



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

IDENTIFICAZIONE DELLA RETINOPATIA
DIABETICA DA TRACCIATI DI
MONITORAGGIO CONTINUO DEL GLUCOSIO
CON TECNICHE DI
MACHINE LEARNING

IDENTIFICATION OF DIABETIC RETINOPATHY FROM
CONTINUOUS GLUCOSE MONITORING TRACES USING
MACHINE LEARNING TECHNIQUES

Tesi di Laurea di:
Imane Gassab

Relatrice:
Dott.ssa Micaela Morettini

Correlatrice:
Dott.ssa Agnese Piersanti

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

Ai miei genitori e alla mia famiglia, per il loro sostegno costante e la fiducia in me. Ai miei amici,
con cui ho condiviso questo lungo viaggio, per il supporto e per essere stati al mio fianco nei
momenti più difficili

ABSTRACT

Tra le complicanze del diabete mellito, la retinopatia diabetica è una delle principali cause di cecità negli adulti, rendendo cruciale la diagnosi precoce. L'obiettivo principale di questa tesi è quello di identificare la presenza di retinopatia diabetica a partire da dati di monitoraggio continuo del glucosio (CGM). Per farlo ci si è avvalsi dell'uso di tecniche di deep learning applicate a dati CGM provenienti dal dataset Aleppo, dal quale sono stati selezionati due gruppi di soggetti con diabete di tipo 1 monitorati per un periodo fino a 26 settimane, 50 dei quali aventi retinopatia diabetica e 28 non aventi alcuna complicanza.

Sono stati condotti cinque esperimenti utilizzando reti neurali long-short term memory (LSTM) e combinando diverse modalità di segmentazione dei dati CGM con l'integrazione di features aggiuntive. Nel primo esperimento, i dati glicemici dei pazienti vengono segmentati in blocchi di 100 misurazioni di glucosio. Ogni segmento viene associato ad una label, che indica la presenza o meno di retinopatia diabetica. Nel secondo esperimento, la segmentazione suddivide le misurazioni di glucosio di ciascun paziente in segmenti di 24 ore di misurazioni, preservando l'ordine temporale. Oltre ai dati glicemici vengono aggiunte altre features, quali l'età, l'indice di massa corporea (BMI) e metriche di variabilità glicemica calcolate su ciascun segmento. Come per il secondo esperimento, quelli successivi si basano tutti sulla modalità di segmentazione di 24 ore, riducendo progressivamente il numero delle features aggiuntive. Il terzo esperimento include età e BMI, il quarto solo il BMI e il quinto non integra alcun feature aggiuntiva, utilizzando quindi solo i segmenti di glucosio.

I risultati mostrano che il terzo esperimento ha raggiunto l'accuratezza più alta sui dati di test, ovvero del 65.80%. L'accuratezza più alta sui set di training e validazione invece è stata ottenuta nel secondo esperimento, rispettivamente del 70.42% e del 74.40%, registrando però un'accuratezza bassa sul set di test (57.50%), evidenziando quindi un problema di overfitting. In conclusione, i risultati degli esperimenti indicano che, sebbene i metodi di deep learning basati su LSTM abbiano un grande potenziale, è necessario approfondire l'analisi e il pre-processing dei dati e considerare ulteriori variabili per ottimizzare la previsione della retinopatia diabetica in contesti clinici.

INDICE

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI.....	7
CAPITOLO 1:	
DIABETE MELLITO.....	9
1.1 Fisiologia dell'omeostasi del glucosio.....	9
1.2 Definizione ed epidemiologia.....	10
1.3 iperglicemia e complicanze.....	12
1.4 Diagnosi e criteri	13
1.5 Incidenza e prevalenza.....	14
1.6 Diabete Tipo 1.....	15
CAPITOLO 2:	
MONITORAGGIO CONTINUO DEL GLUCOSIO.....	17
2.1 Evoluzione e innovazione nei sistemi di monitoraggio continuo della glicemia.....	17
2.2 L'efficacia clinica del monitoraggio continuo della glicemia.....	21
2.3 Il Ruolo del monitoraggio continuo del glucosio nelle sperimentazioni cliniche.....	22
2.4 Predizione nel controllo glicemico.....	22
2.5 Standardizzazione delle metriche di variabilità glicemica.....	24
CAPITOLO 3:	
RETINOPATIA DIABETICA.....	26
3.1 Trattamenti e meccanismi della retinopatia diabetica.....	26
3.2 Patogenesi della retinopatia diabetica.....	27
3.3 Fattori di rischio e biomarcatori della retinopatia diabetica.....	28
3.4 Screening.....	29
3.5 Nuove prospettive di valutazione della retinopatia diabetica.....	30
CAPITOLO 4:	
DEEP LEARNING E RETINOPATIA DIABETICA.....	32
4.1 Metodi di rilevamento	33

4.2 Dataset di immagini del fondo oculare.....	34
4.3 Architettura di deep learning per il rilevamento della retinopatia diabetica.....	35
4.4 Segmentazione dei vasi retinici.....	37
4.5 Rilevazione e classificazione delle Lesioni.....	38
4.6 Sfide e direzioni future.....	39
CAPITOLO 5:	
METODI.....	41
5.1 Dataset e problema di classificazione.....	41
5.2 Reti LSTM.....	42
5.3 Esperimenti.....	42
5.3.1 Primo esperimento.....	43
5.3.2 Secondo esperimento.....	45
5.3.3 Terzo esperimento.....	50
5.3.4 Quarto esperimento.....	51
5.3.5 Quinto esperimento.....	52
CAPITOLO 6:	
RISULTATI.....	54
CONCLUSIONI.....	63
BIBLIOGRAFIA.....	64

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Tradizionalmente, la diagnosi della retinopatia diabetica si basa su esami oftalmologici specifici, come la retinografia o l'esame del fondo oculare. Tuttavia, queste tecniche richiedono l'intervento di specialisti e possono risultare costose o poco accessibili, specialmente in contesti di assistenza sanitaria limitata. Negli ultimi anni, i progressi nella tecnologia medica hanno portato allo sviluppo di strumenti per il monitoraggio della glicemia, come i dispositivi di CGM, che forniscono una stima dei livelli di glucosio nel sangue a partire da misure dal liquido interstiziale, con una frequenza di un campione ogni cinque minuti per la maggior parte dei dispositivi attualmente in uso come medical device. Il CGM fornisce dati in tempo reale sull'andamento del glucosio durante l'arco della giornata, permettendo una gestione più precisa del diabete. Tuttavia, questi dati rappresentano una fonte di informazione non solo per la gestione quotidiana della glicemia, ma possono essere sfruttati per identificare schemi e pattern predittivi di complicanze croniche come la retinopatia diabetica.

In questo contesto, le tecniche di machine learning/deep learning offrono strumenti potenti per l'analisi di grandi volumi di dati, come quelli derivati dal CGM, e la loro capacità di riconoscere pattern complessi apre nuove opportunità per migliorare la diagnosi precoce della retinopatia diabetica. Tra le varie tecniche presenti in letteratura scientifica emergono diversi algoritmi di deep learning capaci di rilevare automaticamente le lesioni e classificare la gravità della retinopatia, rendendo la diagnosi più accurata e rapida. La rilevazione della retinopatia diabetica può essere suddivisa in approcci basati sulle lesioni, che identificano e localizzano le diverse tipologie di lesioni, e approcci basati sull'immagine, che valutano l'immagine del fondo oculare nel suo insieme. Il rilevamento basato sulle lesioni prevede infatti la segmentazione e classificazione delle lesioni, mentre quello basato sull'immagine si concentra sulla classificazione globale dell'immagine come normale o affetta da retinopatia. Oltre all'identificazione basata su immagini, un recente studio ha utilizzato i dati dei tracciati di CGM analizzandoli tramite algoritmi di machine learning per prevedere il rischio di sviluppare retinopatia. L'analisi ha coinvolto una classificazione tra due gruppi: uno con retinopatia diabetica e l'altro senza complicazioni. Sono stati testati quattro modelli di classificazione (Regressione Logistica, kNN, Random Forest, Naïve Bayes), tra questi la regressione logistica

ha ottenuto i risultati migliori, con un'accuratezza del 72,7% sul set di testing. I risultati indicano che i dati CGM possono essere efficaci nel distinguere tra pazienti con e senza retinopatia, suggerendo che la scelta delle features giuste è fondamentale per migliorare le prestazioni predittive.

Lo scopo di questa tesi è quello di esplorare un approccio simile, identificando la malattia a partire dai dati CGM ma usando reti neurali LSTM.

Capitolo 1

DIABETE MELLITO

1.1 Fisiologia dell'omeostasi del glucosio

Il corpo umano dipende da un controllo rigoroso dei livelli di glucosio nel sangue per garantire il suo normale funzionamento. Questo equilibrio è mantenuto attraverso una complessa rete di ormoni e neuropeptidi che vengono rilasciati principalmente dal cervello, dal pancreas, dal fegato, dall'intestino, così come dal tessuto adiposo e muscolare. Tra questi, il pancreas svolge un ruolo fondamentale, secernendo l'insulina, l'ormone che abbassa i livelli di glucosio nel sangue, e il glucagone, il suo opposto. Tuttavia, quando l'interazione tra questi ormoni e peptidi viene alterata, possono insorgere disturbi metabolici come il diabete mellito di tipo 2 (T2DM). È essenziale comprendere a fondo i meccanismi che regolano queste interazioni, al fine di migliorare le terapie antidiabetiche esistenti e sviluppare nuovi approcci terapeutici per affrontare il diabete e le sue complicanze [1].

Il pancreas è un organo fondamentale per la digestione e la regolazione del metabolismo, svolgendo un ruolo chiave nel mantenere l'equilibrio energetico del corpo. È costituito per la maggior parte da cellule acinose, che producono succhi pancreatici contenenti enzimi digestivi come l'amilasi e la lipasi. Questi enzimi vengono rilasciati nei dotti pancreatici e contribuiscono alla digestione dei macronutrienti. Tuttavia, il pancreas ha anche una funzione endocrina, poiché rilascia ormoni direttamente nel flusso sanguigno.

Le cellule endocrine del pancreas si trovano in piccole strutture chiamate isole di Langerhans, che rappresentano solo una piccola parte dell'organo [2,3]. Ci sono diversi tipi di cellule all'interno di queste isole, ciascuna delle quali produce ormoni con funzioni specifiche. Le cellule α producono glucagone, che aumenta i livelli di glucosio nel sangue, mentre le cellule β producono insulina, che riduce i livelli di glucosio nel sangue. Inoltre, ci sono cellule che producono somatostatina, che inibisce il rilascio sia di glucagone che di insulina, e altre che producono polipeptide pancreatico, il cui ruolo è regolare l'attività di secrezione del pancreas stesso. Insieme, questi ormoni lavorano per mantenere l'omeostasi del glucosio, fondamentale per il funzionamento dell'organismo [4,5].

La regolazione dei livelli di glucosio nel sangue è un processo complesso che coinvolge azioni opposte di insulina e glucagone [6]. Quando i livelli di glucosio nel sangue sono bassi, il glucagone viene rilasciato per stimolare la liberazione di glucosio dal fegato, mentre dopo i pasti, quando il glucosio è alto, l'insulina viene secreta per facilitare l'assorbimento del glucosio nelle cellule e abbassare i livelli ematici [9]. Questo equilibrio è cruciale per il nostro benessere, e un malfunzionamento di questo sistema può portare a condizioni come il diabete. Il rilascio di insulina è stimolato principalmente dai livelli elevati di glucosio nel sangue. Quando il glucosio entra nelle cellule β , viene trasformato in energia, e questo processo porta all'aumento dei livelli di ATP (Adenosina Trifosfato). L'aumento dell'ATP provoca la chiusura di canali specifici, portando a una variazione del potenziale elettrico della membrana cellulare che infine consente l'ingresso di calcio [7]. Questo aumento di calcio è ciò che innesca il rilascio dell'insulina immagazzinata nelle cellule [8].

Inoltre, ci sono molti fattori esterni che possono influenzare la secrezione degli ormoni pancreatici. Ad esempio, gli ormoni prodotti nell'intestino, noti come incretine, possono aumentare la secrezione di insulina dopo i pasti. Anche gli acidi grassi e lo stress possono avere effetti significativi sulla secrezione insulinica [10].

Il pancreas non agisce da solo, ma interagisce continuamente con altri organi come il fegato, il cervello e i tessuti adiposi [11]. Ad esempio, il fegato gioca un ruolo importante nella gestione del glucosio, immagazzinandolo o rilasciandolo a seconda dei segnali ormonali che riceve. Anche il cervello invia segnali al pancreas, influenzando il rilascio di insulina e glucagone in base alle esigenze metaboliche del corpo.

Questo complesso sistema di comunicazione assicura che il nostro organismo risponda in modo adeguato ai cambiamenti nei livelli di glucosio e alle necessità energetiche [12].

1.2 Definizione ed epidemiologia

Il diabete è un gruppo di malattie metaboliche caratterizzate da iperglicemia risultante da difetti nella secrezione di insulina, nell'azione dell'insulina o entrambi [13]. L'iperglicemia cronica del diabete è associata a danni, disfunzioni e insufficienza a lungo termine di diversi organi, specialmente occhi, reni, nervi, cuore e vasi sanguigni [14].

Diversi processi patogeni contribuiscono allo sviluppo del diabete. Questi vanno dalla distruzione autoimmune delle cellule β del pancreas, con conseguente carenza di insulina, fino ad anomalie che portano a una resistenza all'azione dell'insulina [15].

La causa delle anomalie nel metabolismo di carboidrati, grassi e proteine è l'insufficiente azione dell'insulina nei tessuti bersaglio. Tale insufficienza deriva da una secrezione inadeguata di insulina e/o da una ridotta risposta dei tessuti all'insulina in uno o più punti dei complessi percorsi di azione dell'ormone [16]. Spesso la carenza di secrezione e i difetti nell'azione dell'insulina coesistono nello stesso paziente, rendendo difficile stabilire quale dei due fattori, da solo, sia la causa principale dell'iperglicemia.

Il diabete è una malattia complessa, e assegnare un tipo preciso a una persona dipende spesso dalle circostanze della diagnosi [17]. Molti pazienti non rientrano chiaramente in una singola categoria. Ad esempio, una donna con diabete gestazionale potrebbe continuare ad avere alti livelli di glucosio nel sangue dopo il parto e scoprire di avere il diabete di tipo 2. In altri casi, il diabete può svilupparsi in seguito all'uso di farmaci o a condizioni come la pancreatite. Quindi, più che etichettare il tipo specifico di diabete, è fondamentale capire la causa dell'elevato livello di glucosio nel sangue e trattarlo correttamente [18].

Il diabete di tipo 1 è caratterizzato dalla distruzione delle cellule del pancreas che producono insulina, portando a una carenza totale di questo ormone [19]. Questo tipo colpisce soprattutto bambini e giovani, ma può manifestarsi a qualsiasi età. Alcune persone possono presentare sintomi gravi come la chetoacidosi, che è un accumulo di acidi nel sangue, mentre altre possono convivere per anni con una lieve iperglicemia prima di diventare completamente dipendenti dall'insulina. Le cause di questo tipo di diabete sono legate a una combinazione di fattori genetici e ambientali, e le persone affette possono essere soggette anche ad altre malattie autoimmuni, come problemi alla tiroide o alla pelle [20].

Il diabete di tipo 2, che rappresenta la maggior parte dei casi, si sviluppa principalmente a causa della resistenza all'insulina, cioè il corpo non risponde più adeguatamente a questo ormone. Molte persone con questo tipo di diabete sono in sovrappeso, e l'obesità contribuisce a rendere difficile il controllo della glicemia [21]. La malattia si sviluppa in modo lento e spesso passa inosservata per anni, ma anche se i sintomi sono inizialmente lievi, il diabete di tipo 2 aumenta il rischio di complicanze come problemi cardiaci e circolatori. Sebbene la produzione di insulina non si interrompa completamente, essa è insufficiente per contrastare la resistenza del corpo. Questo tipo di diabete è più comune con l'avanzare dell'età, in persone con poca attività fisica e in alcune etnie specifiche. Anche una storia familiare di diabete o altre condizioni di salute, come l'ipertensione, possono aumentare il rischio di svilupparlo [22].

Infine, il diabete gestazionale è una forma di intolleranza al glucosio che si sviluppa durante la gravidanza. Anche se spesso si risolve dopo il parto, è importante sottolineare che molte donne possono avere un diabete di tipo 2 non diagnosticato prima o durante la gravidanza. La diagnosi precoce è fondamentale, poiché il diabete gestazionale può aumentare il rischio di complicazioni sia per la madre che per il bambino. Le linee guida internazionali suggeriscono che le donne a rischio dovrebbero essere valutate attentamente all'inizio della gravidanza per identificare eventuali problemi con i livelli di glucosio nel sangue [23].

1.3 Iperglicemia e complicanze

Il livello di iperglicemia può variare nel tempo, a seconda di quanto è avanzato il processo patologico sottostante. In alcuni casi, la malattia può essere presente ma non abbastanza avanzata da causare iperglicemia. Tuttavia, anche una glicemia lievemente alterata, come nell'alterata glicemia a digiuno o nella ridotta tolleranza al glucosio, può contribuire all'aumento del rischio di complicanze a lungo termine, come le malattie cardiovascolari e renali [24]. In pazienti con diabete, un buon controllo glicemico può ridurre significativamente il rischio di complicanze, ed è spesso ottenuto attraverso la perdita di peso, l'esercizio fisico e/o l'uso di farmaci orali [25,26]. Altri individui, nonostante una residua capacità di produzione di insulina da parte delle cellule del pancreas, necessitano la somministrazione di insulina esogena per mantenere un controllo glicemico adeguato, il che è cruciale per prevenire complicanze microvascolari come la retinopatia, la nefropatia e la neuropatia. La gravità dell'iperglicemia non solo riflette il processo metabolico sottostante, ma rappresenta anche un fattore determinante per l'insorgenza di tali complicanze [27].

I sintomi di iperglicemia grave includono poliuria, polidipsia, perdita di peso, crescita compromessa e una maggiore suscettibilità a determinate infezioni. Le conseguenze acute e potenzialmente letali del diabete incontrollato includono iperglicemia con chetoacidosi o la sindrome iperosmolare non chetonica, mentre le complicanze a lungo termine comprendono la retinopatia, con possibile perdita della vista; la nefropatia, che può portare a insufficienza renale; la neuropatia periferica, con il rischio di ulcere ai piedi, amputazioni e articolazioni di Charcot; e la neuropatia autonoma, che causa sintomi gastrointestinali, genitourinari, cardiovascolari e disfunzioni sessuali [28]. Le persone affette da diabete inoltre presentano un'incidenza maggiore di malattie cardiovascolari, ipertensione e anomalie nel metabolismo delle lipoproteine.

Il controllo dei fattori di rischio è essenziale per ridurre le complicanze legate al diabete. I tre fattori di rischio più significativi sono l'iperglicemia, l'ipertensione e l'ipercolesterolemia. Si ritiene che miglioramenti nel controllo glicemico, nella pressione sanguigna e nei livelli di colesterolo possano ridurre il rischio di complicanze [29]. Ad esempio, in una persona con diabete, ogni riduzione dell'1% del livello di emoglobina glicata può ridurre il rischio di complicanze microvascolari del 40%; una diminuzione di 10 mm Hg della pressione arteriosa può ridurre il rischio di qualsiasi complicanza diabetica fino al 12%; e il controllo dei lipidi sierici può ridurre il rischio di complicanze cardiovascolari dal 20% al 50%. È evidente che un miglior controllo di questi fattori di rischio nelle persone con diabete può portare a esiti più favorevoli.

1.4 Diagnosi e criteri

La diagnosi del diabete mellito si basano principalmente sulla misurazione dei livelli di glucosio nel sangue. Tradizionalmente, sono stati utilizzati due metodi principali: la misurazione della glicemia a digiuno (FPG) e il test di tolleranza al glucosio da 75 grammi (OGTT). Nel 1997, un comitato di esperti ha aggiornato i criteri diagnostici, identificando un collegamento tra i livelli di glucosio a digiuno e la presenza di retinopatia. Questo studio ha dimostrato che esistono livelli di glucosio al di sotto dei quali si osserva una bassa prevalenza di retinopatia, e al di sopra dei quali la prevalenza aumenta in modo lineare.

Sulla base di queste evidenze, è stato stabilito un nuovo valore di riferimento di ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l) per la glicemia a digiuno e confermato il valore di riferimento di ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) per il test OGTT.

Un altro parametro importante è l'emoglobina glicata (A1C), che riflette i livelli medi di glucosio nel sangue negli ultimi 2-3 mesi. Questo test è cruciale nella gestione del diabete, poiché correla sia con le complicanze microvascolari che con quelle macro-vascolari. In passato, non era raccomandato l'uso dell'A1C per la diagnosi del diabete a causa della mancanza di standardizzazione. Tuttavia, i test A1C sono ora altamente standardizzati, permettendo di applicare i risultati in modo uniforme. Un comitato internazionale di esperti ha raccomandato di utilizzare il test A1C con un valore soglia di $\geq 6,5\%$, poiché questo valore è associato a un aumento della prevalenza di retinopatia. È fondamentale che il test sia effettuato utilizzando metodi certificati, mentre i test A1C eseguiti al punto di cura non sono attualmente abbastanza accurati per la diagnosi.

Il vantaggio dell'A1C rispetto alla glicemia a digiuno è che non richiede digiuno e mostra una maggiore stabilità preanalitica, anche se ha dei costi maggiori e potrebbe non essere disponibile in alcune regioni del mondo. Inoltre, in alcuni casi di anemia o altre patologie ematologiche, l'A1C potrebbe risultare fuorviante. In tali situazioni, è preferibile utilizzare esclusivamente i criteri basati sulla glicemia.

I criteri tradizionali per la diagnosi del diabete rimangono validi e comprendono sia la glicemia a digiuno sia il test di tolleranza. Inoltre, in casi di grave iperglicemia, come quelli in cui i pazienti presentano sintomi classici di crisi iperglicemica, è possibile diagnosticare il diabete anche con una glicemia casuale ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l).

È importante notare che ci possono essere discrepanze tra i risultati dei diversi test. Ad esempio, un test A1C potrebbe mostrare un valore elevato mentre il test di glicemia a digiuno risulta normale. Per confermare la diagnosi, è consigliabile ripetere il test che ha fornito il risultato anomalo. Se entrambi i test mostrano valori superiori ai limiti di riferimento, il diabete è confermato. Al contrario, se ci sono risultati discordanti, si dovrebbe ripetere il test con il risultato più elevato per effettuare la diagnosi.

1.5 Incidenza e prevalenza

Nel 2005, si stimava che circa 1,5 milioni di nuovi casi di diabete fossero stati diagnosticati negli Stati Uniti [30]. L'incidenza del diabete indica il numero di nuovi casi, mentre la prevalenza rappresenta il numero totale di persone affette dalla malattia in un dato momento. Fonti come il National Health Interview Survey (NHIS) e il Behavioral Risk Factor Surveillance System (BRFSS) forniscono dati sulla prevalenza del diabete, registrando solo i casi diagnosticati [31]. A differenza di queste indagini, il National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) raccoglie anche campioni di sangue, permettendo di stimare sia i casi diagnosticati che quelli non diagnosticati. Secondo i dati del NHANES del 2005, il numero totale di casi di diabete era di circa 20,8 milioni (7,0% della popolazione), con 14,6 milioni diagnosticati e 6,2 milioni non diagnosticati, evidenziando la necessità di diagnosi precoce e accesso ai servizi sanitari [32].

Negli ultimi due decenni, la prevalenza e l'incidenza del diabete sono aumentate notevolmente. Tra il 1980 e il 2005, la prevalenza del diabete diagnosticato è cresciuta dal 2,9% al 5,3%.

Questo aumento è più significativo tra le persone di età superiore ai 65 anni, e la prevalenza è più alta tra afroamericani e ispanici rispetto ai bianchi. Nel 2005, la prevalenza del diabete diagnosticato era dell'8,3% tra le donne afroamericane e dell'8,0% tra gli uomini afroamericani [33]. Si prevede che il numero di afroamericani con diabete triplicherà entro il 2050, mentre per i bianchi potrebbe solo raddoppiare.

I fattori di rischio per il diabete includono elementi non modificabili come la storia familiare e l'età, mentre fattori modificabili comprendono l'obesità e uno stile di vita inattivo [34]. Nel 2005, il 9,6% della popolazione di 20 anni e più era affetta da diabete, con un aumento a 20,9% tra le persone di 60 anni e più. Inoltre, fattori psicologici e sociali anch'essi influenzano il rischio di sviluppare la malattia [35].

Nel 2002, il diabete era la sesta causa di morte, con oltre 73.000 decessi attribuibili direttamente alla malattia. Il rischio di morte tra le persone con diabete è quasi doppio rispetto a quelle senza. Le complicanze associate al diabete, come le malattie cardiovascolari, rappresentano due terzi delle morti tra i diabetici, e il rischio di mortalità per malattie cardiache è significativamente più alto. Controlli rigorosi della pressione arteriosa hanno dimostrato di ridurre i decessi legati al diabete, evidenziando l'importanza di una gestione adeguata della malattia e l'urgente necessità di programmi di prevenzione, in particolare per le popolazioni vulnerabili come afroamericani e ispanici [36].

1.6 Diabete Tipo 1

A prima vista, la patofisiologia e la gestione del diabete di tipo 1 potrebbero sembrare concetti semplici, ma man mano che si approfondisce la conoscenza di questa malattia, si rende conto che c'è ancora molto da scoprire. Sebbene si siano fatti progressi nella comprensione della patogenesi del diabete, non è stato possibile trovare un'unica spiegazione valida per tutti i casi. Quello che un tempo sembrava essere un disturbo autoimmune semplice, causato principalmente dall'attacco delle cellule T alle cellule β che producono insulina, è ora riconosciuto come il risultato di un complesso intreccio di fattori ambientali, microbioma, genetica, metabolismo e sistemi immunitari, che variano da un individuo all'altro.

Nonostante siano noti alcuni fattori genetici che contribuiscono alla malattia, la maggior parte delle persone a cui viene diagnosticato il diabete di tipo 1 non ha parenti affetti dalla stessa condizione, né possiede la combinazione di alleli HLA a più alto rischio [38].

Questo rende difficile tentare di prevenire la malattia a livello primario. Anche se la sopravvivenza e la salute dei pazienti sono migliorate notevolmente, specialmente negli ultimi 25 anni, una cura definitiva per il diabete di tipo 1 rimane un obiettivo lontano.

Inoltre, nonostante i progressi tecnologici, il controllo glicemico per la maggior parte delle persone con diabete di tipo 1 non è ottimizzato, e molti non possono accedere a terapie moderne a causa dei costi elevati, anche per le cure di base.

Nel 1984, George Eisenbarth [37] ha sviluppato un modello concettuale per la patogenesi del diabete di tipo 1, ancora oggi utilizzato. Questo modello rappresenta la massa delle cellule β in relazione all'età, evidenziando una sequenza di eventi che inizia con il rischio genetico predisponente, seguito da un fattore scatenante ambientale che provoca autoimmunità specifica per le isole pancreatiche, e culmina con la perdita delle cellule β , disglycemia, diabete clinico e una rapida progressione verso la completa perdita di cellule β . Sebbene questo modello sia utile, non tiene conto della complessità crescente della patogenesi del diabete di tipo 1. Inoltre, il percorso della malattia è rappresentato da una singola linea di evoluzione nel tempo, ma in tutte le fasi della malattia esiste una eterogeneità che non è ancora ben compresa.

Le sfide al modello di Eisenbarth, che rappresentano gli eventi chiave nel corso della malattia, includono la possibilità che eventi immunologici scatenanti possano verificarsi anche in fase prenatale, la grande variabilità nella massa e nella funzione delle cellule β all'inizio della malattia, e la consapevolezza che la perdita di cellule β potrebbe subire fasi di remissione o recidiva. In generale, la progressione attraverso le fasi della malattia è eterogenea e influenzata da fattori immunologici, genetici e ambientali, oltre a caratteristiche demografiche chiave come età e indice di massa corporea. [37].

Capitolo 2

MONITORAGGIO CONTINUO DEL GLUCOSIO

Con l'aumento continuo della prevalenza del diabete, è necessario un miglioramento nella gestione della malattia per ottenere un controllo efficace della glicemia, al fine di prevenire complicazioni e ridurre il peso che questa patologia comporta. Sin dalle prime misurazioni della glicosuria all'inizio del 1900, ci sono stati enormi progressi nel monitoraggio della glicemia, i quali hanno rivoluzionato la gestione del diabete, in particolare per i pazienti con diabete di tipo 1. Evitare la variabilità glicemica e mantenere un controllo glicemico ottimale è cruciale per l'evoluzione dei pazienti con diabete di tipo 1 inoltre è importante sottolineare che l'utilità dei dispositivi di monitoraggio glicemico può essere estesa anche ai pazienti con diabete di tipo 2.

Questi sistemi di monitoraggio possono essere classificati in base al metodo analitico, al grado di invasività, alla disponibilità dei dati e alla modalità d'uso. La tecnologia è in costante miglioramento, per quanto riguarda le prestazioni bioanalitiche, la biocompatibilità, la durata di utilizzo, la sicurezza e le caratteristiche cliniche [43].

2.1 Evoluzione e innovazione nei sistemi di monitoraggio continuo della glicemia

I sistemi CGM hanno rappresentato una vera e propria rivoluzione nella cura del diabete, poiché forniscono una visione complessiva e costante dei valori di glicemia durante l'intera giornata. Il primo sensore di glucosio continuo ad ago è stato sviluppato da Shichiri et al. nel 1982, mentre il primo CGM ha ricevuto l'approvazione dalla Food and Drug Administration nel 1999. Questo primo sistema era retrospettivo, progettato per un uso professionale e richiedeva che il paziente indossasse il dispositivo per tre giorni, durante i quali i dati venivano raccolti dal medico per ulteriori analisi [44].

Un CGM è composto da tre parti principali: un sensore che misura i livelli di glucosio interstiziale, un ricevitore o monitor che visualizza i dati e un trasmettitore che consente la comunicazione tra i due componenti. Oggi, i CGM possono essere utilizzati sia da soli che in combinazione con una pompa insulinica.

Il sensore viene inserito nel tessuto sottocutaneo tramite una piccola puntura cutanea. Si presume che il livello di glucosio misurato nel fluido interstiziale sia simile a quello misurato nel sangue capillare; tuttavia, possono esserci delle discrepanze quando i livelli di glucosio variano rapidamente, come durante l'esercizio fisico o in stato post-assorbitivo, a causa dei ritardi fisiologici [45].

Prima di tutto, i CGM possono essere classificati in base al metodo analitico utilizzato per quantificare il glucosio. Ci sono tre principali tecnologie : quella elettrochimica (enzimatica e non enzimatica), ottica (basata su fluorofori e non fluorofori) e combinazioni di altri tipi (piezoelettrica, impedenza elettromagnetica) [47].

I biosensori utilizzati per monitorare i livelli di glucosio si sono evoluti nel tempo e oggi si possono identificare tre generazioni. I sensori di prima generazione si basavano sull'uso di rilevatori di ossigeno naturale e perossido di idrogeno. I sensori di seconda generazione si concentravano su accettori di elettroni non fisiologici, mentre la terza generazione ha modernizzato il design sostituendo i mediatori artificiali e, in alcuni casi, rinunciando persino al sistema enzimatico [46].

C'è una tendenza a passare da sensori invasivi a metodi non invasivi, per aumentare la durata dei sensori da un massimo di sette giorni a oltre un mese o anche anni, garantendo al contempo sicurezza contro le infezioni utilizzando materiali specificamente trattati. Gli elettrodi enzimatici si basano sull'azione di enzimi che catalizzano reazioni redox, generando una corrente elettrica il cui voltaggio è misurabile e dipende dalla concentrazione di glucosio. Attualmente sono apparsi numerosi varianti di biosensori enzimatici invasivi con diverse tecnologie, tra cui microdialisi, micropori, microneedle, elettrodi amperometrici sottocutanei e dispositivi impiantabili endovenosi, di cui solo quelli basati su microdialisi e sottocutanei sono commercialmente disponibili [48].

Il gold standard attuale per i biosensori è rappresentato dai sensori invasivi di tipo ago in platino-iridio. Queste sonde vengono inserite nel sottocute per entrare in contatto con il fluido interstiziale e possono rilevare il glucosio tramite metodo enzimatico [49].

La classica sonda ad ago consiste in un filo di Pt-Ir (platino- iridio) con un diametro di 0,125 mm, con un rapporto Pt (platino) di 9:1, che rappresenta l'elettrodo attivo, dotato di un mediatore immobilizzato e di un enzima sulla superficie, tutto coperto da un rivestimento polimerico per facilitare l'impianto sottocutaneo.

I sensori di microdialisi si basano su una fibra cava che cattura il glucosio interstiziale. Un chip microfluidico con microcanali in polidimetilsilossano garantisce un efficace miscelamento di glucosio ossidasi disciolto e campione di microdialisi in volumi nanolitrici. Gli elettrodi in Pt sono protetti da un rivestimento in polipirrolo per prevenire l'assorbimento di proteine e l'interferenza con sostanze varie come acido urico, acido ascorbico o acetaminofene.

Un ulteriore progresso nei sensori impiantabili è stato realizzato con lo sviluppo di biosensori a ossidasi a bobina, basati sui classici sensori a ago. Il filo in Pt è avvolto attorno a un ago da 30 gauge, formando un cilindro a spirale e aumentando l'area di rilevamento. L'uso di tecniche avanzate, come la microscopia ottica ed elettronica, per valutare la struttura dei biomateriali dopo l'interazione con il corpo umano può risultare utile per futuri nuovi materiali [50].

Negli ultimi dieci anni, è stata iniziata la valutazione della possibilità di realizzare nuovi biosensori utilizzando materiali come nanotubi di carbonio e grafene. I nanotubi CNT (Nanotubo di carbonio) possono essere utilizzati come cablaggio elettrico/connector con enzimi redox. Questi nanotubi, simili a fili elettrici, presentano il vantaggio di avere una superficie e una porosità che facilitano l'azione degli enzimi [51].

Lo sviluppo tecnologico sta cercando di passare dai biosensori basati su un meccanismo enzimatico a biosensori privi di enzimi. Nei biosensori non enzimatici, l'acido poliacrilico idrogel è integrato in una matrice multifunzionale di grafene e ftalocianina di lutetio e utilizzato come mediatore redox. Altri sensori non enzimatici sono di grande interesse per la loro maggiore sensibilità, selettività e stabilità, e si basano su nanoparticelle metalliche. Attualmente, vari materiali sono in fase di ricerca come sensori per il glucosio privi di enzimi, tra cui ossidi perovskiti come l'ossido di palladio stronzio, che mostrano un'attività catalitica aumentata [52].

La ricerca attuale è orientata verso l'uso di microgel come sistemi di rilevamento del glucosio. Le variazioni di volume, intensità di fluorescenza e proprietà di riflessione o diffrazione di questi microgel possono essere utilizzate. A partire dall'acido boronico, sono stati sviluppati vari tipi di gel. Alcuni studi hanno immaginato dispositivi che utilizzano microgel reattivi al glucosio e che incorporano molecole di colorante anionico, utilizzati come tecnica ottica di rilevamento [53,54].

Oggi, i sistemi CGM in tempo reale (rtCGM) offrono un monitoraggio continuo con una connessione wireless tra il sensore e il dispositivo, consentendo ai pazienti di visualizzare i valori e i grafici della glicemia.

I dispositivi più recenti, come il Medtronic Guardian Connect e il Dexcom G6, possono monitorare i livelli di glucosio da sette a dieci giorni e sono compatibili con i telefoni, cellulari [66]. Le funzioni come gli allarmi per l'ipoglicemia o l'iperglicemia possono essere personalizzate, aiutando i pazienti con diabete di tipo 1 a prevenire complicazioni acute e a migliorare il controllo glicemico a lungo termine. Inoltre, gli avvisi di glicemia alta permettono ai pazienti di regolare le dosi di insulina, anche in contesti di trattamenti che influenzano la glicemia, come i corticosteroidi. I sensori forniscono dati utili per valutare il controllo glicemico complessivo e la variabilità della glicemia, richiedendo misurazioni capillari per la calibrazione [56].

I monitori glicemici intermittenti (iCGM), come l'Abbot Free Style Libre, sono composti da un'unità sensore/trasmittitore e un'unità lettore, mostrando i valori della glicemia quando si scansiona il sensore. Questi dispositivi non richiedono calibrazione e sono più economici, ma richiedono che il paziente scansioni il sensore almeno ogni otto ore per non perdere i dati accumulati. Tuttavia, non offrono allarmi per l'ipoglicemia e l'iperglicemia, rendendoli inappropriati per i pazienti con mancanza di consapevolezza dell'ipoglicemia. Anche se l'ultima versione del dispositivo può inviare notifiche per i livelli di glucosio, il sistema è utile per misurazioni rapide e ripetute dell'emoglobina A1C [55].

Il Senseonics Eversense CGM è l'unico sensore impiantabile sotto la pelle, composto da un trasmettitore intelligente, una batteria ricaricabile e un'app mobile per ricevere e visualizzare i valori glicemici. Può essere utilizzato fino a novanta giorni, richiedendo calibrazione ogni dodici ore e mostrando una buona accuratezza durante eventi ipoglicemici.

I sistemi CGM presentano delle limitazioni, tra cui problematiche relative alla performance bioanalitica, alla biocompatibilità, alla durata d'uso, alla sicurezza e ai costi. L'accuratezza dei sensori è cruciale per l'aderenza e per l'uso clinico, con interferenze da altre sostanze che possono influenzare la reazione enzimatiche. È stata riscontrata interferenza con sostanze come il paracetamolo, l'acido ascorbico e l'acido urico, e per migliorare la selettività sono state considerate membrane permselective. I dispositivi Free Style Libre e Dexcom G6 offrono letture accurate anche in presenza di paracetamolo, mentre la tecnologia a fluorescenza dell'Eversense CGM non è influenzata da acido ascorbico e paracetamolo.

Recenti studi hanno dimostrato miglioramenti nelle prestazioni dei CGM grazie a rivestimenti polimerici specializzati, riducendo la necessità di frequenti ricalibrazioni. Infine, la biocompatibilità dei sensori è fondamentale, specialmente nei pazienti diabetici che possono sperimentare un aumento dello stress ossidativo e una disfunzione endoteliale in presenza di altri fattori di rischio cardiovascolare [55].

2.2 L'efficacia clinica del monitoraggio continuo della glicemia

L'applicazione clinica del CGM è iniziata nel 2000 ed è stata considerata un grande progresso, anche se i primi sensori CGM avevano limitazioni in termini di accuratezza, durata e facilità d'uso. Dopo 10 anni di esperienza clinica, una valutazione della Cochrane Collaboration del 2011 basata su studi randomizzati ha evidenziato che l'efficacia del CGM in tempo reale era limitata, con i maggiori benefici riscontrati nei pazienti con diabete mal controllato che utilizzavano una pompa insulinica [58]. Tuttavia, il rischio di eventi gravi come ipoglicemia o chetoacidosi non è aumentato significativamente nei pazienti che usavano il CGM, e una maggiore aderenza all'uso del dispositivo ha migliorato i livelli di A1c.

Una revisione indipendente ha confermato che l'uso frequente del CGM può migliorare i risultati di A1c nei pazienti con diabete di tipo 1 e ridurre gli eventi ipoglicemici, ma i benefici dipendono molto dalla frequenza di utilizzo [57]. Studi successivi, come quelli condotti dalla JDRF (Juvenile Diabetes Research Foundation) hanno dimostrato che il CGM può portare a significative riduzioni dell'A1c, soprattutto nei pazienti con livelli iniziali elevati, e che i miglioramenti sono correlati all'uso costante del dispositivo, una riduzione dei livelli medi di glucosio, nonché una riduzione delle ipoglicemie e iperglicemie [59]. Questi studi hanno evidenziato che l'uso del CGM riduce il rischio di ipoglicemia del 33-50%, specialmente nei pazienti ad alto rischio [60].

Il miglioramento dell'accuratezza dei sensori CGM ha portato a una maggiore accettazione del dispositivo da parte di pazienti e medici, riducendo anche la necessità di calibrazioni frequenti. La tecnologia di monitoraggio flash utilizza una calibrazione preimpostata in fabbrica, eliminando il bisogno di calibrazioni quotidiane da parte del paziente. Recentemente, il sensore Dexcom G5 ha ottenuto l'approvazione per l'uso non adiuvante, ovvero per l'aggiustamento delle dosi di insulina senza la necessità di confermare i livelli con misurazioni di glucosio capillare [61].

Studi clinici randomizzati hanno dimostrato che il CGM è efficace sia nei pazienti che utilizzano iniezioni multiple giornaliere (MDI) sia nei pazienti che usano una pompa insulinica (CSII), con miglioramenti equivalenti nei livelli medi di glucosio e nella riduzione del rischio di ipoglicemia. I recenti studi con sistemi di monitoraggio flash hanno confermato che i benefici del CGM sono comparabili tra gli utenti di MDI e CSII, dimostrando l'efficacia del CGM nel migliorare la qualità del controllo glicemico in entrambi i gruppi [62].

2.3 Il Ruolo del monitoraggio continuo del glucosio nelle sperimentazioni cliniche

Il CGM sta assumendo un ruolo centrale nelle ricerche cliniche per valutare e confrontare diverse terapie per il diabete di tipo 1 e tipo 2. Storicamente, gli studi clinici si sono concentrati principalmente sui valori di A1c, glicemia a digiuno e, occasionalmente, su profili glicemici ottenuti tramite l'automonitoraggio glicemico (SMBG), eseguito 7-8 volte al giorno per pochi giorni. Tuttavia, questi profili catturavano solo una parte delle fluttuazioni glicemiche, lasciando fuori episodi ipo- e iperglicemici, specialmente durante la notte [63].

L'avvento del CGM consente oggi di confrontare con maggiore precisione diversi regimi terapeutici e trattamenti, inclusi agenti attivi, interventi e placebo. Il CGM è stato applicato in studi su insuline ad azione rapida e lunga e altre classi di farmaci. Questo strumento è particolarmente utile per confrontare la variabilità glicemica (GV) tra diverse terapie, analizzare i modelli notturni, valutare la frequenza, la gravità e la durata di ipo- e iperglicemie, e monitorare i cambiamenti postprandiali [64].

Il CGM è cruciale in molti studi farmacodinamici, e ci si aspetta che il suo ruolo nei trial clinici continui a crescere. Un ostacolo al suo uso finora è stata l'incertezza riguardo all'accettazione dei dati da parte degli enti regolatori. Sarebbe utile se organismi come CE e FDA (Food and Drug Administration) dichiarassero esplicitamente di accettare i dati del CGM come parte della valutazione formale di nuove terapie. Con il continuo miglioramento dell'accuratezza, facilità d'uso, durata dei sensori, accettazione da parte degli utenti e riduzione dei costi, si prevede un utilizzo sempre maggiore del CGM nelle sperimentazioni cliniche future [65].

2.4 Predizione nel controllo glicemico

Al fine di evitare l'emissione di un allarme in presenza di episodi di ipoglicemia, evento che potrebbe non essere percepito dal paziente o dai familiari, CGM in tempo reale offre la possibilità di sospendere direttamente la somministrazione di insulina da una pompa.

Questo algoritmo, caratterizzato da semplicità ed efficienza, si è dimostrato estremamente efficace nella riduzione del rischio di ipoglicemia notturna, evidenziando una diminuzione del 38% dell'area sotto la curva (AUC) al di sotto di 70 mg/dL per i soggetti che hanno utilizzato la funzione di sospensione basata sulla soglia. È stata osservata una riduzione di circa il 25% del tempo trascorso con i livelli di glucosio compresi tra 51 e 70 mg/dL, e oltre il 50% di diminuzione del tempo con glucosio pari o inferiore a 50 mg/dL. Si può generalmente prevedere una riduzione più significativa del tempo trascorso nei livelli più gravi di ipoglicemia (≤ 50 mg/dL) rispetto a criteri meno rigorosi, come quelli che considerano valori di glucosio ≤ 70 mg/dL. Inoltre, non si sono registrate variazioni significative nei valori di A1c né un incremento dell'iperglicemia [67].

Invece di attendere che i livelli di glucosio scendano al di sotto di una soglia specifica, è possibile prevedere quando tale evento si verificherà nel breve periodo attraverso vari algoritmi di previsione. L'utilizzo di un algoritmo predittivo migliora le performance rispetto all'algoritmo di sospensione per ipoglicemia: il numero e la durata degli episodi notturni di ipoglicemia sono stati entrambi ridotti, con la diminuzione più significativa riscontrata negli eventi con valori di glucosio inferiori a 60 mg/dL e durati oltre 180 minuti per i bambini (dai 4 ai 10 anni) e gli adolescenti (dagli 11 ai 14 anni) [68].

Calhoun et al. hanno riportato che un sistema di sospensione predittiva del glucosio utilizzato durante la notte ha raggiunto una riduzione del rischio di ipoglicemia di due volte. Questo effetto è risultato così robusto da non essere influenzato da quattordici fattori legati al paziente e alle condizioni al momento di coricarsi, tra cui: (1) età; (2) genere; (3) durata del diabete; (4) A1c basale all'inizio dello studio; (5) percentuale giornaliera di insulina basale; (6) dose totale giornaliera di insulina; (7) glucosio nel sangue a ora di coricarsi; (8) presenza o assenza di uno spuntino prima di dormire; (9) quantità calcolata di insulina attualmente in circolo a ora di coricarsi; (10) tasso di variazione del CGM a ora di coricarsi; (11) giorno della settimana; (12) ora del giorno in cui il sistema di sospensione per ipoglicemia è stato attivato; (13) intensità dell'esercizio fisico; e (14) numero di valori di CGM di ipoglicemia ≤ 60 mg/dL tra le 12 e le 20 del giorno precedente allo studio notturno [69].

Un passo logico successivo all'uso dell'algoritmo di sospensione per ipoglicemia è stato introdurre un algoritmo di controllo simile per prevenire anche episodi di iperglicemia, creando così un algoritmo di controllo per il mantenimento nei limiti. Oltre alla sospensione per ipoglicemia, è possibile aumentare i tassi di infusione di insulina se i livelli di glucosio superano (o si prevede che superino) una soglia specificata.

Questo approccio, definito minimizzatore di ipoglicemia/iperglicemia, può fornire un miglioramento del controllo e incrementare la percentuale di tempo trascorso all'interno dell'intervallo target. Gli autori hanno anche esaminato gli effetti dell'aggressività dell'algoritmo nel controllo dell'ipoglicemia [70].

Il prossimo livello nell'evoluzione dei sistemi a ciclo chiuso ovvero dei sistemi automatizzati che regolano la somministrazione di insulina in base ai livelli di glucosio misurati è rappresentato da un sistema a doppio ormone, che consente l'infusione di insulina e glucagone, sia singolarmente che congiuntamente. Diversi gruppi di ricerca hanno esplorato questa opzione e diversi sistemi sono stati sviluppati e testati clinicamente sia per pazienti ricoverati che per un uso ambulatoriale a lungo termine. Questi sono in grado di ridurre il rischio di ipoglicemia di circa tre volte rispetto al rischio associato all'uso di pompe insuliniche standard. L'algoritmo a doppio ciclo, utilizzato da Russell, Damiano, El-Khatib e collaboratori, richiede una specifica minima dei parametri per ogni paziente—è sufficiente conoscere il peso del paziente. C'è un urgente bisogno di una preparazione di glucagone stabile e solubile approvata dalla FDA. L'aumento della complessità dei sistemi di controllo a doppio ormone potrebbe comportare costi maggiori. Resta da vedere quali sottogruppi di pazienti potrebbero trarre beneficio da un sistema a doppio ormone in modo costo-efficace [71].

2.5 Standardizzazione delle metriche di variabilità glicemica

La standardizzazione delle metriche per la valutazione dei sistemi CGM e di controllo a ciclo chiuso è diventata cruciale, poiché esistono ormai numerosi modi per esprimere le variazioni nel controllo glicemico, nell'ipoglicemia, nell'iperglicemia e nella GV a seguito di un intervento. Questa diversità rende difficile confrontare e combinare i risultati di diversi studi che coinvolgono popolazioni di pazienti differenti, sensori e algoritmi di controllo variabili, contesti e durate di studio diversi, nonché definizioni disparate di iperglicemia, range target e ipoglicemia. È quindi fondamentale selezionare alcuni criteri da includere regolarmente nella valutazione e caratterizzazione dei sistemi CGM e a ciclo chiuso.

È possibile combinare diversi range di glicemia che coprono vari gradi di ipo- e iperglicemia utilizzando triadi di metriche come HBGI (High Blood Glucose Index) con LBGI (Low Blood Glucose Index) e BGRI (Blood Glucose Risk Index), oppure GRADEipoglicemia (Glycemic Risk Assessment Diabetes Equation for Hypoglycemia) con GRADEiperglicemia (Glycemic Risk Assessment Diabetes Equation for Hyperglycemia) e GRADE (Glycemic Risk Assessment Diabetes equation). Questo approccio semplifica l'analisi e l'interpretazione, riducendo i problemi derivanti da risultati contrastanti.

Il profilo glicemico ambulatoriale (AGP) si è dimostrato estremamente utile nel riassumere i risultati degli studi CGM e dei sistemi a ciclo chiuso. Diversi gruppi hanno sovrapposto i gruppi di controllo e intervento utilizzando colori differenti e hanno mostrato i percentili (10°, 25°, 50°, 75° e 90°) per ciascun gruppo di trattamento. L'evoluzione dell'AGP è stata descritta nella letteratura. L'AGP è stato impiegato in molti degli studi citati, facilitando l'analisi delle percentuali di tempo trascorso nelle fasce iperglicemiche, target e ipoglicemiche in base all'orario della giornata e dei cambiamenti attribuibili a vari interventi. Sebbene l'AGP fornisca un quadro qualitativo, non offre un'unica metrica. Metriche come IGC, BGRI, GRADE, Q-score, glucosio pentagono/pentagramma, ADRR e %TIR permettono di ridurre questo quadro dinamico a un punteggio singolo. Poiché esistono due aspetti di un controllo inadeguato, è necessaria una misura minima di due parametri: uno per riflettere l'ipoglicemia e l'altro per riflettere l'iperglicemia [72].

Per quanto riguarda la durata minima dei dati CGM, se i diversi giorni della settimana mostrano schemi glicemici differenti, è necessario ottenere almeno due (e preferibilmente quattro) settimane di registrazioni CGM, seguite da analisi appropriate. Due settimane sembrano essere il tempo minimo necessario per un CGM retrospettivo affidabile, stabile e sensibile.

Con l'efficacia clinica e la sicurezza dimostrate del CGM e del controllo a ciclo chiuso, e la necessità di molti pazienti di utilizzarlo in modo continuo a lungo termine, c'è stata una ripresa dell'interesse per i sensori di glucosio impiantabili a lungo termine. Diverse aziende stanno sviluppando prototipi di sensori impiantabili utilizzando tecniche variegiate. Ci si aspetta un'attività continua e rapida in questo campo, così come i sensori di glucosio percutanei continuano a migliorare [73,74].

Capitolo 3

RETINOPATIA DIABETICA

3.1 Trattamenti e meccanismi della retinopatia diabetica

La retinopatia diabetica (RD) rappresenta una delle principali complicanze del diabete mellito ed è tra le principali cause di perdita della vista nelle persone in età lavorativa. La diagnosi di RD si basa su manifestazioni cliniche di anomalie vascolari nella retina. Clinicamente, la RD si suddivide in due fasi: la retinopatia diabetica non proliferante (RDNP) e la retinopatia diabetica proliferante (RDP). La RDNP rappresenta lo stadio iniziale, in cui si osservano principalmente un aumento della permeabilità vascolare e l'occlusione dei capillari nella retina. Durante questa fase, alcune patologie retiniche come microaneurismi, emorragie ed essudati duri possono essere rilevate tramite fotografie del fondo oculare, anche se spesso i pazienti non presentano sintomi [77].

La RDP è lo stadio avanzato della malattia ed è caratterizzata dalla formazione di nuovi vasi sanguigni anomali, una condizione chiamata neovascolarizzazione. In questo stadio, i pazienti possono soffrire di gravi compromissioni della vista, specialmente quando i nuovi vasi sanguigni anomali sanguinano nel corpo vitreo (emorragia vitreale) o in presenza di un distacco retinico di tipo trazionale. La causa più comune di perdita della vista nei pazienti con RD è l'edema maculare diabetico (EMD), caratterizzato da gonfiore o ispessimento della macula dovuto all'accumulo di liquidi intra- e sub-retinali. Questo processo è scatenato dalla rottura della barriera emato-retinica. L'EMD può manifestarsi in qualsiasi fase della RD, causando distorsione delle immagini visive e riduzione dell'acuità visiva [75,76].

Le attuali strategie di trattamento della RD mirano a gestire le complicanze microvascolari. Tra queste vi sono l'uso di agenti farmacologici intravitreali, la fotocoagulazione laser e la chirurgia vitreale. La somministrazione intravitreale di agenti anti-VEGF rappresenta attualmente la terapia principale per entrambe le fasi della RD. Mentre la terapia laser tradizionale stabilizza solo l'acuità visiva, il trattamento con anti-VEGF può portare a miglioramenti della vista, con minori effetti collaterali oculari.

Tuttavia, secondo uno studio del Diabetic Retinopathy Clinical Research Network (DRCR.net), dopo due anni di trattamento con anti-VEGF, solo il 29% dei pazienti con EMD ha mostrato un miglioramento visivo significativo. Questa risposta inadeguata potrebbe essere dovuta al coinvolgimento di altre vie molecolari oltre al VEGF nella patogenesi della RD [78].

La ricerca sui meccanismi sottostanti alla RD è quindi di grande importanza, in quanto potrebbe individuare nuovi bersagli terapeutici per lo sviluppo di trattamenti alternativi. Attualmente, si stanno studiando nuovi agenti farmacologici e bersagli terapeutici innovativi, testati in studi clinici, che potrebbero rappresentare una speranza per il futuro trattamento della retinopatia diabetica.

3.2 Patogenesi della retinopatia diabetica

La RD è una malattia legata all'iperglicemia che causa danni ai piccoli vasi sanguigni della retina. I primi segni di questo danno includono la dilatazione dei vasi sanguigni e cambiamenti nel flusso sanguigno, che rappresentano una reazione metabolica per aumentare l'attività retinica nei soggetti diabetici. Un aspetto caratteristico della fase iniziale della RD è la perdita dei periciti, cellule che forniscono supporto strutturale ai capillari [80]. La loro assenza porta alla formazione di microaneurismi, uno dei primi segni clinici della malattia. Con il progredire della patologia, si osserva anche la morte delle cellule endoteliali e l'ispessimento della membrana basale, che insieme contribuiscono a danneggiare la barriera emato-retinica, rendendo la retina più permeabile e vulnerabile. Inoltre, la perdita di queste cellule provoca l'occlusione dei capillari e l'ischemia, che stimola la produzione del fattore di crescita vascolare endoteliale, un elemento cruciale nella progressione delle forme più avanzate della RD, come la retinopatia proliferativa e l'edema maculare diabetico [79].

L'infiammazione gioca anch'essa un ruolo centrale nello sviluppo della RD. È stato dimostrato che, fin dalle prime fasi della malattia, si verifica un'infiammazione cronica e di basso grado nella retina. In particolare, l'adesione dei globuli bianchi ai vasi sanguigni retinici è un processo iniziale importante, e contribuisce al danneggiamento delle cellule endoteliali e alla rottura della barriera emato-retinica [81]. Questo processo è facilitato dall'aumento di specifiche molecole di adesione nelle cellule endoteliali.

Anche la neurodegenerazione retinica rappresenta un evento precoce nella progressione della RD. Nei modelli animali di diabete, è possibile osservare la morte dei neuroni retinici già un mese dopo l'insorgenza della malattia.

Questo processo è collegato a un danno mitocondriale e a un aumento dello stress ossidativo. In alcuni studi, si è riscontrata la perdita di cellule gangliari e la riduzione dello spessore della retina nei pazienti diabetici, anche prima che compaiano i segni tipici delle alterazioni microvascolari. Questa evidenza suggerisce che la neurodegenerazione potrebbe rappresentare un meccanismo patologico autonomo della DR, aprendo la strada a nuove possibilità di intervento precoce per contrastare la malattia [82].

3.3 Fattori di rischio e biomarcatori della retinopatia diabetica

Lo sviluppo della retinopatia diabetica è strettamente correlato a una maggiore durata del diabete, livelli più elevati di iperglicemia e ipertensione. Un livello più alto di A1c è significativamente associato alla progressione della retinopatia diabetica, e un controllo glicemico intensivo riduce l'incidenza e il peggioramento della malattia. Studi recenti hanno evidenziato che anche la variabilità glicemica è fortemente associata alla retinopatia diabetica nel diabete di tipo 2, rendendo fondamentale correggere l'iperglicemia postprandiale per prevenirla. Inoltre, esistono prove solide del legame tra ipertensione e retinopatia diabetica, e un controllo stretto della pressione sanguigna può rallentarne il deterioramento. Altri fattori di rischio includono nefropatia, dislipidemia, fumo e un indice di massa corporea elevato, che possono anch'essi essere modificati per prevenire la progressione della retinopatia diabetica [83].

Tuttavia, nonostante questi fattori di rischio noti, studi hanno rivelato una significativa variazione nello sviluppo e nella gravità della retinopatia diabetica che non può essere completamente spiegata da questi fattori. Pertanto, è importante identificare nuovi biomarcatori. Alcuni indicatori generali comprendono proteine legate all'infiammazione, come la proteina C-reattiva, e altre sostanze che si formano a causa dell'iperglicemia. Alcuni studi hanno identificato proteine specifiche nel sangue che potrebbero indicare la presenza di retinopatia diabetica. Anche altre aree come lo studio dei geni e delle piccole molecole (microRNA) sono in corso di approfondimento [84].

Per quanto riguarda gli occhi, esistono indicatori che possono essere rilevati tramite campioni di liquidi oculari o immagini dell'occhio. Si è visto che, in chi soffre di retinopatia diabetica, aumentano alcune sostanze che favoriscono la formazione di nuovi vasi sanguigni e diminuiscono quelle che ne rallentano la crescita. Anche l'analisi delle immagini della retina mostra cambiamenti, come la presenza di microaneurismi e l'ingrossamento dei vasi, collegati alla progressione della malattia.

Tuttavia, molti di questi indicatori devono essere ancora confermati da ulteriori studi prima di poter essere usati nella pratica clinica per predire lo sviluppo della retinopatia diabetica e i suoi effetti per stratificare il rischio o valutare la risposta terapeutica della retinopatia diabetica [85].

3.4 Screening

La RD continua a essere la principale causa di disabilità visiva, rendendo fondamentale lo screening per la sua rilevazione precoce e la prevenzione della cecità evitabile. La maggior parte dei pazienti con retinopatia diabetica sviluppata non presenta sintomi fino alla comparsa di edema maculare o retinopatia diabetica proliferativa. Sebbene la fotocoagulazione laser panretinica e le iniezioni di inibitori del VEGF siano efficaci per i problemi visivi legati all'edema maculare o alla retinopatia proliferativa, il loro beneficio è maggiore nella prevenzione della perdita visiva piuttosto che nel recupero di un'acuità visiva deteriorata. Pertanto, un programma di screening tempestivo per la retinopatia diabetica può aiutare le persone con diabete a preservare la propria visione [86].

Secondo le attuali linee guida per lo screening della retinopatia diabetica, pubblicate dal Consiglio Internazionale di Oftalmologia e dall'Associazione Americana del Diabete nel 2018, è importante stabilire il momento del primo esame oculistico e il numero minimo di esami per un appropriato rinvio a uno specialista. Per i pazienti con diabete di tipo 2, il primo esame oculistico dovrebbe essere effettuato non appena viene confermata la diagnosi di diabete, mentre per il diabete di tipo 1 il primo esame dovrebbe essere eseguito cinque anni dopo l'inizio della malattia [87]. Gli esami minimi comprendono un esame dell'acuità visiva e un esame retinico, entrambi eseguiti da personale ben addestrato; l'imaging retinico può essere analizzato tramite telemedicina o un sistema automatizzato [88]. Grazie ai progressi dell'intelligenza artificiale e degli algoritmi di apprendimento profondo, il primo programma automatizzato di screening per la retinopatia diabetica è stato approvato dalla FDA nell'aprile 2018, raggiungendo una sensibilità del 96,8% e una specificità dell'87% per la rilevazione della retinopatia diabetica referibile. Recentemente, l'implementazione di una fotocamera retinica basata su smartphone in contesti a basse risorse ha mostrato un grande potenziale nella rilevazione della retinopatia diabetica, specialmente se combinata con la telemedicina. Per massimizzare il costo-efficacia dello screening della retinopatia diabetica, diversi studi hanno proposto un programma di screening personalizzato basato sul rischio del paziente di sviluppare retinopatia diabetica proliferativa o edema maculare.

Si stima che questo approccio potrebbe far risparmiare 1 miliardo di dollari in 20 anni, rispetto a uno screening annuale di routine nel diabete di tipo 1 negli Stati Uniti. Tuttavia, la validità dello schema di screening personalizzato nel diabete di tipo 1 deve essere ulteriormente verificata nel diabete di tipo 2.

3.5 Nuove prospettive di valutazione della retinopatia diabetica

La prevalenza globale e l'impatto della RD sono destinati ad aumentare significativamente nei prossimi decenni, passando da circa 103 milioni di individui nel 2020 a 130 milioni nel 2030 e a 161 milioni nel 2045. Questo aumento è attribuito a diversi fattori, tra cui l'aumento della prevalenza del diabete nel mondo, i cambiamenti nello stile di vita e l'invecchiamento della popolazione globale. Questa impennata del carico di malattia, superiore al 25% in soli dieci anni, metterà ulteriormente a dura prova i sistemi sanitari già sotto pressione. I costi economici associati alla retinopatia diabetica e alle sue complicanze sono notevoli. Negli Stati Uniti, per la cura della RD sono stati stimati 493 milioni di dollari all'anno nel 2004. Sebbene manchino dati più recenti, è evidente che queste stime sono state calcolate prima dell'introduzione del trattamento anti-VEGF per l'EMD. Studi successivi hanno dimostrato che i costi economici sono significativamente più elevati per i pazienti con EMD rispetto a quelli senza, principalmente a causa della necessità di costosi trattamenti anti-VEGF. Si prevede che la prevalenza globale del EMD aumenti di circa il 25%, raggiungendo circa 24 milioni di individui entro il 2030, con un conseguente aumento dei costi sanitari che sarà sconvolgente. È importante non solo considerare l'aumento complessivo del carico di malattia, ma anche il modello di crescita previsto. Secondo le proiezioni epidemiologiche per il 2030, i tassi di aumento della prevalenza della DR nelle regioni tradizionalmente ad alto reddito, come il Nord America e l'Europa, sembrano essere relativamente bassi, oscillando tra il 10,8% e il 18,0%. In contrasto, nei paesi a medio e basso reddito, come il Pacifico occidentale, il Sud e il Centro America, l'Asia, l'Africa, il Medio Oriente e il Nord Africa, i tassi di aumento sono molto più elevati, variando dal 20,6% fino al 47,2%. In termini assoluti, i maggiori aumenti sono previsti nelle regioni del Medio Oriente e del Pacifico occidentale, dove si stima che il numero di persone con DR aumenterà di oltre 6 milioni in ciascuna regione. Questo spostamento geografico del carico di malattia verso Asia, Africa e Pacifico occidentale implica che le strategie sanitarie globali per combattere la RD dovranno adattarsi a questa nuova demografia della malattia [89].

È urgente la necessità di risorse sanitarie per screening, diagnosi, follow-up e trattamento della RD in queste aree. Programmi di screening della RD su larga scala, sistematici piuttosto che opportunistici, mirati a tutti i pazienti diabetici, consentiranno una rilevazione precoce e un intervento tempestivo, risultando economici e riducendo i tassi di perdita della vista, ma richiedono un investimento significativo in infrastrutture e tempo per essere implementati. Le lesioni retiniche visibili clinicamente associate alla RD, come microaneurismi, emorragie ed esudati duri, sono principalmente il risultato di danni microvascolari retinici. Di conseguenza, la ricerca sulla fisiopatologia, la diagnosi e la valutazione della RD si è tradizionalmente concentrata sugli aspetti vascolari della malattia [90].

Tuttavia, con l'avvento di migliori modalità di imaging retinico strutturale e valutazioni funzionali, sono emerse prove significative di una rilevante disfunzione neurale retinica, che si verifica insieme, o in alcuni casi precede, lo sviluppo di anomalie vascolari. Questi cambiamenti strutturali e funzionali sono stati complessivamente definiti "neurodegenerazione retinica diabetica".

Gli studi con tomografia a coerenza ottica (OCT) hanno dimostrato che i pazienti con diabete mostrano un significativo assottigliamento degli strati retinici interni, inclusi il strato delle fibre nervose retiniche e il strato delle cellule gangliari. Questo assottigliamento retinico è progressivo nel tempo e può precedere lo sviluppo di lesioni clinicamente visibili. Studi istologici su occhi enucleati confermano queste osservazioni, mostrando riduzioni nella densità delle cellule gangliari retiniche negli occhi con RD. Le valutazioni funzionali nel diabete rivelano riduzioni nella sensibilità al contrasto, difetti del campo visivo, deficit elettrofisiologici e risposte pupillari compromesse.

Nonostante le chiare prove della neurodegenerazione retinica nella malattia retinica diabetica, rimangono molte domande importanti senza risposta in quest'area. Gli attuali studi OCT sulla neurodegenerazione retinica misurano diversi strati retinici e in posizioni non standardizzate. Le valutazioni funzionali come l'elettrofisiologia, la perimetria del campo visivo e la pupillometria sono spesso dispendiose in termini di tempo e risorse. Recentemente, un pupillometro cromatico portatile è stato in grado di fornire una rapida valutazione della funzione neurale retinica nel diabete. Tali risultati, tuttavia, devono essere replicati e validati in coorti più ampie. Sono in corso anche numerosi studi per determinare l'impatto prognostico della neurodegenerazione retinica e per incorporare queste valutazioni nei sistemi di classificazione e stadio della RD. Questi sforzi potrebbero cambiare il modo in cui valutiamo e gestiamo regolarmente la RD nei prossimi decenni [91].

Capitolo 4

DEEP LEARNING E RETINOPATIA DIABETICA

Il deep learning è una sottocategoria del machine learning che sfrutta reti neurali multilivello, chiamate reti neurali profonde, per simulare la complessa capacità decisionale del cervello umano. La principale differenza tra deep learning e machine learning tradizionale risiede nella struttura delle reti neurali sottostanti. I modelli di machine learning "non profondi" utilizzano reti neurali semplici con uno o due livelli computazionali, mentre i modelli di deep learning utilizzano tre o più livelli, spesso centinaia o migliaia, per addestrare i modelli in modo più accurato. Mentre i modelli di apprendimento supervisionato richiedono dati strutturati ed etichettati per produrre output accurati, i modelli di deep learning possono utilizzare l'apprendimento non supervisionato. In questo modo, sono in grado di estrarre caratteristiche e relazioni necessarie per generare output corretti partendo da dati non strutturati. Questi modelli possono anche valutare e perfezionare i loro risultati per una maggiore precisione.

Il problema fondamentale della RD è che diventa incurabile negli stadi avanzati, rendendo quindi cruciale una diagnosi precoce. Tuttavia, questo comporta notevoli difficoltà per il sistema sanitario a causa dell'elevato numero di potenziali pazienti e della scarsità di tecnici esperti. Ciò ha spinto la necessità di sviluppare sistemi di diagnosi automatizzata per assistere nella diagnosi precoce. Sono stati fatti vari tentativi in questa direzione, con diverse tecniche basate su caratteristiche progettate manualmente che hanno mostrato una buona efficienza nel riconoscere le aree affette da RD nelle immagini del fondo oculare [92].

Le caratteristiche progettate manualmente sono comunemente utilizzate con i metodi tradizionali di apprendimento automatico. Diversi studi hanno esaminato questi metodi tradizionali. Ad esempio, alcuni ricercatori hanno categorizzato la diagnosi della RD in base alle metodologie adottate, come la morfologia matematica, il tracciamento delle lesioni retiniche, i modelli deformabili e gli approcci ibridi [93]. Altri studi hanno esaminato algoritmi che estraggono caratteristiche delle lesioni dalle immagini del fondo oculare, come l'area dei vasi sanguigni, essudati, emorragie e microaneurismi, o hanno esaminato le ricerche per la segmentazione dei vasi retinici e del disco ottico, che è essenziale anche per la diagnosi del glaucoma.

Tuttavia, l'uso di caratteristiche progettate manualmente richiede una profonda conoscenza esperta, e la scelta delle caratteristiche adeguate comporta un'analisi approfondita delle opzioni e la regolazione di parametri complessi. Inoltre, queste tecniche non generalizzano bene a nuove situazioni [94].

Negli ultimi anni, la disponibilità di enormi dataset e la potenza di calcolo fornita dalle unità di elaborazione grafica (GPU) hanno favorito lo sviluppo di algoritmi di deep learning (DL), che hanno mostrato prestazioni eccellenti in vari compiti di visione artificiale, superando in modo decisivo i metodi tradizionali basati su caratteristiche progettate manualmente. Sono stati sviluppati molti algoritmi basati su DL per analizzare le immagini del fondo oculare e creare sistemi di diagnosi automatica assistita per la RD. Questi algoritmi, sfruttando l'enorme quantità di dati disponibili, sono in grado di rilevare automaticamente le caratteristiche delle lesioni e di classificare la RD in base alla sua gravità. In futuro, la ricerca su reti neurali profonde per la diagnosi della RD si concentrerà sulla risoluzione delle sfide ancora presenti, come la progettazione e l'addestramento di queste reti per ottenere prestazioni sempre più accurate e generalizzabili [95].

4.1 Metodi di rilevamento

La rilevazione della RD si divide in due principali approcci: il rilevamento basato sulle lesioni e quello basato sull'intera immagine. Nel rilevamento basato sulle lesioni, ogni lesione viene identificata e localizzata, poiché il numero e la posizione delle lesioni sono fondamentali per valutare la gravità della RD. Al contrario, il rilevamento basato sull'immagine si concentra sulla valutazione a livello di immagine, ed è particolarmente utile per lo screening, in quanto stabilisce semplicemente se ci sono segni di RD.

Il rilevamento delle lesioni prevede solitamente due fasi: la rilevazione e/o segmentazione delle lesioni e la loro classificazione. Nella prima fase, vengono individuate lesioni come microaneurismi (MAs), emorragie (HMs), essudati duri e molli dalle immagini del fondo oculare, localizzando con precisione l'area interessata [96]. Tuttavia, questa operazione è complessa poiché le immagini retiniche contengono altri oggetti con caratteristiche simili, come punti rossi o vasi sanguigni, che possono confondere il processo. È necessario un contesto globale e locale per eseguire una segmentazione accurata. La fase di rilevamento individua le potenziali regioni di interesse, ma può produrre falsi positivi, che vengono eliminati nella fase di classificazione delle lesioni.

Il rilevamento basato sull'immagine, invece, è un compito di screening che classifica l'immagine del fondo oculare come normale o con segni di RD. Questo è uno dei primi ambiti della diagnosi medica in cui il DL ha dato contributi significativi [97].

Il framework generale per il rilevamento, la segmentazione e la classificazione della RD comprende specifici passaggi: la preelaborazione dei dati, l'estrazione e selezione delle caratteristiche, la scelta di un metodo di classificazione adeguato e, infine, la valutazione dei risultati.

I sistemi di classificazione possono essere suddivisi in due categorie in base alla procedura di apprendimento: supervisionato e non supervisionato. Nell'apprendimento supervisionato, il sistema viene istruito con dati etichettati per apprendere la mappatura funzionale, mentre i metodi non supervisionati tendono a scoprire schemi nascosti in base alla somiglianza dei dati non etichettati.

A differenza degli approcci basati su caratteristiche progettate manualmente, le tecniche di DL integrano tutti questi passaggi in un unico framework e apprendono automaticamente le caratteristiche necessarie, addestrando il sistema in modo end-to-end [98].

4.2 Dataset di immagini del fondo oculare

Sono stati creati diversi set di dati contenenti immagini del fondo oculare per allenare e testare gli algoritmi per i vari compiti di rilevamento della retinopatia diabetica. Diversi dataset composti da immagini del fondo oculare sono stati creati per insegnare e testare gli algoritmi per i vari compiti di rilevamento del RD. Di seguito viene presentata una panoramica dei seguenti dataset di riferimento disponibili al pubblico: MESSIDOR, e-ophtha, Kaggle, DRIVE, STARE, DIARETDB1, CHASE, DRiDB, ORIGA, SCES, AREDS, REVIEW, EyePACS-1, RIM-ONE, DRISHTI-GS, ARIA, DRIONS-DB e SEED-DB.

Il dataset MESSIDOR è stato creato nel contesto del programma di ricerca omonimo, finanziato dal ministero francese della ricerca e della difesa, utilizzando una telecamera montata su un retinografo non midriatico. Include annotazioni da oftalmologi esperti su gradi di retinopatia diabetica e rischi di edema maculare. Esistono diverse classificazioni, con gradi di RD da 0 (nessun rischio) a 3 (significativa presenza di RD) e rischi di edema da 0 a 2.

Il dataset e-ophtha, frutto di un progetto finanziato dall'agenzia di ricerca francese, fornisce dati sulle MAs e sull'edema, identificati da due oftalmologi, ed è suddiviso in e-ophtha EX (contenente immagini con edema) ed e-ophtha MAs (contenente immagini con microaneurismi).

Il dataset di Kaggle è composto da immagini retiniche ad alta risoluzione annotate da esperti, classificate da 0 a 4, dove 0 indica nessun rischio e 4 la proliferazione diabetica retinopatica (PDR). Il dataset DRIVE, raccolto nei Paesi Bassi, include 40 immagini del fondo, di cui 33 senza segni di RD e 7 con segni lievi, con annotazioni a livello di pixel.

Il programma STARE, presenta immagini del fondo relative a 13 malattie oculari, con annotazioni per vasi sanguigni e nervo ottico. Il dataset DIARETDB1 include 89 immagini annotate da quattro esperti, suddivise in set di addestramento e test. Il dataset CHASE, derivante da uno studio in Inghilterra, comprende 28 immagini di bambini, annotate per i vasi sanguigni.

Il database DRiDB è stato creato per colmare le lacune dei dataset precedenti e include immagini con vari segni di RD. ORIGA è un database online per la ricerca sul glaucoma, mentre SCES si concentra sui determinanti della profondità della camera anteriore in 1060 partecipanti cinesi.

AREDS è uno studio a lungo termine su malattie legate all'età, coinvolgendo 595 partecipanti. Il dataset REVIEW contiene 16 immagini con misurazioni della larghezza dei vasi, annotati da esperti. EyePACS è un sistema di telemedicina per lo screening della RD, e RIM-ONE è un database per la valutazione del nervo ottico. Infine, DRISHTI-GS comprende 101 immagini del fondo di controlli sani e pazienti glaucomatosi, mentre il database SEED include 235 immagini focalizzate sulle principali malattie oculari, con annotazioni relative a nervo ottico e cupola ottica [99,100].

4.3 Architetture di deep learning per il rilevamento della retinopatia diabetica

Le architetture basate sul DL sono state ampiamente utilizzate per il rilevamento della RD. Tra queste architetture, le più comuni includono le reti neurali convoluzionali (CNN), gli autoencoder (AE), le reti neurali ricorrenti (RNN) e le deep belief networks (DBN).

1) CNN

Le CNN sono progettate per simulare il sistema visivo umano e vengono utilizzate in vari compiti di visione artificiale. Una CNN è composta da tre tipi principali di strati: strati convoluzionali, che elaborano informazioni spaziali locali; strati di pooling, che riducono la dimensionalità; e strati completamente connessi (FC), che gestiscono l'informazione globale. Modelli famosi di CNN includono AlexNet, VGGNet, GoogLeNet e ResNet. Questi modelli sono addestrati in modo end-to-end, imparando automaticamente le caratteristiche gerarchiche e garantendo alte prestazioni di classificazione.

I primi modelli, come LeNet e AlexNet, avevano pochi strati, ma la maggiore profondità dei modelli successivi, come VGGNet con 19 strati, ha dimostrato di migliorare le prestazioni. Modelli avanzati come GoogLeNet, Inception e ResNet hanno raggiunto risultati notevoli in vari compiti di visione artificiale.

L'addestramento di un modello CNN richiede grandi quantità di dati per evitare l'overfitting, ma nel campo medico, inclusa la RD, spesso i dati disponibili sono limitati. Per affrontare questa sfida si utilizza il transfer learning, che implica l'uso di un modello pre-addestrato su un altro set di dati, affinato con dati specifici del dominio di interesse. Le due strategie principali sono: utilizzare il modello pre-addestrato come estrattore di caratteristiche o affinare il modello con nuovi dati.

Un ulteriore sviluppo delle CNN è rappresentato dalle Fully Convolutional Networks (FCN), che sostituiscono gli strati FC con strati convoluzionali e aggiungono strati di deconvoluzione per ottenere mappe di output delle stesse dimensioni delle immagini di input. Le FCN sono particolarmente utilizzate per la segmentazione delle immagini [101].

2) AE

Gli AE sono reti neurali con un singolo strato nascosto in cui l'input è uguale all'output. Vengono utilizzati per costruire stacked autoencoder (SAE), il cui processo di addestramento è suddiviso in due fasi: pre-addestramento e fine-tuning. Durante il pre-addestramento, il modello SAE viene addestrato strato per strato in modo non supervisionato, mentre nella fase di fine-tuning, il modello viene ottimizzato utilizzando algoritmi di backpropagation in modo supervisionato. Esistono due tipi principali di autoencoder: sparse e denoising. Gli sparse autoencoder forzano l'estrazione di caratteristiche sparse dai dati, mentre i denoising autoencoder sono utilizzati per la loro capacità di recuperare input corrotti, rendendoli particolarmente adatti per il rilevamento della RD [102].

3) RNN

Le RNN sono in grado di apprendere non solo dai pattern di input ma anche dal contesto. Ciò significa che le RNN combinano l'input corrente con l'output delle iterazioni precedenti, influenzando i risultati attraverso le ricorrenze. Le RNN utilizzano tre set di parametri principali: pesi di input verso lo strato nascosto, pesi nascosti e pesi di output [103].

4) DBN

Infine, le DBN sono architetture profonde costituite da una serie di macchine di Boltzmann ristrette (RBM). Le RBM sono addestrate utilizzando l'algoritmo di divergenza contrastiva, che massimizza la somiglianza probabilistica tra l'input e la sua proiezione.

Come gli SAE, anche le DBN vengono pre-addestrate in modo non supervisionato e successivamente ottimizzate con algoritmi di backpropagation [104].

4.4 Segmentazione dei vasi retinici

La segmentazione dei vasi sanguigni retinici è fondamentale per prevenire il deterioramento della vista a causa di danni patologici alla retina. Tuttavia, è un compito complesso, poiché i vasi hanno un basso contrasto, variazioni morfologiche e sono spesso circondati da un rumore di fondo o patologie come MAs ed HMs. Diverse tecniche di DL sono state sviluppate per affrontare questo problema, in particolare utilizzando CNN.

Tra i primi studi che utilizzano CNN per la segmentazione dei vasi sanguigni retinici, Maji et al. hanno proposto un modello basato su un ensemble di 12 CNN, ciascuno composto da tre strati convoluzionali e due strati completamente connessi. Questo modello è stato valutato sul dataset DRIVE, ottenendo un'area sotto la curva (AUC) pari a 0,9283 e un'accuratezza (ACC) del 94,7%. Liskowski e Krawiec hanno migliorato le performance proponendo un metodo supervisionato basato su CNN per la segmentazione pixel-wise dei vasi, utilizzando immagini pre-processate con tecniche come la normalizzazione del contrasto globale e l'azzeramento della fase. Il loro modello ha dimostrato di essere robusto nel rilevare i vasi più sottili e sensibile ai riflessi centrali dei vasi. I risultati ottenuti su DRIVE, STARE e CHASE mostrano una sensibilità (SN) rispettivamente del 98,07%, 85,54% e 81,54%, con un'accuratezza pari al 95,35% su DRIVE e al 97,29% su STARE. Questo metodo ha dimostrato di essere tra i più performanti grazie al pre-processamento e all'augmentazione del dataset.

Maninis et al. hanno affrontato la segmentazione dei vasi come un problema di regressione immagine a immagine, utilizzando VGGNet pre-addestrato e modificato. Il loro modello è stato validato su DRIVE e STARE, ottenendo un recall di precisione regionale (RPR) pari a 0,822 e 0,831 rispettivamente. Wu et al. hanno invece utilizzato una combinazione di CNN e nearest neighbor search basato sull'analisi delle componenti principali (PCA) per stimare la distribuzione delle strutture locali, ottenendo buoni risultati sul dataset DRIVE con un AUC di 0,9701 [105].

Dasgupta e Singh hanno utilizzato una FCN combinata con una predizione strutturata, mentre Tan et al. hanno proposto un modello CNN a sette strati per segmentare contemporaneamente vasi sanguigni, disco ottico (OD) e fovea. Sebbene questo approccio sia computazionalmente intensivo, ha dimostrato un'accuratezza del 95,33% su DRIVE.

Mo e Zhang hanno migliorato le performance della FCN incorporando classificatori ausiliari nei livelli intermedi per rendere le caratteristiche più discriminative nei livelli più bassi. Il loro approccio, valutato su DRIVE, STARE e CHASE, ha raggiunto un AUC di 0,9782 su DRIVE e di 0,9885 su STARE.

L'analisi delle prestazioni di questi metodi CNN ha evidenziato che il modello di Liskowski e Krawiec è tra i migliori, grazie all'accuratezza elevata e all'uso di un dataset aumentato. Maji et al., nonostante l'uso di un ensemble di modelli CNN, non hanno ottenuto risultati superiori, probabilmente a causa dell'assenza di pre-processamento e di augmentazione del dataset.

Oltre alle CNN, anche le AE sono state impiegate per la segmentazione dei vasi retinici. Maji et al. hanno utilizzato un autoencoder sparso profondo (SDAE) combinato con una foresta casuale (RF), ottenendo un'accuratezza del 93,27% su DRIVE. Roy e Sheet hanno applicato un approccio simile su STARE, ottenendo un AUC di 0,92. Li et al. hanno utilizzato una SDAE con un approccio end-to-end, ottenendo risultati competitivi sia su DRIVE che su STARE, con un AUC di 0,9738 e 0,9716 rispettivamente.

Infine, alcuni studi hanno utilizzato RNN per la segmentazione. Fu et al. hanno combinato CNN e CRF come un'architettura RNN, ottenendo buoni risultati su DRIVE, STARE e CHASE, con accuratezze superiori al 94%.

Dunque, tra i diversi approcci basati su DL per la segmentazione dei vasi sanguigni retinici, i modelli CNN hanno dimostrato le migliori prestazioni, in particolare quando supportati da tecniche di pre-processamento e augmentazione dei dati. Tuttavia, anche gli approcci basati su autoencoder e RNN hanno dimostrato di essere promettenti, evidenziando la continua evoluzione delle tecniche di segmentazione nel contesto della diagnosi della retinopatia diabetica [106].

4.5 Rilevazione e classificazione delle lesioni

Numerosi metodi di DL sono stati sviluppati per rilevare e classificare lesioni oculari come edema maculare, essudati, microaneurismi ed emorragie. I metodi DL per il DME possono essere classificati in quelli basati su CNN e AE [107].

Abràmoff et al. hanno proposto un metodo CNN supervisionato per riconoscere il DME. Perdomo et al. hanno combinato localizzazione e segmentazione degli essudati con rilevamento del DME, utilizzando un modello CNN a otto strati. Burlina et al. hanno impiegato una CNN profonda per l'estrazione di caratteristiche e una SVM (support vector machine) per classificare la degenerazione maculare legata all'età (AMD).

Al-Bander et al. hanno sviluppato un modello CNN end-to-end con tre blocchi convoluzionali, mentre Ting et al. hanno addestrato una CNN su un vasto set di immagini per diagnosticare AMD e complicazioni della RD. Anche le DBN sono state utilizzate per la diagnosi del DME, ma le CNN hanno dimostrato prestazioni superiori, con il modello di Abràmoff basato su AlexNet che ha ottenuto i migliori risultati. Anche la rilevazione degli essudati (EX) è fondamentale per la diagnosi precoce della retinopatia diabetica, ma presenta sfide a causa della variabilità nelle dimensioni e forme degli essudati. Prentašić e Lončarić hanno proposto un metodo basato su CNN per la rilevazione degli EX, mentre Perdomo et al. hanno usato un modello LeNet. Altri approcci hanno incluso il modello o_O CNN di Gondal et al. e le tecniche di visualizzazione ottimizzate proposte da Quellec et al.

Per quanto riguarda le microaneurismi e le emorragie, Haloï ha sviluppato un modello CNN per classificare i pixel come MAs o non-MAs, testato su diversi dataset. Van Grinsven et al. hanno affrontato la sovra-rappresentazione dei campioni normali nel training, utilizzando una strategia di campionamento selettivo. Altri metodi, come quelli di Orlando et al., hanno combinato estrazione di caratteristiche da CNN e caratteristiche ingegnerizzate a mano.

In fine, i metodi DL, in particolare le CNN ed AE, si sono dimostrati efficaci nella rilevazione di lesioni della RD. L'uso di tecniche di campionamento selettivo e data-augmentation è cruciale per migliorare l'accuratezza diagnostica [108-115].

4.6 Sfide e direzioni future

La RD ha visto notevoli progressi grazie all'uso di tecniche di DL, in particolare alle CNN, che si sono dimostrate efficaci nella segmentazione dei vasi retinici, nella rilevazione e segmentazione del disco ottico e nella classificazione delle lesioni. Nonostante i progressi, rimangono sfide significative per migliorare l'accuratezza della diagnosi della RD, poiché molti metodi sono stati testati su dataset diversi, complicando il confronto diretto dei risultati [116].

Un problema cruciale è l'elevato numero di parametri delle CNN, che richiedono un grande volume di dati annotati. Tuttavia, i dataset disponibili sono spesso limitati, aumentando il rischio di overfitting. Sebbene siano state proposte tecniche di data augmentation, queste non sempre generano campioni realistici. L'uso del transfer learning, con modelli pre-addestrati, può aiutare a superare questa limitazione [117].

La ricerca suggerisce che, nonostante i metodi tradizionali abbiano dominato a lungo, le tecniche di deep learning mostrano prestazioni superiori nella maggior parte dei casi.

Tuttavia, ci sono situazioni in cui i metodi tradizionali superano quelli basati su DL, che presentano lacune significative, come la mancanza di interpretabilità dei modelli, la disponibilità limitata di immagini fundus annotate e il disequilibrio nelle classi dei dati. È fondamentale sviluppare tecniche di data augmentation più avanzate e migliorare la qualità delle immagini attraverso preprocessing o l'uso di reti generative avversarie.

Collaborare con esperti del settore e standardizzare i dataset per i programmi di screening è cruciale per garantire l'efficacia delle tecnologie di intelligenza artificiale in contesti clinici reali. Inoltre, le tecniche di screening devono essere valide per diverse etnie e popolazioni, poiché le prestazioni possono variare notevolmente. La ricerca continua è fondamentale per garantire che le metodologie di diagnosi siano robuste e generalizzabili nella diagnosi della RD [118].

Capitolo 5

METODI

Negli ultimi anni, la diagnosi assistita dal computer (CAD) per la RD ha fatto notevoli progressi, soprattutto grazie all'uso di tecniche di DL applicate all'analisi delle immagini del fondo oculare. Come già affermato nello scorso capitolo questi sistemi sono progettati per rilevare e classificare le lesioni retiniche, come microaneurismi ed emorragie, utilizzando set di dati estesi e tecniche di segmentazione avanzate. Tuttavia, la diagnosi della RD non si limita solo all'analisi delle immagini, ma si possono anche sperimentare approcci alternativi che si concentrano sull'analisi dei dati clinici e fisiologici dei pazienti.

Un ulteriore lavoro propone un approccio alternativo basato sui tracciati di CGM e su informazioni cliniche raccolte di un gruppo di 78 pazienti, a differenza delle metodologie tradizionali basate su immagini, un set di features estratte tramite un pacchetto software dedicato (iglu) [121] è stato dato in input a quattro diversi modelli di classificazione: Regressione Logistica, kNN, Random Forest e Naïve Bayes. Tra i quattro modelli di ML testati, la regressione logistica ha ottenuto i migliori risultati, bilanciando bene tra falsi positivi e negativi ed ottenendo nel test set un'accuratezza del 72,7% e valori bilanciati tra sensibilità (72,7%) e specificità (68,3%). Il vantaggio di usare solo dati CGM è la possibilità di uno screening ampio, grazie alla crescente diffusione dei dispositivi CGM tra i diabetici.

In questa sperimentazione vengono impiegate le reti neurali LSTM, offrendo così una nuova prospettiva nella rilevazione della RD integrando informazioni vitali relative ai livelli di glucosio e alle fluttuazioni nel tempo, che sono elementi critici nella progressione della retinopatia diabetica; questa strategia, infatti, mira ad identificare pattern significativi nei dati CGM che possono essere correlati alla salute retinica dei pazienti.

5.1 Dataset e problema di classificazione

Il dataset impiegato in questa sperimentazione è il dataset Aleppo [119], usato nel precedente studio citato [120], il quale come già affermato contiene dati di CGM di 225 pazienti, di cui ne sono stati selezionati 78 (39 maschi e 39 femmine) con diabete di tipo 1, di cui 50 affetti di RD e 28 senza RD.

Un criterio di inclusione è quello di aver avuto la diagnosi di diabete di tipo 1 da più di 10 anni, dato che dopo questo periodo aumenta la probabilità di sviluppare RD.

I dati raccolti includono i livelli di glucosio misurati con il sensore CGM Dexcom G4 a intervalli regolari, un campione ogni 5 minuti, in un periodo di tempo di 6 mesi. Ogni paziente è identificato tramite un ID univoco e in aggiunta ai tracciati CGM, le informazioni demografiche disponibili includono età, BMI etnia, razza, altezza, peso e genere. Per impostare il problema di classificazione binaria, i dati relativi ai pazienti con retinopatia diabetica sono stati assegnati alla classe positiva mentre i pazienti con assenza di retinopatia nonché altre complicanze sono stati assegnati alla classe negativa.

5.2 Reti LSTM

Le reti LSTM sono una variante delle RNN progettate per gestire e modellare sequenze di dati temporali, superando il problema della memoria a breve termine tipico delle RNN standard. Grazie alla loro struttura interna con "celle di memoria" e meccanismi di porte che regolano il flusso delle informazioni, le LSTM possono catturare relazioni di lungo termine all'interno dei dati. Questo le rende particolarmente vantaggiose per analizzare i dati CGM, dove i livelli di glucosio variano in modo temporale e possono riflettere tendenze rilevanti per la salute del paziente, permettendo una migliore comprensione della correlazione tra le variazioni glicemiche e lo sviluppo della malattia.

5.3 Esperimenti

Sono state condotte diverse sperimentazioni utilizzando due tipi di segmentazione dei dati di glucosio per valutare l'efficacia delle reti neurali nel rilevare la retinopatia diabetica. In una serie di esperimenti, i dati CGM sono stati segmentati in blocchi di 100 misurazioni di glucosio per ogni paziente e successivamente in blocchi di misurazioni di glucosio in 24 ore ciascuno sempre per ogni paziente, per osservare quale suddivisione producesse i migliori risultati in termini di predizione. Inoltre, sono state incluse alcuni features aggiuntive come età, BMI e altre metriche rilevanti, con l'obiettivo di permettere un confronto più accurato dei risultati. L'accuratezza delle reti LSTM allenate sui dati è stata poi confrontata sui set di test, dimostrando quale di queste features e quale segmentazione contribuisse significativamente a migliorare le prestazioni del modello nell'identificazione della RD.

5.3.1 *Primo esperimento*

a) Prima Segmentazione

Nel primo tentativo viene fatta una segmentazione delle misurazioni di glucosio per ogni paziente in segmenti di lunghezza fissa di 100 misurazioni. La funzione implementata riceve in input la tabella dei dati contenente le misurazioni di glucosio per ogni paziente, l'id del paziente e la label, che assume il valore 0 in assenza di RD e valore 1 in presenza di RD, insieme alla lunghezza desiderata del segmento che è stata fissata a 100.

All'interno della funzione, si inizializzano gli array per i dati segmentati, le labels e gli ID dei pazienti. Viene quindi estratto l'ID univoco di ogni paziente e, per ciascun paziente, si estraggono i dati di glucosio. Il segnale di glucosio viene suddiviso in segmenti della lunghezza specificata. Ogni segmento viene aggiunto all'array dei dati segmentati e viene associata la label del paziente. Infine, la funzione restituisce tre output: l'array che contiene i segmenti di glucosio, un vettore che contiene le labels, e un vettore che mantiene l'ID di ogni paziente.

b) Bilanciamento segmenti

Poiché la lunghezza dell'ultimo segmento di glucosio può variare tra i pazienti, dato che le misurazioni per ogni paziente sono diverse e quindi nella fase di segmentazione per ogni paziente possono essersi formati segmenti che non raggiungono la lunghezza desiderata, viene utilizzato il padding (riempimento) o troncamento per assicurare che tutti i segmenti abbiano la stessa lunghezza, in modo che possano essere concatenati o processati uniformemente.

Per fare questo viene usata la funzione `padOrTruncate`, per trasformare ciascun segmento di dati di glucosio in un vettore riga di lunghezza uniforme. Se un segmento è più corto della lunghezza desiderata ovvero di 100 misurazioni ciascuno, la funzione aggiunge valori NaN alla fine per compensare la differenza. Se un segmento è già lungo abbastanza, viene mantenuto senza modifiche.

Successivamente, le cell array, contenenti i segmenti rispettivamente per le labels 0 e 1, vengono convertite in matrici, unificando tutti i segmenti in una struttura uniforme. A questo punto, i segmenti delle due classi vengono concatenati insieme in una singola matrice, che contiene tutti i segmenti per entrambe le classi.

c) Divisione dei dati nei set di training, validation e test

I segmenti di dati di glucosio vengono divisi in tre set: training, validation e test, mantenendo l'ordine originale dei segmenti per ciascun paziente senza mescolarli.

Questa suddivisione viene effettuata in modo proporzionale, con il 70% dei segmenti destinati al training, il 15% alla validazione e il 15% al test.

All'inizio, il codice calcola il numero totale di segmenti e imposta delle soglie per il numero di segmenti da includere in ciascun set in base alle proporzioni specificate.

Per ciascun paziente, il codice estrae i segmenti associati e la label corrispondente, che è costante per ogni paziente. I segmenti vengono assegnati al training set finché il numero totale di segmenti assegnati non supera la soglia di segmenti di training desiderati. Una volta che la soglia di training è stata raggiunta, i segmenti successivi vengono assegnati al validation set, e infine al test set quando le soglie di training e validation sono soddisfatte.

Per ogni segmento assegnato, i segmenti vengono concatenati nelle rispettive variabili per i set, e le labels vengono replicate per ogni segmento e aggiunte alle variabili delle labels.

d) Bilanciamento label nei set

Sucessivamente i set di dati di training, validazione e test vengono bilanciati in modo che il numero di segmenti associati a ciascuna classe (label/etichetta 0 o 1) sia equilibrato. La procedura viene applicata separatamente per ciascun set.

Prima di tutto, vengono calcolati quanti segmenti appartengono alle due classi (0 e 1) nel set di training, il fattore di replicazione, è determinato come il rapporto tra il numero di esempi nella classe 1 e nella classe 0.

Sucessivamente, per bilanciare il set di training, i segmenti della classe 0 vengono replicati in modo che il loro numero sia equivalente a quello della classe 1. Questi segmenti replicati vengono concatenati ai segmenti originali della classe 1 per creare il set bilanciato, sia per i dati di glucosio che per le etichette.

La stessa procedura viene poi applicata ai set di validazione e di test.

Infine, le etichette bilanciate vengono convertite in variabili categoriali, necessaria per trattare le etichette come classi durante l'addestramento del modello.

e) Definizione ed allenamento della rete

Viene usata una rete neurale ricorrente LSTM bidirezionale, la cui architettura viene descritta con i seguenti strati: uno strato di input per sequenze (sequenceInputLayer), uno strato LSTM bidirezionale con 50 unità e modalità di output 'last' (bilstmLayer), uno strato completamente connesso per gestire 2 classi di output (fullyConnectedLayer), uno strato di dropout con un tasso del 20% (dropoutLayer), uno strato softmax per la normalizzazione delle probabilità (softmaxLayer) e uno strato di classificazione finale (classificationLayer).

Le opzioni di addestramento sono configurate utilizzando l'algoritmo Adam per l'ottimizzazione con 50 epoche, una dimensione del mini-batch pari a 100, una soglia di gradiente di 1, e mescolando i dati ad ogni epoca. Inoltre, il tasso di apprendimento iniziale è impostato a $1e-3$. Durante l'addestramento, il progresso viene visualizzato graficamente (Fig.1) grazie a training-progress.

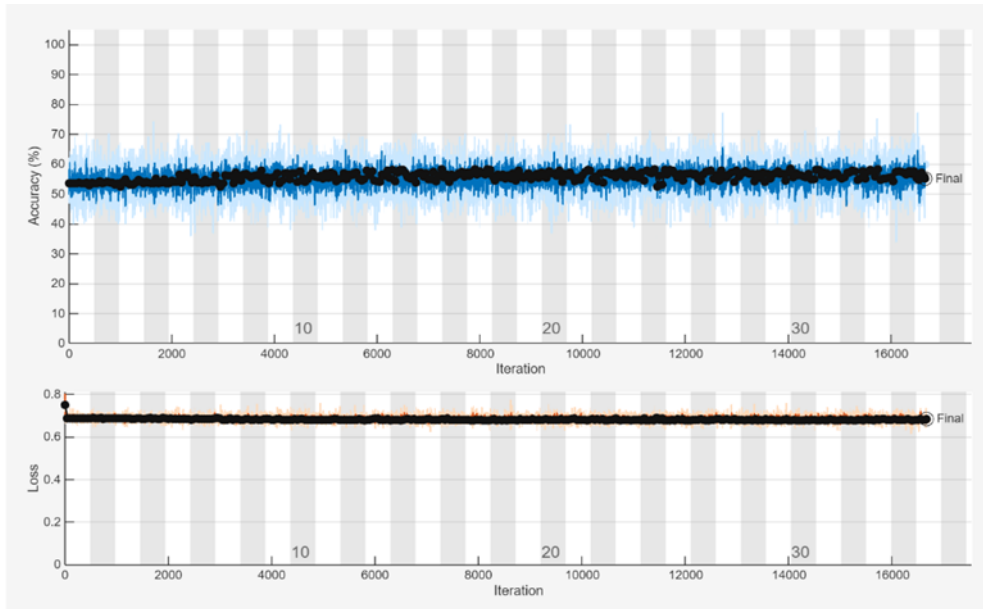


Figura 1: Training progress, primo esperimento

5.3.2 Secondo esperimento

a) Segmentazione di 24 ore

Nella seconda prova vengono utilizzate anche features e metriche, con una segmentazione temporale per ciascun paziente. In questo contesto, si estraggono le caratteristiche dei pazienti sia categoriali che numeriche, analizzando la relazione tra le variabili e le labels attraverso una matrice di correlazione.

La preparazione dei dati inizia con la verifica dei tipi di dati, le features categoriali come condizioni mediche (MedCond), genere, etnia e razza vengono convertite in numeriche e poi aggiunte all'array delle features numeriche come peso, altezza, BMI ed età, facilitando l'esecuzione di calcoli numerici successivi, come il calcolo della matrice di correlazione. Successivamente, la variabile target label viene inclusa insieme alle altre features in una matrice, consentendo di essere utilizzata nell'analisi di correlazione.

I risultati di questa matrice vengono visualizzati utilizzando una heatmap (Fig.2), rendendo più semplice identificare visivamente le correlazioni. Da questa analisi emerge che BMI ed età (AgeAsOfEnrollDt) sono le features più correlate alla label.

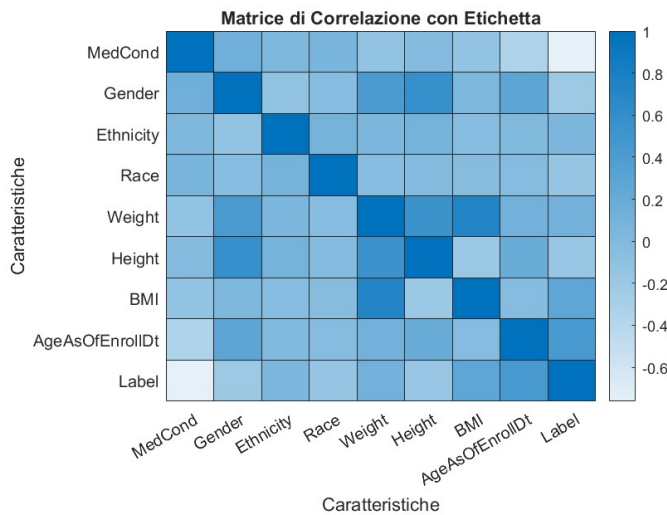


Figura 2: matrice di correlazione

La segmentazione temporale ha lo scopo di suddividere le misurazioni di glucosio di ciascun paziente in segmenti contenenti le misurazioni nell'arco di 24 ore ciascuno a differenza del primo tentativo in cui i segmenti venivano divisi in blocchi da 100 misurazioni.

Questo viene eseguito suddividendo i dati in finestre di 24 ore e identificando le caratteristiche rilevanti come i valori di glucosio, l'età e il BMI. Il processo inizia con l'inizializzazione di due array vuoti: uno che sarà utilizzato per memorizzare i segmenti temporali di ciascun paziente, e uno che memorizzerà le etichette associate ai segmenti.

Successivamente, viene eseguito un ciclo su ciascun paziente presente nel dataset.

Per ciascun paziente, i dati vengono filtrati in base all'ID e ordinati cronologicamente in base al timestamp, il processo di segmentazione temporale avviene attraverso una finestra che parte dal primo timestamp del paziente e si estende per 24 ore. Una volta completata la finestra, il codice crea una nuova finestra che inizia esattamente alla fine della precedente, spostandosi di un giorno alla volta.

È importante sottolineare che viene eseguito un controllo per assicurarsi che ogni segmento contenga i dati di un solo paziente. Se per qualche motivo un segmento include i dati di più pazienti, il codice genera un errore.

Viene poi associato a ciascun segmento la sua label. Successivamente nello stesso ciclo, viene creato un nuovo segmento di dati contenente le informazioni principali come l'ID del paziente, il timestamp, i valori di glucosio, il BMI e l'età. Questo segmento viene quindi memorizzato nell'array segments, mentre l'etichetta viene inserita nell'array labels.

Dopo aver processato il segmento, la finestra temporale viene aggiornata per analizzare le successive 24 ore, e il processo si ripete fino a quando tutti i dati del paziente sono stati segmentati. Al termine del ciclo su tutti i pazienti, il codice esegue una verifica finale per garantire che ogni segmento creato contenga effettivamente i dati di un solo paziente, senza sovrapposizioni.

b) Padding o troncamento dei segmenti

Vengono poi calcolate le lunghezze dei segmenti temporali, analizzate le loro caratteristiche statistiche e uniformata la lunghezza di ciascuno attraverso un processo di padding.

Per ogni segmento, viene calcolata la lunghezza per poi trovare la lunghezza massima, minima, media e modale tra tutti i segmenti.

Dopo questa fase, i segmenti troppo corti o vuoti vengono eliminati, mantenendo solo quelli con lunghezze superiori a 1. A questo punto, per uniformare tutti i segmenti alla stessa lunghezza, viene selezionata la lunghezza modale, pari a 290 righe, come riferimento. I segmenti vengono quindi "padded", ovvero riempiti o tagliati per adattarsi a questa lunghezza standard. Per ogni segmento vengono creati dei vettori per i valori di glucosio, il tempo e l'etichetta associata.

Una volta uniformati i segmenti, si procede al calcolo delle metriche per ciascun segmento.

Le metriche calcolate includono:

- a) media
- b) deviazione standard
- c) il valore minimo e massimo
- d) il range (ovvero la differenza tra massimo e minimo) dei valori di glucosio
- e) percentili 25°, 50° e 75°

Si calcola anche la variabilità giornaliera dei valori di glucosio, espressa in percentuale, che rappresenta la variazione dei livelli di glucosio rispetto alla media del segmento. Questa misura è importante per valutare la stabilità glicemica dei pazienti. Se il segmento ha una sola riga di misurazione, la variabilità giornaliera viene impostata a NaN poiché non ci sono dati sufficienti per il calcolo.

Infine, vengono contati gli episodi di ipoglicemia (quando i valori di glucosio scendono sotto i 70 mg/dL) e iperglicemia (quando superano i 180 mg/dL) per ciascun segmento. Questi episodi sono importanti indicatori di eventi critici nel controllo glicemico di un paziente. Tutte queste metriche vengono raggruppate in unica matrice.

c) Suddivisione dei dati

Un ciclo for itera su tutti i segmenti, per ogni segmento, vengono estratti i dati relativi a glucosio, BMI ed età, creando una matrice di caratteristiche di base.

Successivamente, viene verificata l'esistenza di una riga corrispondente nella matrice che contiene tutte le metriche. Se esiste, si estrae la riga delle caratteristiche e si replicano le metriche per ogni riga del segmento, creando così una matrice contenente caratteristiche aggiuntive come la media, la deviazione standard, il minimo e il massimo dei valori di glucosio, insieme ad altri indicatori di variabilità e frequenza di episodi di ipoglicemia e iperglicemia. In caso contrario, se non ci sono abbastanza righe nella tabella, vengono riempiti i dati con NaN per mantenere la coerenza dimensionale.

Le due matrici, una contenete le metriche e l'altra i valori di glucosio, age, BMI di ogni segmento dei pazienti vengono quindi concatenate per formare un'unica matrice, che avrà celle di dimensioni di (290, 14) dato che la lunghezza di ogni segmento è di 290 misurazioni di glucosio, e 14 sono le variabili tra cui 11 metriche, gl, età e BMI. La matrice completa viene quindi memorizzata in una cella e nel frattempo è stato creato un vettore che contiene tutte le labels associate ai segmenti della cella.

Viene quindi determinato il numero di pazienti da assegnare a ciascun set: circa il 70% per l'addestramento, il 15% per la validazione e il restante 15% per il test.

Successivamente, i pazienti vengono selezionati in modo ordinato per ciascun set. Questo avviene utilizzando indici basati su intervalli definiti, garantendo che i pazienti siano suddivisi senza mescolamenti casuali. Viene definita una funzione, che consente di filtrare i segmenti in base all'ID del paziente.

I segmenti vengono quindi assegnati ai rispettivi set.

Infine, il codice si occupa della trasposizione dei dati , invertendo le dimensioni di ciascun segmento. Questo passaggio è dovuto al fatto che la rete LSTM si aspetta i dati in un formato preciso, ovvero il numero di variabili come prima dimensione visibile.

d) Bilanciamento delle classi nei set

Inizialmente, le classi dei vari set vengono convertite in variabili categoriche, che sono più adatte per la gestione delle classi nei modelli di apprendimento automatico.

Successivamente, il codice estrae gli indici dei segmenti appartenenti alle classi 0 e 1 in ciascun set.

Viene quindi calcolato un fattore di replicazione per ciascun set, che rappresenta quante volte i segmenti della classe minoritaria (classe 0) devono essere replicati per bilanciare il numero di esempi tra le due classi.

Per il set di addestramento, viene creata una cella per i dati bilanciati e un array per le label. I dati vengono quindi popolati in un ciclo, replicando ciascun segmento della classe 0 secondo il fattore di replicazione calcolato. Una volta replicati i segmenti della classe 0, vengono aggiunti i dati della classe 1. Questo approccio garantisce che il set di addestramento sia bilanciato.

Il processo viene ripetuto per i set di validazione e test, seguendo lo stesso schema di replicazione dei segmenti della classe 0 e aggiungendo i segmenti della classe 1.

Dopo il bilanciamento, viene effettuata la normalizzazione dei dati, essenziale per garantire che le caratteristiche abbiano scale comparabili, il che aiuta a migliorare le prestazioni del modello. La normalizzazione viene eseguita tramite una funzione, che calcola il valore minimo e massimo per ogni caratteristica in ciascun segmento, normalizzando i dati in modo che si trovino nell'intervallo $[0, 1]$. Viene utilizzato un controllo per evitare divisioni per zero nel calcolo del range. Questo processo di normalizzazione poi non viene ripetuto negli altri tentativi poiché non porta a cambiamenti significativi in termini di accuratezza.

e) Definizione della rete

Viene definita l'architettura della rete neurale utilizzando un array di strati, iniziando con uno strato di input per sequenze con 14 variabili per ogni timestep. Successivamente, viene aggiunto uno strato LSTM bidirezionale con 50 unità, che restituisce solo l'output finale della sequenza.

È presente uno strato di dropout con una probabilità del 20% per prevenire l'overfitting, seguito da uno strato completamente connesso con 2 neuroni, un layer softmax per convertire le uscite in probabilità e infine uno strato di classificazione per la valutazione delle performance del modello.

Successivamente, vengono configurate le opzioni di addestramento, stabilendo il numero massimo di epoche a 50, una dimensione del mini-batch di 100, una soglia per il gradiente per prevenire esplosioni del gradiente e il tasso di apprendimento iniziale. Inoltre, viene specificato il set di dati di validazione da utilizzare durante l'addestramento e il percorso per il salvataggio dei checkpoint. Il processo di addestramento è mostrato in figura (Fig.3).

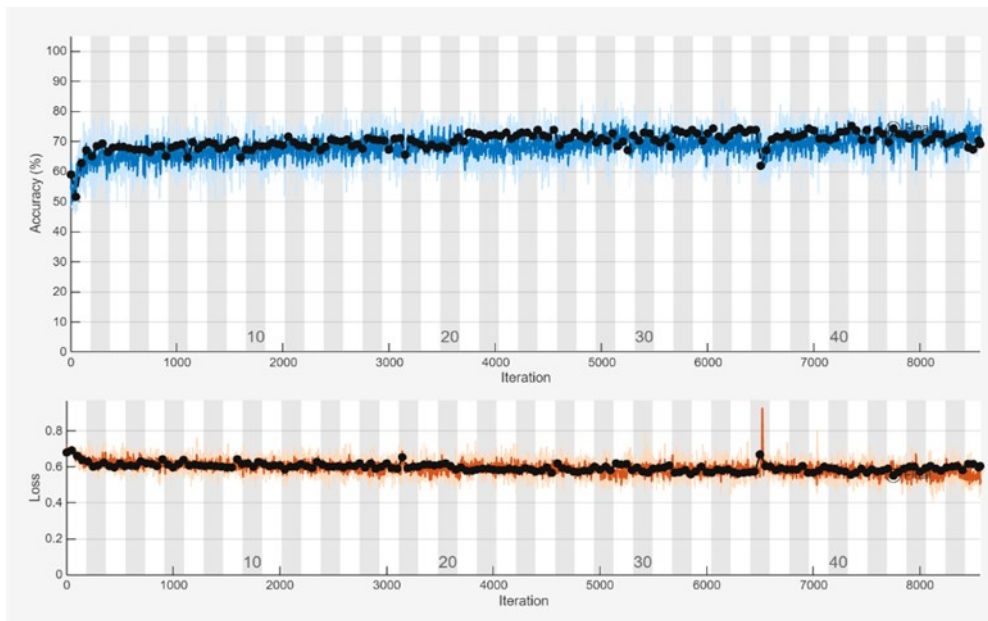


Figura 3: training process, secondo esperimento

5.3.3 Terzo esperimento

In questa prova si utilizzano esclusivamente le misurazioni di glucosio, BMI ed età per la classificazione, senza metriche. Per ciascun segmento di dati, vengono estratte solo le caratteristiche rilevanti e associate alle rispettive etichette, mentre gli ID vengono tracciati. Quindi viene eseguito lo stesso procedimento del secondo tentativo semplicemente vengono rimosse le metriche.

Successivamente, il codice suddivide i dati in set di addestramento, validazione e test, basandosi sugli ID dei pazienti. Viene calcolato il numero di pazienti per ciascun set, e gli ID vengono selezionati in modo ordinato, assicurando che non ci sia mescolamento tra i segmenti.

Nello stesso modo di prima viene implementata una funzione che aiuta a selezionare i segmenti in base agli ID, e gli indici dei segmenti vengono utilizzati per assegnare i dati ai rispettivi set. Dopo aver trasposto i dati per garantire che siano nelle giuste dimensioni, le etichette vengono convertite in formato categorico.

Si procede poi al bilanciamento delle classi. Vengono estratti gli indici delle etichette per le due classi; quindi, si calcola un fattore di replicazione per bilanciare il numero di esempi tra le classi. Si crea un dataset bilanciato per il set di addestramento replicando i segmenti e le etichette della classe meno rappresentata. Lo stesso processo viene ripetuto per i set di validazione e test.

b) Definizione della rete

Si crea un layer di input per sequenze con 3 caratteristiche, un layer LSTM con 40 unità per ottenere l'output finale, un layer di dropout per prevenire l'overfitting, un layer completamente connesso con 2 unità per le classi e infine un layer softmax per calcolare le probabilità di appartenenza alle classi, seguito da un layer di classificazione finale.

Le opzioni di addestramento sono definite per il processo di training, con l'ottimizzatore Adam e diverse impostazioni, come il numero massimo di epoche, la dimensione del mini-batch, e il tasso di apprendimento iniziale.

5.3.4 Quarto esperimento

In questo caso si usano le sole misurazioni di *gl* e *BMI*. La prima parte del codice prepara i dati estraendo le caratteristiche desiderate dai segmenti di dati disponibili, si usa lo stesso procedimento precedente e questa volta si eliminano metriche ed età. Per ogni segmento, viene mantenuta la traccia dell'ID del paziente, una volta che i dati sono stati raccolti, il codice procede alla suddivisione in set di addestramento, validazione e test, basandosi sugli ID unici dei pazienti. Viene calcolato il numero di pazienti per ciascun set e i segmenti corrispondenti vengono selezionati in modo ordinato, garantendo che i dati di ciascun paziente non vengano mescolati tra i diversi set.

Successivamente, il codice visualizza la distribuzione delle etichette nei set di addestramento, validazione e test, fornendo informazioni utili per comprendere l'equilibrio tra le classi. I dati vengono quindi trasposti per garantire che siano nel formato corretto per l'input alla rete neurale. Viene effettuato un bilanciamento delle classi, calcolando i fattori di replicazione per le classi 0 e 1 e replicando i campioni della classe meno rappresentata.

b) Definizione della rete

Dopo la preparazione e il bilanciamento dei dati, viene definita la struttura della rete neurale LSTM. La rete include un layer di input per sequenze, un layer BILSTM con 40 unità, un layer di dropout per prevenire l'overfitting, un layer completamente connesso per l'output e un layer softmax per calcolare le probabilità delle classi. Le opzioni di addestramento sono impostate utilizzando l'ottimizzatore Adam, con un numero massimo di epoche e altre impostazioni relative al mini-batch e alla soglia di gradiente, il processo di allenamento è mostrato in figura (Fig.4).

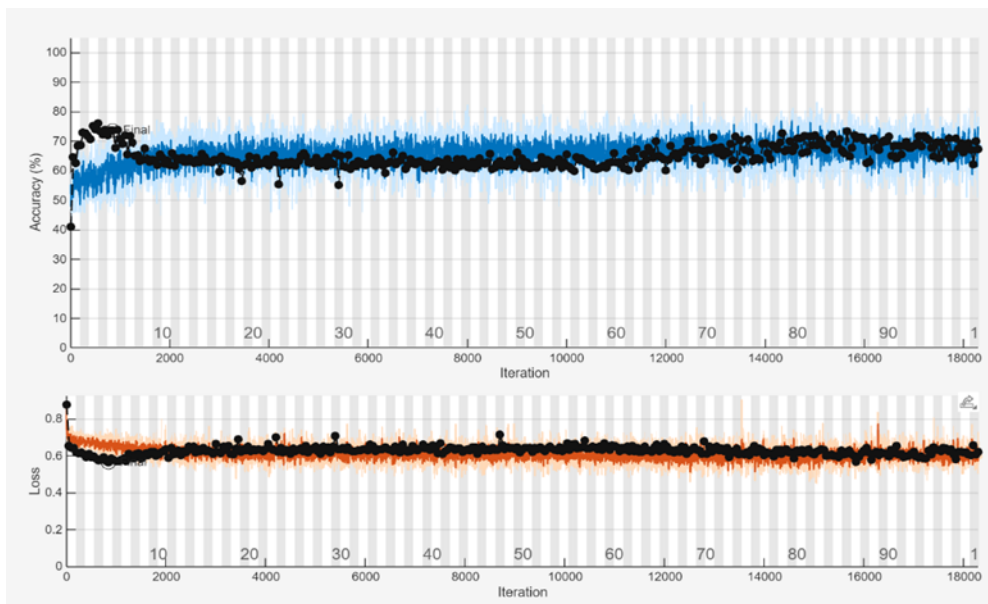


Figura 4: Training process quarto esperimento

5.3.5 Quinto esperimento

Come ultima prova, viene implementata la rete con segmentazione temporale utilizzando solo i valori glicemici come input, escludendo tutte le altre caratteristiche del paziente. Per ogni segmento dei dati, vengono estratti solo i valori di glicemia, che vengono salvati in una struttura dati. Le etichette associate a ciascun segmento vengono memorizzate in un vettore e i dati vengono suddivisi in tre set (training, validazione e test) in modo tale che ogni paziente appaia solo in un singolo set. Questa divisione è importante per evitare il leakage di informazioni tra i set, garantendo che il modello non impari dalle stesse persone durante l'addestramento e la valutazione. Dal momento che è presente uno sbilanciamento nelle classi, il codice bilancia le classi replicando i campioni della classe meno rappresentata, nello stesso modo in cui viene eseguito precedentemente.

b) Definizione della rete

Rete LSTM con 40 unità nascoste e un livello di dropout per ridurre l'overfitting. L'output è binario (due classi), quindi viene utilizzato un livello softmax seguito da una `classificationLayer` per la previsione finale. L'algoritmo Adam viene utilizzato per l'ottimizzazione, con un apprendimento iniziale fissato a $1e-3$, e vengono impostati checkpoint per salvare i progressi del modello. Il processo di allenamento è mostrato in figura (Fig.5).

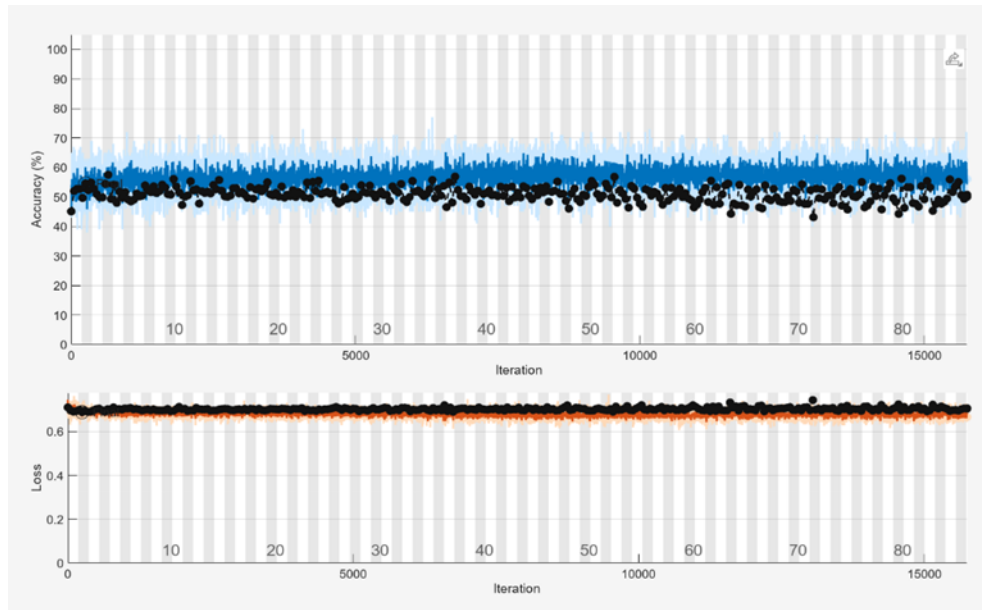


Figura 5: training process quinto esperimento

Capitolo 6

RISULTATI

Dopo aver addestrato i modelli LSTM, sono state effettuate delle predizioni sui dati di addestramento, validazione e test. Di seguito sono riportati i risultati ottenuti per ciascun set di dati, con relative matrici di confusione. I valori di accuratezza dei vari esperimenti sono poi riassunti in TABELLA 1.

Per il primo esperimento i risultati ottenuti per il set di training sono accuratezza del 54.94% e seguente matrice di confusione (Fig.6).

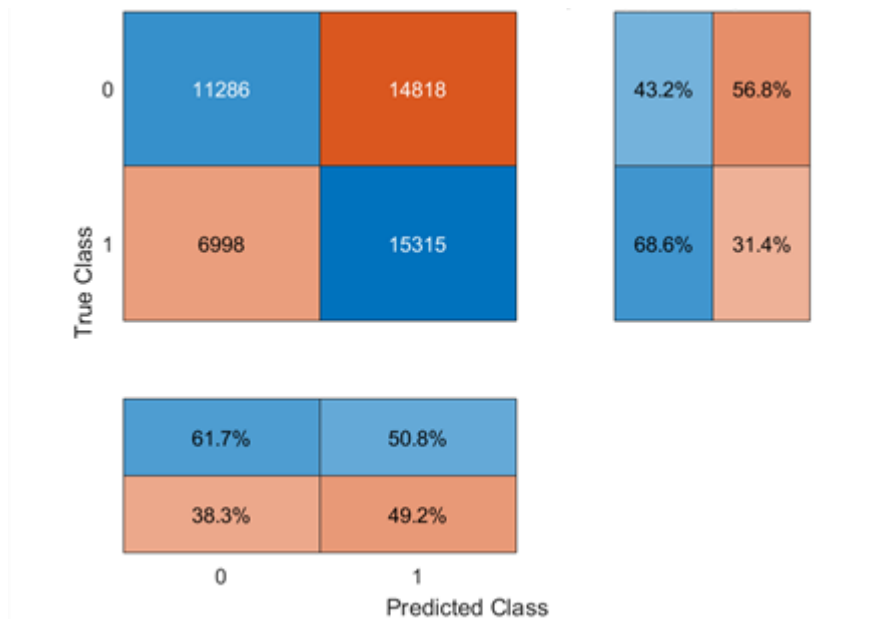


Figura 6: matrice di confusione, primo esperimento, dati di training

I risultati per il set di validazione sono accuratezza del 55.18% e seguente matrice di confusione (Fig.7).



Figura 7: matrice di confusione, primo esperimento, dati di validazione

Infine, i risultati per il set di Test sono accuratezza del 50.16% e seguente matrice di confusione (Fig.8).



Figura 8: matrice di confusione, primo esperimento, dati di test

Nel secondo esperimento sono stati ottenuti i seguenti risultati, accuratezza ottenuta sul set di training di 70.42% con la seguente matrice di confusione (Fig.9).

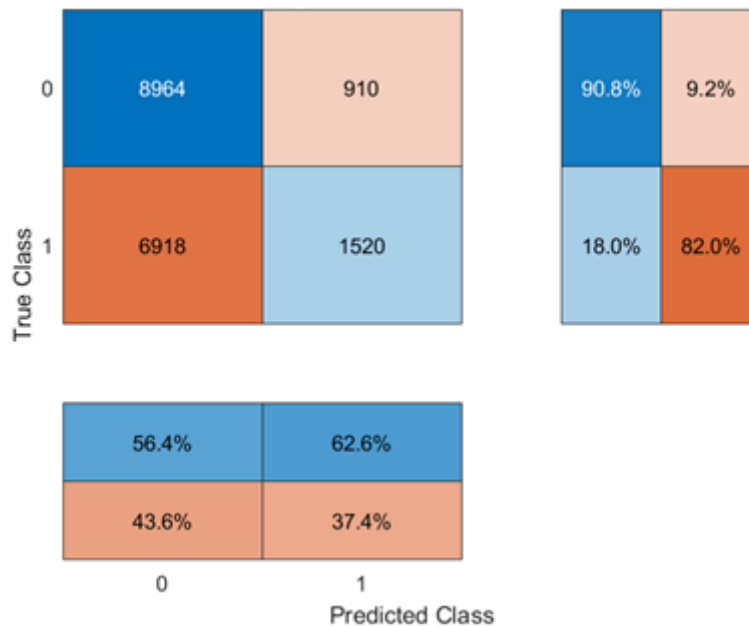


Figura 9: matrice di confusione, secondo esperimento, dati di training

L'accuratezza ottenuta sul set di validazione è di 74.40%, con la seguente matrice di confusione (Fig.10).

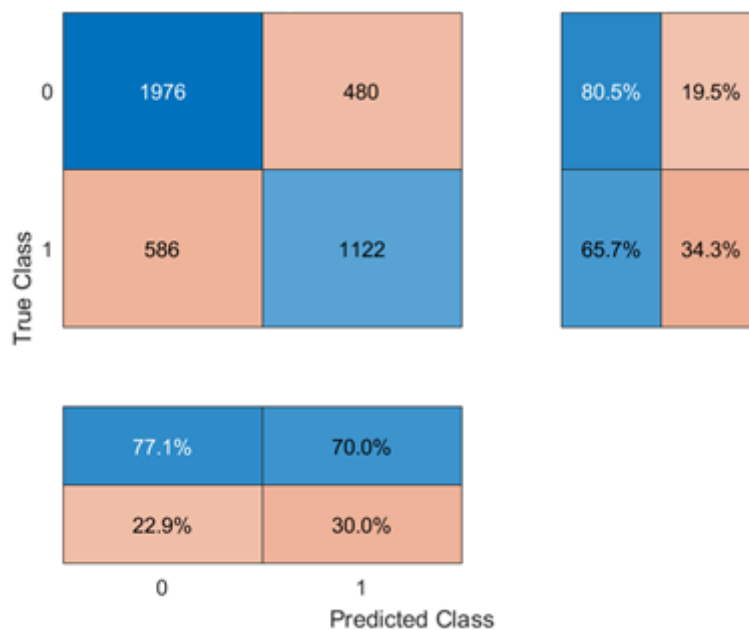


Figura 10: matrice di confusione, secondo esperimento, dati di validazione

Infine, l'accuratezza ottenuta sul set di Test è di 57.50%, con la seguente matrice di confusione (Fig. 11).



Figura 11: matrice di confusione, secondo esperimento, dati di test

Nel terzo esperimento, l'accuratezza ottenuta per i dati di addestramento è del 57.15%, con la seguente matrice di confusione (Fig.12).



Figura 12: matrice di confusione, terzo esperimento, dati di training

Per i dati di validazione è del 65.80%, con la seguente matrice di confusione (Fig.13).



Figura 13: matrice di confusione, terzo esperimento, dati di validazione

Infine, sul set di Test è stata ottenuta un'accuratezza del 63.91%, con la seguente matrice di confusione (Fig.14).



Figura 14: matrice di confusione, terzo tentativo, dati di test

Nel quarto esperimento si registra un'accuratezza del 59.93% per i dati di addestramento, con la seguente matrice di confusione (Fig.15).



Figura 15: matrice di confusione, quarto esperimento, dati di training

Un'accuratezza del 73.68% per i dati di validazione, con la seguente matrice di confusione (Fig.16).

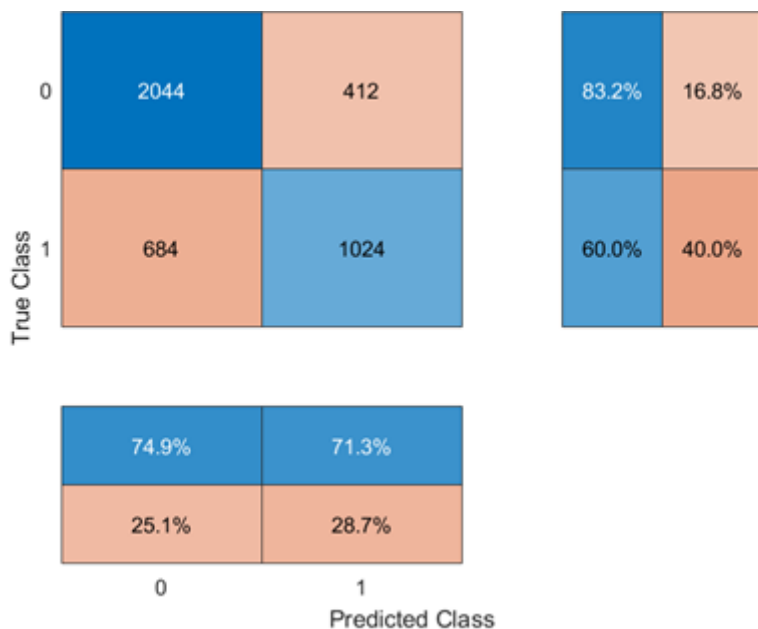


Figura 16: matrice di confusione, quarto esperimento, dati di validazione

Infine, un'accuratezza del 52.85% per i dati di test, con la seguente matrice di confusione (Fig.17).



Figura 17: matrice di confusione, quarto esperimento, dati di test

Nel quinto e ultimo esperimento è stata ottenuta un'accuratezza del 55.11% per il set di training con la seguente matrice di confusione (Fig.18).



Figura 18: matrice di confusione, quinto esperimento, dati di training

Un'accuratezza del 54.56% per il set di validazione, con la seguente matrice di confusione (Fig.19).

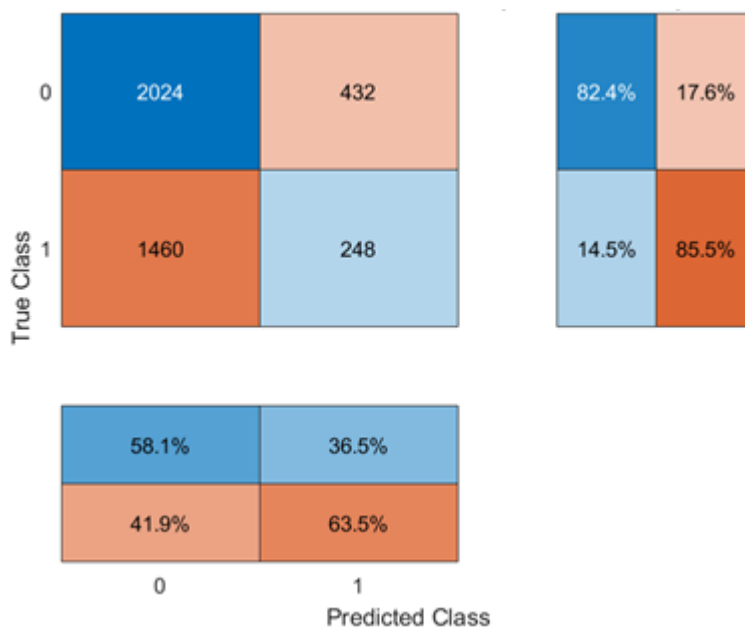


Figura 19: matrice di confusione, quinto esperimento, dati di validazione

Infine, un'accuratezza del 53.05% nel set di test, con la seguente matrice di confusione (Fig.20).



Figura 20: matrice di confusione, quinto esperimento, dati di test

TABELLA 1. ACCURATEZZA DEGLI ESPERIMENTI

Esperimento	Accuratezza set di Training	Accuratezza set di Validation	Accuratezza set di Test
Primo esperimento	54.94%	55.18%	50.16%
Secondo esperimento	70.42%	74.40%	57.50%
Terzo esperimento	57.15%	65.80%	63.91%
Quarto esperimento	59.93%	73.68%	52.91%
Quinto esperimento	55.11%	54.56%	53.05%

CONCLUSIONI

Analizzando i risultati complessivi, si può concludere che tra i due approcci di segmentazione dei dati, quello temporale di 24 ore tende a fornire risultati migliori sul set di test in particolare quando vengono aggiunte anche features come age e BMI (terzo esperimento). Il secondo esperimento, che impiegava il maggior numero di variabili aggiuntive, 14 in totale, ha riportato un calo sulla performance di test. Infatti, la rete adattandosi troppo ai dati di training non ha generalizzando bene sui dati di test, presentando un problema di overfitting.

Un ulteriore aspetto da considerare riguarda l'importanza della qualità e della varietà dei dati utilizzati. Ciò che si può dedurre è che, sebbene le reti neurali LSTM possano gestire informazioni complesse e temporali, l'efficacia del modello dipende anche dalla selezione delle features più adatte e dalla rappresentatività del campione analizzato. In più tra le due variabili demografiche utilizzate, l'età risulta quella che ha contribuito maggiormente a risultati migliori in termini di accuratezza sul set di test.

Future indagini potrebbero esplorare l'integrazione di ulteriori variabili cliniche, l'uso di algoritmi avanzati per la selezione delle features e l'applicazione di tecniche di ensemble learning per migliorare ulteriormente le prestazioni predittive. Inoltre, la valutazione di modelli su set di dati più ampi e diversificati sarà cruciale per verificare la robustezza e l'applicabilità dei risultati ottenuti in contesti clinici reali.

BIBLIOGRAFIA

1. Chandra, R., & Liddle, R. A. (2009). Neural and hormonal regulation of pancreatic secretion. *Current opinion in gastroenterology*, 25(5), 441-446.
2. Brissova, M., Fowler, M. J., Nicholson, W. E., Chu, A., Hirshberg, B., Harlan, D. M., & Powers, A. C. (2005). Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 53(9), 1087-1097.
3. Katsuura, G., Asakawa, A., & Inui, A. (2002). Roles of pancreatic polypeptide in regulation of food intake. *Peptides*, 23(2), 323-329.
4. Wierup, N., Svensson, H., Mulder, H., & Sundler, F. (2002). The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regulatory peptides*, 107(1-3), 63-69.
5. Göke, B. (2008). Islet cell function: α and β cells—partners towards normoglycaemia. *International Journal of clinical practice*, 62, 2-7.
6. Hauge-Evans, A. C., King, A. J., Carmignac, D., Richardson, C. C., Robinson, I. C., Low, M. J., et al. (2009). Somatostatin secreted by islet delta-cells fulfills multiple roles as a paracrine regulator of islet function. *Diabetes*, 58(2), 403–411.
7. Batterham, R. L., Le Roux, C. W., Cohen, M. A., Park, A. J., Ellis, S. M., Patterson, M., ... & Bloom, S. R. (2003). Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(8), 3989-3992.
8. Cabrera, O., Berman, D. M., Kenyon, N. S., Ricordi, C., Berggren, P. O., & Caicedo, A. (2006). The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(7), 2334–2339.
9. Freychet, L., Desplanque, N., Zirinis, P., Rizkalla, S. W., Basdevant, A., Tchobroutsky, G., & Slama, G. (1988). Effect of intranasal glucagon on blood glucose levels in healthy subjects and hypoglycaemic patients with insulin-dependent diabetes. *The Lancet*, 331(8599), 1364-1366.

10. Komatsu, M., Takei, M., Ishii, H., & Sato, Y. (2013). Glucose-stimulated insulin secretion: A newer perspective. *Journal of diabetes investigation*, 4(6), 511-516.
11. Khan, A. H. P. J., & Pessin, J. (2002). Insulin regulation of glucose uptake: a complex interplay of intracellular signalling pathways. *Diabetologia*, 45, 1475-1483.
12. Sibrowski, W., & Seitz, H. J. (1984). Rapid action of insulin and cyclic AMP in the regulation of functional messenger RNA coding for glucokinase in rat liver. *Journal of Biological Chemistry*, 259(5), 343-346.
13. McTernan, P. G., Harte, A. L., Anderson, L. A., Green, A., Smith, S. A., Holder, J. C., et al. (2002). Insulin and rosiglitazone regulation of lipolysis and lipogenesis in human adipose tissue in vitro. *Diabetes*, 51(5), 1493-1498.
14. Biolo, G., Declan Fleming, R. Y., & Wolfe, R. R. (1995). Physiologic hyperinsulinemia stimulates protein synthesis and enhances transport of selected amino acids in human skeletal muscle. *Journal of Clinical Investigation*, 95(2), 811-819.
15. Ashcroft, F. M., Proks, P., Smith, P. A., Ammala, C., Bokvist, K., & Rorsman, P. (1994). Stimulus-secretion coupling in pancreatic beta cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 55(Suppl), 54-65.
16. Henquin, J. C. (2000). Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes*, 49(11), 1751-1760.
17. Cerasi, E., & Luft, R. (1967). The plasma insulin response to glucose infusion in healthy subjects and in diabetes mellitus. *Acta Endocrinologica*, 55(2), 278-304.
18. Committee, T. I. E. (2009). International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes care*, 32(7), 1327.
19. Genuth, S., Alberti, K. G. M. M., Bennett, P., Buse, J., DeFronzo, R., Kahn, R., ... & Zimmet, P. (2003). Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 26(11), 3160-3168.
20. Committee, T. I. E. (2009). International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes care*, 32(7), 1327.
21. Egede, L. E., & Dagogo-Jack, S. (2005). Epidemiology of type 2 diabetes: Focus on ethnic minorities. *Medical Clinics of North America*, 89(4), 949-975.
22. Schulz, L. O., Bennett, P. H., Ravussin, E., et al. (2006). Effects of traditional and western environments on prevalence of type 2 diabetes in Pima Indians in Mexico and the U.S. *Diabetes Care*, 29(8), 1866-1871.

23. Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., et al. (2001). Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *New England Journal of Medicine*, 345(11), 790–797.
24. Rewers, M., & Hamman, R. F. (1995). Risk factors for non-insulin-dependent diabetes. In Harris, M. I., Cowie, C. C., Stern, M. P., et al. (Eds.), *Diabetes in America* (2nd ed., pp. 179–220). Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. NIH publication 95–1468.
25. Kaye, S. A., Folsom, A. R., Sprafka, J. M., et al. (1991). Increased incidence of diabetes mellitus in relation to abdominal adiposity in older women. *Journal of Clinical Epidemiology*, 44(4), 329–334.
26. Jeon, C. Y., Lokken, R. P., Hu, F. B., & van Dam, R. M. (2007). Physical activity of moderate intensity and risk of type 2 diabetes: A systematic review. *Diabetes Care*, 30(3), 744–752.
27. Diez Roux, A. V., Jacobs, D. R., & Kiefe, C. I. (2002). Neighborhood characteristics and components of the insulin resistance syndrome in young adults: The coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study. *Diabetes Care*, 25(11), 1976–1982.
28. Schootman, M., Andresen, E. M., Wolinsky, F. D., et al. (2007). The effect of adverse housing and neighborhood conditions on the development of diabetes mellitus among middle-aged African Americans. *American Journal of Epidemiology*, 166(4), 379–387.
29. Stern, M. P., Patterson, J. K., & Mitchell, B. D., et al. (1990). Overweight and mortality in Mexican Americans. *International Journal of Obesity*, 14(7), 623–629.
30. Welborn, T. (2001). Diabetes mortality. In Ekoé, J. M., Zimmet, P., & Williams, R. (Eds.), *The Epidemiology of Diabetes Mellitus: An International Perspective* (pp. 369–382). Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd.
31. Centers for Disease Control and Prevention. (2005). National Diabetes Fact Sheet: General Information and National Estimates on Diabetes in the United States, 2005. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention.
32. Benjamin, S. M., Valdez, R., Geiss, L. S., et al. (2003). Estimated number of adults with prediabetes in the US in 2000: Opportunities for prevention. *Diabetes Care*, 26(3), 645–649.

33. Zimmet, P., Alberti, K. G., & Shaw, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 414(6865), 782–787.
34. Skyler, J. S., & Oddo, C. (2002). Diabetes trends in the USA. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 18(Suppl 3), S21–S26.
35. Selvin, E., Parrinello, C. M., Sacks, D. B., & Coresh, J. (2014). Trends in prevalence and control of diabetes in the United States, 1988–1994 and 1999–2010. *Annals of internal medicine*, 160(8), 517–525.
36. Narayan, K. M., Boyle, J. P., Geiss, L. S., et al. (2006). Impact of recent increase in incidence on future diabetes burden: U.S., 2005–2050. *Diabetes Care*, 29(9), 2114–2116.
37. Skyler, J. S., & Pugliese, A. (2013). Immunotherapy trials for type 1 diabetes: the contribution of George Eisenbarth. *Diabetes technology & therapeutics*, 15(S2), S2–13.
38. Katsarou, A., Gudbjörnsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., ... & Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature reviews Disease primers*, 3(1), 1–17.
39. Nichols, G. A., Hillier, T. A., & Brown, J. B. (2008). Normal fasting plasma glucose and risk of type 2 diabetes diagnosis. *The American journal of medicine*, 121(6), 519–524.
40. Bartoli, E., Fra, G. P., & Schianca, G. C. (2011). The oral glucose tolerance test (OGTT) revisited. *European journal of internal medicine*, 22(1), 8–12.
41. Weykamp, C. (2013). HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. *Annals of laboratory medicine*, 33(6), 393.
42. Sherwani, S. I., Khan, H. A., Ekhzaimy, A., Masood, A., & Sakharkar, M. K. (2016). Significance of HbA1c test in diagnosis and prognosis of diabetic patients. *Biomarker insights*, 11, BMI-S38440.
43. Clarke, S. F., & Foster, J. R. (2012). A history of blood glucose meters and their role in self-monitoring of diabetes mellitus. *British journal of biomedical science*, 69(2), 83–93.
44. Fabris, C., & Kovatchev, B. (Eds.). (2020). *Glucose Monitoring Devices: Measuring Blood Glucose to Manage and Control Diabetes*. Academic Press.
45. Petrie, J. R., Peters, A. L., Bergenstal, R. M., Holl, R. W., Fleming, G. A., & Heinemann, L. (2017). Improving the clinical value and utility of CGM systems: issues and recommendations: a joint statement of the European Association for the

- Study of Diabetes and the American Diabetes Association Diabetes Technology Working Group. *Diabetes Care*, 40(12), 1614-1621.
46. Nichols, S. P., Koh, A., Storm, W. L., Shin, J. H., & Schoenfisch, M. H. (2013). Biocompatible materials for continuous glucose monitoring devices. *Chemical reviews*, 113(4), 2528-2549.
 47. Olczuk, D., & Priefer, R. (2018). A history of continuous glucose monitors (CGMs) in self-monitoring of diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 12(2), 181-187.
 48. Zhu, Z., Garcia-Gancedo, L., Flewitt, A. J., Xie, H., Moussy, F., & Milne, W. I. (2012). A critical review of glucose biosensors based on carbon nanomaterials: carbon nanotubes and graphene. *Sensors*, 12(5), 5996-6022.
 49. Zhu, Z., Song, W., Burugapalli, K., Moussy, F., Li, Y. L., & Zhong, X. H. (2010). Nano-yarn carbon nanotube fiber based enzymatic glucose biosensor. *Nanotechnology*, 21(16), 165501.
 50. Al-Sagur, H., Komathi, S., Khan, M. A., Gurek, A. G., & Hassan, A. (2017). A novel glucose sensor using lutetium phthalocyanine as redox mediator in reduced graphene oxide conducting polymer multifunctional hydrogel. *Biosensors and Bioelectronics*, 92, 638-645.
 51. Zhu, Z. G., Garcia-Gancedo, L., Chen, C., Zhu, X. R., Xie, H. Q., Flewitt, A. J., & Milne, W. I. (2013). Enzyme-free glucose biosensor based on low density CNT forest grown directly on a Si/SiO₂ substrate. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 178, 586-592.
 52. Ekram, H., Galal, A., & Atta, N. F. (2016). The effect of A-site doping in a strontium palladium perovskite and its applications for non-enzymatic glucose sensing. *RSC advances*, 6(20), 16183-16196.
 53. Li, Y., & Zhou, S. (2013). A simple method to fabricate fluorescent glucose sensor based on dye-complexed microgels. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 177, 792-799.
 54. Jayakumar, R., Prabakaran, M., Kumar, P. S., Nair, S. V., & Tamura, H. J. B. A. (2011). Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology advances*, 29(3), 322-337.
 55. Cappon, G., Vettoretti, M., Sparacino, G., & Facchinetti, A. (2019). Continuous glucose monitoring sensors for diabetes management: a review of technologies and applications. *Diabetes & metabolism journal*, 43(4), 383-397.

56. Garg, S. K., Schwartz, S., & Edelman, S. V. (2004). Improved glucose excursions using an implantable real-time continuous glucose sensor in adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 27(3), 734-738.
57. Danne, T., Nimri, R., Battelino, T., Bergenstal, R. M., Close, K. L., DeVries, J. H., ... & Phillip, M. (2017). International consensus on use of continuous glucose monitoring. *Diabetes care*, 40(12), 1631-1640.
58. Wadwa, R. P., Laffel, L. M., Shah, V. N., & Garg, S. K. (2018). Accuracy of a factory-calibrated, real-time continuous glucose monitoring system during 10 days of use in youth and adults with diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*, 20(6), 395-402.
59. Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group. (2008). Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes. *New England Journal of Medicine*, 359(14), 1464-1476.
60. Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group. (2010). Effectiveness of continuous glucose monitoring in a clinical care environment: evidence from the Juvenile Diabetes Research Foundation continuous glucose monitoring (JDRF-CGM) trial. *Diabetes care*, 33(1), 17-22.
61. El-Laboudi, A. H., Godsland, I. F., Johnston, D. G., & Oliver, N. S. (2016). Measures of glycemic variability in type 1 diabetes and the effect of real-time continuous glucose monitoring. *Diabetes technology & therapeutics*, 18(12), 806-812.
62. Rodbard, D. (2012). Hypo-and hyperglycemia in relation to the mean, standard deviation, coefficient of variation, and nature of the glucose distribution. *Diabetes technology & therapeutics*, 14(10), 868-876.
63. Dunn, T. C., Hayter, G. A., Doniger, K. J., & Wolpert, H. A. (2014). Development of the Likelihood of Low Glucose (LLG) algorithm for evaluating risk of hypoglycemia: a new approach for using continuous glucose data to guide therapeutic decision making. *Journal of diabetes science and technology*, 8(4), 720-730.
64. Peters, A. L., Ahmann, A. J., Battelino, T., Evert, A., Hirsch, I. B., Murad, M. H., ... & Wolpert, H. (2016). Diabetes technology—continuous subcutaneous insulin infusion therapy and continuous glucose monitoring in adults: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(11), 3922-3937.
65. Matuleviciene, V., Joseph, J. I., Andelin, M., Hirsch, I. B., Attvall, S., Pivodic, A., ... & Lind, M. (2014). A clinical trial of the accuracy and treatment experience of the

- Dexcom G4 sensor (Dexcom G4 system) and Enlite sensor (guardian REAL-time system) tested simultaneously in ambulatory patients with type 1 diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*, 16(11), 759-767.
66. Taleb, N., Emami, A., Suppere, C., Messier, V., Legault, L., Chiasson, J. L., ... & Haidar, A. (2016). Comparison of two continuous glucose monitoring systems, Dexcom G4 Platinum and Medtronic Paradigm Veo Enlite System, at rest and during exercise. *Diabetes technology & therapeutics*, 18(9), 561-567.
 67. Thabit, H., Leelarathna, L., Wilinska, M. E., Elleri, D., Allen, J. M., Lubina-Solomon, A., ... & Hovorka, R. (2015). Accuracy of continuous glucose monitoring during three closed-loop home studies under free-living conditions. *Diabetes technology & therapeutics*, 17(11), 801-807.
 68. Laffel, L. (2016). Improved accuracy of continuous glucose monitoring systems in pediatric patients with diabetes mellitus: results from two studies. *Diabetes technology & therapeutics*, 18(S2), S2-23.
 69. Little, S. A., Leelarathna, L., Walkinshaw, E., Tan, H. K., Chapple, O., Lubina-Solomon, A., ... & Shaw, J. A. (2014). Recovery of hypoglycemia awareness in long-standing type 1 diabetes: a multicenter 2× 2 factorial randomized controlled trial comparing insulin pump with multiple daily injections and continuous with conventional glucose self-monitoring (HypoCOMPASS). *Diabetes care*, 37(8), 2114-2122.
 70. Beck, R. W., Riddlesworth, T., Ruedy, K., Ahmann, A., Bergenstal, R., Haller, S., ... & DIAMOND Study Group. (2017). Effect of continuous glucose monitoring on glycemic control in adults with type 1 diabetes using insulin injections: the DIAMOND randomized clinical trial. *Jama*, 317(4), 371-378
 71. Lind, M., Polonsky, W., Hirsch, I. B., Heise, T., Bolinder, J., Dahlqvist, S., ... & Hellman, J. (2017). Continuous glucose monitoring vs conventional therapy for glycemic control in adults with type 1 diabetes treated with multiple daily insulin injections: the GOLD randomized clinical trial. *Jama*, 317(4), 379-387.
 72. Bergenstal, R. M., Ahmann, A. J., Bailey, T., Beck, R. W., Bissen, J., Buckingham, B., ... & Wesley, D. M. (2013). Recommendations for standardizing glucose reporting and analysis to optimize clinical decision making in diabetes: the Ambulatory Glucose Profile (AGP).
 73. Rodbard, D. (2013). Standardization versus customization of glucose reporting. *Diabetes technology & therapeutics*, 15(5), 439-443.

74. Finan, D. A., McCann Jr, T. W., Mackowiak, L., Dassau, E., Patek, S. D., Kovatchev, B. P., ... & Venugopalan, R. (2014). Closed-loop control performance of the Hypoglycemia-Hyperglycemia Minimizer (HHM) System in a feasibility study. *Journal of diabetes science and technology*, 8(1), 35-42.
75. Romero-Aroca, P., Baget-Bernaldiz, M., Pareja-Rios, A., Lopez-Galvez, M., Navarro-Gil, R., & Verges, R. (2016). Diabetic macular edema pathophysiology: vasogenic versus inflammatory. *Journal of diabetes research*, 2016(1), 2156273.
76. Gonzalez, V. H., Campbell, J., Holekamp, N. M., Kiss, S., Loewenstein, A., Augustin, A. J., ... & Dugel, P. U. (2016). Early and long-term responses to anti-vascular endothelial growth factor therapy in diabetic macular edema: analysis of protocol I data. *American journal of ophthalmology*, 172, 72-79.
77. Brownlee, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *diabetes*, 54(6), 1615-1625.
78. Bek, T. (2017). Diameter changes of retinal vessels in diabetic retinopathy. *Current diabetes reports*, 17, 1-7.
79. Naruse, K., Nakamura, J., Hamada, Y., Nakayama, M., Chaya, S., Komori, T., ... & Hotta, N. (2000). Aldose reductase inhibition prevents glucose-induced apoptosis in cultured bovine retinal microvascular pericytes. *Experimental eye research*, 71(3), 309-315.
80. Ejaz, S., Chekarova, I., Ejaz, A., Sohail, A., & Lim, C. W. (2008). Importance of pericytes and mechanisms of pericyte loss during diabetic retinopathy. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10(1), 53-63.
81. Limb, G. A., Hickman-Casey, J., Hollifield, R. D., & Chignell, A. H. (1999). Vascular adhesion molecules in vitreous from eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 40(10), 2453-2457
82. Wilkinson, C. P., Ferris III, F. L., Klein, R. E., Lee, P. P., Agardh, C. D., Davis, M., ... & Global Diabetic Retinopathy Project Group. (2003). Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*, 110(9), 1677-1682.
83. Song, S. J., Han, K., Choi, K. S., Ko, S. H., Rhee, E. J., Park, C. Y., ... & Task Force Team for Diabetes Fact Sheet of the Korean Diabetes Association. (2018). Trends in diabetic retinopathy and related medical practices among type 2 diabetes patients:

- Results from the National Insurance Service Survey 2006–2013. *Journal of Diabetes Investigation*, 9(1), 173-178.
84. Kobayashi, S., Nagao, M., Asai, A., Fukuda, I., Oikawa, S., & Sugihara, H. (2018). Severity and multiplicity of microvascular complications are associated with QT interval prolongation in patients with type 2 diabetes. *Journal of diabetes investigation*, 9(4), 946-951.
 85. Hainsworth, D. P., Bebu, I., Aiello, L. P., Sivitz, W., Gubitosi-Klug, R., Malone, J., ... & Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Research Group. (2019). Risk factors for retinopathy in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC study. *Diabetes care*, 42(5), 875-882.
 86. Song, K. H., Jeong, J. S., Kim, M. K., Kwon, H. S., Baek, K. H., Ko, S. H., & Ahn, Y. B. (2019). Discordance in risk factors for the progression of diabetic retinopathy and diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of diabetes investigation*, 10(3), 745-752.
 87. Wong, T. Y., Sun, J., Kawasaki, R., Ruamviboonsuk, P., Gupta, N., Lansingh, V. C., ... & Taylor, H. R. (2018). Guidelines on diabetic eye care: the international council of ophthalmology recommendations for screening, follow-up, referral, and treatment based on resource settings. *Ophthalmology*, 125(10), 1608-1622.
 88. Vujosevic, S., Aldington, S. J., Silva, P., Hernández, C., Scanlon, P., Peto, T., & Simó, R. (2020). Screening for diabetic retinopathy: new perspectives and challenges. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 8(4), 337-347.
 89. Sivaprasad, S., Gupta, B., Crosby-Nwaobi, R., & Evans, J. (2012). Prevalence of diabetic retinopathy in various ethnic groups: a worldwide perspective. *Survey of ophthalmology*, 57(4), 347-370.
 90. Clark, P., Kim, J., & Aphinyanaphongs, Y. (2023). Marketing and US Food and Drug Administration clearance of artificial intelligence and machine learning enabled software in and as medical devices: a systematic review. *JAMA Network Open*, 6(7), e2321792-e2321792.
 91. Constable, I. J., Yogesana, K., Eikelboom, R., Barry, C., & Cuypers, M. (2000). Fred Hollows lecture: digital screening for eye disease. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 28(3), 129-132.
 92. Abràmoff, M. D., Lou, Y., Erginay, A., Clarida, W., Amelon, R., Folk, J. C., & Niemeijer, M. (2016). Improved automated detection of diabetic retinopathy on a

- publicly available dataset through integration of deep learning. *Investigative ophthalmology & visual science*, 57(13), 5200-5206.
93. Choudhry, N., Duker, J. S., Freund, K. B., Kiss, S., Querques, G., Rosen, R., ... & Sadda, S. R. (2019). Classification and guidelines for widefield imaging: recommendations from the international widefield imaging study group. *Ophthalmology Retina*, 3(10), 843-849.
 94. Byberg, S., Vistisen, D., Diaz, L., Charles, M. H., Hajari, J. N., Valerius, M., ... & Lund-Andersen, H. (2019). Optos wide-field imaging versus conventional camera imaging in Danish patients with type 2 diabetes. *Acta Ophthalmologica*, 97(8), 815-820.
 95. Aiello, L. P., Odia, I., Glassman, A. R., Melia, M., Jampol, L. M., Bressler, N. M., ... & Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. (2019). Comparison of early treatment diabetic retinopathy study standard 7-field imaging with ultrawide-field imaging for determining severity of diabetic retinopathy. *JAMA ophthalmology*, 137(1), 65-73.
 96. Silva, P. S., Cavallerano, J. D., Haddad, N. M. N., Kwak, H., Dyer, K. H., Omar, A. F., ... & Aiello, L. P. (2015). Peripheral lesions identified on ultrawide field imaging predict increased risk of diabetic retinopathy progression over 4 years. *Ophthalmology*, 122(5), 949-956.
 97. Sadda, S. R., Nittala, M. G., Taweebanjongsin, W., Verma, A., Velaga, S. B., Alagorie, A. R., ... & Aiello, L. P. (2020). Quantitative assessment of the severity of diabetic retinopathy. *American Journal of Ophthalmology*, 218, 342-352.
 98. Mansour, R. F. (2017). Evolutionary computing enriched computer-aided diagnosis system for diabetic retinopathy: a survey. *IEEE reviews in biomedical engineering*, 10, 334-349.
 99. Asiri, N., Hussain, M., Al Adel, F., & Alzaidi, N. (2019). Deep learning based computer-aided diagnosis systems for diabetic retinopathy: A survey. *Artificial intelligence in medicine*, 99, 101701.
 100. Prentašić, P., Lončarić, S., Vatauvuk, Z., Benčić, G., Subašić, M., Petković, T., ... & Tadić, R. (2013, September). Diabetic retinopathy image database (DRiDB): a new database for diabetic retinopathy screening programs research. In *2013 8th International symposium on image and signal processing and analysis (ISPA)* (pp. 711-716). IEEE.

101. Bharati, P., & Pramanik, A. (2020). Deep learning techniques—R-CNN to mask R-CNN: a survey. *Computational Intelligence in Pattern Recognition: Proceedings of CIPR 2019*, 657-668.
102. Li, P., Pei, Y., & Li, J. (2023). A comprehensive survey on design and application of autoencoder in deep learning. *Applied Soft Computing*, 138, 110176.
103. Sherstinsky, A. (2020). Fundamentals of recurrent neural network (RNN) and long short-term memory (LSTM) network. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 404, 132306.
104. Hinton, G. E. (2009). Deep belief networks. *Scholarpedia*, 4(5), 5947.
105. Wang, C., Bao, J., & Bu, H. (2017, September). Gland segmentation guided by glandular structures: A level set framework with two levels. In *2017 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP)* (pp. 2154-2158). IEEE.
106. Li, Q., Feng, B., Xie, L., Liang, P., Zhang, H., & Wang, T. (2015). A cross-modality learning approach for vessel segmentation in retinal images. *IEEE transactions on medical imaging*, 35(1), 109-118.
107. Akram, M. U., Khalid, S., Tariq, A., Khan, S. A., & Azam, F. (2014). Detection and classification of retinal lesions for grading of diabetic retinopathy. *Computers in biology and medicine*, 45, 161-171.
108. Skouta, A., Elmoufidi, A., Jai-Andaloussi, S., & Ouchetto, O. (2023). Deep learning for diabetic retinopathy assessments: a literature review. *Multimedia Tools and Applications*, 82(27), 41701-41766.
109. Lahiri, A., Roy, A. G., Sheet, D., & Biswas, P. K. (2016, August). Deep neural ensemble for retinal vessel segmentation in fundus images towards achieving label-free angiography. In *2016 38th annual international conference of the IEEE engineering in medicine and biology society (EMBC)* (pp. 1340-1343). IEEE.
110. Fu, H., Xu, Y., Lin, S., Kee Wong, D. W., & Liu, J. (2016). Deepvessel: Retinal vessel segmentation via deep learning and conditional random field. In *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention—MICCAI 2016: 19th International Conference, Athens, Greece, October 17-21, 2016, Proceedings, Part II 19* (pp. 132-139). Springer International Publishing.
111. Zhang, D., Zhu, W., Zhao, H., Shi, F., & Chen, X. (2018, March). Automatic localization and segmentation of optical disk based on faster R-CNN and level set in fundus image. In *Medical Imaging 2018: Image Processing* (Vol. 10574, pp. 460-466). SPIE.

112. Abràmoff, M. D., Lou, Y., Erginay, A., Clarida, W., Amelon, R., Folk, J. C., & Niemeijer, M. (2016). Improved automated detection of diabetic retinopathy on a publicly available dataset through integration of deep learning. *Investigative ophthalmology & visual science*, 57(13), 5200-5206.
113. Perdomo, O., Otalora, S., Rodríguez, F., Arevalo, J., & González, F. A. (2016, October). A novel machine learning model based on exudate localization to detect diabetic macular edema. In *Proceedings of the ophthalmic medical image analysis international workshop* (Vol. 3, No. 2016). University of Iowa.
114. Mo, J., Zhang, L., & Feng, Y. (2018). Exudate-based diabetic macular edema recognition in retinal images using cascaded deep residual networks. *Neurocomputing*, 290, 161-171.
115. Prentašić, P., & Lončarić, S. (2016). Detection of exudates in fundus photographs using deep neural networks and anatomical landmark detection fusion. *Computer methods and programs in biomedicine*, 137, 281-292.
116. Neff, T., Payer, C., Stern, D., & Urschler, M. (2017, May). Generative adversarial network based synthesis for supervised medical image segmentation. In *Proc. OAGM and ARW joint Workshop* (Vol. 3, p. 4).
117. Pratt, H., Coenen, F., Broadbent, D. M., Harding, S. P., & Zheng, Y. (2016). Convolutional neural networks for diabetic retinopathy. *Procedia computer science*, 90, 200-205.
118. Wong, T. Y., & Bressler, N. M. (2016). Artificial intelligence with deep learning technology looks into diabetic retinopathy screening. *Jama*, 316(22), 2366-2367.
119. Aleppo, G., Ruedy, K. J., Riddlesworth, T. D., Kruger, D. F., Peters, A. L., Hirsch, I., ... & Replace-Bg Study Group. (2017). REPLACE-BG: a randomized trial comparing continuous glucose monitoring with and without routine blood glucose monitoring in adults with well-controlled type 1 diabetes. *Diabetes care*, 40(4), 538-545
120. Piersanti, A., Salvatori, B., D'Avino, P., Burattini, L., Göbl, C., Tura, A., & Morettini, M. (2023, November). Diabetic Retinopathy Detection: A Machine-Learning Approach Based on Continuous Glucose Monitoring Metrics. In *International Conference on e-Health and Bioengineering* (pp. 763-773). Cham: Springer Nature Switzerland.

121. Piersanti, A., Giurato, F., Göbl, C., Burattini, L., Tura, A., & Morettini, M. (2023). Software packages and tools for the analysis of continuous glucose monitoring data. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 25(1), 69-85.