



Università Politecnica delle Marche
Corso di Laurea Triennale in Ingegneria Biomedica

**Monitoraggio Continuo del Glucosio: problematiche
relative alla standardizzazione della misura e
dell'analisi.**

**Continuous Glucose Monitoring: issues relating to the
standardization of measurement and analysis.**

Candidato:

Riccardo Bresciani

Relatore:

Dott. Micaela Morettini

Correlatori:

Prof. Laura Burattini

Dott. Andrea Tura

ANNO ACCADEMICO 2020/2021

Ai miei cari

Abstract

Le persone con diabete sono tenute a controllare regolarmente la glicemia per prendere decisioni terapeutiche migliori e più approfondite. In passato si utilizzavano maggiormente sistemi per l'automonitoraggio della glicemia (SMBG), ma oggi sono sempre più spesso impiegati sistemi di monitoraggio continuo della glicemia (CGM) minimamente invasivi, talvolta per sostituire parzialmente l'automonitoraggio della glicemia. La maggior parte dei sistemi CGM sul mercato misurano continuamente le concentrazioni di glucosio nel liquido interstiziale del tessuto adiposo sottocutaneo e sono costituiti da un sensore impiantabile sottocute, il quale trasmette via wireless ad un trasmettitore (posizionato al di sopra del sensore) i dati campionati. Quest'ultimo poi trasmetterà tutti i dati rielaborati ad un ricevitore (App mobile) via Bluetooth, consentendo al paziente di monitorare l'andamento glicemico giornaliero comodamente a portata di mano.

Tuttavia, i sistemi CGM presentano delle limitazioni e problematiche relative soprattutto alla mancata standardizzazione dell'acquisizione del dato. In primis dovuto a ciò che viene misurato: prelevare frequentemente fluido interstiziale in grande quantità e in breve tempo non è così scontato come lo è per il sangue capillare. Bisogna poi tener conto di tutte le problematiche dovute al ritardo nell'analisi, ossia quel lasso di tempo che persiste tra il momento della misurazione e quello della visualizzazione del risultato. A tutto ciò viene incontro l'utilizzo di specifici algoritmi dei sistemi CGM che possono ridurre matematicamente il tempo di ritardo complessivo, in più attraverso specifici algoritmi di calibrazione, si riesce a modellare e correggere le differenze fisiologiche tra un'ipotetica analisi nel fluido interstiziale con una nel sangue intero (capillare o venoso).

Sarà fondamentale quindi nei prossimi anni, riuscire ad ottenere un'unica standardizzazione del dato per i sistemi CGM mininvasivi, ossia stabilire una catena di tracciabilità con metodi e procedure per la valutazione delle prestazioni analitiche. Bisognerà tener conto dell'incertezza di misura ricavata dall'utilizzo degli algoritmi, del periodo in cui avviene la misurazione nel paziente (fase preprandiale o postprandiale) e delle condizioni fisiche del malato, tenendo poi conto delle

naturali differenze fisiologiche che persistono in un'analisi tra le concentrazioni di glucosio nel sangue intero con quelle del liquido interstiziale.

Negli ultimi anni sono stati proposti diversi pacchetti software per cercare di raggiungere un'unica lettura di tutti i risultati dell'analisi dei dati CGM: tra questi si è analizzato nello specifico CGManalyzer. Il pacchetto R CGManalyzer contiene funzioni per l'analisi dei dati da uno studio di CGM, coprendo un'ampia e completa gamma di metodi di analisi dei dati, tra cui la lettura di una serie di set di dati, l'ottenimento di statistiche riassuntive dei livelli di glucosio, il tracciamento dei dati, la correzione dei valori mancanti, la valutazione della media della differenza giornaliera (MODD) e l'azione glicemica netta sovrapposta continua (CONGA), calcolando l'entropia del campione multiscala (MSE), conducendo un confronto a coppie, visualizzando i risultati utilizzando vari grafici incluso un nuovo tipo di grafico chiamato grafico dell'antenna. La problematica principale dell'analisi è dettata unicamente dal formato del dato campionato, ossia dal suo timestamp. A ciò viene incontro una particolare funzione propria del pacchetto CGManalyzer ("timeSeqConversion") la quale permette di modellare a piacimento la sequenza di valori temporali nel formato specificato nella scrittura del codice in R o RStudio.

Pertanto, questo pacchetto dovrebbe facilitare notevolmente l'analisi di vari studi CGM, essendo molto più veloce ed efficiente dei pacchetti R già utilizzati in precedenza, offrendo nuovi criteri di misurazione.

Indice

1. Aspetti fondamentali di glicemia e diabete	
1.1 La glicemia	1
1.2 L'insulina	3
1.3 Il Diabete	5
1.3.1 Diabete di Tipo 1	6
1.3.2 Diabete di Tipo 2	7
1.3.3 Altre forme di diabete	9
1.3.4 Valori di riferimento della glicemia	10
2. Monitoraggio Continuo del Glucosio	
2.1 Aspetti generali	13
2.2 Funzionamento del sensore del glucosio	14
2.3 Sistema CGM mininvasivo impiantabile	16
2.3.1 Tipologie di sistemi per il monitoraggio continuo della glicemia	22
3. Problematiche relative alla standardizzazione dell'acquisizione del dato	
3.1 Introduzione	26
3.2 Problematiche e ritardi dei sistemi CGM	27
3.3 Necessità di una standardizzazione	28
3.4 Stabilire la tracciabilità	31
3.4.1 Tracciabilità CGM	32
4. Analisi del dato CGM attraverso l'utilizzo di CGMAnalyzer e relative problematiche dell'analisi	
4.1 Premessa	35
4.2 CGMAnalyzer: un pacchetto R per analisi di studi di CGM	36
4.3 Leggere i dati: metodi in CGMAnalyzer	37
4.3.1 Conversione del TimeStamp e grafico relativo	39
4.3.2 Grafico dell'entropia multiscala	41
4.3.3 Grafico dell'antenna	42

Introduzione

Il concetto centrale della gestione del diabete è il controllo dei livelli di glucosio nel sangue e parte di questo controllo efficace dei livelli di glucosio risiede nella capacità di monitorarli adeguatamente. Questi metodi non devono solo essere accurati, ma anche convenienti. Ciò ha portato negli anni ad un'evoluzione nell'analisi, con il superamento della semplice misurazione tramite glucometro nel sangue capillare (sistemi SMBG) verso una misurazione più tecnologica, sicura e dettagliata. Il sistema di monitoraggio continuo del glucosio (CGM) fa parte della nuova tecnologia "all'avanguardia" della cura del diabete. Tuttavia, è una sfida elaborare ed analizzare i dati degli studi CGM a causa del grande volume, della intrinseca non linearità dei dati, dei tempi di ritardo nell'analisi e nell'elaborazione del dato e dei diversi formati del timestamp. Per di più, CGM ha una limitazione principale: non è facile raccogliere frequentemente il fluido interstiziale in volumi sufficientemente grandi in brevi periodi di tempo. Di conseguenza, non è attualmente disponibile alcuna procedura di misurazione di riferimento accettata a livello internazionale per il glucosio nel liquido interstiziale, che è un prerequisito per ottenere una tracciabilità metrologica ottimale. Poiché poi i produttori non forniscono informazioni dettagliate sulla catena di tracciabilità e l'incertezza di misurazione dei loro sistemi, i valori di glucosio ottenuti con CGM non possono attualmente essere adeguatamente ricondotti a standard o metodi di ordine superiore.

Attualmente non esiste un unico pacchetto software utilizzato per ottenere un'unica lettura di tutti i risultati dell'analisi dei dati CGM, rendendoli così interpretabili e confrontabili. Per questo motivo, la seguente ricerca si è soffermata sull'utilizzo del pacchetto R CGManalyzer; questo pacchetto può essere utilizzato per analizzare uno studio CGM dall'inizio alla fine, compresa la lettura e la visualizzazione dei dati, il calcolo di statistiche regolari e non lineari, conducendo anche un confronto di gruppo per poter poi visualizzare graficamente i risultati.

Sulla base di quanto sopra detto, lo scopo della tesi è stato lo studio di tutte le relative problematiche per la standardizzazione della misura e dell'analisi del dato CGM, delle procedure di campionamento e dei metodi per la valutazione delle prestazioni analitiche, definendo infine un metodo di analisi tramite il pacchetto R CGManalyzer.

Capitolo 1

Aspetti fondamentali di Glicemia e Diabete

1.1 La Glicemia

Con il termine **glicemia** s'intende il livello di concentrazione di glucosio nel sangue, e risulta essere un elemento fondamentale per l'organismo poiché costituisce il nutrimento essenziale per tutte quelle cellule che la prelevano dal sangue.

Da dove il nostro organismo preleva il glucosio?

La principale fonte di glucosio proviene dagli alimenti che ingeriamo, ma, in misura minore, questo può anche essere sintetizzato ex novo a partire da particolari meccanismi di natura endocrina. Il corpo umano possiede un sistema di regolazione basato sulla secrezione di ormoni pancreatici che consente di mantenere relativamente costante la glicemia durante l'arco della giornata.

La ghiandola endocrina che più agisce nella regolazione della glicemia è il **pancreas**.

Oltre a svolgere la funzione digestiva, producendo succhi pancreatici, il pancreas è funzionalmente suddiviso da una parte esocrina e da una parte endocrina. Sarà proprio la parte endocrina a produrmi e riversarmi direttamente a livello del sangue particolari tipi di ormoni.

Nello specifico, la regolazione della glicemia avviene ad opera di:

- **iperglicemizzanti**, come il glucagone, che innalzano la glicemia
- **ipoglicemizzanti**, come l'insulina, che abbassano la glicemia

Il **glucagone**, chiamato anche ormone della fame, è un ormone prodotto dalle cellule Alfa all'interno delle isole di Langerhans, e svolge un'azione opposta a quella dell'insulina: infatti è in grado di aumentare i livelli plasmatici di glucosio, promuovendo la sua sintesi e la scomposizione del glicogeno in glucosio nel fegato; inoltre riduce l'assorbimento del glucosio nei lipidi e nei muscoli.

Durante periodi di digiuno prolungato la sua secrezione raggiunge il picco massimo, mentre viene rilasciato normalmente durante l'attività fisica o dopo i pasti, per equilibrare l'azione dell'insulina evitando punte ipoglicemiche.

In **Figura 1** viene rappresentato in modo schematico come agiscono i due principali ormoni a livello del pancreas.

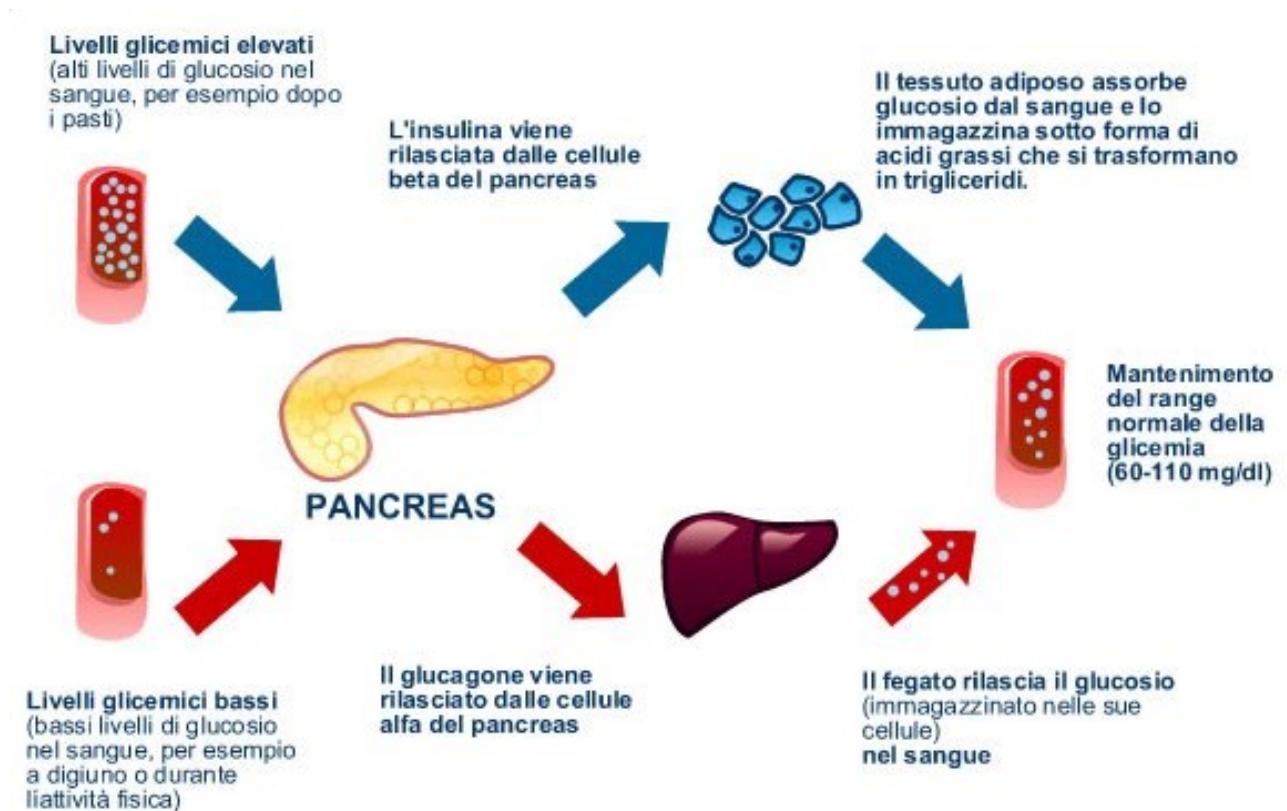


Figura 1: Quando i livelli glicemici sono elevati, l'insulina agisce a livello del pancreas provocando l'assorbimento di glucosio dal sangue da parte di tutto il tessuto adiposo presente. Invece quando i livelli glicemici sono bassi il glucagone provvederà ad innalzarli, con l'aiuto anche del fegato che rilascerà glucosio precedentemente immagazzinato. Entrambi gli ormoni agiscono per il mantenimento di un livello fisiologico della glicemia.

1.2 L'insulina

L'**insulina** è l'ormone chiave nel controllo del metabolismo del glucosio. Viene secreto dalle cellule Beta all'interno delle isole di Langerhans del pancreas, in risposta ad un innalzamento del livello glicemico. Indispensabile per il metabolismo degli zuccheri, agisce per ridurre i livelli di glucosio nel sangue, promuovendo il suo utilizzo nella sintesi di proteine, grassi e carboidrati.

L'insulina, una volta legata al suo recettore, è la "chiave" che permette al glucosio di entrare nelle cellule, che poi successivamente lo utilizzeranno come combustibile per trasformarlo in energia utile per l'intero organismo per tutti i processi energetici.

Nel processo digestivo normale, gli zuccheri, gli amidi, alcuni grassi e proteine sono trasformati in glucosio (speciale zucchero che il corpo brucia come combustibile), mentre tutto il glucosio che non viene utilizzato come combustibile viene immagazzinato, come grasso o glicogeno, nel fegato e nei muscoli. Perciò quando il livello di glucosio nel sangue è troppo alto, l'insulina viene prodotta proprio per abbassare la glicemia mediante l'attivazione di diversi processi metabolici e cellulari.

Quando poi l'insulina è messa in circolazione in quantità non sufficiente dal pancreas, oppure le cellule dell'organismo non rispondono alla sua presenza, nel sangue si avranno livelli di glucosio più alti del normale favorendo così la comparsa del diabete.

Il pancreas può produrre insulina anche in eccesso, risultando inadeguata per mantenere livelli glicemici nel sangue entro certi limiti; ciò è dovuto alla scarsa capacità dei tessuti ad interagire con l'ormone. Questo fenomeno farà sì che le cellule dell'organismo diminuiscano la propria sensibilità all'azione dell'insulina; ne consegue che il rilascio dell'ormone produce un effetto biologico inferiore rispetto a quanto previsto. In questo caso si parla di **insulino-resistenza**.

In risposta all'insulino-resistenza, l'organismo mette in atto un meccanismo compensatorio basato sull'aumentato rilascio di insulina; per elevati livelli dell'ormone nel sangue si parla di **iperinsulinemia**.

L'iperinsulinemia rende le cellule Beta del pancreas incapaci di attivare tutti quei meccanismi molecolari necessari al suo corretto funzionamento e alla sua normale sopravvivenza. La diminuita funzionalità delle cellule pancreatiche deputate alla sintesi di insulina apre alle porte del diabete mellito di tipo 2.

Nella fase conclamata della patologia, un'ulteriore riduzione della concentrazione plasmatica di insulina determina la comparsa della **iperglicemia** anche a digiuno. Non sorprende quindi, che l'insulino-resistenza rappresenti spesso l'anticamera del diabete.

Negli ultimi anni, diversi studi hanno fatto emergere una correlazione tra l'ormai noto Coronavirus 2019 (COVID19) e fenomeni di insulino-resistenza.

Nuove conferme sono emerse da uno studio pubblicato sulla rivista scientifica "*Nature Metabolism*" il 25 maggio 2021 che ha coinvolto 551 pazienti ricoverati per COVID-19.

Lo studio ha dimostrato che i pazienti ricoverati per infezione da Coronavirus 2 (SARS-CoV2) manifestano alterazioni del compenso glicometabolico al monitoraggio continuo della glicemia (CGM) associate a modificazioni della resistenza insulinica, alterazioni che persistono anche mesi dopo la guarigione dalla malattia. Si è inoltre riscontrato che i pazienti con malattia da COVID19 (senza alcuna storia esistente di diagnosi di diabete) hanno una maggiore prevalenza di iperglicemia. Il rilascio di citochine proinfiammatorie come conseguenza della polmonite interstiziale grave conseguente all'infezione da COVID19, può accelerare l'insorgenza di alterazioni metaboliche influenzando negativamente l'omeostasi del glucosio.

Questo è il primo studio a dimostrare che il virus SARS-CoV-2 induce insulino-resistenza e deteriora la normale funzionalità delle cellule beta del pancreas. Queste alterazioni possono portare ad iperglicemia franca che persiste anche nella fase post-acuta.

In particolare, la comprensione profonda dei meccanismi della malattia potrà facilitare la ricerca di nuove strategie terapeutiche per questa malattia devastante che ha un impatto così importante sulla nostra comunità [1].

1.3 Il Diabete

Il diabete può essere visto come un contenitore di tante forme di malattia che però in comune hanno valori di glucosio nel sangue fuori norma, scompensati. Questa malattia cronica è caratterizzata dalla presenza di elevati livelli di glucosio nel sangue (**iperglicemia**), e dovuta a un'alterata quantità o azione dell'insulina. Quando appunto viene modificato il meccanismo che consente al glucosio l'ingresso nelle cellule e il suo conseguente utilizzo come fonte energetica, questo zucchero si accumula eccessivamente nel circolo sanguigno.

In condizioni normali l'insulina, rilasciata dal pancreas, entra nel circolo sanguigno ed ha il compito di far entrare il glucosio all'interno delle cellule, che, a seconda delle richieste metaboliche, lo utilizzeranno o lo depositeranno per future azioni. Ciò spiega come mai una carenza o un'alterata azione insulinica si accompagna ad un aumento degli zuccheri in circolo, (caratteristica tipica del diabete).

Nello specifico si parla di **diabete di tipo 1** quando la produzione di insulina da parte del pancreas viene soppressa o fortemente ridotta a causa della distruzione delle cellule Beta da parte del sistema immunitario; è di origine autoimmune, e compare in tutte le età e necessita di insulina sin da subito.

Invece si parla di **diabete di tipo 2** quando non viene prodotta una quantità sufficiente di insulina che soddisfi le necessità dell'organismo (deficit di secrezione di insulina), oppure quando l'insulina prodotta non agisce in maniera soddisfacente. Deriva dalla combinazione di predisposizione genetica, di uno stile di vita inadeguato, ed è spesso associato all'obesità e sovrappeso. Aumenta al crescere dell'età e rappresenta circa il 90-95% di tutti i casi di diabete [2].

In entrambi i casi, il risultato sarà appunto di un incremento dei livelli di glucosio nel sangue, fenomeno chiamato **iperglicemia**.

Uno dei segni clinici caratteristici del diabete è la presenza di zucchero nelle urine, che vi giunge attraverso il rene quando la sua concentrazione nel sangue supera un certo valore limite. Al diabete è stato spesso associato l'aggettivo **mellito** in quanto le urine, proprio per la presenza di

zucchero, rimanevano dolci, e anticamente proprio l'assaggio di queste costituiva l'unico modo per diagnosticare tale malattia.

1.3.1 Diabete di tipo 1

Il **diabete di tipo 1** è una forma di diabete che si manifesta prevalentemente nel periodo dell'infanzia e nell'adolescenza, anche se oggi giorno non sono più rari i casi di insorgenza nell'età adulta. Non è più considerato un diabete giovanile o infantile, ma bensì un diabete autoimmune.

Il diabete di tipo 1 è caratterizzato da un rapido e grave deficit della produzione di insulina poiché le cellule del pancreas che producono l'ormone vengono attaccate e distrutte dal sistema immunitario. Quindi, incapaci di produrre da soli l'insulina necessaria, i malati necessitano di dosi regolari di insulina per controllare i livelli di glucosio nel sangue, sotto forma di iniezioni o tramite una pompa. La somministrazione di insulina rimpiazza la carenza di ormone che è assoluta nel caso di diabete di tipo 1, e relativa in caso di diabete di tipo 2. La terapia insulinica può essere considerata come salva-vita nel paziente con diabete di tipo 1 che per nessun motivo deve sospenderla; in caso la dose di insulina potrà essere eventualmente ridotta, ma mai deve esserci un periodo superiore a poche ore in cui un diabetico di tipo 1 non riceva la sua iniezione di insulina. A differenza di molte persone con il diabete di tipo 2, i pazienti quindi non possono gestire la loro condizione attraverso la dieta, esercizio fisico e farmaci di assunzione orale [3].

Rientra nella categoria delle malattie autoimmuni in quanto nell'individuo si sviluppano anticorpi e globuli bianchi che, invece di combattere una molecola o un elemento estraneo all'organismo, vanno ad attaccare le cellule del corpo stesso. Questi si chiamano **autoanticorpi** che attaccano le cellule Beta all'interno del pancreas, che appunto sono deputate alla produzione di insulina, compromettendola.

Come conseguenza si riduce fino ad azzerarsi completamente la produzione di insulina il cui compito è quello di regolare l'utilizzo del glucosio da parte delle cellule, per cui si andrà incontro ad una situazione di eccesso di glucosio nel sangue.

La mancanza o scarsità di insulina non consentirà all'organismo di utilizzare gli zuccheri introdotti attraverso l'alimentazione, che vengono così eliminati con le urine. In questa situazione il corpo è incentivato a produrre energia in altri modi, principalmente attraverso il metabolismo dei grassi; ciò comporta la produzione di particolari tipi di lipidi con caratteristiche che li fanno assomigliare a degli zuccheri: questi sono chiamati corpi chetonici. L'accumulo di questa sostanza nell'organismo, se non si interviene in tempo, può portare a conseguenze molto pericolose fino al coma.

Il diabete di tipo 1 viene suddiviso in:

- **Diabete Mellito Autoimmune** che si manifesta nella maggior parte dei casi in età adolescenziale, causato dalla distruzione delle cellule Beta da parte degli anticorpi.
- **Diabete Mellito Idiopatico** che è una forma molto rara di diabete di tipo 1 e si manifesta principalmente nei soggetti di etnia asiatica o africana, caratterizzato da una carenza di insulina permanente.

Per quanto riguarda i sintomi, sono riconducibili a condizioni non fisiologiche come un aumento del volume urinario, con conseguente aumento della sensazione di sete, ed un calo improvviso di peso dovuto al fatto che non vengono contenute nel corpo le sostanze nutritive. Quindi i principali sintomi del diabete di tipo 1 sono la poliuria (aumento produzione urine), polidipsia (aumento della sete), polifagia paradossa (dimagrimento improvviso non dovuto a nessuna variazione di dieta).

Spesso però, il sintomo di esordio è la chetoacidosi diabetica, ossia un aumento del numero dei corpi chetonici nel sangue.

1.3.2 Diabete di tipo 2

Il **diabete mellito di tipo 2** è di gran lunga la forma di diabete più diffusa, caratterizzato da un duplice difetto: o non viene prodotta una quantità sufficiente di insulina per soddisfare le necessità dell'organismo (deficit di secrezione di insulina), oppure l'insulina prodotta non agisce in maniera

fisiologica. Il risultato, in entrambi i casi, è il conseguente incremento dei livelli di glucosio nel sangue, comunemente sopraccitato **iperglicemia**.

Questo deficit di produzione di insulina però non è mai tanto grave come quello presente nel diabete di tipo 1 e soprattutto non dipende dall'autoimmunità.

Viene anche chiamato diabete "*non insulino-dipendente*" perché l'iniezione di insulina esterna, a differenza del diabete di tipo 1, non è di vitale importanza.

Le cause alla base dell'insorgenza della malattia vanno generalmente ricercate in fattori ereditari ed ambientali.

All'ereditarietà si affiancano aspetti specifici della persona, come l'obesità: le cellule hanno bisogno di zucchero per vivere, perciò tanto sarà maggiore il numero delle cellule da alimentare, tanto maggiore sarà il fabbisogno di insulina.

Il diabete di tipo 2 compare soprattutto dopo i 40 anni: l'invecchiamento dell'organismo si riflette sulla funzionalità di tutti gli organi, non ultimo il pancreas che, invecchiando, non è più in grado di rispondere prontamente alla richiesta di insulina ricevuta. Negli ultimi anni però, l'età di insorgenza si sta abbassando sempre di più per la sempre maggiore diffusione dell'obesità anche tra i più giovani.

Per quanto riguarda invece i fattori ambientali, la vita sedentaria, lo stress ed alcune malattie ricadono nell'elenco dei fattori scatenanti. Esse impongono al pancreas un lavoro aggiuntivo, poiché si aumenta il fabbisogno di glucosio e quindi di insulina. Qualora il pancreas fosse indebolito da una predisposizione ereditaria al diabete, queste cause accelerano l'insorgenza della malattia.

La persona affetta da diabete di tipo 2 è quindi generalmente una persona della seconda o terza età, sovrappeso, con parenti di primo grado diabetici. I sintomi non sono generalmente evidenti come per il diabete di tipo 1, e perciò vengono facilmente ignorati; la scoperta del diabete può avvenire in modo del tutto casuale, ad esempio con un normale controllo di una visita di check-up. La diagnosi di questa forma di diabete può essere anche molto tardiva e per questo motivo

è purtroppo facile riscontrare al momento della diagnosi la presenza di complicanze in stato avanzato.

Alcuni tra i più frequenti sintomi di diabete di tipo 2 sono: sensazione di stanchezza, frequente bisogno di urinare anche nelle ore notturne, sete inusuale, perdita di peso improvvisa ed immotivata, visione offuscata e lenta guarigione di ferite.

1.3.3 Altre forme di diabete

Esistono altre forme di diabete, più particolari e rare rispetto al diabete di tipo 1 e a quello di tipo 2. Nello specifico abbiamo:

- *Diabete Monogenico* che è determinato da una mutazione genetica. Può esordire a tutte le età, anche prima dei 12 mesi di età. In questo caso parliamo di *Diabete Neonatale* dove è altamente improbabile che si tratti di diabete di tipo 1 poiché le difese immunitarie si sviluppano intorno al primo anno di vita. Ne esistono varie forme, tra le quali i MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Youth*). In alcuni sottogruppi di diabete monogenico la terapia può essere non insulinica.
- Forme di diabete che si originano a seguito di altre malattie nel pancreas (pancreatite acuta e cronica, tumore al pancreas, fibrosi cistica), o altre endocrinopatie.
- Diabete che si origina a seguito dell'utilizzo di farmaci come il cortisone, la ciclosporina o farmaci antiretrovirali utilizzati per curare HIV/AIDS.
- *Diabete Gestazionale*: forma di diabete diagnosticato nel secondo o terzo mese di gravidanza che non era presente prima della gravidanza.

1.3.4 Valori di riferimento della glicemia

La glicemia viene misurata tramite un dispositivo medico portatile in grado di stimare con buona approssimazione il tasso di glucosio nel sangue, chiamato **glucometro** (sistemi SMBG). Questo strumento consente di misurare la glicemia su sangue capillare ottenuto generalmente dalla puntura di un polpastrello di un dito. La goccia di sangue viene posta su una striscia reattiva inserita nello strumento; Il glucosio contenuto nel campione di sangue darà origine ad una reazione enzimatica ossidandosi grazie alla presenza di un particolare tipo di enzima presente nella striscia reattiva. Tale ossidazione darà origine ad una variazione cromatica o ad una corrente elettrica (a seconda del modello di glucometro) tradotta nel valore glicemico corrispondente. Tipicamente l'unità di misura della glicemia si esprime in milligrammi per decilitri (mg/dl).

Come si evidenzia in *Figura 2*, nell'arco della giornata, per i soggetti sani che hanno una vita regolare e un'alimentazione corretta, i valori della glicemia normali si posizionano tra:

- Valori glicemia a digiuno sono compresi tra 60 e 110 mg/dl
- Valori di glicemia 2 ore dopo i pasti, più bassi di 140 mg/dl

Se l'esame della glicemia a digiuno mostra livelli superiori ai limiti della norma, ma non indicativi di diabete (maggiori o uguali a 126 mg/dl) si parla di *Alterata Glicemia a Digiuno* (IFG). In questa situazione, oppure se nel paziente si hanno altri fattori di rischio (come obesità, familiarità, sedentarietà, età > 50anni, etc.), è molto utile fare il **test a carico di glucosio (OGTT)**.

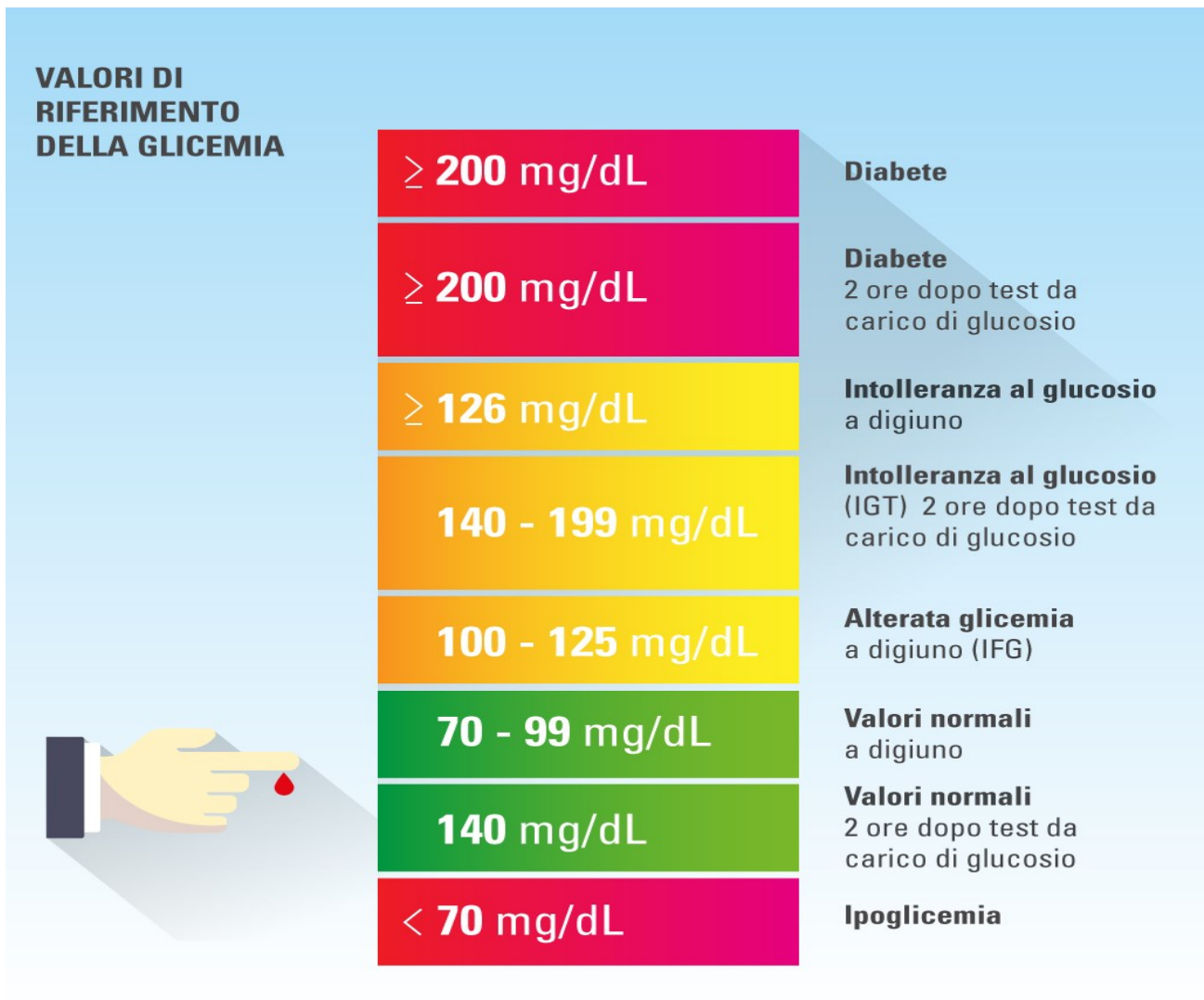


Figura 2: Vengono riportati i valori di riferimento della glicemia per test a digiuno e dopo il carico di glucosio (OGTT). Nel caso di valori a digiuno di glicemia superiori a 126 mg/dl sono da considerarsi probabili sintomi di diabete. Per valori dopo il OGTT compresi tra 140-200 mg/dl, si definisce una situazione da Intolleranza al Glucosio (IGT). Invece per valori di glucosio inferiori ai 70 mg/dl di parla di Ipoglicemia, mentre per valori superiori ai 200 mg/dl di Iperglicemia. Nel caso che a digiuno i valori di glicemia si stabilizzano tra i 100-125 mg/dl si parla di condizione di Alterata Glicemia a Digiuno (IFG).

Questo test a carico di glucosio (OGTT) si esegue facendo un primo prelievo di sangue a digiuno, un secondo e poi un terzo prelievo dopo aver chiesto al paziente di bere 75 grammi di zucchero disciolti in acqua. Si Parlerà di diabete se uno dei valori di glicemia della curva è superiore ai valori limite.

Di norma, viene diagnosticato diabete di tipo 2 per una glicemia superiore a 200 mg/dl a distanza di due ore dal carico orale di glucosio (OGTT). Però alla luce di studi più recenti emerge con chiarezza che è più accurato come criterio diagnostico il valore di una glicemia superiore a circa 200 mg/dl a distanza però di un'ora dal carico di glucosio. Il nuovo criterio si è dimostrato più sensibile dei criteri diagnostici di diabete basati sull'emoglobina glicata e della glicemia a digiuno; si è inoltre dimostrato che un valore di glicemia maggiore di 155 mg/dl prelevato un'ora dopo il OGTT è in grado non solo di identificare i soggetti in "*pre-diabete*" ma anche un gruppo di pazienti con normale tolleranza al glucosio, finora ignari del problema, che presentano un rischio aumentato del 400% di sviluppare un diabete entro i successivi 5 anni [4].

Capitolo 2:

Monitoraggio Continuo del Glucosio

2.1 Aspetti generali

Il monitoraggio continuo del glucosio (**CGM**) fornisce un quadro completo del controllo glicemico del paziente affetto da diabete, al contrario dell'emoglobina glicata (parametro di laboratorio che misura un particolare tipo di emoglobina nel sangue) e della glicemia capillare che da sole non possono sempre individuare ed evidenziare picchi di ipoglicemia o iperglicemia presenti nell'arco della giornata.

Il CGM è in grado di dare informazioni più complete rispetto alle sole misurazioni di glicemia capillare, aiutando quindi a prendere migliori decisioni terapeutiche e a controllare in modo più approfondito la glicemia.

I valori glicemici, cambiano continuamente durante il giorno, ed in base ad alcuni fattori raggiungono picchi massimi e minimi. Quindi monitorare continuamente il glucosio dà l'opportunità di vedere come il cibo, l'insulina, l'esercizio fisico, lo stress e le altre attività quotidiane contribuiscono sui livelli glicemici, fornendo informazioni precise su alcuni momenti della giornata, così da permettere una migliore gestione della terapia.

Il monitoraggio continuo del glucosio è un sistema che, attraverso un piccolo sensore posizionato nel sottocute, è in grado di misurare in continuo la concentrazione di glucosio presente nel fluido interstiziale. Il sensore è collegato ad un trasmettitore leggero e di piccole dimensioni che invia i dati rilevati dal sensore al microinfusore o ad un dispositivo di CGM indipendente sfruttando la tecnologia wireless a radiofrequenza (RF).

Il sensore è collegato ad un trasmettitore che elabora le letture e le passa ad uno schermo per la visualizzazione. Nei sistemi tecnologici integrati, queste informazioni vengono visualizzate direttamente sullo schermo del microinfusore e, nei sistemi con algoritmi intelligenti, questi dati vengono utilizzati direttamente dal sistema per regolare la terapia.

Il suo scopo è integrare, e non sostituire, il monitoraggio della glicemia con prelievo da polpastrello. L'inserimento e la rimozione del sensore vengono eseguiti da un medico.

2.2 Funzionamento del sensore del glucosio

Oggi, grazie ad un continuo progresso e perfezionamento della tecnologia in ambito biomedico, sono disponibili dei sistemi integrati che abbinano ad un microinfusore un sensore del glucosio che controlla costantemente le variazioni dello zucchero a livello sottocutaneo (CGM), ed è in grado di avvertire con un allarme sonoro e visibile il paziente in caso di ipoglicemia o di iperglicemia, ed eventualmente anche di sospendere l'erogazione di insulina in caso di glicemia troppo bassa.

Nel dettaglio, questo sensore del glucosio altro non è che un elettrodo montato su di una cannula flessibile posizionato nel tessuto sottocutaneo del diabetico, vicino a dove viene posizionato il microinfusore.

Il **sensore del glucosio**, a differenza del glucometro, non misura il livello dello zucchero nel sangue capillare, ma nel fluido interstiziale, ed è in grado di convertire i valori di glucosio misurati in un segnale elettrico. Questo liquido preso in esame, si trova tra una cellula e l'altra dell'organismo, contiene ossigeno e varie sostanze nutritive indispensabili per le cellule, tra cui proprio il glucosio. Ecco perché ad oggi è ritenuta una misurazione migliore e più attendibile rispetto alle altre.

Il sensore può essere utilizzato fino ad un massimo di 3 giorni, ed i valori della glicemia rilevati vengono trasmessi al microinfusore di insulina dove i dati sono visualizzati a brevissimi intervalli (all'incirca di 5 minuti).

Come cambia l'autocontrollo della glicemia con l'utilizzo del microinfusore abbinato al sensore del glucosio?

Nella maggior parte degli infusori utilizzati oggi, non è presente il sensore glicemico, quindi il regolare autocontrollo (**SMBG**: Sistemi di Automonitoraggio continuo del glucosio dal sangue capillare) tramite il glucometro rimane fondamentale per poter utilizzare al meglio il microinfusore. Per i prossimi anni, l'obiettivo sarà sicuramente quello della doppia funzione, perché avere sempre a disposizione i valori glicemici in tempo reale consente di correggere la terapia nell'immediato. Tuttavia, bisogna considerare che il **sensore del glucosio** viene usato in situazioni particolari, per esempio quando si affronta un viaggio, in caso di interventi chirurgici, per controlli clinici e per periodi di instabilità glicemica. Per il momento, viene usato per alcuni giorni al mese, dove negli altri si utilizza solo il microinfusore che implica un regolare autocontrollo della glicemia tramite glucometro.

I vantaggi del CGM sono:

- Il monitoraggio continuo della glicemia consente di avere un quadro globale dei livelli glicemici permettendo soprattutto di evitare eccessive escursioni glicemiche, mantenendo i valori sotto controllo nell'arco di una o più giornate per poter ottimizzare al meglio la terapia.
- Nei modelli più recenti si ha il vantaggio che l'erogazione di insulina viene sospesa automaticamente se i livelli glicemici si abbassano in modo eccessivo; questa funzione di vigilanza è fondamentale durante la notte, per evitare qualunque tipo di crisi soprattutto nei bambini, nei soggetti deboli con diabete instabile e in tutti quei casi in cui non si riesce facilmente a riconoscere l'arrivo di una crisi ipoglicemica.
- Nei sistemi più avanzati e tecnologici, è possibile visualizzare anche diagrammi e tabelle dopo aver scaricato i dati su un pc o smartphone, il tutto grazie a specifici software.

2.3 Sistema CGM mininvasivo impiantabile

Il sistema **CGM mininvasivo impiantabile** può essere utilizzato abbinato a un microinfusore o stand-alone per i pazienti in terapia multi-iniettiva. Uno dei vantaggi di questo sistema è quello di fornire informazioni in tempo reale sull'andamento dei livelli di glucosio nel corso della giornata, oltre a informazioni aggiuntive per un controllo glicemico ottimale, quali ad esempio la velocità di variazione della glicemia. Nella *Figura 3* vengono rappresentate le tre componenti, che sono: [5]

- sensore impiantabile
- trasmettitore smart
- ricevitore (mobile app)

SISTEMA IMPIANTABILE PER IL MONITORAGGIO IN CONTINUO DELLA GLICEMIA (CGM)



Figura 3: Si distinguono le tre componenti del CGM dove il sensore impiantabile sottocutaneo trasmette i dati via wireless al trasmettitore smart, posizionato o a livello dell'addome, oppure nella parte superiore del braccio, al di sopra del sensore stesso. Quest'ultimo trasmetterà invece i dati via Bluetooth all'app mobile, consentendo al paziente di monitorare i valori in modo molto agevole dal telefono. Oggigiorno i più moderni CGM sono molto accurati ed hanno un sensore che può durare fino a 180 giorni.

Il **seniore impiantabile** misura il glucosio nel liquido interstiziale, in modo totalmente automatico senza richiedere alcun intervento alla persona che indossa il sistema. I primi sensori (mininvasivi) disponibili sono stati quelli costituiti da un ago a base di glucosio ossidasi (**GOD**: Glucose Oxidase) che preleva campioni di fluido nel liquido interstiziale, ma negli ultimi anni si sono sviluppati anche sensori impiantabili a base di fluorescenza.

Nello specifico, il sensore a base di fluorescenza è un fluorometro (apparecchio per la misurazione del ritardo di fluorescenza) di piccole dimensioni che utilizza l'intensità della fluorescenza per misurare il glucosio nel fluido interstiziale.

Il sensore è incapsulato in un materiale biocompatibile e grazie ad uno speciale polimero fluorescente ed un diodo, riesce a rilevare i cambiamenti nella concentrazione di glucosio attraverso le variazioni nell'emissione di luce.

Misura circa 3.5 mm x 18.5 mm ed ha un anello in silicone che contiene una piccola quantità di antinfiammatorio (desametasone acetato).

I dati relativi alla concentrazione di glucosio rilevati dal sensore vengono poi convertiti dal trasmettitore e inviati al ricevitore (mobile app).

Grazie alla sua lunga durata, il sensore ha un potenziale impatto positivo sulla qualità della vita del paziente stesso, in quanto si evita una sostituzione frequente del medesimo oggetto.

Come viene mostrato in *Figura 4*, il **seniore impiantabile** è all'interno di una struttura biocompatibile di dimensioni molto ridotte, per poter essere impiantata agevolmente sottocute attraverso una incisione (nella maggior parte dei casi a livello della parte superiore del braccio). Per questo motivo, questi sensori sono classificati come **sistemi CGM mininvasivi**.



Figura 4: sensore impiantabile, unica componente sottocutanea del CGM; quelli più recenti hanno una durata massima di circa 180 giorni, impiantati sulla parte superiore del braccio durante una seduta ambulatoriale della durata di pochi minuti. L'inserzione viene effettuata in anestesia locale attraverso un'incisione di pochi millimetri.

Il **trasmettitore** (37,5 mm x 48,0 mm x 8,8 mm) si indossa sopra il sensore e lo alimenta in modalità wireless per attivare il trasferimento delle misurazioni di glucosio. Riceve i dati del glucosio dal sensore, ne calcola i valori e poi successivamente tramite Bluetooth li invia al ricevitore, nello specifico all'applicazione mobile.

Effettua letture automatiche ogni 5 minuti e viene fissato alla cute con un cerotto biadesivo: è studiato per essere sostituito ogni giorno, dotato di un lato adesivo che si attacca al retro del trasmettitore e da un lato sempre adesivo ma in silicone che si attacca sulla pelle.

Oltre ad alimentare il sensore, il trasmettitore fornisce allarmi a vibrazione se vengono registrati picchi di ipoglicemia o iperglicemia, in base alle impostazioni scelte dall'utente. La batteria del trasmettitore è ricaricabile e riutilizzabile fino ad un anno.

Per la calibrazione del sistema e per le decisioni terapeutiche, è necessario disporre di un sistema di automonitoraggio della glicemia capillare indipendente. La calibrazione giornaliera viene effettuata con due misurazioni (preferibilmente una al mattino e una alla sera) separate da un intervallo di 10-14 ore.

Il trasmettitore è resistente all'acqua, interamente rimovibile e semplice da utilizzare, e può essere rimosso e riapplicato ogni volta che si desidera, senza sprecare sensori.

L'ultimo step del passaggio dei dati avviene per mezzo di un **ricevitore** che permetterà di visualizzare tutti i dati campionati. Negli ultimi anni sono aumentate le App Mobile che permettono un controllo rapido, comodo e alla portata di tutti.

L'app mobile è un applicazione software che funziona su un dispositivo mobile compatibile (Android o Apple, sia smartphone o tablet). Dopo aver ricevuto i dati dal trasmettitore via Bluetooth, l'app consente di controllare in tempo reale **la curva relativa all'andamento della glicemia nel tempo**. Come ultimo dato (output) quindi, avrò un grafico che mi rappresenta come variano durante la giornata, i livelli di glucosio nel sangue del paziente.

Oltre a vedere il valore del glucosio corrente ogni 5 minuti, l'app mobile mostra anche previsioni per l'immediato futuro e le velocità delle variazioni, in modo da poter intervenire con tempestività e tranquillità.

Sulla base delle impostazioni scelte dal diabetico, l'applicazione emette suoni e vibrazioni differenti prima che i livelli di glucosio raggiungano valori troppo elevati o pericolosamente bassi. Fornisce al paziente un facile accesso alle misurazioni del glucosio in tempo reale, eliminando la necessità di dover portare sempre con sé un ricevitore separato. Si possono anche visualizzare report di riepilogo, per comprendere meglio cronologia e tendenze del glucosio.

In *Figura 5* viene mostrato nel dettaglio cosa vede il paziente nel suo dispositivo mobile. L'applicazione è molto semplice da utilizzare, e dispone di tantissime informazioni: tiene conto di ogni attività giornaliera del paziente che ne modifichi i livelli di glucosio, come lo sport o i pasti, per poterli poi visualizzare direttamente sul grafico identificandone gli andamenti.

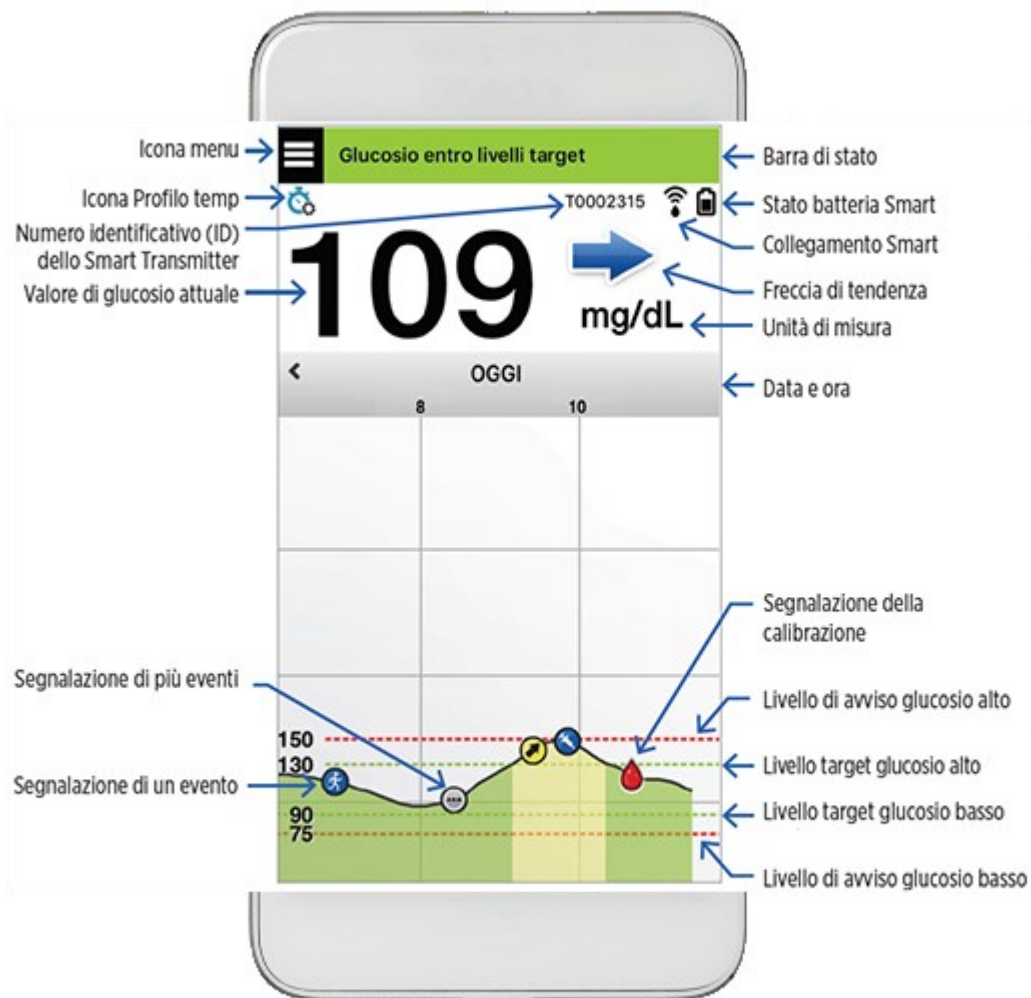


Figura 5: Viene mostrata l'interfaccia visibile nel dispositivo mobile. I dati di maggiore rilievo sono in alto a sinistra, quello relativo al valore di glucosio attuale (nel nostro caso 109 mg/dL) ed al di sotto, il grafico dell'andamento dei livelli di glucosio nel corso della giornata. Vengono specificati dei valori limite, che se superati, il dispositivo stesso provvederà ad avvisare il paziente con un avviso sonoro per poter intervenire nell'immediato. Questi sono rispettivamente il 'Livello di avviso glucosio alto' equivalente a 150 mg/dL, ed il 'Livello di avviso glucosio basso' sui 75 mg/dL. Inoltre vengono segnalati anche livelli non fisiologici, come il 'Livello target glucosio alto' ed il 'Livello target di glucosio basso'.

2.3.1 Tipologie di sistemi per il monitoraggio continuo della glicemia

Oggigiorno i pazienti affetti da diabete possono disporre di due tipologie per il monitoraggio continuo del glucosio: sistema CGM in tempo reale, oppure il sistema CGM a rilevazione intermittente (Flash Glucose Monitoring: FGM).

Quali sono e come sono caratterizzati i sistemi CGM in tempo reale? (*Figura 6*)

I **sistemi CGM invasivi** comprendono dispositivi di rilevamento e/o campionamento per via endovenosa che analizzano e misurano i modelli glicemici nel sangue esclusivamente venoso. Il primo dispositivo di questo tipo, chiamato "*Biostator*", era già stato sviluppato nei primi anni '70 [6], mentre gli attuali sistemi CGM invasivi vengono utilizzati esclusivamente negli ospedali.

I **sistemi CGM mininvasivi** comprendono sensori con ago sottocutaneo e sensori impiantabili che misurano la concentrazione di glucosio all'interno del fluido interstiziale (vedi paragrafo 2.3). Uno dei primi sistemi CGM, il "*Ulm Zucker Uhr System*" è stato sviluppato nei primi anni '90 [7], e pochi anni dopo nel 1999, il primo sistema CGM mininvasivo è diventato disponibile in commercio. Oggigiorno sono i sistemi più comunemente utilizzati, per questo maggiormente studiati dal Gruppo di Lavoro.

I **sistemi CGM non invasivi**, che includono metodologie elettrochimiche, termiche, acustiche ed ottiche, sono un desiderio a lungo bramato dagli studiosi del mestiere, ma non hanno ancora raggiunto un posto preciso nella routine clinica [8]. Ciò potrebbe cambiare nei prossimi anni, poiché vi sono ulteriori sviluppi in corso in questo settore e sono stati presentati alcuni risultati molto promettenti.

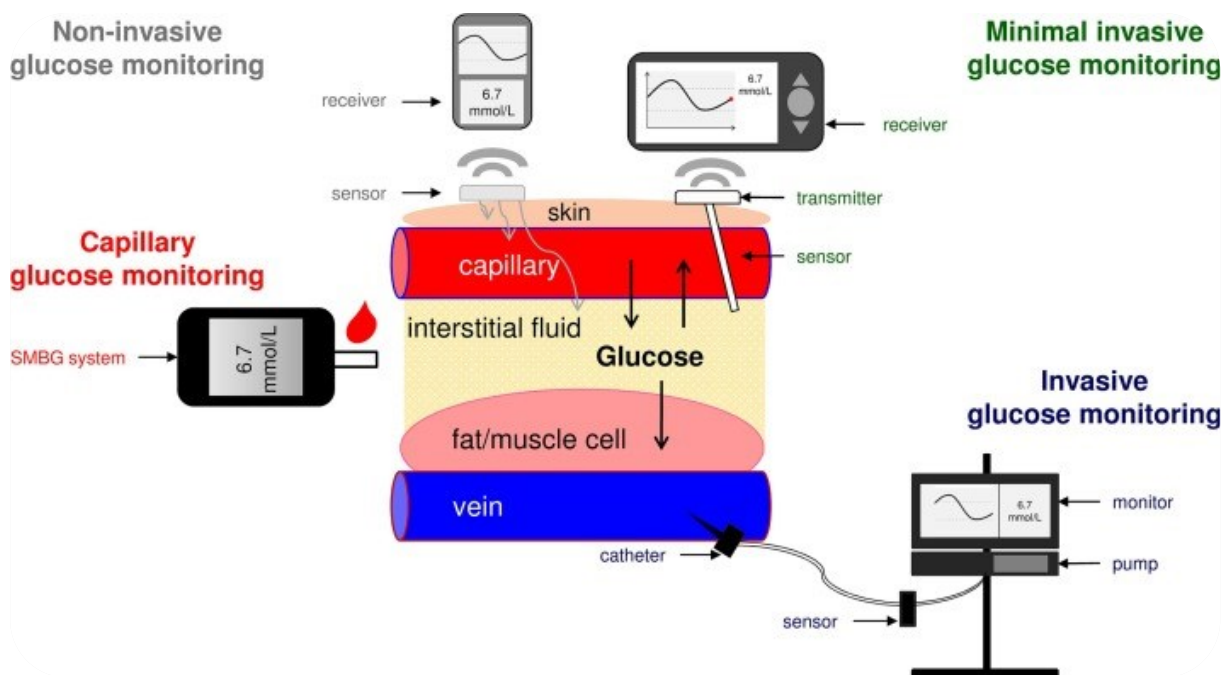


Figura 6: Modalità di campionamento dei diversi tipi di sistemi CGM rispetto ai SMBG (Sistemi di Autocontrollo dei valori glicemici). Per i "Sistemi Invasivi" viene prelevato sangue venoso, mentre per i "Sistemi minimamente Invasivi" e "Sistemi non Invasivi" si preleva il fluido interstiziale. Mentre per i SMBG si utilizza sangue capillare.

Entrambi i dispositivi, sia i dispositivi CGM in tempo reale che quelli a rilevazione intermittente, misurano e visualizzano in modo automatico la glicemia ad intervalli fissati, fornendo indicazioni sui livelli glicemici pregressi, indicando la tendenza dei valori della glicemia e predicendo la glicemia futura. Mentre però nel caso del CGM real-time (invasivo e mininvasivo) le informazioni vengono inviate senza bisogno di intervento da parte del paziente, con il CGM a rilevazione intermittente (FGM) le informazioni vengono trasmesse ogni volta che l'utente effettua una scansione mediante il lettore del dispositivo oppure via app.

I sistemi FGM sono destinati in particolar modo ai pazienti con diabete di tipo 1, ma sono fruibili anche da persone affette da diabete di tipo 2 che assumono insulina.

Flash Glucose Monitoring (FGM) è un monitoraggio continuo della glicemia che funziona grazie ad un sensore posizionato sottocute e ad un lettore (grande come un cellulare) ad esso sintonizzato, che consente la lettura della glicemia in qualsiasi momento, anche attraverso i vestiti.

Il sensore, che si applica sulla parte posteriore del braccio, è grande quanto all'incirca una moneta da due euro e può essere utilizzato per 14 giorni, consentendo di verificare i livelli di glucosio interstiziale in qualsiasi momento della giornata semplicemente avvicinando il lettore, che può anche essere un telefono cellulare, al sensore.

Facile da indossare, con una scansione indolore il lettore rileva i valori della glicemia anche attraverso gli indumenti e ad ogni scansione evidenzia il valore attuale del glucosio e i dati del glucosio delle ultime 8 ore. Una freccia di tendenza aiuta a valutare l'andamento della glicemia, se sta aumentando o diminuendo e con quale velocità. Questi grafici consentono ai pazienti adulti e ai genitori di bambini affetti da diabete di tipo 1 di mettere in atto tutte le azioni utili per evitare gravi squilibri della glicemia, in particolare per prevenire le ipoglicemie severe. Evitando di bucarsi ogni giorno i polpastrelli per il rilievo della glicemia, il **sistema FGM** consente un notevole miglioramento della qualità della vita dei pazienti.

Nonostante il sistema FGM sia proposto in sostituzione del SMBG, il produttore raccomanda di continuare l'uso dell'autocontrollo glicemico in particolare quando:

- Si sospettano fluttuazioni della glicemia quotidiana, ossia i livelli di glucosio sono in rapido cambiamento.
- La terapia ipoglicemizzante seguita non riesce a mantenere un livello glicemico ottimale.
- Vi è il sospetto di ipoglicemie non accompagnate da sintomi importanti, soprattutto durante la notte: il monitoraggio continuo e la decodificazione dei dati immagazzinati nel lettore possono rivelare i momenti critici e correggere la terapia.

Il sensore viene posizionato nella parte posteriore del braccio durante la visita diabetologica, lasciato in situ per 14 giorni e rimosso alla visita successiva.

L'adesivo del sensore è resistente all'acqua: sono richieste alcune accortezze per evitare di rimuoverlo prima del dovuto, ad esempio sospendere attività sportive intense o di contatto.

Dopo i 14 giorni un apposito software decodifica i dati e fornisce al medico le informazioni necessarie sul reale andamento glicemico del paziente e per procedere con eventuali aggiustamenti terapeutici.

Rispetto ai sistemi CGM invasivi e mininvasivi, il FGM è calibrato in fabbrica, non richiede calibrazioni da parte del paziente, non ha la possibilità di allertare il paziente stesso in caso di presenza di ipo o iperglicemia, inoltre, per ottenere i dati l'utente deve passare il lettore sul sensore, il quale conserva 8 ore di dati.

Capitolo 3:

Problematiche relative alla standardizzazione dell'acquisizione del dato

3.1 Introduzione

Al fine di prendere decisioni terapeutiche adeguate, i pazienti affetti da diabete sono tenuti a controllare regolarmente il glucosio ogni giorno. Negli ultimi anni, i sistemi CGM mininvasivi sono sempre più spesso utilizzati, anche per sostituire parzialmente l'autocontrollo della glicemia tramite prelievo capillare.

Come precedentemente indicato, la maggior parte dei sistemi CGM sul mercato misura continuamente le concentrazioni di glucosio nel fluido interstiziale, tuttavia questo tipo di misurazione ha una limitazione principale: prelevare frequentemente fluido interstiziale in volume sufficientemente grande in un breve lasso di tempo non è per niente facile e scontato. Di conseguenza, non è attualmente disponibile alcuna procedura di misurazione standardizzata accettata a livello internazionale per il glucosio nel fluido interstiziale, prerequisito per ottenere una tracciabilità ottimale.

Visto che anche i produttori non forniscono informazioni dettagliate sulla catena di tracciabilità e sull'incertezza di misurazione dei loro sistemi, i valori di glucosio ottenuti con il CGM non possono essere ricondotti a standard di misurazione. Pertanto, il "*Gruppo di Lavoro sul Monitoraggio Continuo del Glucosio*" mira a stabilire una **catena di tracciabilità** per i sistemi CGM mininvasivi, cioè procedure e metodi per la valutazione delle prestazioni analitiche.

Nel 2019, la Federazione Internazionale di Chimica Clinica e Medicina di Laboratorio (IFCC) ha creato un "*Gruppo di Lavoro sul Monitoraggio Continuo del Glucosio*" [9].

Il Gruppo di Lavoro si concentra su sistemi CGM minimamente invasivi, riportando condizioni tali da ottenere risultati equivalenti e comparabili. Il Gruppo di Lavoro mira a definire:

- il misurando: costituita da sostanza, unità e matrice, come definito dal “Vocabolario Internazionale di Metrologia” (VIM).
- mezzi idonei per stabilire la tracciabilità, compresa l’incertezza sulla misura, dei valori di glucosio ottenuti dai sistemi CGM.
- valutazione delle prestazioni analitiche dei sistemi CGM.
- metriche e corrispondenti criteri minimi di accettazione per le prestazioni analitiche dei sistemi CGM.

3.2 Problematiche e ritardi dei sistemi CGM

Attualmente, per i **sistemi CGM mininvasivi basati sulla tecnologia ad ago a base di glucosio ossidasi (GOD)**, la concentrazione di glucosio da analizzare è determinata dalla produzione di perossido di idrogeno (H_2O_2) da parte dei GOD e dalla nascita di una corrente elettrica associata a tale dispositivo, la quale è direttamente proporzionale alla concentrazione di glucosio nel liquido interstiziale (ISF).

Tra il momento della misurazione e quello della visualizzazione del risultato nello schermo del ricevitore, tre tipi di ritardi si combinano tra di loro.

In primo luogo, ho un **ritardo fisiologico** dovuto dalla diffusione del glucosio dalla porzione intravascolare al compartimento del fluido interstiziale sottocutaneo. Il tempo fisiologico di ritardo ammonta a circa 7-8 min [10].

In secondo luogo, vi è un **ritardo tecnologico** causato dalla diffusione del glucosio nel sensore (tipo di ritardo chiamato anche “*ritardo di diffusione*”). Il tempo di ritardo tecnologico dei dispositivi moderni ammonta a circa 4-6 minuti [11].

In terzo luogo, ho un **ritardo di elaborazione** causato dal flusso continuo di dati e risultati precedentemente presi che vengono poi visualizzati nel ricevitore.

La maggior parte degli studi ha dimostrato che il tempo totale di ritardo non è quasi mai superiore a 10-15 minuti e molte volte è anche di meno. Gli attuali algoritmi dei sistemi CGM possono ridurre matematicamente il tempo di ritardo complessivo a pochi minuti, come per esempio le funzioni di previsione.

Alcuni sistemi CGM necessitano però di calibrazioni frequenti da parte dell'utente-paziente, poiché il segnale corrispondente a una particolare concentrazione di glucosio non è stabile o matematicamente prevedibile nel tempo. Per i sistemi CGM che richiedono la calibrazione manuale da parte dell'utente, vengono in generale confrontate misurazioni del glucosio dai campioni capillari dai sistemi di automonitoraggio continuo (SMBG).

Gli algoritmi dei sistemi CGM calibrati in laboratorio si basano su valori comparativi del glucosio dai dati grezzi dei sistemi CGM e dalla comparazione dei dati acquisiti negli studi clinici. I processi di fabbricazione devono essere sufficientemente riproducibili, in modo che questa taratura di laboratorio possa essere adeguatamente applicata a tutti i sensori del sistema CGM. Attualmente, un sistema CGM calibrato in laboratorio offre la possibilità di calibrazione aggiuntiva utilizzando i SMBG.

A differenza dei sistemi SMBG, i sistemi CGM non hanno alcuna opzione per le misurazioni di controllo perché questi devono essere inseriti direttamente nella pelle del paziente. Non è quindi disponibile alcuna soluzione di controllo equivalente a una matrice di fluidi interstiziali per i sistemi attuali.

3.3 Necessità di una standardizzazione

Grazie ad un confronto di diversi studi che hanno comparato le prestazioni dei sistemi CGM, sono emerse grandi differenze non solo tra i sistemi di diversi produttori, ma anche tra i singoli sensori dello stesso sistema di produzione [12].

Inoltre, i parametri calcolati da diversi sistemi CGM nello stesso soggetto, sia negli adulti che negli adolescenti, hanno mostrato differenze sistematiche. Le ragioni di queste differenze includono

probabilmente aspetti tecnologici e procedure di taratura, in quanto potrebbero influire sulle prestazioni analitiche e sull'affidabilità dei sistemi CGM.

Informazioni dettagliate sulla catena di tracciabilità e sull'incertezza di misurazione non sono attualmente fornite dai produttori; pertanto, i valori minimi invasivi del glucosio CGM non possono attualmente essere adeguatamente ricondotti a standard di ordine più elevati o procedure di misurazione di riferimento. Per questo motivo, gli operatori sanitari potrebbero scegliere diverse classificazioni terapeutiche a seconda del sistema CGM effettivamente utilizzato [13].

Per ottenere una tracciabilità ottimale per le misurazioni CGM minimamente invasive, sarebbe fondamentale una misurazione diretta del glucosio nel fluido interstiziale (ISF) con una appropriata procedura di misurazione di riferimento. Sfortunatamente, le misurazioni di confronto nel ISF richiederebbero una raccolta di ISF frequente e in grandi volumi, per brevi periodi di tempo, il che come già specificato non è semplice. Le **alternative** alla raccolta dell'ISF sono **l'utilizzo di campioni di sangue capillare, arterioso o venoso**, candidati anche per la calibrazione dei sistemi CGM.

Per compensare le differenze fisiologiche nelle concentrazioni di glucosio nel sangue interstiziale, capillare o venoso, i sistemi CGM utilizzano algoritmi di calibrazione che tentano di modellare e correggere queste differenze fisiologiche. L'uso di tali algoritmi, tuttavia, porta a sistemi CGM che mostrano valori di glucosio che non sono direttamente confrontabili con concentrazioni di glucosio capillare, venoso o interstiziale (*Figura 7*).

La concentrazione di glucosio nell'ISF non è solo una versione "*spostata nel tempo*" della concentrazione di glucosio nel sangue. Le differenze fisiologiche tra i tre compartimenti (capillare, venoso e ISF) portano a tempi di ritardo e a diverse concentrazioni di glucosio, specialmente dopo l'assunzione di carboidrati. Gli algoritmi degli attuali sistemi CGM non intendono solo compensare i tempi di ritardo che si verificano tra le variazioni della glicemia, ma anche calcolare un valore di glucosio che si avvicini al valore della glicemia capillare o venosa [14], [15].

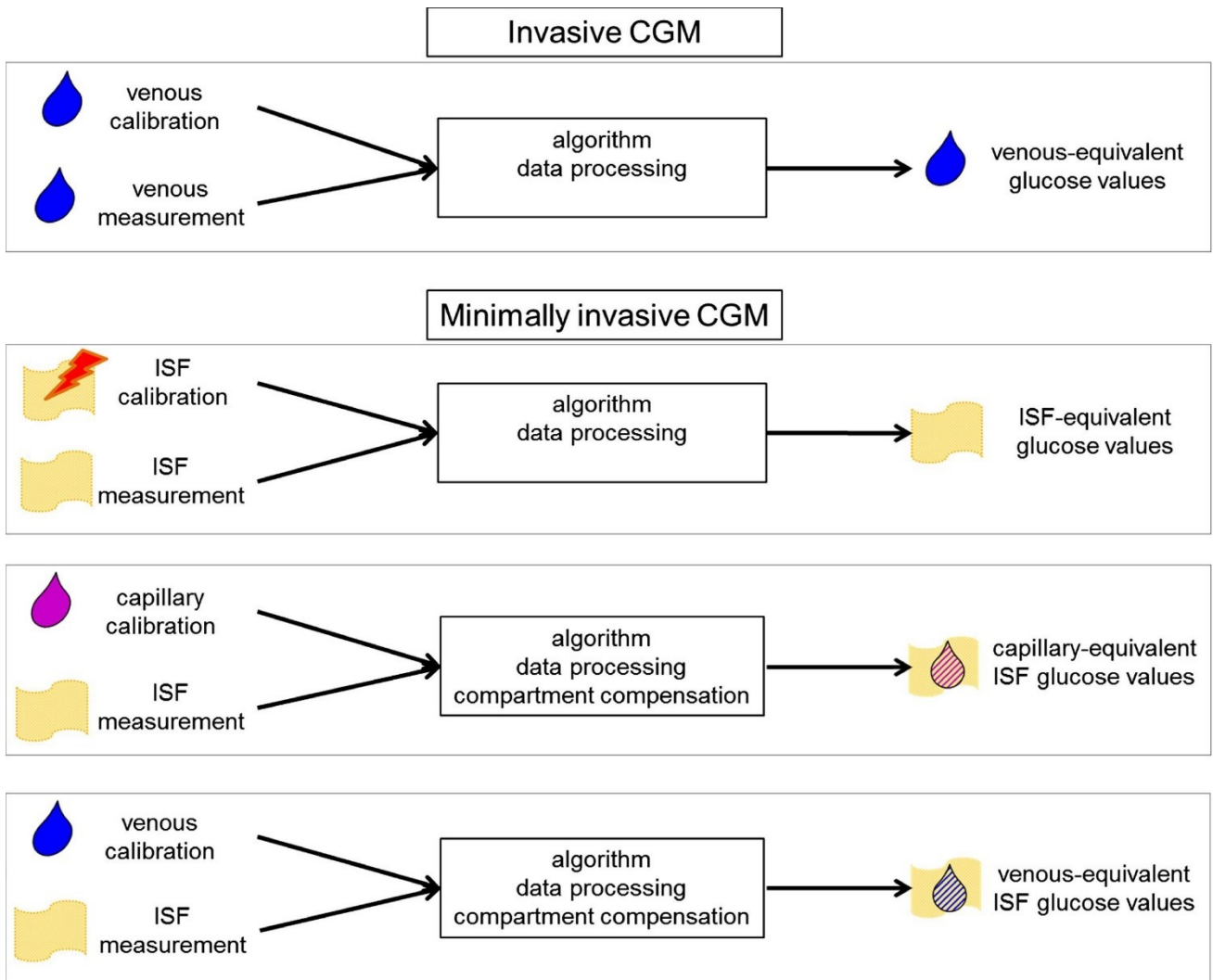


Figura 7: Visualizzazione schematica dei processi invasivi, mininvasivi di CGM. Le onde (di color marrone chiaro) indicano campioni di liquido interstiziale, i simboli a goccia indicano campioni di sangue capillare (viola) o sangue venoso (blu). Il flash, scheggia rossa, indica un particolare passaggio che non è possibile eseguire con la tecnologia attuale. L'abbreviazione ISF sta per fluido interstiziale. Nel centro figura, i rettangoli neri indicano dei processi di elaborazione dati, tipicamente svolti da algoritmi nel sistema CGM, per compensare il tempo di ritardo.

3.4 Stabilire la tracciabilità

Per i sistemi CGM invasivi venosi, la tracciabilità non è un problema rilevante, poiché la calibrazione e la misurazione avvengono nello stesso compartimento (*Figura 7*), e i campioni venosi di sangue posso essere ottenuti facilmente per ogni tipo di confronto.

Per quanto riguarda invece i sistemi CGM non invasivi, la metodologia di misurazione non è attualmente chiara e definita, perché ogni tipo di dato potrebbe variare a seconda della posizione in cui avviene la misurazione, ed a seconda del dispositivo utilizzato. La tracciabilità di questi sistemi sarà una problematica che dovrà essere risolta nei prossimi anni, non appena saranno disponibili dispositivi standardizzati con procedure di misurazione definite.

La *ISO 17511* richiede la tracciabilità per i valori assegnati a calibratori, materiali per il controllo dell'accuratezza e campioni umani (destinati ad essere misurati) [16]. La tracciabilità è una proprietà del risultato di una misurazione, o del valore di uno standard per cui può essere correlato a determinati valori attraverso una catena ininterrotta di confronti che hanno tutti incertezze dichiarate. Una **catena di tracciabilità** è costituita da una serie di calibratori e procedure di misurazione. Il calibratore di ordine superiore (rispetto allo standard di riferimento) viene utilizzato per calibrare la procedura di misurazione di riferimento di ordine superiore che a sua volta viene utilizzata per assegnare i valori nominali al livello successivo di calibratori e così via. Il valore assegnato a ciascun calibratore, o al risultato finale del processo, ha un'incertezza di misura che aumenta all'aumentare di ogni passaggio della catena di tracciabilità.

Quali sono le procedure di misurazione di riferimento?

L'accettazione internazionale di una procedura di misurazione di riferimento nella medicina di laboratorio viene fornita dal *Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM)*, e dall'elenco nel database di JCTLM del *Bureau International des Poids et Mesures (BIPM)*. Viene elencata solo una procedura di misurazione di riferimento per il glucosio nel sangue intero (capillare o venoso), ossia la spettrometria di massa per gascromatografia con diluizione isotopica (ID-GC/MS). JCTLM elenca i metodi ID-GC/MS e i metodi enzimatici che utilizzano l'esochinasi

(enzima chiave della glicolisi, responsabile del trasferimento di un gruppo fosfato da una molecola ad alta energia), come procedure di misurazione di riferimento per il glucosio nel plasma.

Tuttavia, poiché i risultati del sangue intero analizzato dai SMBG vengono convertiti matematicamente in risultati del plasma, per convenzione [17] si applicano le procedure di misurazione elencate da JCTLM.

3.4.1 Tracciabilità CGM

L'applicazione del concetto generale di tracciabilità al CGM nel liquido interstiziale ha una limitazione principale: attualmente non è disponibile alcuna procedura di misurazione di riferimento per il glucosio nel liquido interstiziale.

Per motivi di praticità, gli algoritmi:

- sono utilizzati per prevedere i risultati della glicemia intera (di solito capillare) dai risultati CGM (prendendo in considerazione tempi di ritardo e altri fattori).
- vengono convertiti matematicamente in risultati della glicemia.

Questi due passaggi aumentano significativamente l'incertezza di misura. In particolare, il primo passo citato ha un'incertezza variabile poiché la previsione degli algoritmi varia a seconda delle circostanze fisiologiche. Pertanto, contrariamente ai tipici test da laboratorio, l'incertezza di misura dipende non solo dalla concentrazione di glucosio ma comprende anche l'incertezza della previsione dei valori di glicemia capillare-venosa dal valore misurato nel liquido interstiziale, il quale dipende fortemente dalla situazione fisiologica.

L'incertezza di misura può, ad esempio, essere molto diversa per la stessa concentrazione di glucosio, se è ottenuta sia in fase *preprandiale* (dove il tempo di latenza è quasi costante) sia nella fase *postprandiale* (dove il tempo di latenza non è solo diverso ma varia anche molto). Nello specifico, la *glicemia postprandiale* è un valore numerico che indica quanto glucosio è presente

nel sangue dopo due ore dal termine di un pasto, mentre quella *preprandiale* è un valore riferito a prima di un pasto.

I sistemi CGM sono di solito calibrati utilizzando i sistemi SMBG. Poiché qualsiasi errore di calibrazione viene rimandato alla successiva misurazione, è della massima importanza che l'incertezza di misura del dispositivo SMBG sia la più bassa possibile. I sistemi CGM che utilizzano una calibrazione di laboratorio (*in vitro*) anziché di quella *in vivo*, richiedono inoltre che il rapporto tra le due sensibilità misurate (*in vitro* ed *in vivo*) del sistema CGM, sia costante per tutti gli pazienti, e i produttori devono fornire prove a riguardo. Se questo rapporto è diverso per pazienti diversi, ciò si aggiunge all'incertezza di misurazione e può portare a differenze sistematiche tra i diversi sistemi CGM [18].

Poiché le concentrazioni di glucosio capillare e venoso sono generalmente diverse, in particolare nella fase *postprandiale*, i produttori devono specificare nella loro etichettatura se mirano a prevedere le concentrazioni di glucosio capillare o venoso. Per i pazienti diabetici che stanno già utilizzando SMBG in contemporanea al CGM, i valori CGM dovrebbero preferibilmente corrispondere alla glicemia capillare per i seguenti motivi:

- negli ultimi 25 anni, i pazienti hanno utilizzato l'SMBG capillare per gestire il diabete con i livelli di glucosio plasmatico capillare visualizzati dal loro sistema SMBG nonostante l'utilizzo di campioni di sangue intero.
- secondo i manuali CGM, in alcune situazioni è richiesto un SMBG capillare aggiuntivo, ad esempio se i valori CGM sono misurati imprecisamente.
- i sistemi CGM che necessitano di calibrazione periodica, utilizzano valori di glucosio ottenuti da sangue capillare SMBG.

Pertanto, è preferibile abbinare i valori CGM ai valori della glicemia capillare per l'autogestione del diabete.

Invece, per l'uso in terapia intensiva del CGM, potrebbe essere preferibile far corrispondere i valori CGM ai valori della glicemia venosa. Tuttavia, l'utilizzo di schemi di calibrazione diversi per l'uso in terapia intensiva e per l'uso domestico porterà a differenze nei risultati riportati, portando potenzialmente a confusione nelle decisioni mediche.

Le differenze fisiologiche tra le concentrazioni di glucosio nel sangue intero (capillare-venoso) e nel liquido interstiziale dovrebbero essere studiate in dettaglio separatamente, perché il tempo di latenza non è ancora ben caratterizzato in quanto ad oggi esistono ancora pochi studi [19].

Inoltre, dovrebbe essere studiato come interferiscono le condizioni fisiche del paziente, i livelli ormonali, lo stress, sulla relazione che persiste tra le concentrazioni di glucosio nel liquido interstiziale e nel sangue/plasma. Sebbene questi dettagli siano di grande interesse per una tracciabilità ottimale, è necessario stabilire prima un livello base di tracciabilità dei sistemi CGM.

Capitolo 4:

Analisi del dato CGM attraverso l'utilizzo di CGManalyzer e relative problematiche dell'analisi

4.1 Premessa

Con il monitoraggio continuo del glucosio (CGM) si sono superati tutti i limiti presenti nell'automonitoraggio della glicemia, diventando così una tecnologia idonea per ogni tipo di studio futuro. Proprio il sistema CGM fa parte della nuova tecnologia "all'avanguardia" nella cura del diabete, ma, tuttavia, è una sfida elaborare e analizzare i dati degli studi CGM a causa del grande volume e della intrinseca non linearità dei dati. Bisogna aggiungere inoltre, che la non completa standardizzazione delle metodologie di analisi dei dati CGM sta rallentando tutto il processo evolutivo di questi dispositivi.

Uno svantaggio nell'uso della tecnologia CGM è rappresentato dalle difficoltà nell'interpretazione dei dati CGM nella pratica clinica. Per questo motivo, nel 2019 *l'American Diabetes Association* (ADA) ha raccomandato l'uso del rapporto *Ambulatory Glucose Profile* (AGP) come strumento di visualizzazione grafica e statistica standardizzata per i dati CGM [20]. Di conseguenza, molte aziende produttrici di sistemi CGM hanno adottato le raccomandazioni ADA nei propri software. Tuttavia, nonostante l'utilizzo del rapporto AGP stia favorendo il lavoro di medici e pazienti nella gestione dei dati CGM, persistono ancora diverse discrepanze nell'uso dei sistemi CGM nella parte clinica: nello specifico, proprio le molte diverse metriche adottate da questi software, anche per affrontare stessi problemi clinici, rendono difficile la standardizzazione.

Per questo, negli ultimi anni sono stati proposti diversi pacchetti software per cercare di raggiungere un'unica lettura di tutti i risultati dell'analisi dei dati CGM, rendendoli appunto interpretabili e confrontabili. Questi software utilizzano alcuni strumenti noti per l'analisi dei dati

CGM, come la cartella di lavoro con attivazione macro *EasyGV* in Microsoft Excel [21], lo strumento *GVAP* sviluppato in MATLAB [22] e i pacchetti software open source *CGManalyzer* [23], *cgmanalysis* [24], *GLU* [25] ed *iglu* [26], il tutto implementato nell'*ambiente software libero R* o *RStudio* per il calcolo statistico e grafica.

4.2 CGManalyzer: un pacchetto R per l'analisi di studi di CGM

Il concetto centrale della gestione del diabete è il controllo dei livelli di glucosio nel sangue, e parte del controllo efficace dei livelli di glucosio risiede nella capacità di monitorarli adeguatamente. Questi metodi non devono solo essere accurati, ma anche convenienti: per questo molte aziende prestigiose come Apple, Samsung e Google sono state incentivate ad adottare misure per innovare la tecnologia indossabile per il monitoraggio dei livelli di glucosio. Attualmente, non esiste un unico pacchetto *R* specificamente progettato per analizzare gli studi CGM, ma diversi come citato sopra.

Nello specifico, *CGManalyzer* contiene funzioni per l'analisi dei dati da uno studio di monitoraggio continuo del glucosio (CGM). Copre un'ampia e completa gamma di metodi di analisi dei dati, tra cui la lettura di una serie di set di dati, l'ottenimento di statistiche riassuntive dei livelli di glucosio, il tracciamento dei dati, la trasformazione del formato del timestamp, la correzione dei valori mancanti, calcolando poi l'entropia del campione multiscala, conducendo un confronto a coppie, visualizzando i risultati utilizzando vari grafici incluso un nuovo tipo di grafico chiamato *grafico dell'antenna*.

Questo pacchetto può essere utilizzato per analizzare uno studio CGM dall'inizio alla fine, facilitandone notevolmente l'analisi, compresa la lettura e la visualizzazione dei dati, il calcolo di statistiche regolari (ad es. media, mediana, DS, intervallo di confidenza) e statistiche non lineari (ad es. *entropia campionaria multiscala (MSE)*), valutando la *media della differenza giornaliera (MODD)* e la *variazione glicemica intraday* essendo rappresentata dall'azione glicemica netta sovrapposta continua (*CONGA*) [27], [28], conducendo il confronto di gruppo e visualizzando i risultati. Oltre a fornire un flusso di lavoro completo per l'analisi CGM, questo pacchetto include

due funzionalità nuove per l'analisi CGM: una è l'implementazione della *differenza media rigorosamente standard (SSMD)* [29] e la classe di dimensione dell'effetto [30], l'altro è lo sviluppo di un nuovo tipo di trama-grafico chiamata *grafico dell'antenna*. Questo pacchetto può essere applicato direttamente per analizzare vari dispositivi CGM come *FreeStyle Libre*, *Glutalor*, *Dexcom* e *Medtronic CGM*.

4.3 Leggere i dati: metodi in CGManalyzer

Come primo passo di lavoro per muoversi in R o RStudio con il pacchetto CGManalyzer è installare lo stesso pacchetto con la funzione `"install.packages("CGManalyzer")` " per poi utilizzare tutta la libreria offerta dal pacchetto richiamando la funzione `"library(CGManalyzer)"` .

Per i dati CGM è comune voler vedere le statistiche di riepilogo attraverso la funzione `"summaryCGM.fn()"` . Questa funzione mi permette di calcolare ed analizzare le statistiche per ogni soggetto o sensore, il numero dei soggetti e sensori, valori minimi e massimi dei livelli di glucosio misurati da un sensore, il 1st quartile (25% della distribuzione dei dati) e il 2nd quartile, la deviazione standard (DS), la media e la mediana. Inoltre CGManalyzer per calcolare MODD e CONGA utilizza rispettivamente `"MODD.fn()"` e `"CONGA.fn()"` "per poi infine visualizzarle graficamente attraverso la funzione `"boxplotCGM.fn()"` (Figura 8).

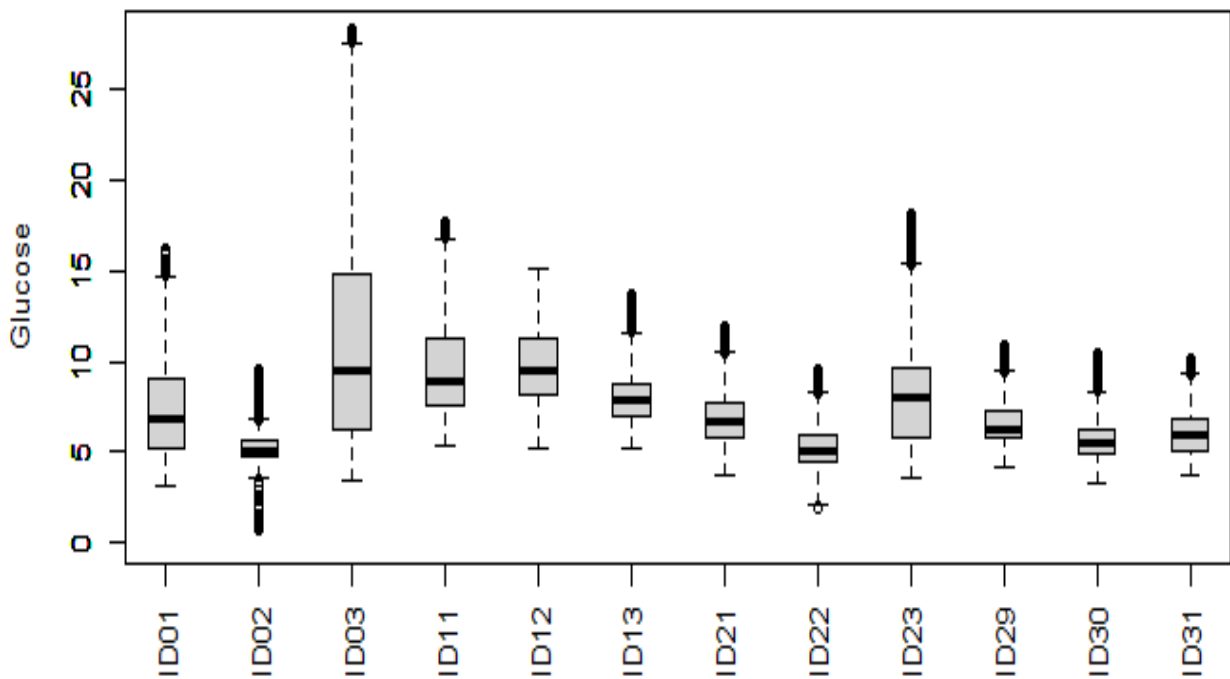


Figura 8: Boxplot per i livelli di glucosio in più soggetti. Attraverso la funzione "boxplot" si rappresentano i dati del sensore relativi al monitoraggio continuo del glucosio. Tra questi dati, attraverso la funzione "CONGA" si ricava la deviazione standard delle differenze tra l'osservazione corrente e le osservazioni nelle ore precedenti, mentre con la funzione "MODD" si calcola la media delle differenze giornaliere.

4.3.1 Conversione del timestamp e grafico relativo

Poiché CGM misura i livelli di glucosio in una serie temporale continua, i dati sull'indicazione dell'ora sono fondamentali. La principale problematica è che i vari dispositivi CGM hanno formati diversi per i loro timestamp e ciò provoca molte problematiche nella lettura ed elaborazione dei dati CGM. Per risolvere questa problematica, nel pacchetto CGManalyzer si utilizza la funzione "*timeSeqConversion.fn()*" per convertire i vari timestamp in una sequenza di valori temporali nel formato specificato nella scrittura del codice in R o RStudio. La funzione mi converte una matrice (con colonne di anni, mesi, giorni, minuti e secondi) in un tempo sequenziale a seconda di come lo specifico: può convertire qualsiasi formato come ad esempio "2021: 08: 24: 09: 30: 00" , "24/08/2021 09:30:00" e altri. Il requisito fondamentale da rispettare è che le posizioni per anno, mese, giorno, ora, minuto, secondo siano fisse e coerenti in tutti i file caricati, e che '0' sia presente prima di qualsiasi numero diverso da zero per i numeri minori di 10 (come '08' e non solamente '8').

Ottenuto quindi il timestamp adatto, si potranno visualizzare i livelli di glucosio in una serie temporale (*Figura 9*) attraverso la funzione "*plotTseries.fn()*".

Quando ad esempio, vengono calcolate statistiche non lineari come l'entropia campionaria, è necessario che l'intervallo tra due punti temporali consecutivi sia uguale; CGManalyzer ha la funzione "*equalInterval.fn()*" per regolare i dati in modo che sia possibile ottenere uno spazio uguale tra due punti temporali consecutivi.

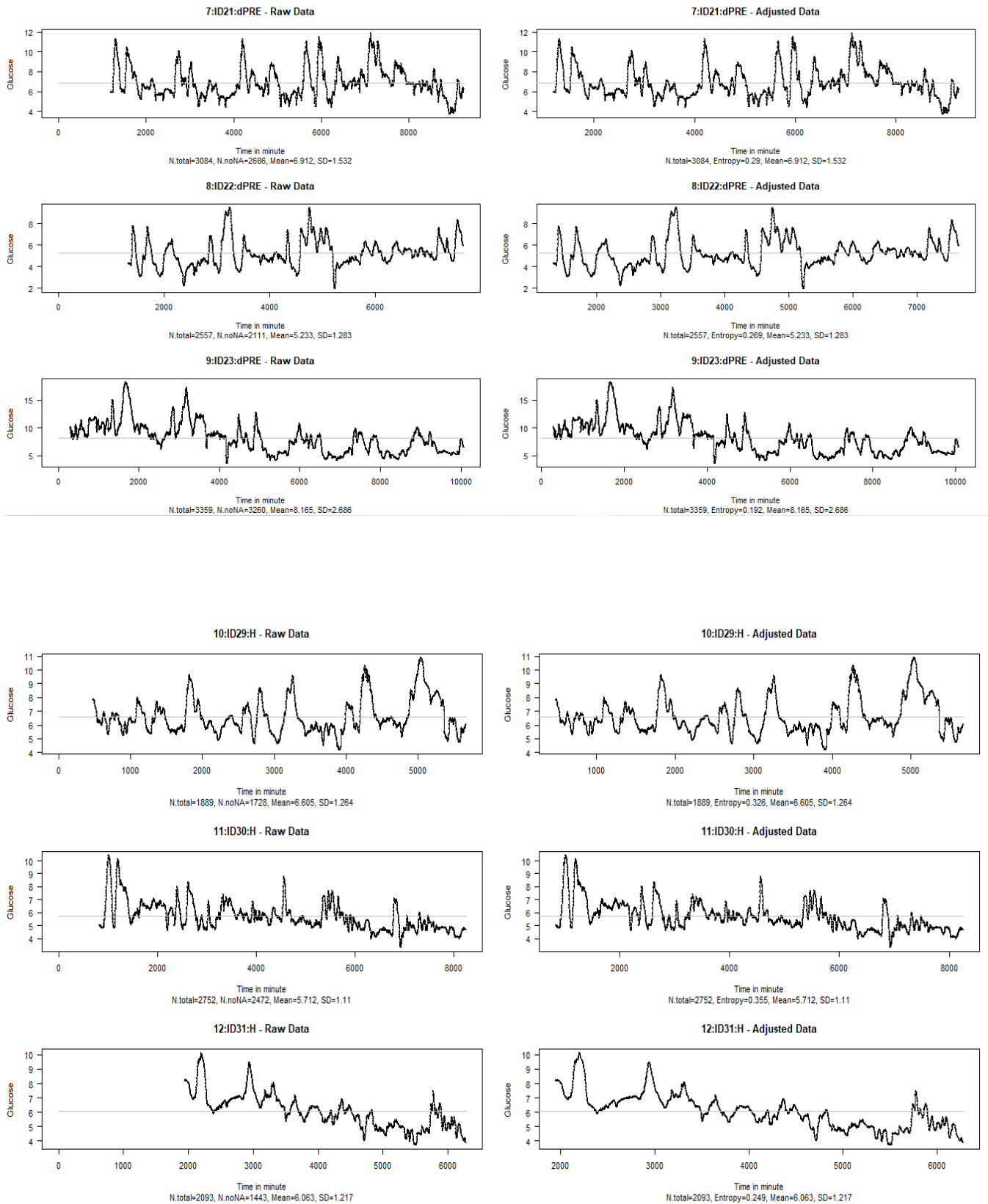
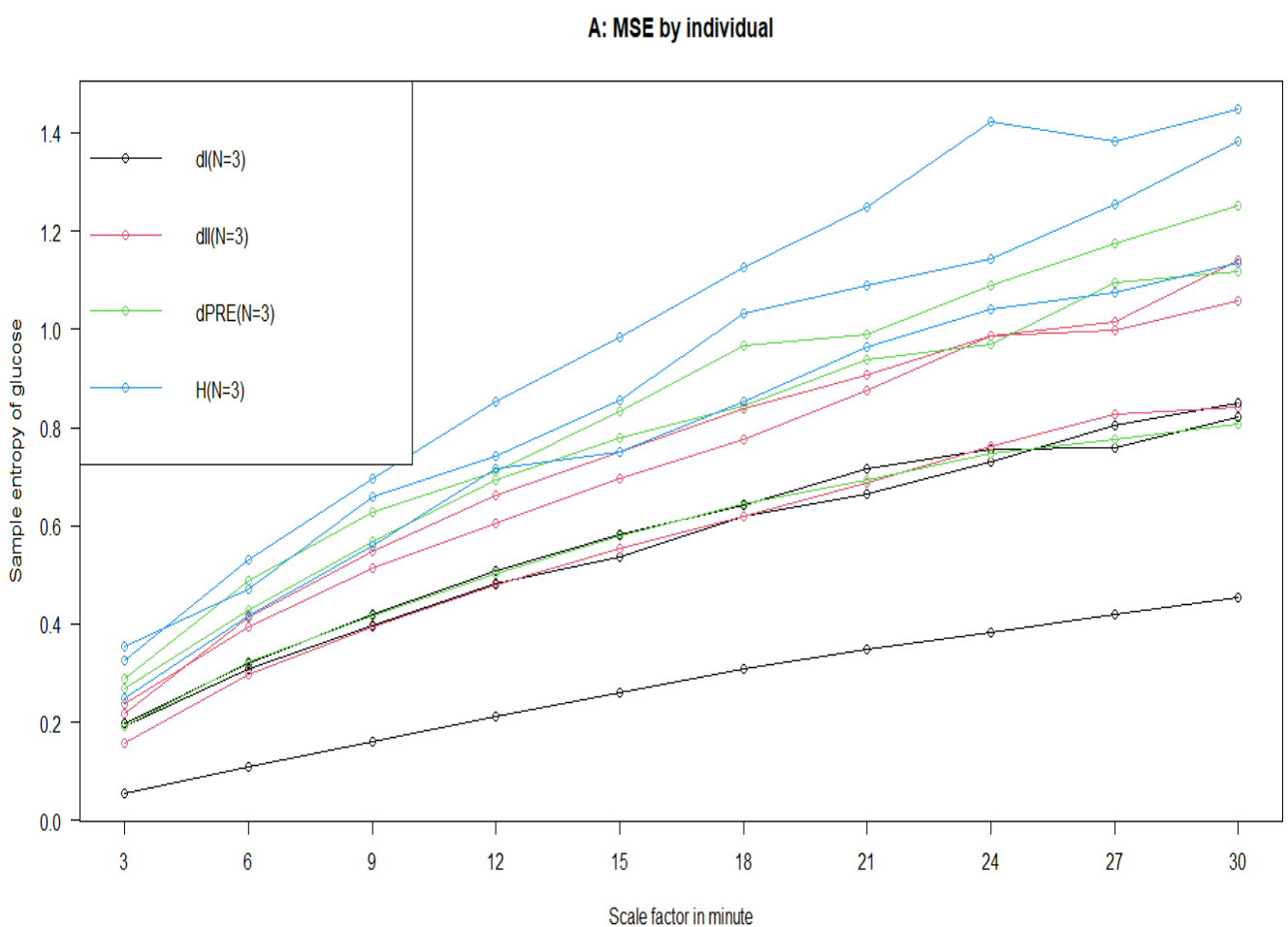


Figura 9: I grafici raffigurano i livelli di glucosio in una serie temporale. Rappresentati in minuti, possono campionare i livelli di glucosio di un soggetto fino al sesto, ottavo, decimo giorno di campionamento. Per ogni soggetto campionato, viene rappresentato anche il valore dell'entropia campionaria.

4.3.2 Grafico dell'entropia multiscala

Utilizzando la funzione " *MSEbyC.fn()* " si richiama un programma C per il calcolo della MSE, e i risultati possono essere visualizzati per individui o per gruppi (*Figura 10*) tramite la funzione " *MSEplot.fn()* ". Quando viene eseguito il codice principale, viene generato in automatico un file PDF chiamato *MSEplot.pdf* che mi mostra il MSE calcolato per individui o gruppi.



B: MSE by group

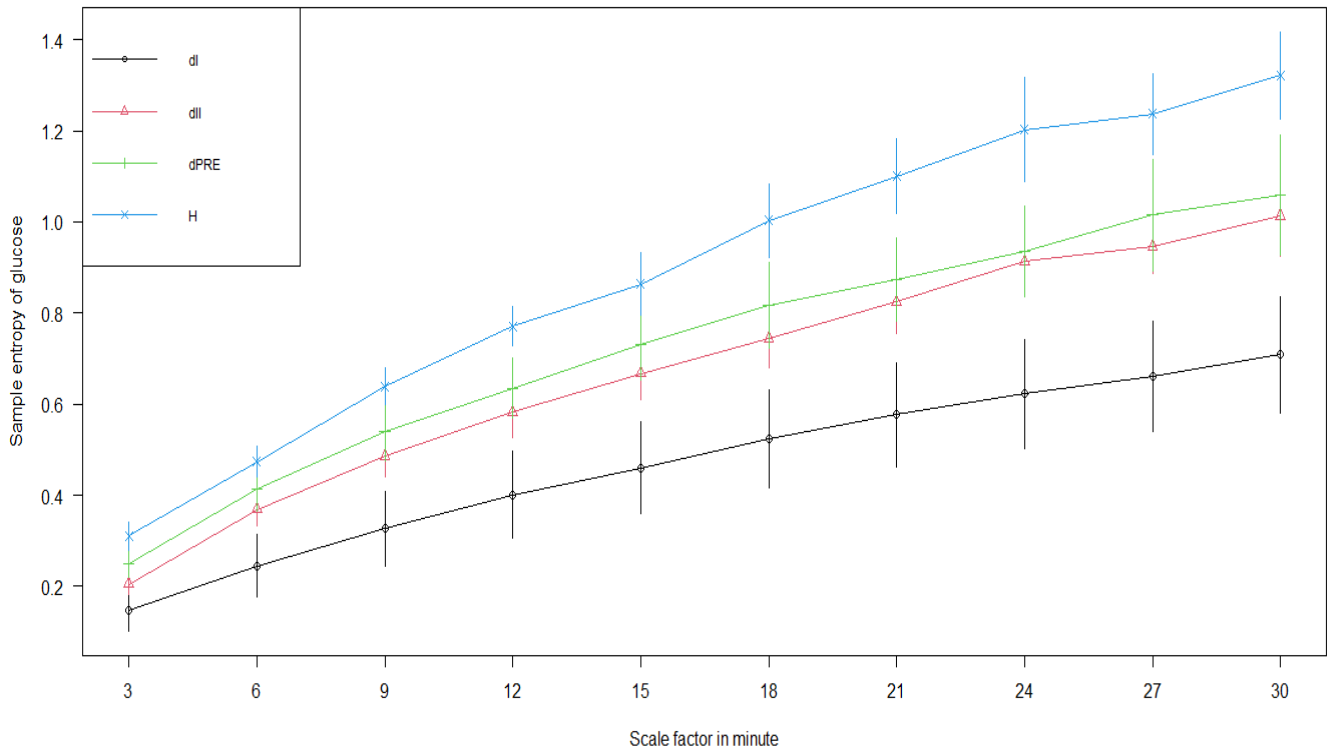


Figura 10: Il grafico rappresenta la MSE individuale e per gruppo durante 30min di misurazione. Per quanto riguarda i diversi colori rappresentati dalla sigla dl, dll, dPRE e H indicano rispettivamente le diverse tipologie di diabete: nello specifico esse rappresentano rispettivamente diabete di tipo 1, diabete di tipo 2, pre-diabete ed individui sani.

4.3.3 Grafico dell'antenna

Nello studio dei soggetti legati al diabete bisogna considerare quattro grandi gruppi: diabete di tipo 1, diabete di tipo 2, soggetti in pre-diabete ed individui sani. Ogni ricercatore e medico è interessato al confronto a coppie tra qualsiasi coppia di questi gruppi nei livelli di glucosio o MSE; le statistiche fondamentali per ogni confronto includono la differenza media, l'intervallo di confidenza, SSMD.

Per SSMD si intende la media divisa per la DS (DeviazioneStandard) di una differenza tra due gruppi, pertanto SSMD misura efficacemente la dimensione effettiva per il confronto di gruppo [30].

Basato appunto su SSMD lungo l'asse y, si ricava un grafico la cui forma assomiglia ad una antenna, anche grazie al posizionamento dell'asse x in diagonale; tale grafico viene appunto chiamato *grafico dell'antenna*. La funzione "*antennaPlot.fn()*" può generare grafici di antenna per i livelli di glucosio e per MSE (*Figure 11*). Quando vengono eseguiti i codici principali, *groupCompSSMDpvalue.MSE.csv* e *groupComp.mean.csv* verranno generati automaticamente e conterranno i risultati MSE calcolati per ogni confronto a coppie e per ciascun gruppo; invece in *antennaPot.pdf* saranno presenti una serie di grafici dell'antenna per i livelli di glucosio e MSE per ciascuna scala [31].

Nelle *Figure 11 B, C, D, E* si illustra l'entropia del campione su una scala di 3 min, 9 min, 18 min e 30 min. Prendendo come riferimento l'ultima figura (*Figura 11 E*) quella su una scala di 30 min, si notano alcune differenze significative e non tra le coppie prese in esame: nello specifico non vi è alcuna differenza significativa tra le coppie dl vs H (linea verde), dl vs dll (linea nera), dPRE vs H (linea viola) e dll vs dPRE (linea blu). Invece abbiamo differenze significative tra le coppie dl vs dPRE (linea rossa spostata dall'asse inclinato verso sinistra) ed infine tra dll vs H (linea celeste spostata dall'asse inclinato verso destra).

I punti di forza delle differenze significative sono classificabili come *deboli*, *abbastanza moderati* e *moderati* a seconda della loro lontananza dall'asse inclinato delle x e sulla base dei criteri SSMD in Zhang (2011) [30].

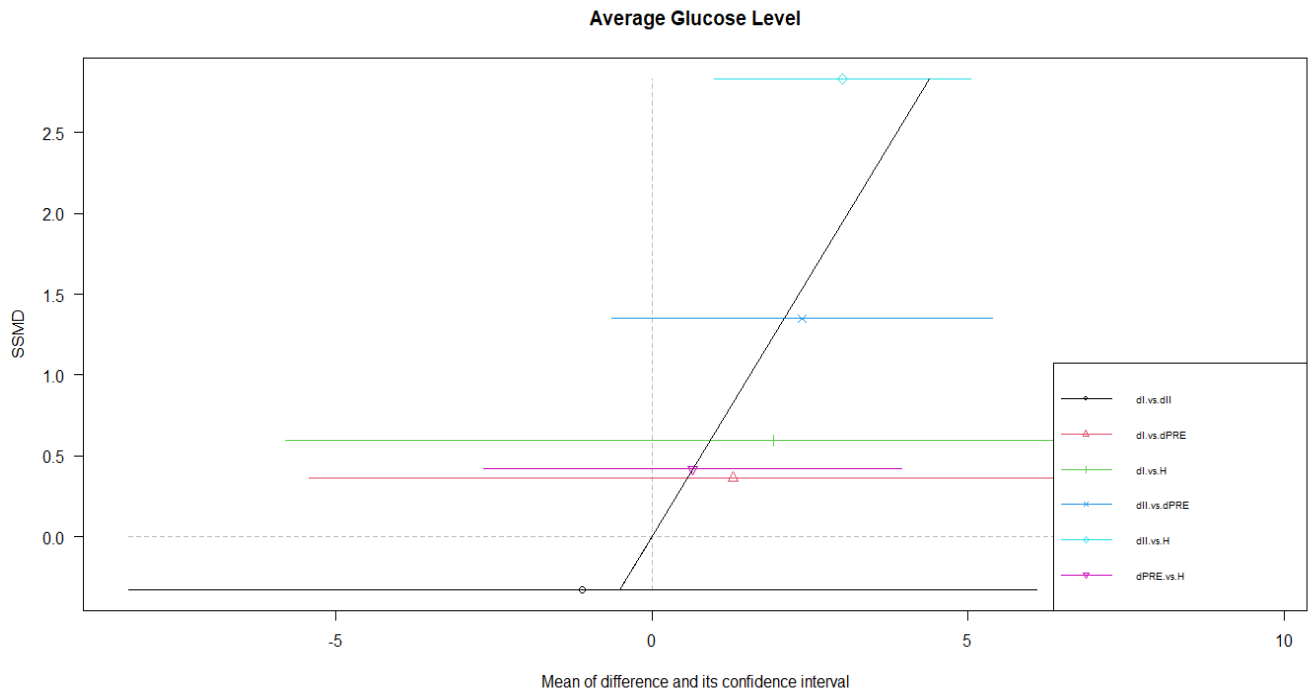


Figura 11 A: Diagramma dell'antenna per MSE

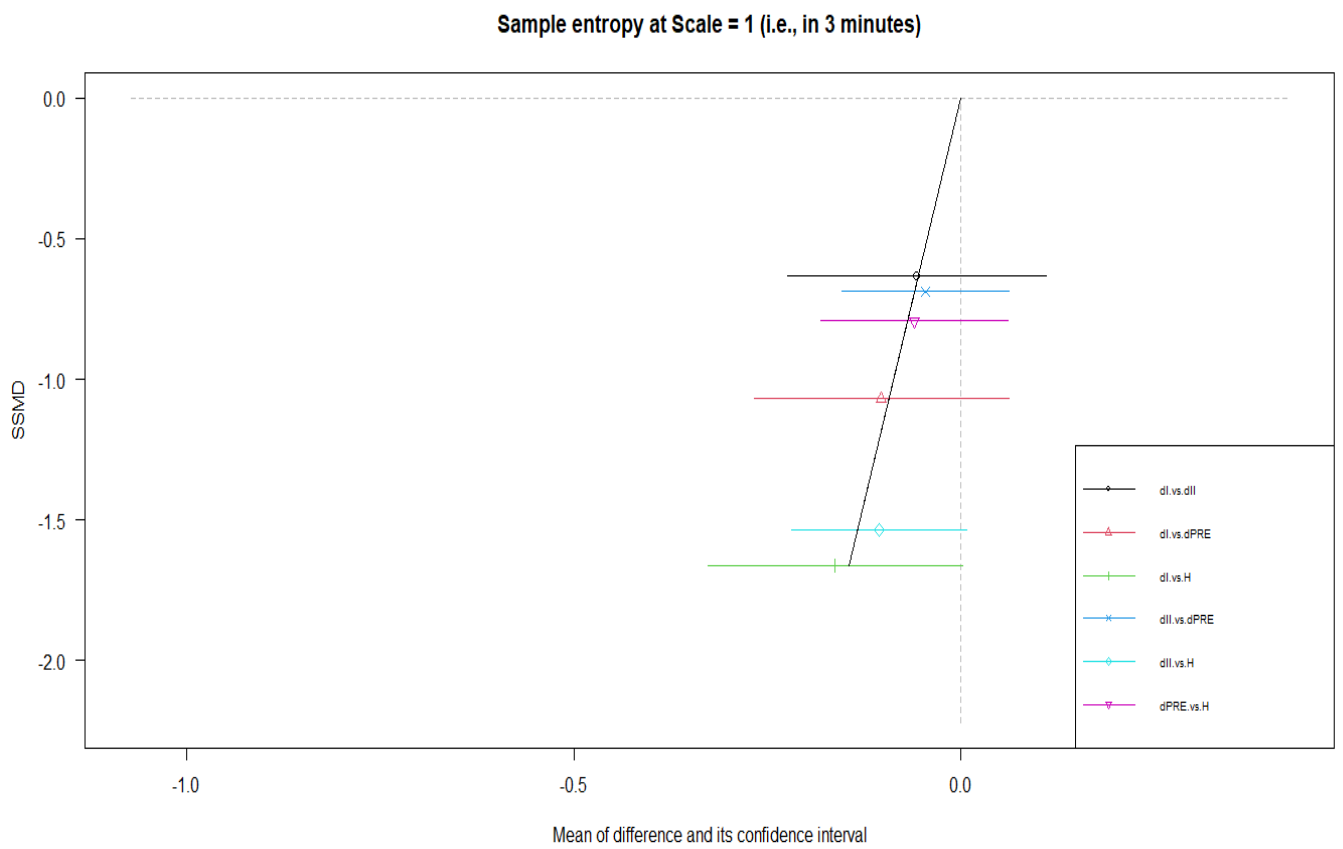


Figura 11 B: Diagramma dell'antenna per MSE su una scala di 3min

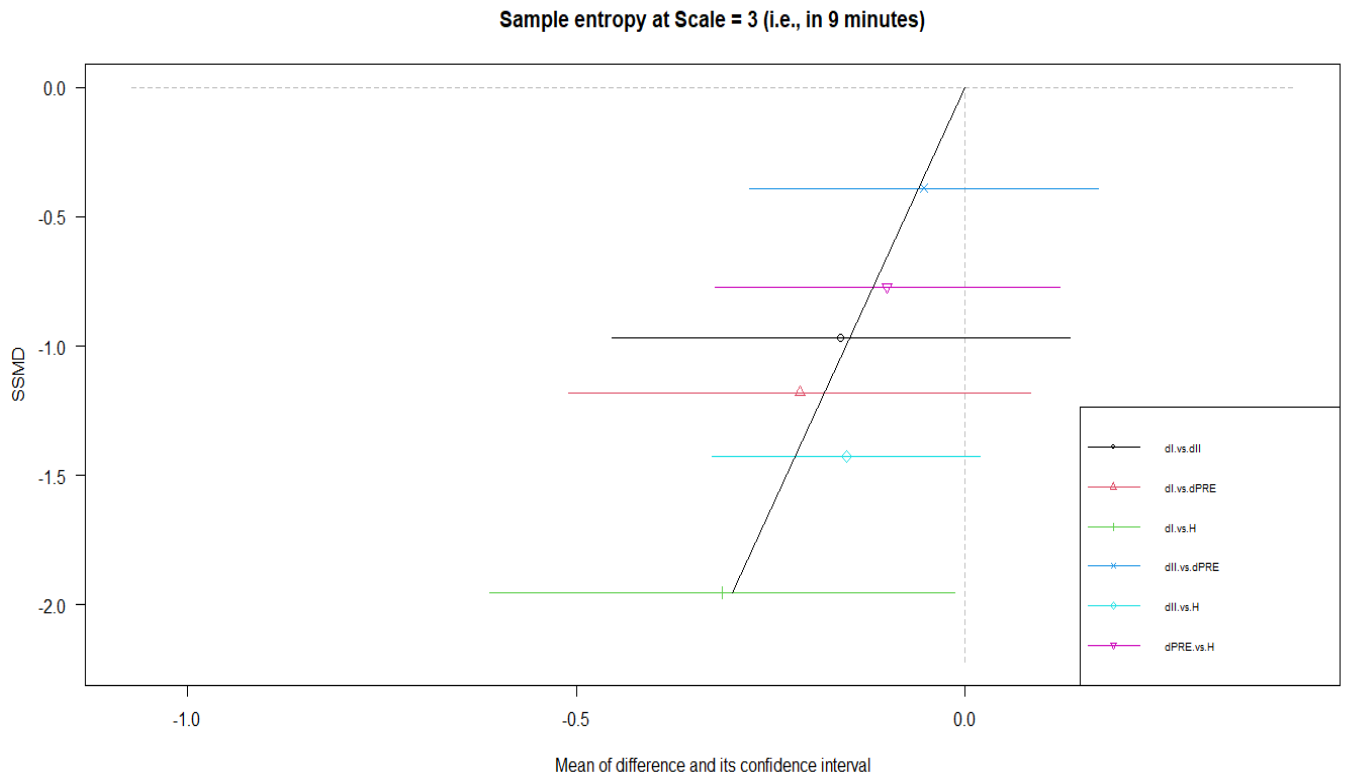


Figura 11 C: Diagramma dell'antenna per MSE su una scala di 9min

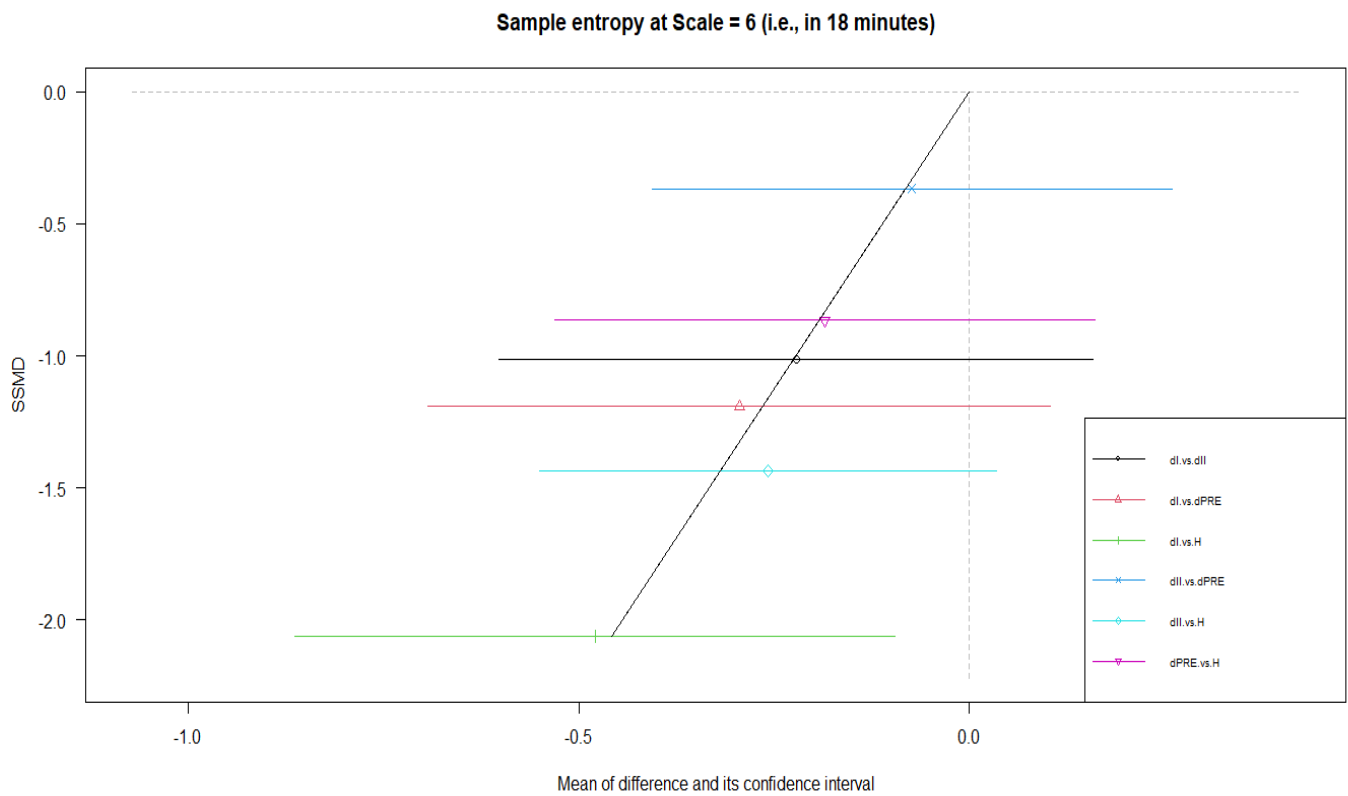


Figura 11 D: Diagramma dell'antenna per MSE su una scala di 18min

Sample entropy at Scale = 10 (i.e., in 30 minutes)

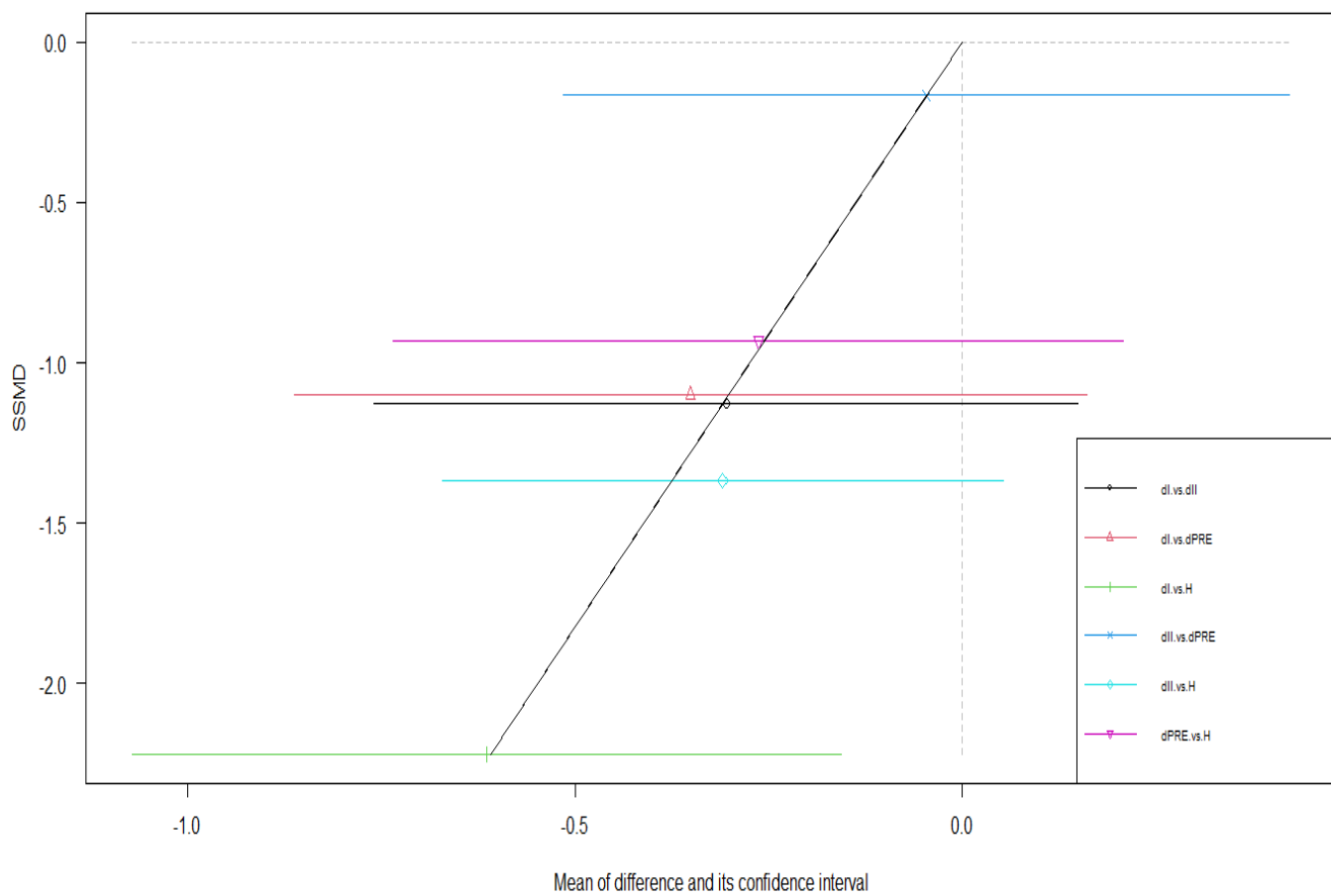


Figura 11 E: Diagramma dell'antenna per MSE su una scala di 30min

Conclusione

Alla luce dell'analisi svolta in questo elaborato, dopo aver analizzato le relative problematiche nella standardizzazione della misura e dell'analisi, per rendere confrontabili ed interpretabili i dati dei sistemi CGM, si è voluto approfondire l'utilizzo del pacchetto R CGManalyzer.

Questo pacchetto, interfacciandosi in R o RStudio, permette di utilizzare molteplici funzioni per l'analisi dei dati. Può essere applicato ai dati misurati da vari dispositivi CGM, come *FreeStyle Libre*, *Glutalor*, *Dexcom* e *Medtronic CGM*, analizza uno studio dall'inizio alla fine leggendo una serie di dati dove ciascuno dei quali rappresenta un sensore o un soggetto, calcolando statistiche regolari e non lineari. Inoltre, una funzione molto importante da utilizzare è quella che permette di convertire i vari formati dei timestamp, purché il formato scelto sia fisso in tutti i file di dati. Questo passaggio è risultato di fondamentale importanza in quanto non esiste ancora un unico metodo di campionamento standardizzato, ed infatti nello sperimentare altri software di analisi del dato si riscontravano molteplici problematiche nella lettura del formato del dato CGM campionato, in quanto alcuni formati della scrittura del dato campionato non venivano letti dal software (vedi capitolo 4, paragrafo 4.3.1 pagina 39). In questo caso invece, utilizzando CGManalyzer, attraverso l'utilizzo di una specifica funzione, è possibile modificare a piacimento il formato del timestamp. Pertanto, questo pacchetto dovrebbe facilitare notevolmente l'analisi dei dati generati da un dispositivo CGM, con l'aggiunta di nuove misurazioni come MSE per l'irregolarità e la complessità di segnali fisiologici dinamici. Quindi è molto più veloce ed efficiente dei pacchetti R già esistenti e potrebbe esser utile per analizzare i dati di monitoraggio continuo ad alta densità come il monitoraggio continuo dei dati del suono respiratorio [32]. Inoltre, il pacchetto introduce un nuovo grafico chiamato *grafico dell'antenna* per visualizzare i risultati analitici negli esperimenti CGM, che può mostrare il modello di cambiamento CGM in modo molto più dettagliato e significativo rispetto ad altri grafici utilizzati in passato.

Bibliografia

- [1] Montefusco Laura (3 Giugno 2021). L'infezione da Coronavirus 2 (COVID19) altera il compenso glicometabolico e può indurre insulino-resistenza. *Diabete.com*.
- [2] Francesca Ulivi (31 maggio 2021). Diabete: un solo nome, tante malattie diverse. Classificazione tratta dagli "standards of Care 2021" dell'American Diabetes Association.
- [3] Nicholas J Thomas (2019). Types 1 diabetes defined by severe insulin deficiency occurs after 30 years of age and is commonly treated as type 2 diabetes. *Diabetologia*.
- [4] Montebelli Maria Rita (14 ottobre 2019). La curva di carico di glucosio: da un vecchio test, nuove indicazioni più precise per la diagnosi di diabete. *diabete.com*.
- [5] Ascensia Diabetes Care Holdings (2019). Sistema CGM Eversense. www.diabetes.ascensia.it.
- [6] Pfeiffer Jane Cahill (1974). La cellula beta artificiale: un controllo continuo della glicemia mediante regolazione esterna dell'infusione di insulina (sistema di infusione di insulina controllata dal glucosio).
- [7] Pfeiffer Jane Cahill (1994). Presentazione del sistema "Ulm Zuckeruhr" nella cura del diabete: sonda di microdialisi impiantabile, glucosensore e orologio a zucchero a funzionamento telemetrico per il monitoraggio on-line.c del glucosio su 48 ore negli uomini.
- [8] Sandra Delbeck (2019). Monitoraggio non invasivo della glicemia con metodi ottici per le opportunità di spettroscopia cutanea e i recenti progressi.
- [9] Federazione Internazionale di Chimica Clinica e Medicina di Laboratorio, Gruppo di Lavoro sul Monitoraggio Continuo del Glucosio (WG-CGM) (2019). Ritardo del glucosio dal compartimento intravascolare a quello interstiziale nel diabete di tipo 1.
- [10] Bailey Thomas (2015). Le prestazioni e l'usabilità di un sistema di monitoraggio del glucosio flash calibrato in fabbrica.
- [11] Boscarì Federico (2018). Confronto testa a testa della precisione di Abbott FreeStyle Libre e Dexcom G5 mobile.
- [12] Pleus Sabrina (2020). Tempo in specifiche gamme di glucosio, indicatore di gestione del glucosio e variabilità glicemica: impatto del modello di sistema e del sensore CGM (Continuous Glucose Monitoring) sulle metriche CGM. *journals.sagepub.com*.
- [13] Schmelzeisen-Redeker Gunther (2015). Ritardo temporale dei sensori CGM: rilevanza, cause e contromisure. *Diabete Sci. Technol.*
- [14] Acciaroli Giada (2018). Taratura di sensori per il monitoraggio continuo della glicemia mininvasiva: stato dell'arte e prospettive attuali. Basilea: Biosensori.

- [15] Organizzazione internazionale per la standardizzazione, dispositivi medico-diagnostici in vitro. (2020). Requisiti per stabilire la tracciabilità metrologica dei valori assegnati a calibratori, materiali di controllo dell'accuratezza e campioni umani. *iso.org*.
- [16] D'Orazio Paola (2006). Raccomandazione IFCC approvata sulla segnalazione dei risultati per la glicemia: federazione internazionale della divisione scientifica di chimica clinica e medicina di laboratorio, gruppo di lavoro sugli elettrodi selettivi e test point-of-care (IFCC-SD. Clin. chimica. Laboratorio. Med.).
- [17] Seibold Anthony (2019). Commento su Grino et al: idoneità del monitoraggio flash del glucosio per il rilevamento dell'ipoglicemia. *Diabete Sci. Tecnol.*
- [18] Basu Alessandro (2013). Ritardo temporale del glucosio dal compartimento intravascolare a quello interstiziale nell'uomo.
- [19] Tecnologia del diabete: standard di assistenza medica nel diabete (2019). *Diabetes Care*, vol. 42, n. Suppl 1, pp. S71-S80, gennaio 2019.
- [20] Hill Nathan, Oliver Nick, Choudhary Patrik, Levy Jonathan, Hindmarsh Peter, Matthews David (2011). Intervallo di riferimento normale per glicemia media tissutale e variabilità glicemica derivata dal monitoraggio continuo del glucosio per soggetti senza diabete in diversi gruppi etnici. *Diabetes Technol. I.*, vol. 13, n. 9, pp. 921-8, settembre 2011.
- [21] Marics Gabor, Lendvai Zsofia, Lodi Csaba, Koncz Levente, Zakarias David, Schuster Gyorgy (2015). Valutazione di un software ad accesso aperto per il calcolo dei parametri di variabilità del glucosio di un sistema di monitoraggio continuo del glucosio applicato all'unità di terapia intensiva pediatrica. *Biomed. ing. In linea*, vol. 14, pag. 37, aprile 2015.
- [22] Zhang Zheng, Wang Da-Zhi (2018). CGManalyzer: un pacchetto R per l'analisi di studi di monitoraggio continuo del glucosio. *Bioinformatica*, vol. 34, nr. 9, pp. 1609-1611, maggio 2018.
- [23] Vigers Tim, Chan Christine, Snell-Bergeon Janet, Bjornstad Petter, Zeitler Philip, Forlenza Gregory (2019). cgmanalysis: un pacchetto R per l'analisi descrittiva dei dati di monitoraggio del glucosio continuo. *PLoS One*, vol. 14, nr. 10, pp. e0216851, ottobre 2019.
- [24] Millard Leonard, Patel Nicholas, Tilling Kevin, Lewcock Marco, Flach Patrik, Lawlor Daniel (2020). GLU: un pacchetto software per l'analisi dei livelli di glucosio misurati continuamente in epidemiologia. *int. J. Epidemiol.*, vol. 49, n. 3, pp. 744-757, giugno 2020.
- [25] Broll Sophia, Urbanek Jake, Buchanan David, Chun Tian, Muschelli Jake (2021). Interpretazione dei dati sulla glicemia con pacchetto R iglu. *PLoS One*, vol. 16, n. 4, pp. e0248560, aprile 2021.

- [26] McDonnell Frank (2005). Un nuovo approccio all'analisi continua del glucosio che utilizza la variazione glicemica. *Tecnologia del diabete*. *Terapeutico*, 7, 253–263.
- [27] Rodbard David (2009). Migliore qualità del controllo glicemico e ridotta variabilità glicemica con l'uso del monitoraggio continuo del glucosio. *Tecnologia del diabete*. *Terapeuta.*, 11, 717–723.
- [28] Zhang Zheng (2007). Una coppia di nuovi parametri statistici per il controllo di qualità nei test di screening ad alta processività dell'interferenza dell'RNA. *Genomica*, 89, 552–561.
- [29] Zhang Zheng (2011). Screening ottimale ad alta produttività: progettazione sperimentale pratica e analisi dei dati per la ricerca RNAi su scala genomica. Stampa dell'Università di Cambridge, New York.
- [30] Zhang Xiaohua Douglas, Zhang Zhaozhi, Wang Dandan (2018). CGManalyzer: un pacchetto R per l'analisi di studi di monitoraggio continuo del glucosio. *Bioinformatica*, Volume 34, Numero 9, 01 maggio 2018, pagine 1609–1611.
- [31] Niu Jhang (2017). Rilevazione dell'espettorato interpretando la distribuzione tempo-frequenza del sonoro tecniche mediante elaborazione di segnale delle immagini. *Bioinformatica*.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutti coloro che mi hanno sostenuto ed aiutato in questi duri anni universitari, dall'inizio alla fine. Ringrazio innanzitutto il mio correlatore, la professoressa Micaela Morettini e la sua assistente Agnese Piersanti, per la loro grandissima disponibilità, precisione, chiarezza e gentilezza dimostratemi durante il periodo di stesura della tesi.

Dedico questo traguardo alla mia famiglia, ai miei genitori Roberto e Sandra e a mia sorella Valentina, i quali hanno sempre creduto in me, nelle mie capacità e mi hanno insegnato dei valori di vita non scontati ed importanti. Siete stati un esempio, nella forza e nella fragilità quotidiana.

Ringrazio tutti i miei amici delle Luogg, da anni compagni di avventure. Siamo più di un gruppo di amici, una seconda famiglia cresciuta insieme negli anni, pronta a vivere anche il futuro in compagnia e in festa come sempre.

Ringrazio Flavia, con la tua determinazione, il tuo sostegno, la tua dolcezza ma soprattutto con il tuo grande amore mi hai aiutato tantissimo a crescere, a maturare in questi anni in tutti gli aspetti di vita. Sei la mia roccia, una figura cardine per me, consapevole che ci sei e ci sarai sempre.