



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Corso di laurea triennale in INGEGNERIA BIOMEDICA

**“ANALISI QUANTITATIVA DELLA VARIABILITÀ GLICEMICA IN DIFFERENTI
INTERVALLI TEMPORALI IN SOGGETTI AFFETTI DA DIABETE DI TIPO 1”**

**“QUANTITATIVE ASSESSMENT OF GLYCEMIC VARIABILITY IN DIFFERENT TIME
INTERVALS IN SUBJECTS AFFECTED BY TYPE 1 DIABETES”**

RELATORE:

Dott. Micaela Morettini

CORRELATORI:

Prof. Laura Burattini

Dott. Andrea Tura

CANDIDATO:

Michela Massaccesi

Anno accademico 2020 – 2021

Indice

	Pag.
• Abstract	I
• Introduzione	III
1. Cenni di fisiologia sulla regolazione endocrina del metabolismo del glucosio	1
1.1 INSULINA	2
1.1.1 <u>Effetti biologici</u>	3
1.1.2 <u>Meccanismo di azione</u>	4
1.1.3 <u>Stimolazione e regolazione della secrezione di insulina</u>	5
1.2 GLUCAGONE	7
1.2.1 <u>Effetti biologici</u>	7
1.2.2 <u>Meccanismo di azione</u>	8
1.2.3 <u>Regolazione della secrezione di glucagone</u>	8
1.3 SOMATOSTATINA E POLIPEPTIDE PANCREATICO	8
1.4 ALTERAZIONI DEL METABOLISMO DEL GLUCOSIO: DIABETE MELLITO	9
2. Valutazione del controllo glicemico	10
2.1 CONTROLLO GLICEMICO	10
2.2 IPOGLICEMIA	10
2.3 VARIABILITÀ GLICEMICA	11
2.4 MONITORAGGIO CONTINUO DEL GLUCOSIO, CGM	12
2.5 METRICHE PER LA VALUTAZIONE DELLA VARIABILITÀ GLICEMICA	13
2.5.1 <u>Definizione delle metriche per la GV</u>	13
2.5.2 <u>Classificazione delle metriche in relazione agli intervalli temporali per il calcolo</u>	19

3. Materiali e metodi	21
3.1 DESCRIZIONE DATSET	21
3.2 ANALISI DATI	24
3.3 RISULTATI	24
3.4 DISCUSSIONE	28
• Conclusioni	IV
• Ringraziamenti	V
• Bibliografia e sitografia	VI

Abstract

La regolazione metabolica del glucosio è un processo che coinvolge, fegato, tessuto adiposo, muscolo scheletrico, ma soprattutto gli ormoni pancreatici come l'insulina e il glucagone. La prima ha come effetto principale quello di ridurre la glicemia, ovvero la concentrazione di glucosio nel sangue, il glucagone invece ha un effetto catabolizzante, aumenta la glicemia. Quando la regolazione metabolica viene alterata, si può parlare di diabete mellito, che si distingue in diabete di tipo 1 e diabete di tipo 2. Il diabete di tipo 1 è una malattia autoimmune che rende le cellule beta del pancreas incapaci di secernere adeguatamente insulina, Il diabete di tipo 2 invece è caratterizzato dalla diminuzione di sensibilità delle cellule beta all'insulina e dalla riduzione di secrezione di quest'ultima. Il trattamento per i soggetti affetti da diabete di tipo 1 si riduce alla somministrazione di insulina esogena o all'uso di pompe per l'insulina a microinfusioni sottocutanee. Poiché somministrare una dose errata di insulina può portare il paziente al coma, è importante per salvaguardarlo, monitorare il controllo glicemico. La valutazione del controllo glicemico mira a ridurre fenomeni di ipoglicemia e variabilità glicemica. Per ipoglicemia si intende l'abbassamento della concentrazione di glucosio al di sotto dei 70 mg/dl, fino a 55 mg/dl. La variabilità glicemica è invece un fattore di rischio che si basa sul determinare la qualità del controllo glicemico.

Fino a qualche decennio fa le misurazioni della glicemia venivano fatte con l'uso del SMBG (Self Monitoring Blood Glucose), il primo dispositivo per l'automonitoraggio della concentrazione di glucosio nel sangue capillare, oggi si utilizza il CGM (Continuous Glucose Monitor), un dispositivo che permette il monitoraggio continuo dei valori del glucosio interstiziale, attraverso un sensore sottocutaneo. Tale metodica presenta tuttavia un problema di interpretazione dei dati poiché non esiste una vera e propria standardizzazione né in relazione alle metriche da usare né in relazione all'intervallo temporale da considerare. Pertanto, lo scopo di questa tesi è stato quello di analizzare l'effetto di diversi intervalli temporali che possono essere considerati per il calcolo di metriche di variabilità glicemica in soggetti affetti da diabete di tipo 1.

Sono state quindi descritte le metriche più importanti per lo studio della variabilità glicemica, se ne è fornita una classificazione in base alla loro applicabilità, nel breve termine (entro le 24 ore) o nel lungo termine (oltre le 24 ore). Per l'analisi quantitativa volta ad analizzare l'effetto di differenti intervalli di tempo considerati per il calcolo delle metriche di variabilità glicemica, si è

fatto riferimento ad un dataset pubblico (dataset D1NAMO), relativo a nove pazienti affetti da diabete di tipo 1, sottoposti a monitoraggio continuo del glucosio ma anche a monitoraggio di alcuni altri segnali (tra cui l'elettrocardiogramma, chiamato anche ECG) nell'arco della normale routine giornaliera. A causa di questo, i segnali registrati sono risultati, in alcune porzioni della giornata, corrotti da rumore e non utilizzabili. Pertanto, per ogni soggetto, si è proceduto ad effettuare il calcolo delle metriche di variabilità glicemica sia sul segnale CGM completo registrato in una giornata di 24 ore e a confrontarlo con le metriche calcolate sul segnale CGM con campionamento ridotto, derivante da un'analisi preliminare in cui si sono selezionati solo gli intervalli della giornata in cui tutti i segnali acquisiti sono utilizzabili. Il calcolo delle metriche è stato effettuato utilizzando il software iglu implementato nell' ambiente R.

Da questo studio ci si aspettava di ottenere risultati simili tra le metriche calcolate nel dataset completo e quelle calcolate nel dataset ridotto, ma nella maggior parte dei casi ciò non è avvenuto. Inoltre si è riscontrata l'importanza di avere un segnale ben distribuito nel corso delle 24 ore rispetto ad avere molti campioni di un solo segnale ma concentrati in un arco temporale limitato. La scelta delle metriche utilizzate è risultata adeguata al caso in esame, questo dimostra che alcune sono più versatili di altre, specialmente quelle di origine statistica.

Rimangono tutt'ora limitazioni nella valutazione della variabilità glicemica, occorre prestare attenzione alla scelta delle metriche affinché non vengano compromessi i risultati dello studio. Anche nell'uso del CGM si riscontrano imprecisioni, ma rimane lo strumento migliore per il controllo glicemico nei pazienti diabetici di tipo 1.

Introduzione

Il carburante principale per le cellule del nostro organismo è il glucosio ed è estremamente importante monitorare la sua concentrazione nel sangue. Il livello di glucosio ematico è regolato da ormoni secreti dal pancreas, di cui il principale è l'insulina. Talvolta possono manifestarsi disturbi nella regolazione metabolica, che possono portare alla diagnosi di diabete. Il diabete è una malattia cronica che può comportare complicazioni a livello cardiovascolare, può essere la causa di retinopatie, insufficienze renali e se trascurato può condurre alla morte. Esistono diverse classificazioni di diabete: quando si tratta di una malattia di tipo autoimmune che colpisce le cellule beta del pancreas nei soggetti giovani, alterando la capacità di secrezione dell'insulina, si parla di diabete di tipo 1. Il diabete di tipo 2 invece riguarda maggiormente i soggetti adulti e si verifica quando l'insulina prodotta non agisce in maniera soddisfacente (insulino - resistenza).

Un passo avanti nel monitoraggio del controllo glicemico è stato fatto con l'introduzione del SMBG, un dispositivo che consente l'automonitoraggio del livello di glucosio nel sangue capillare. L'SMBG però non è in grado di fornire un'ampia visualizzazione del livello di glicemia continua nel tempo, di recente le sue limitazioni sono state superate con l'introduzione del CGM. Il CGM è un dispositivo impiantabile a livello sottocutaneo che misura il glucosio a livello interstiziale e lo fa con continuità permettendo la quantificazione della variabilità glicemica che fornisce una stima della qualità del controllo glicemico. Nel corso degli anni si sono definite delle metriche per il suo studio, ma non si è ancora arrivati ad una vera e propria standardizzazione né per quanto riguarda il tipo di metriche da usare né per quanto riguarda gli intervalli temporali che possono essere considerati per il calcolo, causando difficoltà nell'interpretazione dei dati.

Lo scopo di questa tesi è stato quello di analizzare l'effetto di diversi intervalli temporali che possono essere considerati per il calcolo di metriche di variabilità glicemica in soggetti affetti da diabete di tipo 1.

1. Cenni di fisiologia sulla regolazione endocrina del metabolismo del glucosio

Il glucosio è la fonte di sostentamento principale del metabolismo energetico cellulare, è fautore di innumerevoli processi e reazioni enzimatiche indispensabili per la fisiologia della cellula. E' dunque necessario mantenere costante il suo livello ematico o farlo variare entro opportuni range fisiologici, impedendo improvvise oscillazioni che potrebbero compromettere la vita dell'organismo, in tal modo si garantisce alle cellule il corretto svolgimento delle loro funzioni. La concentrazione di glucosio nel sangue, prende il nome di **GLICEMIA**. La regolazione metabolica del glucosio avviene prevalentemente nel fegato, nel tessuto adiposo e nel muscolo scheletrico, un ruolo fondamentale è inoltre svolto dagli ormoni.

- Il fegato assorbe il glucosio e quando è in eccesso, lo deposita sotto forma di glicogeno, costituendo la fonte principale di glucosio in caso di ipoglicemia.
- Il tessuto adiposo deposita acidi grassi sottoforma di trigliceridi costituendo una grande riserva metabolica.
- Il tessuto muscolare utilizza glucosio e acidi grassi, in base al fabbisogno richiesto dall'attività funzionale.
- Gli ormoni in questione sono localizzati principalmente nelle isole di Langerhans, quest'ultime sono composte da molteplici cellule, tra cui le cellule di tipo α o A che sono presenti per una percentuale pari al 25-30% e sono responsabili della secrezione del **GLUCAGONE**. Le cellule di tipo β o B, localizzate nella parte centrale delle isole, contengono dei granuli a forme rettangolare o rotondeggiante (nell'uomo) che fungono da deposito di **INSULINA** e sono responsabili di secernere quest'ultima.

In generale l'insulina funge da ormone anabolizzante, facilita la deposizione di glucosio, trigliceridi e attiva la sintesi proteica, il glucagone invece è catabolizzante. Spesso i due ormoni hanno un effetto reciproco nell'immagazzinamento energetico, oltre che a controllare il metabolismo nelle varie condizioni fisiologiche [Fig. 1].

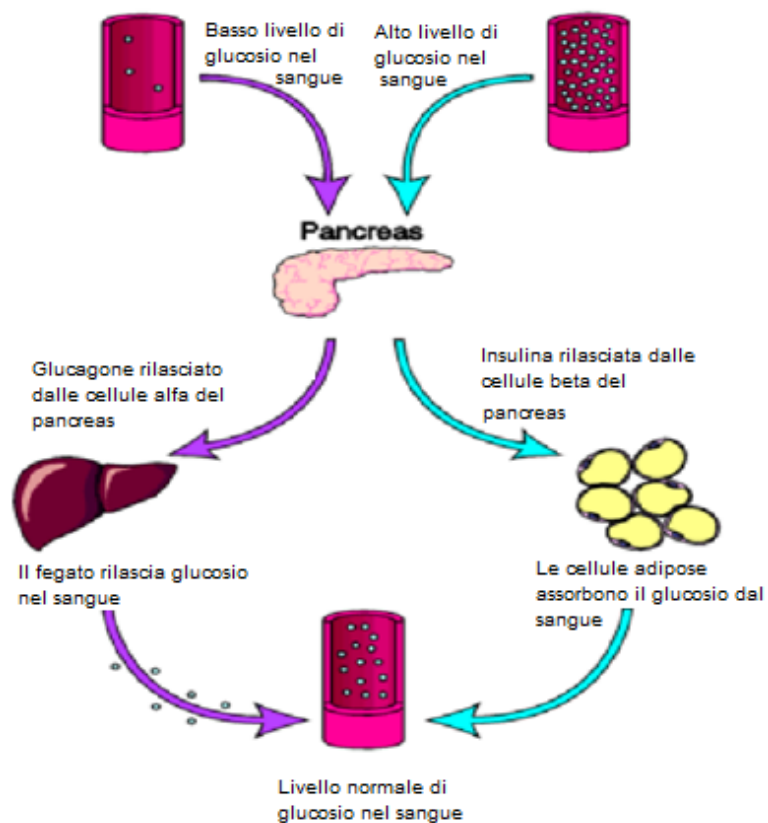


Fig.1 Azione del glucagone e dell'insulina.

1.1 INSULINA

Nell'uomo il gene dell'insulina si trova nell'undicesimo cromosoma. Dal nucleo si origina un trasporto subcellulare compiuto dall' mRNA dell'insulina, per giungere nel reticolo endoplasmatico rugoso dove avviene la sintesi di preproinsulina in proinsulina. Quest'ultima è il precursore dell'insulina, composta da una catena A, una catena B e dal peptide di segnale C composto da 23 amminoacidi.

Il peptide C, favorisce la formazione di insulina, finché non viene rimosso per mezzo di una proteolisi. Si compie in questo modo la secrezione dell' ormone endocrino, poiché il peptide C viene secreto nella stessa quantità molecolare dell'insulina, ne rappresenta un indice reale della sua secrezione. L'ormone endocrino dell'insulina, è ora composto da 51 amminoacidi organizzati in una catena A e una Catena B, collegate attraverso due ponti di disolfuro, con un terzo ponte che collega gli amminoacidi della catena A [Fig. 2].

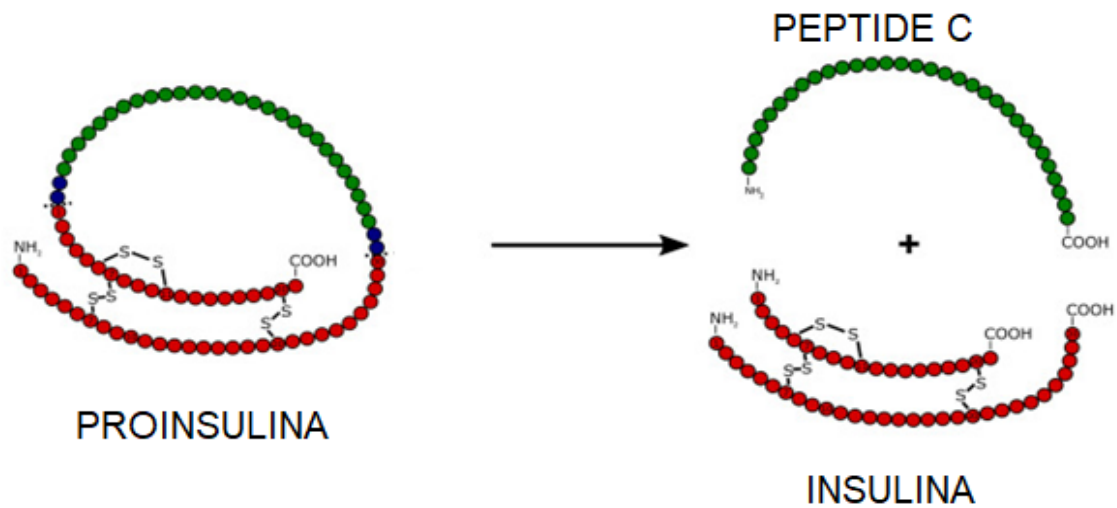


Fig. 2 Illustrazione schematica della sintesi dell'insulina mediante scissione della proinsulina. ²

Contemporaneamente all'insulina, vengono liberate anche altre sostanze, come l'amilina o la pancreastatina che sembrerebbero inibirne la secrezione. Il tempo impiegato dall'insulina per dimezzare la sua concentrazione, è chiamato emivita ed è di circa cinque minuti. A differenza del peptide C, il 50-60% dell'insulina prodotta nelle isole di Langerhans viene deteriorata al primo passaggio nel fegato, per cui le concentrazioni di Insulina nel sangue periferico sono notevolmente ridotte rispetto alle concentrazioni del peptide C.

1.1.1 Effetti biologici

L'effetto principale dell'insulina è quello sulla glicemia, in quanto determina la riduzione del glucosio ematico (ipoglicemia). Nel tessuto muscolare e adiposo, l'insulina attiva la captazione del glucosio a livello delle membrane cellulari. Quando l'insulina si lega con il proprio recettore, attiva le vescicole che contengono il trasportatore del glucosio GLUT4, attraverso l'esocitosi le vescicole si fondono con la membrana della cellula e il trasportatore GLUT4 si trova nella membrana. Quando viene meno l'effetto dell'insulina, il trasportatore viene endocitato e si ricreano le vesciolette all'interno del citoplasma [Fig. 3]. Il glucosio assorbito viene fosforilato per mezzo di enzimi, il processo di fosforilazione può essere inibito da ormoni come quello della crescita. Inoltre l'insulina stimolando la sintesi proteica e di utilizzazione del glucosio favorisce la crescita dell'organismo.

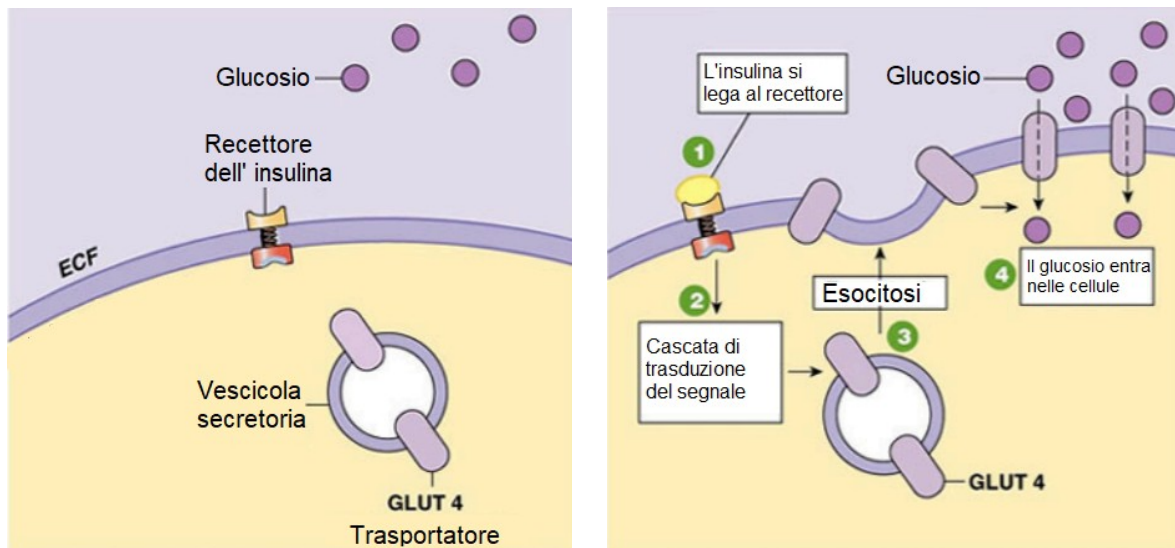


Fig. 3 Meccanismo di trasporto del glucosio.³

1.1.2 Meccanismo di azione

Il sistema di segnali indotti dall'insulina o dai suoi simili comprende tre ligandi: insulina, IGF1 e IGF2. I recettori dell'insulina sono in tutto il corpo, anche dove il glucosio viene assorbito in assenza di ormone.

Il recettore [Fig. 4] è formato da 4 catene polipeptidiche, due di tipo alfa e due di tipo beta, alfa è un recettore extracellulare, mentre beta è intracellulare con capacità tirosinchinasiche. Il recettore si differenzia in due forme, IRa e IRb. Il primo si lega con l'insulina e IGF2, ed è presente nel sistema nervoso centrale e nei tessuti intrauterini. IRb si lega solo con l'insulina ed è presente nel fegato, tessuto adiposo, muscolo scheletrico, ovvero in tutti quei tessuti insulino - dipendenti. E' possibile il mescolamento di tali recettori e la conseguente creazione di ibridi.

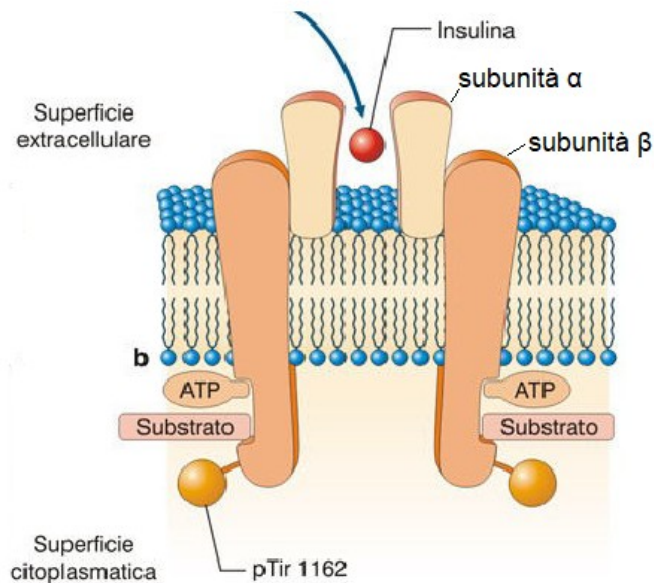


Fig. 4 Struttura del recettore di insulina. ¹

1.1.3 Stimolazione e regolazione della secrezione di insulina.

Il glucosio entra nella cellula per mezzo del trasportatore GLUT2 che attua la diffusione facilitata. Inizia il processo di fosforilazione catalizzata dalla glucochinasi, con conseguente aumento dei livelli glucosio 6 fosfato. Le reazioni metaboliche aumentano i livelli di ATP che provocano l'inibizione e la chiusura di un canale di potassio, si ha dunque una depolarizzazione e l'apertura del canale di calcio. Segue un aumento di calcio all'interno della cellula che provoca l'esocitosi di granuli contenenti insulina [Fig. 5].

La secrezione dell'insulina è stimolata anche da **AMMINOACIDI** come arginina e lisina, i loro effetti sono potenziati dal glucosio. Invece, un'esposizione prolungata agli **ACIDI GRASSI** contribuisce all'insufficiente attività della cellula beta, riducendo la risposta secretiva. Gli **ORMONI** o peptidi come **GIP** o **GLP1** liberati a livello intestinale potenziano gli effetti del glucosio, infatti si è notato che, partendo dallo stesso quantitativo di glucosio, la sua assunzione per via orale aumenta il livello di secrezione di insulina di circa il 26% rispetto all'assunzione per via endovenosa. GLP1 aumenta insulina in tutti i pazienti diabetici, GIP non in quelli di tipo 2. Poi sono attivi il **glucagone** e la **somatostatina**, il primo aumenta e l'altro riduce la risposta delle cellule beta. Altri ormoni inibitori sono quello della crescita, sessuali.

Nel **SISTEMA NERVOSO**, il nervo vago stimola la secrezione di insulina e il sistema nervoso simpatico la inibisce.

Il rapporto tra secrezione di insulina e concentrazione di glucosio, assume un andamento noto col nome di sigmoide. Ciò sta ad indicare un comportamento bifasico delle cellule beta in risposta ad una somministrazione costante di glucosio. Si verificano infatti due picchi, il primo si ha dopo pochi minuti data la presenza di insulina in vescicole pronte per la secrezione, ed uno ritardato dopo 100-120 minuti perché le vescicole vanno preparate e metabolizzate e dopo circa 3 ore dalla stimolazione, la secrezione di insulina si riduce del 15-25%. Inoltre, un'esposizione prolungata al glucosio, riduce l'espressione di molti geni importanti nella secrezione di insulina da parte delle cellule beta. I picchi dopo i pasti coincidono nel 90% dei casi ad un aumento ematico del glucosio, il 50% dei picchi sono indipendenti dai pasti e concomitanti agli aumenti del glucosio. Si riscontra un andamento ritmico nella secrezione di insulina e questo fa pensare alla presenza di un ipotetico pacemaker non ancora identificato. Il meccanismo di regolazione di insulina da parte del glucosio viene chiamato meccanismo a feedback positivo, all'aumento della concentrazione di glucosio, aumenta la secrezione di insulina.

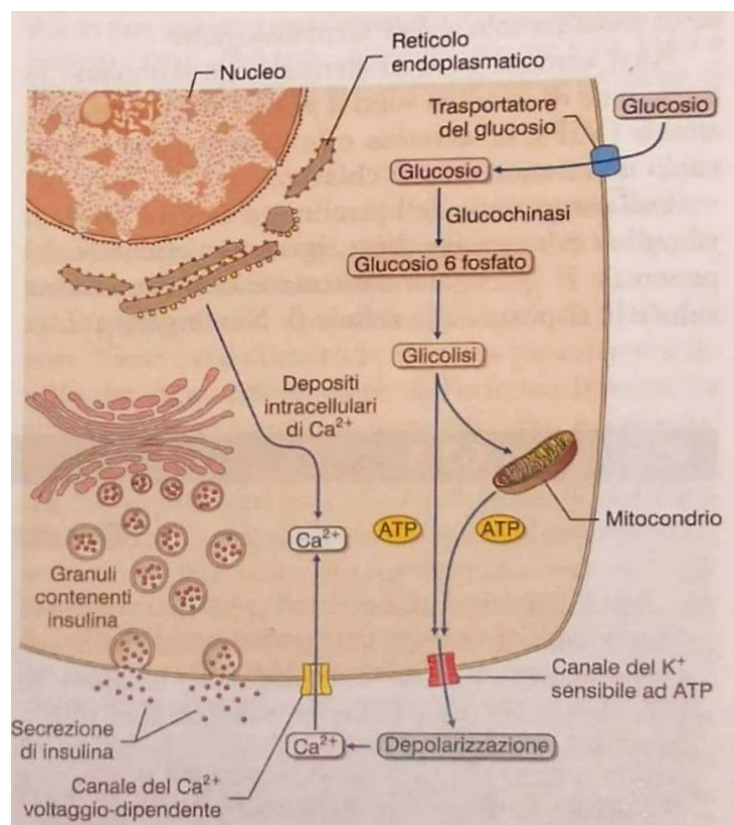


Fig. 5 Schema della stimolazione e secrezione dell'insulina da parte del glucosio.¹

1.2 GLUCAGONE

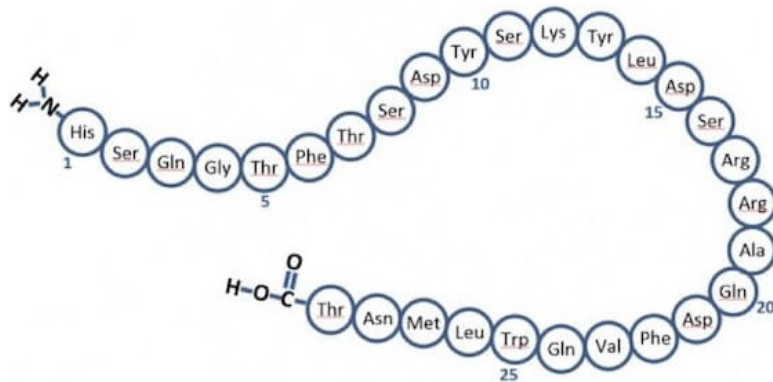


Fig. 6 Composizione aminoacidica del glucagone.

Il Glucagone [Fig. 6] è un ormone polipeptidico composto da 29 aminoacidi. Anch'esso ha un precursore, il preproglucagone ed è composto da 179 aminoacidi che viene trasformato in glucagone o in altri peptidi. Il glucagone è presente soprattutto nelle cellule alfa del fegato, nel sistema nervoso centrale e nell'ipotalamo. In misura inferiore è presente nelle cellule L dell'intestino, dove prevale invece la presenza di glicentina, GLP1 e GLP2. GLP1 stimola la produzione di insulina e inibisce quella del glucagone, ritardando lo svuotamento gastrico e inibisce l'assunzione di cibo (a livello del sistema nervoso centrale). GLP2 invece inibisce la mobilità gastrica congiuntamente alla secrezione acida dello stomaco, riducendo anche i fenomeni di apoptosi delle cellule dell'intestino. Il glucagone ha un'emivita di 5-10 minuti e il 50% della propria degradazione avviene nel fegato e nel rene.

1.2.1 Effetti biologici

Il glucagone è un ormone iperglicemizzante, stimola la glicogenolisi (processo di scissione del glicogeno in glucosio) e la gluconeogenesi (sintesi biologica del glucosio a partire da sostanze diverse dai carboidrati, come ad esempio aminoacidi, acido lattico e proteine, al fine di mantenere costante la concentrazione ematica di glucosio specie quando si è a digiuno) a livello epatico ma non a livello delle cellule muscolari. Nel tessuto adiposo stimola la lipolisi con conseguente aumento di acidi grassi.⁴ Aumentando il glucagone con dosi farmacologiche, aumenta la contrazione miocardica e si ha un effetto vasodilatatore nell'apparato vascolare.

1.2.2 Meccanismo di azione

Il gene del glucagone si trova nel cromosoma 17q5 e il recettore su cui agisce è a serpentina connessa ad una proteina G. I trascritti dell'mRNA si trovano nel fegato, cuore, rene, cellule beta, ma anche in altri tessuti che non sono bersagli dell'ormone, come la milza, timo, ovaio e testicoli. Quando il glucagone si annette al recettore attiva l'adenilatociclastasi con formazione del cAMP. Il cAMP è una molecola relativamente piccola, solubile in acqua, che può diffondere rapidamente attraverso il citoplasma. Il cAMP è responsabile di numerosi effetti come l'attivazione della glicogenolisi e della lipolisi, l'attivazione dei canali cationici del calcio, la regolazione della trasduzione di geni specifici legandosi a sequenze specifiche del promotore, del rilascio delle cellule muscolari lisce e dell'esocitosi.⁴

1.2.3 Regolazione della secrezione di glucagone

La secrezione del glucagone è regolata dall'ipoglicemia, con la partecipazione dei nervi simpatici, dagli aminoacidi come alanina, serina o dall'assunzione di un pasto proteico. Per gli aminoacidi la somministrazione orale ha una risposta di secrezione maggiore rispetto a quella endovenosa, comportamento osservato anche nell'insulina. Altri fattori che stimolano il glucagone sono il digiuno e l'esercizio fisico. Mentre tra i fattori inibitori ricordiamo l'iperglicemia e gli acidi grassi.

1.3 SOMATOSTATINA e POLIPEPTIDE PANCREATICO

Altri due ormoni che prendono parte alla regolazione metabolica sono la somatostatina e il polipeptide pancreatico (PP).

La **somatostatina** si trova nell'intestino, nel pancreas e nello stomaco, è un ormone in grado di inibire il fattore della crescita, la liberazione di insulina, di glucagone e di polipeptide pancreatico, oltre che interdire la contrattilità del muscolo liscio intestinale e può anche agire da neurotrasmettitore.

Il **polipeptide pancreatico** (PP) è prodotto principalmente dalle isole pancreatiche e localizzato nella testa del pancreas, l'aumento di secrezione del PP è causata dall'ipoglicemia e dall'ingerimento di cibo. Il suo recettore è il Y4 e nell'uomo si trova espresso nello stomaco, intestino, pancreas, sistema nervoso, nella prostata e nel colon. Se il PP si riduce, aumenta il tempo di digestione in quanto diminuisce l'acidità gastrica.

1.4 ALTERAZIONI DEL METABOLISMO DEL GLUCOSIO: DIABETE MELLITO

Con questo termine si indica un insieme di disturbi del metabolismo caratterizzati da iperglicemia. Quest'ultima può avere molteplici cause come l'elevata produzione di glucosio o il suo scarso utilizzo o la ridotta secrezione di insulina. Si distinguono due tipi di diabete, il diabete di tipo 1 e il diabete di tipo 2.

Il diabete **tipo 1** è di origine autoimmune ed è la conseguenza di una rapida distruzione delle cellule β del pancreas che sono le responsabili del deficit di insulina. Esso compare con maggiore frequenza in soggetti giovani, bambini, adolescenti, ragazzi e difficilmente si sviluppa dopo i 40 anni, ad eccezione della variante LADA che ha uno sviluppo più lento, con caratteri simili al diabete di tipo 2 e si sviluppa in soggetti di età più avanzata.

Il diabete **tipo 2** comprende un gruppo più ampio di disturbi, caratterizzati dall'aumentata produzione di glucosio, dalla ridotta secrezione di insulina o dalla resistenza di azione dell'insulina. Spesso le cause si identificano nelle alterazioni genetiche che interagiscono con i fattori ambientali. Questo tipo di diabete si sviluppa, nell'arco di molti anni e compare soprattutto dopo i 40 anni ma l'età di insorgenza si sta abbassando per la maggiore diffusione dell'obesità anche fra i più giovani.

Si possono identificare altri tipi di diabete, come quello **gestazionale** che compare durante la gravidanza e in genere scompare dopo il parto. Le donne che hanno avuto diabete gestazionale sono a rischio di svilupparlo nelle gravidanze successive e di contrarre diabete tipo 2 durante la vita.

Il diabete **monogenico** è una varietà in cui esiste un difetto genetico singolo capace di determinare iperglicemia. È un diabete che si trasmette da una generazione all'altra (ne sono affetti un nonno, un genitore e un figlio). In questa categoria rientrano anche il rarissimo diabete neonatale e altre varianti altrettanto rare.

Alcuni dati epidemiologici: Il diabete è una malattia molto comune. In Italia circa 3 milioni di persone hanno avuto una diagnosi di diabete e si stima che un altro milione e mezzo abbia la malattia senza saperlo. ⁶

2. Valutazione del controllo glicemico

2.1 CONTROLLO GLICEMICO

E' oramai nota l'importanza del controllo glicemico nel ritardare l'insorgenza e ridurre l'incidenza delle complicanze sia a breve che a lungo termine del diabete, come avviene per l'ipoglicemia o per la variabilità glicemica. Il controllo glicemico richiede un monitoraggio frequente dei livelli di glucosio nel sangue, un'attenzione alla dieta, all'esercizio fisico e l'uso di farmaci, portando ad aggiustamenti della terapia basati sui dati per mantenere livelli di glucosio ottimali. Il mancato raggiungimento del controllo glicemico è spesso il risultato di un'assenza di educazione del paziente su come monitorare i livelli di glucosio nel sangue e sull'importanza dell'accuratezza nel farlo.¹⁷

2.2 IPOGLICEMIA

Con ipoglicemia si intende la presenza di bassi valori di glicemia nel sangue, può essere distinta in forme che si manifestano a digiuno e in forme reattive. I sintomi possono derivare dall'attivazione del sistema nervoso adrenergico per ripristinare i corretti livelli di glicemia o dal sistema nervoso centrale che limita la quantità di glucosio.

In soggetti sani i livelli di glicemia dopo 8 ore di digiuno oscillano tra 70 e 100 mg/dl, quando la glicemia scenda al disotto di 70 mg/dl, fino a 55 mg/dl si parla di ipoglicemia e le cellule dell'organismo non sono in grado di produrre energia per svolgere le loro funzioni. A digiuno vi è equilibrio tra glucosio prodotto e quello utilizzato. Nel caso di digiuno prolungato la glicemia diminuisce di 25-20 mg/dl per poi ristabilizzarsi e diminuiscono anche i valori dell'insulina. Un ruolo fondamentale lo svolge l'ipotalamo con i glicorecettori che inducono un aumento di ormoni contro-regolatori, come il glucagone o l'adrenalina che agisce a livello muscolare.⁶ L'ipoglicemia è comunemente associata alla malattia diabetica, raramente, si manifesta anche in persone non diabetiche e, in questi casi, può essere dovuta a una dieta non equilibrata, a consumo di alcolici o ad alcune malattie, come il morbo di Addison.⁵

2.3 VARIABILITÀ GLICEMICA

La variabilità glicemica GV, è un parametro utilizzato per valutare la qualità del controllo glicemico¹¹. Rappresenta un fattore di rischio per soggetti con alterata regolazione glicemica, come avviene per i pazienti con IFG (alterata glicemia a digiuno) e IGT (ridotta tolleranza al glucosio) e per i pazienti diabetici in generale, nonostante un certo grado di variabilità glicemica sia presente anche in soggetti normo - tolleranti.^{7,8} La variabilità glicemica è utilizzata anche come marker dell'instabilità metabolica di una persona, espresso come frequenti escursioni di glucosio alto e basso.⁸

Un importante passo avanti nella gestione del paziente diabetico è stato compiuto tra il 1970 e il 1980 con l'introduzione di due test:

1. SMBG
2. HbA1c

L' **SMBG**, è la misurazione della glicemia su sangue capillare mediante strumenti portatili effettuata dagli stessi pazienti. Essa può determinare un miglioramento nel controllo glicemico, nel breve e nel lungo periodo, sia nei pazienti diabetici di tipo 1 che in quelli di tipo 2.

L' **HbA1c** è un test per la misurazione a lungo termine dell'emoglobina glicata (o glicosilata), prodotta quando il glucosio nel sangue si lega con l'emoglobina. Per molto tempo questo test è stato utilizzato come marker principale del controllo glicemico a medio e lungo termine e rimane tutt'ora un indice accettato come marker standard per il controllo glicemico medio e proposto come criterio diagnostico per il diabete.⁸

L'HbA1c riflette l'esposizione glicemica globale, è quindi proporzionale al valore medio della glicemia nei 120 giorni precedenti (che corrispondono alla vita media dei globuli rossi), ma non lo fa in maniera equa. L'HbA1c infatti, esprime principalmente il grado di controllo glicemico del periodo di tempo più recente. Circa il 50% dell'HbA1c è influenzato dai livelli glicemici del mese precedente alla determinazione, il 25% nei 30-60 giorni prima e il 25% negli ultimi 60-120 giorni prima della misurazione. Quindi un valore di HbA1c può essere espressione sia di livelli di glicemia vicini ai valori medi, sia di ampie oscillazioni glicemiche attorno alla media, nella stessa giornata o in giornate diverse.⁹

2.4 MONITORAGGIO CONTINUO DEL GLUCOSIO, CGM.

Si può attuare un monitoraggio continuo dei valori glicemici nonostante la procedura sia ancora da perfezionare, sia dal punto di vista pratico che di precisione dei valori. Pertanto ad oggi è utilizzata soprattutto per monitorare da vicino situazioni particolari e comunque per brevi periodi di tempo.⁹ Nel febbraio 2017, il Congresso Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (ATTD) ha convocato un gruppo internazionale di medici, ricercatori e individui con diabete per affrontare il problema dell'utilizzo dei dati CGM per quantificare gli esiti glicemici, inclusa la GV. Il consenso dell'ATTD ha riconosciuto che la misurazione dell'HbA1c è stata il metodo tradizionale per valutare il controllo glicemico. Tuttavia, non riflette le escursioni glicemiche intra e inter-giornaliere che possono portare ad eventi acuti (come l'ipoglicemia o all'iperglicemia postprandiale), con complicanze sia micro - vascolari che macro - vascolari.

I sistemi **CGM** misurano le concentrazioni di glucosio nel liquido interstiziale. La misurazione può avvenire in **“tempo reale”** fornendo le informazioni direttamente all'utente che può visualizzare i livelli glicemici assoluti in ogni istante, sono presenti frecce di tendenza e sono dotati di sistemi di notifiche o allarme nel caso in cui il livello glicemico sia al di sopra o al di sotto di un limite prestabilito. Esiste anche una versione chiamata CGM "professionale" che acquisisce ma non visualizza le letture glicemiche. Esse vengono quindi scaricate su un computer per la visualizzazione e l'analisi retrospettiva da parte dell'operatore sanitario (tipicamente insieme all'utente). La tecnologia CGM incorpora un sensore elettrochimico inserito per via sottocutanea, che trasduce la concentrazione di glucosio in corrente e per mezzo di un trasmettitore collegato, invia il segnale ad un ricevitore esterno che conserva e scarica i dati.¹⁰ Nel caso di CGM in tempo reale, è presente anche un'unità di visualizzazione (che può essere un'unità autonoma o essere integrata in una pompa per insulina). Il successo dell'uso del CGM dipende dall'aderenza e dal tempo in cui viene utilizzato. Maggiore è il tempo in cui si indossa il dispositivo, in genere migliore è l'emoglobina glicata. Il CGM non può considerarsi pienamente un sostituto del SMBG, perché quest'ultimo è ancora necessario per la calibrazione del dispositivo CGM. Alcuni dispositivi CGM in tempo reale richiedono l'SMBG per confermare le misurazioni interstiziali prima di apportare modifiche terapeutiche o trattare una sospetta ipoglicemia; mentre altri dispositivi richiedono l'SMBG solo se gli avvisi e le letture del glucosio non corrispondono ai sintomi.

L'altra modalità di monitoraggio del glucosio è quella **istantanea**, o monitoraggio flash del glucosio. L'**FGM** misura la concentrazione di glucosio nel liquido interstiziale come il CGM, ma

richiede la calibrazione della glicemia capillare (con dispositivo SMBG). Inoltre i livelli di glicemia non vengono visualizzati continuamente su un dispositivo di monitoraggio, ma solo quando il sensore viene rilevato con un dispositivo di lettura su richiesta. Il lettore di FGM visualizza anche un profilo grafico delle ultime 8 ore, derivato dall'interpolazione delle concentrazioni di glucosio registrate ogni 15 minuti. Pertanto, quando la persona con diabete esegue almeno 3 scansioni del sensore al giorno in intervalli di 8 ore, l'FGM registra i profili glicemici di 24 ore. Il sensore può essere indossato ininterrottamente per un massimo di 14 giorni. Il dispositivo non fornisce allarmi se i livelli di glucosio sono troppo alti o troppo bassi.¹³ Il CGM, sia in tempo reale che visualizzato ad intermittenza, affronta molte delle limitazioni inerenti al test dell'HbA1c e all'automonitoraggio della glicemia.

L'enfasi specifica posta sui tempi negli intervalli glicemici ha riaffermato l'idea che la fluttuazione glicemica è un processo nel tempo, che ha due dimensioni principali: l'ampiezza associata all'entità degli estremi della glicemia e il tempo, che identifica la velocità di progressione dell'evento. Il consenso ATTD ha riconosciuto che, utilizzando il CGM, è ora possibile valutare entrambe queste dimensioni in tempo reale e retrospettivamente.⁸

2.5 METRICHE PER LA VALUTAZIONE DELLA VARIABILITÀ GLICEMICA

Negli anni sono state proposte diverse metriche per la misurazione della variabilità glicemica, anche se non esiste ancora una vera e propria standardizzazione, né in ricerca né in ambito clinico.⁷ Di seguito sono riportati e descritti alcuni tra gli indici maggiormente utilizzati per descrivere le fluttuazioni glicemiche.

2.5.1 Definizione delle metriche per la GV

La **SD** è la deviazione standard, ovvero la dispersione del dato intorno alla media glicemica, in vari momenti del giorno per diversi giorni. Conoscere la deviazione standard è utile per ottenere indicazioni sul deficit d'insulina, sulla somministrazione ritardata di essa al momento del pasto (o la mancata somministrazione), sugli errori nella somministrazione dell'insulina basale. Quando si utilizza la SD per valutare il controllo glicemico è importante considerare che sono necessari numerosi dati, occorrono almeno 5 rilevazioni, meglio 10, per periodo di tempo e bisogna tener conto anche del livello medio di glucosio. Quando quest'ultimo si è stabilizzato, si è in grado di

definire un target per la SD. Un possibile target di variabilità glicemica, suggerito da Irl Hirsch²¹, è il seguente (1):

$$\text{glicemia media} > 2 * SD \quad (1)$$

Per esempio, se la glicemia media del paziente è 150 mg/dl, il target dovrebbe essere $SD < 75$. Il target ideale dovrebbe essere (2):

$$\text{glicemia media} > 3 * SD \quad (2)$$

Ma è un risultato difficile da raggiungere nei pazienti affetti da diabete mellito di tipo 1.⁹ Per definire una metrica delle escursioni glicemiche è bene iniziare da soggetti sani, sebbene la SD sembrava non essere adatta, in realtà è stata la sola a percepire tutte le escursioni glicemiche nei soggetti sani nelle 24 ore di studio (nei soggetti sani esse avvengono solo dopo i pasti, invece nei malati ci sono più variabili da considerare). La SD però è una metrica variabile da soggetto a soggetto e varia anche l'ampiezza delle escursioni di glucosio. Si è preso come standard che l'escursione glicemica deve raggiungere almeno il valore di 1 SD nelle 24 ore e se la registrazione le supera, si includono le escursioni delle SD separate dalle 24 ore (ad oggi per tale approssimazione non sono stati riscontrati problemi). Uno svantaggio della deviazione standard è che allo stesso valore, coincidono potenziali di curve glicemiche differenti, manca dunque una distribuzione normale.¹² Potrebbe essere utile avere un indice (3) che combini l'HbA1c con la variabilità glicemica.

$$(HbA1c * SD)/100 \quad (3)$$

Maggiore è questo numero e più alto sarà il rischio di complicanze. Servirebbe però un indice che combini l'impatto dell'HbA1c e della variabilità glicemica, per migliorare la nostra capacità di stratificare i pazienti per il loro rischio di sviluppare complicanze.⁹

Il **MAGE**, acronimo di Mean amplitude of glyceimic excursions, è la media delle escursioni glicemiche giornaliere che eccedono la SD misurata nelle 24 ore, può essere definito anche come l'ampiezza media delle escursioni glicemiche, che per definizione è "privo di componente temporale". Dunque si concentra esclusivamente sull'intervallo della glicemia da minimo a massimo, indipendentemente dal tempo che la glicemia impiega per passare da un estremo all'altro.

Una metrica che ha dimostrato di essere una misura nictemerale durevole del comportamento glicemico è l'**M – value** (4). È definito come la media della trasformazione logaritmica della deviazione, da un valore di riferimento di sei misurazioni della glicemia (BS), effettuate in un periodo di 24 ore, più un fattore di correzione dell'ampiezza.

$$M - value = \frac{\sum}{N} \left| M \frac{BS}{BS} \right| + \frac{W}{20} \quad \text{dove } M \frac{BS}{BS} = \left| 10 \log\left(\frac{PG}{120}\right) \right|^3 \quad (4)$$

Il fattore di correzione rappresenta la differenza tra i valori BS massimo e minimo per il periodo di 24 ore diviso per 20 (W/20). Nella formula precedente, PG è il glucosio plasmatico. Quando si ottengono 25 o più valori di glucosio in un periodo di 24 ore, il fattore di correzione dell'ampiezza può essere eliminato. La formula dà maggiore enfasi all'ipoglicemia rispetto all'iperglicemia. Sfortunatamente, il valore M è un indicatore ibrido, sia della variabilità del glucosio che della glicemia media.

Tre parametri basati sull'analisi di valori glicemici sequenziali sono stati proposti come misure della variabilità glicemica, sono la **MAD**, ovvero la differenza media assoluta dei valori glicemici consecutivi, deriva da dati glicemici auto-monitorati eseguiti cinque volte ogni 24 ore. È stato riconosciuto dagli stessi autori che la MAD non ci aggiunge informazioni rispetto alla SD per la variabilità glicemica. La **MAG** o glicemia assoluta media è la somma delle differenze tra i profili glicemici sequenziali a 7 punti automisurati per 24 h, diviso per il tempo in ore tra la prima e l'ultima misurazione glicemica. Una limitazione della MAG è che due escursioni di estensione identica ma di durata diversa, hanno valori diversi. Il **CONGA n** o indice di azione glicemica netta globale continua, è stato concepito per il monitoraggio continuo della glicemia interstiziale. L'analisi richiede un tracciato completo, cioè 288 valori per 24 h. Per ogni dato glicemico dopo le prime *n* ore di osservazione si determina la differenza tra il glucosio attuale e il glucosio nelle *n* ore precedenti. *n* può variare da 1 a 8 h. Ad esempio, per *n* = 1 e un periodo di monitoraggio di 24 ore a partire dalle 08.00, i calcoli inizierebbero come segue: glicemia alle 09.00 meno glicemia alle 08.00; BG alle 09.05 meno BG alle 08.05; BG alle 09.10 meno BG alle 08.10 e così via fino a BG 08.00 (il giorno successivo) meno BG alle 07.00. Il periodo di analisi è 24 h meno *n*. CONGA è espresso come DS delle differenze nonostante la loro mancanza di distribuzione normale. Per nessuno di questi parametri, **MAD**, **MAG** e **CONGA n**, è stata promulgata una motivazione a sostegno del suo utilizzo. Poiché ciascuno di essi si basava su esami

di tracciati di pazienti con diabete piuttosto che su soggetti normali, è difficile attribuire loro una rilevanza biologica. Affidarsi esclusivamente a manipolazioni matematiche può essere fuorviante.

In uno studio trasversale su pazienti diabetici di tipo 1 e di tipo 2 è stata trovata un'associazione tra fattori di rischio cardiovascolare e misure di glicemia media (media glicemia e HbA), ma non con misure di variabilità glicemica (MAGE, CONGA 4 e incremento glicemico postprandiale).

L'**AUC** è un indice che rappresenta l'area sottostante la curva, è calcolato utilizzando la formula seguente (5).

$$(dt0/60) * ((gl[2:length(gl)] + gl[1:(length(gl) - 1)])/2) \quad (5)$$

Dove $dt0/60$ è la frequenza delle misurazioni CGM in ore e gl sono i valori di glucosio. Questa formula si basa sulla regola trapezoidale (6):

$$(\text{tempo}[2] - \text{tempo}[1]) * ((\text{glucosio}[1] + \text{glucosio}[2])/2) \quad (6)$$

L'AUC viene calcolato per ogni ora utilizzando la regola sovrastante, quindi l'AUC medio orario viene calcolato per ogni periodo di 24 ore.¹⁴

Un trio di metriche non trascurabile è composto da: **TAR**, **TIR** e **TBR**. Tutte e tre le metriche fanno riferimento ad una soglia. Il **TAR**, time above range, indica il tempo trascorso al di sopra di una soglia, generalmente quella considerata è 180 mg/dl, ma può essere anche 140 o 250 mg/dl.¹⁴ Il **TIR**, time in range, indica il tempo trascorso all'interno di un intervallo, l'intervallo predefinito è 70-180 mg/dl, oppure 63-140 mg/dl, il primo intervallo è raccomandato per valutare il controllo glicemico per i soggetti con diabete di tipo 1 o di tipo 2 e il secondo è raccomandato per la valutazione del controllo glicemico durante la gravidanza.¹⁴ Il **TBR**, time below range, è il tempo trascorso dal segnale al di sotto della soglia, quella predefinita è 70 mg/dl, ma può essere abbassata fino a 55 mg/dl.¹⁴

Il **CV** è il coefficiente di variazione, ovvero il Rapporto tra la deviazione standard e la media dei valori glicemici in percentuale, si ottiene dalla formula seguente (7).

$$CV = 100 * sd(BG)/media(BG) \quad (7)$$

Dove BG è l'elenco di tutte le misurazioni della glicemia per un soggetto.

Un confronto mediante rappresentazione grafica di alcune metriche come la SD, il MAGE, il TIR, il TAR e il TBR, in relazione all'ampiezza e al tempo è riportato nella figura 7.

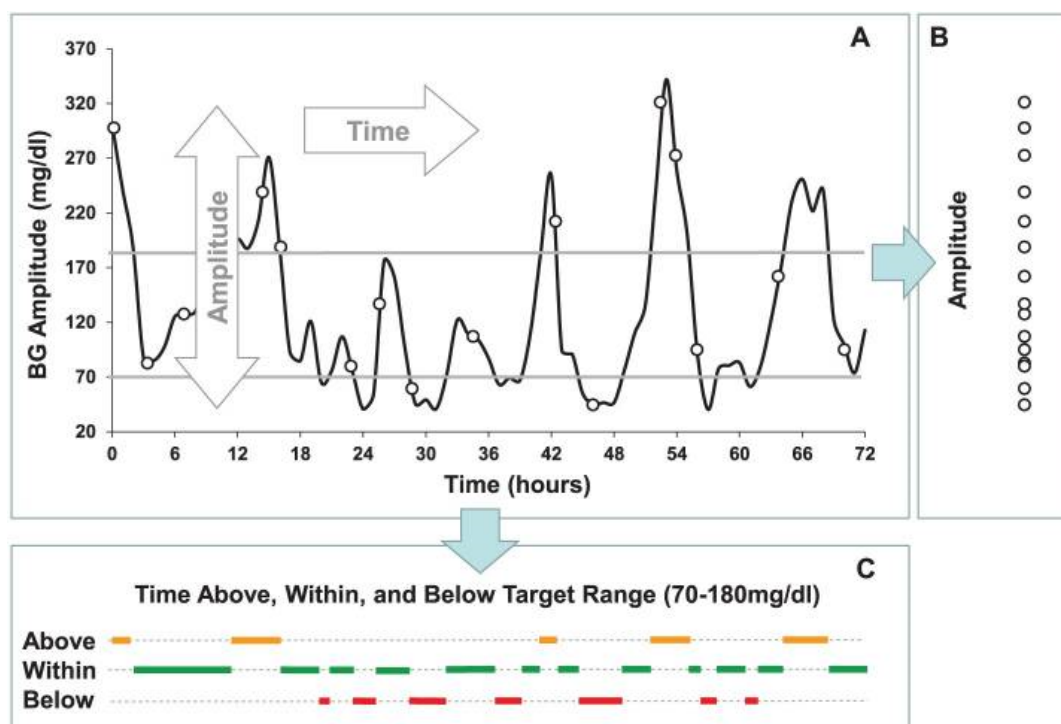


Fig. 7 Principali componenti della variabilità glicemica. Le fluttuazioni del glucosio rappresentate in ampiezza e in tempo. Proiettato lungo il suo asse di ampiezza, questo processo è misurato da metriche come SD o MAGE (pannello B). Proiettato lungo il suo asse temporale, questo processo è valutato da caratteristiche temporali, come il tempo all'interno dell'intervallo target e il tempo trascorso in ipo o iperglicemia (pannello C).⁸

La necessità di introdurre delle metriche basate sul rischio fu dovuta all'asimmetria della scala di misurazione della glicemia, infatti l'intervallo ipoglicemico (inferiore a 70 mg/dl) è molto più ristretto rispetto all'intervallo iperglicemico ($BG > 180$ mg/dl). Ad esempio un'escursione glicemica da 180 a 240 mg/dl è numericamente molto maggiore di un'escursione glicemica da 70 a 50 mg/dl, ma quest'ultima comporta un rischio imminente molto maggiore per il paziente. Si è risolto il problema dell'asimmetria attraverso una trasformazione di scala con forma e parametri analitici, introducendo indici come LBGI, HBGI e ADRR.

LBGI (indice di ipoglicemia), progettato per quantificare la GV, risulta sensibile alla frequenza e all'entità delle escursioni ipoglicemiche. Viene calcolato sommando i rischi ipoglicemici giornalieri e dividendo per il numero totale dei giorni considerati. L'**HBGI** (indice iperglicemia), progettato per essere sensibile alla frequenza e all'entità dell'iperglicemia, viene calcolato sommando i rischi

iperglicemici giornalieri e dividendo per il numero totale dei giorni considerati, è ortogonale all'LBGI. Infine L'ADRR rappresenta l'intervallo di rischio medio giornaliero, è calcolato utilizzando i dati di SMBG di 14-30 giorni, con una frequenza di almeno 3 misurazioni al giorno. Non è necessario che i giorni siano consecutivi, è sufficiente effettuare almeno tre misurazioni per 14 giorni nell'arco di un mese.⁸ Questo indice presenta molteplici vantaggi, è predittivo di eventi di ipoglicemia, iperglicemia e della variabilità glicemica in egual maniera nei pazienti affetti da diabete di tipo 1 e 2, è possibile definire delle categorie ben definite (ad esempio categorie di rischio), i dati vengono acquisiti direttamente dall'automonitoraggio abituale dei pazienti e il calcolo dell'indice può essere facilmente elaborato da software o dai dispositivi stessi. L'ADRR potrebbe apportare semplificazioni nella raccolta di informazioni cliniche ed essere un miglioramento nel controllo glicemico. Nelle formule (8), (9), (10) è riportato il calcolo dell'ADRR e nella tabella 1 si rappresenta una classificazione del rischio secondo i tre indici appena descritti.

$$ADRR = \frac{1}{M} \sum_{[M]} [LR^i + HR^i] \quad (8)$$

$$i = 1, 2, \dots M$$

$$LR^i = \max [rl(X_1^i) \dots, rl(X_n^i)] \quad (9)$$

$$HR^i = \max [rh(X_1^i) \dots, rh(X_n^i)] \quad (10)$$

rl = rischio ipoglicemia

rh = rischio di ipoglicemia

Tab. 1 stratificazione delle categorie di rischio in relazione ai tre indici.⁹

Categorie di rischio	LBGI	HGBI	ADRR
Minimo	≤ 1,1	≤ 5	≤ 10
Basso	1,1 – 2,5	5 – 10	10 - 20
Moderato	2,5 – 5	10 – 15	20 - 40
Alto	> 5	> 10	> 40

2.5.2 Classificazione delle metriche in relazione agli intervalli temporali per il calcolo

Si è proceduto a fornire una classificazione delle metriche in relazione all'intervallo temporale in cui è possibile effettuare il calcolo. La classificazione è mostrata in Tabella 2.

Tab. 2 Metriche della variabilità glicemica in funzione dell'intervallo temporale, il giallo rappresenta le metriche applicabili nel breve periodo, ovvero entro le 24 ore, in verde le metriche applicabili nel lungo periodo, ovvero oltre le 24 ore, in blu quelle applicabili in entrambi i periodi, in bianco le metriche che non sono state classificate. Una colonna apposita indica la dipendenza delle metriche dal tempo.

TABELLA INDICI VARIABILITA' GLICEMICA						
INDICI	SIGNIFICATO	BREVE PERIODO	LUNGO PERIODO	ENTRAMBI	TEMPO DIPENDENTE	
1	AUC	Area Under the Curve - Area sottostante la curva. Calcolata ogni ora con la regola trapezoidale. La media dell' AUC nell'intero periodo di 24 ore è restituita come totale.				x
2	ADRR	Average Daily Risk Range - Indice di rischio giornaliero medio. Media della somma dei valori glicemici più alti e più bassi per ogni giorno.				x
3	CV	Coefficient of Variation - Coefficiente di variazione. Rapporto tra la deviazione standard e la media del glucosio in percentuale				
4	CONGA	Continuous Overall Net Glycemic Action - Indice di azione glicemica netta globale continua. Deviazione standard della differenza tra la misurazione di glicemia attuale e quella delle n ore precedenti, n è un numero intero che va da 1 a 8.				x
5	COGI	Continuous Glucose Monitoring Index - Indice di monitoraggio continuo del glucosio. Indice composito per lo studio della variabilità glicemica.				
6	eA1c	Estimated glycated hemoglobin - Stima dell'emoglobina glicosilata.				
7	Fasting Proxy	Fasting Proxy. Misura dei livelli di glucosio a digiuno calcolata come media dei sei valori di glucosio consecutivi più bassi che si verificano durante la notte.				
8	GMI	Glucose Management Indicator - Indicatore di gestione del glucosio. Metrica che approssima l'emoglobina glicata.				
9	GVP	Glucose Variability Percentage - Percentuale di variabilità del glucosio. Lunghezza del tracciato di glucosio.				x
10	GRADE	Glycemic Risk Assessment Diabetes Equation - Equazione dell'analisi diabetica del rischio glicemico. Indice per la valutazione del rischio ipoglicemico e iperglicemico.				
11	HBGI	High Blood Glucose Index - Valore di rischio di iperglicemia.				
12	Hyper index	Hyperglycemia Index - Indice di iperglicemia. Media ponderata del valore iperglicemico.				
13	Hypo index	Hypoglycemia Index - Indice di ipoglicemia. Media ponderata del valore ipoglicemico.				
14	IGC	Index of Glycemic Control - Indice di controllo glicemico. Somma degli indici di ipoglicemia e iperglicemia.				
15	IQR	Interquartile Range - Intervallo interquartile. Distanza tra il 25esimo e il 75esimo percentile di valori di glucosio.				?
16	J-index	Metrica composita basata sulla media e sulla deviazione standard dei valori di glucosio.				?
17	LBGI	Low Blood Glucose Index - Valore di rischio di ipoglicemia.				
18	MAG	Mean Absolute Glucose - Differenza media assoluta dei valori glicemici. Somma della variazione dei valori di glucosio in 1 ora, diviso per il tempo in ore.				x
19	MAD	Mean Absolute Deviation - Deviazione Assoluta Media. Denota la variabilità complessiva dei valori di glucosio e considera i punti temporali come valori non ordinati. È una misura di dispersione.				
20	MAGE	Mean Amplitude of Glycemic Excursions - Ampiezza media dell'escursione glicemica. Media assoluta della differenza tra ogni valore di glucosio e la media che eccede la deviazione standard.				

TABELLA INDICI VARIABILITA' GLICEMICA					
INDICI	SIGNIFICATO	BREVE PERIODO	LUNGO PERIODO	ENTRAMBI	TEMPO DIPENDENTE
21	Mean glucose level Mean of glucose values - Media dei valori glicemici.				
22	MODD Mean of Daily Difference - Media delle differenze giornaliere . Calcolata alla stessa ora del giorno.				x
23	Median glucose level Median glucose level - Mediana dei valori glicemici.				
24	M-value M-value . Calcolato come media dei valori glicemici dopo aver subito una trasformazione logaritmica.				
25	CGM Percentuale di tempo in cui il CGM è stato attivo (Percentuale Attiva) e Percentuale totale dei casi esaminati.				
26	Post-event AUC Media delle misurazioni della glicemia per 15 minutes. In genere si effettuano 1 o 2 ore dopo i pasti, dopo medicazioni o esercizio fisico.				x
27	Post-event time to peak Numero di minuti che intercorrono tra un pasto e il seguente picco glicemico.				x
28	Quantiles Quantiles - Quantili. Elenca i quantili calcolati.			?	
29	Range Range. Differenza tra il valore glicemico massimo e minimo.				
30	ROC Rate of Change - Somma della differenza tra un valore glicemico e il precedente nel relativo intervallo di tempo.				x
31	SD of ROC Standard Deviation of the Rate of Change - Deviazione standard del ROC.				x
32	SD Standard deviation - Deviazione standard della traccia di glucosio.				
33	sGVP Standardized Glycemic Variability Percentage - Percentuale di variabilità glicemica standardizzata. Lunghezza della traccia di glucosio standardizzata, che riflette il grado di ondulazione della traccia.				
34	TAR Time Above Range - Tempo al di sopra dell' intervallo. Percentuale di tempo spesa dalla traccia di glucosio sopra una determinata soglia.				x
35	TBR Time Below Range - Tempo al di sotto dell' intervallo. Percentuale di tempo spesa dalla traccia di glucosio sotto una determinata soglia.				x
36	TIR Time in Range - Tempo dentro l' intervallo. Percentuale di tempo spesa dalla traccia di glucosio in un determinato intervallo.				x

3. Materiali e metodi

3.1 DESCRIZIONE DEL DATASET

Il dataset considerato fa parte del progetto D1NAMO, il quale comprende una grande varietà di dati per ogni soggetto esaminato, quali: insulina, frequenza cardiaca, frequenza respiratoria, dati dell'accelerometro, ECG e CGM.

In tale dataset, vengono presi in considerazione nove soggetti affetti da diabete di tipo 1, i quali hanno accettato di condividere i propri dati in formato anonimo con la comunità scientifica, pertanto le loro informazioni cliniche non sono state collegate con i segnali al fine di preservare il loro anonimato. I dati antropometrici dei soggetti considerati sono riportati in tabella 3.

Tab. 3 Dati antropometrici di ciascun paziente rappresentati in maniera cumulata.

Età	Genere	Altezza	Peso
NA	Uomo	180–189	80–89
20–29	Uomo	170–179	60–69
20–29	Uomo	180–189	70–79
20–29	Uomo	180–189	80–89
30–39	Uomo	180–189	80–89
30–39	Uomo	190–199	70–79
30–39	Donna	160–169	70–79
60–69	Donna	150–159	50–59
70–79	Donna	160–169	50–59

I pazienti sono stati reclutati durante le visite cliniche di routine presso l'ambulatorio per il diabete di Hopital Riviera-Chablais, Vevey. Ad ogni paziente sono state fornite informazioni esaurienti e dettagliate sull'acquisizione dei dati, sulla sua portata e obiettivi, sulla sua durata, sui suoi rischi e benefici e sulla sua esecuzione. I pazienti disposti a partecipare, hanno firmato un modulo di consenso. L'idoneità del paziente è stata stabilita secondo i seguenti criteri di inclusione: i pazienti devono avere una diagnosi definitiva di diabete mellito di tipo 1, eseguita presso l'ambulatorio, devono essere in grado di parlare francese e avere almeno 18 anni, devono fornire il consenso in formato scritto ed essere disposti a partecipare al follow-up, devono anche possedere le capacità cognitive per utilizzare uno smartphone. Tutta la documentazione è stata convalidata dal comitato etico del Canton Vaud in Svizzera.

Il protocollo a cui sono stati sottoposti i pazienti, prevedeva di indossare il dispositivo "BioHarness" per 4 giorni per i tracciati ECG e gli altri parametri, mentre i livelli di glucosio dei pazienti sono stati acquisiti e registrati con un sensore iPro2 Professional CGM, che effettua una misurazione del glucosio ogni 5 min [Fig. 8]. In totale sono state effettuate 8414 misurazioni dei livelli glicemici [Fig. 9].¹⁵



Fig.8 Sensore e trasduttore iPro2 professional CGM.

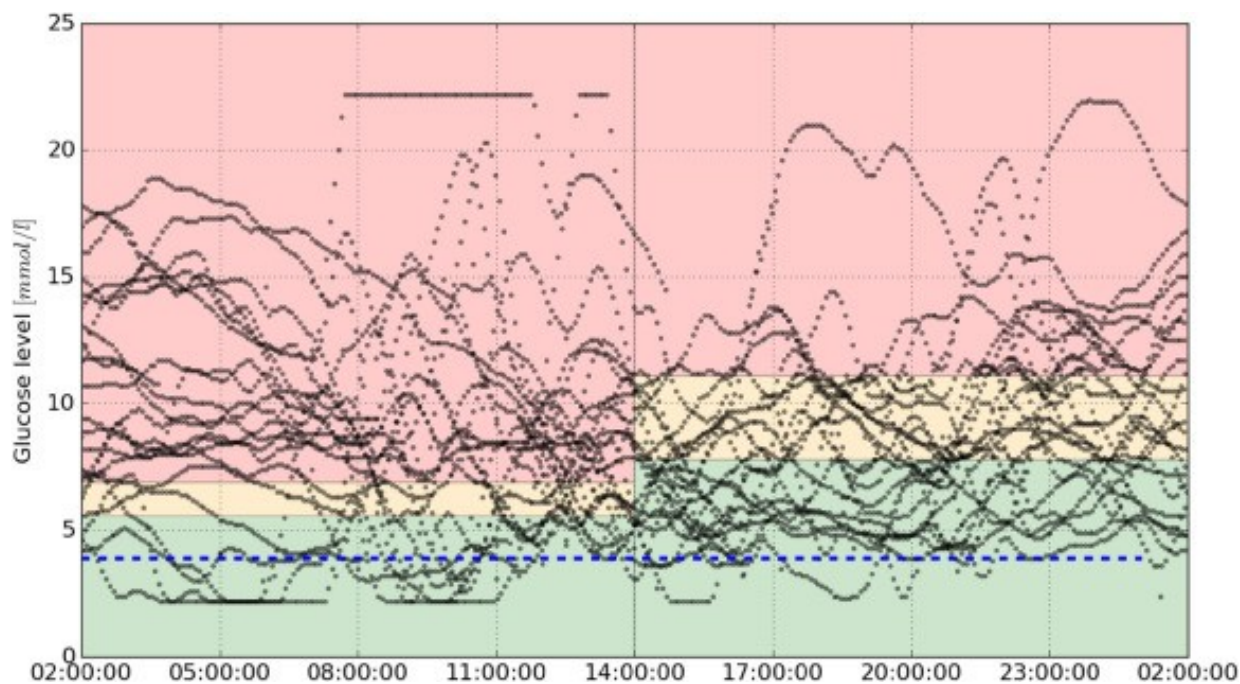


Fig.9 Misurazioni del glucosio pazienti con diabete di tipo 1, lo sfondo a metà lato sinistro corrisponde alle soglie dell'American Diabetes Association per la glicemia a digiuno, mentre lo sfondo a metà lato destro corrisponde al glucosio a 2 ore dal carico. La stessa linea tratteggiata blu di prima mostra che in questo sottoinsieme compaiono anche alcune ipoglicemie.¹⁵

I segnali registrati, analizzati visivamente, sono risultati, in alcune porzioni della giornata, corrotti da rumore e non utilizzabili, specialmente per quanto riguarda l'ECG. Pertanto per l'analisi del tracciato CGM è stato considerato dapprima il tracciato completo acquisito su una intera giornata e un tracciato a campionamento ridotto, in cui per la giornata scelta, si sono considerate solo le porzioni del tracciato CGM in cui era presente anche un segnale ECG di qualità adeguata. Per il tracciato a campionamento ridotto, per ogni intervallo temporale di ampiezza media di 5 minuti, si è prelevato il valore CGM corrispondente quando nell'intervallo era presente un solo valore, invece quando erano presenti più valori, se ne è calcolata la media matematica.

3.2 ANALISI DEI DATI

Per ogni soggetto, si è proceduto ad effettuare il calcolo delle metriche di variabilità glicemica sul segnale CGM completo registrato in una giornata di 24 ore e a confrontarlo con le metriche calcolate sul segnale CGM con campionamento ridotto.

Per l'analisi dei dati è stato utilizzato iglu, un pacchetto software implementato in R. Essendo un software open source è fornito gratuitamente da CRAN e dispone di un'interfaccia grafica user friendly. Mediante iglu sono stati calcolati i seguenti indici di variabilità glicemica: AUC, MAD, TIR, TAR, TBR, CV, SD, ADRR. Iglu funziona indipendentemente dal dispositivo CGM con il quale viene effettuata la misurazione, ma esige un formato preciso per l'importazione dei dati. Innanzitutto i file accettati sono quelli con le seguenti estensioni, *.txt, *.xls, *.xlsx, *.CSV e i dati devono essere raccolti in tre colonne, la prima denominata "Id" contenente l'identificativo del soggetto, la seconda "time" contenente data e ora nel seguente formato (AA-MM-GG hh:mm:ss) e la terza "gl" contenente il valore del glucosio in mg/dl.¹⁰

3.3 RISULTATI

I soggetti e le giornate selezionate dal database dei soli sei soggetti considerati nello studio sono riportati nella tabella 4.

Tab. 4 Soggetti e giorni dello studio

Soggetto 002	Giorno 3
Soggetto 003	Giorno 1
Soggetto 004	Giorno 1
Soggetto 006	Giorno 2
Soggetto 007	Giorno 1
Soggetto 008	Giorno 2

Nelle figure 10, 11, 12, 13, 14, 15 sono mostrati per ogni soggetto, nella relativa giornata di acquisizione, il tracciato CGM considerando la sua versione completa e la sua versione a campionamento ridotto.

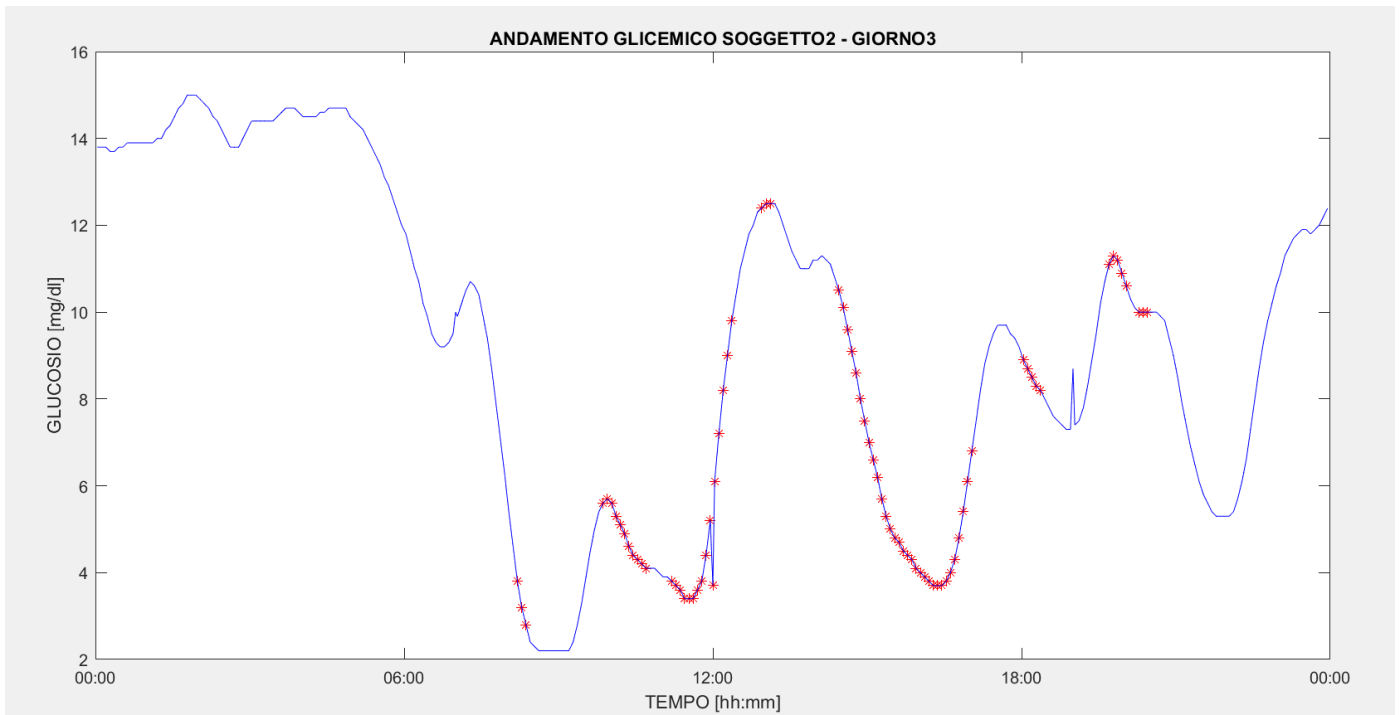


Fig. 10 Confronto del segnale del soggetto 2 nel giorno 3, tra il dataset completo (linea continua blu) e quello ridotto (* in rosso).

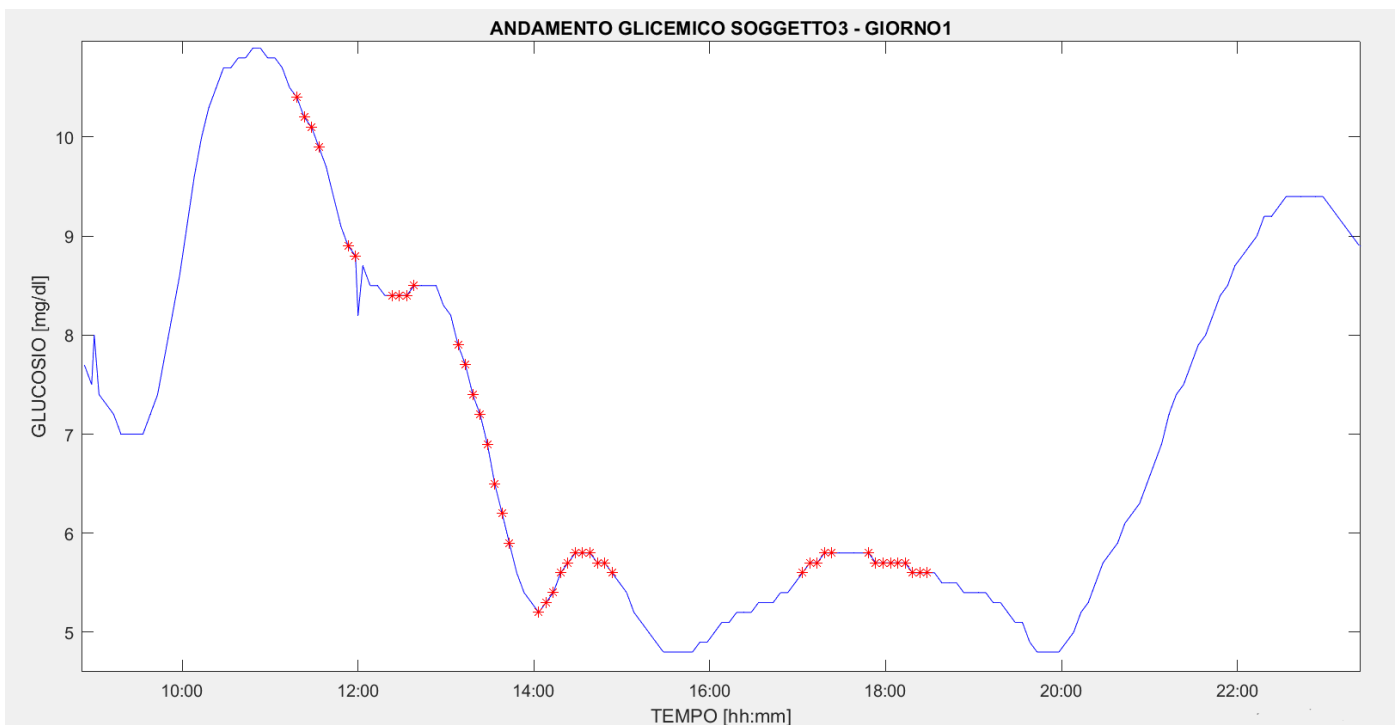


Fig. 11 Confronto del segnale del soggetto 3 nel giorno 1, tra il dataset completo (linea continua blu) e quello ridotto (* in rosso).

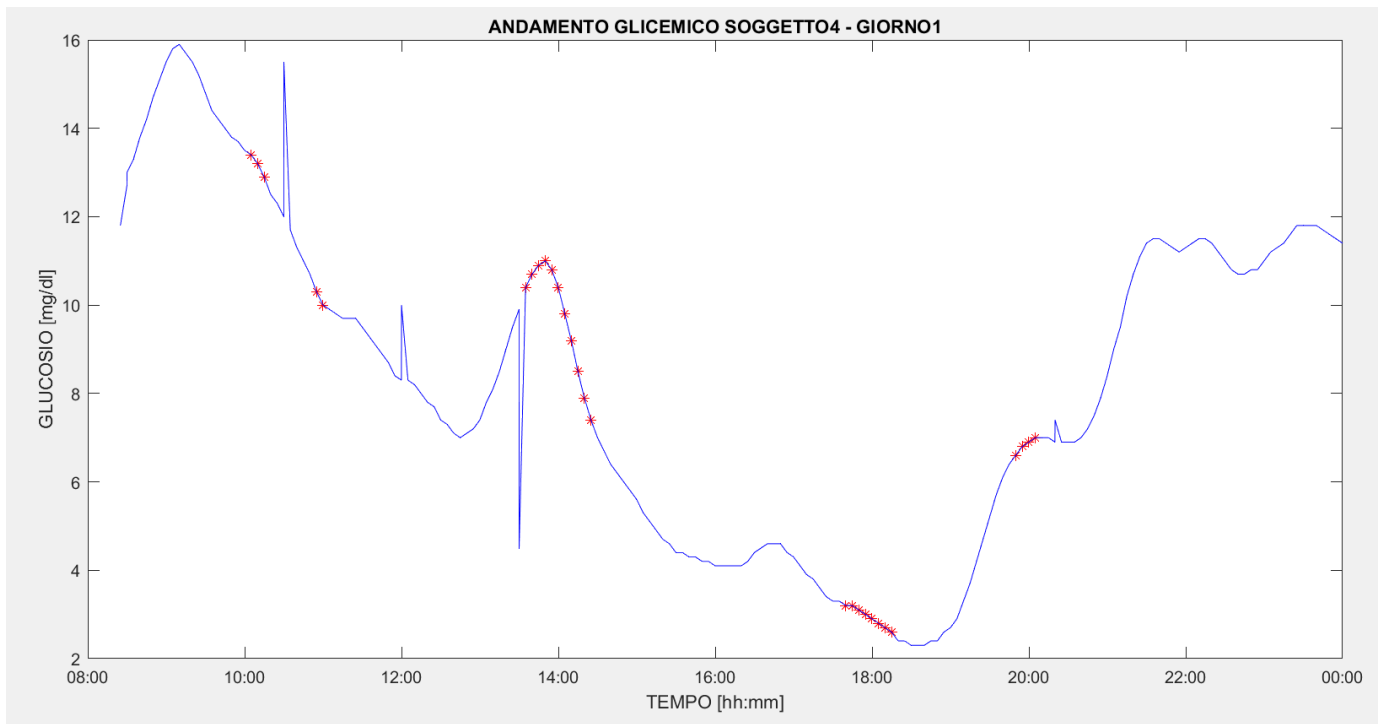


Fig. 12 Confronto del segnale del soggetto 4 nel giorno 1, tra il dataset completo (linea continua blu) e quello ridotto (* in rosso).

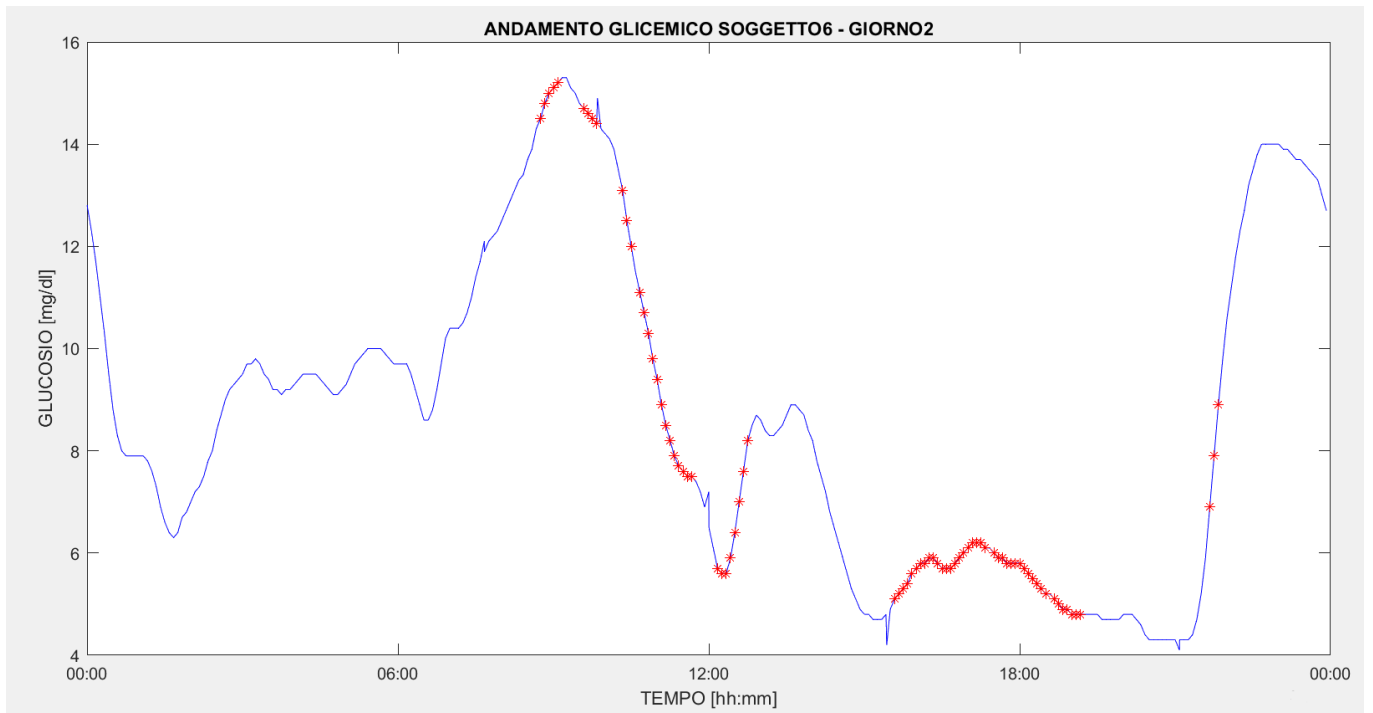


Fig. 13 Confronto del segnale del soggetto 6 nel giorno 2, tra il dataset completo (linea continua blu) e quello ridotto (* in rosso).

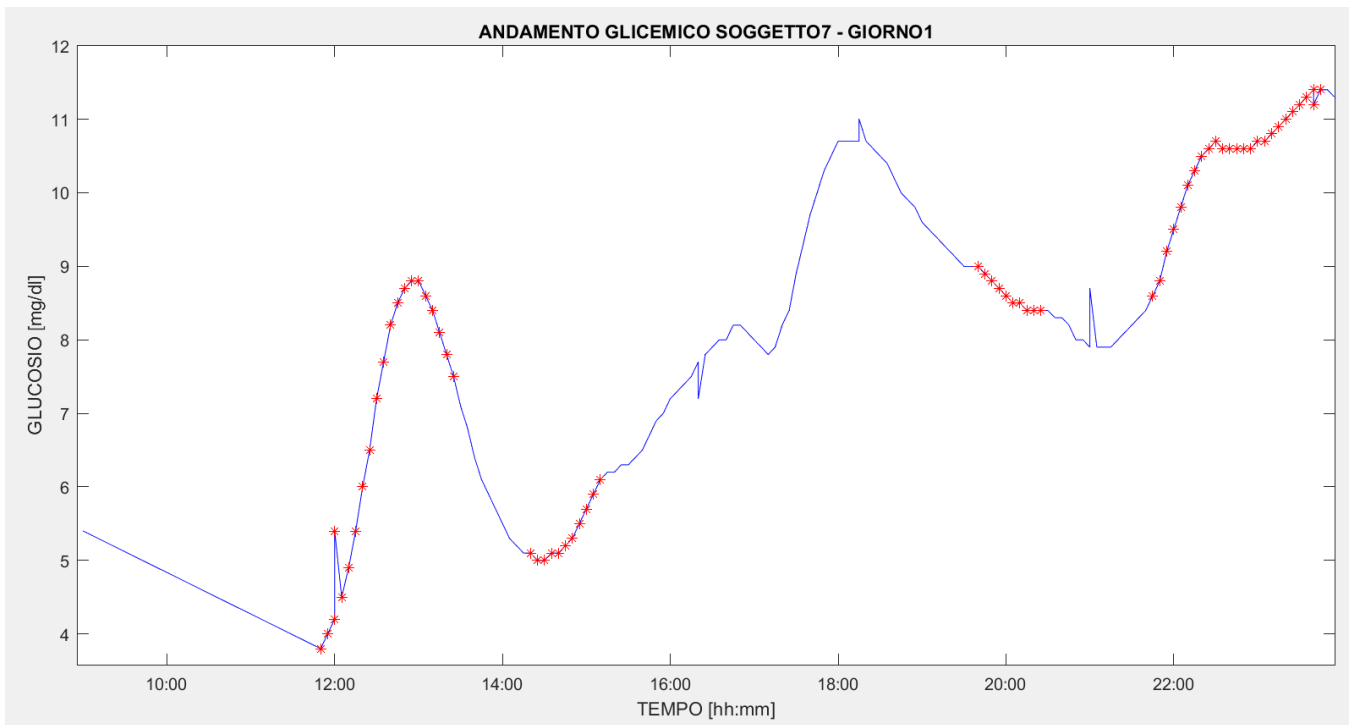


Fig. 14 Confronto del segnale del soggetto 7 nel giorno 1, tra il dataset completo (linea continua blu) e quello ridotto (* in rosso).

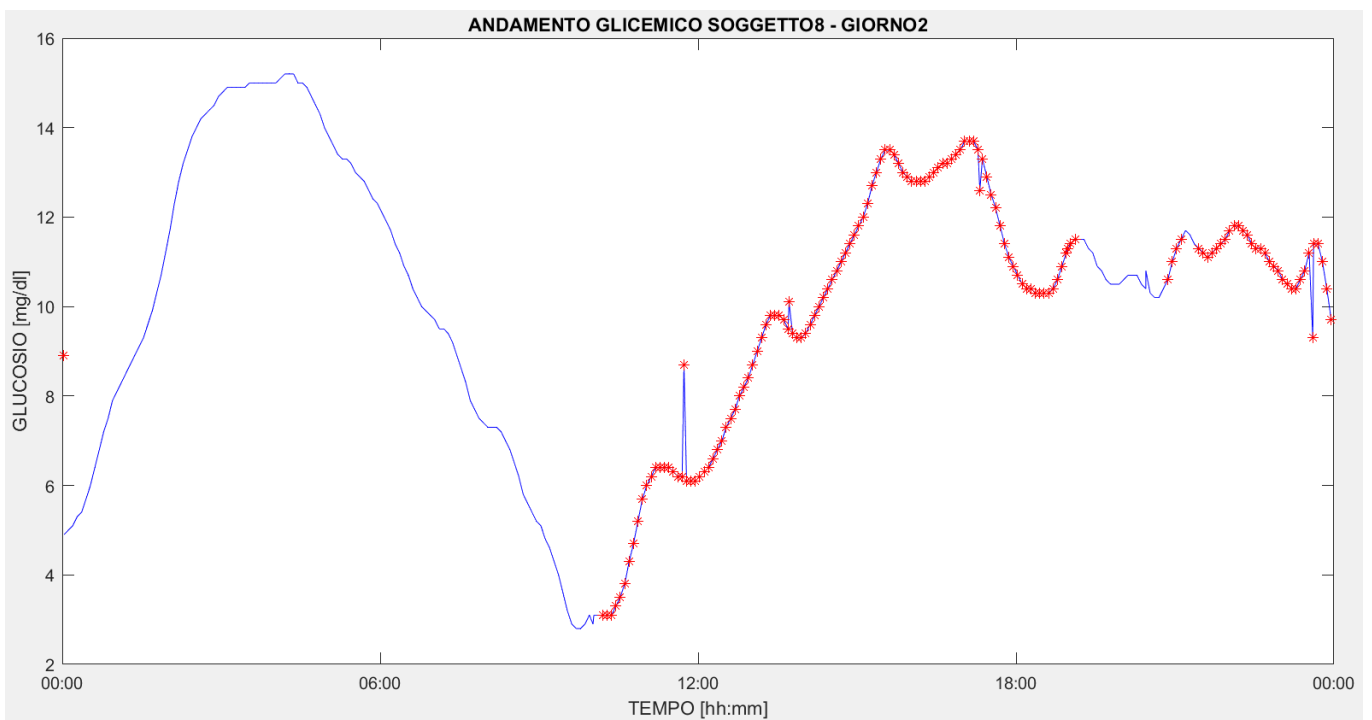


Fig. 15 Confronto del segnale del soggetto 8 nel giorno 2, tra il dataset completo (linea continua blu) e quello ridotto (* in rosso).

Nella tabella 5 e 6 si riportano i valori delle metriche calcolate per ogni soggetto, comparando i risultati dei segnali completi e quelli ridotti. Tutti i valori sono stati arrotondati all'unità.

Tab.5 Confronto degli indici di variabilità glicemica tra il dataset completo (celeste) e quello ridotto (verde).

SOGGETTI	MAD [mg/dl]		ADRR		SD		CV[%]	
	Completo	Ridotto	Completo	Ridotto	Completo	Ridotto	Completo	Ridotto
Soggetto 2	124	124	68	68	100	100	55	55
Soggetto 3	43	5	13	10	34	28	26	23
Soggetto 4	93	68	68	47	90	65	44	46
Soggetto 6	61	21	29	30	57	57	34	41
Soggetto 7	29	53	26	21	45	41	30	27
Soggetto 8	67	35	39	38	58	48	44	27

Tab. 6 Confronto degli indici di variabilità glicemica tra il dataset completo (celeste) e quello ridotto (verde).

SOGGETTI	AUC [mg/dl]		TAR[%]		TBR[%]		TIR[%]	
	Completo	Ridotto	Completo	Ridotto	Completo	Ridotto	Completo	Ridotto
Soggetto 2	184	184	49	49	15	15	36	36
Soggetto 3	128	126	8	7	0	0	92	93
Soggetto 4	202	165	58	35	6	29	36	36
Soggetto 6	170	149	38	19	1	0	61	81
Soggetto 7	150	150	16	30	0	2	84	68
Soggetto 8	130	183	21	64	16	4	63	32

3.4 DISCUSSIONE

Lo scopo di questa tesi è stato quello di analizzare l'effetto di diversi intervalli temporali che possono essere considerati per il calcolo di metriche di variabilità glicemica in soggetti affetti da diabete di tipo 1. A tal proposito si è considerato un dataset relativo a 9 pazienti sottoposti a monitoraggio continuo del glucosio ma anche a monitoraggio di alcuni altri segnali (tra cui l'elettrocardiogramma) nell'arco della normale routine giornaliera. Dopo un'analisi preliminare, volta a selezionare solo i soggetti e le giornate in cui si avessero segnali di qualità adeguata, si sono considerati 6 soggetti.

Nel soggetto 2 si è riscontrata piena corrispondenza tra gli indici calcolati con campionamento completo e con campionamento ridotto, mentre in tutti gli altri soggetti almeno un indice non corrisponde. Inoltre ci si sarebbe potuto aspettare che, avendo una disponibilità più ampia di

campioni, il risultato degli indici del dataset ridotto, sarebbe stato simile a quello del dataset completo. Ciò è stato smentito dal soggetto 8, esso è il soggetto con più campioni, nonostante ciò il valore di 6 indici su 8 differisce notevolmente. Questo ci sottolinea che un elemento importante è la distribuzione del segnale nell'intervallo considerato, nel soggetto 8 infatti non abbiamo dati sulle prime 10 ore.

Per quanto riguarda la coerenza degli indici scelti invece il risultato è stato quello previsto, gli indici che si sono dimostrati meno variabili tra i due dataset sono stati l'**ADRR**, il **CV**, la **SD**. Tale comportamento era prevedibile dalla definizione degli indici stessi, gli ultimi due sono indici puramente statistici, dunque più il campione è esteso e più sono veritieri, ma sono applicabili e affidabili anche in un campione ridotto. L'**ADRR**, come descritto nel capitolo precedente è applicabile in molte categorie, inoltre le misurazioni non debbono essere consecutive, ma possono essere effettuate con una certa elasticità.

In tutti i modi, ciascuna delle quantificazioni relative alla variabilità del glucosio ha i suoi limiti. A differenza della misura integrata del controllo glicemico a lungo termine, fornita da una singola determinazione trimestrale della variabilità glicemica di HbA1c, per natura richiede una valutazione completa della glicemia. Mentre l'analisi continua della glicemia fornisce una registrazione accurata della glicemia durante le condizioni di alimentazione ambulatoriale, ma non è stata adattata allo stato di vita libera. Sebbene non abbia tale limitazione, il monitoraggio continuo della glicemia interstiziale è ostacolato da imprecisioni variabili e imprevedibili. Il compito, quindi, di valutare un ruolo della variabilità glicemica nello sviluppo delle complicanze del diabete è irto di difficoltà. La questione potrebbe rivelarsi discutibile se l'eliminazione delle complicanze del diabete dovesse derivare dalla flessione della curva glicemica prandiale a quella dei soggetti non diabetici. Al loro posto, sarebbero appropriate metriche specifiche che caratterizzano le "features" primarie dell'escursione correlata al pasto come l'aumento del glucosio al picco, il tempo al picco e la tempestività del recupero alla glicemia basale.¹²

Inoltre l'ATTD, Advanced Technologies & Treatments for Diabetes, che ogni anno tiene conferenze sul trattamento del diabete, ha raccomandato la documentazione e l'utilizzo di 14 parametri chiave per valutare il controllo glicemico. Sono inclusi: glucosio medio, CV, tempi in diversi intervalli di glicemia (ad es. al di sotto di 70 mg/dl, 70-180 mg/dl, oltre 180 mg/dl), HbA1c stimato e rischi di ipo e iperglicemia quantificati da LBG1 e HBGI, decretando che i livelli di glucosio stabili sono definiti come CV <36% e i livelli di glucosio instabili sono definiti come CV ≥36%.

Conclusioni

In conclusione, l'analisi effettuata ha permesso di capire se fosse possibile descrivere la variabilità glicemica in intervalli di tempo eterogenei, in soggetti affetti da diabete di tipo 1 e come alcune metriche, quali la SD, il CV, l'ADRR sono maggiormente versatili, restituendo risultati molto simili, talvolta gli stessi, sia in intervalli di tempo completi che in intervalli ridotti ed a valori non contigui nel tempo. Nonostante questo però la qualità del segnale CGM su cui si va ad effettuare lo studio è importante. Dunque aver avuto un segnale nel dataset ridotto meno segmentato avrebbe potuto rendere lo studio ancora più efficace.

Nonostante ciò la variabilità glicemica presenta ancora alcune limitazioni nella valutazione delle complicanze dovuta al diabete e occorre prestare attenzione all'uso delle sue metriche, poiché si potrebbe andare a viziare l'utilità. Anche l'uso del CGM, nonostante abbia migliorato e semplificato la gestione della malattia nei soggetti diabetici, presenta alcune imprecisioni. Rimane comunque lo strumento fondamentale per affrontare il problema di ottimizzazione permanente che i soggetti diabetici devono affrontare quotidianamente, tale problema è noto anche come "compromesso tra controllo glicemico e ipoglicemia iatrogena." È opportuno mantenere uno stretto controllo glicemico, senza aumentare il rischio di ipoglicemia.

Ringraziamenti

Non è per modestia ma il primo ringraziamento va a me stessa e alla mia testardaggine che mi ha permesso ancora una volta di raggiungere ciò che mi ero prefissata.

Il secondo grazie lo debbo dire alla mia famiglia, a mamma, babbo e Ludo, i quali non ringrazio molto spesso, ma mi supportano economicamente ed hanno sopportato in ogni “pre-esame” la mia acidità.

Un grazie va a Matteo per aver accettato tutti i “No Matti questo fine settimana devo studiare”, per essermi stato accanto ed essersi preso in carico le mie ansie anche se talvolta non comprese e, alla sua famiglia per avermi valorizzato sempre.

Ringrazio tutti i miei amici per avermi incoraggiata e ricordato che ce l’avrei fatta, un grazie speciale va a Giorgia per avermi fatto da mentore e per avermi fornito gran parte delle dispense.

Grazie anche a Genna, Boe, Cecca e Roma per qualche ora di studio e appunti condivisi.

Grazie ad Annita, che ha contribuito per farmi vivere con più serenità questi anni.

Vorrei ringraziare la Professoressa Micaela Morettini, per la sua disponibilità nell’avermi seguito durante il tirocinio e la stesura della tesi e tutto il laboratorio di Bioingegneria che è stato super accogliente!

L’ultimo ringraziamento va a tutti coloro che sono qui oggi e festeggiano insieme a me!

Bibliografia e sitografia:

- [1] M. A. Bagni, A. Battaglia-Mayer, P.P. Battaglini, N. Belluardo, F. Benedetti, F. Benfenati, F. Bongiani, G. Bosco, R. Bottinelli, G. Buccino, R. Caminiti, C. Capelli, A. Cellerino, E. Cherubini, A. Colantuoni, B. Colombini, F. Conti, G. Corbellini, P. d'Ascanio, A. d'Avella, D. DiFrancesco, G. Ferretti, R. Fesce, V. Gallese, R. Giuffrida, C. Grassi, F. Keller, F. Lacquaniti, G. Luppino, C. Maioli, A. Malgaroli, D. Manzoni, M. Massimini, A. Menini, A. E. Minetti, C. Molinari, P. G. Montarolo, E. Palma, M. Pessia, V. Ricci, I. Rivolta, E. Scarnati, C. Sternini, V. Tancredi, G. Tassinari, F. Tempia, G. Tononi, A. Zaza, G. Zoccoli. *Fisiologia Medica*. Edi-ermes. (2010); 2; 710-726.
- [2] S.Hörberabc, P. Achenbachcd, E. Schleicherabc, A. Peterabc. Harmonization of immunoassays for biomarkers in diabetes mellitus. *Biotechnology Advances*. (2020); 39; 107-359.
- [3] F. Piva. Dispense di basi biologiche e metodi delle biotecnologie.
- [4] Enciclopedia Treccani: <https://www.treccani.it/enciclopedia/gluconeogenesi>
- [5] <https://www.siditalia.it/divulgazione/conoscere-il-diabete>
- [6] <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-zmenu/i/ipoglicemia>
- [7] A. Ceriello, S. Frontoni, P. Di Bartolo, A. Avogaro, G. Paolisso, E. Bosi. Variabilità glicemica: indicatore emergente nel trattamento del diabete mellito. *Il Giornale di AMD*. (2013); 16; 245-248.
- [8] B. Kovatchev. Glycemic Variability: Risk Factors, Assessment, and Control. *J Diabetes Sci Technol*. (2019); 13(4); 627–635.
- [9] A. De Micheli, E. D'Ugo, A. Ceriello. L'importanza del controllo della variabilità glicemica nella prevenzione delle complicanze del paziente con diabete mellito. *G It Diabetol Metab*. (2007); 27; 227-239.
- [10] A. Piersanti, F. Giurato, M. Morettini, L. Burattini, A. Tura. Comparison of Software Packages for the Analysis of Continuous Glucose Monitoring Data. *MeMeA*. (2021).

- [11] A. Rodbard. Glucose Variability: A Review of Clinical Applications and Research Developments. *Diabetes Technology & Therapeutics*. (2018); 20.
- [12] F. J. Service. Glucose Variability. *Diabetes*. (2013); 62(5); 1398–1404.
- [13] L. D. Berard, R. Siemens, V. Woo. Monitoring Glycemic Control. *Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee*. (2018); 42; S47-S53.
- [14] Help di RStudio, Package iglu version 3.2.0 Index.
- [15] F. Dubosson, J.E. Ranvier , S.Bromuric, J.P. Calbimonte, J. Ruiz, M. Schumacher. The open D1NAMO dataset: A multi-modal dataset for research on non-invasive type 1 diabetes management. (2018); 13; 92-100.
- [16] D. LeRoith, O. Smith. Monitoring glycemic control: The cornerstone of diabetes care. (2005); 27(10); 1489-1499.