

a cura di Francesco Purrello

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania

I modelli massimi del metabolismo del glucosio nel diabete: perché, come e quando usarli

Claudio Cobelli, Chiara Dalla Man, Michele Schiavon, Roberto Visentin

Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione, Università di Padova

INTRODUZIONE

I modelli “massimi” o di simulazione sono descrizioni che cercano di implementare tutte le conoscenze disponibili su un certo sistema e sono generalmente modelli dinamici non lineari, di ordine elevato e con numerosi parametri. La simulazione è ampiamente utilizzata nelle scienze fisiche ed ingegneristiche dove la struttura ed il comportamento dei sistemi sono generalmente noti, in quanto progettati dall'uomo, permettendo quindi di rappresentare matematicamente la dinamica del sistema basandosi su principi primi. Un classico esempio è la sperimentazione virtuale o in silico, il cui successo più recente è stato il jet Boeing 777, il primo aereo interamente progettato e assemblato in un laboratorio virtuale.

Nelle scienze biologiche e mediche invece, dove la struttura ed il funzionamento del sistema sono spesso solo parzialmente noti, il problema è più complesso: si possono sempre scrivere equazioni differenziali non lineari ed assegnare dei valori ai parametri, ma il problema cruciale è la validità del modello. I modelli di simulazione, data la loro complessità, non sono in generale identificabili dalle misure usualmente effettuate in vivo ed infatti, questi modelli “massimi” o “a larga scala”, non sono praticamente mai usati come modelli per misurare (stimare) parametri e variabili non accessibili alla misura diretta in vivo, ad es. la sensibilità insulinica o la responsività beta-cellulare, dove invece giocano un ruolo importante i cosiddetti modelli “minimi” o “parsimoniosi” che saranno oggetto di un altro contributo (1-2).

Nell'ambito del metabolismo, e del diabete in particolare, i modelli di simulazione sono stati impiegati come strumenti per capire il funzionamento del sistema, come si diceva sopra, largamente non noto. Alcuni classici esempi sono il modello della secrezione di insulina (3) e il modello del signaling dell'insulina all'interno della cellula (4) che hanno generato diverse teorie e stimolato il progetto di nuovi esperimenti per testarle (per dettagli e altri esempi si veda la review (5)).

Un'area di grandissima importanza per l'uso dei modelli di simulazione è la sperimentazione in silico come alternativa a quella in vivo: infatti spesso è troppo difficile, costoso, pericoloso, non etico o addirittura impossibile eseguire certi esperimenti nell'uomo e l'estensione all'uomo di risultati ottenuti in ambito pre-clinico nell'animale non è sempre fattibile o possibile. Questo ambito di impiego dei modelli di simulazione ha avuto però fino a poco tempo fa un impatto quasi nullo. Il motivo è che i modelli di simulazione di vecchia generazione si basano sui soli dati di concentrazione plasmatica di glucosio o glucosio ed insulina, ad es. dopo un pasto. Il contenuto informativo di questi dati è “povero”

e non consente l'identificazione di un modello "a larga scala" attendibile nel singolo soggetto, in quanto i numerosi parametri del modello sono stimati con grande incertezza. Di conseguenza risulta impossibile descrivere la variabilità inter-individuale e quindi i modelli di simulazione di vecchia generazione sono stati usati solo come modelli "medi", in grado cioè di simulare solo la dinamica media della popolazione. Tra i simulatori di vecchia generazione vogliamo ricordare quelli pubblicati negli anni Settanta-Novanta, ed usati, ad es. per esaminare la prestazione di vari algoritmi di controllo per pancreas artificiale e l'efficacia di diverse vie di infusione di insulina (5-12).

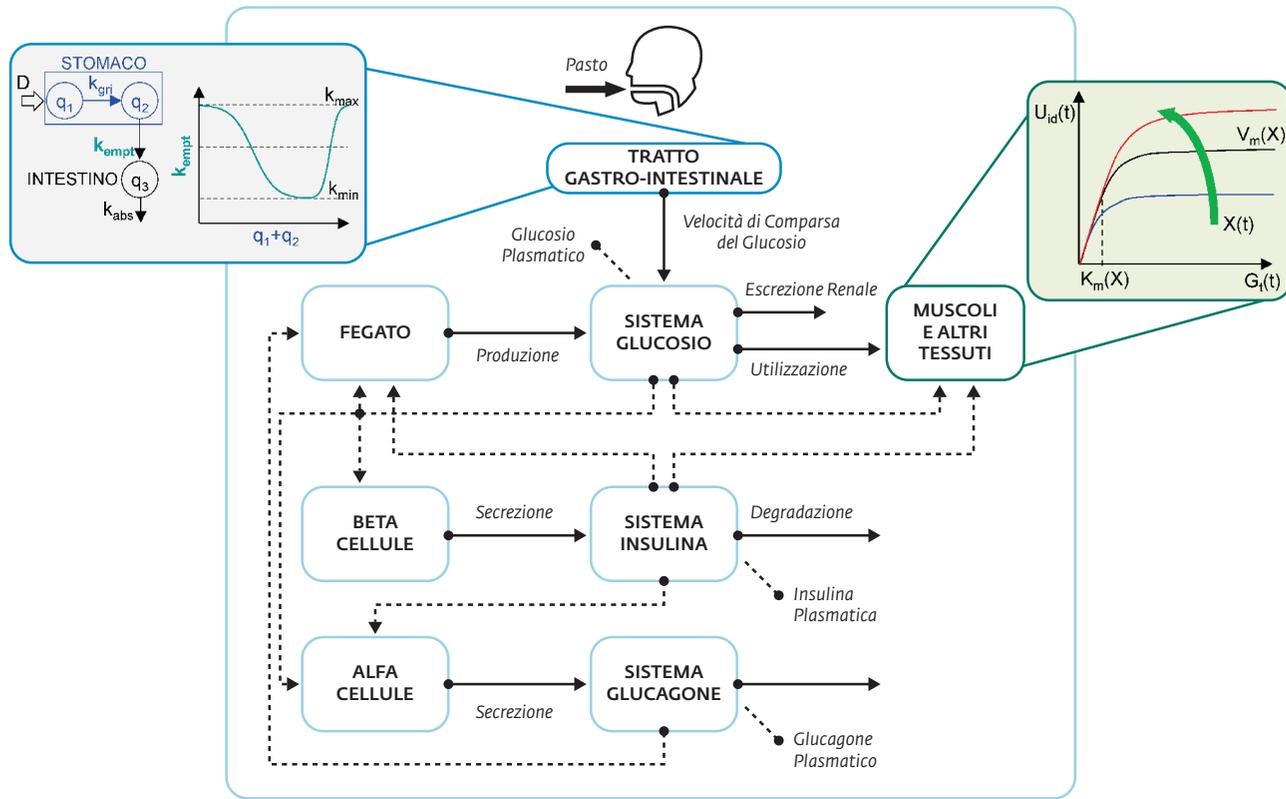
Tenere in conto la variabilità inter-individuale è cruciale per eseguire esperimenti in silico realistici (13), ad es. per: i) ottenere l'approvazione di protocolli sperimentali da parte di agenzie regolatorie, quali la Food and Drug Administration (FDA) (14); ii) testare l'efficacia di nuove molecole di insulina (15-16); iii) testare l'efficacia di algoritmi di decisione basati sull'impiego di sensori sottocutanei continui della glicemia (continuous glucose monitoring, CGM) (17-18); iv) progettare e testare la robustezza di algoritmi di controllo per il pancreas artificiale in scenari estremi, in quanto non è sufficiente che il controllore regoli bene la glicemia sulla media della popolazione, ma è necessario che sia sicuro ed efficace anche in soggetti con parametri ai limiti estremi della variabilità inter-individuale (19-20).

L'introduzione di una nuova metodologia per studiare il metabolismo post-prandiale del glucosio, basata su un protocollo con tre traccianti e sulla tecnica del clamp tracciante-tracciato, ha consentito di misurare, in aggiunta alle concentrazioni di glucosio e insulina, anche i più importanti flussi del sistema, quali la velocità di comparsa del glucosio dal pasto, la produzione endogena di glucosio, l'utilizzazione di glucosio e la secrezione di insulina (21) (si veda anche la recente perspective di più facile lettura (22)). Tale protocollo è stato eseguito in 204 soggetti normali (23) e in 51 con diabete di tipo 2 (24-26) ed ha consentito l'identificazione di un modello di simulazione "massimo" che descriveremo a grandi linee in questo lavoro. È stato anche possibile mettere a punto un simulatore del diabete di tipo 1 di nuova generazione in grado di descrivere la variabilità inter-individuale che, in virtù delle sue caratteristiche, è stato accettato nel 2008 dalla FDA come sostituto dei trial pre-clinici (sull'animale) per certe terapie insuliniche incluso il pancreas artificiale (14). Anche di questo simulatore descriveremo i fondamenti e lo stato dell'arte. Due impieghi, rispettivamente, del simulatore del diabete di tipo 1 (T1D) e tipo 2 (T2D) aiuteranno ad esemplificare meglio l'importanza dei trial in silico.

IL SIMULATORE DEL SOGGETTO NORMALE: UN CASO DI SERENDIPITÀ

Il simulatore del soggetto normale è nato quasi per caso. Nel 2006, nell'ambito di un progetto finanziato dal National Institutes of Health (NIH) che aveva lo scopo di studiare gli effetti della somministrazione per due anni delle "pillole della giovinezza" in donne e uomini anziani (27), 204 soggetti normali sono stati studiati con un pasto misto standard con triplo tracciante, permettendo di misurare le concentrazioni plasmatiche di glucosio ed insulina e di stimare, in modo quasi modello-indipendente con la tecnica del clamp tracciante-tracciato, i più importanti flussi del sistema, quali la velocità di comparsa nel plasma dei carboidrati ingeriti con il pasto, la produzione endogena di glucosio, l'utilizzazione del glucosio e la secrezione di insulina (23). La ricchezza di informazioni contenute in questo set di dati si è rivelata fondamentale per lo sviluppo di un modello a larga scala del metabolismo post-prandiale del glucosio, che sarebbe stato impossibile costruire a partire dai soli dati di concentrazione plasmatica di glucosio ed insulina. In ogni individuo è stato identificato con una strategia Bayesiana un modello costituito da 18 equazioni differenziali e 33 parametri. Il modello (Fig. 1) è descritto nel dettaglio in (28-29) e mette in relazione le misure di concentrazione plasmatica di glucosio, insulina e glucagone con i flussi post-prandiali di glucosio di insulina e glucagone. Lo schema a blocchi di figura 1 evidenzia la suddivisione in sottosistemi che interagiscono tra di loro attraverso flussi di materia (linee continue) e segnali di controllo (linee tratteggiate). A titolo di esempio, in figura 1 viene graficamente descritto il modello dell'utilizzazione del glucosio da parte dei tessuti insulino-dipendenti, che è stato assunto dipendere dalla quantità di glucosio nei tessuti con una legge non lineare di tipo Michaelis-Menten, dove i parametri V_m e K_m sono modulati dall'azione dell'insulina in un compartimento remoto (30). Sempre in figura 1 viene anche schematicamente descritto il passaggio del glucosio attraverso il tratto gastro-intestinale con un modello a tre compartimenti: i primi due rap-

Figura 1 ♦ Il simulatore del soggetto normale. In evidenza, il modello dell'utilizzazione del glucosio da parte dei tessuti insulino-dipendenti (in verde) e il modello del tratto gastro-intestinale (in grigio)



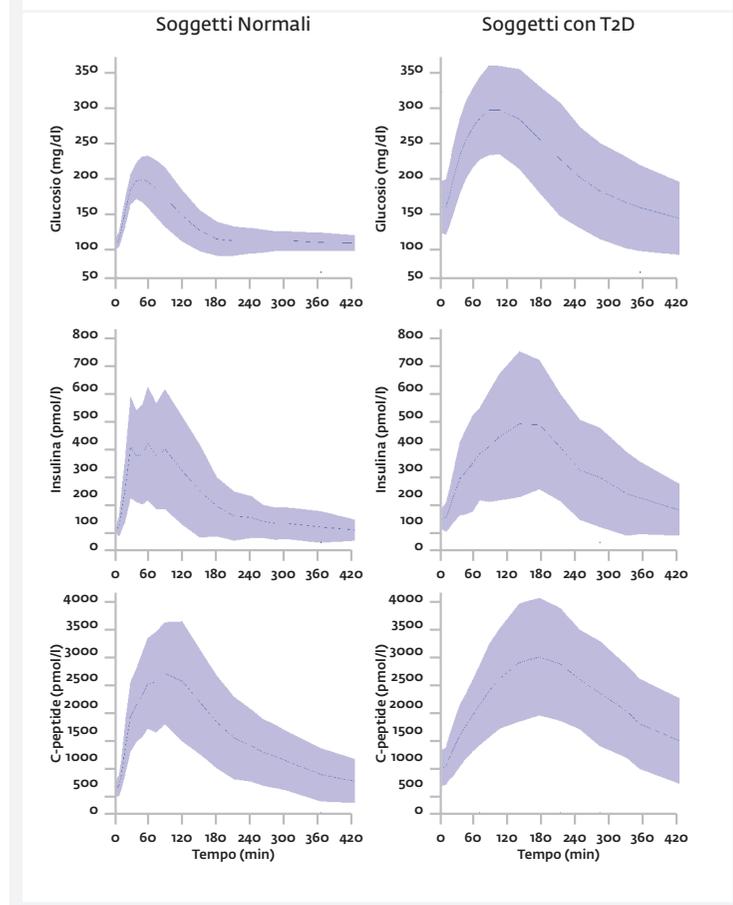
presentano lo stomaco (fase solida e fase liquida) ed il terzo l'intestino; la velocità di triturazione (k_{gr}) e la velocità di assorbimento intestinale (k_{abs}) sono ipotizzate costanti, mentre la velocità di svuotamento gastrico (k_{empt}) è dipendente in maniera non lineare dalla quantità di glucosio nello stomaco.

I profili medi e la variabilità delle concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide misurati nei 204 soggetti normali sono mostrati in figura 2 (pannelli di sinistra): è evidente come la variabilità, anche in una popolazione di soggetti normali, in condizioni controllate quali quelle ottenibili in pazienti ospedalizzati, sia molto elevata. Dalle stime dei parametri del modello nei 204 soggetti è stata ricavata una descrizione della loro variabilità inter-individuale nella popolazione normale: la distribuzione di probabilità congiunta dei parametri del modello. Da questa è stato possibile generare un qualsivoglia numero di soggetti virtuali campionando la suddetta distribuzione in modo casuale ed ottenendo così una "popolazione virtuale" di soggetti sani.

IL SIMULATORE DEL SOGGETTO CON DIABETE DI TIPO 1

Nel settembre 2006 la Juvenile Diabetes Research Foundation (JDRF) ha lanciato il progetto "Artificial Pancreas" ed ha finanziato un consorzio di centri universitari negli USA e in Europa per promuovere la ricerca sul controllo in catena chiusa della glicemia (il cosiddetto Pancreas Artificiale, PA). A quel tempo la FDA richiedeva la dimostrazione della sicurezza e fattibilità di un PA con test eseguiti nell'animale, per es. cane o maiale, prima di consentire la sperimentazione nell'uomo. Quest'approccio è ben esemplificato in due lavori che mostrano l'impiego del PA sviluppato da Medtronic prima in 8 cani resi diabetici (31) e successivamente in 10 soggetti con T1D (32). Tuttavia anche all'epoca era evidente quanto gli studi nell'animale fossero di per sé limitativi oltre che costosi da eseguire, e che un simulatore del T1D avrebbe permesso dei test preclinici efficienti delle diverse strategie di controllo, fornendo preziose indicazioni per

Figura 2 ♦ **Profili temporali di glucosio, insulina e C-peptide (media ± deviazione standard) nei soggetti normali (pannelli di sinistra) e con diabete di tipo 2 (T2D, pannelli di destra)**



la successiva sperimentazione clinica, ad es. scaricando immediatamente gli algoritmi di controllo non sicuri e non robusti.

Abbiamo quindi iniziato a sviluppare, in collaborazione con i colleghi dell'Università della Virginia (UVA), con cui stavamo già collaborando su diversi progetti riguardanti le tecnologie per il diabete, un ambiente di simulazione basato sui dati a disposizione, sfruttando l'esperienza pluriennale nel campo della modellistica del glucosio del nostro gruppo di ricerca.

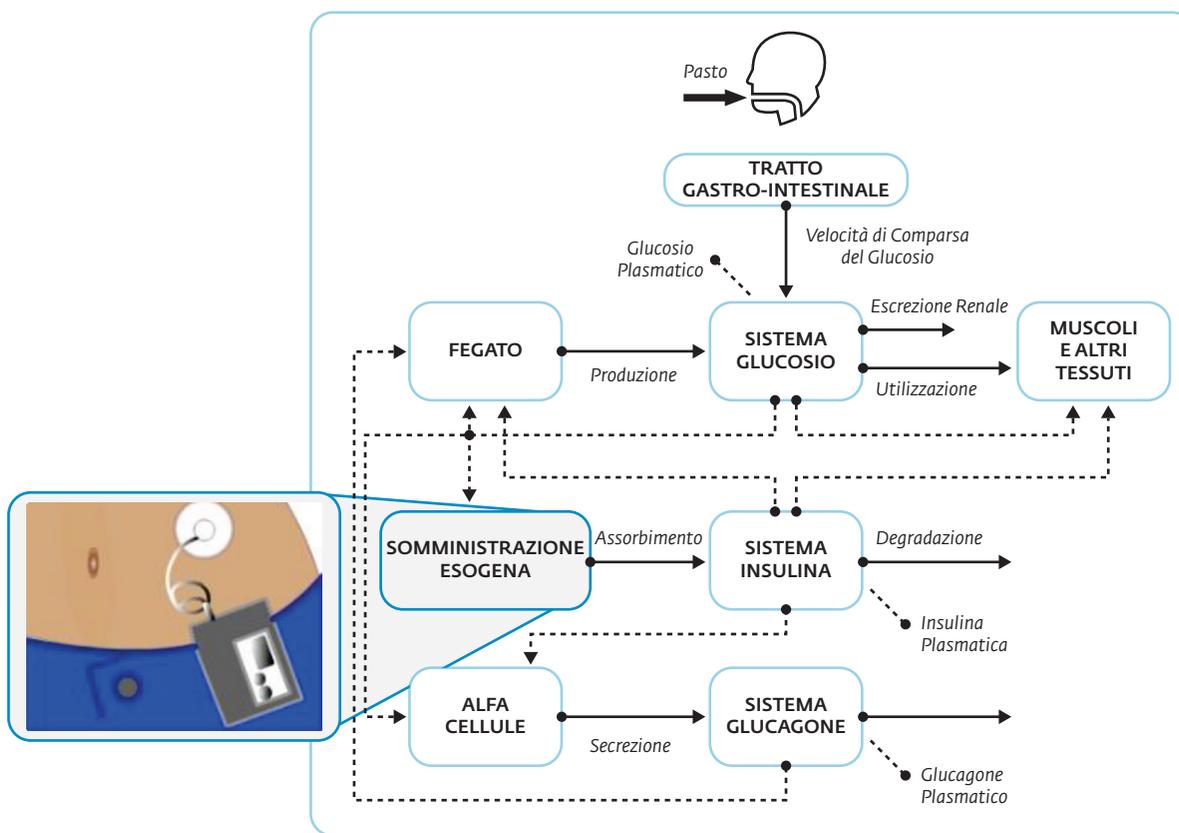
La prima modifica necessaria al simulatore del soggetto normale (28) è stata la sostituzione del modello della secrezione di insulina con un modello della cinetica sottocutanea dell'insulina somministrata con un per via esogena, ossia di un microinfusore (Fig. 3). Data la mancanza, nel 2006, di studi con traccianti in soggetti T1D simili a quelli descritti sopra per i soggetti normali, l'ostacolo più difficile da superare è stato la descrizione della variabilità inter-individuale. Così, per ottenere la distribuzione congiunta dei parametri del modello nel T1D, abbiamo mantenuto le covarianze ottenute nel soggetto normale e introdotto alcune modifiche ai valori medi dei parametri, basandoci su dati di letteratura. Il modello di simulazione del T1D è risultato composto da 13 equazioni differenziali e 26 parametri (Fig. 3). Una volta messo a punto il modello del

T1D, ne è stata testata la validità confrontando le simulazioni con alcuni set di dati di letteratura sul metabolismo post-prandiale del glucosio in soggetti adulti, adolescenti e bambini con T1D.

Attualmente il simulatore Padova/Virginia contiene 300 soggetti "virtuali": 100 adulti, 100 adolescenti e 100 bambini, che riproducono la variabilità della risposta glicemica post-prandiale nella popolazione T1D. Inoltre, il simulatore contiene un modello del sensore per il monitoraggio in continua della glicemia ed un modello dell'assorbimento sottocutaneo dell'insulina. Con questa tecnologia è possibile testare in silico qualsiasi scenario con pasti ed infusioni di insulina, prima dell'applicazione clinica.

Dopo alcune revisioni, nel gennaio 2008, questo simulatore è stato accettato dalla FDA come sostituto della sperimentazione animale per il test preclinico delle strategie di controllo di PA ed è stato adottato dal consorzio JDRE. Il simulatore è stato immediatamente impiegato per testare in silico un nuovo controllore predittivo basato su modello e, quattro mesi dopo, nell'aprile 2008, l'FDA ha approvato la richiesta di sperimentazione nell'uomo di un dispositivo di ricerca (investigational device exemption, IDE) in un trial clinico per il controllo in catena chiusa della glicemia. Questo IDE è stato ottenuto esclusivamente sulla base di test in silico sulla sicurezza ed efficacia dell'algoritmo di controllo per PA, creando quindi un precedente per tutti i futuri studi (33). Quindi un ricercatore che intenda testare il proprio algoritmo di controllo nell'uomo può eseguire una serie di trial in silico usando il simulatore ed inviare i risultati delle simulazioni alla FDA. Sulla base di ciò, la FDA decide se approvare o meno lo studio clinico nell'uomo, o richiedere integrazioni o modifiche per soddisfare alcune specifiche richieste. La procedura di valutazione in silico è teoricamente molto snella e permette al ricercatore, anche in caso di responso parzialmente negativo da parte della FDA, di apporta-

Figura 3 ♦ Il simulatore del soggetto con diabete di tipo 1. In evidenza, il blocco della somministrazione esogena di insulina mediante un microinfusore



re rapidamente le modifiche richieste al fine di ottenere l'autorizzazione allo studio clinico, senza la necessità di dover eseguire nuovamente una serie di laboriosi e costosi esperimenti sull'animale.

Grazie al fatto di essere stato "FDA-accepted", il simulatore del diabete di tipo 1 è stato largamente impiegato finora, oltre che dai componenti del consorzio JDRE, da 32 gruppi di ricerca universitari e da un certo numero di aziende farmaceutiche e biotecnologiche che operano nel campo del T1D. I risultati delle simulazioni sono stati finora presentati in più di 60 articoli pubblicati in giornali con *peer review*. In totale, sono stati ufficialmente valutati, da marzo 2008, 140 algoritmi di controllo, per un totale di 16 progetti di ricerca sul PA, che hanno ottenuto un IDE dalla FDA per usare nell'uomo gli algoritmi messi a punto in silico.

Di conseguenza è emerso il seguente paradigma: i) la modellazione in silico fornisce risultati preclinici credibili e può sostituire alcuni esperimenti nell'animale; e ii) il test in silico fornisce i risultati in tempi molto più rapidi ed a costi significativamente minori di quelli richiesti dalla sperimentazione animale. Nel campo della modellistica e della ricerca diabetologica il simulatore T1D ha segnato una rivoluzione: per la prima volta un modello è stato accettato dalla FDA come sostituto dei trial nell'animale per testare trattamenti insulinici.

Nel 2014 nuovi dati sulle dinamiche in ipoglicemia e sulla contro-regolazione hanno permesso di aggiornare il modello di simulazione (29). Questa nuova versione del simulatore si è dimostrata capace di riprodurre i profili glicemici di un database di 24 soggetti T1D studiati a cena e colazione in due occasioni (catena aperta e chiusa), per un totale di 96 tracce postprandiali di glucosio (34). Più recentemente, sulla base di dati di 19 soggetti T1D studiati con la tecnica del triplo tracciante durante la giornata, è stato introdotto un altro importante miglioramento, ossia la presenza di un pattern soggetto-specifico della variazione diurna della sensibilità insulinica, un parametro chiave che quantifica l'abilità dell'insulina nel sopprimere la produzione di glucosio nel fegato e di promuoverne l'utilizzazione da parte dei

tessuti. Questo ha permesso l'inclusione nel simulatore di variazioni circadiane della sensibilità insulinica, rendendo questa tecnologia impiegabile per la simulazione di scenari con pasti multipli e permettendo quindi una progettazione più robusta degli algoritmi di controllo per PA (35).

Un'ulteriore validazione del simulatore è stata eseguita confrontando i risultati in silico con i dati di uno studio svolto presso 6 centri di ricerca europei, in cui 47 soggetti T1D hanno partecipato ad un trial clinico con 3 ricoveri di 23 ore ciascuno, uno con controllo in catena aperta e due con controllo in catena chiusa. Il protocollo cercava di riprodurre in ospedale la vita reale, con tre pasti al giorno (colazione, pranzo e cena). Sono stati misurati 141 profili giornalieri delle concentrazioni plasmatiche di glucosio ed insulina. Per identificare il modello del simulatore su questi dati, è stato usato un approccio Bayesiano, che sfrutta sia l'informazione fornita dai dati sperimentali sia le conoscenze a priori sui parametri del modello, rappresentate dalla distribuzione congiunta dei parametri contenuta nel simulatore stesso. L'identificazione del simulatore su un soggetto specifico fornisce un "clone" in silico della persona reale; quindi questo nuovo approccio permette, in linea di principio, di "clonare" un ampio numero di individui con T1D e di passare da uno scenario con pasto singolo ad uno scenario con pasti multipli (colazione/pranzo/cena) che tenga conto delle variazioni intra-individuali dell'assorbimento del glucosio e della sensibilità insulinica (36). Questa nuova versione del simulatore T1D è stata ed è ancora molto usata per progettare e testare una nuova generazione di algoritmi di PA che, ricorrendo a particolari tecniche adattative e di individualizzazione, mirano a ottenere un controllo paziente-specifico, ottimizzato sulla base di determinati parametri del paziente, e in grado di aggiornarsi in base al comportamento passato del soggetto.

Caso di studio

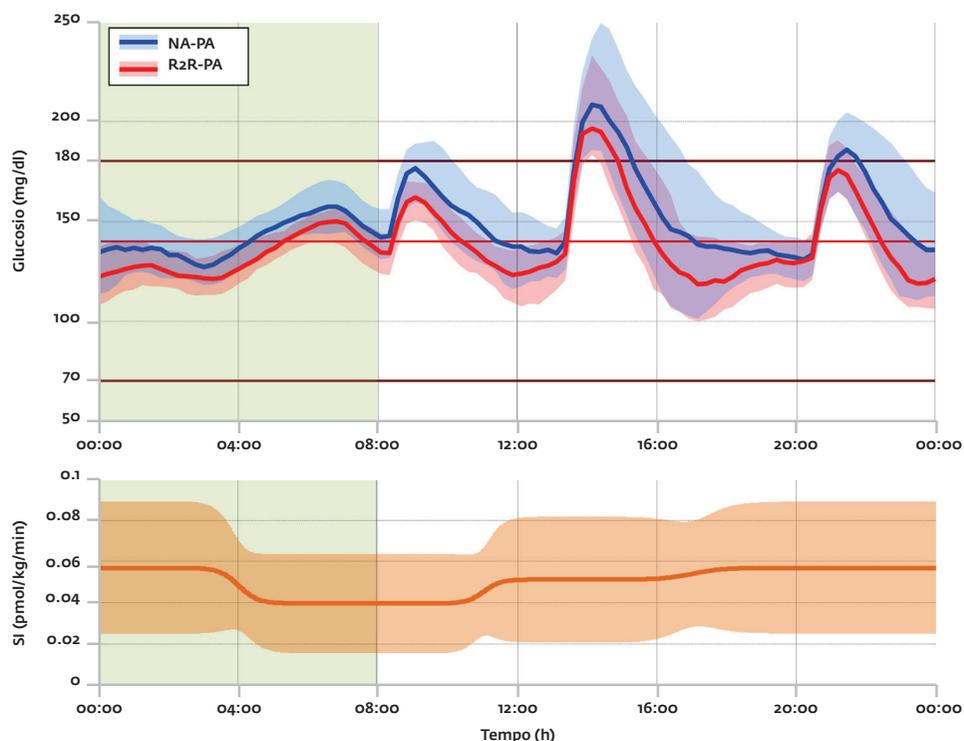
Un esempio di applicazione recente è descritto in (37), dove il simulatore è stato impiegato per il test in silico di un algoritmo di controllo adattativo di PA basato su un approccio Run-to-Run (R2R). L'approccio R2R è una tecnica di "learning", ossia in grado di acquisire informazioni sulla performance di controllo in un intervallo di osservazione ("run") e di aggiornare le variabili di controllo nel run successivo. In (37), il R2R è stato applicato ad un algoritmo di controllo predittivo (38), allo scopo di operare un adattamento del profilo notturno di infusione basale di insulina e dei rapporti insulina-carboidrati (CR) durante il giorno. Nello specifico, ad ogni run, l'algoritmo R2R applica un aggiornamento del profilo basale o dei CR, mirando innanzitutto ad una riduzione del tempo trascorso in ipoglicemia e, in seconda istanza, ad un aumento del tempo trascorso nel range euglicemico. L'utilizzo del simulatore ha permesso di confrontare la performance del controllo ottenuta con un algoritmo di controllo non adattativo (NA-PA) con quella ottenuta dallo stesso algoritmo munito di R2R (R2R-PA). In particolare, è stato simulato uno scenario di un mese in cui, sfruttando l'ultima versione del simulatore che descrive la tempo-varianza della sensibilità insulinica, è stato possibile apprezzare come l'approccio R2R permetta un miglior controllo glicemico rispetto ad un controllore non adattativo: come illustrato in figura 4, si può infatti notare come, dopo un mese di controllo in R2R-PA, la glicemia giornaliera risulti inferiore in media e con una variabilità più contenuta rispetto al controllo con NA-PA, e il tempo trascorso nel range euglicemico maggiore.

IL SIMULATORE DEL SOGGETTO CON DIABETE DI TIPO 2

Il modello del soggetto diabetico di tipo 2 (T2D) è strutturalmente identico a quello del soggetto normale (Fig. 5). Esso è stato identificato con la stessa metodologia impiegata nel soggetto normale, su un data base di 51 soggetti T2D studiati con il protocollo del triplo tracciante (24-26). I profili medi e la variabilità delle concentrazioni di glucosio, insulina e C-peptide misurati sono mostrati in figura 2 (pannelli di destra). Come atteso, le stime di alcuni parametri chiave del modello, come la sensibilità insulinica e la responsività beta-cellulare, sono risultate significativamente inferiori nei soggetti T2D rispetto ai normali (Fig. 6).

La disponibilità di un simulatore del T2D è altrettanto importante quanto quello del T1D, vista la prevalenza del T2D e le sue diverse eziologie (39). Infatti i soggetti T2D sono spesso trattati con farmaci e circa il 10% di loro fa anche uso di

Figura 4 ♦ **Controllo glicemico ottenuto con R2R-PA (in blu) vs. NA-PA (in rosso). I profili temporali di glucosio sono rappresentati come media \pm deviazione standard (pannello superiore). Profili tempo-varianti di sensibilità insulinica nei 100 adulti virtuali, rappresentati come media \pm deviazione standard (pannello inferiore)**



insulina. Con il simulatore del soggetto T2D si possono quindi testare tutta una serie di farmaci e insuline di nuova formulazione, permettendo di valutare tutta una serie di condizioni sperimentali, eventualmente escludendo quelle che possono causare effetti indesiderati, prima di procedere alla sperimentazione in vivo. A tale scopo, nel simulatore T2D è stato introdotto un modulo che descrive la farmacocinetica-farmacodinamica (PK-PD) del farmaco.

Caso di studio

Il simulatore T2D è stato recentemente utilizzato per il test in silico di una nuova insulina denominata Technosphere® Insulin (TI) (MannKind Corporation, Valencia, CA) (40). Questa insulina somministrata per via inalatoria si presenta come una polvere secca formata da microparticelle di insulina umana ricombinante (40-41) che, a seguito dell'inalazione, raggiungono rapidamente gli alveoli, permettendo un rapido assorbimento nella circolazione sistemica, con un picco di concentrazione attorno ai 12-15 min ed una durata di circa 2-3 ore (42-43). Questo rapido assorbimento la candida come potenziale alternativa alla somministrazione di insulina per via sottocutanea; tuttavia, la sua breve durata d'azione fa sì che una singola dose del farmaco non sia sufficiente a controllare in maniera ottimale la glicemia postprandiale, rendendo di fatto necessario valutare diversi regimi di dosaggio e diverse regole di titolazione atte a stabilire la dose ottima di TI. Grazie al simulatore T2D è stato quindi possibile testare in breve tempo diverse combinazioni di dosaggio di TI, bypassando, almeno in una prima fase, la sperimentazione clinica sull'uomo. Dapprima è stato identificato un modello che descrivesse la PK di TI su una base di dati clinici a nostra disposizione; dalla distribuzione congiunta dei parametri stimati è stato possibile generare un set di parametri di PK individualizzato per ogni soggetto virtuale. Il simulatore così ottenuto era in grado di riprodurre la variabilità glicemica osservata in una popolazione T2D trattata con TI, come illustrato in figura 7. Successivamente è stato condotto un estensivo studio in simulazione, in cui i soggetti virtuali sono stati sottoposti a più di 200 diversi scenari sperimentali dove, di volta in volta, si è valutata la risposta glicemica al pasto in relazione ad una determinata dose di TI ed a un determinato regime di dosaggio,

Figura 5 ♦ Il simulatore del soggetto con diabete di tipo 2. In evidenza, il modulo che permette di includere un generico modello di farmacocinetica-farmacodinamica (PK-PD)

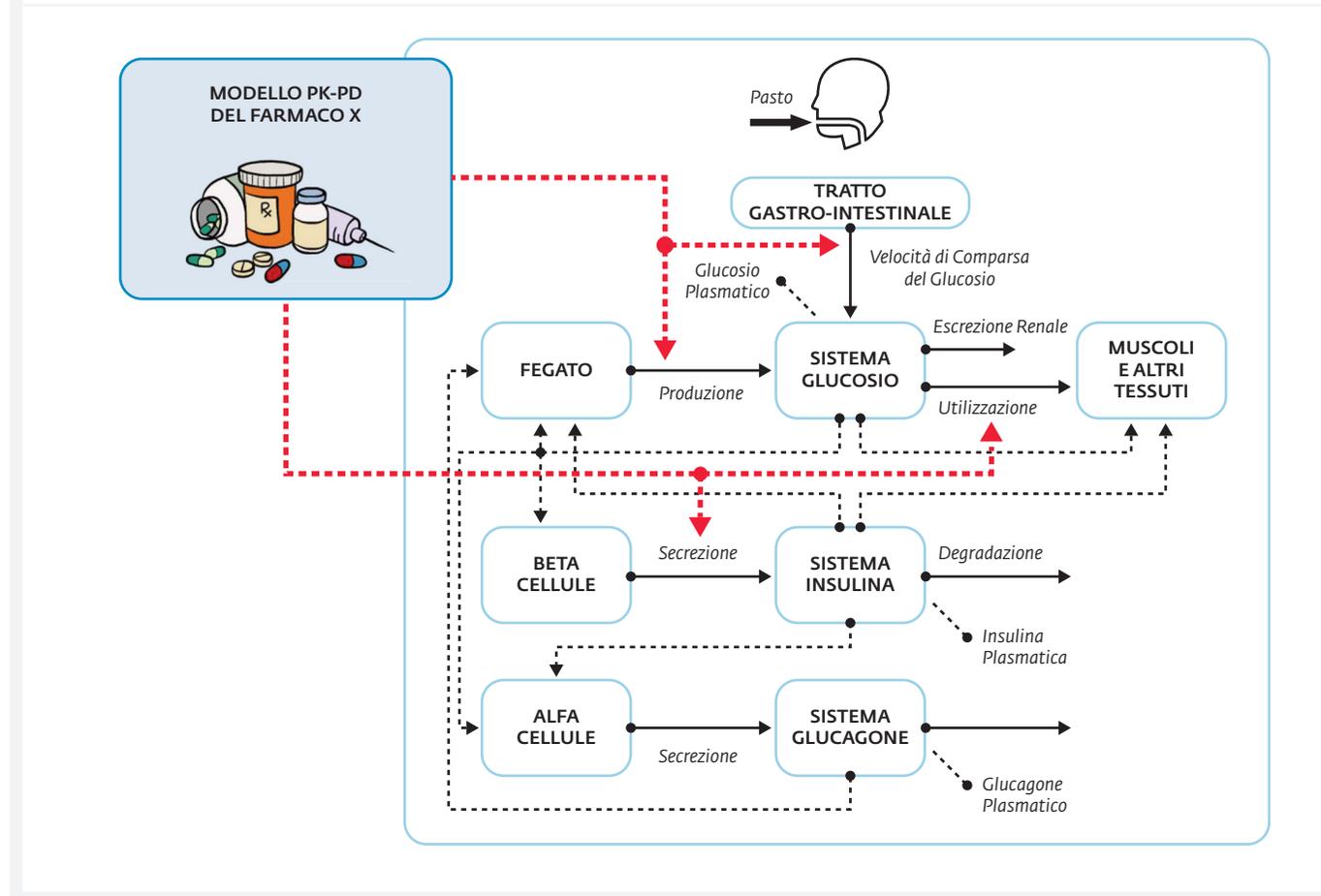
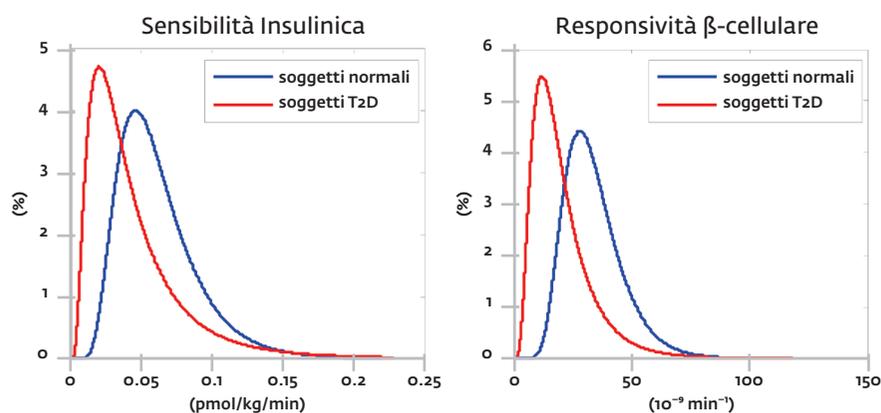
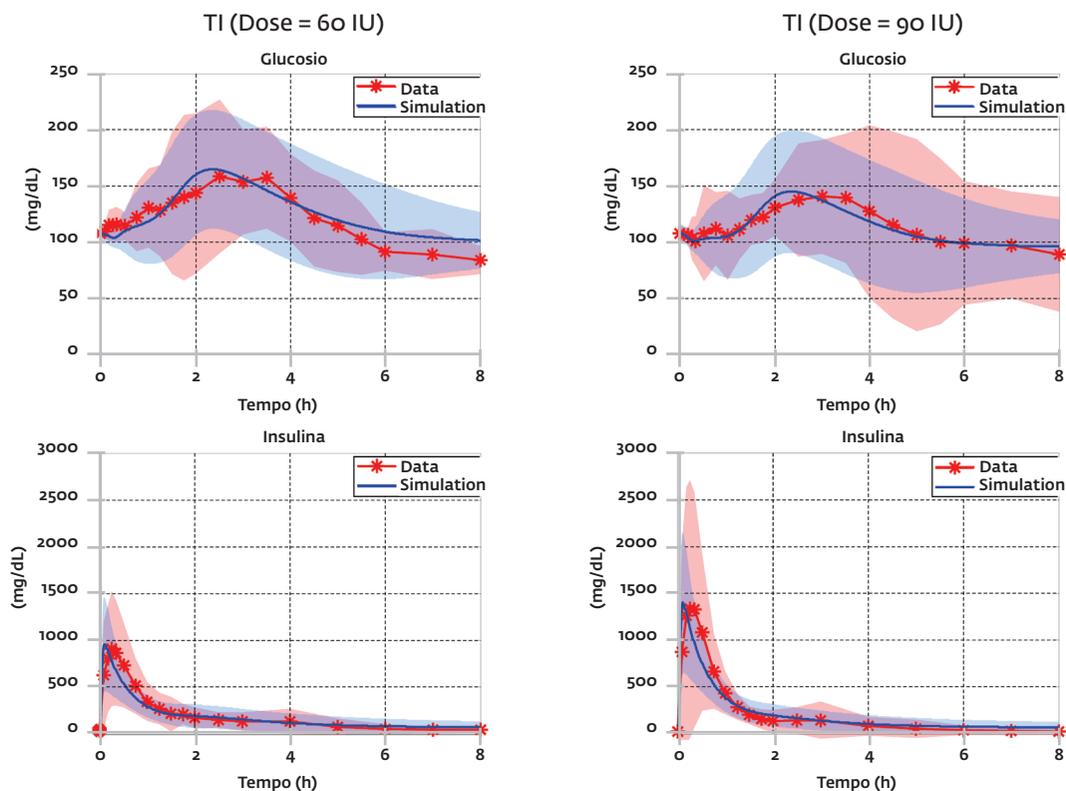


Figura 6 ♦ Distribuzione della sensibilità insulinica (pannello di sinistra) e della responsività β -cellulare (pannello di destra) nei soggetti normali (in blu) e con diabete di tipo 2 (in rosso)



ad es. dosaggio ritardato rispetto all'istante del pasto, oppure dosaggio "split", con una prima parte della dose totale somministrata in concomitanza del pasto, e una seconda parte somministrata successivamente, ad esempio a 15 o 30 minuti dal pasto. I risultati mostrano un miglioramento del controllo glicemico con trattamento con TI, in particolar

Figura 7 ♦ Dati (media ± deviazione standard, in rosso) e simulazioni (media ± deviazione standard, in blu) di glucosio (pannelli superiori) e insulina (pannelli inferiori) a seguito della somministrazione di TI con un dosaggio di 60 IU (pannelli di sinistra) e 90 IU (pannelli di destra)



modo in regime di dosaggio “split”. Allo scopo di consolidare i risultati ottenuti in queste simulazioni, sarà comunque necessaria una fase di sperimentazione in vivo.

CONCLUSIONI

L’uso di modelli “massimi” o di simulazione può essere di grande aiuto sia nello sviluppo di dispositivi medici che di farmaci. Nell’ambito del diabete, in particolare, sono di grandissima rilevanza i trial clinici in silico come alternativa a quelli in vivo. Tuttavia un elemento chiave che ha limitato, di fatto fino a poco tempo fa, l’impiego di modelli di simulazione in questo ambito è la capacità predittiva di questi modelli, la quale non deve essere limitata alla media di popolazione ma deve essere capace di descrivere la variabilità inter-individuale all’interno della popolazione. Grazie all’introduzione di un nuovo protocollo sperimentale che ha consentito di misurare, in aggiunta alle concentrazioni di glucosio ed insulina, anche i più importanti flussi del metabolismo del glucosio post-prandiale, è stato sviluppato un modello a larga scala nel soggetto normale, che ha permesso di descrivere la variabilità inter-individuale nella popolazione normale.

Con il lancio nel 2006 del progetto PA da parte della JDRF è avvenuto un primo impiego del modello di simulazione in quest’ambito. A quel tempo la FDA richiedeva la dimostrazione della sicurezza e fattibilità dei sistemi PA con test eseguiti nell’animale, test che sono di per sé limitativi oltre che costosi da eseguire. Era evidente che un simulatore del diabete di tipo 1 (T1D) avrebbe permesso un test preclinico più efficiente delle diverse strategie di controllo. Introducendo alcune modifiche al simulatore del soggetto normale, è stato messo a punto il simulatore del T1D che comprende una popolazione di “pazienti virtuali”, e ne è stata testata la validità confrontando le simulazioni con alcuni set di dati

reali. Nel 2008 questo simulatore è stato accettato dalla FDA come sostituto della sperimentazione animale per il test preclinico delle strategie di controllo del PA segnando una rivoluzione nel campo della modellistica e della ricerca sul T1D: per la prima volta un modello implementato su un calcolatore è stato accettato da un'agenzia regolatoria come sostituto dei trial nell'animale per testare trattamenti insulinici.

Un ulteriore impiego dei modelli di simulazione nei trial in silico è stato ottenuto mediante lo sviluppo del simulatore del T2D, il quale permette di testare tutta una serie di farmaci ed insuline di nuova formulazione utili alla terapia del T2D in diverse condizioni sperimentali al fine di valutare quali possano causare effetti indesiderati, prima di procedere alla sperimentazione in vivo.

Infine, è importante ricordare che i trial in silico non sono sostitutivi dei trial in vivo nell'uomo, ma essi forniscono un aiuto fondamentale nello sviluppo di dispositivi medici e farmaci, scartando scenari estremamente complessi e/o pericolosi e fornendo risultati in tempi molto più rapidi e a costi significativamente minori di quelli richiesti da sperimentazione animale.

BIBLIOGRAFIA

1. Cobelli C, Dalla Man C, Sparacino G, Magni L, De Nicolao G, Kovatchev BP. Diabetes: Models, Signals, and Control. *IEEE Rev Biomed Eng* 2: 54-96, 2009.
2. Cobelli C, Dalla Man C, Pedersen MG, Bertoldo A, Toffolo G. Advancing Our Understanding of the Glucose System via Modeling: A Perspective. *IEEE Trans Biomed Eng* 61(5): 1577-1592, 2014.
3. Grodsky GM. A threshold distribution hypothesis for packet storage of insulin and its mathematical modeling. *J Clin Invest* 51: 2047-2059, 1972.
4. Sedaghat AR, Sherman A, and Quon MJ. A mathematical model of metabolic insulin signaling pathways. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E1084-E1101, 2002.
5. Srinivasan R, Kadish AH, Sridhar R. A mathematical model for the control mechanism of free fatty acid-glucose metabolism in normal humans. *Comput Biomed Res* 3: 146-166, 1970.
6. Foster RO, Soeldner JS, Tan MH, Guyton J.R. Short term glucose homeostasis in man: a system dynamic model. *J Dyn Sys Meas* 95(3): 308-314, 1973.
7. Cobelli C, Federspil G, Pacini G, Salvan A, Scandellari C. An integrated mathematical model of the dynamics of blood glucose and its hormonal control. *Math Biosci* 58: 27-60, 1982.
8. Cobelli C, Mari A. Validation of mathematical models of complex endocrine-metabolic systems: a case study on a model of glucose regulation. *Med Biol Eng Comput* 21: 390-399, 1983.
9. Salzsieder E, Albrecht G, Fischer U, Freys EJ. Kinetic modeling of the gluco regulatory system to improve insulin therapy. *IEEE Trans Biomed Eng* 32: 846-855, 1985.
10. Sorensen JT. A Physiologic Model of Glucose Metabolism in Man and Its Use to Design and Assess Improved Insulin Therapies for Diabetes. PhD thesis, Massachusetts Institute of Technology, Department of Chemical Engineering, 1985.
11. Lehmann ED, Deutsch T. A physiological model of glucose-insulin interaction in type 1 diabetes mellitus. *J Biomed Eng* 14: 235-242, 1992.
12. Andreassen S, Benn JJ, Hovorka R, Olesen KG, Carson E.R. A probabilistic approach to glucose prediction and insulin dose adjustment: description of metabolic model and pilot evaluation study. *Comput Methods Programs Biomed* 41: 153-165, 1994.
13. Viceconti M, Cobelli M, Haddad T, Himes A, Kovatchev B, Palmer M. In silico assessment of biomedical products: the conundrum of rare but not so rare events. *J Engineering in Medicine*, 2016 (under revision).
14. Kovatchev BP, Breton M, Dalla Man C, Cobelli C. In silico preclinical trials: a proof of concept in closed-loop control of type 1 diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 3: 44-55, 2009.
15. Visentin R, Klabunde T, Grant M et al.: Incorporation of inhaled insulin into the FDA accepted University of Virginia/Padova Type 1 Diabetes Simulator. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 3250-3253, 2015.

16. Visentin R, Giegerich C, Jäger R, Dahmen R, Boss A, Grant M, Dalla Man C, Cobelli C, Klabunde T. Improving Efficacy of Inhaled Technosphere Insulin (Afrezza) by Postmeal Dosing: In-silico Clinical Trial with the University of Virginia/Padova Type 1 Diabetes Simulator. *Diabetes Technol Ther* 18: 574-585, 2016.
17. FDA Advisory Panel Votes to Recommend Non-Adjunctive Use of Dexcom G5 Mobile CGM., *Diabetes Technol Ther* 18: 512-516, 2016.
18. Edelman SV. Regulation Catches Up to Reality: Nonadjunctive Use of Continuous Glucose Monitoring Data. *J Diabetes Sci Technol*, 2016.
19. Soru P, De Nicolao G, Toffanin, Dalla Man C, Cobelli C, Magni L, and on behalf of the AP@home consortium. MPC based Artificial Pancreas: strategies for individualization and meal compensation. *Annual Review in Control* 36: 118-128, 2012.
20. Toffanin C, Messori M, Di Palma F, De Nicolao G, Cobelli C, Magni L. Artificial Pancreas: Model predictive control design from clinical experience. *J Diabetes Sci Technol* 7(6): 1470-1483, 2013.
21. Basu R, Di Camillo B, Toffolo G, Basu A, Shah P, Vella A, Rizza R, Cobelli C. Use of a novel triple-tracer approach to assess postprandial glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284(1): E55-69, 2003.
22. Rizza RA, Toffolo G, Cobelli C. Accurate measurement of postprandial glucose turnover: why is difficult and how can it be done (relatively) simply? *Diabetes* 65(5): 1133-1145, 2016.
23. Basu R, Dalla Man C, Campioni M, Basu A, Klee G, Toffolo G, Cobelli C, and Rizza RA. Effects of age and sex on postprandial glucose metabolism: differences in glucose turnover, insulin secretion, insulin action, and hepatic insulin extraction. *Diabetes* 55(7): 2001-2014, 2006.
24. Bock G, Dalla Man C, Campioni M, Chittilapilly E, Basu R, Toffolo G, Cobelli C, Rizza R. Pathogenesis of pre-diabetes: mechanisms of fasting and postprandial hyperglycemia in people with impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance. *Diabetes* 55: 3536-3549, 2006.
25. Basu A, Dalla Man C, Basu R, Toffolo G, Cobelli C, Rizza RA. Effects of type 2 diabetes on insulin secretion, insulin action, glucose effectiveness, and postprandial glucose metabolism. *Diabetes Care* 32: 866-872, 2009.
26. Dalla Man C, Bock G, Giesler PD, Serra DB, Ligueros Saylan M, Foley JE, Camilleri M, Toffolo G, Cobelli C, Rizza RA, Vella A. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition by vildagliptin and the effect on insulin secretion and action in response to meal ingestion in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 32: 14-18, 2009.
27. Nair KS, Rizza RA, ÖBrien P, et al. Effect of two years dehydroepiandrosterone in elderly men and women and testosterone in elderly men on physiological performance, body composition and bone density. *New England Journal of Medicine* 355: 1647-1659, 2006.
28. Dalla Man C, Rizza RA, Cobelli C. Meal simulation model of the glucose-insulin system. *IEEE Trans Biomed Eng* 54: 1740-1749, 2007.
29. Dalla Man C, Micheletto F, Lv D, Breton M, Kovatchev B, Cobelli C. The UVA/Padova Type 1 Diabetes Simulator: New Features. *J Diabetes Sci Technol* 8(1): 26-34, 2014.
30. Yki-Jarvinen H, Young AA, Lamkin C, Foley JE. Kinetics of glucose disposal in whole body and across the forearm in man. *J Clin Invest* 79: 1713-1719, 1987.
31. Panteleon AE, Loutseiko M, Steil GM, Rebrin K. Evaluation of the effect of gain on the meal response of an automated closed-loop insulin delivery system. *Diabetes* 55: 1995-2000, 2006.
32. Steil GM, Rebrin K, Darwin C, Hariri F, Saad MF. Feasibility of automating insulin delivery for the treatment of type 1 diabetes. *Diabetes* 55: 3344-3350, 2006.
33. Kovatchev BP, Cobelli C, Renard E, et al. Multinational study of subcutaneous model-predictive closed-loop control in type 1 diabetes mellitus: summary of the results. *J Diabetes Sci Technol* 4: 1374-1381, 2010.
34. Visentin R, Dalla Man C, Kovatchev B, Cobelli C. The University of Virginia/Padova Type 1 Diabetes Simulator Matches the Glucose Traces of a Clinical Trial. *Diabetes Technol Ther* 16: 428-434, 2014.
35. Visentin R, Dalla Man C, Kudva YC, Basu A, Cobelli C. Circadian variability of insulin sensitivity: physiological input for in silico artificial pancreas. *Diabetes Technol Ther* 17: 1-7, 2015.

36. Visentin R, Dalla Man C, Cobelli C. One-Day Bayesian Cloning of Type 1 Diabetes Subjects: Towards a Single-Day UVA/Padova Type 1 Diabetes Simulator. *IEEE Trans Biomed Eng* 63: 2416-2424, 2016.
37. Toffanin C, Visentin R, Messori M, et al. Towards a Run-to-Run Adaptive Artificial Pancreas: In Silico Results. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2016 (in press).
38. Toffanin C, Messori M, Di Palma F, De Nicolao G, Cobelli C, Magni L. Artificial Pancreas: Model predictive control design from clinical experience. *J Diabetes Sci Technol* 7(6): 1470-1483, 2013.
39. Visentin R, Del Favero S, Facchinetti A, Micheletto F, Chan YY, Dalla Man C, Cobelli C. Prediabetes and Type 2 Diabetes Simulator: In Silico Testing of New Drugs. *Diabetes Technol Ther* 16: A49, 2014.
40. Visentin R, Klabunde T, Grant M, Dalla Man C, Cobelli C. Incorporation of Afrezza® into the Type 2 Diabetes Simulator. *Diabetes Technol Ther* 18: A129, 2016.
41. Leone-Bay A, Grant M. Technosphere insulin: mimicking endogenous insulin release. In: Rathbone M, Hadgraft J, Roberts M, Lane M, eds. *Modified-release drug delivery technology*. New York: Informa Healthcare USA, Inc. 2008, pp. 673-679.
42. Boss AH, Petrucci R, Lorber D. Coverage of prandial insulin requirements by means of an ultra-rapid-acting inhaled insulin. *J Diabetes Sci Technol* 6: 773-779, 2012.
43. Richardson PC, Boss AH: Technosphere insulin technology. *Diabetes Technol Ther* 9(1): S65-S72, 2007.