

# CONGRESSO REGIONALE AMD - SID

Alleanza strategica nella gestione del paziente diabetico: attori a confronto

Roma, 5-6 maggio 2017

- Il /la dr./sa Fabiana Picconi dichiara di NON aver ricevuto negli ultimi due anni compensi o finanziamenti da Aziende Farmaceutiche e/o Diagnostiche



**Congresso Regionale AMD - SID Lazio:  
Alleanza strategica nella gestione del paziente diabetico:  
attori a confronto”**



**Roma, 5-6 Maggio 2017**

**LO STATO DELLA RICERCA:**

**LA NEURODEGENERAZIONE RETINICA COME MARKER PRECOCE DI**

**NEUROPATIA DIABETICA**

**NEL DIABETE MELLITO TIPO 1**

**Dott. ssa Fabiana Picconi**

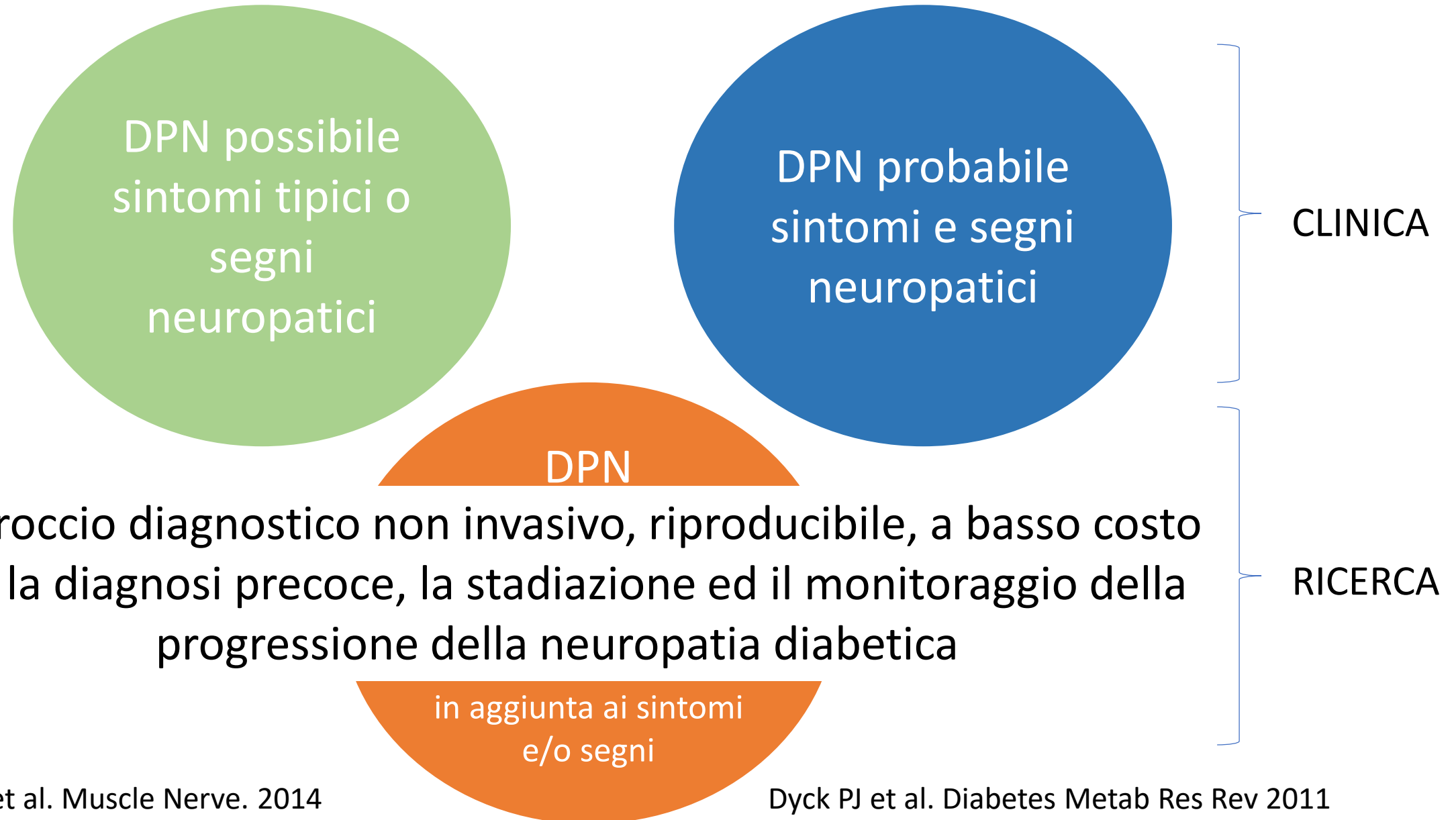
Università degli studi di Roma “Tor Vergata” Dipartimento di Medicina dei Sistemi  
Unità Operativa Complessa di Endocrinologia Diabetologia e Malattie del Ricambio

Ospedale S. Giovanni Calibita Fatebenefratelli, Roma

Prof. ssa Simona Frontoni



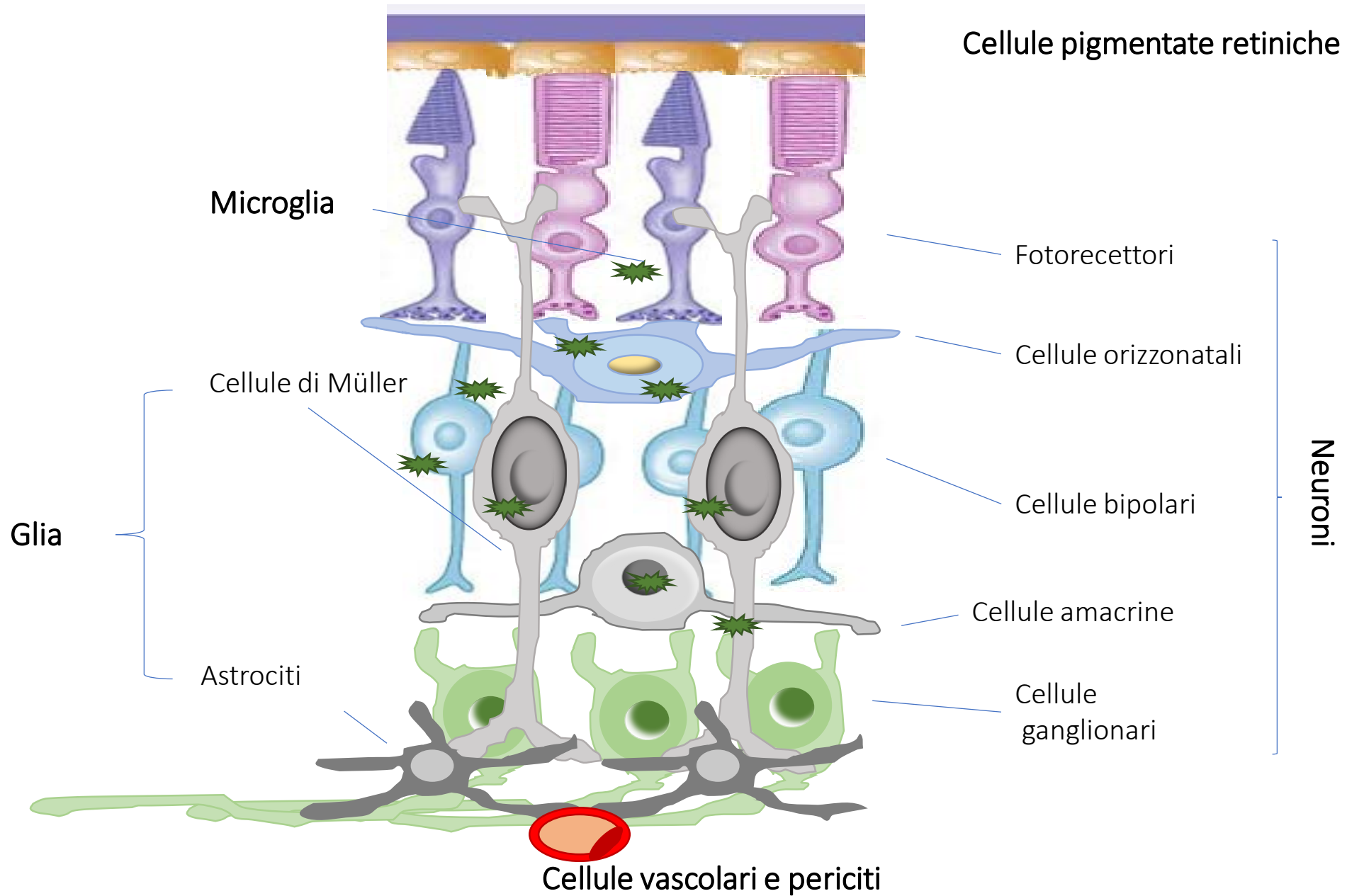
# Polineuropatia diabetica (DPN) definizione



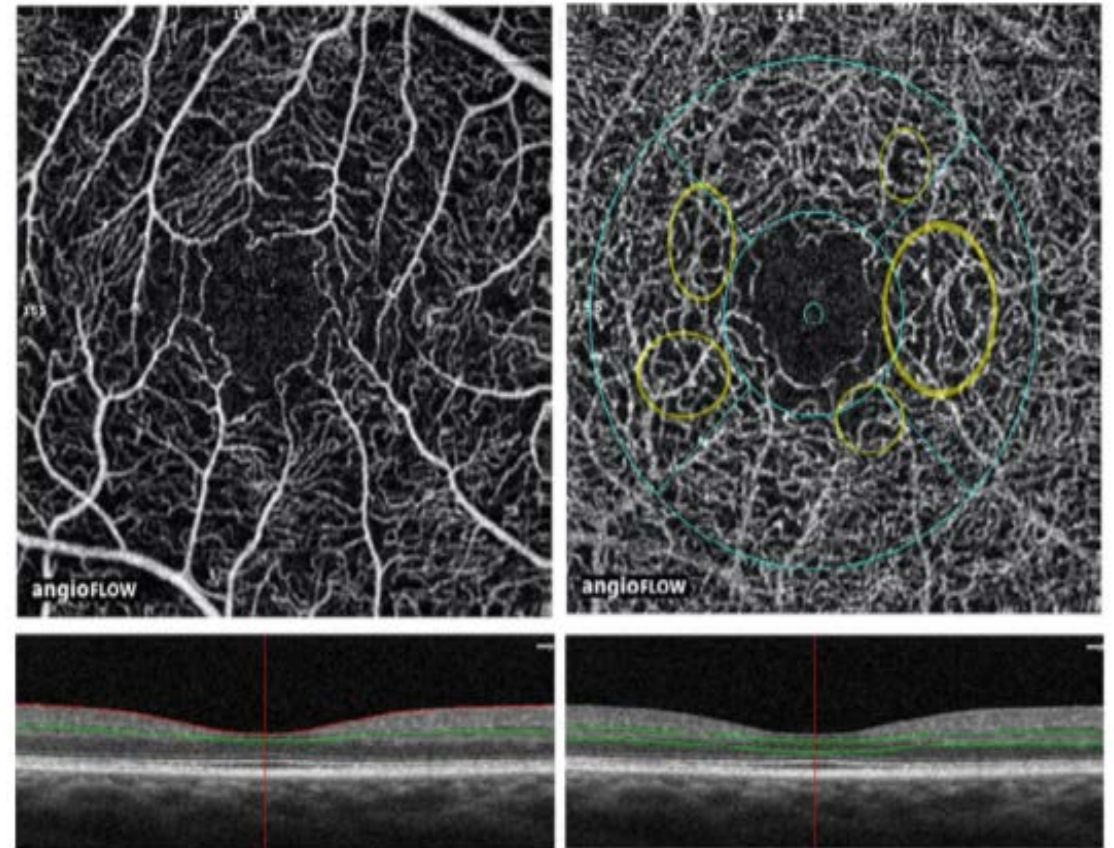
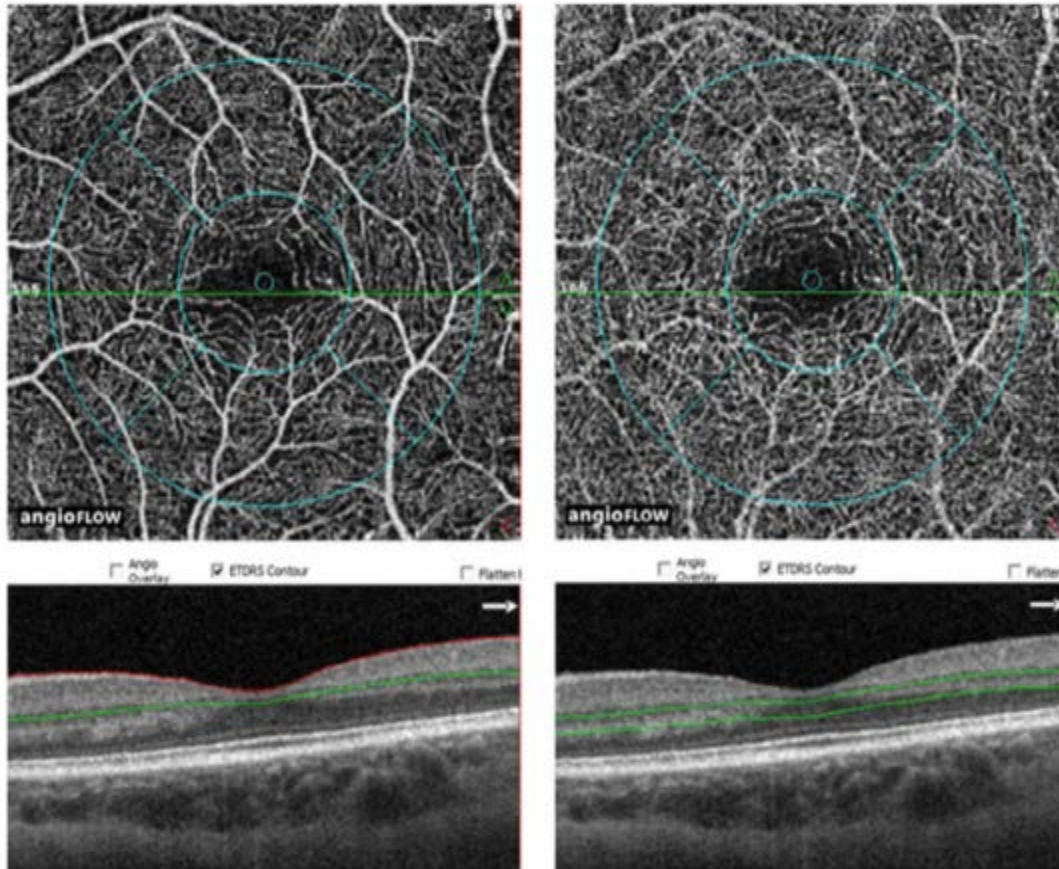
La ricerca...

- Microscopia confocale
- Biopsia cutanea e nervosa delle piccole fibre
- Cooling detection threshold

# La retina



# Early microvascular retinal changes in optical coherence tomography angiography in patients with type 1 diabetes mellitus





# Background

- ✓ Recenti studi hanno dimostrato che il processo di neurodegenerazione retinica si sviluppi prima che il danno microvascolare diventi visibile (Antonetti DA et al. N Engl J Med, 2012).
- ✓ L'iperglicemia cronica comporta alterazioni a carico di tutto il tessuto neuroretinico, caratterizzate da aumento dell'apoptosi neuronale, attivazione o alterato metabolismo delle cellule di supporto gliali (Antonetti DA et al. Diabetes, 2006).
- ✓ La retinopatia diabetica in una fase precoce potrebbe essere considerata una forma di neuropatia sensoriale che colpisce il tessuto neuroretinico (Cheung N et al. Lancet 2010).

# 1.Obiettivo

- In pazienti affetti da DM1 esenti da DR o con lieve retinopatia diabetica non proliferativa (NPDR), in assenza di neuropatia diabetica periferica.
- ✓ Valutare lo spessore maculare neuroretinico attraverso scansioni cross-section SD-OCT
- ✓ Analizzare il differente contributo del carico globale glicemico e della variabilità glicemica sulle alterazioni neuroretiniche

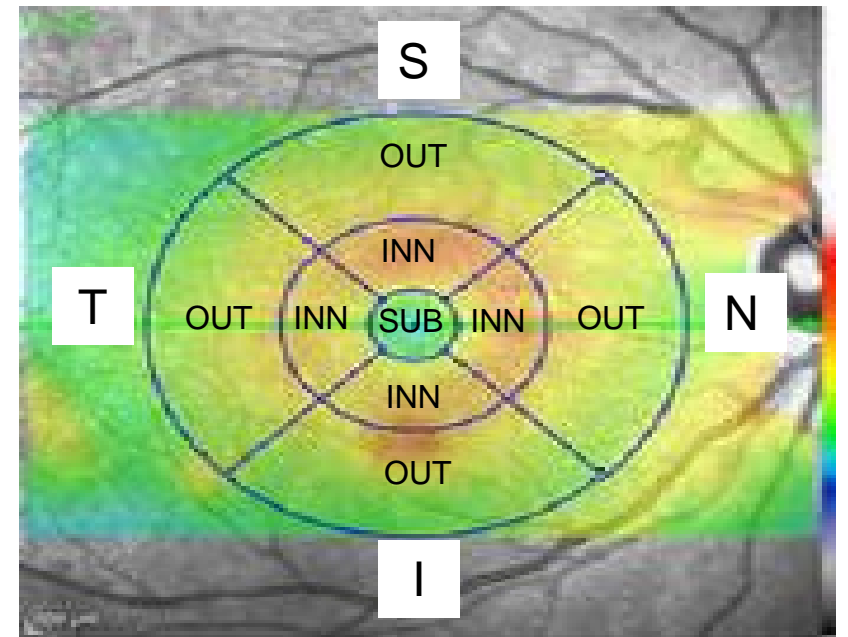
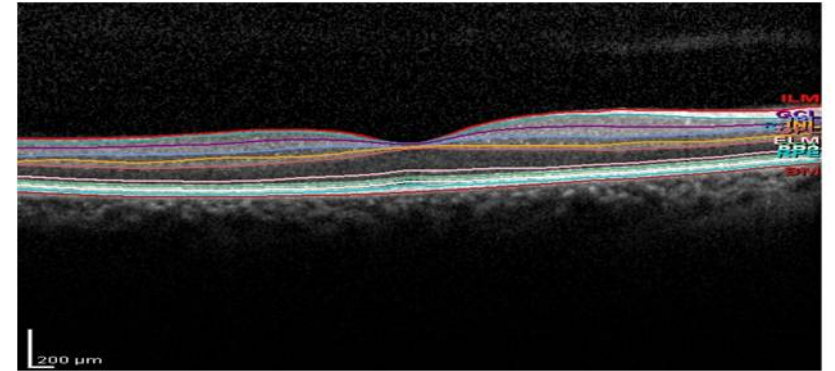


# Analisi morfologica neuroretina

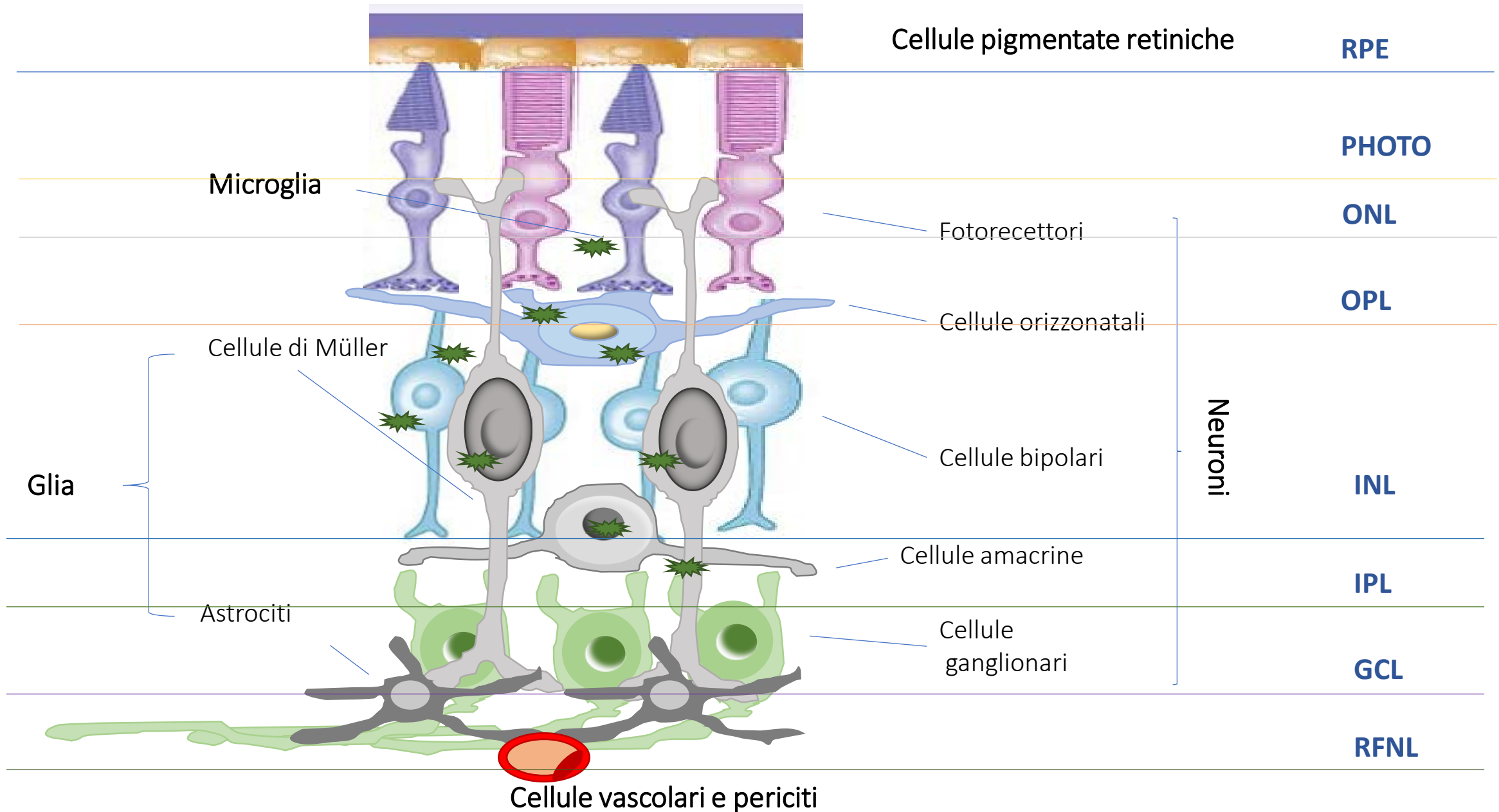
## Spectral Domain-OCT

Heidelberg Spectralis (version 1.9.10.0;  
Heidelberg Engineering, Heidelberg Germany)

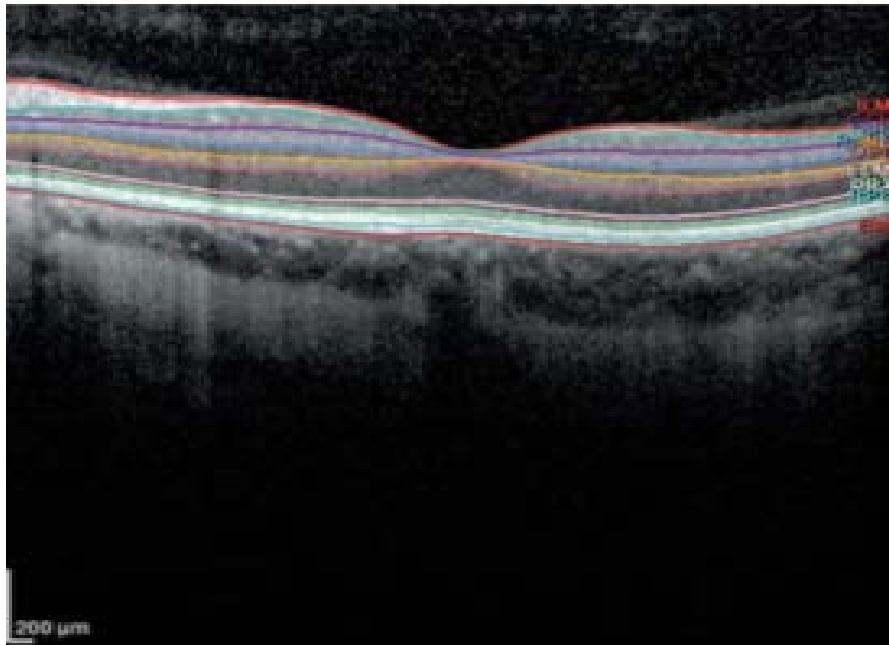
- ✓ Segmentazione automatica di tutti gli strati retinici maculari (RNFL, GCL, IPL, INL, ONL, OPL, RPE, PHOTO)
- ✓ Suddivisione in 4 quadranti: superiore (S), nasale (N), inferiore (I), e temporale (T).



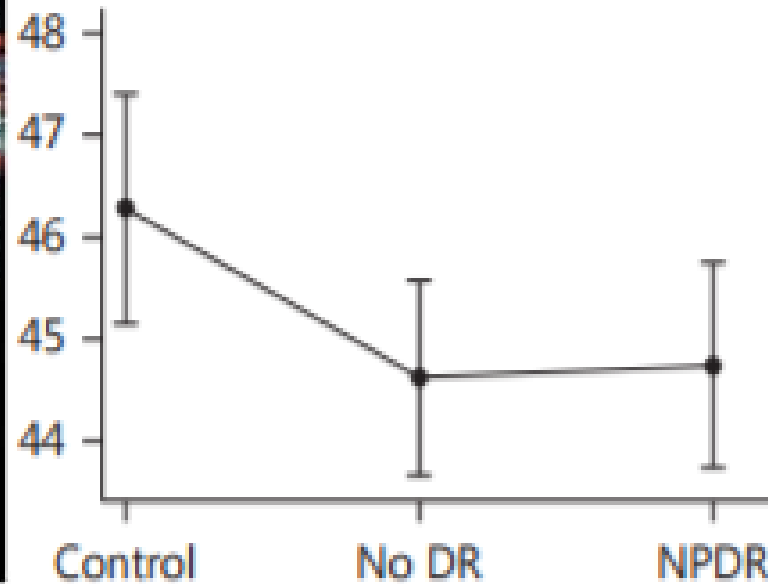
# Strati retina



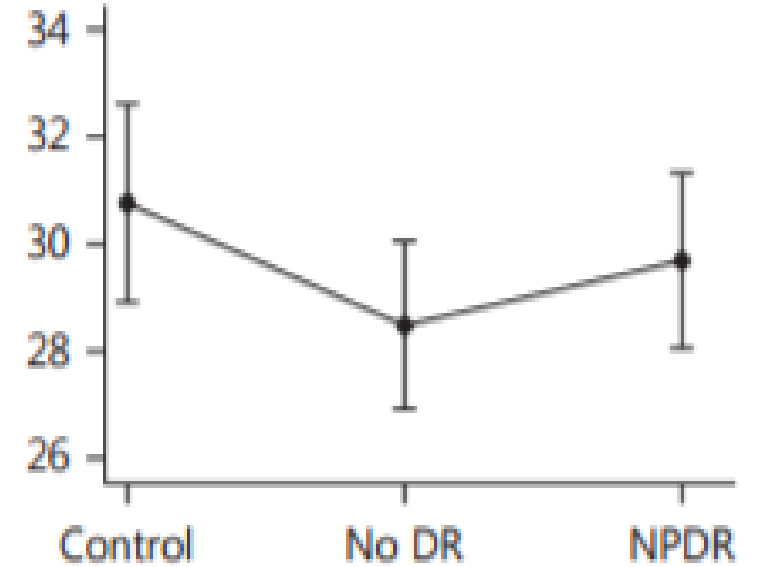
# Single Retinal Layer Evaluation in Patients with Type 1 Diabetes with No or Early Signs of Diabetic Retinopathy: The First Hint of Neurovascular Crosstalk Damage between Neurons and Capillaries?



GCL thickness



RNFL thickness

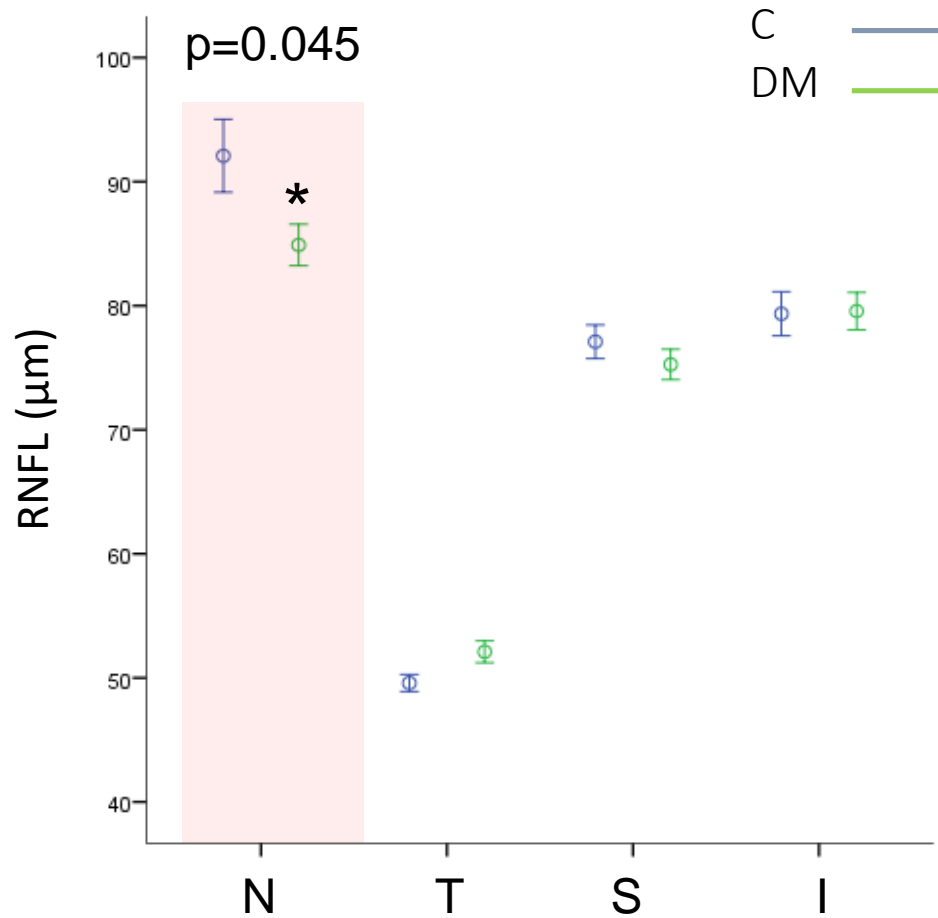


# Indici di Variabilità glicemica intra-giornaliera

<b>DS</b>	dispersione dei valori glicemici intorno alla media
<b>J-index</b>	indice ricavato dalla DS e glicemia media
<b>MAGE (Mena Amplitude of Glycemic Excursions )</b>	media delle escursioni glicemiche maggiori di 1 DS rispetto alla media delle 24 ore
<b>CONGA (Continuous Overall Net Glycemic Action)</b>	DS (BG attuale – BG di 1, 2 o 4 ore precedenti)
<b>M value</b>	trasformazione logaritmica dei valori glicemici
<b>MAG</b>	somma delle differenze tra valori successivi di glicemia, diviso il tempo totale di misurazione in ore
<b>LBGI (low blood glucose index) HBGI (high blood glucose index)</b>	frequenza ed estensione di valori ridotti o elevati di glicemia. LBGI e HBGI aumentati indicano una maggiore frequenza e estensione di ipo e iperglicemie rispettivamente.

# Risultati

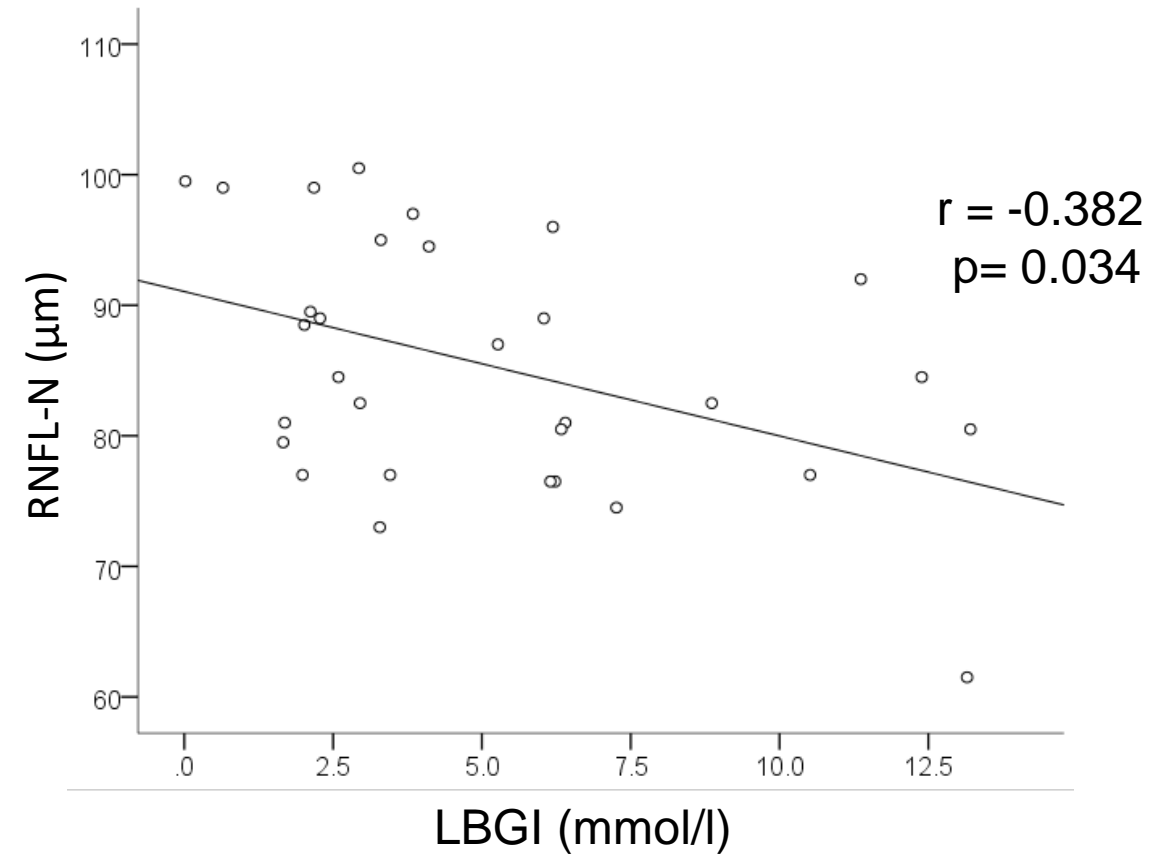
## Spessore maculare SD-OCT



Group effect,  $p=0.478$

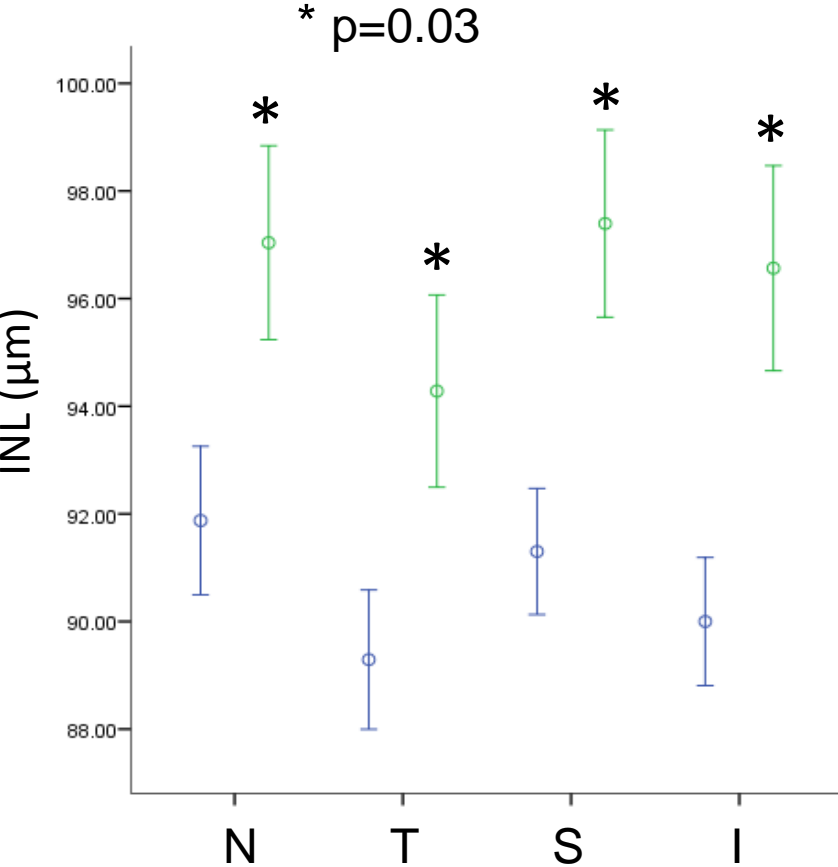
Group X Sector interaction effect,  $p<0.001$

## Variabilità glicemica-RNFL settore nasale



# Risultati

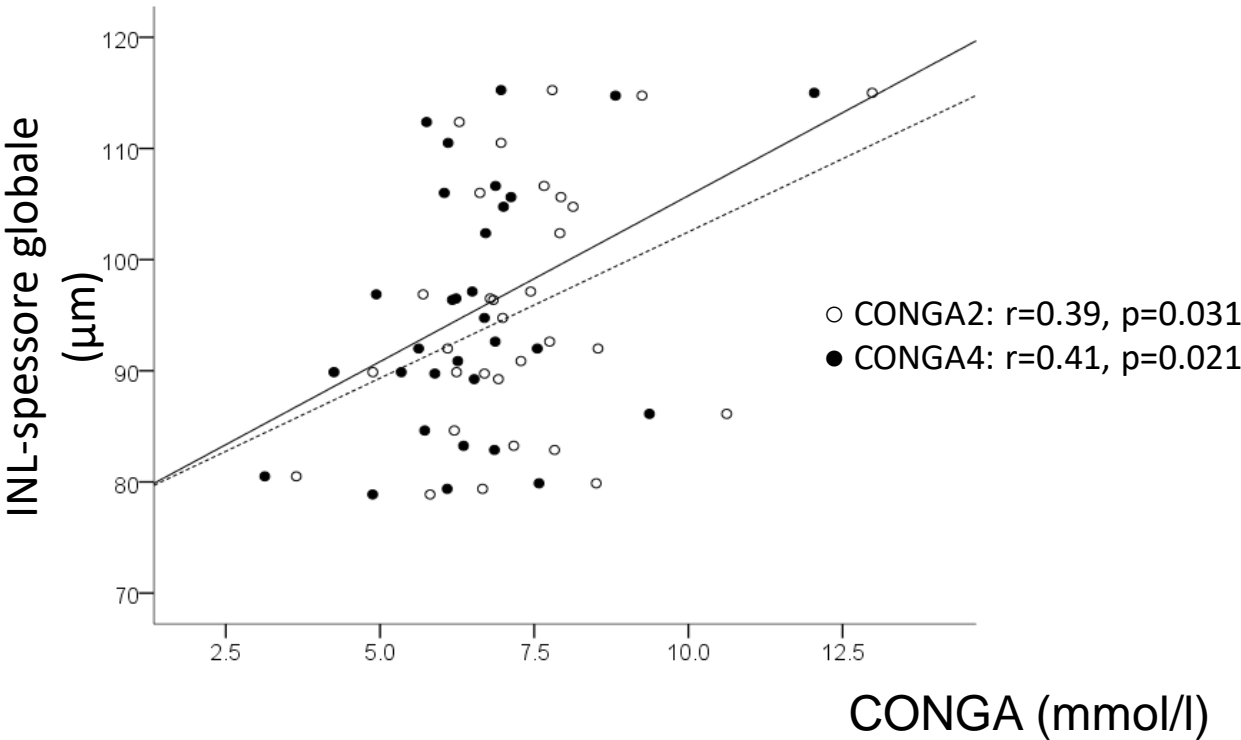
## Spessore maculare SD-OCT



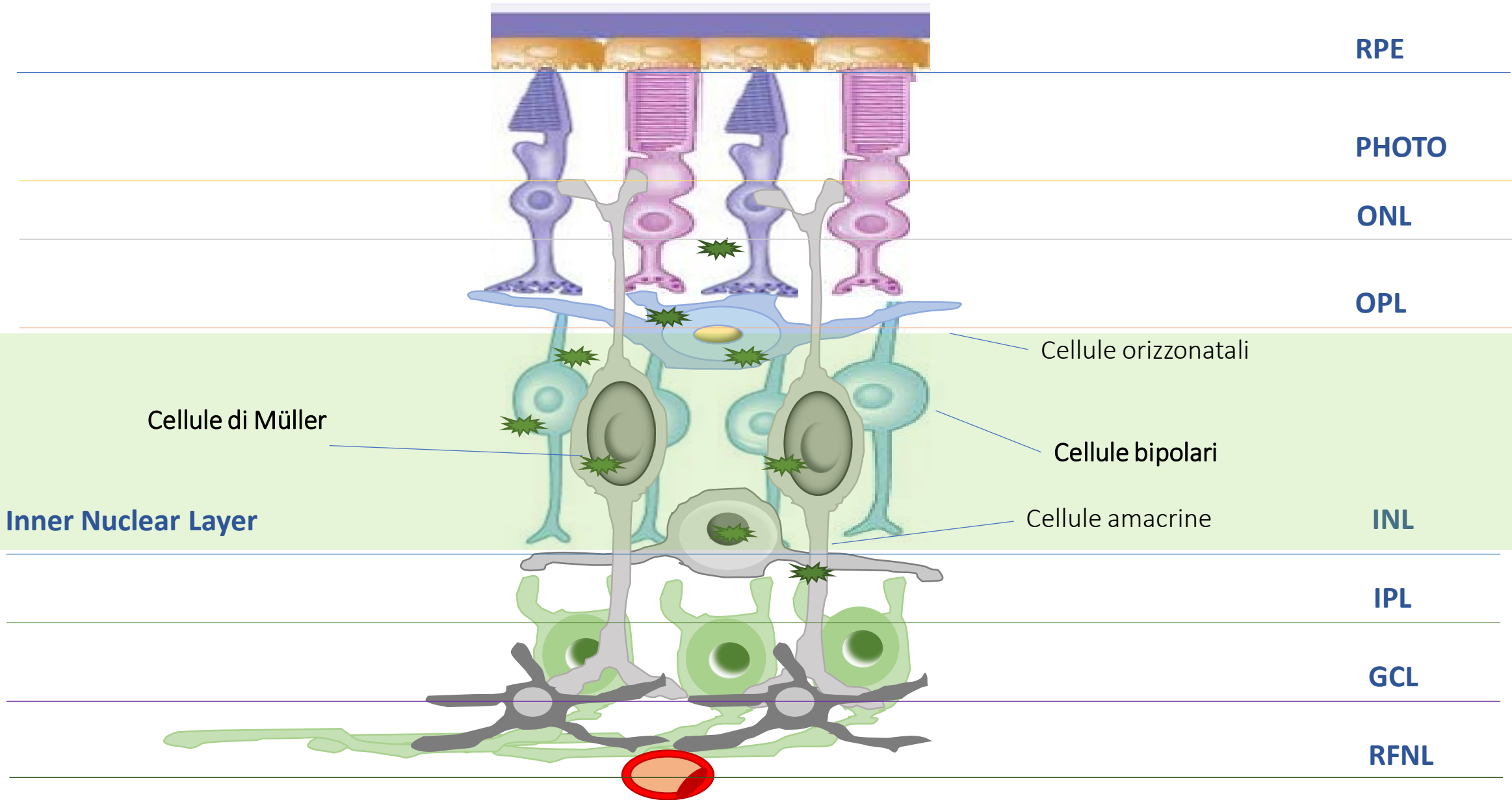
C ———  
DM ———

Group effect,  $p < 0.029$   
Group X Sector Interaction effect,  $p = 0.125$

## Variabilità glicemica-INL spessore globale



# Strati retina

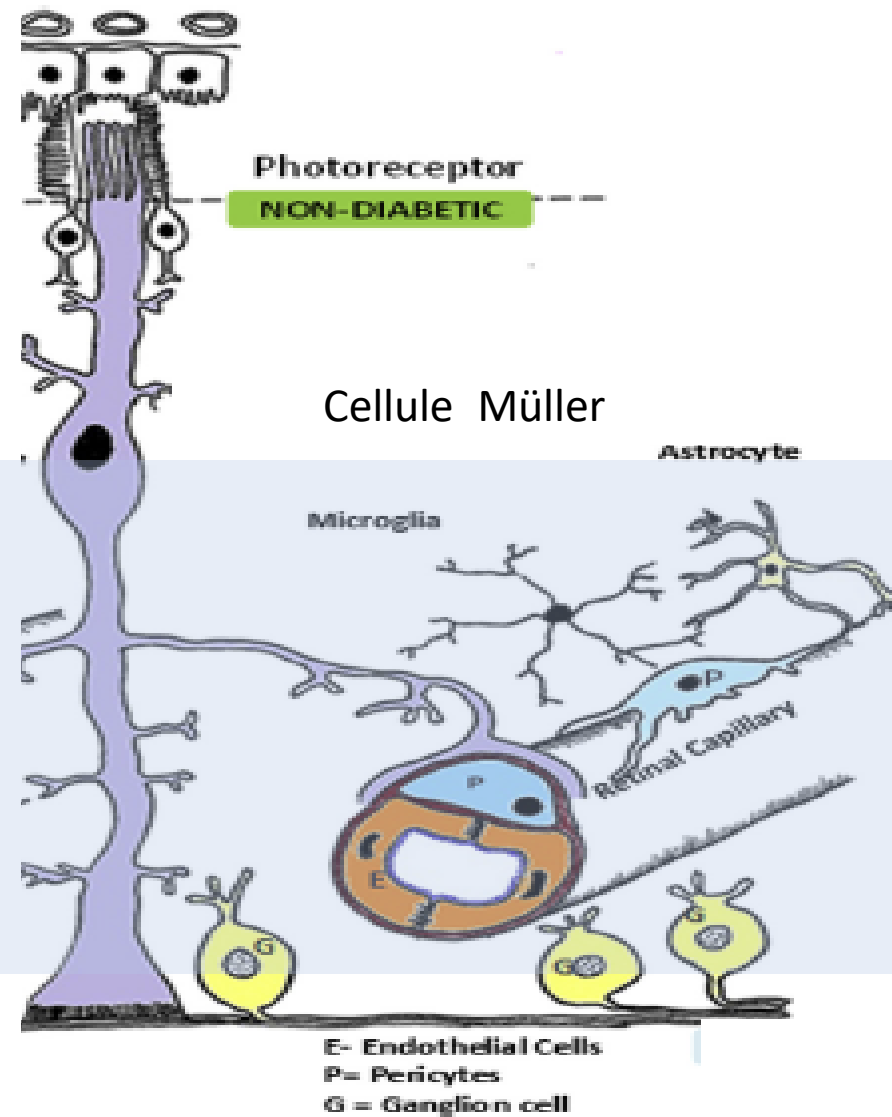




# CONCLUSIONI

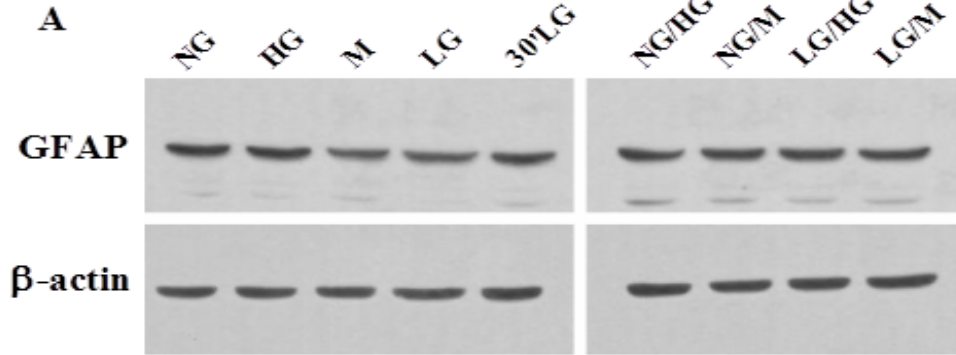
- ✓ Alterazioni precoci di neurodegenerazione retinica sono già presenti in pazienti affetti da DM1, esenti da RD o con RD non proliferativa di grado lieve, esenti da neuropatia diabetica
- ✓ La variabilità glicemica, e non il carico glicemico globale, si associa ad un danno strutturale della neuroretina in soggetti con DM1

# Unità neurovascolare retinica



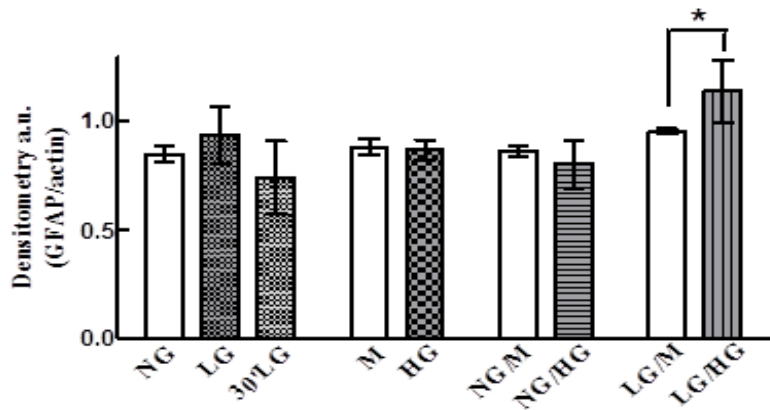
# Risultati in vitro

rMC-1



- ✓ Continuous normal glucose medium (NG) (25 mmol/l);
- ✓ Continuous low-glucose medium (LG) (5 mmol/l)
- ✓ 30-min episodes of "hypoglycose" (to mimic the hypoglycemic condition) (30' LG) , twice a day;
- ✓ Continuous high-glucose medium (HG) (45 mmol/l);

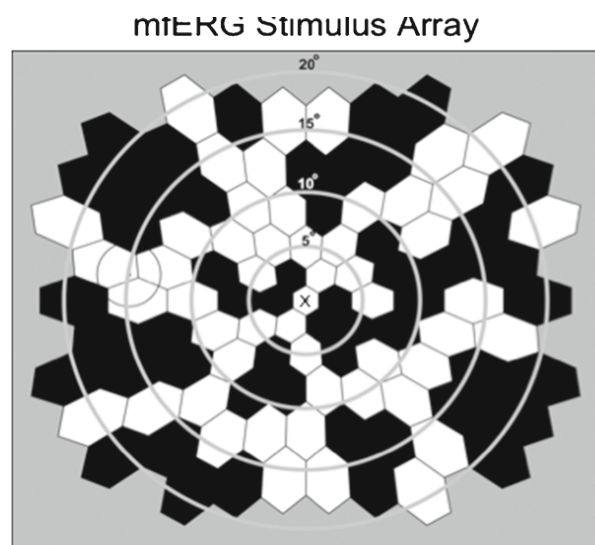
- ✓ Alternating normal and high-glucose media every 24 h (NG/HG)
- ✓ Alternating low and high-glucose media every 24 h (LG/HG).



Control groups were grown in (M) continuous mannitol medium (20 mmol/l), (NG/M) alternating normal glucose and mannitol media or (LG/M) low-glucose and mannitol media every 24 h.

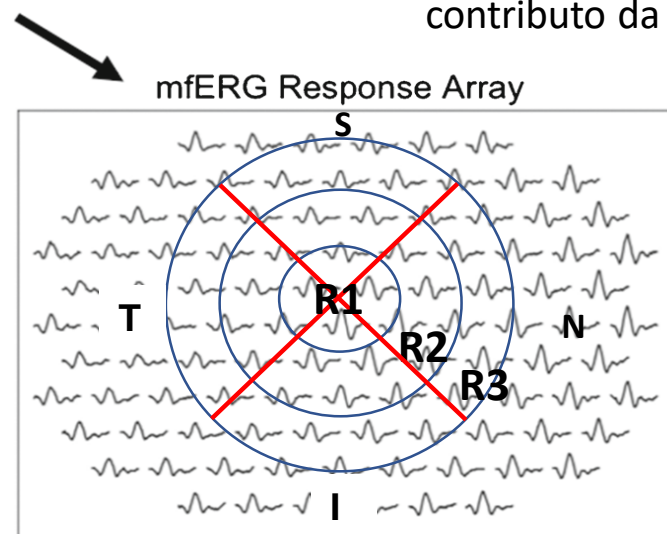
# Analisi funzionale neuroretina

Studi elettrofisiologici identificano il processo di neurodegenerazione retinica ancora prima del danno nervoso morfologico (Shimada Y, et al. Br J Ophthalmol. 2001).

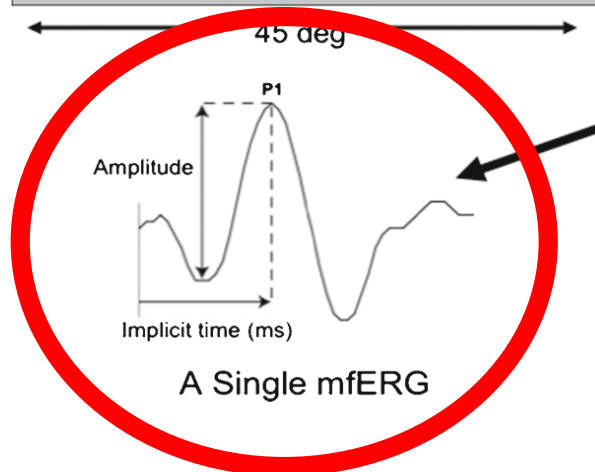


Stimolo multifocale: mappa topografica elettrofisiologica a 61 o 103 risposte focali

Generatori: attività delle cellule bipolari con piccolo contributo da parte dei fotorecettori



Analisi per anelli di stimolazione: misurati 3 anelli concentrici (Ring 1, R1= 0-2.5; R2= 2.5-5; R3= 5-10 gradi di eccentricità foveale), e diviso in 4 quadranti: superiore (S), nasale (N), inferiore (I), e temporale (T.)



# Valutazione funzionale nervosa periferica

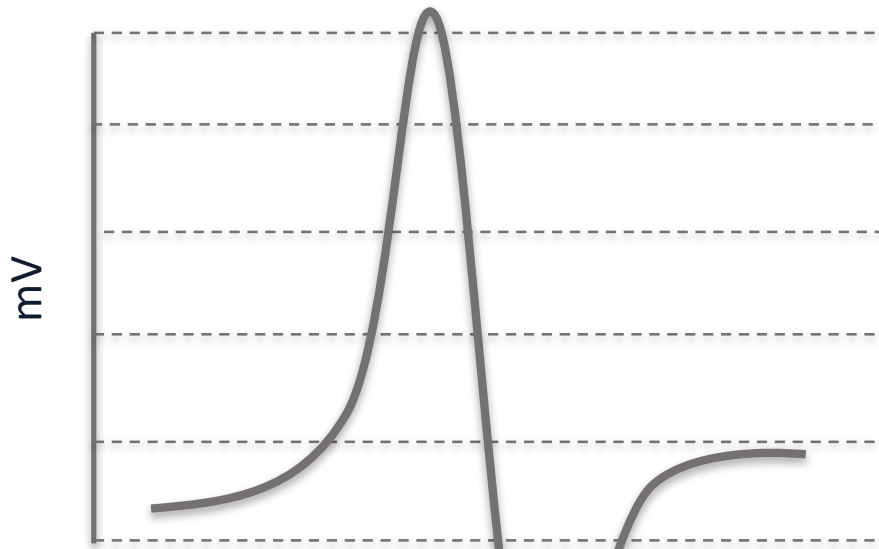
- ✓ Precoce coinvolgimento anche delle fibre nervose motorie (Francis GJ et al. J Neuropathol Exp Neurol 2011)
- ✓ Il rimodellamento funzionale delle unità motorie (Souayah N et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009)
- ✓ La neurodegenerazione a carico delle unità motorie simile alle anomalie che si verificano nelle fibre nervose sensoriali epidermiche (Toth C et al. Muscle Nerve 2014)
- ✓ La relazione tra alterazioni funzionali della neuroretina e fibre nervose motorie periferiche è attualmente sconosciuta.

## 2. Obiettivo

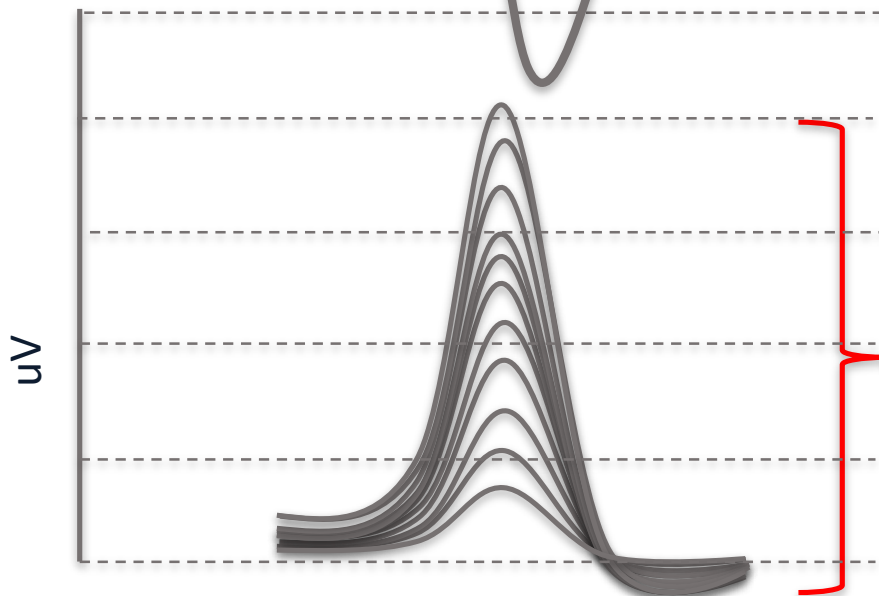
- In pazienti affetti da DM1 esenti da DR o con lieve retinopatia diabetica non proliferativa (NPDR), in assenza di neuropatia diabetica periferica
- ✓ Valutare la funzione neuroretinica mediante elettroretinogramma multifocale (*multifocal electroretinograms*, mfERG)
- ✓ Valutazione del coinvolgimento nervoso motorio periferico mediante *motor unit number estimates* (MUNE)
- ✓ Indagare la possibile relazione tra alterazioni funzionali della neuroretina e delle fibre nervose periferiche

# Motor unit number estimates (MUNE)

- ✓ Tecnica elettrofisiologica “gold standard” non invasiva che consente la misurazione diretta del numero di unità motorie funzionanti



Motor Action Potential Maximal  
(cMAP) Area  
(mV/msec)



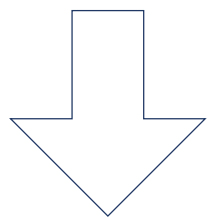
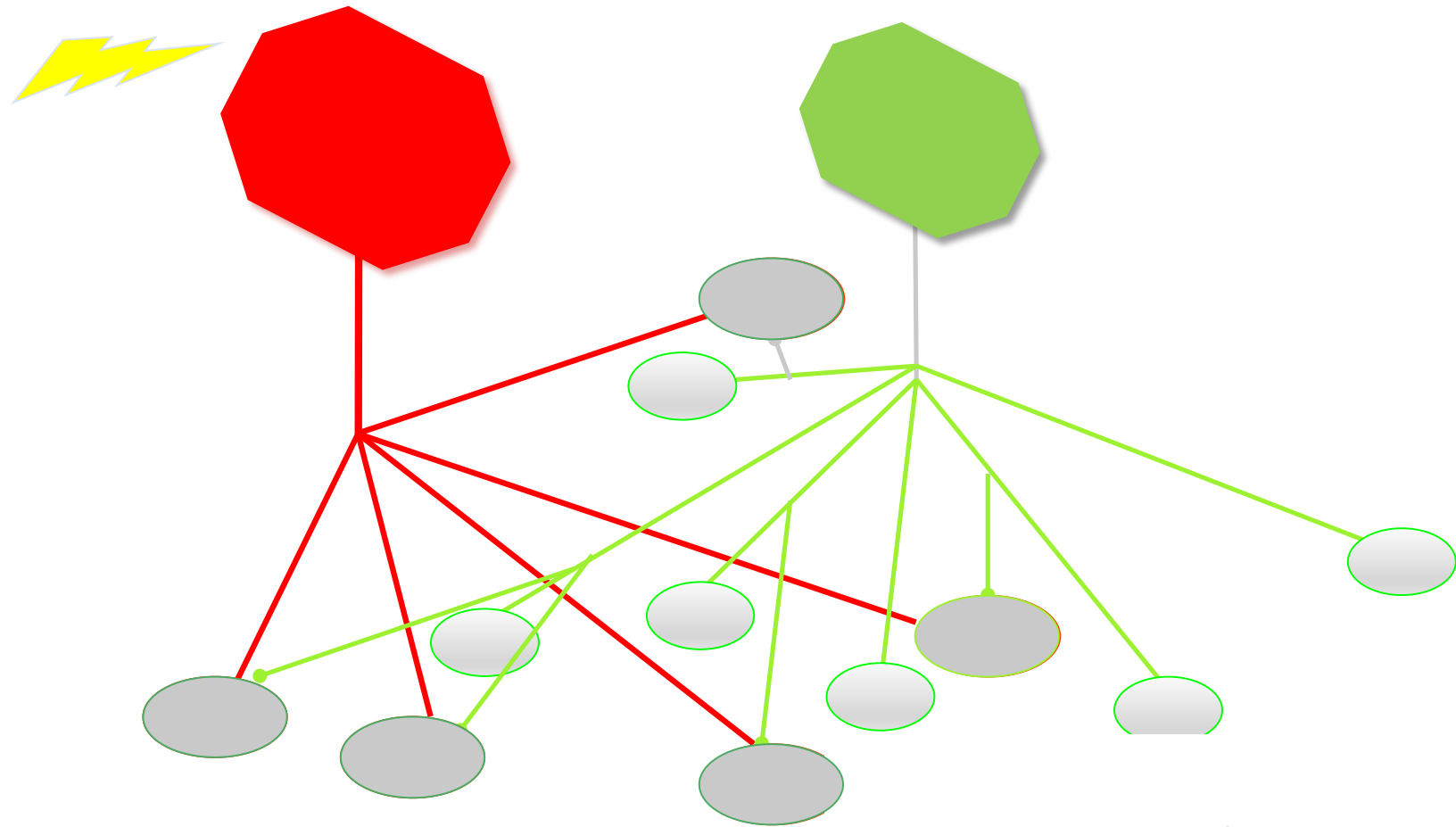
Singol Motor Unit Potential  
(SMUP) Area  
(uV/msec)

————— =

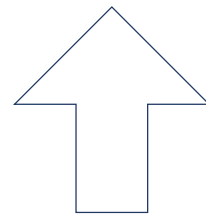
**Motor Unit  
Number Estimation  
(MUNE)**



# ALTERAZIONI DELLE UNITA' MOTORIE E DANNO NEUROGENO



**Motor Unit Number  
Estimation  
(MUNE)**

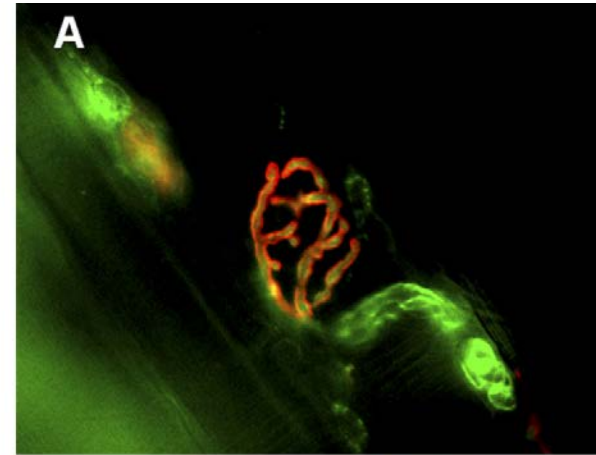


**Singol Motor Unit  
Potential area  
(SMUP area)**

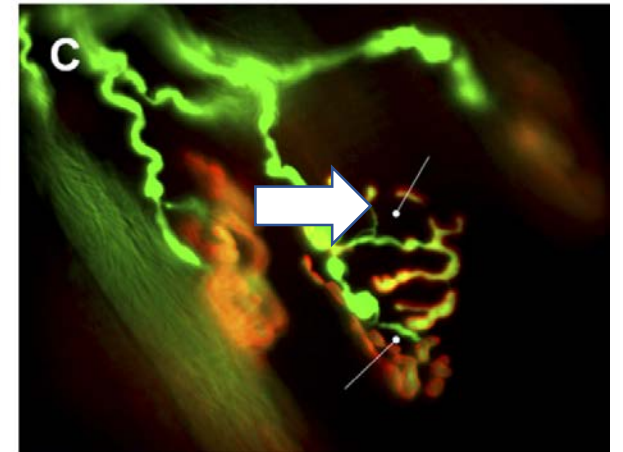
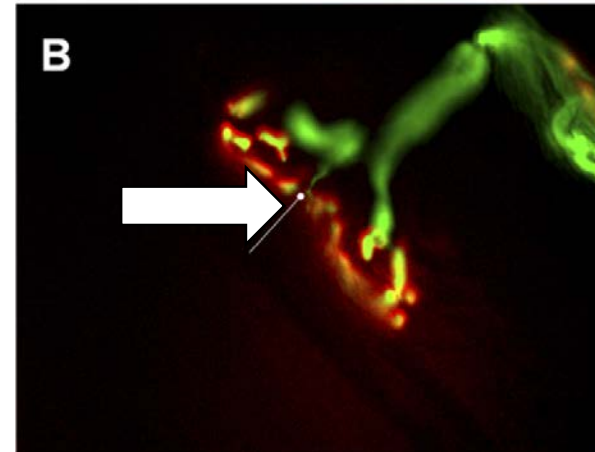
# Rimodellamento dell'unità motoria nella neuropatia diabetica periferica precoce

Terminazioni nervose (**verde**)  
Recettori acetilcolina (**rosso**)

Controlli (A)



Topi diabetici (B,C):  
aumento della dimensione media delle unità motore: germogli di fibre nervose motorie terminali (freccia) sembrano re-innervare gruppi di fibre muscolari arricchite in recettori per Ach



In una fase precoce, avviene una rigenerazione di fibre nervose motorie che re-innervano gruppi di fibre muscolari che hanno perso la loro innervazione originale.

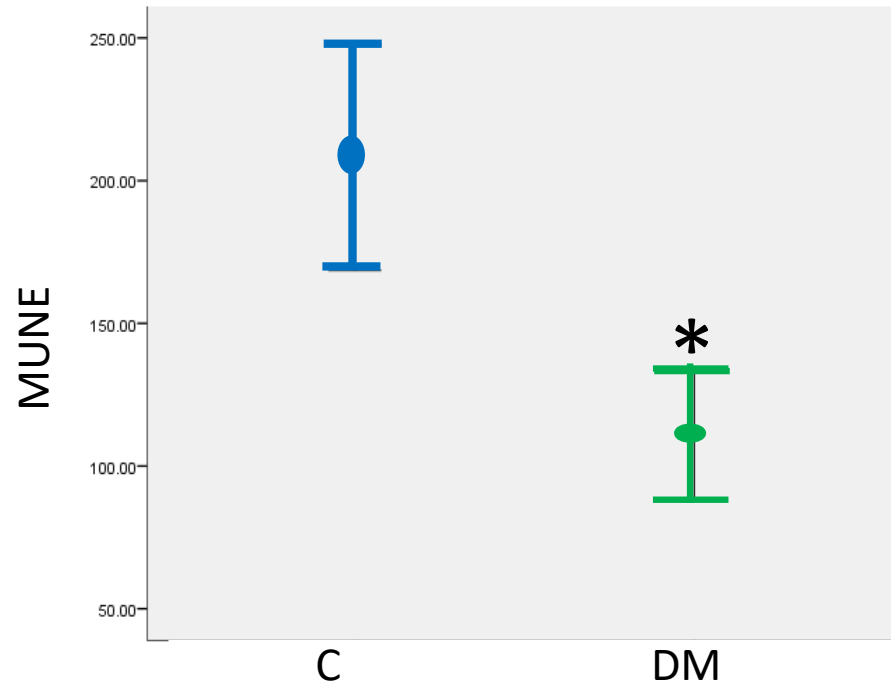
Tale processo compensatorio può ridurre il numero di fibre muscolari denervate e attenuare il declino dell'ampiezza del pdA muscolare composito (CMAP).

# Valutazione neurologica ENG

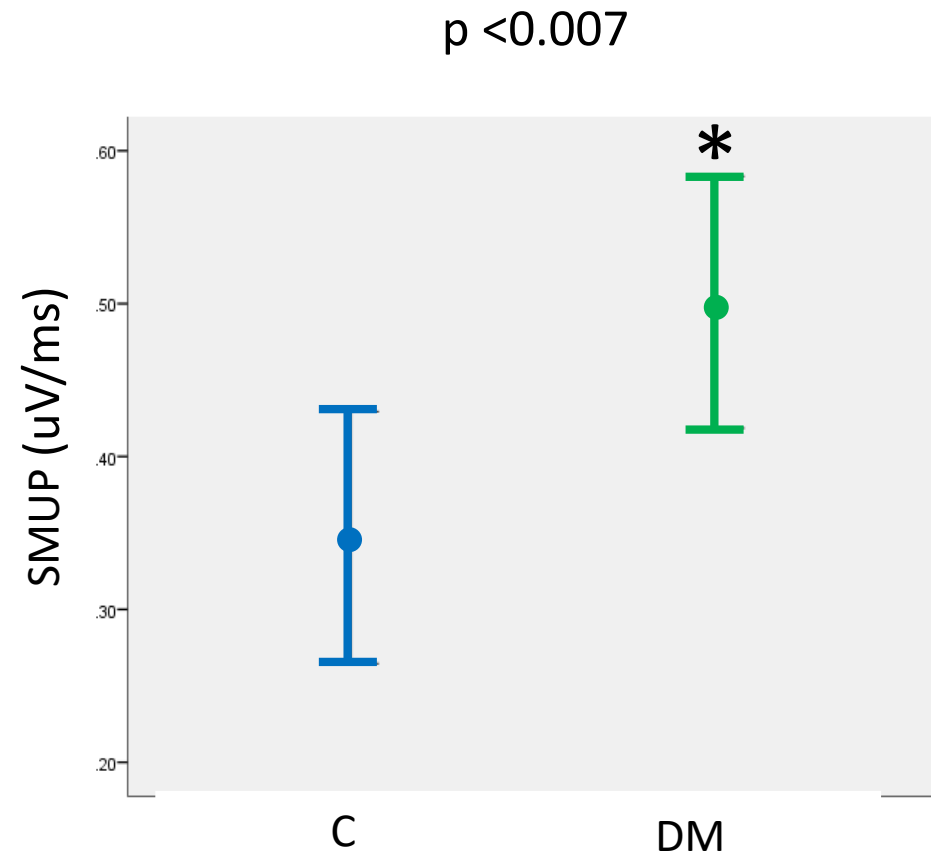
Conduzione nervosa sensitivo-motoria	DM1(n=19) mean (SD)
n. peroneo cMAP latenza (ms)	3.8(0.3)
n. peroneo cMAP ampiezza (mV)	6.3(2.0)
n. peroneo CV (m/s)	47.8(4.3)
n. tibiale cMAP latenza (ms)	3.2(0.4)
n. tibiale cMAP ampiezza (mV)	12.7(4.2)
n. tibiale CV (m/s)	48.0(4.1)
n. surale latenza (ms)	2.2(0.4)
n. surale ampiezza (mV)	14.2(6.2)
n. surale CV (m/s)	56.8(6.7)

# Resultati

MUNE: analisi delle unità motorie (abduktore dell'alluce)

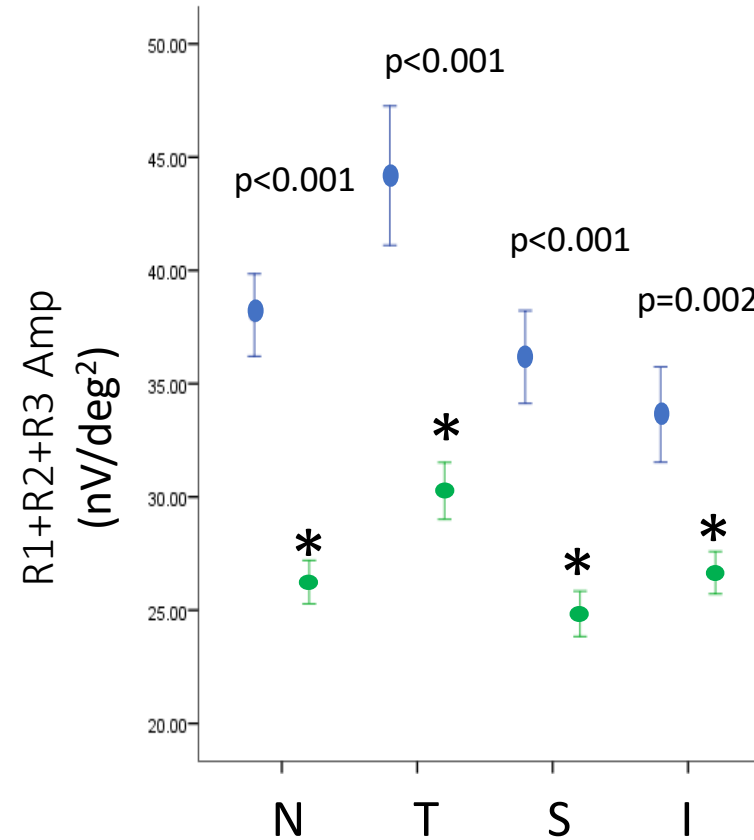
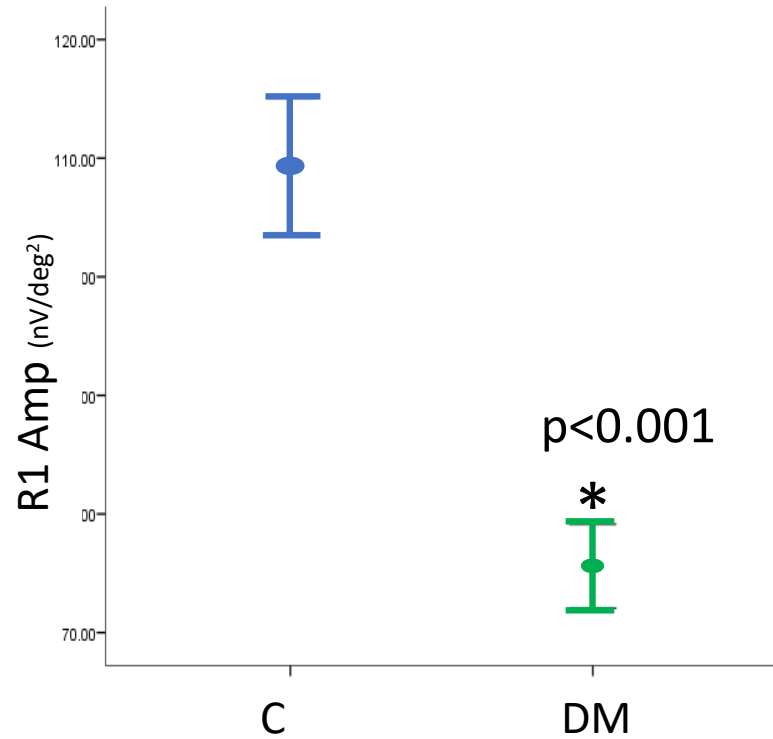


$p < 0.0001$

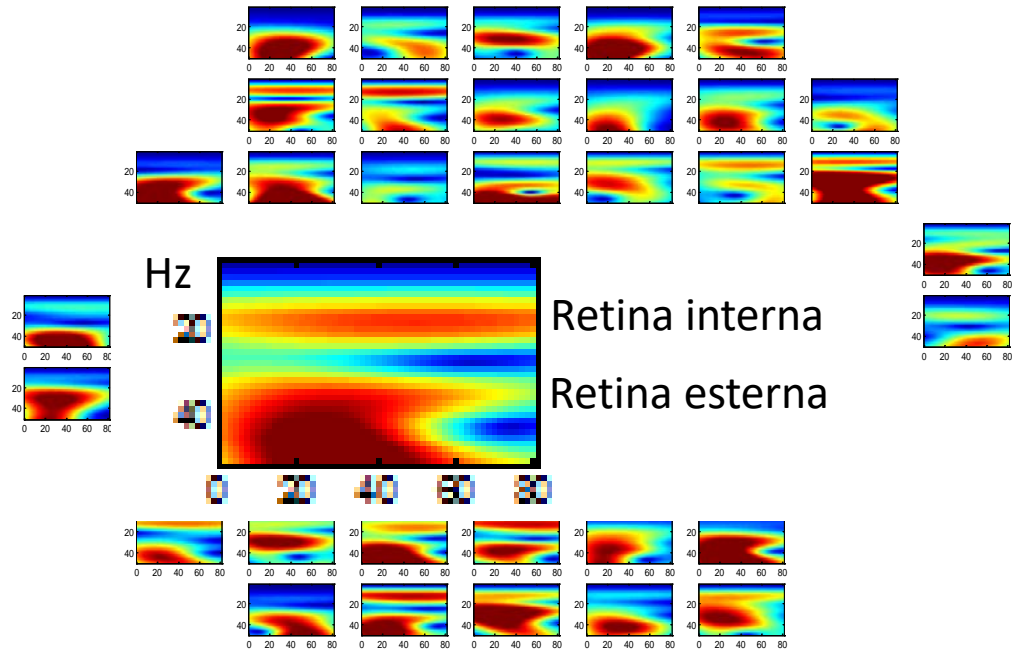


# Risultati

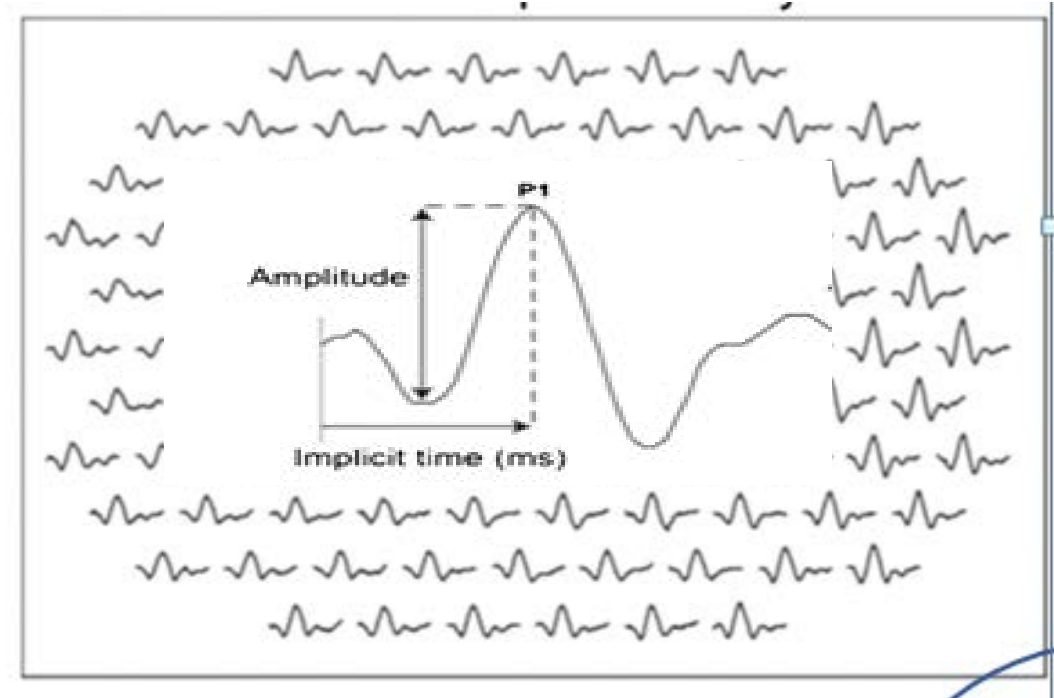
## Mf-ERG: analisi funzionale neuroretina



# Analisi spettrale (tempo/frequenza) dell'attività elettrica mfERG



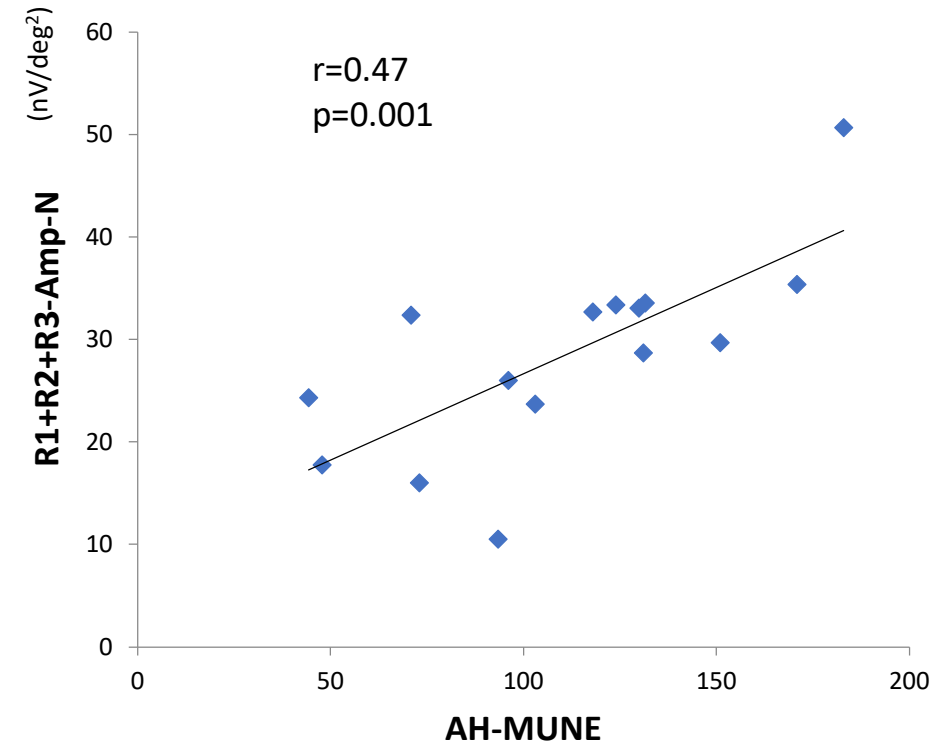
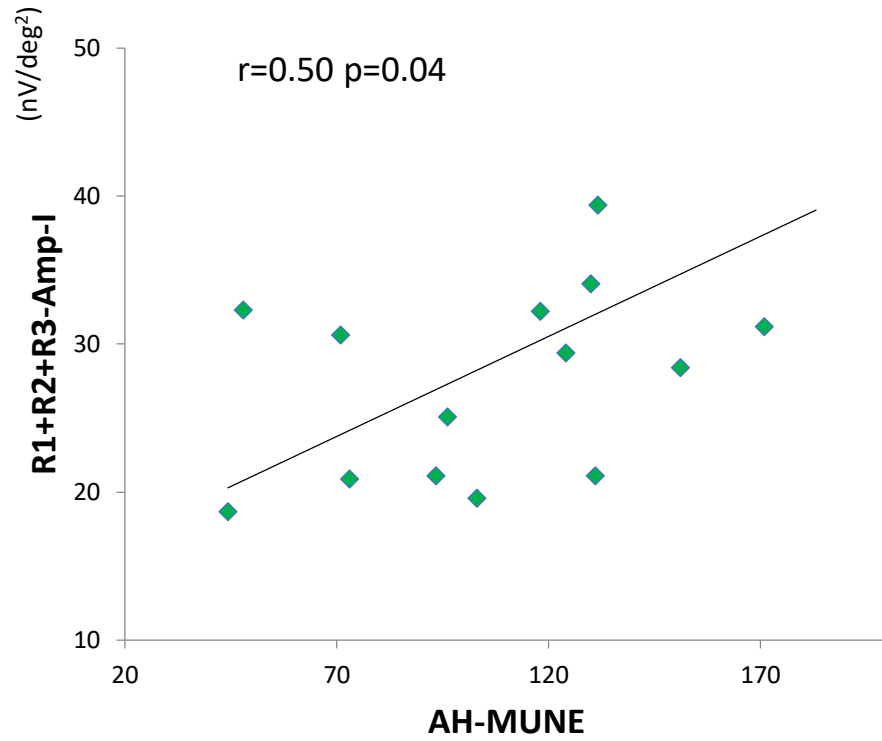
Controllo



NoDR

# ANALISI DI CORRELAZIONE

## MUNE-mfERG



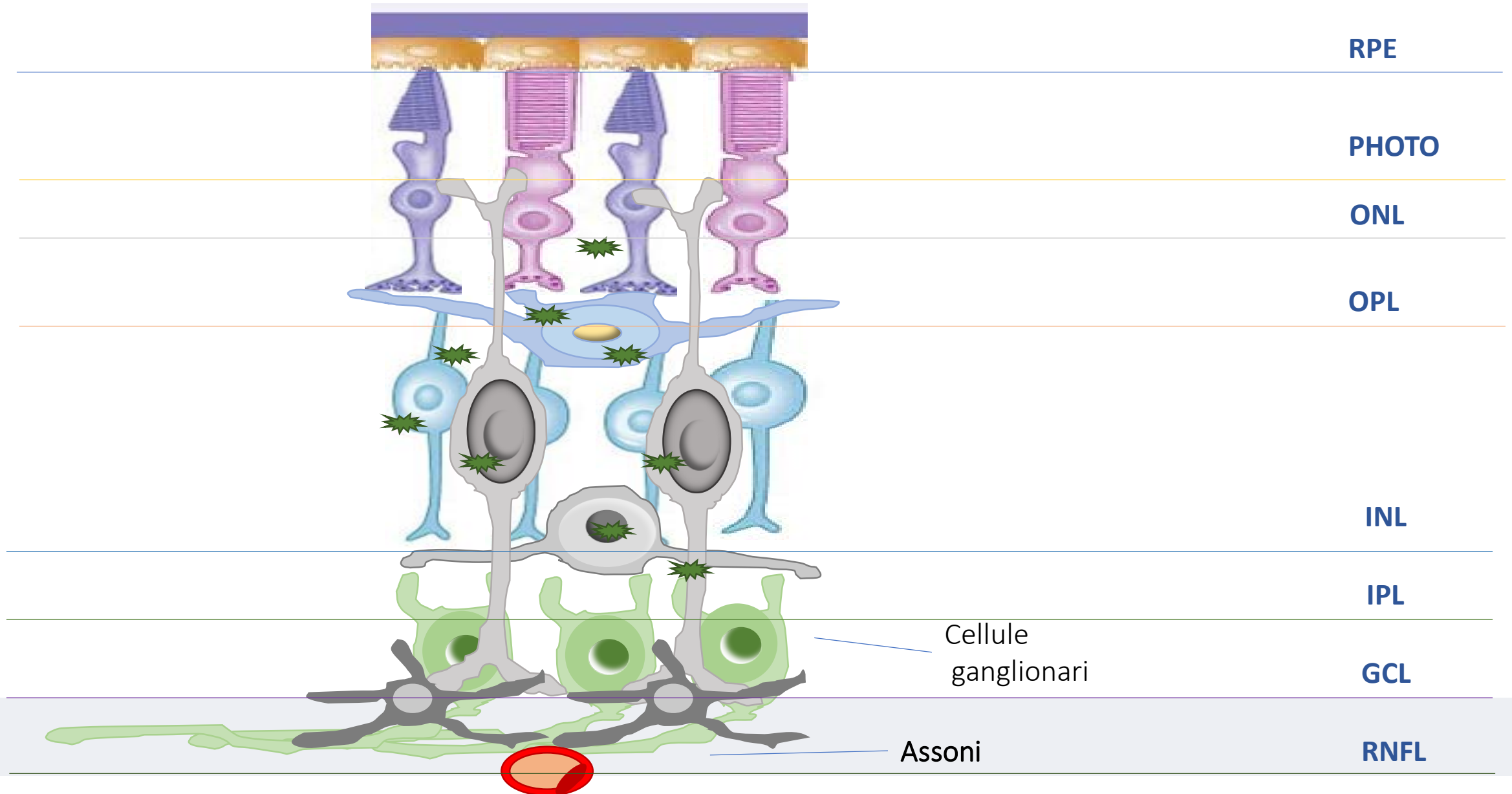


# CONCLUSIONI

- ✓ Alterazioni precoci di neurodegenerazione retinica sono già presenti in pazienti affetti da DM1, esenti da RD e neuropatia diabetica periferica
- ✓ La variabilità glicemica, e non il carico glicemico globale, si associa ad un danno strutturale della neuroretina in soggetti con DM1
- ✓ MUNE permette una valutazione quantitativa di anomalie precoci dell'unità motoria non evidenziate né clinicamente né attraverso gli studi elettrodiagnostici tradizionali
- ✓ Esiste una relazione tra alterata funzione della neuroretina e degenerazione nervosa periferica
- ✓ **La neuroretina rappresenta una finestra di osservazione di danno neuropatico precoce nel diabete.**

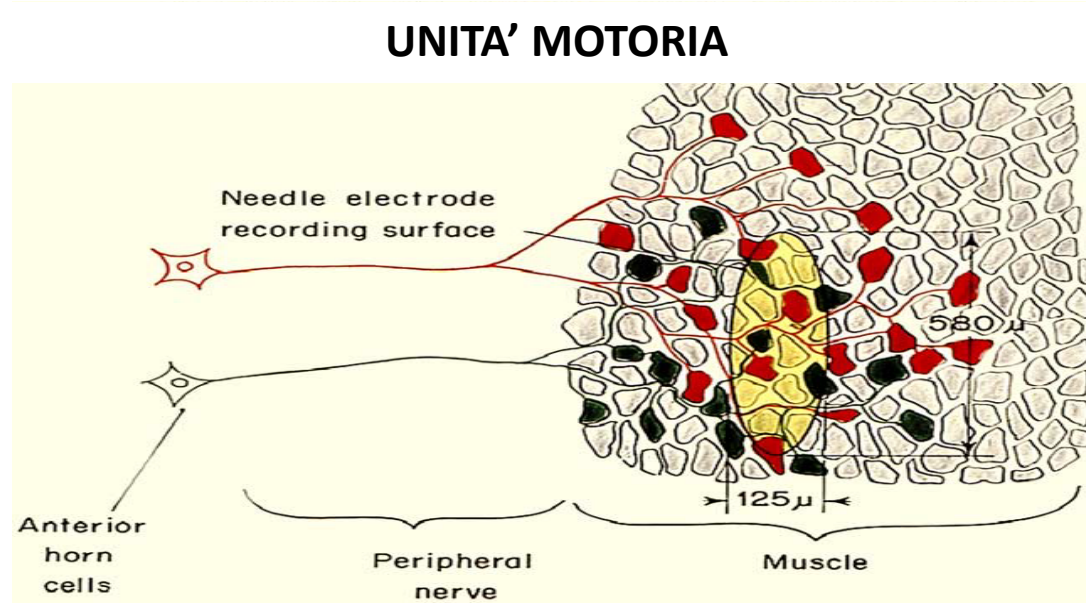


# Strati retina



Retinal Nerve Fiber Layer

# Metodi: Motor unit number estimates (MUNE)



- ✓ Tecnica elettrofisiologica e non invasiva che studia la funzionalità delle fibre nervose motorie e la loro innervazione sulle fibre muscolari

MUNE= maximal CMAP area/SMUP area

(ampiezza del pdA muscolare composto (CMAP mVms); ampiezza media dei singoli potenziali di un'unità motoria (SMUP uVms))

- ✓ Incremental MUNE
- ✓ Multiple-point stimulation MUNE
- ✓ Spike triggered averaging, decomposition MUNE
- ✓ Statistical MUNE

# Soggetti

- ✓ 37 pazienti affetti da diabete tipo 1 esenti da DR (noDR) o con DR non proliferativa di grado lieve (NPDR) trattati con infusione sottocutanea continua di insulina o con terapia insulinica basal bolus.
- ✓ 13 soggetti sani comparabili per età e sesso, esenti da patologie oculari o malattie sistemiche croniche.

## **Criteri di esclusione:**

- ✓ errore di rifrazione sferica  $>\pm 6$  diottrie,; astigmatismo (cyl)  $>\pm 3$  diottrie; patologie retiniche attive o pregresse; diagnosi di glaucoma o ipertensione oculare (pressione intraoculare  $>22$  mmHg); opacità del mezzo ottico che possa influenzare i test funzionali o morfologici retinici; storia di chirurgia oculare;
- ✓ Presenza di neuropatia periferica, neuropatia autonoma
- ✓ Microalbuminuria
- ✓ HbA1c  $>9.5\%$

# Caratteristiche controlli-diabetici

	Controlli (n=13)	DM (n=37)	p-value
Età (anni)	35.8 (6.1)	41.4 (10.5)	p=0.099
sesso (M/F)	5/8	19/18	p=0.424
Durata di malattia (anni)	-	19.8(11.6)	-
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.6(2.0)	25.1(3.4)	<b>p=0.022</b>
Glicemia (mmol/l)	4.8(0.6)	8.5(1.8)	<b>p&lt;0.0001</b>
HbA1c (%)	-	7.92(1.06)	-
(mmol/mol)		61.9(11.0)	
Tot col (mmol/l)	4.0(0.6)	4.5(1.2)	p=0.066
HDL col (mmol/l)	1.7(0.1)	1.6(0.3)	p=0.776
LDL col (mmol/l)	2.0(0.6)	2.5(0.9)	p=0.039
Trigl (mmol/l)	0.81(0.06)	0.89 (0.43)	p=0.272

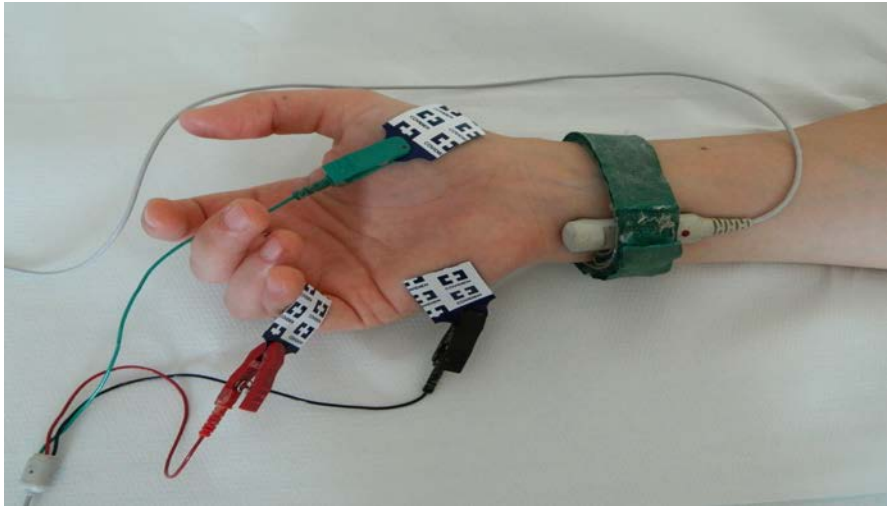
# Caratteristiche noDR-NPDR

	noDR n=19	NPDR n=18	p-value
Sesso (M/F)	9/10	10/8	p=0.618
Età (anni)	38.2 (SD=10.9)	44.9 (SD=9.1)	<b>p=0.049</b>
Durata malattia (anni)	15.8 (SD=10.4)	22.4 (SD=10.3)	<b>p=0.030</b>
Glicemia (mmol/l)	8.2 (SD=1.6)	8.8 (SD=2.0)	p=0.258
HbA1c (%) (mmol/mol)	7.77 (SD=1.01) 61.33 (SD=11.07)	8.08 (SD=1.11) 64.79(SD=12.17)	p=0.779
Tot col (mmol/l)	4.5 (SD=1.1)	4.6(SD=1.3)	p=0.399
HDL col (mmol/l)	1.8 (SD=0.3)	1.5 (SD=0.3)	<b>p=0.001</b>
LDL col (mmol/l)	2.4(SD=0.9)	2.6 (1.0)	p=0.178
Trigl (mmol/l)	0.8 (SD=0.3)	1.0 (SD=0.5)	p=0.07
Microalb/creat (mg/gr)	7.1(SD=6.3)	5.8 (SD=2.7)	p=0.679
PAS (mmHg)	122.4 (SD=18.5)	122.2(31.5)	p=0.986
PAD (mmHg)	74.6 (SD=7.7)	75.5(6.7)	p=0.987

# MUNE

## METODO INCREMENTALE

CMAP  
massimale



SMUP area

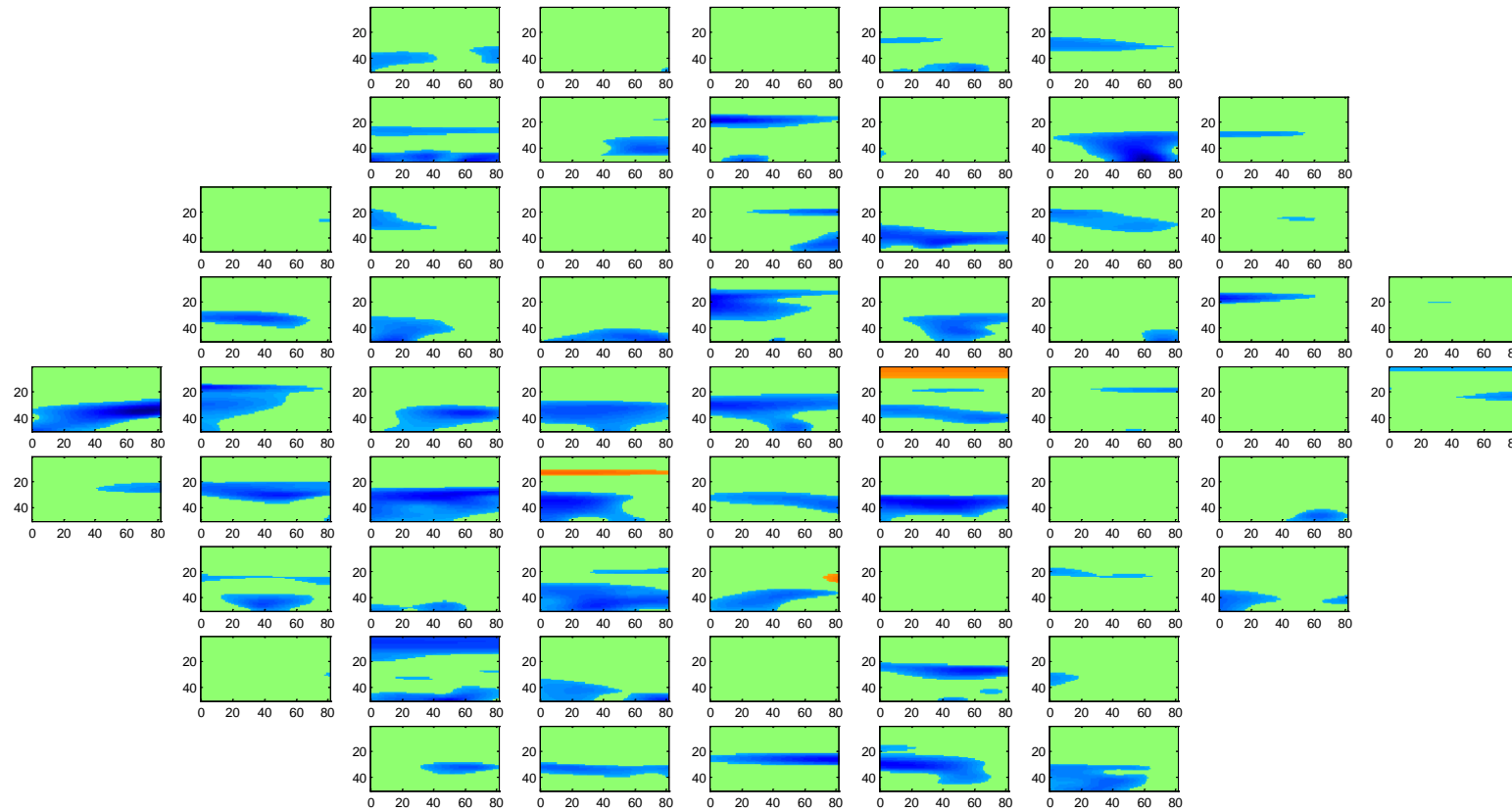
- ✓ Incremental MUNE
- ✓ Multiple-point stimulation MUNE
- ✓ Spike triggered averaging, decomposition MUNE
- ✓ Statistical MUNE



# Caratteristiche generali

	Pazienti diabetici (n=19) mean (SD)
Età (anni)	39 (12)
sesto (M/F)	6(13)
Durata di malattia (anni)	17(12)
no DR/DR	13/6
CV (cm)	84(12)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24(3.7)
Col tot (mg/dl)	158(23)
Col HDL (mg/dl)	56(8.9)
Trigl (mg/dl)	62(26)
Glicemia (mmol/l)	8.7(1.5)
HbA1c (%) (mmol/mol)	7.6(0.9)
Microalb/creat (mg/gr)	3.2(3.1)

# Analisi spettrale (tempo/frequenza) dell'attività elettrica mfERG



p=NS

p<0.05

Controllo vs noDR