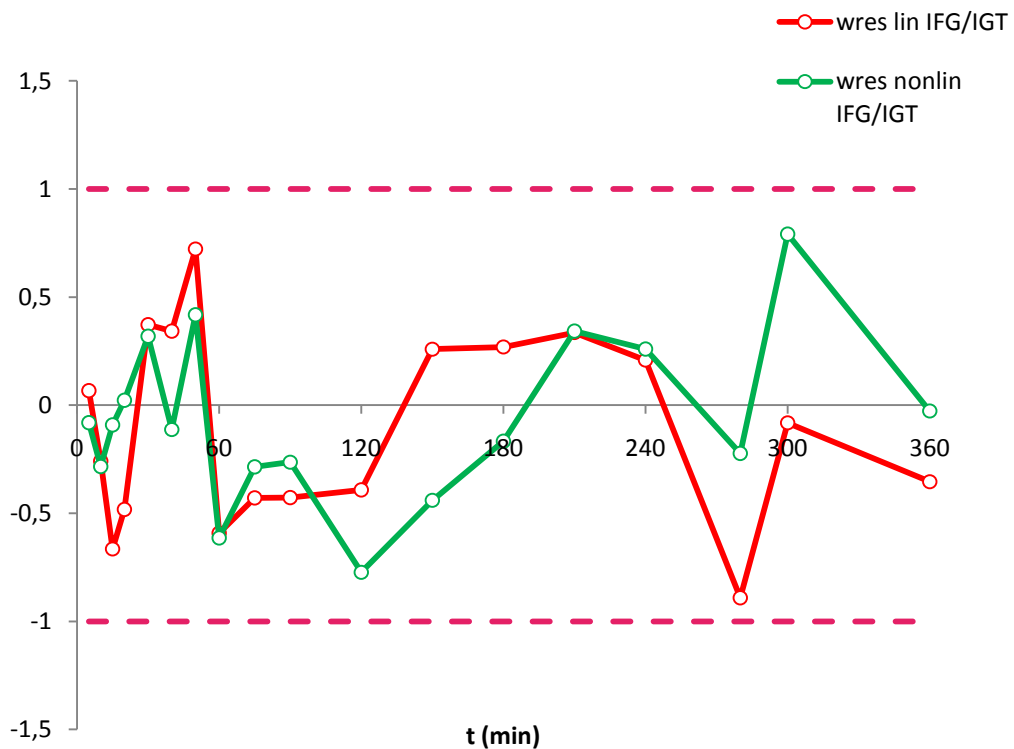


Figura 5.18: Andamento temporale medio dei residui pesati nei soggetti IFG/IGT.

| | $S_{I,lin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | $S_{I,nonlin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | GE_{lin}^L ($dl/kg/min$) | GE_{nonlin}^L ($dl/kg/min$) |
|--------------|--|---|---------------------------------|------------------------------------|
| Media | 3.5375 | 11.9655 | 0.0085 | 0.0300 |
| SD | 2.2277 | 8.1631 | 0.0046 | 0.0219 |
| SE | 0.74265 | 2.7210 | 0.0015 | 0.0073 |

Tabella 5.13: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici nei due modelli, nei soggetti IFG/IGT.

- IFG/DM

In Figure 5.19-5.20 si nota per questa categoria di soggetti un comportamento particolare: in una fase iniziale (da $t=0$ a $t=50$ min) i modelli forniscono entrambi una predizione fedele dei dati, mentre nella porzione centrale (da $t=60$ min a $t=210$ min) la predizione lineare si scosta dai dati più di quella non lineare, e i residui pesati medi del caso lineare risultano più correlati (si vede infatti una fascia di residui tutti positivi); infine (da $t=240$ min a $t=360$ min) i due modelli si comportano in modo piuttosto simile. Nel complesso si evince comunque una descrizione affidabile dei dati in entrambi i casi.

In Tabella 5.14 è evidente ancora una volta il valore più elevato degli indici metabolici ottenuti dal modello non lineare; tali indici, rispetto a quelli della categoria IFG/IGT, risultano tutti inferiori, a parte la GE^L del caso non lineare che appare leggermente più elevata.

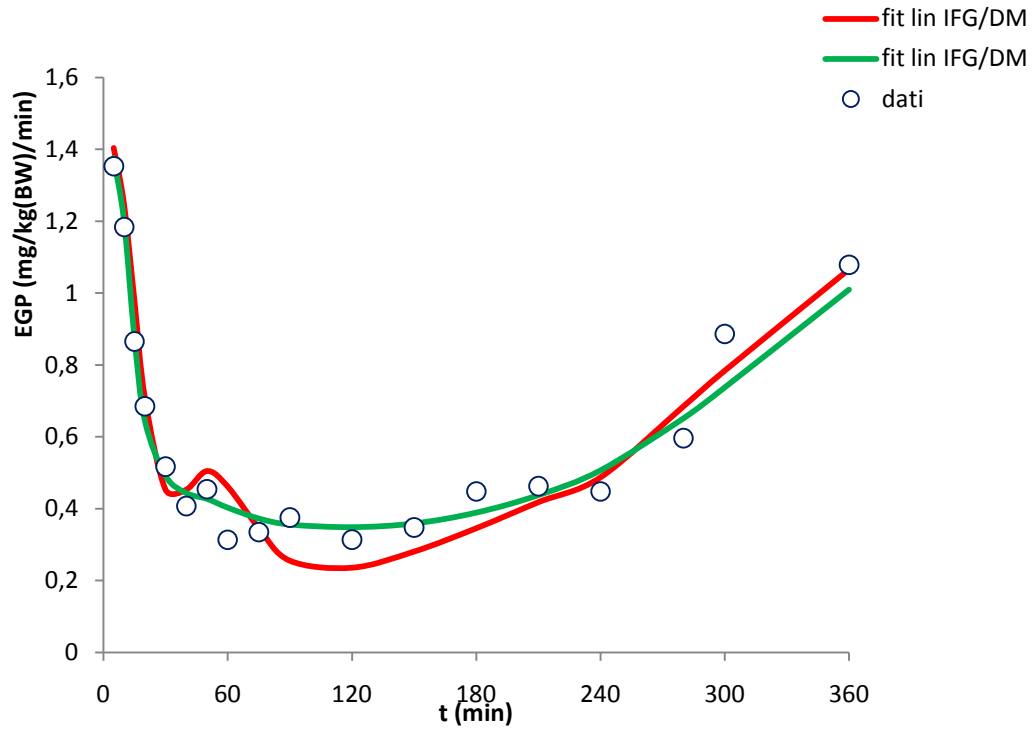


Figura 5.19: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP, nei soggetti IFG/DM.

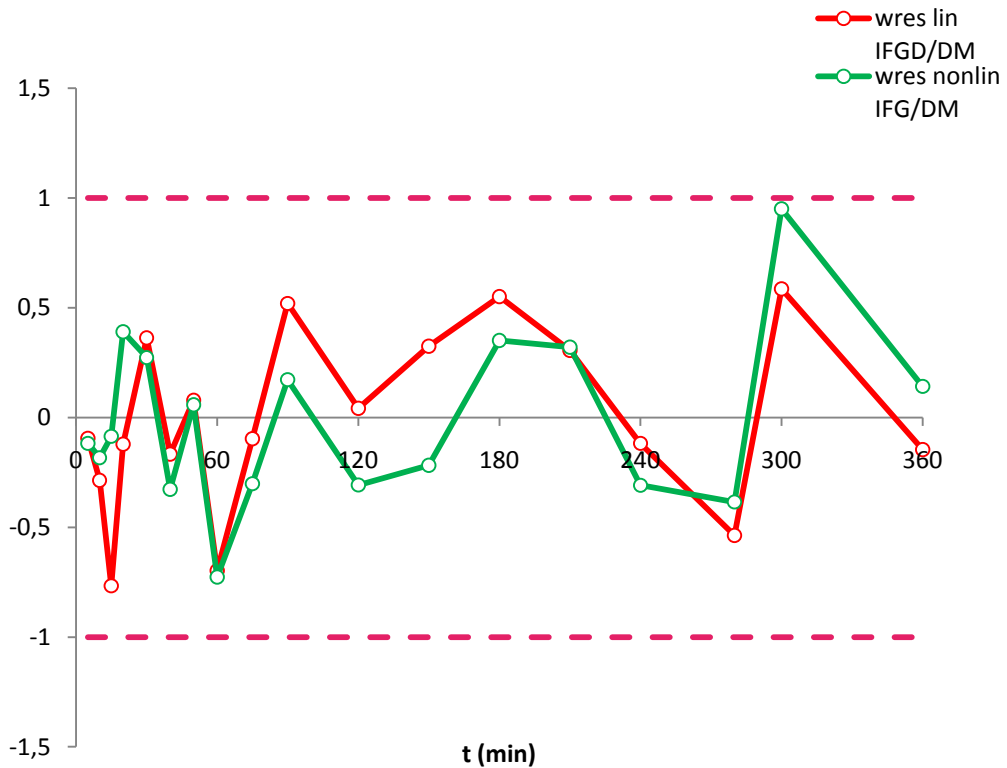


Figura 5.20: Andamento temporale medio dei residui pesati, nei soggetti IFG/DM.

| | $S_{I,lin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | $S_{I,nonlin}^L$ ($10^{-4} \cdot dl/kg/min$ per $\mu U/ml$) | GE_{lin}^L (dl/kg/min) | GE_{nonlin}^L (dl/kg/min) |
|--------------|--|---|--------------------------|--------------------------------|
| Media | 1.8058 | 5.6965 | 0.0067 | 0.0340 |
| SD | 0.6535 | 2.4205 | 0.0033 | 0.0263 |
| SE | 0.2923 | 1.0825 | 0.00152 | 0.0118 |

Tabella 5.14: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici nei due modelli, nei soggetti IFG/DM.

5.1.2 Modelli minimi del glucosio

5.1.2.1 Modello minimo del glucosio “freddo”

In questa sezione vengono presentati i risultati dell'identificazione del modello minimo del glucosio “freddo” identificato nei dati del protocollo clamp euglicemico iperinsulinemico. Data la migliore qualità dei risultati ottenuti, sia in termini di fit e residui pesati, che in termini di stime dei parametri e rispettive precisioni, si riportano i risultati relativi al modello bicompartimentale (2C) descritti nel paragrafo 3.2.2 (i risultati del modello 1C sono riportati nel CD allegato).

E' bene evidenziare che a questo protocollo si sono sottoposti 57 dei 62 soggetti iniziali, dei quali solo 45 sono stati effettivamente utilizzati per l'identificazione. Infatti per 12 soggetti mancavano i dati di infusione di glucosio, e quindi sono stati esclusi. Dei 45 individui a cui è stato applicato in suddetto modello, sono qui di seguito mostrati i risultati relativi a 40 soggetti (poiché 5 presentano fit e residui pesati evidentemente non accettabili). I risultati completi sono comunque riportati nel CD allegato.

In Figura 5.21 è riportato l'andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di glucosio verso il fit dall'istante $t=0$ in poi (poiché i valori precedenti sono stati mediati e utilizzati per definire il livello basale di glucosio). In Figura 5.22 si mostrano invece i residui pesati medi. Si può notare come il modello descritto fornisca una buona descrizione dei dati a disposizione, sia per quanto

riguarda la predizione, sia per i residui pesati che risultano infatti piuttosto scorrelati e quasi tutti compresi tra -1 e 1.

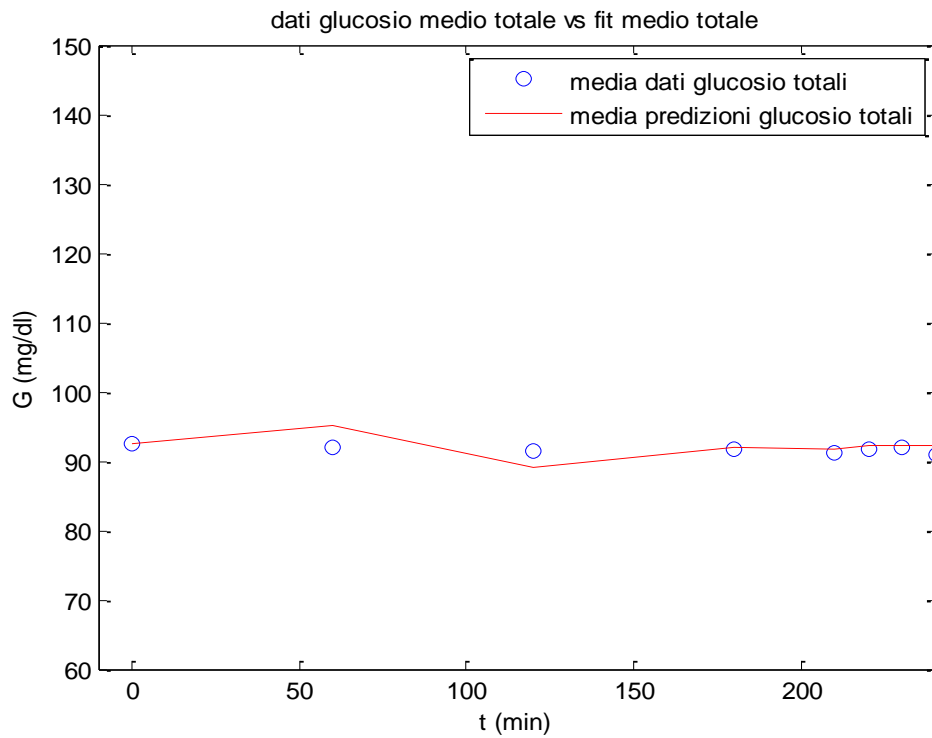


Figura 5.21: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio per 40 soggetti.

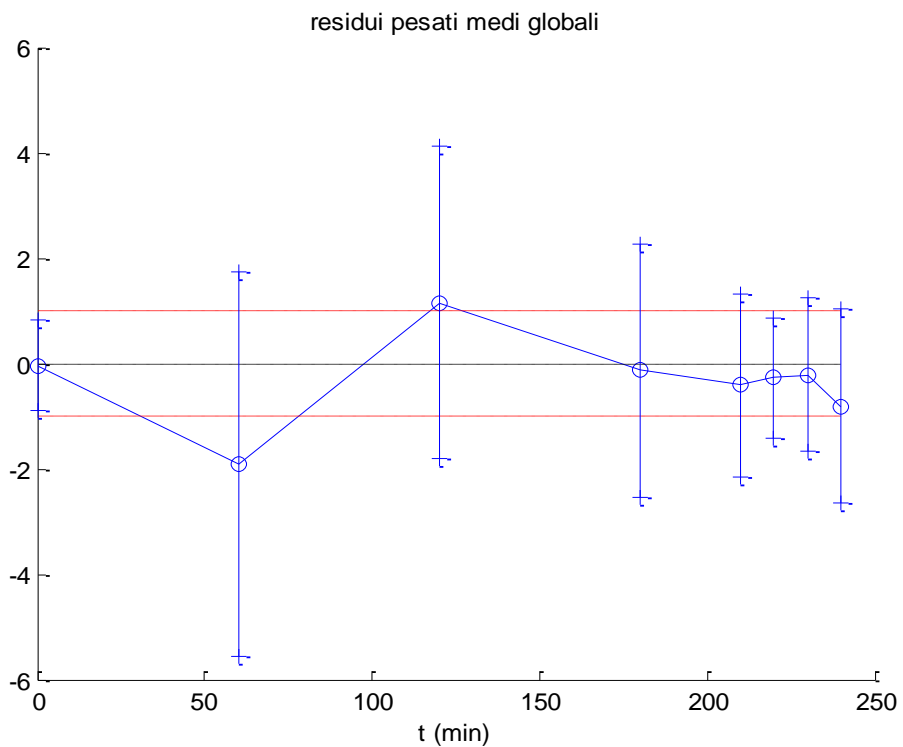


Figura 5.22: Andamento temporale medio dei residui pesati (le barre verticali indicano la SD) per 40 soggetti.

In Tabella 5.15 si mostrano valori medi, SD, e SE dei parametri, accompagnati dai loro CV. In Tabella 5.16 sono riportati i valori medi degli indici metabolici S_I e GE ottenuti dai corrispondenti indici frazionari mediante le Eq. 3.14 e 3.15.

| | S_G (min^{-1}) | CV (%) | p_2 (min^{-1}) | CV (%) | S_{If} (min^{-1} per $\mu\text{U/ml}$) | CV (%) |
|--------------|-----------------------------|--------|--------------------------------|--------|--|--------|
| Media | 0.0639 | 107 | 0.0209 | 59 | 0.0017 | 41 |
| SD | 0.0400 | 198 | 0.0148 | 108 | 0.0010 | 77 |
| SE | 0.0063 | 31 | 0.0023 | 17 | 0.0002 | 12 |

| | V (dl/kg) | CV (%) | k_{21} (min^{-1}) | CV (%) | k_{12} (min^{-1}) | CV (%) |
|--------------|-----------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|
| Media | 1.3661 | 34 | 0.0426 | 33 | 0.0528 | 40 |
| SD | 0.3873 | 52 | 0.0153 | 32 | 0,0208 | 41 |
| SE | 0.0612 | 8 | 0.0024 | 5 | 0.0033 | 6 |

Tabella 5.15: Valori medi delle stime dei parametri e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 40 soggetti del modello minimo del glucosio “freddo”.

| | S_I ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | CV (%) | GE (dl/kg/min) | CV (%) |
|--------------|--|--------|------------------|--------|
| Media | 24.1106 | 56 | 0.0878 | 116 |
| SD | 15.9924 | 91 | 0.0635 | 202 |
| SE | 2.5286 | 16 | 0.0099 | 36 |

Tabella 5.16: Valori medi degli indici metabolici e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 40 soggetti del modello minimo del glucosio “freddo”.

5.1.2.2 Modello minimo del glucosio con tracciante

In questo paragrafo si mostrano i risultati ottenuti dall’identificazione del modello minimo del glucosio con tracciante, identificato sui dati del protocollo del clamp euglicemico iperinsulinemico.

In Figura 5.23 sono rappresentati l'andamento temporale medio della concentrazione plasmatica di tracciante e la predizione del modello, mentre in Figura 5.24 vi sono i residui pesati medi. E' evidente dal fit che il modello utilizzato dà una buona descrizione dei dati; i residui risultano scorrelati e compresi tra -1 e 1. I risultati sono quelli relativi a 39 soggetti, poiché dei 45 data set disponibili, 2 mancavano di numerosi campioni di tracciante, ed in altri 4 il fit non era soddisfacente.

In Tabella 5.17 sono presentati i valori medi, SD, e SE stimati dei parametri con relativi CV.

In Tabella 5.18 sono riportati i valori medi degli indici metabolici S_I^* e GE^* ottenuti dai rispettivi indici frazionari, tramite le Eq. 3.18-3.19.

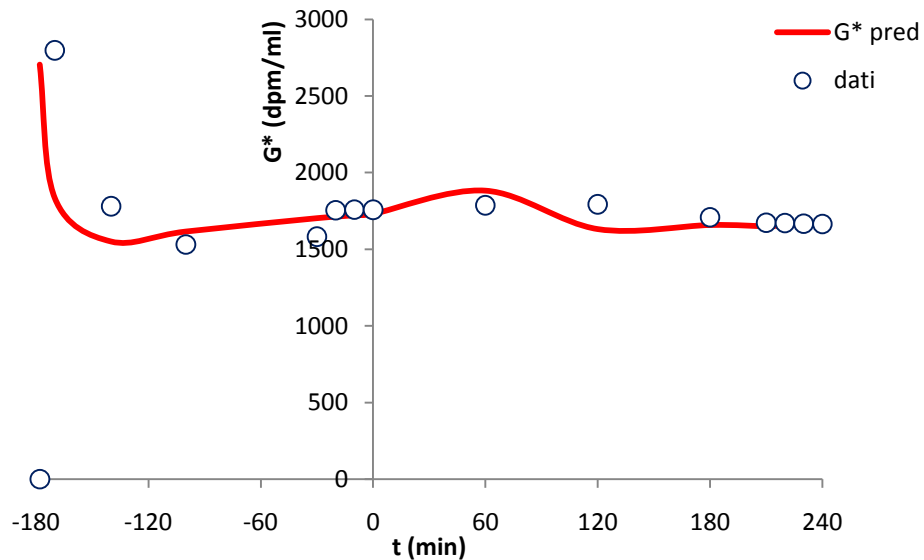


Figura 5.23: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio tracciante per 39 soggetti.

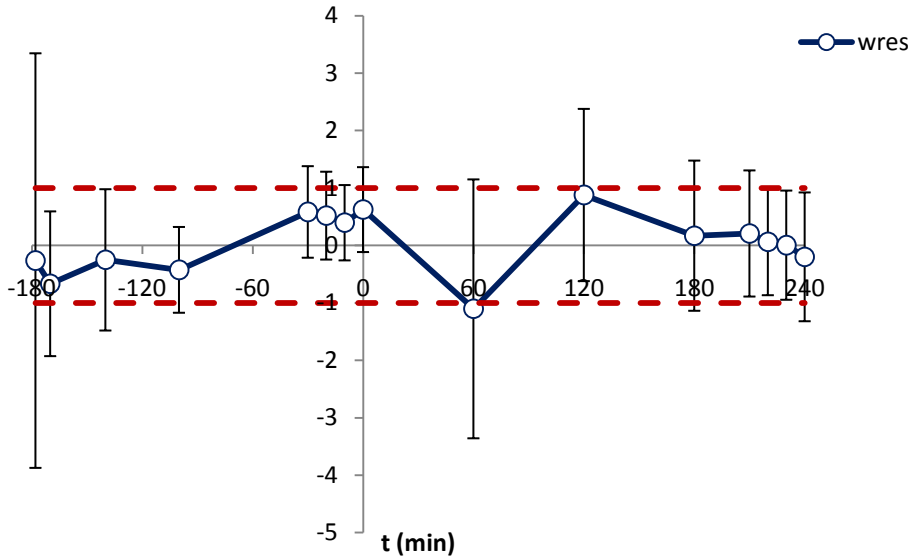


Figura 5.24: Andamento temporale medio dei residui pesati (le barre verticali indicano le SD) per 39 soggetti.

| | S_G^* (min^{-1}) | CV (%) | p_z^* (min^{-1}) | CV (%) | S_I^* (min^{-1} per $\mu\text{U/ml}$) | CV (%) |
|--------------|-------------------------------|--------|-------------------------------|---------|--|--------|
| Media | 0.0164 | 4 | 0.0197 | 27.5909 | 0.0017 | 360 |
| SD | 0.0031 | 2 | 0.0129 | 24.0632 | 0.0012 | 42 |
| SE | 0.0005 | 0.35 | 0.0021 | 4 | 0.0002 | 7 |

| | V^* (ml/kg) | CV (%) | k_{21}^* (min^{-1}) | CV (%) | k_{12}^* (min^{-1}) | CV (%) |
|--------------|---------------|--------|----------------------------------|--------|----------------------------------|--------|
| Media | 99.6506 | 0.34 | 0.0777 | 4 | 0.0721 | 4 |
| SD | 3.1929 | 0.20 | 0.0222 | 2 | 0.0169 | 1 |
| SE | 0.5113 | 0.03 | 0.0036 | 0.36 | 0.0027 | 0.24 |

Tabella 5.17: Valori medi delle stime dei parametri e CV, con rispettivi SD e SE, corrispondenti a 39 soggetti del modello minimo del glucosio con tracciante.

| | S_I^* ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | CV (%) | GE^* (dl/kg/min) | CV (%) |
|--------------|--|--------|--------------------|--------|
| Media | 16.6998 | 36 | 0.01638 | 4 |
| SD | 12.2334 | 42 | 0.0031 | 2 |
| SE | 1.9589 | 8 | 0.0005 | 0.40 |

Tabella 5.18: Valori medi degli indici metabolici e CV, con rispettivi SD e SE corrispondenti a 39 soggetti del modello minimo del glucosio con tracciante.

5.1.2.3 Modelli minimi del glucosio “freddo” e del glucosio con tracciante: effetto della patologia

Qui di seguito sono riportati i risultati, in termini di fit medi, residui pesati medi, e indici metabolici medi, ottenuti con i due modelli minimi del glucosio, per i 24 soggetti selezionati al tempo stesso dai risultati dell'identificazione del modello “freddo” e “caldo”.

- NFG/NGT

Il gruppo è costituito da 11 soggetti. In Figure 5.25-5.26 sono mostrati il fit e i residui pesati medi. I residui pesati risultano scorrelati, anche se è evidente una peggiore predizione dei dati di glucosio in $t=60$ min e in $t=120$ min, quando cioè i residui sconfinano dalla fascia -1:1.

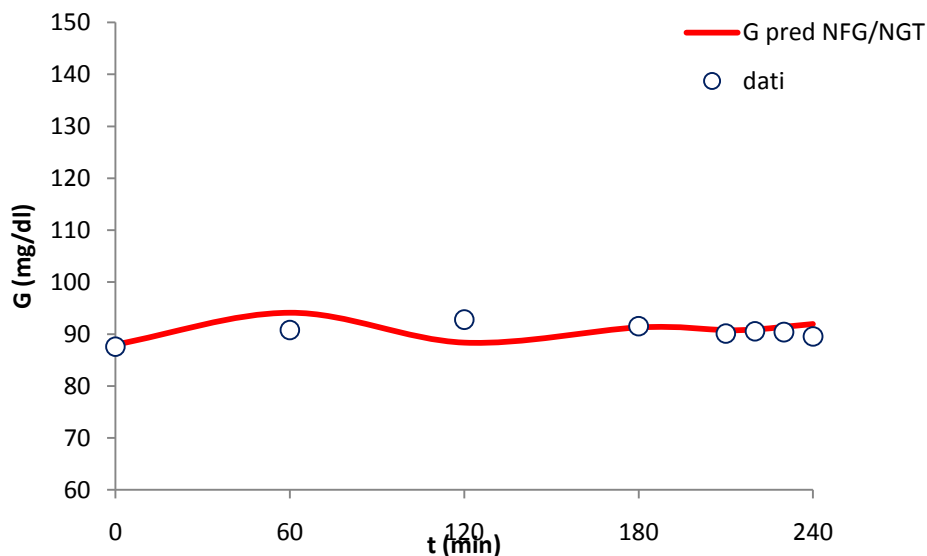


Figura 5.25: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio per soggetti NFG/NGT.

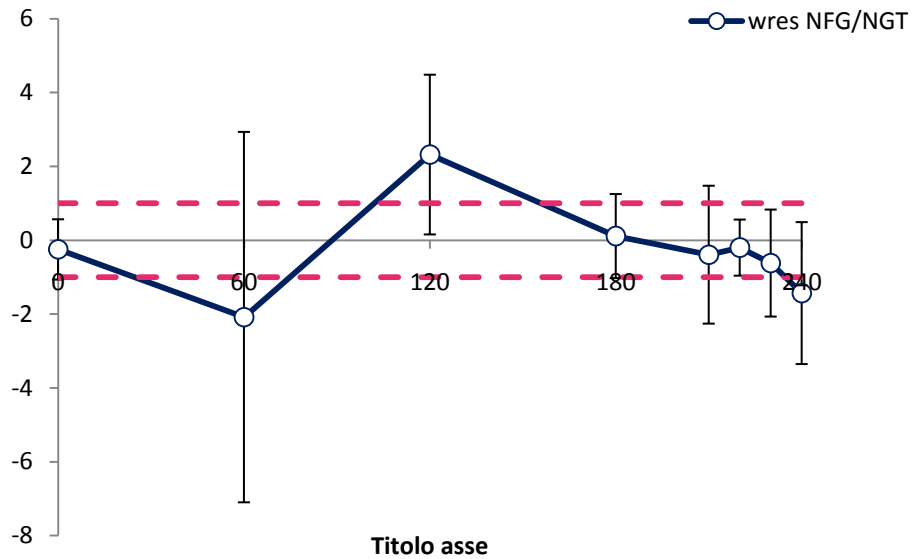


Figura 5.26: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti NFG/NGT (le barre verticali indicano la SD).

In Figure 5.27-5.28 sono mostrati i dati di concentrazione di tracciante e la predizione del modello negli stessi soggetti: il fit approssima piuttosto bene i dati, e i residui pesati sono sufficientemente scorrelati e compresi quasi tutti tra -1 e 1.

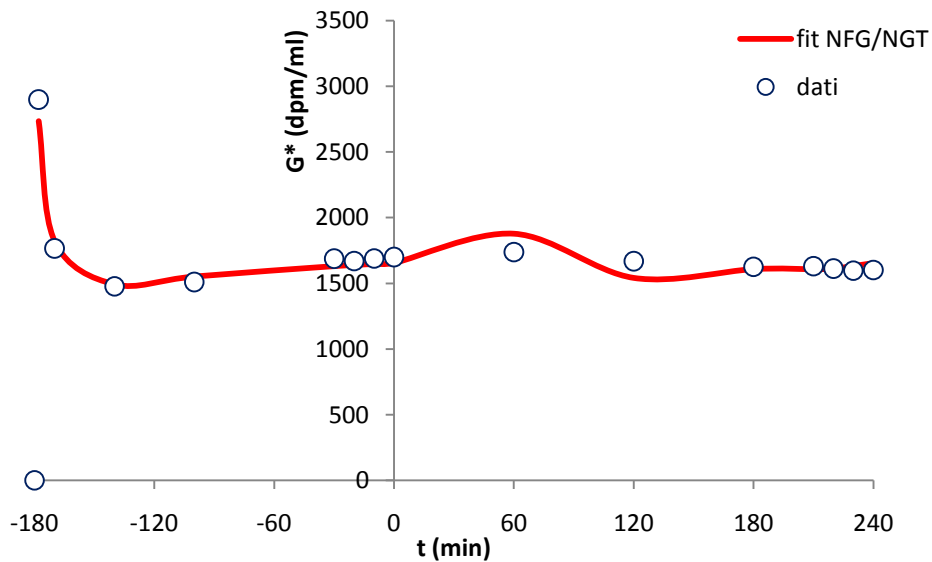


Figura 5.27: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio tracciante per soggetti NFG/NGT.

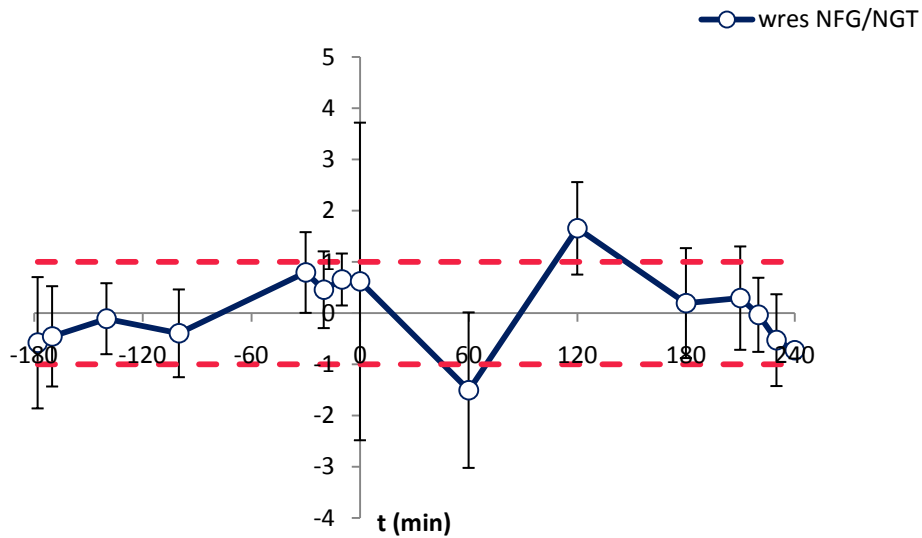


Figura 5.28: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti NFG/NGT (le barre verticali indicano la SD).

In Tabelle 5.19-5.20 sono riportati valori medi SD e SE, degli indici metabolici di sensibilità insulinica e di efficacia del glucosio ottenuti con i due suddetti modelli minimi.

| | S_1 ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) | S_1^* ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) |
|--------------|--|--|
| Media | 30.0195 | 19.9225 |
| SD | 15.3660 | 11.1693 |
| SE | 4.6330 | 3.3677 |

Tabella 5.19: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici S_1 e S_1^* nei due modelli, per i soggetti NFG/NGT.

| | GE (dl/kg/min) | GE^* (dl/kg/min) |
|--------------|------------------|--------------------|
| Media | 0.1049 | 0.0181 |
| SD | 0.0587 | 0.0019 |
| SE | 0.0177 | 0.0006 |

Tabella 5.20: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici GE e GE^* nei due modelli, per i soggetti NFG/NGT.

• IFG

In Figure 5.29-5.30 si mostrano i grafici della media del fit e dei residui pesati ottenuti con il modello “freddo” su questo gruppo di 9 soggetti. Il modello descrive piuttosto bene i dati di glucosio a disposizione; i residui pesati sono sufficientemente scorrelati, ed evidenziano una difficoltà nella predizione dei dati di glucosio in $t=60$ min e $t=240$ min.

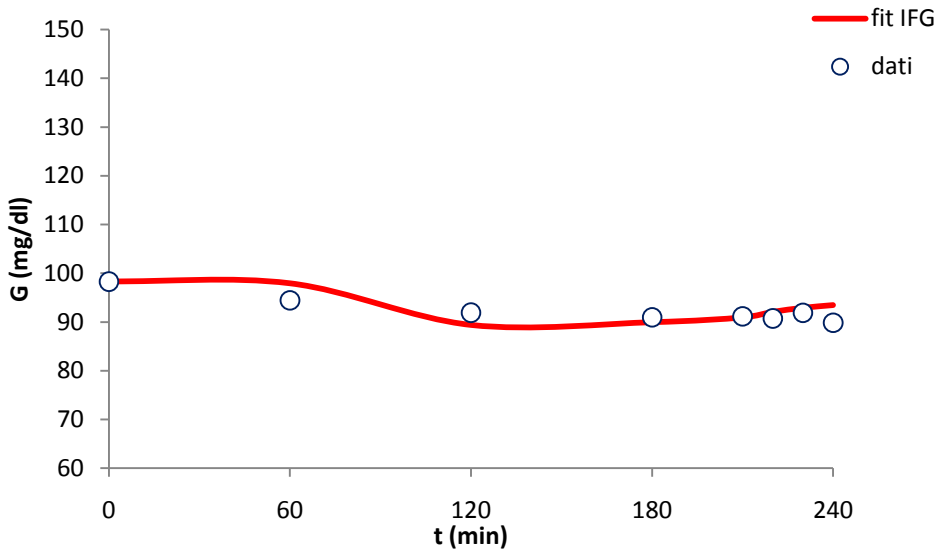


Figura 5.29: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio per soggetti IFG.

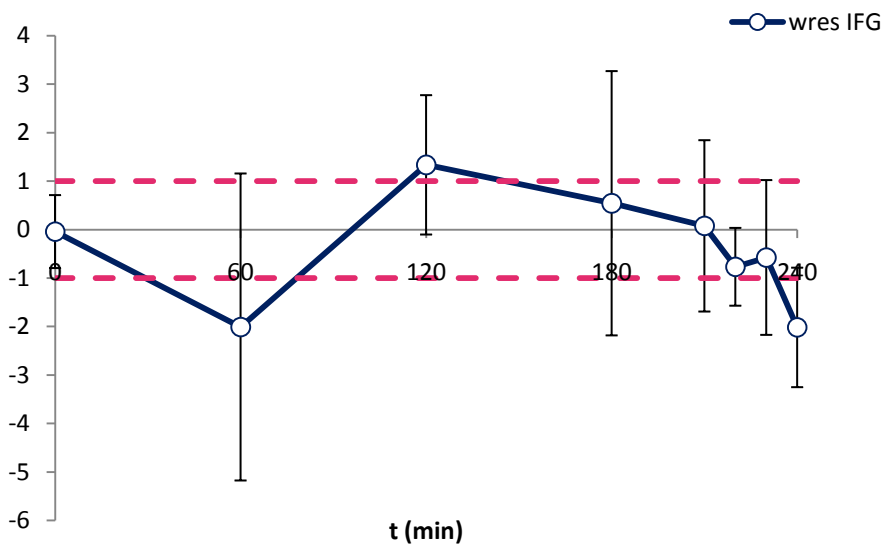


Figura 5.30: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti IFG (le barre verticali indicano la SD).

Dalle Figure 5.31-5.32 si osservano un buon fit medio dei dati di tracciante, dei residui pesati medi sufficientemente scorrelati e quasi tutti compresi nel range -1:1.

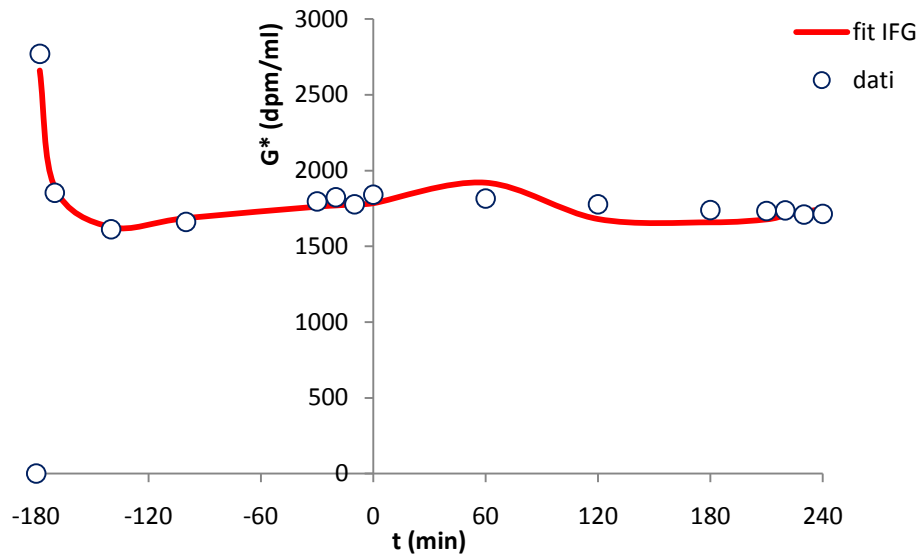


Figura 5.31: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio tracciante per soggetti IFG.

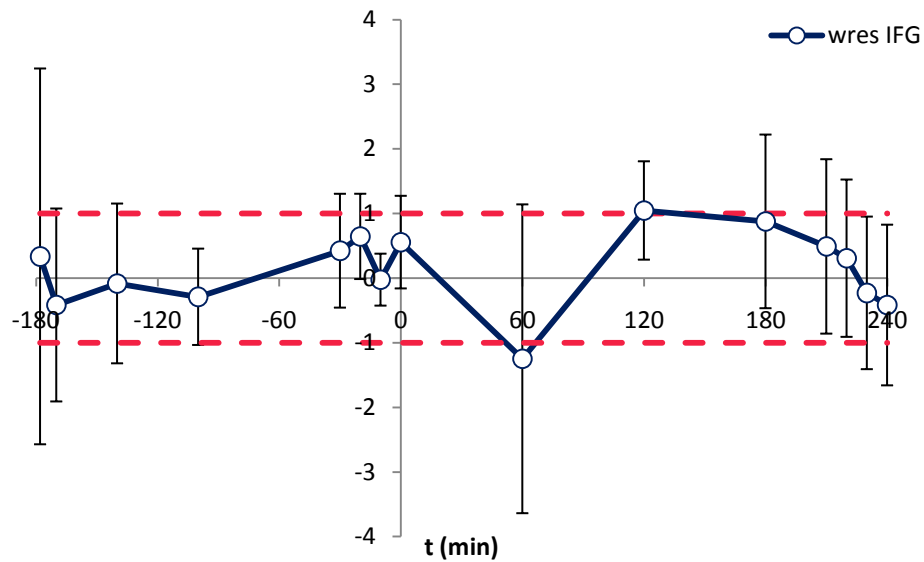


Figura 5.32: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti IFG (le barre verticali indicano la SD).

In Tabelle 5.21-5.22 si riportano i valori medi degli indici metabolici ottenuti con i due modelli minimi.

| | S_1 ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) | S_1^* ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) |
|-------|--|--|
| Media | 18.4904 | 9.7432 |
| SD | 9.8951 | 7.9884 |
| SE | 3.2894 | 2.6628 |

Tabella 5.21: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici S_1 e S_1^* nei due modelli, per i soggetti IFG.

| | GE (dl/kg/min) | GE* (dl/kg/min) |
|-------|----------------|-----------------|
| Media | 0.0598 | 0.0153 |
| SD | 0.0357 | 0.0025 |
| SE | 0.0119 | 0.0008 |

Tabella 5.22: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici GE e GE* nei due modelli, per i soggetti IFG.

- IFG/NGT

Per questo gruppo sono stati selezionati infine solo 3 soggetti. Per essi si nota in Figure 5.33-5.34 un'abilità piuttosto accettabile del modello nel predire i dati; i residui pesati sono sufficientemente scorrelati, e quasi tutti compresi tra -1 e 1 (anche se in $t=60$ min e $t=180$ min eccedono visibilmente tale range).

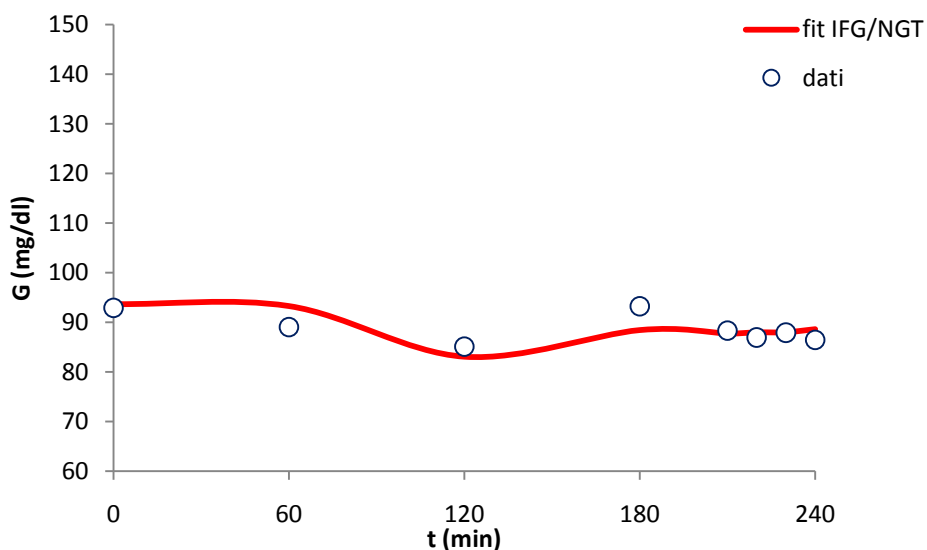


Figura 5.33: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio per soggetti IFG/NGT.

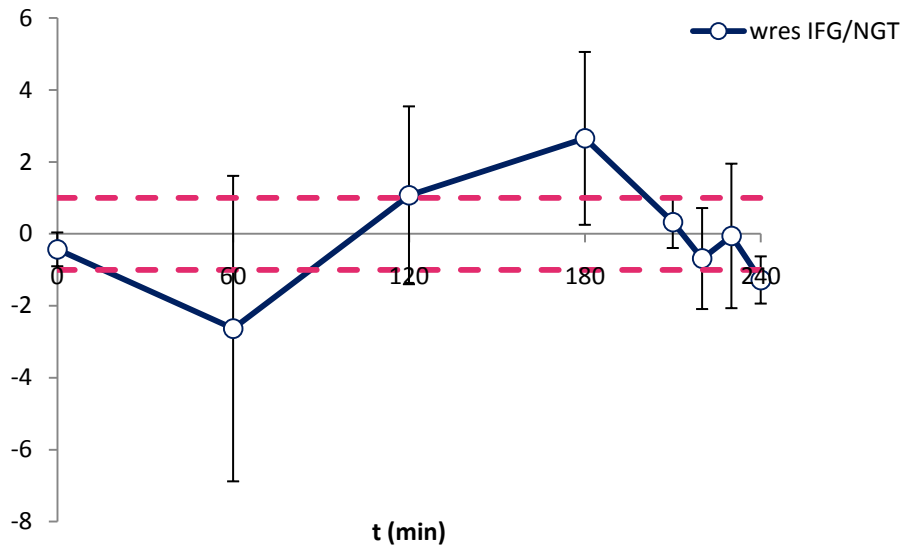


Figura 5.34: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti IFG/NGT (le barre verticali indicano la SD).

In Figura 5.35 si vede una buona descrizione dei dati di tracciante da parte del modello; si nota anche una predizione in $t=60$ min piuttosto lontana dal corrispondente dato. In Figura 5.36 i residui pesati appaiono tutti compresi tra -1 e 1, eccetto il suddetto campione, ma non possiedono un elevato grado di scorrelazione (sono infatti quasi tutti positivi).

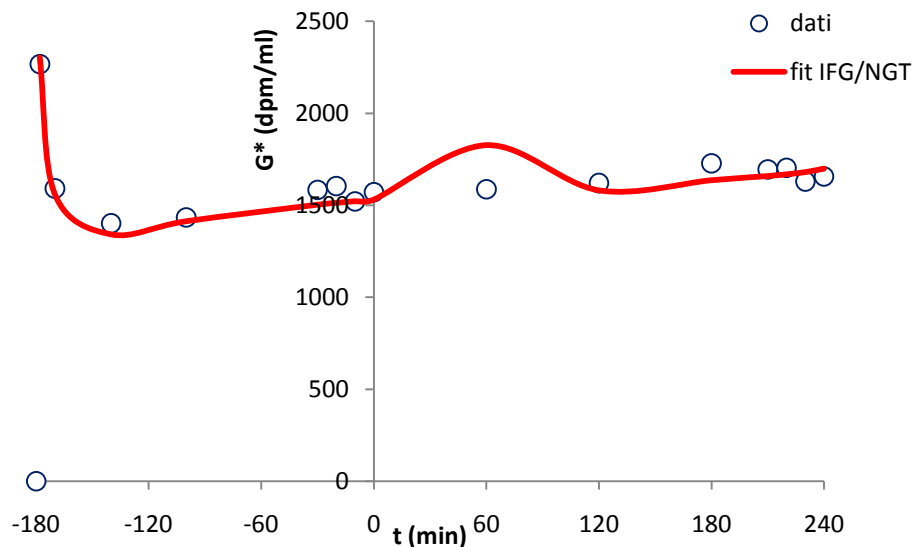


Figura 5.35: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio tracciante per soggetti IFG/NGT.

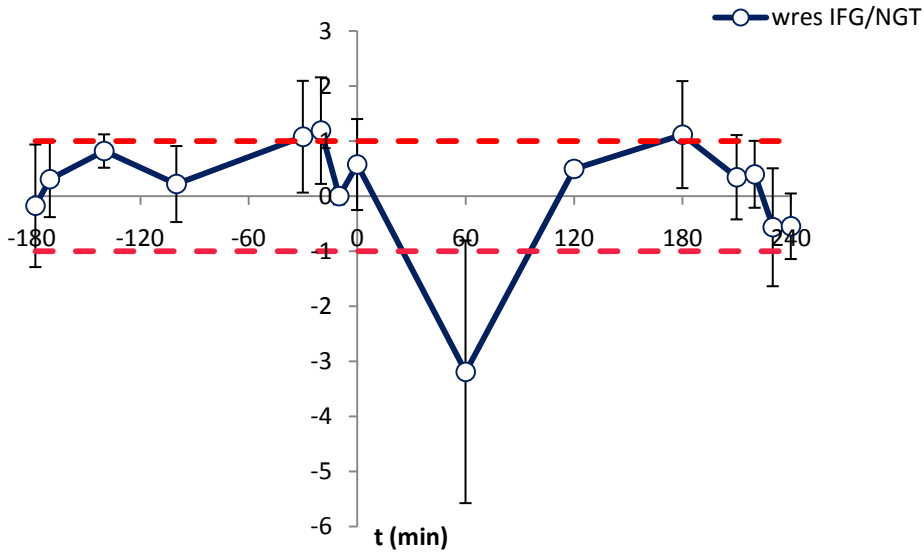


Figura 5.36: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti IFG/NGT (le barre verticali indicano la SD).

In Tabelle 5.23-5.24 vi sono gli indici metabolici medi, sempre rappresentati unitamente a SD e SE, relativi a questo gruppo di soggetti.

| | S_1 ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) | S_1^* ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) |
|-------|--|--|
| Media | 21.0589 | 10.8857 |
| SD | 3.8742 | 3.1511 |
| SE | 2.2368 | 1.8193 |

Tabella 5.23: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici S_1 e S_1^* nei due modelli, per i soggetti IFG/NGT.

| | GE (dl/kg/min) | GE* (dl/kg/min) |
|-------|----------------|-----------------|
| Media | 0.0753 | 0.0155 |
| SD | 0.0579 | 0.0037 |
| SE | 0.0334 | 0.0021 |

Tabella 5.24: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici GE e GE* nei due modelli, per i soggetti IFG/NGT.

- NFG/IGT

Anche per questo gruppo sono stati selezionati infine solo 4 soggetti. Per essi dalle Figure 5.37 e 5.38 si evince una descrizione dei dati piuttosto buona da parte del

modello “freddo”; si nota una particolare difficoltà del modello a predire il campione di glucosio in $t=60$ min, dove infatti i residui pesati medi arrivano fino circa -4.

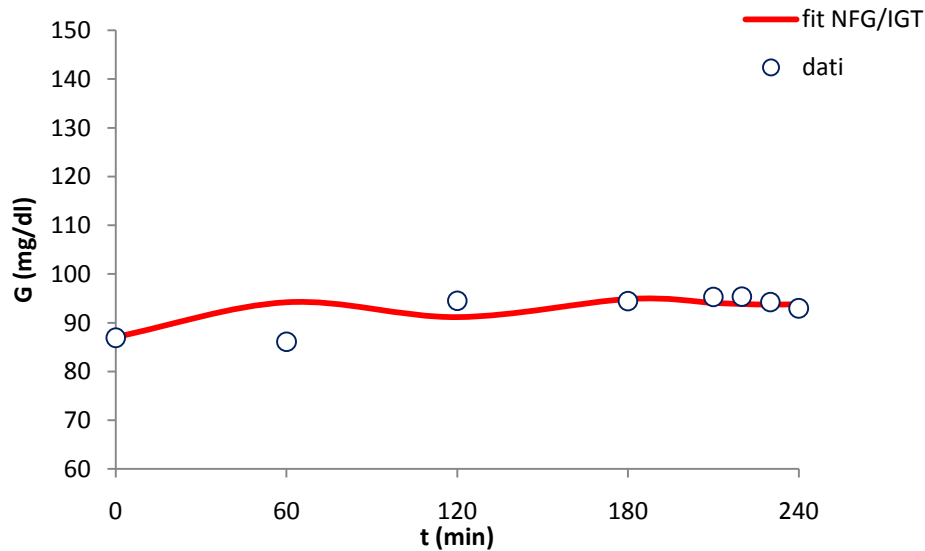


Figura 5.37: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio per soggetti NFG/IGT.

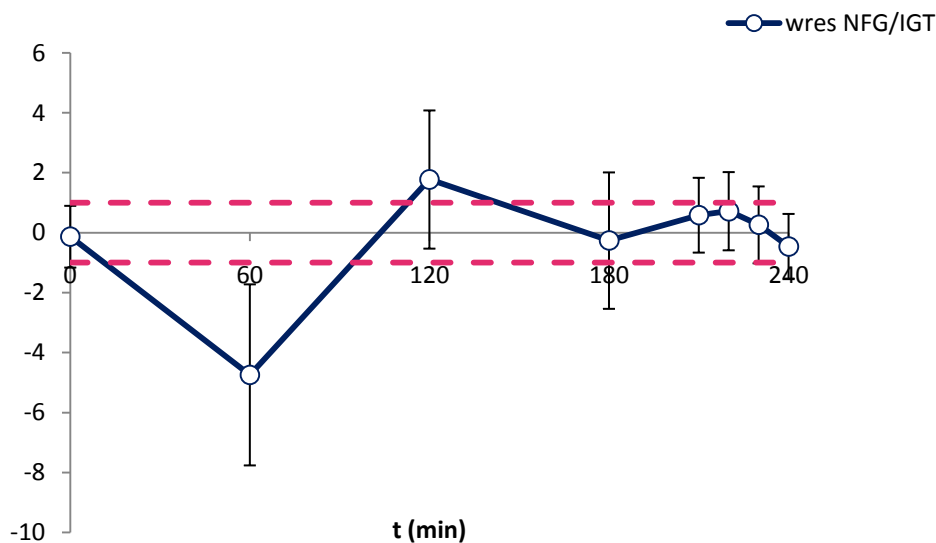


Figura 5.38: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti NFG/IGT (le barre verticali indicano la SD).

In Figure 5.39-5.40 sono rappresentati il fit medio dei dati di tracciante, da cui si presenta una buona capacità del modello di predire i dati (a parte in $t=60$ min), e i residui pesati medi, che appaiono scorrelati e quasi tutti compresi tra -1 e 1.

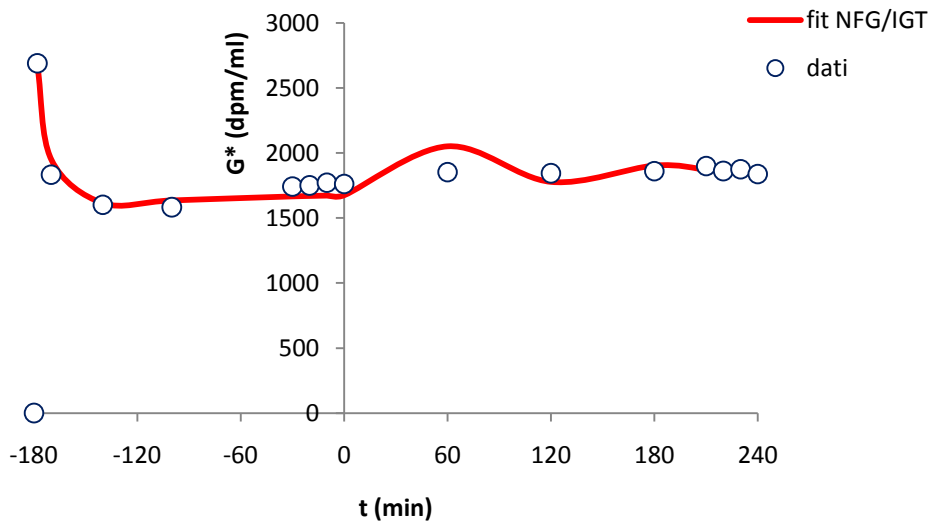


Figura 5.39: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio tracciante per soggetti NFG/IGT.

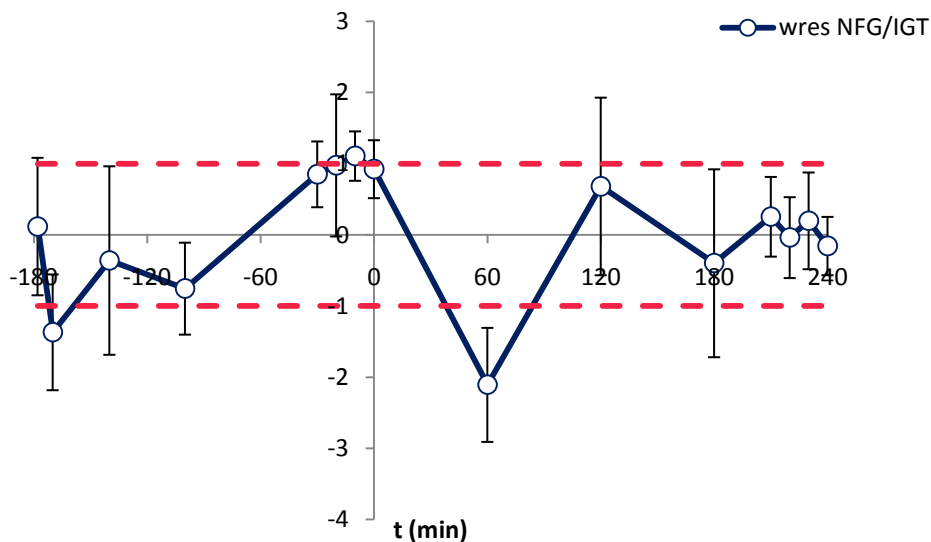


Figura 5.40: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti NFG/IGT (le barre verticali indicano la SD).

In Tabelle 5.25-5.26 sono rappresentati i valori medi degli indici metabolici totali e “disposal”.

| | S_I ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) | S_I^* ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) |
|-------|--|--|
| Media | 19.2694 | 14.3108 |
| SD | 14.8898 | 13.017 |
| SE | 7.4449 | 7.5155 |

Tabella 5.25: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici S_I e S_I^* nei due modelli, per i soggetti NFG/IGT.

| | GE (dl/kg/min) | GE* (dl/kg/min) |
|-------|----------------|-----------------|
| Media | 0.1098 | 0.0179 |
| SD | 0.0458 | 0.0010 |
| SE | 0.0229 | 0.0006 |

Tabella 5.26: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici GE e GE* nei due modelli, per i soggetti NFG/IGT.

- IFG/IGT

I risultati di seguito rappresentati si riferiscono a 5 soggetti appartenenti a questo gruppo. La descrizione dei dati per essi fornita dal modello minimo del glucosio “freddo” risulta abbastanza buona osservando le Figure 5.41 e 5.42; dal grafico dei residui pesati medi si nota però scarsa scorrelazione, e difficoltà di predizione del campione dato in $t=240$ min.

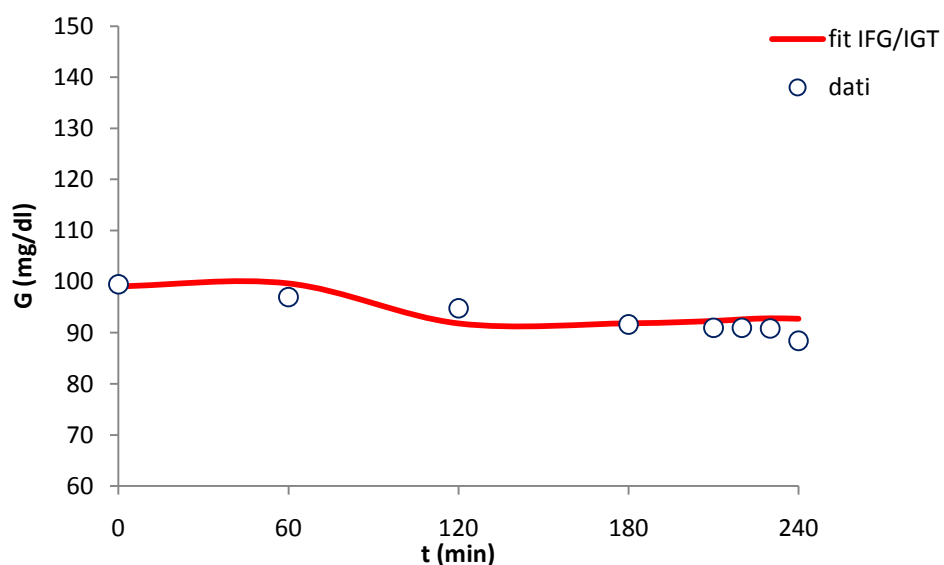


Figura 5.41: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio per soggetti IFG/IGT.

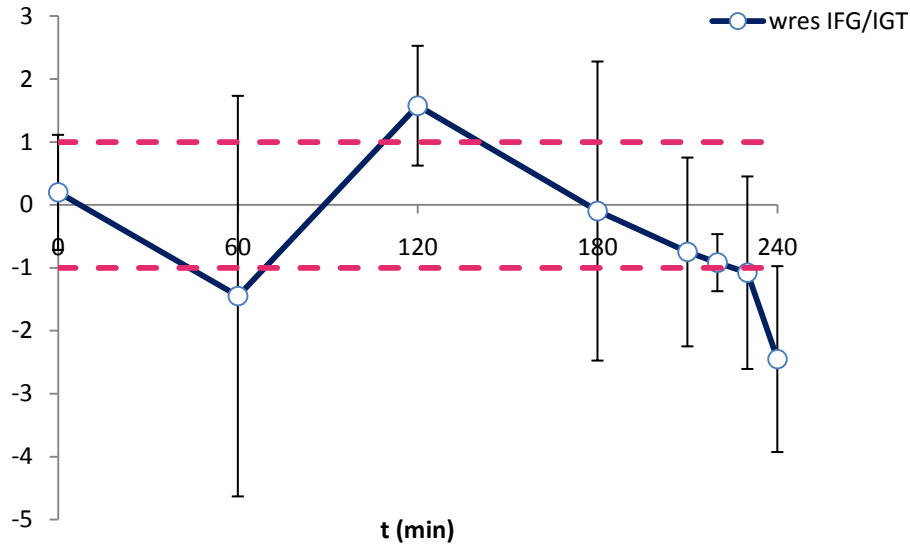


Figura 5.42: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti IFG/IGT (le barre verticali indicano la SD).

Dal modello minimo con tracciante, rappresentato in Figure 5.43-5.44 in termini di fit e residui pesati, si nota una migliore predizione dei dati rispetto al corrispondente caso “freddo”; i residui sono infatti quasi tutti compresi tra -1 e 1 e abbastanza scorrelati.

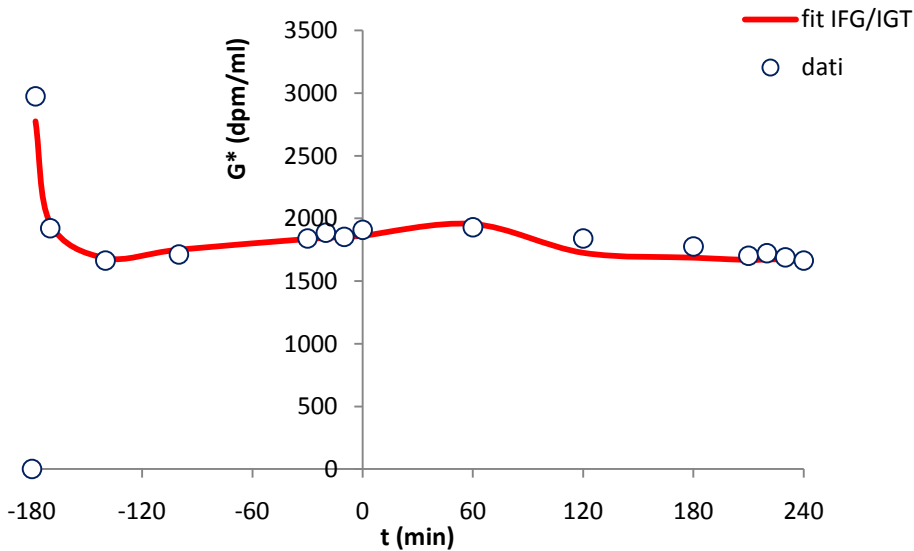


Figura 5.43: Andamento temporale medio dei dati vs fit di glucosio tracciante per soggetti IFG/IGT.

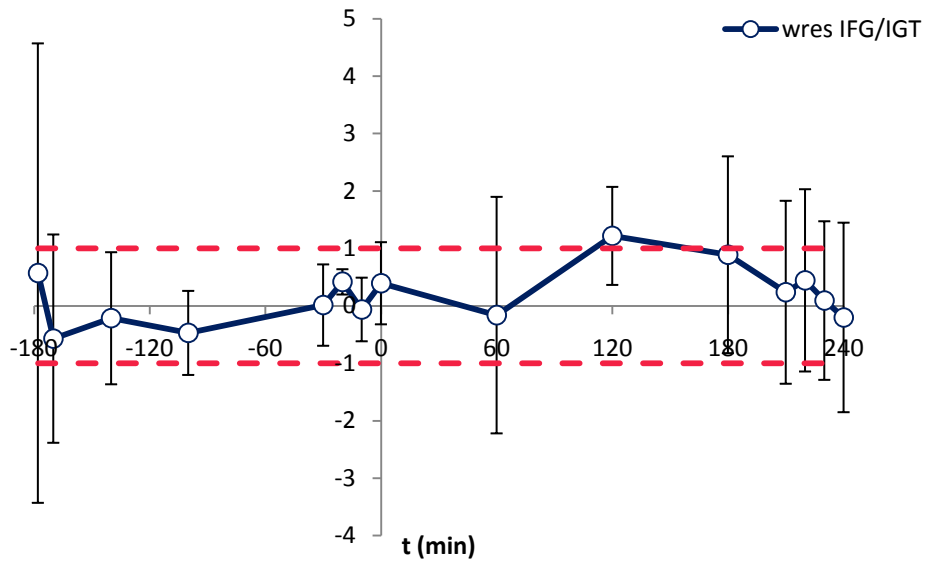


Figura 5.44: Andamento temporale medio dei residui pesati per soggetti IFG/IGT (le barre verticali indicano la SD).

In Tabelle 5.27-5.28 sono mostrati i valori medi degli indici metabolici totali e “disposal”.

| | S_1 ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | S_1^* ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) |
|--------------|---|---|
| Media | 19.0800 | 10.2850 |
| SD | 12.4323 | 10.5785 |
| SE | 5.5599 | 4.7309 |

Tabella 5.27: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici S_1 e S_1^* nei due modelli, per i soggetti IFG/IGT.

| | GE (dl/kg/min) | GE* (dl/kg/min) |
|--------------|----------------|-----------------|
| Media | 0.0589 | 0.0156 |
| SD | 0.0162 | 0.0021 |
| SE | 0.0072 | 0.0009 |

Tabella 5.28: Valori medi, SD e SE degli indici metabolici GE e GE* nei due modelli, per i soggetti IFG/IGT.

- IFG/DM

Per questa categoria sono presentati, per completezza, i risultati relativi soltanto a un soggetto. E' evidente infatti, da quanto già mostrato prima, una maggiore

difficoltà nella predizione corretta dei dati a disposizione al crescere del grado patologico. Appunto molti soggetti IFG/DM presentano dei fit in cui chiaramente la funzione obiettivo raggiunge un minimo locale, e sono stati quindi scartati.

In Figure 5.45-5.48 sono rappresentati gli andamenti temporali di fit e residui pesati ottenuti col modello “freddo” e “caldo” per tale soggetto. Rispetto ai casi precedentemente osservati, è chiara una maggiore difficoltà da parte di entrambi i modelli nel descrivere i dati in modo efficace. I residui pesati in tutti e due i casi infatti eccedono visibilmente il range adeguato.

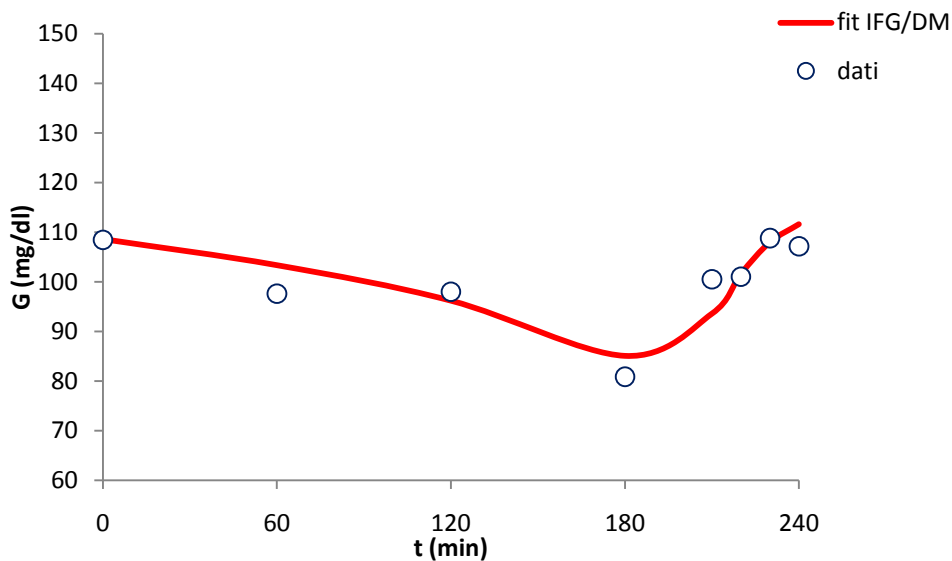


Figura 5.45: Andamento temporale dei dati vs fit di glucosio per il soggetto IFG/DM.

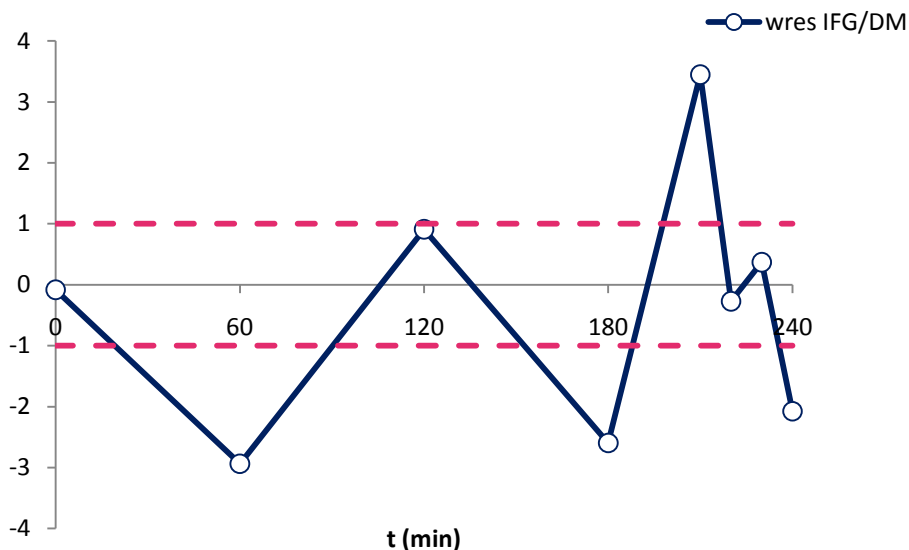


Figura 5.46: Andamento temporale dei residui pesati per il soggetto IFG/DM.

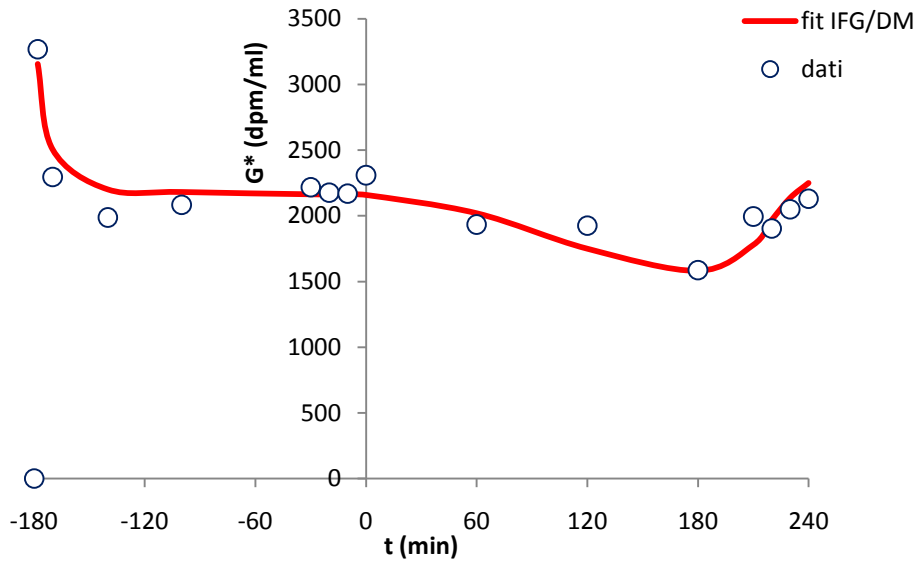


Figura 5.47: Andamento temporale dei dati vs fit di glucosio traccianti per il soggetto IFG/DM.

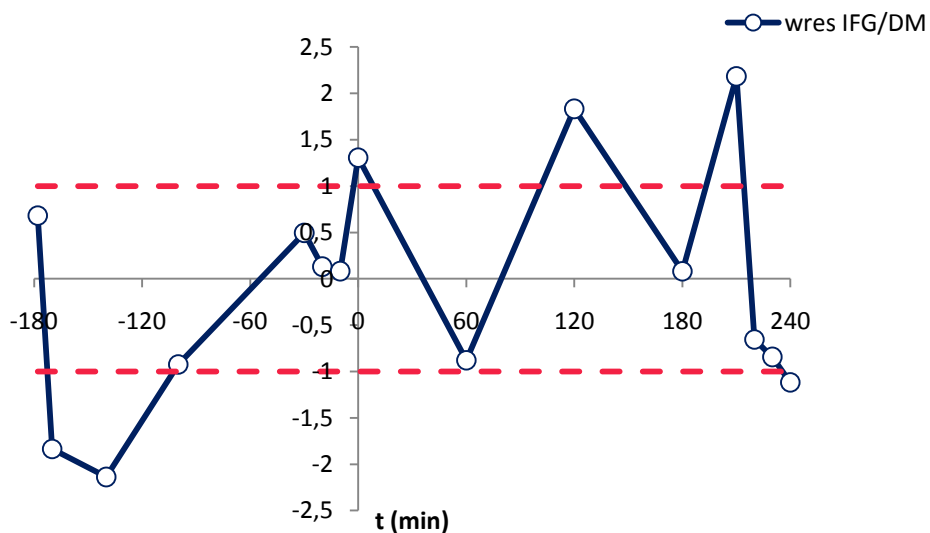


Figura 5.48: Andamento temporale dei residui pesati per il soggetto IFG/DM.

In Tabelle 5.29-5.30 sono mostrati i valori degli indici metabolici ottenuti coi due modelli. Ricordando che si basano su un solo soggetto, essi non potranno essere ritenuti troppo rappresentativi del grado patologico del gruppo IFG/DM trattato.

| S_1 ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) | S_1^* ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) |
|--|--|
| 7.8366 | 3.6066 |

Tabella 5.29: Valori degli indici metabolici S_1 e S_1^* nei due modelli, per il soggetto IFG/DM.

| GE (dl/kg/min) | GE* (dl/kg/min) |
|----------------|-----------------|
| 0.0181 | 0.0133 |

Tabella 5.30: Valori degli indici metabolici GE e GE* nei due modelli, per il soggetto IFG/DM.

5.2 Confronti e validazione

In questo paragrafo si cerca di validare i modelli presentati, per poter stabilire se questi sono adeguati allo scopo per il quale sono stati formulati. A tale fine si eseguono dei confronti tra i risultati ottenuti con il modello lineare della soppressione dell'EGP e con quello non lineare, tra i valori ricavati dalle formule di stato stazionario e i modelli minimi, e infine tra gli indici metabolici del modello della soppressione di EGP e dei modelli minimi del glucosio.

5.2.1 Modello lineare vs. modello non lineare della soppressione di EGP

Per avere un confronto adeguato tra i due modelli trattati, è opportuno paragonarli qui con riferimento ai dati dei 31 soggetti (50% del totale) che presentano solo valori positivi, e quindi fisiologici, del flusso di EGP.

Dalla Figura 5.49, che rappresenta la media temporale dei dati e della predizione EGP nei 31 soggetti indicati, è possibile notare il buon comportamento di entrambi i modelli in termini di fit. Le due curve raffigurate presentano infatti andamenti molto simili tra loro. Lo stesso si può dire osservando la Figura 5.50, in cui la media temporale dei residui pesati è analoga nei due modelli: in entrambi i casi essi risultano scorrelati e del tutto compresi tra -1 e 1.

Dalle Tabelle 5.31-5.32 si vede una differenza abbastanza consistente nei valori degli indici metabolici forniti dai due modelli sia in termini di media che di SD (il pedice *lin* sta per il modello lineare, *nonlin* per quello non lineare). Il t-test effettuato sui due rispettivi vettori di S_l^L fornisce infatti $H=1$ e $P=5.6 \cdot 10^{-6}$, che significa che le medie sono da considerarsi significativamente diverse; confrontando poi con il suddetto test statistico i due vettori di GE^L si ottiene $H=1$ e

$P=1.9 \cdot 10^{-5}$, da cui possiamo ancora considerare le due medie effettivamente diverse. Questo risultato era atteso. Infatti il modello non lineare comporta una saturazione dell'azione del glucosio e dell'insulina sulla soppressione, e permette quindi valori degli indici di controllo più elevati.

Essendo i due modelli in competizione, come è noto si possono confrontare le loro prestazioni anche in termini di funzione costo $WRSS$ (definita nel par. 4.1.1). Dalla Tabella 5.33 si nota che i valori di tale quantità sono veramente molto simili nei due modelli, con una lieve diminuzione nella media per il caso non lineare. Inoltre secondo il criterio di Akaike (AIC), che suggerisce che, in caso di errore di misura a varianza nota del tutto o a meno di un fattore di scala, tra due modelli che descrivono in maniera accettabile gli stessi dati vada scelto quello per cui è minore l'indice:

$$AIC = N \ln WRSS + 2M \quad (\text{Eq. 5.1})$$

[1].

In Tabella 5.34 si è riportato l'indice AIC calcolato per i due modelli. In media l'indice appena descritto è quasi uguale nei due modelli, con una lievissima diminuzione per il modello lineare.

Da tutte le considerazioni esposte si evince che, le prestazioni dei due modelli, confrontate per i soggetti che presentano solo valori fisiologici di EGP, sono veramente molto simili. Perciò viene infine scelto per i confronti successivi il modello lineare della soppressione di EGP.

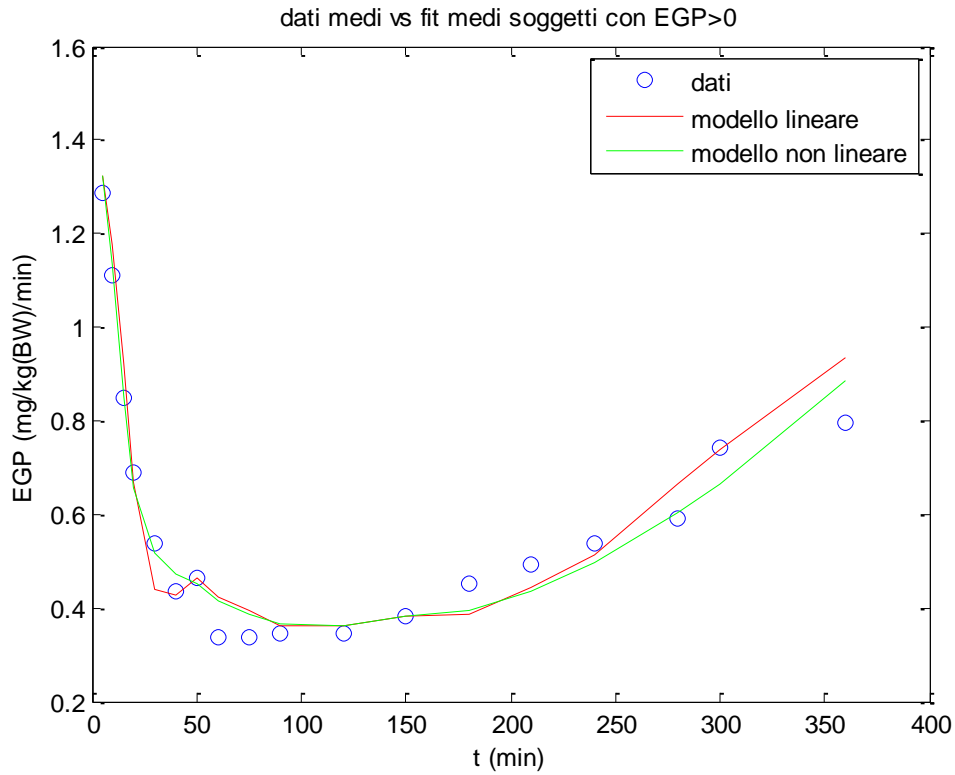


Figura 5.49: Andamento temporale della media dei dati vs fit medio di EGP, per i 31 soggetti .

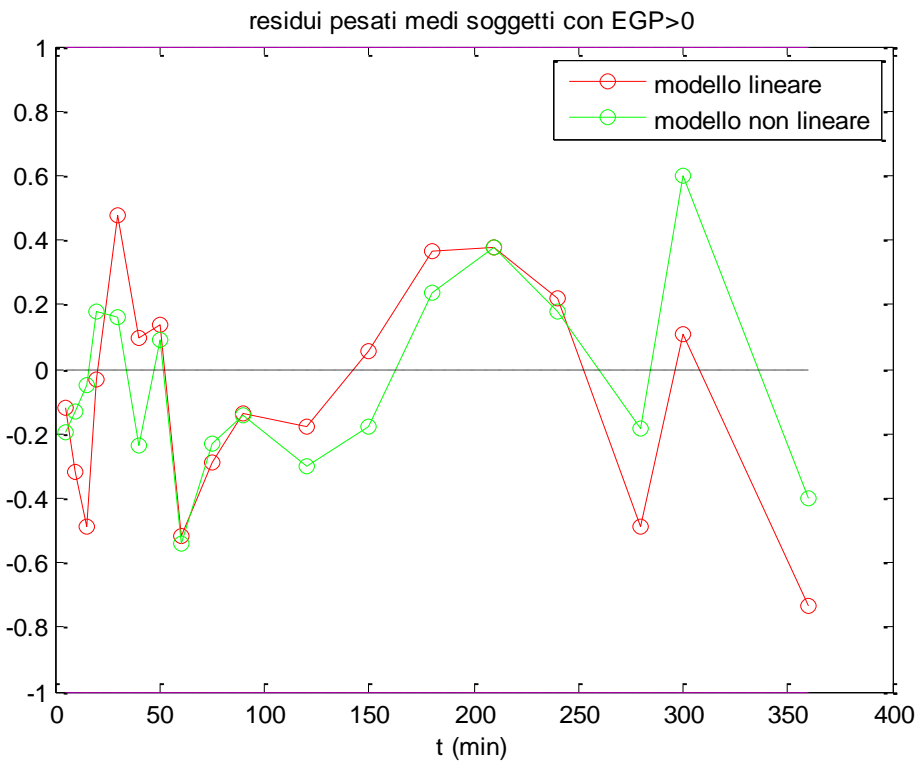


Figura 5.50: Andamento temporale medio dei residui pesati per i 31 soggetti.

| | $S_{I,lin}^L$ ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) | $S_{I,nonlin}^L$ ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml}$) |
|--------------|--|---|
| Media | 3.7335 | 11.5097 |
| SD | 2.5513 | 7.7416 |

Tabella 5.31: Valori medi e SD dell'indice metabolico S_I^L nei due modelli, per i 31 soggetti.

| | GE_{lin}^L (dl/kg/min) | GE_{nonlin}^L (dl/kg/min) |
|--------------|--------------------------|-----------------------------|
| Media | 0.0084 | 0.0309 |
| SD | 0.0039 | 0.0246 |

Tabella 5.32: Valori medi e SD dell'indice metabolico GE^L nei due modelli, per i 31 soggetti.

| | $WRSS_{lin}$ | $WRSS_{nonlin}$ |
|--------------|--------------|-----------------|
| Media | 0.4591 | 0.3934 |
| SD | 0.3496 | 0.3989 |

Tabella 5.33: Valori medi e SD di WRSS nei due modelli, per i 31 soggetti.

| | AIC_{lin} | AIC_{nonlin} |
|--------------|-------------|----------------|
| Media | -0.2140 | -0.2025 |
| SD | 6.3208 | 7.0509 |

Tabella 5.34: Valori medi e SD di AIC nei due modelli, per i 31 soggetti.

5.2.2 Modelli minimi del glucosio vs. formule di stato stazionario

Di seguito verranno confrontati i valori degli indici metabolici S_I e S_I^* ottenuti con i modelli minimi del glucosio e con le formule [8] espresse in Eq. 2.29, 2.30, 2.31, 2.32, che ricordiamo essere valide in caso di clamp perfetto.

In Tabella 5.35 sono mostrati i risultati in media e SD dell'indice metabolico S_I ottenuto tramite il modello e le formule di Eq. 2.29; è evidente che i valori ricavati nei due modi sono molto simili.

Calcolando poi la correlazione (R) tra il vettore S_I dei 40 soggetti selezionati dal modello e i corrispondenti indici ottenuti con le formule si trova $R=0.85$, $P=6.05 \cdot 10^{-12}$ (Figura 5.51). La correlazione può dirsi quindi sufficientemente elevata, considerando che le formule precedentemente riportate costituiscono un'approssimazione di una situazione ideale (cioè sono valide per clamp perfetto del rapporto tracciante-tracciato). Infatti analizzando gli andamenti temporali delle concentrazioni e infusioni di glucosio e insulina, solo 23 dei 40 soggetti raggiungono (più o meno approssimativamente) una condizione di stato stazionario, per la quale l'indice fornito dalle formule risulta corretto.

| | S_I modello ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | S_I formule ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) |
|--------------|---|---|
| Media | 24.1106 | 23.2740 |
| SD | 15.9924 | 16.7278 |

Tabella 5.35: Valori medi e SD dell'indice metabolico S_I ottenuto con il modello minimo del glucosio freddo e con le formule di stato stazionario, per 40 soggetti.

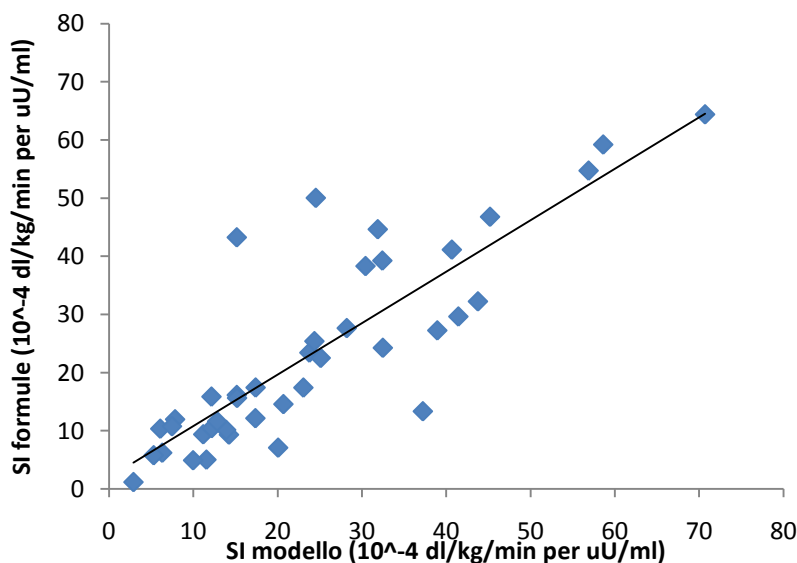


Figura 5.51: Rappresentazione della correlazione tra indici metabolici S_I ottenuti con modello e formule per 40 soggetti, con linea di tendenza.

Dalla Figura 5.51 è possibile osservare, a titolo di esempio, il comportamento di due diversi soggetti, uno dei quali si trova in stato stazionario (e quindi è rappresentato da un punto vicino alla linea di tendenza che, data l'elevata correlazione, qui approssima la bisettrice del quadrante), mentre l'altro non si trova in stato stazionario (e in Figura 5.51 è distolto dalla bisettrice). Per il soggetto in stato stazionario risulta infatti:

$$S_I \text{ formule} = 23.43 (10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml})$$

$$S_I \text{ modello} = 23.77 (10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml})$$

e per quello in stato non stazionario si ha:

$$S_I \text{ formule} = 13.35 (10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml})$$

$$S_I \text{ modello} = 37.22 (10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min per } \mu\text{U/ml})$$

Per il secondo soggetto, il valore fornito dalle formule è molto diverso rispetto a quello del modello. Questo fatto può essere spiegato dalle Figure 5.52-5.57, in cui sono rappresentati gli andamenti temporali della concentrazione di glucosio, insulina e infusione di glucosio. Dal grafico dell'infusione di glucosio di Figura 5.57 si vede che per questo soggetto l'infusione di glucosio non raggiunge lo stato stazionario. Viceversa tale circostanza si verifica per il primo soggetto (si veda Figura 5.54).

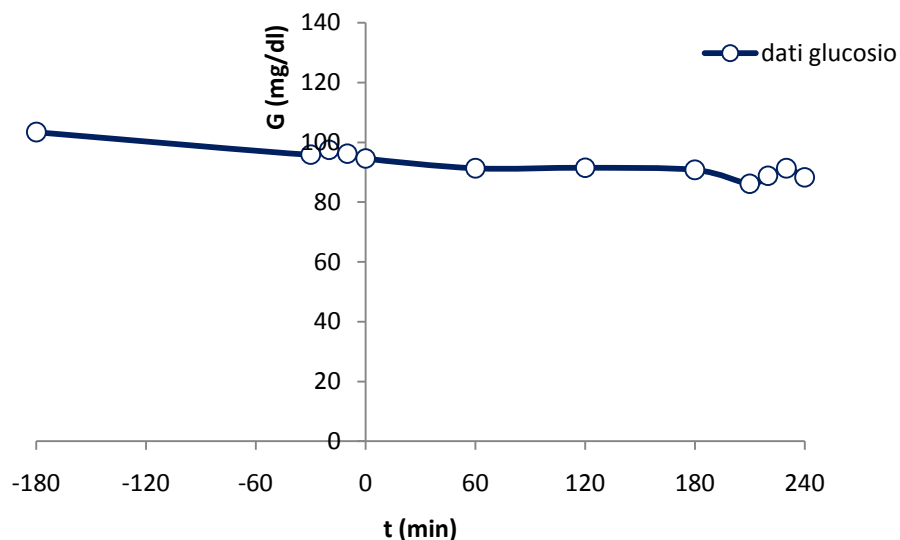


Figura 5.52: Andamento temporale della concentrazione di glucosio per un soggetto considerabile in stato stazionario.

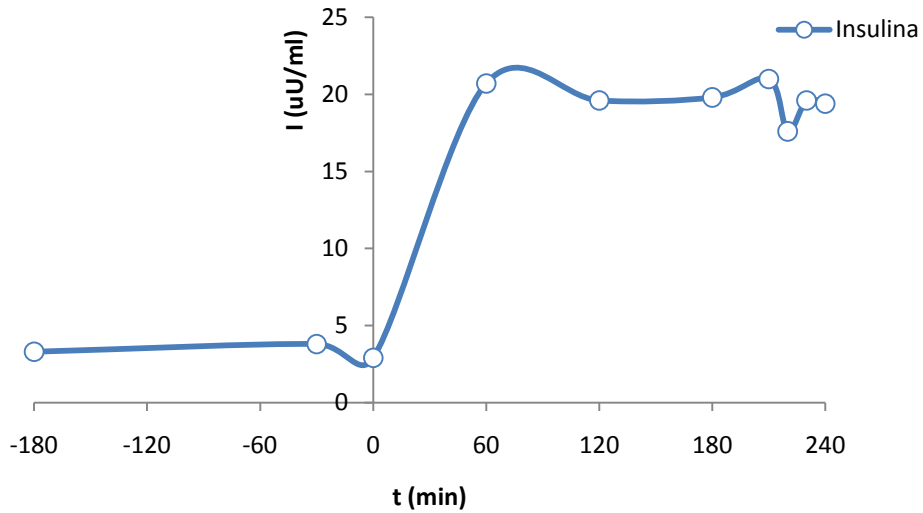


Figura 5.53: Andamento temporale della concentrazione di insulina per un soggetto considerabile in stato stazionario.

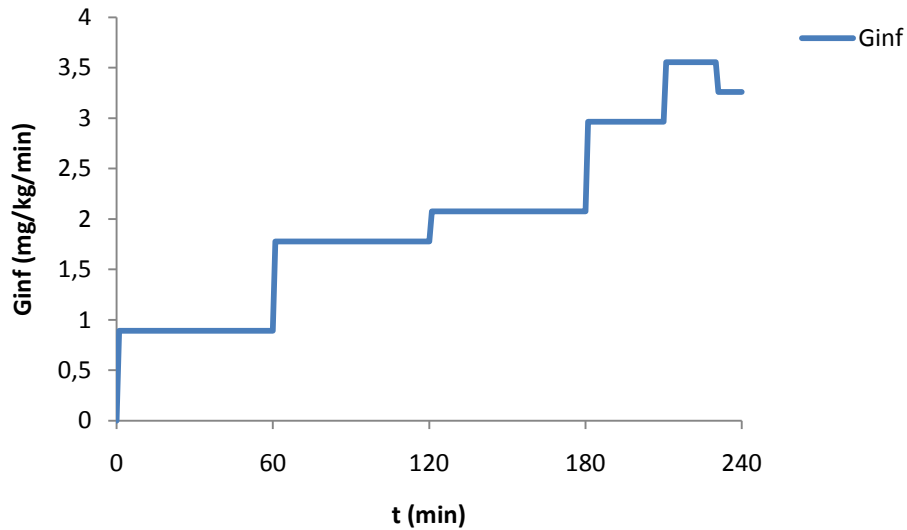


Figura 5.54: Andamento temporale dell'infusione di glucosio per un soggetto considerabile in stato stazionario.

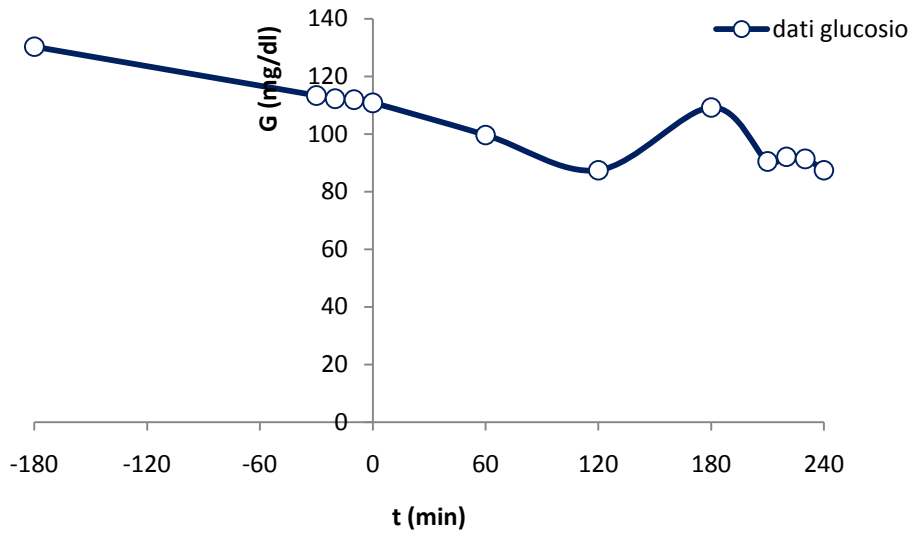


Figura 5.55: Andamento temporale della concentrazione di glucosio per un soggetto considerabile in stato non stazionario.

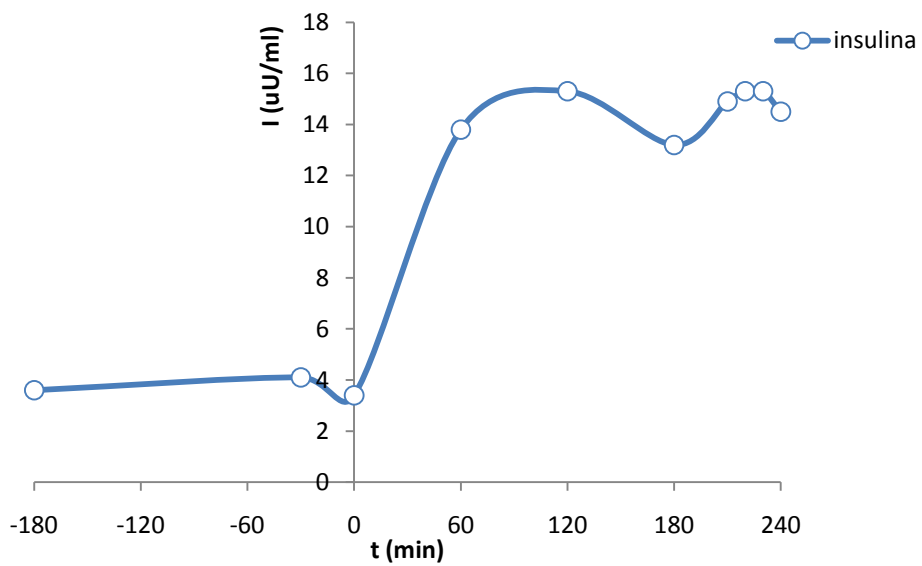


Figura 5.56: Andamento temporale della concentrazione di insulina per un soggetto considerabile in stato non stazionario.

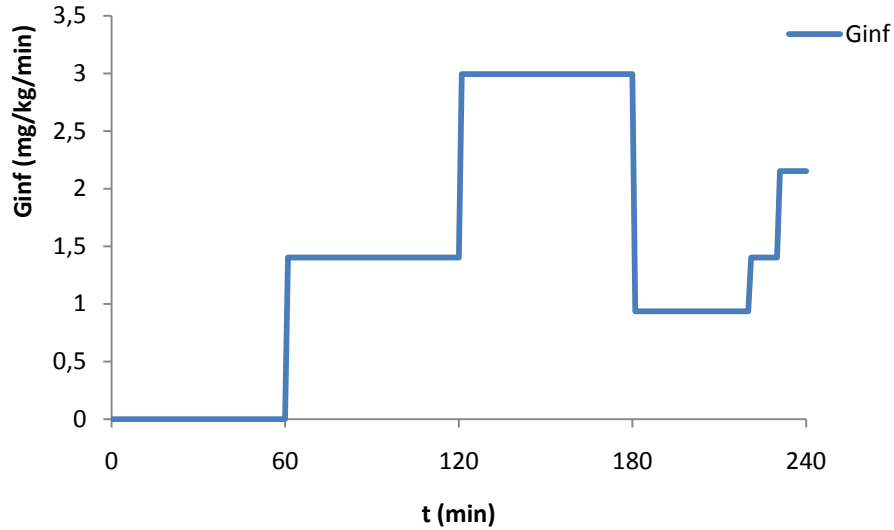


Figura 5.57: Andamento temporale dell'infusione di glucosio per un soggetto considerabile in stato non stazionario.

Analogamente il confronto tra S_I ottenuta dal modello “freddo” e S_I ricavata dalle formule, con correzione di Steele (di Eq. 2.31), mostra che i due metodi forniscono valori simili in media (si veda Tabella 5.36). La correlazione è $R=0.87$, $P=5.42 \cdot 10^{-13}$ (Figura 5.58). R risulta appena superiore al caso precedente grazie alla correzione di Steele.

| | S_I modello ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | S_I formule corrette ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) |
|--------------|---|--|
| Media | 23.5066 | 22.0097 |
| SD | 15.0747 | 14.6937 |

Tabella 5.36: Valori medi e SD dell'indice metabolico S_I ottenuto con il modello minimo del glucosio freddo e con le formule con correzione di Steele, per 40 soggetti.

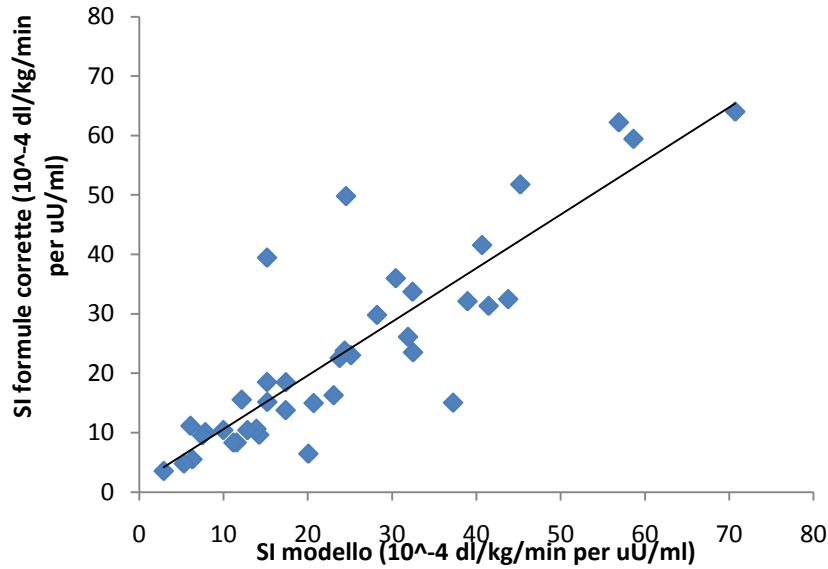


Figura 5.58: Rappresentazione della correlazione tra indici metabolici S_I ottenuti con modello e formule corrette per 40 soggetti, con linea di tendenza.

Confrontando l'indice S_I^* ricavato col modello minimo del glucosio con tracciante e con le formule di Eq. 2.30 sui 39 soggetti selezionati (di cui per 3 le formule danno degli indici negativi, perciò non sono stati inseriti): si trovano (Tabella 5.37) valori simili in media. La correlazione tra i valori dell'indice ottenuto nei due modi è $R=0.92$, $P=4.3 \cdot 10^{-15}$ (Figura 5.59). Il buon risultato in termini di correlazione è probabilmente da attribuirsi al fatto che, dei 39 suddetti soggetti, ben 21 possono ritenersi in una situazione di stato stazionario. Risultati simili si ottengono con la correzione di Steele di Eq. 2.32.

| | S_I^* modello ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | S_I^* formule ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) |
|--------------|---|---|
| Media | 16.6998 | 14.8190 |
| SD | 12.2334 | 11.5610 |

Tabella 5.37: Valori medi e SD dell'indice metabolico S_I^* ottenuto con il modello minimo del glucosio con tracciante e con le formule di stato stazionario, per 36 soggetti.

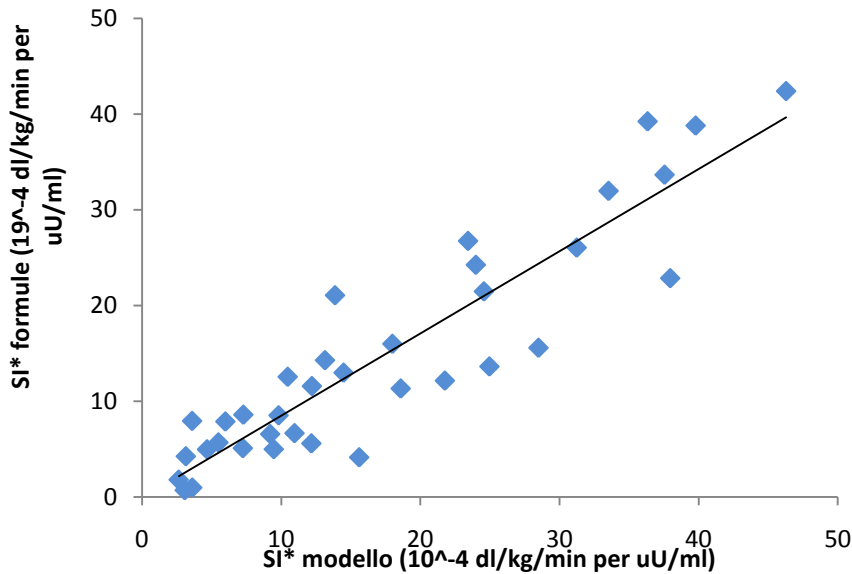


Figura 5.59: Rappresentazione della correlazione tra indici metabolici S_I^* ottenuti con modello e formule per 36 soggetti, con linea di tendenza.

Infine si può confrontare S_I^L ottenuta per differenza dalle formule di stato stazionario con quella ricavata per differenza dai modelli minimi. E' stata perciò utilizzata la forma con la correzione di Steele poiché essa tiene in parte conto di uno stato non stazionario e può fornire un termine di paragone più verosimile, considerando che valori ottenuti per differenza sono sempre maggiormente soggetti a errore. I soggetti qui considerati sono gli stessi 24 del par. 5.1.2.3.

In Tabella 5.38 sono riportati i valori medi e le SD degli indici ottenuti coi due metodi; la correlazione tra i due è $R=0.47$, $P=0.021$ (Figura 5.60). Tale valore non è molto elevato, ma bisogna tenere in considerazione il fatto che le formule forniscono un risultato che approssima una situazione ideale, e che i valori di S_I^L sono ricavati in entrambi i casi per differenza tra S_I e S_I^* (è noto infatti che con tale operazione l'errore viene amplificato).

| | S_I^L clamp | S_I^L formule |
|-------|---------------|-----------------|
| Media | 8.7005 | 11.0908 |
| SD | 5.1301 | 7.6891 |

Tabella 5.38: Valori medi e SD dell'indice metabolico S_I^L ottenuto con per differenza con le formule del clamp, e per differenza con i modelli minimi del glucosio, su 24 soggetti.

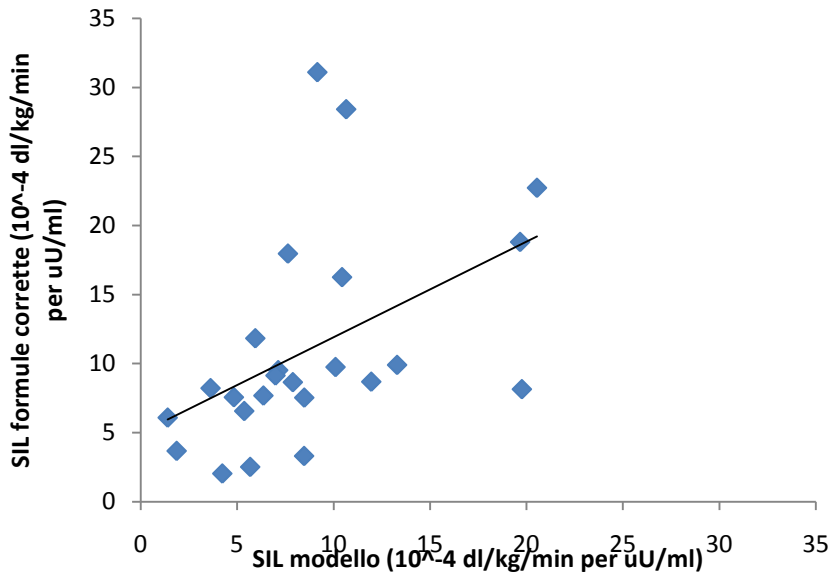


Figura 5.60: Rappresentazione della correlazione tra indici metabolici S_I^L ottenuti per differenza con le formule del clamp, e per differenza con i modelli minimi del glucosio, su 24 soggetti.

5.2.3 Modelli di EGP vs. modelli minimi del glucosio

In questa sezione, sono presentati i risultati degli indici ottenuti con i modelli di EGP e con i modelli minimi del glucosio. Per fare ciò sono stati considerati i 24 soggetti descritti precedentemente.

In Tabella 5.39 sono mostrati valori medi e SD degli indici metabolici della sensibilità insulinica, trovati con il modello lineare dell'EGP e con i modelli minimi del glucosio.

| | S_I clamp ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | S_I^* clamp ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | S_I^L clamp ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) | S_I^L EGP ($10^{-4} \cdot \text{dl/kg/min}$ per $\mu\text{U/ml}$) |
|-------|---|---|---|---|
| Media | 23.6426 | 14.9421 | 8.7005 | 4.6012 |
| SD | 13.8620 | 10.8282 | 5.1302 | 3.1423 |

Tabella 5.39: Valori medi e SD degli indici metabolici ottenuti coi due modelli su 24 soggetti.

La correlazione tra la S_I^L dei 24 soggetti ricavati dai due modelli è $R=0.72$, $P=6.75 \cdot 10^{-5}$ (Figura 5.61). Tale risultato è soddisfacente, in quanto l'indice S_I^L

derivante dal clamp è stato ottenuto per differenza dai due modelli minimi, ed è quindi maggiormente soggetto a errore.

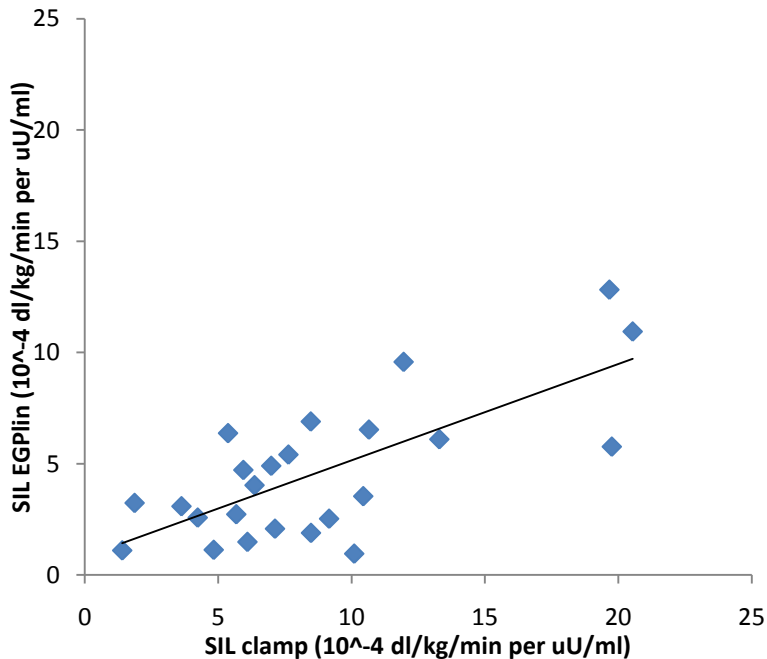


Figura 5.61: Rappresentazione della correlazione tra indici metabolici ottenuti coi due modelli su 24 soggetti, con linea di tendenza.

5.3 Applicazioni

In questo paragrafo si illustra una possibile applicazione dei risultati ottenuti. I valori medi degli indici metabolici GE^L e S_I^L in funzione dei livelli di patologia sono riportati nelle Figure 5.62-5.63. In questi grafici sono anche rappresentati i risultati del t-test e del test non parametrico di Wilcoxon, per verificare se tra i diversi gruppi esistono delle differenze statisticamente significative per i suddetti indici metabolici.

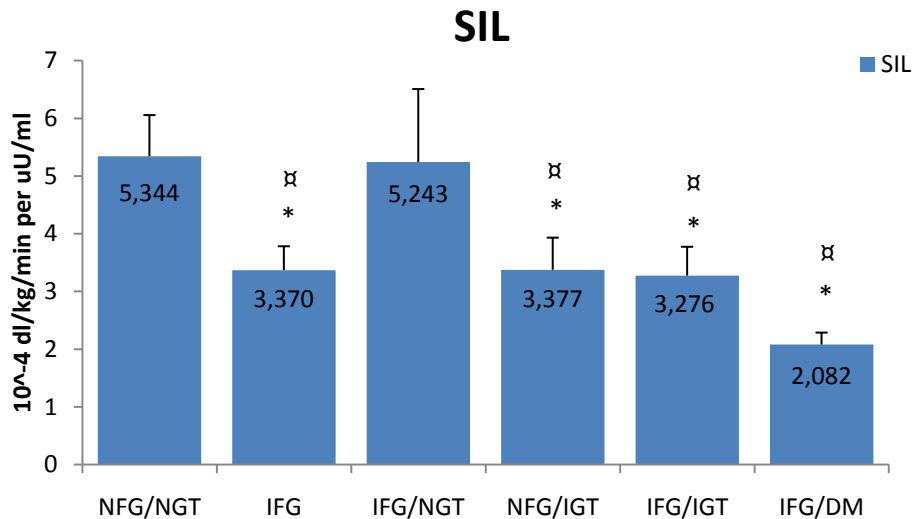


Figura 5.62: Istogramma dei valori medi dell'indice metabolico S_I^L ricavati dal modello lineare di EGP per i diversi gruppi patologici a cui appartengono i 62 soggetti. * $P < 0.05$ vs. NFG/NGT con test di Wilcoxon; $\alpha P < 0.05$ vs. NFG/NGT con t-test.

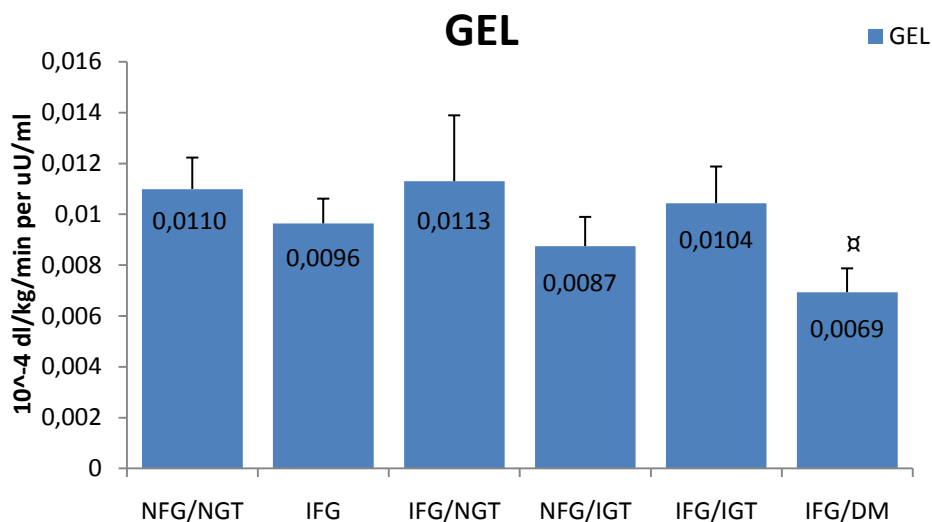


Figura 5.63: Istogramma dei valori medi dell'indice metabolico GE^L ricavati dal modello lineare di EGP per i diversi gruppi patologici a cui appartengono i 62 soggetti. * $P < 0.05$ vs. NFG/NGT con test di Wilcoxon; $\alpha P < 0.05$ vs. NFG/NGT con t-test.

E' evidente, che l'indice S_I^L (Figura 5.62), fornito dal modello lineare della soppressione di EGP riesce a discriminare il grado patologico dei soggetti. Infatti confrontando il valore medio di tale indice ottenuto nel gruppo di soggetti normali (NFG/NGT) e in quasi tutti i gruppi di soggetti patologici (NFG/IGT, IFG/IGT, IFG/DM) i suddetti test statistici forniscono P minore del 5%. Questo risultato è in accordo con quanto trovato da Bock et al. [4], in cui, sugli stessi gruppi di soggetti,

le differenze degli indici metabolici S_I e S_I^* si dimostravano statisticamente significative, facendo presupporre un analogo comportamento per la S_I^L ricavata per differenza tra i due; i risultati esposti in questa tesi confermano quindi questa osservazione, addirittura rafforzandola dato che, come spiegato più volte, il modello della soppressione di EGP fornisce direttamente l'indice S_I^L , al contrario dei modelli minimi del glucosio, che permettono di ottenerlo per differenza e quindi con maggiore errore.

6. CONCLUSIONI

L'obiettivo di questa tesi è la validazione di un nuovo modello della produzione epatica di glucosio per la stima degli indicatori metabolici S_I^L e GE^L ideato da Dalla Man et al. [7]. A questo scopo è stato utilizzato un data base di 62 soggetti, costituito da individui normali, diabetici, e soprattutto prediabetici; dopo una fase preliminare, ovvero il test di tolleranza orale al glucosio (OGTT) per la classificazione iniziale dei soggetti, essi sono stati sottoposti a un mixed meal con triplo tracciante e ad un clamp euglicemico iperinsulinemico.

Con il protocollo di triplo tracciante, è stato possibile ricavare in modo indipendente il flusso EGP per i suddetti soggetti. I dati di EGP così ottenuti sono stati interpretati con due modelli della soppressione di EGP: il modello lineare sopra menzionato, e un modello non lineare, ideato sulla base del precedente, che consente di avere delle predizioni di EGP positive o al più nulle. L'identificazione di entrambi i modelli, effettuata con una tecnica ai minimi quadrati non lineari pesati, ha fornito una buona predizione dei dati a disposizione, e delle stime dei parametri fisiologiche e precise sulla quasi totalità dei soggetti considerati. I due modelli sono stati messi in competizione. Il modello lineare è risultato essere il più parsimonioso poiché, essendo formulato con meno parametri, permette di ottenere delle stime più precise, e, dall'applicazione del criterio di Akaike (AIC), risulta il più adeguato allo scopo. Da questo modello sono stati quindi ottenuti gli indicatori metabolici epatici, sfruttati in fase di validazione.

La sensibilità insulinica epatica S_I^L può essere ricavata per differenza dalle stime della sensibilità insulinica totale (S_I) e dalla sensibilità insulinica di sola utilizzazione ("disposal", S_I^*). S_I e S_I^* sono state ottenute con le formule standard [8] dai dati di clamp euglicemico iperinsulinemico con tracciante, che ipotizzano verificata la condizione di stato stazionario alla fine dell'esperimento. Poiché questo non è sempre verificato sperimentalmente, i dati ottenuti con il clamp euglicemico iperinsulinemico, sono stati anche interpretati con i modelli minimi del glucosio

“freddo” e del glucosio tracciante, entrambi basati su una struttura bicompartimentale. Per l’identificazione del modello “freddo” è stata adottata una tecnica di stima Bayesiana, mentre per la versione con tracciante è stato scelto uno stimatore ai minimi quadrati non lineari pesati. Tutti e due i modelli risultano fornire una predizione dei dati complessivamente buona, e delle stime dei parametri precise su una selezione finale di 24 soggetti, scelti in base alla bontà dei fit nei due casi.

Una volta ottenuti gli indici metabolici totali e “disposal” rispettivamente dal modello minimo del glucosio “freddo” e del glucosio tracciante, essi sono stati confrontati con quelli ricavati dalle corrispondenti formule di stato stazionario. La correlazione tra la sensibilità insulinica data da modello e formule di stato stazionario è $R=0.85$ per gli indici “freddi”, e $R=0.92$ per quelli “disposal”. Questi risultati sono molto buoni considerando che solo una parte dei soggetti può dirsi realmente in una situazione di stato stazionario. Applicando invece la correlazione alla S_I^L ottenuta dai modelli minimi e i corrispondenti valori provenienti dalle formule si trova $R=0.47$; questo valore non è molto elevato, ma è necessario ricordare che gli indici correlati derivano entrambi da un’operazione di differenza, e sono quindi soggetti a maggiore errore.

Per validare il modello della soppressione di EGP si sono utilizzati i risultati ottenuti dal clamp euglicemico iperinsulinemico che, come noto, costituisce la tecnica “gold standard” per la misura della sensibilità insulinica. La correlazione tra gli indici S_I^L ricavati col modello lineare della soppressione dell’EGP e quelli ricavati dai modelli minimi sui 24 soggetti selezionati è soddisfacente: $R=0.72$.

Infine, tramite i test statistici di Student e di Wilcoxon per dati non appaiati, si è verificata la capacità del modello lineare della soppressione di EGP di discriminare i diversi livelli patologici del diabete dei 62 soggetti iniziali. Il modello fornisce indici S_I^L significativamente diversi per i vari gruppi di soggetti, in accordo con quanto dedotto da Bock et al. [4].

In conclusione il modello proposto è stato validato con successo grazie al protocollo di clamp euglicemico iperinsulinemico, esso è perciò adeguato per la descrizione della produzione epatica di glucosio durante il pasto nei soggetti analizzati; lo stesso modello risulta per altro uno strumento molto utile per lo studio delle fasi di insorgenza della patologia diabetica.

APPENDICE

Qui di seguito si riportano parti dei codici Matlab utilizzati per implementare i modelli adoperati in questa tesi.

Per quanto riguarda il modello lineare della soppressione dell'EGP, vengono richiamate alcune righe del main, la function di stima parametrica contenente la funzione obiettivo, e la function che realizza le equazioni del modello.

Main:

```
%valori iniziali parametri
KG=0.013;    %dl/Kg/min
KGR=0.148;  %dl/Kg
k1=0.021;   %min^-1
k2=0.0458;  %mg/Kg/min per uU/ml

struct.t=t;  %vettore tempi
struct.p=[KG KGR k1 k2]'; %vettore parametri
struct.pup=struct.p*10; %limite superiore
struct.pdown=struct.p/10; %limite inferiore
struct.sd=1; %SD costante non nota da stimare a posteriori con
                                     %pesi relativi

options=optimset('TolX',1e-6,'TolFun',1e-6);
struct.tspan=[0 struct.t(end)]; %intervallo di integrazione
....
for j=1:length(ID)
    i=ID(j) %soggetto analizzato
    struct.G=G(:,i); %vettore glucosio del soggetto
    struct.I=I(:,i); %vettore insulina del soggetto
    struct.DI=I(:,i)-Ib(i); %vettore del salto di insulina
                               %rispetto al basale del soggetto
    struct.DG=G(:,i)-Gb(i); %vettore del salto del glucosio
                               %rispetto al basale del soggetto
    struct.EGP=EGP(:,i); %vettore EGP del soggetto
    struct.EGPb=EGPb(i); %valore basale EGP del soggetto

    struct.derGlu=derGlu(:,i); %vettore derivata del glucosio del
                                %soggetto

    %applicazione lsqnonlin
    [p_est(:,i),RESNORM(i),RESIDUAL,EXITFLAG,OUTPUT,LAMBDA,J]=lsqnonlin
    ('stima_par',struct.p,struct.pdown,struct.pup,options,struct);

    %stime dei parametri
    KG_est(i)=p_est(1,i);
    KGR_est(i)=p_est(2,i);
```

```

k1_est(i)=p_est(3,i);
k2_est(i)=p_est(4,i);

%indici di interesse
GEL(i)=KG_est(i); %dl*kg^-1*min^-1
SIL(i)=k2_est(i)/Gb(i); % dl*kg^-1*min^-1 per uU/ml

M=4; %numero parametri
N=length(struct.t(5:end)); %lunghezza vettore dati
alfa_quadro=RESNORM(i)/(N-M);
SD_mis(i)=sqrt(alfa_quadro); %SD delle misure a posteriori con
%pesi relativi
cov=alfa_quadro*inv(J'*J); %covarianza stime
for j=1:M
    CV_est(j,i)=100*sqrt(cov(j,j))./p_est(j,i); %CV stime
end
EGP_pred(:,i)=struct.EGP(5:end)-RESIDUAL; %predizione EGP
wres(:,i)=RESIDUAL./SD_mis(i); %residui pesati

end

```

Funzione di stima parametrica:

```

function obj_fun=stima_par(par,struct)

struct.KG=par(1);
struct.KGR=par(2);
struct.k1=par(3);
struct.k2=par(4);

x0=[0 0]; %condizioni iniziali per XL e X1

struct.options=odeset('AbsTol',1e-7);

% utilizzo di ode45 per risolvere le eq differenziali
[T Y]=ode45('modello',struct.tspan,x0,struct.options,struct);

%necessaria interpolazione dopo ode45
YY1=interp1(T,Y(:,1),struct.t) %XL

% costruzione X_der
N=length(struct.derGlu);
for i=1:N
    if struct.derGlu(i)>=0
        X_der(i)=struct.KGR*struct.derGlu(i);
    else
        X_der(i)=0;
    end
end
X_der=X_der';

%funzione forzante glucosio DG=G-Gb

y=struct.EGPb-struct.KG*struct.DG(5:end)-YY1(5:end)-X_der; %EGP=y

obj_fun=(struct.EGP(5:end)-y)./struct.sd; %funzione obietttivo

```

Modello:

```
function dy=modello(T,y,flag,struct)
%costruzione eq differenziali modello

%funzione forzante insulina con DI=I-Ib
DeltaI=interp1(struct.t,struct.DI,T);

%eq. differenziali XL=y(1) X1=y(2)
dy(1)=-struct.k1*y(1)+struct.k1*y(2);
dy(2)=-struct.k1*(y(2)-struct.k2*DeltaI);
dy=dy';
```

Per ciò che concerne invece il modello minimo del glucosio “freddo” bicompartimentale, vengono riportate le parti fondamentali del main, la function che realizza la stima parametrica con la tecnica MAP, la function che fornisce le equazioni differenziali del modello:

Main:

```
G=G*18.016; %mg/dl
for sogg=1:57
    Ginf(:,sogg)=Ginf(:,sogg)*LBM(sogg)*0.18016/BW(sogg);
%mg/kg/min
end

cv=0.02; %cv costante noto

struct.tempi=tempi_I(3:end); %min (parto da minuto 0)
...
for i=1:length(ID)
    sogg=ID(i);
    struct.I=I(3:end,sogg); %u/ml (parto da minuto 0)
    struct.Ib=mean(I(2:3,sogg)); %u/ml (media da min -30 a zero)
    struct.DI=struct.I-struct.Ib; %u/ml
    struct.G=G(5:end,sogg); %mg/dl (parto da minuto 0)
    struct.Gb=mean(G(3:5,sogg)); %mg/dl (media da minuto -30 a
        %zero)
    %per ottenere una "scaletta" di infusione
    struct.t=[0:1:240]';
    j=1;
    i=1;
    while i<=length(struct.t)
        if struct.t(i)<=struct.tempi(j)
            struct.Ginf(i)=Ginf(j,sogg); %parto da minuto zero
            i=i+1;
        else
            j=j+1;
        end
    end
    struct.Ginf=struct.Ginf'; %mg/kg/min

    %stime iniziali
```

```

SG=0.02; %min^-1
p2=0.013; %min^-1
SI=0.0005; %min^-1 per uU/ml
V=1; %dl/kg
k21=0.05; %min^-1
k12=0.07; %min^-1

struct.p=[SG p2 SI V k21 k12]'; %vettore parametri
struct.pup=[SG*10 p2*10 SI*10 V*1.5 k21*10 k12*10];
%limite superiore
struct.pdown=[SG/10 p2/10 SI/10 V/2 k21/10 k12/10];
%limite inferiore
struct.Tspan=[0:1:struct.tempi(end)]'; %intervallo di
%integrazione
struct.options=odeset('AbsTol',1e-8,'RelTol',1e-3);

%per stima MAP
struct.mu_p=[0.05 0.07]'; %vettore media
w1=0.013;
w2=0.018;
r=0.9;
struct.sigma_p=[w1^2 r*w1*w2; r*w1*w2 w2^2]; %matrice
%covarianza
struct.sd=cv*struct.G; %SD

options=optimset('TolX',1e-6,'TolFun',1e-6,'MaxFunEvals',1e4);

[p_est(:,sogg),RESNORM(sogg),RESIDUAL,EXITFLAG,OUTPUT,LAMBDA,J]=lsq
nonlin('stimapar_glu',struct.p,struct.pdown,struct.pup,options,struct);

%stime
SG_est(sogg)=p_est(1,sogg);
p2_est(sogg)=p_est(2,sogg);
SI_est(sogg)=p_est(3,sogg);
V_est(sogg)=p_est(4,sogg);
k21_est(sogg)=p_est(5,sogg);
k12_est(sogg)=p_est(6,sogg);

SI_est_corretta(sogg)=SI_est(sogg)*V_est(sogg); %dl/kg/min
%per uU/ml

M=6; %numero parametri
N=length(struct.tempi); %lunghezza dati
J=J(1:end-1,:); %tolgo ultima riga aggiunta in coda alla
%obj_fun
inv_sigma_p=[zeros(4,6); [zeros(2,4) inv(struct.sigma_p)]];
%costruisco l'inversa della cov a priori

covpar=inv(J'*J+inv_sigma_p); %covarianza stime
var=diag(covpar); %varianza
SD=sqrt(var); %SD
CV_est(:,sogg)=SD./p_est(:,sogg)*100; %CV stime

wres(:,sogg)=RESIDUAL(1:length(struct.G)); %residui
%pesati
fit(:,sogg)=struct.G-wres(:,sogg).*struct.sd; %predizione
end
end

```

Funzione di stima parametrica:

```
function [obj_fun]=stimapar_glu(par,struct)
SG=par(1);
p2=par(2);
SI=par(3);
V=par(4);
k21=par(5);
k12=par(6);

[T Y]=ode45('mm_mod',struct.Tspan,[struct.Gb 0
struct.Gb*k21/k12],struct.options,struct,SG,p2,SI,V,k21,k12);

%necessaria interpolazione dopo ode45
YY1=interp1(T,Y(:,1),struct.tempi);

%informazione a priori per stima MAP
IP=(struct.mu_p-[k21 k12]')'*struct.sigma_p^-1*(struct.mu_p-[k21
k12]'); %informazione a priori
%funzione obiettivo
obj_fun=[(struct.G-YY1)./struct.sd; sqrt(IP)]; %aggiungo come
%ultima riga la radice quadrata dell'informazione a priori
```

Modello:

```
function dy=mm_mod(T,y,FLAG,struct,SG,p2,SI,V,k21,k12)
DeltaI=interp1(struct.tempi,struct.DI,T);
%y(2)=X
dy(2)=-p2*y(2)+p2*SI*DeltaI;

%y(1)=G1
Ginfusione=interp1(struct.t,struct.Ginf,T); %scaletta di infusione
k01=SG+y(2)+k21;
dy(1)=-k01*y(1)+SG*struct.Gb+Ginfusione/V+k12*y(3);

%y(3)=G2
dy(3)=k21*y(1)-k12*y(3);

dy=dy';
```

Infine si riportano alcune parti dei codici Matlab impiegati per il modello minimo del glucosio con tracciante.

Main:

```
cv=0.05; %costante e noto

for i=1:size(Inf_tracciante,2)
    Inf_tracciante(:,i)=Inf_tracciante(:,i)*LBM(i)/BW(i);
% dpm/kg/min
end

.....
```

```

struct.tempi=tempi_tr; %min (parto da -180 min)
struct.tempi_I=tempi_I; %min (parto da -180 min)

%stime iniziali
SG=0.04; %min^-1
p2=0.013; %min^-1
SI_D=0.0005; %min^-1 per uU/ml
V=100; %ml/kg
k21=0.05; %min^-1
k12=0.07; %min^-1

struct.p=[SG p2 SI_D V k21 k12]';
struct.pup=[SG*10 p2*10 SI_D*10 V*2 k21*10 k12*10]; %limite
%superiore
struct.pdown=[SG/10 p2/2 SI_D/2 V/1.5 k21/10 k12/10]; %limite
%inferiore
struct.Tspan=[-180:1:struct.tempi(end)]'; %intervallo di
%integrazione
struct.options=odeset('AbsTol',1e-9,'RelTol',1e-8);

for l=1:length(ID)
    sogg=ID(l); %soggetto
    struct.tracciante=tracciante(:,sogg); %dpm/ml

    struct.bolo=boli(sogg); %infusione "primed"
    struct.BW=BW(sogg); %peso

    struct.Ib=mean(I(2:3,sogg)); %uU/ml (media da min -30 a zero)
    struct.I=I(:,sogg); %uU/ml (parto da minuto -180)
    struct.I(1:3)=struct.Ib*ones(3,1);
    struct.DI=struct.I-struct.Ib; %uU/ml

    %per ottenere una "scaletta" di infusione
    struct.t=[-180:1:240]';
    j=1;
    i=1;

    while i<=length(struct.t)
        if struct.t(i)<=struct.tempi(j)
            struct.inf_tracciante(i)=inf_tracciante(j,sogg);
            i=i+1;
        else
            j=j+1;
        end
    end

end

struct.inf_tracciante=struct.inf_tracciante'; %dpm/kg/min

struct.sd=cv*struct.tracciante; %SD

options=optimset('TolX',1e-9,'TolFun',1e-15);

%applicazione di lsqnonlin

```



```

[p_est(:,sogg),RESNORM(sogg),RESIDUAL,EXITFLAG,OUTPUT,LAMBDA,J]=lsq
nonlin('stimapar_glu_tracciante',struct.p,struct.pdown,struct.pup,o
ptions,struct);
    %stime dei parametri
    SG_est(sogg)=p_est(1,sogg);
    p2_est(sogg)=p_est(2,sogg);
    SI_D_est(sogg)=p_est(3,sogg);
    V_est(sogg)=p_est(4,sogg);
    k21_est(sogg)=p_est(5,sogg);
    k12_est(sogg)=p_est(6,sogg);

    SI_D_est_corretta(sogg)=SI_D_est(sogg)*V_est(sogg)/100;
    %dl/kg/min per uU/ml

    M=6; %numero parametri
    N=length(struct.tempi(2:end)); %lunghezza dati

    covpar=inv(J'*J); %covarianza stime
    var=diag(covpar); %varianza stime
    SD(:,sogg)=sqrt(var); %SD stime
    CV_est(:,sogg)=SD(:,sogg)./p_est(:,sogg)*100; %CV stime

    wres(:,sogg)=RESIDUAL; %residui pesati
    fit(:,sogg)=struct.tracciante(2:end)-
    wres(:,sogg).*struct.sd(2:end); %fit

end

```

Funzione di stima parametrica

```

function [obj_fun]=stimapar_glu_tracciante(par,struct)
SG=par(1);
p2=par(2);
SI=par(3);
V=par(4);
k21=par(5);
k12=par(6);

%applicazione di ode45 per la risoluzione di eq. differenziali
[T
Y]=ode45('mm_mod_tracciante',struct.Tspan,[struct.bolo/(V*struct.BW
) 0 0],struct.options,struct,SG,p2,SI,V,k21,k12);

YY1=interp1(T,Y(:,1),struct.tempi); %necessaria interpolazione
% dopo ode45

%funzione obiettivo da cui tolgo il primo campione di tracciante
%poichè nullo
obj_fun=(struct.tracciante(2:end)-YY1(2:end))./struct.sd(2:end);

```

Modello

```

function dy=mm_mod_tracciante(T,y,FLAG,struct,SG,p2,SI,V,k21,k12)

DeltaI=interp1(struct.tempi_I,struct.DI,T);

```

```
%y(2)=X
dy(2)=-p2*y(2)+p2*SI*DeltaI;

%y(1)=tracciante1C
infusione_tr=interp1(struct.t,struct.inf_tracciante,T);

k01=SG+y(2)+k21;
dy(1)=-k01*y(1)+infusione_tr/V+k12*y(3);

%y(3)=tracciante2C
dy(3)=k21*y(1)-k12*y(3);

dy=dy';
```

BIBLIOGRAFIA

[1] CLAUDIO COBELLI, RICCARDO BONADONNA, “Bioingegneria dei sistemi metabolici”, Patron editore.

[2] <http://www.diabetesatlas.org>

[3] <http://www.diabeteclicktocare.it>

[4] GERLIES BOCK, CHIARA DALLA MAN, MARCO CAMPIONI, ELIZABETH CHITILAPILLY, RITA BASU, GIANNA TOFFOLO, CLAUDIO COBELLI, and ROBERTA RIZZA, “Pathogenesis of Pre-Diabetes: Mechanisms of Fasting and Postprandial Hyperglycemia in People With Impaired Fasting Glucose and/or Impaired Glucose Tolerance”. *Diabetes*, vol. 55, December 2006.

[5] RITA BASU, BARBARA DI CAMILLO, GIANNA TOFFOLO, ANANDA BASU, PANKAJ SHAH, ADRIAN VELLA, ROBERT A. RIZZA e CLAUDIO COBELLI, “Use of a novel triple tracer approach to assess postprandial glucose metabolism”. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284: E55–E69, 2003.

[6] GERLIES BOCK, ELIZABETH CHITILAPILLY, RITA BASU, GIANNA TOFFOLO, CLAUDIO COBELLI, VISVANATHAN CHANDRAMOULI, BERNARD R. LANDAU, and ROBERT A. RIZZA, “Contribution of Hepatic and Extrahepatic Insulin Resistance to the Pathogenesis of Impaired Fasting Glucose: Role of Increased Rates of Gluconeogenesis”. *Diabetes*, vol. 56, June 2007.

[7] CHIARA DALLA MAN, GIANNA TOFFOLO, RITA BASU, ROBERT A. RIZZA and CLAUDIO COBELLI, “Use of a labeled oral minimal model to measure hepatic insulin sensitivity”. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295: 1152-1159, 2008.

[8] DE FRONZO RA, TOBIN JD, and ANDRES R., “Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance”. *Am J Physiol Endocrinol Metab Gastrointest Physiol* 237: E214–E223, 1979.

Ringraziamenti

Ringrazio il prof. Cobelli, che mi ha fatto conoscere l'interessantissimo mondo dei Modelli, e mi ha dato la possibilità di sviluppare in questo ambito la mia tesi.

Ringrazio la prof. Dalla Man, che da subito mi ha seguita sempre con grande attenzione, disponibilità e soprattutto tanta pazienza.

Ringrazio i miei genitori, che hanno continuamente creduto in me anche quando io faticavo a farlo, e che in questi cinque anni mi hanno sempre sopportata e incoraggiata.

Ringrazio Giacomo, che mi è stato di grande supporto, mi ha aiutata, e con la sua simpatia è sempre riuscito a farmi sorridere.