



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Corso di Laurea triennale in Ingegneria Biomedica

VALUTAZIONE DEI DETERMINANTI DELLA CLEARANCE EPATICA ED
EXTRAEPATICA DELL'INSULINA ATTRAVERSO MODELLI MATEMATICI

ASSESSMENT OF HEPATIC AND EXTRA-HEPATIC INSULIN CLEARANCE
DETERMINANTS THROUGH MATHEMATICAL MODELS

Relatore:

Prof.ssa Micaela Morettini

Laureanda:

Lucia Menna

Correlatori:

Prof.ssa Laura Burattini

Dott. Andrea Tura

Anno Accademico 2019/2020

Abstract

Un aspetto di particolare importanza nel metabolismo del glucosio è il processo di secrezione dell'insulina il quale è regolato principalmente dalla concentrazione del glucosio nel sangue che irroro le cellule β del pancreas. L'insulina secreta è diversa da quella che si trova in circolo a causa di un processo denominato clearance, operato dal fegato (clearance epatica) e da altri tessuti (clearance extraepatica), che contribuisce a regolare l'insulina controllandone la disponibilità ai tessuti periferici. Quest'ultimo aspetto è altamente variabile e risulta correlato a diversi fattori. È possibile misurare con accuratezza i valori di clearance dell'insulina tramite diversi metodi: tasso di eliminazione metabolica dell'insulina durante il clamp iperinsulinemico-euglicemico (MCR), tasso di eliminazione frazionaria dell'insulina durante il test di tolleranza del glucosio endovenoso frequentemente campionato (FCR), test orale di tolleranza del glucosio (OGTT), test endovenoso di tolleranza al glucosio (IVGTT) e test endovenoso di tolleranza del glucosio modificato con insulina (IM-IVGTT). Spesso tali metodi fanno riferimento a dei modelli matematici. L'obiettivo della tesi è quello di individuare i determinanti della clearance dell'insulina facendo riferimento ad un modello matematico, applicato a dati IM-IVGTT, che attualmente risulta l'unico in grado di effettuare tali studi considerando separatamente clearance dell'insulina epatica e clearance dell'insulina extraepatica.

La popolazione di interesse per lo studio è costituita da 156 donne. Tutte le partecipanti sono state analizzate subito dopo il parto (nei 4-6 mesi successivi) e sono state classificate in due gruppi sulla base della loro gravidanza: donne con precedente storia di diabete mellito gestazionale (GDM) e donne che sono rimaste in salute durante la gestazione.

È stato riscontrato che, nel caso delle donne che non hanno riportato complicazioni, esiste una correlazione significativa tra la clearance epatica (FEI) e la risposta acuta di insulina al glucosio (AIR). Nel caso delle partecipanti con precedente GDM sono state osservate correlazioni significative tra la clearance extraepatica (CLp) e i valori medi di insulina e C-peptide durante il test (I_{mean} e C_{pmean}).

Indice

Introduzione		Pag. I
Capitolo 1	Glucosio e regolazione della glicemia	Pag. 1
1.1	Il metabolismo dei carboidrati	Pag. 1
1.2	La regolazione della glicemia	Pag. 3
Capitolo 2	L'insulina	Pag. 6
2.1	La secrezione dell'insulina	Pag. 6
2.2	La clearance dell'insulina	Pag. 6
2.2.1	Legame tra la clearance dell'insulina e l'obesità - riferimento allo studio sviluppato nell'articolo di Bojsen-Møller et al.	Pag. 8
2.2.2	Legame tra la clearance dell'insulina e l'etnia - riferimento agli studi sviluppati negli articoli di Ladwa et al. e Piccinini et al.	Pag. 10
Capitolo 3	Quantificazione della clearance dell'insulina	Pag. 14
3.1	Metodi di quantificazione della clearance dell'insulina	Pag. 14
3.2	Modello di Polidori per la stima della clearance epatica ed extraepatica	Pag. 17
Capitolo 4	Valutazione dei determinanti della clearance dell'insulina	Pag. 20
4.1	Popolazione studiata	Pag. 20
4.2	Valutazione della tolleranza al glucosio	Pag. 20
4.3	Analisi statistica	Pag. 20
Capitolo 5	Risultati e Discussioni	Pag. 22
5.1	Risultati	Pag. 22
5.2	Discussioni	Pag. 26
Bibliografia		Pag. II
Ringraziamenti		Pag. IV

Introduzione

La clearance dell'insulina è un fattore altamente variabile e importante che influenza le concentrazioni circolanti di insulina. Diversi organi contribuiscono a questo processo, di cui il principale è il fegato; si parla pertanto di clearance epatica e clearance extraepatica (quella dovuta a reni, muscoli, etc..).

Una riduzione di tale processo coopera con una maggiore secrezione di insulina per compensare l'insulino-resistenza, pertanto la compromissione della clearance dell'insulina può essere alla base del legame tra insulino-resistenza epatica e steatosi epatica. Recentemente la clearance di insulina epatica è stata suggerita come la principale causa iniziale per l'iperinsulinemia sistemica in obesità. Insieme all'obesità, anche etnia, genetica e ulteriori contributi da una pletera di organi (ad esempio, cellule β) indicano la ridotta clearance epatica come il colpevole iniziale nello sviluppo di elevati valori di glicemia. Lo studio della clearance e delle sue alterazioni è particolarmente importante in popolazioni caratterizzate da un elevato rischio di sviluppare diabete di tipo 2. Tra queste popolazioni ci sono donne con storia pregressa di diabete gestazionale. In particolare, è stato dimostrato che nelle donne con storia pregressa di diabete gestazionale l'efficacia del glucosio risulta essere compromessa e nello specifico una diminuzione dell'efficacia del glucosio determina un aumento della clearance dell'insulina. Diversi fattori possono contribuire alla determinazione della clearance dell'insulina e questi fattori potrebbero essere diversi se riferiti alla clearance epatica o extraepatica.

Nello specifico, in questa tesi, ci si pone l'obiettivo di individuare i determinanti della clearance in una popolazione di donne con storia pregressa di diabete gestazionale facendo riferimento ad un modello matematico che attualmente risulta l'unico in grado di effettuare tali studi considerando separatamente clearance dell'insulina epatica e clearance dell'insulina extraepatica.

Capitolo 1: Glucosio e regolazione della glicemia

1.1. Il metabolismo dei carboidrati

Il glucosio è uno zucchero a sei atomi di carbonio (C) che può essere ingerito attraverso i cibi. Nella maggior parte dei casi si presenta come un prodotto derivato di carboidrati complessi, di proteine o del metabolismo dei grassi. Il glucosio viene quindi assunto con la dieta e, una volta entrato nell'organismo, ha tre differenti destini:

1. polimerizzazione per formare glicogeno e avere una fonte di riserva energetica;
2. ossidazione attraverso la via del pentosio fosfato. La via del pentosio fosfato ha una funzione importante che serve per sintetizzare due molecole: NADPH (nicotinammide adenina dinucleotide fosfato) e ribosio;
3. ossidazione attraverso la glicolisi. La glicolisi è una via metabolica che permette di trasformare il glucosio a 6C, in due composti semplici, ovvero due molecole di piruvato a 3C. Ogni atomo di carbonio del glucosio perde elettroni e va a formare CO₂ (anidride carbonica). Gli elettroni vanno a formare il NADH (nicotinammide adenina dinucleotide) e il FADH₂ (flavina adenina dinucleotide), che servono a formare ATP (adenosina trifosfato).

Se si prendono del glucosio, una fonte di ossigeno e un'energia di attivazione, il glucosio brucia, cioè avviene la reazione di combustione. La combustione non è che un'ossidazione ed è un processo esoergonico, che produce luce e calore. Nella combustione, il glucosio rilascia un'enorme quantità di energia di circa 800 Kcal/mol [1]. Tale fenomeno avviene, in maniera leggermente più complessa, durante i fenomeni di glicolisi, ciclo di Krebs e fosforilazione ossidativa.

La **glicolisi** è un processo metabolico mediante il quale, in condizioni di anaerobiosi non stretta, una molecola di glucosio viene scissa in due molecole di piruvato al fine di generare molecole a più alta energia, come 2 molecole di ATP e 2 molecole di NADH per ogni molecola di glucosio utilizzata. Si tratta del mezzo per ottenere energia più sfruttato in natura, soprattutto grazie alla sua anaerobioticità, sebbene non sia il più efficiente.

In una prima fase del processo, composta da cinque passaggi, viene consumata energia (fase di consumo energetico) per ottenere dal glucosio molecole di un derivato del glucosio a più alta

energia (gliceraldeide-3-fosfato), che verranno poi trasformate nella fase successiva (fase di rendimento), composta di altri cinque passaggi, in molecole nettamente meno energetiche di piruvato, con produzione di energia superiore a quella consumata nella prima fase. Il processo nel suo insieme è quindi di tipo catabolico, cioè in cui molecole più complesse ed energetiche, vengono trasformate in altre più semplici e meno energetiche, con accumulo di energia. Le reazioni che compongono la glicolisi, ciascuna catalizzata da un enzima specifico, avvengono nel citoplasma delle cellule, fatta eccezione per alcuni protozoi come i *tripanosomi* e *leishmanie* per i quali avvengono in un organulo apposito, chiamato glicosoma [1].

Il ciclo di Krebs (anche detto **ciclo degli acidi tricarbossilici**, **ciclo dell'acido citrico** e **ciclo dell'ossalacetato**) è un ciclo metabolico di importanza fondamentale in tutte le cellule che utilizzano ossigeno nel processo della respirazione cellulare. In questi organismi aerobici il ciclo di Krebs è la via metabolica in cui confluiscono le vie del catabolismo dei carboidrati, dei grassi e delle proteine, portando alla produzione di energia chimica principalmente tramite la sintesi di elementi fondamentali per la catena respiratoria. Si tratta di una via anfibolica poiché partecipa anche a processi anabolici, fornendo alcuni precursori di amminoacidi (ad esempio l' α -chetoglutarato e l'ossalacetato) e di altre molecole fondamentali per la cellula. L'energia viene prodotta tramite la fosforilazione di molecole di GTP (guanosina trifosfato) tramite la produzione di fattori riducenti NADH e FADH₂, i quali cederanno gli elettroni acquisiti durante il ciclo di Krebs alla catena di trasporto degli elettroni, grazie alla quale verranno prodotte numerose molecole di ATP [1]. Il ciclo è composto da 8 reazioni che si svolgono in modo ciclico e possono essere distinte in due fasi: nella prima fase si parte dalla molecola Acetil-CoA che reagendo con l'Ossalacetato forma il Citrato, il quale dopo una serie di reazioni perde 2 atomi di carbonio sotto forma di anidride carbonica, trasformandosi in una forma attivata a 4 atomi di carbonio, il Succinil-CoA; nella seconda fase del ciclo di Krebs il Succinil-CoA viene riconvertito in Ossalacetato, permettendo di ripetere la serie di reazioni chimiche.

La **fosforilazione ossidativa** è un processo biochimico cellulare fondamentale e ubiquitario per la sintesi di ATP. Si tratta della fase finale della respirazione cellulare, dopo glicolisi, decarbossilazione ossidativa del piruvato e ciclo di Krebs. L'ubicazione fisica del processo è sempre a cavallo di una membrana: negli eucarioti avviene presso la cresta mitocondriale, nei procarioti presso la membrana cellulare.

È composta da due fasi:

1. catena di trasporto degli elettroni: in questo processo gli elettroni trasportati da NADH e FADH₂ vengono scambiati dalla catena enzimatica transmembrana generando un gradiente protonico;
2. sintesi di ATP tramite fosforilazione di ADP (adenosina difosfato) da parte dell'enzima ATP sintasi [1].

1.2 La regolazione della glicemia

Nelle persone sane, la concentrazione di glucosio nel sangue (glicemia) è controllata principalmente dall'azione contrapposta di due ormoni, **l'insulina e il glucagone** (entrambi regolati dal pancreas), ma anche da ormoni come l'adrenalina e le altre catecolamine.

La glicemia, a digiuno, varia generalmente in un intervallo piuttosto ristretto, tra i 70 e i 110 mg/dl. La persistenza di valori più elevati, detta **iperglicemia**, può portare alle complicazioni tipiche del diabete (problemi alla vista, infezioni ricorrenti, problemi ai reni, etc..). Valori troppo bassi, **ipoglicemia**, possono provocare seri danni al cervello e causare addirittura il coma o la morte.

Nelle ore successive ad un pasto, con la digestione dei carboidrati, la glicemia si alza progressivamente fino a raggiungere picchi di 150 mg/dl [1]. Maggiore il carico glicemico del pasto, maggiore sarà l'aumento della glicemia postprandiale.

Quando, in seguito ad un pasto, la concentrazione di glucosio nel sangue aumenta, il pancreas libera l'ormone **insulina** per innescare diversi processi metabolici che hanno come conseguenza:

1. **la trasformazione del glucosio in glicogeno**: il glucosio in eccesso nel sangue viene trasformato in glicogeno, un polisaccaride formato dall'unione di migliaia di molecole di glucosio. Il glicogeno viene immagazzinato come riserva energetica nel fegato (fino ad un massimo di 120 grammi circa negli adulti) e, in quantità ancora superiore, nei muscoli (circa 300 grammi, variabile a seconda della massa muscolare);
2. **la trasformazione dei carboidrati in grassi**: una volta ristabilite le scorte di glicogeno nel fegato, a partire dai carboidrati in eccesso vengono sintetizzati gli acidi grassi;
3. **l'accumulo di grassi nel tessuto adiposo**: sotto l'effetto dell'insulina, il consumo dei grassi come fonte energetica da parte dell'organismo diminuisce sensibilmente. Inoltre,

i grassi in eccesso, non necessari per il metabolismo delle cellule, vengono immagazzinati sotto forma di trigliceridi nel tessuto adiposo;

4. **l'inibizione della gluconeogenesi:** poiché nel sangue è già presente una quantità sufficiente di glucosio, il processo di gluconeogenesi, cioè la sintesi di glucosio a partire dalle proteine, viene inibito.

Con il digiuno (ad esempio durante la notte) la glicemia si abbassa fino a raggiungere i livelli minimi. Per evitare che la concentrazione di glucosio nel sangue scenda oltre una certa soglia (ipoglicemia), l'organismo dispone di diversi processi metabolici, regolati sempre dall'insulina (ma in questo caso dalla sua assenza) e dalla presenza di altri ormoni, come ad esempio il **glucagone:**

1. **trasformazione del glicogeno in glucosio:** il glicogeno immagazzinato nel fegato viene trasformato in glucosio ed immesso nella circolazione sanguigna, in modo da innalzare la glicemia. Il glicogeno immagazzinato nei muscoli non può essere liberato nel sangue, ma può essere utilizzato dai muscoli stessi come fonte energetica;
2. **consumo dei grassi:** per limitare il consumo di carboidrati, i trigliceridi immagazzinati nelle cellule adipose vengono scissi (lipolisi) in acidi grassi e glicerolo, immessi nel sangue e utilizzati come fonte energetica;
3. **attivazione della gluconeogenesi:** quando le scorte di glicogeno sono insufficienti, ad esempio durante un digiuno prolungato o in seguito ad un'attività fisica intensa, il glucosio può essere sintetizzato a partire dagli aminoacidi.

Un ruolo fondamentale è svolto dal **fegato**, infatti, questo è il primo organo che l'insulina trova nel suo passaggio dopo essere stata liberata a livello del circolo portale (la vena porta trasporta il sangue al fegato). Il fegato può intrappolare circa il 50% della quantità totale di insulina liberata dal pancreas, per questo risulta molto importante nella regolazione della omeostasi glicemica. Qui il passaggio del glucosio può avvenire liberamente cioè le cellule epatiche sono liberamente permeate dal glucosio senza effetto insulinico. Il fegato ha un comportamento particolare per quanto riguarda la capacità di captare i carboidrati (glucosio) che derivano dall'assorbimento intestinale e di immetterli in circolo. In generale possiamo dire che il fegato produce e immette glucosio in circolo ogni qualvolta la glicemia scende al di sotto dei 120 mg/dl. Con glicemie al di sopra dei 120 mg/dl il fegato non libera glucosio ma cerca di immagazzinarlo sotto forma di glicogeno. Con glicemie stabili intorno a 120 mg/dl il flusso

bidirezionale del glucosio cessa (non c'è immissione in circolo). L'insulina può quindi controllare le capacità del fegato di accumulare glucosio, quando esso è presente, come, ad esempio, durante il suo assorbimento intestinale, oppure la capacità di metterlo in circolo durante il digiuno o durante le ore notturne [1].

Capitolo 2: L'Insulina

2.1 La secrezione dell'insulina

La secrezione di insulina è principalmente regolata dalla concentrazione di glucosio nel sangue che irrori il pancreas, le cellule β in particolare, secondo un meccanismo di feedback negativo. Un aumento di glucosio stimola la secrezione dell'ormone che provoca un maggiore ingresso di glucosio nelle cellule con conseguente diminuzione della concentrazione nel plasma; la diminuzione del glucosio inibisce l'ulteriore secrezione di insulina.

Del meccanismo specifico attraverso il quale si ha secrezione di insulina se ne conoscono alcune caratteristiche che portano al seguente modello: il glucosio entra nelle cellule β del pancreas mediato da uno specifico trasportatore, GLUT1 (presente solo nelle membrane di queste cellule, di quelle epatiche, dell'ipotalamo, dell'intestino tenue e del tubulo renale) [2].

Lo zucchero viene utilizzato per la glicolisi e la respirazione cellulare, con produzione di ATP; l'aumento dell'ATP determina la chiusura dei canali del potassio e conseguente depolarizzazione della membrana. In risposta a questo fenomeno si ha ingresso di ioni calcio e di seguito un ulteriore rilascio di questi nel citoplasma dal reticolo endoplasmatico.

Tale aumento del livello del calcio si pensa sia il principale responsabile del rilascio dell'insulina accumulata nelle vescicole di secrezione dell'apparato del Golgi. L'aumento del glucosio nelle cellule β sembra che attivi anche altre vie metaboliche non legate al calcio, che partecipano alla secrezione di insulina. Inoltre, esso stimola la trascrizione del gene per l'insulina e la successiva traduzione dell'mRNA (RNA messaggero, con la sigla RNA ci si riferisce all'acido ribonucleico) [2]. Tuttavia, il glucosio non è l'unico fattore di controllo del rilascio di insulina (sebbene sia il più importante). L'ingestione di cibo in generale ne determina una maggiore secrezione.

2.2 La clearance dell'insulina

Bisogna innanzitutto considerare che l'insulina è eliminata principalmente dal fegato e la clearance dell'insulina epatica contribuisce a regolare l'insulina controllandone la disponibilità ai tessuti periferici. Il fegato è quindi il sito principale di clearance insulinica. L'estrazione di insulina perifericamente somministrata è del 50-70% quando viene misurata direttamente con

la tecnica del catetere venoso epatico, e questa rappresenta quasi esclusivamente la clearance epatica [3].

La **clearance dell'insulina** è un fattore altamente variabile e importante che influenza le concentrazioni circolanti di insulina [4]. Il fenomeno della clearance regola il livello omeostatico di insulina che è richiesto per raggiungere i tessuti bersaglio periferici per provocare una corretta azione insulinica.

Si ritiene generalmente che la sovraregolazione della secrezione di insulina compensi la resistenza all'insulina, ma è stato anche suggerito che la resistenza all'insulina si sviluppi in modo secondario rispetto all'ipersecrezione di insulina [3].

Recentemente, la clearance di insulina epatica è stata suggerita come la principale causa iniziale per l'iperinsulinemia sistemica in obesità. In particolare, alcuni studi hanno notato l'aumento o la diminuzione della soglia della clearance dell'insulina in parallelo con i cambiamenti opposti nella produzione del glucosio epatico basale [3].

Si è verificato che le modifiche della clearance dell'insulina avvengono indipendentemente dai cambiamenti nella sensibilità dell'insulina periferica [3].

Le concentrazioni sistemiche di insulina sono quindi eccessivamente alte in caso di cirrosi epatica a causa della ridotta clearance dell'insulina epatica. L'eliminazione dell'insulina epatica comporta un legame insulinico al recettore dell'insulina sugli epatociti e un'endocitosi successiva del recettore dell'insulina [3].

Si deve inoltre considerare il ruolo chiave che giocano i lipidi intraepatici (IHL) nella disfunzione glucosio/insulina; si è constatato che l'accumulo di mediatori lipotossici inibisce l'attivazione del recettore dell'insulina. In questo modo, l'accumulo di IHL si pensa guidi deficit sia nella clearance dell'insulina sia nella sensibilità all'insulina epatica [5].

L'eliminazione dell'insulina è parte integrante dell'azione insulinica sul fegato. Sono stati anche evidenziati possibili collegamenti tra clearance dell'insulina epatica e la sensibilità epatica all'insulina [3].

L'iperinsulinemia è il segno distintivo della resistenza all'insulina in obesità. In particolare, la fisiopatologia multiforme del diabete di tipo 2 (T2D) comprende il diabete periferico, l'insulino-resistenza epatica, la ridotta clearance dell'insulina e la disfunzione β -cellulare [5].

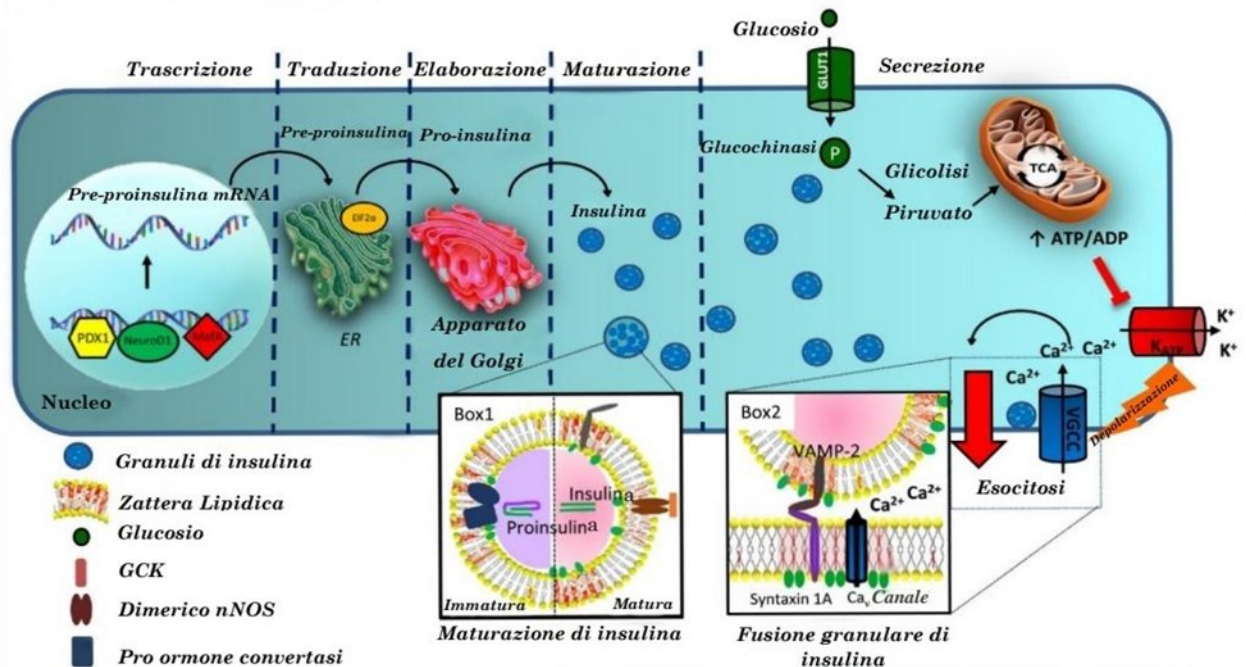


Figura 1: processo di secrezione dell'insulina

2.2.1 Legame tra la clearance dell'insulina e l'obesità - riferimento allo studio sviluppato nell'articolo di Bojsen-Møller et al.

In questo sotto capitolo si andrà ad illustrare il legame esistente tra la clearance dell'insulina e l'obesità in riferimento a [3].

Lo studio è stato effettuato su una popolazione di soggetti di giovane età.

Dopo aver modificato loro, per tre giorni, i processi di eliminazione dell'insulina e produzione di glucosio epatico basale attraverso l'assunzione di macronutrienti ed energia è stata dimostrata un'associazione inversa tra la clearance dell'insulina e la produzione di glucosio epatico basale.

È probabile che l'accumulo di triacilglicerolo epatico (TG) sia un collegamento comune, in quanto il contenuto di TG epatico è correlato negativamente con assenza di insulina e sensibilità all'insulina epatica [3].

Partiamo con l'osservare che la clearance dell'insulina differisce notevolmente tra soggetti obesi metabolicamente sani e anormali di BMI (Body Mass Index) comparabile. Inoltre, donne obese con ovaio policistico, noto per avere un'alta prevalenza di steatosi epatica, hanno ridotto del 43% la clearance di insulina rispetto alle donne con BMI corrispondente, e la clearance aumenta con la restrizione energetica della dieta [3].

Questo dimostra che un eccesso di energia e assunzione di carboidrati dovrebbe avere effetti contrastanti sul contenuto della TG epatico: l'accumulo di TG su assunzione ipercalorica di carboidrati è direttamente collegata alla diminuzione della clearance dell'insulina e viceversa durante l'assunzione di un'elevata quantità di grassi/carboidrati.

La diminuzione della clearance dell'insulina dopo l'eccesso di carboidrati nella dieta può essere meccanicamente legata alla molecola di adesione cellulare dell'antigene cancerogeno della glicoproteina 1 (CEACAM1) che quindi risulta essere una molecola candidata al collegamento tra la clearance dell'insulina e l'accumulo di TG derivato dai carboidrati [3].

Inoltre, occorre considerare che la clearance dell'insulina nel fegato è esso stesso un processo dinamico che può essere modificato entro pochi giorni in condizioni di cambiamento dell'assunzione di carboidrati. Questo è stato chiaramente dimostrato in uno studio sulla dieta in cui una maggiore quantità di carboidrati ha portato una diminuzione della sensibilità dell'insulina epatica e la clearance dell'insulina, in concomitanza con l'aumento del 41% dello smaltimento del glucosio periferico.

Dopo la restrizione dell'energia è visibile un rapido miglioramento dell'azione dell'insulina epatica e la clearance dell'insulina che precedono tipicamente dei cambiamenti periferici nella sensibilità insulinica, dove i miglioramenti non sono osservati fino ad ottenimento di una sostanziale perdita di peso.

Così, cambiamenti precoci nella clearance dell'insulina epatica agiscono per regolare la disponibilità di insulina sistemica e quindi influenzare la risposta dei tessuti periferici [3].

In conclusione, la clearance dell'insulina epatica è un importante regolatore delle concentrazioni di insulina sistemica nella risposta precoce all'assunzione alterata di energia e carboidrati.

Insieme all'obesità anche etnia, genetica e ulteriori contributi da una pletera di organi (ad esempio, cellule β) indicano la ridotta clearance insulina epatica come il colpevole iniziale nello sviluppo di iperinsulinemia [3].

2.2.2 Legame tra la clearance dell'insulina e l'etnia - riferimento agli studi sviluppati negli articoli di Ladwa et al. e Piccinini et al.

In questo sotto capitolo si andrà ad illustrare il legame tra la clearance dell'insulina e l'etnia in riferimento a [5] e [6].

Partiamo con il dire che le popolazioni di etnia africana nera (BA) soffrono di un rischio sproporzionatamente elevato di T2D, eppure sono relativamente protetti dalla deposizione di grasso ectopico e presentano un IHL inferiore relativamente ad altre etnie (il cosiddetto "paradosso africano"). Un fattore importante di questo fenomeno è la relativamente bassa eliminazione dell'insulina delle popolazioni di BA, che è stata costantemente riconosciuta [5].

I dati sono stati raccolti considerando una popolazione costituita da uomini residenti nel sud di Londra di due gruppi etnici, europei bianchi (WE) e nero (West) africano (BA). I soggetti ammissibili erano maschi, di età compresa tra i 18 e i 65 anni, di colore europeo (WE) o nero (West).

È stato loro effettuato un clamp iperinsulinemico-euglicemico a due fasi per valutare la sensibilità all'insulina epatica specifica [5].

Questo studio comprende un'indagine completa sull'eliminazione dell'insulina e sulle sue relazioni con grasso epatico e sensibilità dell'insulina negli uomini bianchi europei e neri con normale tolleranza al glucosio.

Mentre il paradigma classico suggerisce che l'aumento della resistenza all'insulina guida il rischio di diabete in eccesso nelle popolazioni di BA, questi risultati contribuiscono a un nuovo emergente (e ancora controverso) paradigma, che propone che i danni nella clearance insulina sono il primario meccanismo eziologico di intolleranza al glucosio in questo gruppo etnico.

In questo studio, la risposta al glucosio endovenoso negli uomini BA è caratterizzata da un'iperinsulinemia pronunciata rispetto a quella degli uomini WE.

Non ci sono però differenze etniche nella secrezione totale di insulina delle cellule β .

Inoltre, è stato verificato che l'iperinsulinemia periferica della popolazione di BA è dovuta alla differenza nella clearance insulinica.

Si può affermare che una ridotta clearance dell'insulina è ampiamente considerata come una risposta precoce all'insulino-resistenza, è anche possibile che i cambiamenti nella clearance dell'insulina non sono solo un meccanismo di compensazione ma anche un determinante primario nei livelli di insulina periferica nelle popolazioni di BA.

È poi importante notare che mentre il MCR (tasso di eliminazione metabolica dell'insulina) è strettamente correlato con la clearance dell'insulina endogena in WE, questo non è il caso di BA quindi l'etnia ha un impatto significativo sulla relazione tra le due misure [5].

I modelli hanno dimostrato che, mentre la clearance dell'insulina epatica è inferiore a gruppi etnici neri rispetto ai bianchi, la clearance extraepatica è simile e che la clearance dell'insulina epatica ed extraepatica è regolata in modo differenziato.

La clearance dell'insulina epatica contribuisce in proporzione maggiore all'insulina endogena rispetto alla clearance dell'insulina esogena, questo può spiegare perché il MCR non riflette sulla clearance dell'insulina endogena negli uomini africani neri [5].

In conclusione, questo studio dimostra una lenta eliminazione dell'insulina negli uomini africani neri nonostante il grasso epatico e la sensibilità all'insulina epatica simile alla loro controparte bianca europea.

È sempre più riconosciuto che il diabete di tipo 2 è una malattia eterogenea, dove diverse componenti eziologiche possono avere un impatto sui tassi di progressione e sulla scelta di strategia terapeutica [5].

In particolar modo possiamo dire che l'incidenza del diabete è 2,4 volte più alta nelle donne afroamericane (AA), 1,5 volte più alta nei maschi AA e 1,6 volte più alta negli individui ispanici americani (HA) rispetto alle controparti caucasiche. Una possibile causa potrebbe essere collegata alle differenze nei tassi di degradazione dell'insulina [6].

La compromissione della clearance dell'insulina epatica in individui AA, insieme ad un più alto tasso di secrezione di insulina, potrebbe essere correlata all'aumento dell'iperinsulinemia

periferica in AA rispetto agli individui EA. L'insulina più elevata nel sangue è associata alla resistenza all'insulina.

Pertanto, è possibile che l'iperinsulinemia a lungo termine contribuisca alla resistenza all'insulina negli individui AA. Per quanto riguarda gli individui HA la loro clearance dell'insulina epatica sembra essere più simile a quella degli individui EA.

Ci si potrebbe aspettare che, mentre i fattori genetici o epigenetici entrerebbero in gioco nel corso della vita, la maggior parte degli effetti dello stile di vita di per sé potrebbero essere meno evidenti negli individui più giovani [6].

Pertanto, si è ritenuto interessante capire se le differenze etniche nella rimozione dell'insulina possano essere osservate nei bambini piccoli prima che la maggior parte degli effetti dello stile di vita svolgano un ruolo importante. Se la differenza nei tassi di eliminazione dell'insulina riscontrata negli adulti è presente fin dall'infanzia, ciò suggerirebbe che i fattori genetici sono, almeno, da non escludere.

Per stile di vita si intendono la dieta, il sonno, le abitudini di fumo, il consumo di alcol e l'esercizio fisico e poiché questi fattori potrebbero differire tra gli individui AA e EA, si può ipotizzare che le abitudini giornaliere potrebbero spiegare la ridotta clearance dell'insulina epatica nell'AA rispetto agli individui EA [6].

Per determinare le cause di fondo delle differenze nella rimozione dell'insulina tra i gruppi etnici, si è cercato di analizzare le sue componenti nei bambini delle diverse etnie: la clearance dell'insulina epatica è inferiore del 74% nei bambini AA che nei bambini EA.

I risultati sono coerenti tra adulti e bambini.

L'AA adulti, uomini e donne, e giovani ragazze, hanno dimostrato di avere una minore clearance dell'insulina epatica [6].

Si potrebbe quindi affermare che l'espressione degli enzimi associati alla degradazione dell'insulina epatica potrebbe essere ridotta negli individui AA.

L'enzima di degradazione dell'insulina IDE e/o CEACAM1 potrebbe essere specificamente ridotta, inattivata o geneticamente modificata in AA, a causa dell'ereditarietà genetica.

Il numero o l'attività dei recettori dell'insulina epatica potrebbe essere geneticamente inferiore in alcune etnie, riducendo la loro disponibilità di legame ed endocitosi. Inoltre, la dimensione

del fegato potrebbe essere inferiore in individui AA e potrebbe essere responsabile della ridotta clearance dell'insulina epatica [6].

Capitolo 3: Quantificazione della clearance dell'insulina

3.1 Metodi di quantificazione della clearance dell'insulina

La clearance insulinica può essere stimata con ragionevole accuratezza durante le infusioni di insulina esogena, come durante il clamp iperinsulinemico-euglicemico o il test di soppressione dell'insulina.

La coinfusione di somatostatina (o analoghi) consente una stima precisa della clearance dell'insulina esogena somministrata eliminando la secrezione endogena di insulina.

Per l'insulina endogena, il rapporto tra C-peptide e concentrazioni di insulina può fornire una stima della clearance dell'insulina epatica.

Consideriamo nel dettaglio alcuni metodi di misurazione:

1. tasso di eliminazione metabolica dell'insulina (MCR) durante il clamp iperinsulinemico-euglicemico (EGC), un metodo a stato stazionario;
2. tasso di eliminazione frazionaria dell'insulina (FCR) durante il test di tolleranza al glucosio endovenoso frequentemente campionato (FSIGT), un metodo dinamico;
3. test orale di tolleranza al glucosio (OGTT);
4. test endovenoso di tolleranza al glucosio (IVGTT);
5. test endovenoso di tolleranza al glucosio modificato con insulina (IM-IVGTT).

Per quanto riguarda i primi due metodi sappiamo che MCR è stato calcolato come il rapporto tra il tasso di infusione dell'insulina e l'insulina plasmatica a stato stazionario. FCR è stato, invece, calcolato come costante esponenziale del tasso di decadimento dell'insulina iniettata. In particolar modo l'MCR dell'EGC è stato misurato mediante il rapporto tra il tasso di infusione di insulina e la concentrazione di insulina nel plasma allo stato stazionario, secondo il principio di diluizione.

La costante FCR è stata stimata dalle concentrazioni di insulina nel plasma secondo l'equazione:

$$\text{Insulina} = \text{Insulinabasal} + \text{Insulinamax} \cdot e^{-kt} \quad (1)$$

dove Insulina è la concentrazione di insulina del plasma al tempo t del campione, Insulinabasal è l'insulina basale del plasma e Insulinamax è la concentrazione di insulina durante il FSIGT [7].

L'iperinsulinemia, accompagnata da una ridotta estrazione dell'insulina epatica (FPE) è stata calcolata da coppie di infusioni intraportale e periferiche e fornisce quindi una misura diretta dell'estrazione epatica dell'insulina.

La secrezione di insulina non è stata completamente soppressa dall'insulina esogena in FSIGT, tuttavia, i bassi livelli di produzione di insulina endogena rappresentano solo una piccola quantità dell'insulina plasmatica presente e in quanto tale non altererebbero sostanzialmente il calcolo dell'FCR.

I tassi MCR calcolati non sono ben correlati con il FPE: ci possono essere una varietà di fattori che contribuiscono a questa mancanza di correlazione, tra cui una maggiore clearance da tessuti non epatici o una saturazione del sistema di clearance insulina nella regolazione clamp. Inoltre, il glucagone non è stato sostituito durante l'EGC.

Questi risultati suggeriscono che l'MCR calcolato dovrebbe essere considerato con cautela, in quanto l'MCR delle clamp potrebbe non essere un buon indice di clearance dell'insulina epatica [7].

Relativamente al terzo e al quarto metodo possiamo invece dire che sono fra i più impiegati in studi metabolici.

Questi test vengono soprattutto utilizzati per ottenere con un solo esperimento informazioni relative a insulino-sensibilità e insulino-secrezione in un individuo.

Il test da carico orale di glucosio consiste nel somministrare al paziente del glucosio per via orale e prelevare campioni di sangue nelle 2-3 ore successive. Data la sua semplicità, il suo potere diagnostico e il fatto che rappresenta il modo fisiologico di assumere carboidrati, l'OGTT è un test molto usato per studi che coinvolgono un largo numero di soggetti [8].

Il test da carico endovenoso consisteva inizialmente in un'iniezione in vena di un bolo di glucosio con campioni di sangue prelevati frequentemente durante le tre ore di durata del test (questa procedura sperimentale viene definita il metodo IVGTT-classico). Successivamente, la dinamica del test è stata aumentata con una infusione per 5 minuti di insulina iniziata 20 minuti dopo il bolo di glucosio (metodo IM-IVGTT).

In entrambi i test vengono misurati, per ogni campione, la concentrazione di glucosio, insulina e, quando possibile, C-peptide [8].

L'IVGTT fornisce una stima della risposta a uno stimolo glicemico diretto e noto della prima fase β -cellulare. Con l'OGTT, la stimolazione delle β -cellule avviene con un ritardo non direttamente quantificabile, dovuto allo svuotamento gastrico e all'assorbimento intestinale [8].

Tuttavia, il fattore che più distingue il test orale da quello endovenoso è sicuramente l'effetto delle incretine. È noto che a parità di concentrazione periferica di glucosio (stimolo), la quantità secreta di insulina è particolarmente maggiore quando il glucosio è somministrato oralmente invece che per via endovenosa. Questo è dovuto all'effetto degli ormoni gastrointestinali stimolati quando il glucosio attraversa il tratto gastrointestinale. L'azione che questi ormoni esercitano è principalmente l'aumento della sensibilità pancreatico al glucosio con conseguente notevole aumento del rilascio di insulina durante un OGTT a livelli di glucosio pari a quelli raggiunti con un'infusione endovenosa di glucosio [8].

Dunque, durante un test orale, la semplice valutazione dell'insulina in rapporto a quella del glucosio può non essere sufficiente a valutare la funzione β -cellulare, in quanto altri importanti fattori entrano in gioco alterando la dinamica insulinica. Questo è un importante fattore limitante nel confrontare risultati ottenuti con i due test [8].

Infine, abbiamo l'ultimo metodo dove la dinamica della clearance insulinica ($Cl_{ins}(t)$) è stata valutata attraverso una procedura nella quale $Cl_{ins}(t)$ è stato ottenuto come rapporto tra il tasso di secrezione di insulina preepatica $ISR(t)$ e la concentrazione dell'insulina plasmatica $I(t)$, quest'ultima è stata ottenuta per interpolazione lineare delle concentrazioni di insulina nel plasma durante IM-IVGTT:

$$Cl_{ins}(t) = \frac{ISR(t)}{I(t)} \quad (2)$$

I risultati ottenuti dall'utilizzo di questo test hanno dimostrato che la sensibilità all'insulina di per sé non rappresenta un fattore determinante per la clearance dell'insulina ma bisogna considerarlo insieme alla funzione β -cellulare attraverso l'indice di disposizione [9].

Tuttavia, questo studio presenta alcune limitazioni legate principalmente alla metodologia utilizzata per la valutazione di eliminazione dell'insulina poiché il modello rappresenta un'approssimazione che potrebbe influenzare la quantificazione della clearance dell'insulina [9].

3.2 Modello di Polidori per la stima della clearance epatica ed extraepatica

Per affrontare le questioni relative alla clearance epatica contro l'extraepatica, è stato sviluppato un nuovo modello basato sull'utilizzo di dati IM-IVGTT per fornire una stima individuale dell'allontanamento dell'insulina sia epatica che extraepatica. In particolare, si va ad applicare il modello per determinare la variabilità nei parametri di clearance dell'insulina [4].

Le differenze tra insulina epatica e periferica sono state stimate utilizzando un nuovo modello che descrive la cinetica dell'insulina durante l'IM-IVGTT. Le principali ipotesi del modello sono:

1. l'insulina endogena secreta entra nella circolazione del portale, da dove viaggia fino al fegato prima di raggiungere la circolazione sistemica. Il tasso di secrezione di insulina (ISR) è calcolato per deconvoluzione utilizzando i parametri del C-peptide cinetico. L'ISR calcolato e il noto tasso di infusione dell'insulina vengono utilizzati come input per il modello;
2. il tasso di trasmissione dell'insulina dalla circolazione sistemica al fegato (in picomoli al minuto) è pari alla concentrazione di insulina plasmatica (in picomoli per litro) per la portata presunta del plasma epatico (HPF);
3. la clearance dell'insulina si verifica sia nel fegato che nei tessuti extraepatici (periferici) che comprendono i reni, i muscoli e il tessuto adiposo. La clearance extraepatica è assunta proporzionalmente alla concentrazione plasmatica;
4. la clearance epatica è modellata utilizzando una funzione lineare o una funzione saturabile [4].

Alla luce di queste ipotesi, il modello risultante richiede la stima di tre (modello lineare) o quattro (saturabile) parametri ricavati dai profili misurati dell'insulina plasmatica e ISR calcolato. Le equazioni e i parametri corrispondenti a tali premesse sono le seguenti:

Delivery dell'insulina al fegato (pmol/min)

$$Delivery = (ISR + HPF) \cdot P \quad (3)$$

Degradazione dell'insulina epatica (pmol/min)

$$\mathbf{Modello\ lineare = FEL \cdot Delivery} \quad (4)$$

$$\mathbf{Modello\ con\ saturazione = \frac{(Vmax \cdot Delivery)}{(Km + Delivery)}} \quad (5)$$

$$\mathbf{Degradazione\ dell'insulina\ extraepatica \left(\frac{pmol}{min}\right) = CLp \cdot P} \quad (6)$$

dove P è plasma insulinico (in picomoli per litro), ISR è riportato in picomoli al minuto, HPF e CLp (estrazione extraepatica) sono in litri per minuto, la FEL è l'estrazione frazionaria epatica (adimensionale), Vmax è il tasso massimo di degradazione epatica (in picomoli al minuto), e Km è il tasso di insulina epatica a cui si verifica il 50% della degradazione massima (in picomoli al minuto). Le ipotesi saturabili sono le seguenti:

$$\mathbf{Vp \left(\frac{dP}{dt}\right) = Tasso\ di\ infusione + (1 - FEL) \cdot ISR - (HPF \cdot FEL + CLp) \cdot P} \quad (7)$$

$$\mathbf{Vp \left(\frac{dP}{dt}\right) = Tasso\ di\ infusione + ISR - CLp \cdot P - \left[\frac{Vmax \cdot Delivery}{Km \cdot Delivery}\right]} \quad (8)$$

dove Vp è il volume di distribuzione extraepatica per insulina.

I parametri identificati dal modello sono normalizzati rispetto al BW per effettuare il confronto tra i soggetti. Per il modello di clearance saturabile frazionario l'estrazione epatica varia con i cambiamenti di ISR e P; i valori FEL sono stati calcolati nello stato basale [4].

I valori di infusione endovenosa (CLiv) e di infusione portale (CLportal) possono essere calcolati dividendo la velocità di infusione dell'insulina e la concentrazione di insulina nel plasma allo stato stazionario.

$$\mathbf{CLiv = (CLp + HPF) \cdot FEL} \quad (9)$$

$$\mathbf{CLportal = \frac{CLiv}{1 - FEL}} \quad (10)$$

Per il modello di clearance saturabile i parametri di clearance saturabile variano con il tasso di infusione di insulina e i valori sono stati calcolati considerando un tasso di infusione di 240 pmol/min/m² [4].

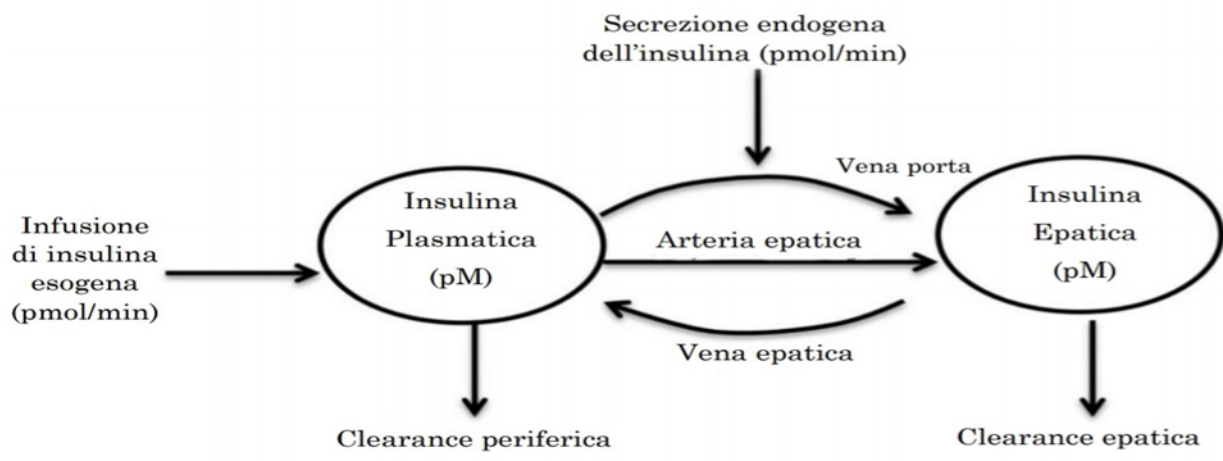


Figura 2: rappresentazione grafica del modello [4]

Capitolo 4: Valutazione dei determinanti della clearance dell'insulina

4.1 Popolazione studiata

Consideriamo una popolazione di 156 donne. Tutte le partecipanti sono state analizzate subito dopo il parto (nei 4-6 mesi successivi) e sono state classificate in due gruppi sulla base della loro gravidanza: donne con storia pregressa di GDM (pGDM, $n = 115$) e donne che sono rimaste in salute durante la gestazione (CNT, $n = 41$). La stessa popolazione era già stata analizzata nello studio [9].

Alla visita post-parto, tutte le donne hanno subito un test IM-IVGTT di 3 ore: il glucosio è stato iniettato al momento 0-0,5 min e l'insulina è stata infusa per via endovenosa al momento 20 per 5 min. Sono stati raccolti campioni di sangue prima dell'infusione di glucosio e durante le successive 3 ore sono poi state valutate le concentrazioni plasmatiche di insulina e C-peptide [9].

4.2 Valutazione della tolleranza al glucosio

Per ogni soggetto sono state valutate la clearance epatica (FEI) ed extraepatica (CLp), utilizzando l'approccio di Polidori et al. [4] precedentemente descritto. Inoltre, per ogni soggetto le concentrazioni medie di glucosio (G_{mean}), insulina (I_{mean}) e C-peptide (Cp_{mean}) durante la IM-IVGTT sono state valutate come le aree sotto la curva divise per la durata della prova [9].

Per avere un quadro complessivo della tolleranza al glucosio di ogni soggetto sono stati determinati l'indice di sensibilità all'insulina (S_I) e l'efficacia del glucosio (S_G) derivanti dal modello minimo della cinetica del glucosio. Inoltre, per valutare la funzione beta cellulare, sono stati calcolati la risposta acuta di insulina al glucosio (AIR) e la risposta acuta del C-peptide al glucosio (ACPR), calcolati come la media della curva sovrabasale di insulina e di C-peptide nell'intervallo che va da 3 a 8 minuti durante IM-IVGTT. Si è valutato anche il contributo combinato di sensibilità all'insulina e funzione beta cellulare attraverso il disposition index (DI) calcolato come prodotto tra S_I e AIR.

4.3 Analisi statistica

La normalità delle distribuzioni è stata testata con il test di Lilliefors. Le caratteristiche dei soggetti sono riportate come media \pm deviazione standard (in caso di distribuzioni normali) o come mediana [range interquartile] (in caso di distribuzioni non normali). Le differenze tra le

caratteristiche dei due gruppi di soggetti sono state testate attraverso un t- test a campioni non appaiati.

È stata inoltre fatta un'analisi di correlazione e determinato il coefficiente di correlazione (r) tra i parametri relativi alla clearance (FEI e CLp) e le altre variabili di interesse metabolico (Gmean, Imean, Cpmean, S_I, S_G, AIR, ACPR, DI) e anche variabili di carattere antropometrico (altezza, H; età; body mass index, BMI). Il livello di significatività è stato fissato a $P < 0.05$.

Capitolo 5: Risultati e Discussioni

5.1 Risultati

Le caratteristiche medie dei due gruppi di soggetti sono riportate in **Tabella 1**. Nella **Tabella 2** sono riportati i parametri che descrivono la tolleranza al glucosio. L'analisi di correlazione effettuata per i dati relativi alle donne che, osservate subito dopo il parto, non hanno riportato complicazione, ha mostrato i risultati riportati in **Tabella 3**.

Tabella 1: caratteristiche dei due gruppi di soggetti (CNT: donne rimaste in salute durante la gravidanza; pGDM: donne che hanno sviluppato diabete gestazionale).

	CNT	pGDM	p-value
n°	41	115	
Età	31.6 ± 0.8	33.4 ± 0.4	0.06
BW (kg)	67.5 ± 1.9	75.5 ± 1.6	0.005
BMI (kg·m ⁻²)	24.5 ± 0.8	27.7 ± 0.5	< 0.001
Gb (mmol·L ⁻¹)	4.56 [0.39]	4.94 [0.78]	< 0.001
Ib (pmol·L ⁻¹)	46 [28]	47 [30]	0.38
CPb (pmol·L ⁻¹)	150 [50]	166 [93]	0.06
Gmean (mmol·L ⁻¹)	4.63 [0.68]	5.39 [1.01]	<0.001
Imean (pmol·L ⁻¹)	197 [113]	218 [116]	0.17
Cpmean (pmol·L ⁻¹)	178 [91]	218 [156]	0.02

BW: peso corporeo; BMI: Body Mass Index; Gb, Ib, CPb: concentrazioni basali di glucosio, insulina e C-peptide; Gmean, Imean, Cpmean: concentrazioni medie di glucosio, insulina e C-peptide durante il test.

Tabella 2: parametri per la descrizione del quadro metabolico dei soggetti.

	CNT	pGDM
CLp (mL/kg/min)	25.2 ± 4.7	22.5 ± 5.7
FEL (%)	29.3 [39.0]	36.2 [29.5]
S _I (10 ⁻⁴ ·μU·ml ⁻¹)	5.6 [4.0]	3.3 [2.9]
S _G (10 ⁻² ·min ⁻¹)	0.020 [0.007]	0.020 [0.006]
AIR (pmol·L ⁻¹)	276.4 [288.2]	191.5 [156.7]
ACPR (pmol·L ⁻¹)	318.0 [192.5]	237.4 [161.9]
DI (10 ⁻² ·min ⁻¹)	0.10 [0.10]	0.06 [0.09]

CLp: clearance extraepatica; FEL: clearance epatica; S_I: sensibilità all'insulina; S_G: efficacia del glucosio; AIR: risposta acuta dell'insulina al glucosio; ACPR: risposta acuta del C-peptide al glucosio; DI: disposition index.

Tabella 3: risultati dell'analisi di correlazione relativamente alle donne che, osservate subito dopo il parto, non hanno riportato complicazione. Si riporta coefficiente di correlazione e relativa significatività statistica.

	CLp (mL·kg⁻¹·min⁻¹)	FEI (%)
H (m)	-0.0379 (0.8141)	0.1708 (0.2856)
BMI (kg·m⁻²)	-0.1479 (0.0000)	0.1358 (0.3972)
Età	-0.1479 (0.3561)	0.2271 (0.1533)
Gmean (mmol·L⁻¹)	0.1053 (0.5125)	0.1521 (0.3424)
Imean (pmol·L⁻¹)	-0.0807 (0.6158)	-0.0991 (0.5377)
Cpmean (pmol·L⁻¹)	-0.0297 (0.8539)	-0.1214 (0.4495)
Si (10⁻⁴·μU·ml⁻¹)	0.2236 (0.1598)	-0.1028 (0.5226)
S_G (10⁻²·min⁻¹)	0.2528 (0.1108)	0.2367 (0.1362)
AIR (pmol·L⁻¹)	0.1162 (0.4693)	-0.4006 (0.0095)
ACPR (pmol·L⁻¹)	0.0580 (0.7186)	-0.1679 (0.2941)
DI (10⁻²·min⁻¹)	0.1665 (0.2983)	-0.3180 (0.0427)

CLp: clearance extraepatica; FEI: clearance epatica; H: altezza; BMI: Body Mass Index; Gmean, Imean, Cpmean: concentrazioni medie di glucosio, insulina e C-peptide durante il test. Si: sensibilità all'insulina; S_G: efficacia del glucosio; AIR: risposta acuta dell'insulina al glucosio; ACPR: risposta acuta del C-peptide al glucosio; DI: disposition index.

Notiamo che non esiste alcuna correlazione tra CLp e i parametri considerati per il confronto. Mentre, nel caso di FEI è presente una correlazione nonché una significatività statistica con AIR. Gli andamenti grafici dei risultati descritti si possono osservare nei diagrammi a punti riportati in **Figura 3**.

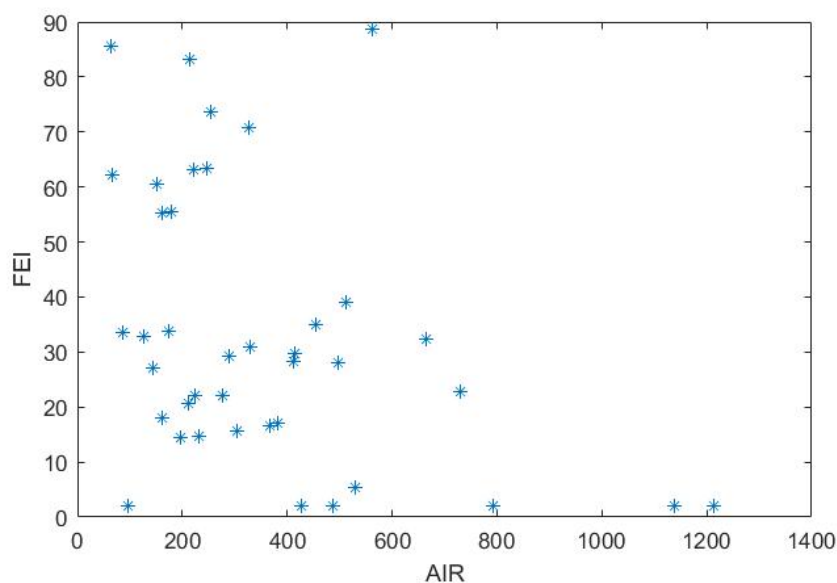


Figura 3: correlazione tra FEI-AIR relativo alle donne rimaste sane durante la gravidanza.

Passiamo ora ad analizzare i dati relativi alle donne che invece, osservate subito dopo il parto, hanno riportato GDM. In tal caso i risultati sono riportati nella **Tabella 4**.

Tabella 4: risultati dell'analisi di correlazione relativamente alle donne che, osservate subito dopo il parto, hanno riportato complicazione GDM. Si riporta coefficiente di correlazione e relativa significatività statistica.

	CLp (mL·kg⁻¹·min⁻¹)	FEI (%)
H (m)	-0.3259 (0.0004)	-0.1652 (0.0776)
BMI (kg·m⁻²)	-0.6888 (0.0000)	-0.0528 (0.5753)
Età	-0.1000 (0.2875)	0.0904 (0.3368)
Gmean (mmol·L⁻¹)	-0.2552 (0.0059)	0.0028 (0.9762)
Imean (pmol·L⁻¹)	-0.4828 (0.0000)	-0.1324 (0.1583)
Cpmean (pmol·L⁻¹)	-0.4467 (0.0000)	-0.0133 (0.8874)
S_I (10⁻⁴·μU·ml⁻¹)	0.3299 (0.0003)	0.0210 (0.8239)
S_G (10⁻²·min⁻¹)	0.0947 (0.3139)	0.0270 (0.7744)
AIR (pmol·L⁻¹)	-0.1435 (0.1261)	-0.1046 (0.2658)
ACPR (pmol·L⁻¹)	-0.0497 (0.5982)	-0.0756 (0.4221)
DI (10⁻²·min⁻¹)	-0.0455 (0.6289)	-0.0719 (0.4451)

CLp: clearance extraepatica; FEI: clearance epatica; H: altezza; BMI: Body Mass Index; Gmean, Imean, Cpmean: concentrazioni medie di glucosio, insulina e C-peptide durante il test. S_I: sensibilità all'insulina; S_G: efficacia del glucosio; AIR: risposta acuta dell'insulina al glucosio; ACPR: risposta acuta del C-peptide al glucosio; DI: disposition index.

In questo caso esistono correlazioni, le quali risultano anche significative statisticamente, tra CLp e i parametri BMI, Imean e Cpmean.

Mentre non sono presenti correlazioni tra FEI e gli altri parametri utilizzati per il confronto.

L'andamento grafico del risultato descritto è riportato in **Figura 4**, **Figura 5** e **Figura 6**.

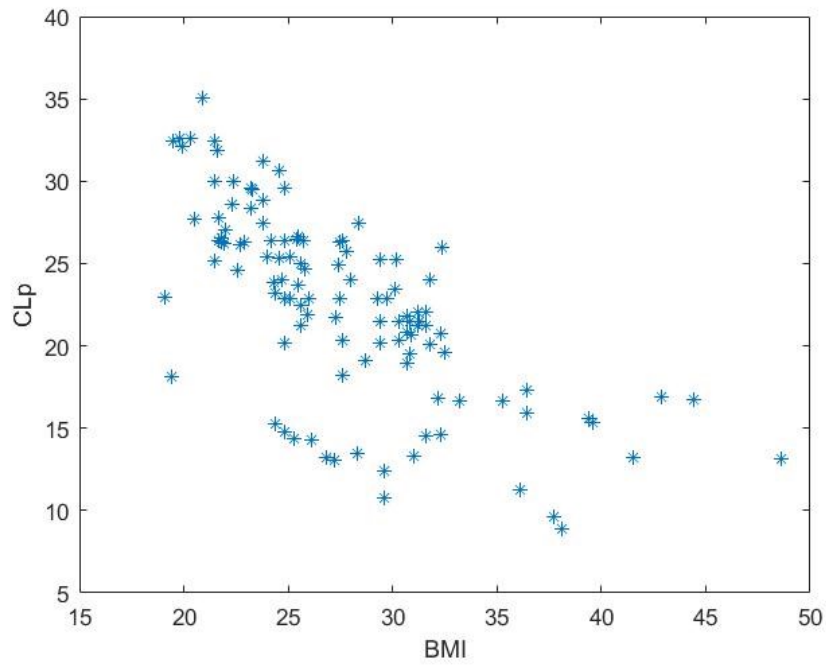


Figura 4: relazione tra CLp-BMI relativamente alle donne con storia pregressa di diabete gestazionale.

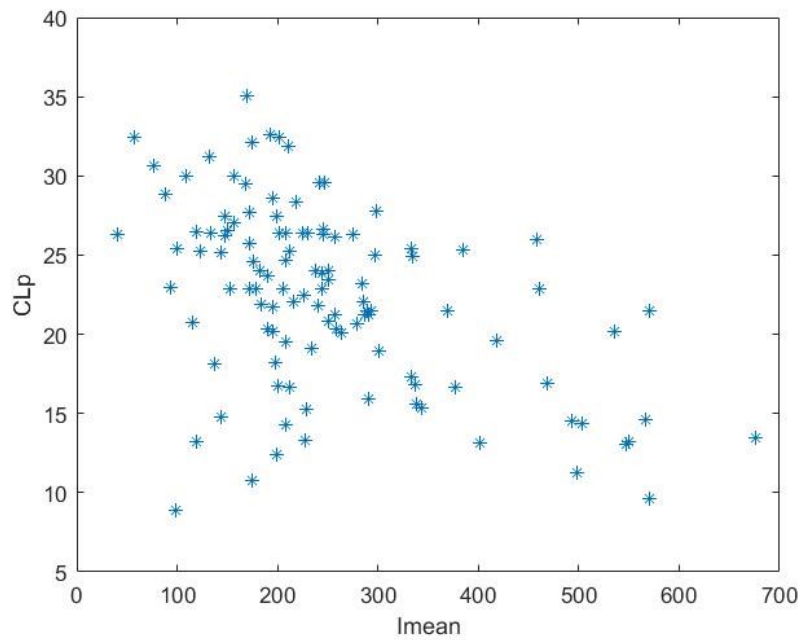


Figura 5: relazione tra CLp-lmean relativamente alle donne con storia pregressa di diabete gestazionale.

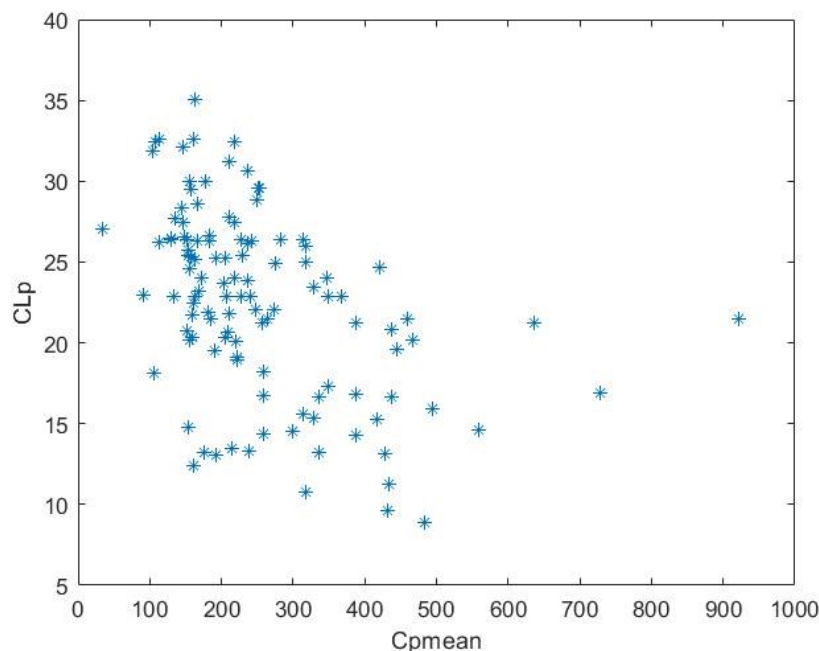


Figura 6: relazione tra CLp-Cpmean relativamente alle donne con storia pregressa di diabete gestazionale.

5.2 Discussioni

Lo scopo del presente studio è stato quello di individuare possibili determinanti della clearance insulinica nelle sue componenti epatica ed extraepatica, in una popolazione di donne con storia pregressa di GDM. Nel GDM l'iperglicemia scompare rapidamente dopo la gravidanza. Tuttavia, le alterazioni subcliniche del metabolismo del glucosio (ad esempio ridotta insulino-resistenza o difetti nella funzione β -cellulare) possono essere associate ad un aumento del rischio dello sviluppo TD2 in questi pazienti [9]. Le linee guida attuali raccomandano un esame metabolico del glucosio fino a tre mesi dopo la gravidanza [9].

È quindi fondamentale valutare la clearance dell'insulina e i suoi determinanti nelle donne con precedente GDM, insieme con gli altri parametri metabolici, poiché potrebbe essere pertinente per individuare strategie adeguate a ridurre il rischio di sviluppare T2D in quanto può consentire una regolazione più efficace del trattamento farmacologico [9].

Uno studio precedente aveva studiato i determinanti della clearance nella medesima popolazione, ma il metodo utilizzato non permetteva di differenziare la clearance nelle sue due componenti.

In questo studio è stato riscontrato che, nel caso delle donne che non hanno riportato complicazioni durante la gravidanza, esiste una correlazione negativa significativa tra la FEI e l'AIR.

Nel caso delle partecipanti con precedente GDM sono state osservate correlazioni negative significative tra CLp e i parametri BMI, Imean e Cpmean. Imean, Cpmean e AIR rappresentano indicatori della funzione beta cellulare, pertanto indicano che la clearance sia epatica che extraepatica sono inversamente correlate con l'insulina secreta. Riguardo alla correlazione con il BMI, essa è significativa solo per la clearance extraepatica, essendo CLp espresso per unità di peso corporeo; la clearance epatica, invece, non risulta correlata al BMI.

Contrariamente a quanto trovato nello studio [9] S_G e DI non risultano significativamente correlati né a FEI né a CLp in entrambe le popolazioni in studio.

Il presente studio, andando a quantificare clearance epatica ed extraepatica supera i limiti che erano stati evidenziati nello studio [9].

Si dimostra quindi che la clearance epatica e la clearance extraepatica vengono regolate in maniera differente a seconda che sia presente o meno GDM.

Bibliografia

[1] Dean R. Appling, Spencer J. Anthony-Cahill, Christopher K. Mathews. *Biochimica-Molecole e metabolismo*. Pearson. 2017.

[2] Carla Perego, Lorenzo Da Dalta, Angela Pirillo, Alessandra Galli, Alberico L. Catapano, Giuseppe D. Norata. Cholesterol metabolism, pancreatic β -cell function and diabetes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* (2019); 1865:2149-2156.

[3] Kirstine Bojsen-Møller, Anne-Marie Lundsgaard, Sten Madsbad, Bente Kiens Andes Juul Holst. Hepatic Insulin Clearance in Regulation of Systemic Insulin Concentrations-Role of Carbohydrate and Energy Availability. *American Diabetes Association* (2018); 67:2129–2136.

[4] David Polidori, Richard Bergman, Stephanie Chung, Anne Sumner. Hepatic and Extrahepatic Insulin Clearance Are Differentially Regulated: Results From a Novel Model-Based Analysis of Intravenous Glucose Tolerance Data. *American Diabetes Association* (2016);65(6):1556-1564.

[5] Meera Ladwa, Oluwatoyosi Bello, Olah Hakim, Fariba Shojaee-Moradie, Linda Boselli, Geoff Charles-Edwards, Marietta Stadler, Janet Peacock, Anne Margot Umpleby, Stephanie Amiel, Riccardo Bonadonna, Louise Goff. Insulin clearance as the major player in the hyperinsulinemia of black African men without diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism* (2020); 22:1808-1817.

[6] Francesca Piccinini, David Polidori, Barbara Gower, Jose Fernandez, Richard Bergman. Dissection of hepatic versus extra-hepatic insulin clearance: Ethnic differences in childhood. *Diabetes, Obesity and Metabolism* (2018); 20(12):2869-2875.

[7] Isaac Asare-Bediako, Rebecca Paszkiewicz, Stella Kim, Orison Woolcott, Cathryn Kolka, Miguel Burch, Morvarid Kabir, Francesca Piccinini, Richard Bergman. Assessment of hepatic insulin extraction from in vivo surrogate methods of insulin clearance measurement. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* (2018); 315(4): E605–E612.

[8] Giovanni Pacini, Andrea Mari. OGTT e IVGTT: due test a confronto per la valutazione dell'insulino-sensibilità e della funzione beta cellulare. *Giornale italiano di diabetologia e metabolismo* (2007); 27:220-226.

[9] Micaela Morettini, Christian Göbl, Alexandra Kautzky-Willer, Giovanni Pacini, Andrea Tura, Laura Burattini. Former gestational diabetes: Mathematical modeling of intravenous glucose tolerance test for the assessment of insulin clearance and its determinants. *Mathematical Biosciences and Engineering* (2020); 17(2):1604-1615.

Ringraziamenti

Alla fine di questo percorso non si può non dire Grazie.

Grazie alla mia famiglia che oggi spero sia un po' orgogliosa di me.

Grazie ai miei genitori che non mi hanno mai fatta sentire sola, che con i loro sacrifici mi hanno dato la possibilità di cominciare e di concludere questo percorso di studi oltre che esperienza di vita. Hanno sempre creduto in me, a volte più di quanto ci credessi io, e mi hanno sempre spronato a dare il massimo. "Nulla accade per caso" è stata la frase che maggiormente mi hanno ripetuto in questi anni e oggi posso dire che avevano ragione: anche le sconfitte e i dispiaceri sono serviti per arrivare qui, a scrivere la mia prima tesi.

Grazie alle mie sorelle, Chiara e Sara, che in maniera diversa l'una dall'altra ci sono sempre state. Le ho viste stare in ansia per un esame non loro e gioire insieme a me per il famoso pallino verde. Molto spesso hanno rappresentato la mia valvola di sfogo attraverso i canti e i balli improvvisati, i racconti di vita, i consigli, le prese in giro e anche attraverso le discussioni. Grazie per essere quello che siete.

Grazie a tutti i miei zii che con i loro consigli, le loro esperienze passate e i loro pareri mi hanno sempre dato una mano quando ne avevo bisogno. Mi hanno sostenuta, rincuorata e a volte anche ripreso quando ce n'era bisogno senza mai farmi sentire sola. Grazie a loro che erano sempre in attesa del messaggio post-esame e che si allarmavano se non arrivavano notizie.

Grazie a tutti quelli che, tra chiamate e videochiamate, mi hanno ascoltata in questi anni. Hanno sentito a distanza i miei pianti, le mie preoccupazioni, i miei sfoghi e i miei problemi da fuorisede ogni volta che il telefono squillava. A chi, in ogni ora del giorno e della notte, era pronto a dirmi che con il tempo tutto sarebbe andato meglio. Grazie perché in certi momenti anche solo pochi minuti sono stati fondamentali.

Grazie a tutte le persone incontrate in questi anni: le coinquiline, le vicine di casa, i compagni di lezioni, i compagni di studio e pause caffè, i compagni di pause pranzo, i compagni di serate, le persone incontrate una sera e mai più riviste e gli amici degli amici. In qualche modo, ognuno di loro, mi ha lasciato qualcosa su cui riflettere.

In particolare, grazie a voi "Vincenzo infame²" che avete fatto sì che Ancona diventasse la mia seconda casa. Rimarranno sempre con me le tisane insieme, le cene improvvisate, le serate al Bar del Porto, i canti da stadio nel cammino verso la Lanterna Rossa e la pulizia del pesce con scarsi risultati. Non sarebbe stato lo stesso senza di voi.

Grazie agli amici di sempre, quelli degli aperitivi e delle colazioni all'ultimo momento. Ogni scusa è stata buona per stare insieme e salutarci e questo ha fatto sì che il legame con voi non si spezzasse nonostante la distanza e le diverse scelte di vita.

Grazie alla professoressa Morettini che, nonostante il difficile periodo storico che stiamo vivendo, ha sempre trovato il modo per seguirmi ed aiutarmi durante tutta la fase di tirocinio e stesura della tesi. Ha sempre cercato di chiarire i miei dubbi dandomi ogni volta un grande numero di nozioni utili per affrontare i vari passi necessari. Grazie perché potrò sempre dire di avere un buon ricordo della mia prima esperienza come tirocinante.

Concludo ringraziando tutto quello che in questi anni mi ha dato la possibilità di crescere, maturare e sbagliare. Tutto, nel bene e nel male, mi ha fatto capire che bisogna farsi attraversare dalle situazioni perché solo così possono essere analizzate ed affrontate. Ogni cosa vissuta mi ha fatto cambiare e diventare sicuramente una persona diversa da quella che era partita il primo anno.

C'è ancora molto da imparare e le sfide non finiscono qui ma penso di essere sulla strada giusta. Grazie.