

a cura di Francesco Giorgino

Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi, Sezione di Medicina Interna, Endocrinologia, Andrologia e Malattie Metaboliche, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"

ARTICOLI SELEZIONATI E COMMENTATI

Il Diabete n. 4/2016

Francesco Giorgino, Anna Leonardini

Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi, Sezione di Medicina Interna, Endocrinologia, Andrologia e Malattie Metaboliche, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"

ARTICOLO N. 1

Development and validation of a deep learning algorithm for detection of diabetic retinopathy in retinal fundus photographs – Sviluppo e validazione di un algoritmo di "deep learning" per il rilevamento della retinopatia diabetica nelle fotografie del fondo oculare della retina

Gulshan V, Peng L, Coram M, Stumpe MC, Wu D, Narayanaswamy A, Venugopalan S, Widner K, Madams T, Cuadros J, Kim R, Raman R, Nelson PC, Mega JL, Webster DR.

JAMA. 2016 Nov 29.

La retinopatia diabetica è la più importante complicanza oculare del diabete mellito e costituisce nei paesi industrializzati la principale causa di cecità tra i soggetti in età lavorativa. La sintomatologia soggettiva (calo del visus) può essere scarsa o talora assente anche in presenza di gravi lesioni retiniche: l'adozione di efficaci programmi di screening è una premessa indispensabile per prevenirla con successo.

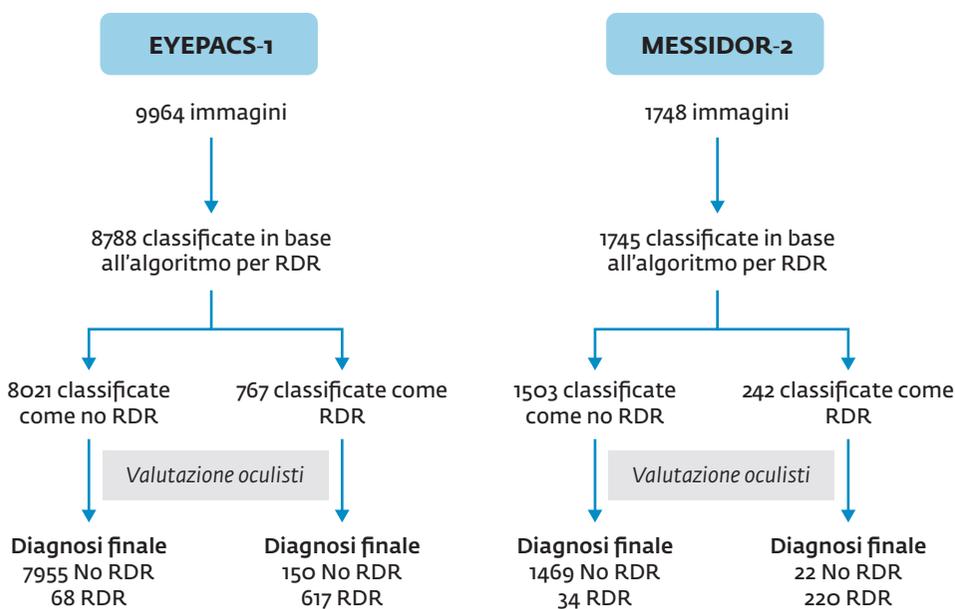
Questo studio è stato condotto da Google insieme a medici degli Stati Uniti dove la prevalenza della retinopatia diabetica nella popolazione è di circa il 28,5% e a medici dell'India dove la prevalenza della retinopatia è di circa il 18%. La maggior parte delle linee guida raccomanda lo screening annuale per i pazienti senza retinopatia o con lieve retinopatia, da ripetere ogni 6 mesi in caso di retinopatia moderata e l'invio al trattamento dallo specialista nell'arco di poche settimane o mesi in caso di retinopatia severa, in caso di peggioramento o in presenza di edema maculare riferibile al diabete. La fotografia digitale del fondo dell'occhio è un modello efficiente di screening in quanto sfrutta la registrazione digitale dell'immagine ottenuta senza midriasi e con tempistiche rapide. Essa permette di visualizzare microaneurismi e essudati per diagnosticare e misurare l'evoluzione della retinopatia diabetica. Tuttavia, molti pazienti, soprattutto quelli che risiedono in aree geografiche in cui l'accesso alle cure specialistiche non è alla portata di tutti, spesso si accorgono della complicanza oculare quando è ormai troppo tardi. Questo progetto mira a sfruttare le potenzialità del *machine learning* per offrire una soluzione efficace.

Il *machine learning* (in italiano "apprendimento automatico") rappresenta una delle aree fondamentali nel campo dell'intelligenza artificiale e sfrutta in maniera intelligente l'universo di informazioni a disposizione (nel caso specifico le immagini retiniche), ricavandone una guida fondamentale nel supporto ai processi decisionali.

La classificazione automatica della retinopatia diabetica ha potenziali effetti benefici come l'elevata efficienza e l'ottima riproducibilità; permetterebbe ampi programmi di screening in quanto ridurrebbe le barriere di accesso migliorando gli *outcome* del paziente e fornendo una diagnosi precoce e un trattamento tempestivo. Questo studio ha l'obiettivo di individuare, mediante l'utilizzo del *deep learning* (campo di ricerca dell'apprendimento automatico e dell'intelligenza artificiale) applicato alle fotografie della retina l'eventuale presenza di indicatori dell'insorgenza della complicanza oculare nel diabete. A tal fine è stato realizzato un database di circa 128.000 immagini: ciascuna immagine è stata valutata da 3-7 oftalmologi su 54 reclutati. Questo database è stato utilizzato per istruire una "rete neurale" utile a identificare la patologia. Successivamente le prestazioni dell'algoritmo sono state testate su due set di validazione clinica separati (EyePACS-1 e Messidor-2) per un totale di circa 12.000 immagini, e i risultati sono stati paragonabili a quelli ottenuti da un campione di 7-8 oftalmologi certificati (Fig.1). Nello specifico la validazione mediante il sistema EyePACS-1 ha utilizzato 9.963 immagini ottenute da 4.997 pazienti; quella mediante il sistema Messidor-2 ha utilizzato 1.748 immagini ottenute da 874 pazienti (Fig. 1).

Più che sostituirsi agli oftalmologi, l'algoritmo potrebbe consentire in futuro ai pazienti di rendere più veloci le visite presentandosi dal medico con le analisi realizzate con l'ausilio dell'intelligenza artificiale, anche se sarà necessario ancora molto lavoro prima che una simile applicazione possa essere resa disponibile su vasta scala. È infatti necessario definire ancora meglio gli standard di riferimento necessari per analizzare le immagini. Inoltre, l'interpretazione di una fotografia in 2D del *fundus oculi* è solo una parte di un percorso che porta ad una diagnosi di retinopatia diabetica. In alcuni casi, i medici utilizzano una tecnologia di imaging 3D, l'Optical Coherence Tomography (OCT), per esaminare in dettaglio i vari strati della retina. L'applicazione di apprendimento automatico per questa modalità di imaging 3D è già in corso. In futuro, questi due metodi complementari potranno essere utilizzati insieme per assistere i medici nella diagnosi di un ampio spettro di malattie oculari oltre la retinopatia diabetica.

Figura 1 ♦ Risultati dei set di validazione clinica EyePACS-1 e Messidor-2 per la diagnosi della retinopatia diabetica. RDR: Immagini riferibili a retinopatia diabetica ("Referable Diabetic Retinopathy"), definite come retinopatia diabetica moderata o grave o riconducibili ad edema maculare diabetico. Le immagini sono state classificate dall'algoritmo e successivamente sottoposte a valutazione da parte dello specialista oculista



ARTICOLO N. 2

Fatty acid synthesis configures the plasma membrane for inflammation in diabetes – *La sintesi degli acidi grassi configura la membrana plasmatica per l'infiammazione nel diabete*

Wei X, Song H, Yin L, Rizzo MG, Sidhu R, Covey DF, Ory DS, Semenkovich CF.

Nature, 2016; 539(7628): 294-298.

I grassi introdotti con l'alimentazione sono responsabili dell'insulino-resistenza mediata dall'infiammazione cronica. L'inattivazione di proteine infiammatorie prodotte dai macrofagi migliora il diabete indotto dalla dieta, ma i meccanismi responsabili dell'insorgenza del diabete in questo tipo di diete non è chiaro.

I lipidi contenuti nelle membrane influenzano la risposta del sistema immunitario innato che media l'infiammazione cronica indotta da una dieta ad alto contenuto di grassi; inoltre i lipidi alterano la funzione cellulare modificando la composizione dei fosfolipidi di membrana.

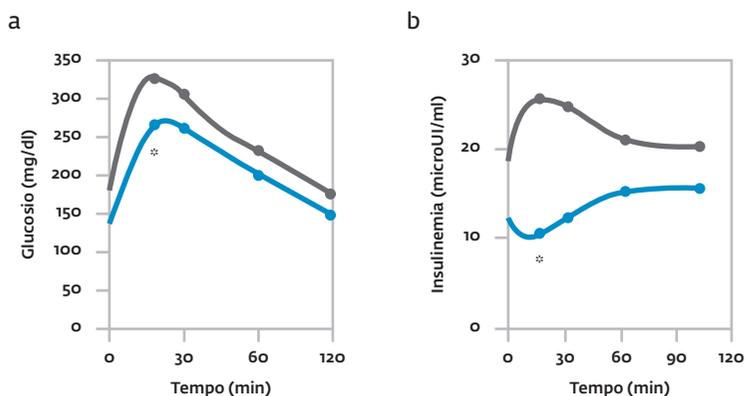
La sintesi endogena degli acidi grassi è mediata dall'enzima acido grasso sintetasi (FAS). È stato ipotizzato che la delezione di FAS nei macrofagi sia in grado di prevenire l'insulino-resistenza indotta dalla dieta, il reclutamento dei macrofagi nel tessuto adiposo e l'infiammazione cronica. In questo studio viene dimostrato che se i macrofagi non riescono a sintetizzare gli acidi grassi all'interno delle cellule per mancanza di FAS, le membrane esterne di quelle stesse cellule non possono rispondere ai grassi esterni impedendo così a queste cellule di contribuire all'infiammazione. A tal fine gli Autori hanno utilizzato topi geneticamente modificati e privi di FAS nelle cellule immunitarie e incapaci di sintetizzare grassi, ed hanno osservato che questi topi non sviluppavano infiammazione e diabete anche quando trattati con una dieta ricca di grassi.

Questi topi in corso di dieta normale mostravano una tolleranza glucidica nei limiti; quando alimentati con una dieta ad alto contenuto in grassi la tolleranza glucidica migliorava; inoltre risultavano più insulino-sensibili con livelli di insulinemia minori rispetto ai controlli (Fig. 2), e con un peso ed una composizione corporea stabili. Attraverso lo studio del segnale intracellulare dell'insulina si è osservato che nel tessuto adiposo e nel fegato di questi topi la fosforilazione di Akt in risposta alla stimolazione insulinica era aumentata rispetto ai controlli indicando così una condizione di aumentata insulino-sensibilità. I livelli di espressione di geni pro-infiammatori e i livelli di fosforilazione della stress-chinasi JNK, proteina che promuove l'insulino-resistenza associata all'obesità, erano invece ridotti nel tessuto adiposo in questo modello sperimentale trattato con dieta ad alto contenuto in grassi rispetto ai topi di controllo. Questi risultati suggeriscono che FAS nei macrofagi promuove l'insulino-resistenza indotta dalla dieta.

I livelli di FAS aumentavano quando i macrofagi isolati dal midollo osseo di topi controllo venivano esposti a dosi elevate di palmitato o di lipopolisaccaridi indicando che la sintesi endogena degli acidi grassi si associava con l'attivazione dei macrofagi.

L'acido grasso sintetasi è importante in quanto permette alla membrana plasmatica di conservare il colesterolo che è richiesto per la propagazione dei segnali infiammatori. Il deficit di FAS altera la composizione e la funzione delle membrane in particolare facendo venire meno il traffico della GTPasi Rho, meccanismo richiesto per diverse funzioni cellulari tra cui l'avvio della migrazione e l'attivazione degli stessi macrofagi. L'espressione di una GTPasi Rho costitutivamente attiva ripristinava infatti il segnale infiammatorio. Il palmitato esogeno veniva ripartito in pool differenti dai lipidi endogeni e non ripristinava il segnale infiammatorio. Al contrario, il colesterolo esogeno ripristinava il segnale in questi topi privi di FAS a livello dei macrofagi attivando JNK senza una significativa alterazione della stessa proteina negli animali di controllo. Analogamente, la stimolazione con l'enantiomero del colesterolo induceva l'attivazione di JNK in assenza di FAS suggerendo l'importanza dell'interazione dello sterolo con i lipidi della membrana piuttosto che con le proteine. Anche l'aggiunta di un alchino, un composto organico a catena aperta con una catena laterale modificata, induceva la fosforilazione di JNK. Al contrario il coprostanolo, uno sterolo non planare, non faceva

Figura 2 ♦ Livelli di glicemia (a) ed insulinemia (b) in corso di OGTT eseguito dopo 3 mesi di dieta ad alto contenuto in grassi in topi controllo (linea grigia) e in topi privi di FAS (linea blu). *p < 0,05%.



questo. Questi risultati suggeriscono che il colesterolo esogeno, così come altri steroli planari, interagiscono con l'ambiente fosfolipidico privo di FAS per ripristinare le perturbazioni indotte dall'assenza di FAS nella membrana. Tutti questi risultati mostrano che la produzione endogena di acidi grassi nei macrofagi è necessaria per sviluppare l'insulino-resistenza indotta dai grassi esogeni attraverso la creazione di un ambiente recettivo a livello della membrana plasmatica necessario per attivare le vie di segnale colesterolo-dipendenti. Questi risultati possono avere profonde implicazioni cliniche se si considera che l'alterazione del contenuto lipidico delle membrane cellulari e quindi l'infiammazione cronica può aiutare a prevenire il diabete e le sue complicanze. Tuttavia non bisogna dimenticare che l'infiammazione ha anche un ruolo positivo, come ad esempio la rimozione degli agenti patogeni contagiosi dall'organismo e la guarigione delle ferite. Sarà pertanto necessario trovare un giusto equilibrio affinché la modulazione dell'infiammazione possa essere utilizzata come possibile meccanismo per la prevenzione del diabete e delle sue complicanze.