



Marco Maria Baron-UOC di Anatomia Patologica
HICC Humanitas Istituto Clinico Catanese
Direttore Dott. Antonio Rizzo
marco.baron@ccocatania.it

Sviluppi della patologia digitale: Algoritmi di intelligenza artificiale per il rilevamento automatizzato del cancro

L'istopatologia è una disciplina diagnostica fondata sull'interpretazione visiva della biologia cellulare catturata in immagini.

L'avvento delle immagini digitalizzate nella patologia ha spinto questo campo tradizionale in quella che oggi viene definita patologia digitale. Immagini digitali possono essere condivisi in tempo reale, colmando così la distanza fisica (telepatologia) tra ospedali per secondo parere e utilizzabili per valutazioni quantitative e qualitative su parametri diagnostici e prognostici.

I recenti progressi tecnologici e normativi nell'imaging dell'intero vetrino hanno accelerato l'adozione dell'imaging digitale in patologia.

I progressi tecnici nella velocità di scansione e la riduzione dei costi hanno reso l'immagine dell'intero vetrino (WSI) lo standard per la futura digital pathology su larga scala ad alta produttività. La scansione di tutto il tessuto è un prerequisito per un flusso di lavoro di istopatologia digitale per sostituire completamente il microscopio ottico, cioè per la diagnosi istopatologica primaria.

La WSI richiede apparecchiature e infrastrutture IT dedicate (scanner/server/larghezza di banda/stazioni di lavoro) per ridurre al minimo i tempi di fermo del sistema.

WSI consente l'analisi, il taglio e la colorazione dei tessuti presso il reparto di anatomia patologica, seguiti dalla scansione immediata dei vetrini, a cui i patologi referenti possono accedere in seguito visualizzando i dati in loco o in remoto.

Gli scanner e il software associato di numerosi produttori sono attualmente etichettati CE-IVD come quelli di Philips, Roche/Ventana, Leica/Aperio, Hamamatsu, 3DHISTECH.

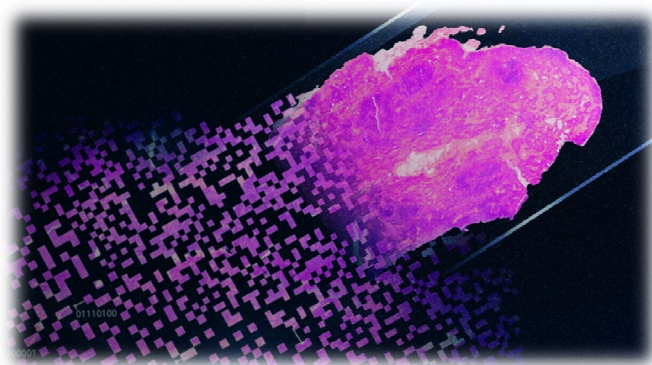
La WSI è un trampolino di lancio ideale per la patologia computazionale (CPATH) ovvero per una serie di metodi che mirano ad aggiungere valore diagnostico mediante l'analisi assistita da IT dei dati dell'immagine.

Copre un'ampia gamma di applicazioni che comprendono, funzioni di miglioramento dell'immagine, misurazione e quantificazione, evidenziazione/preselezione grafica mediante mappatura termica e, infine, valutazioni completamente automatizzate.

Diverse pubblicazioni hanno dimostrato la fattibilità dello sviluppo di algoritmi basati sull'intelligenza artificiale "AI" per analizzare le immagini istopatologiche e

la stragrande maggioranza delle attuali applicazioni si riferisce all'analisi delle immagini per migliorare l'accuratezza e la riproducibilità delle variabili morfologiche valutate convenzionalmente dal patologo attraverso la stima visiva o il conteggio manuale.

Gli strumenti che utilizzano l'IA distinguono i sottotipi come i carcinomi duttali e lobulari, classificando il DCIS (carcinoma duttale in situ) e identificando i tumori rari, invasione angiolinfatica, microcalcificazioni.



Misurano la distanza dai margini di resezione, la dimensione delle metastasi linfonodali nel carcinoma mammario o la profondità dell'invasione utilizzata per la stadiazione e la prognosi e molto altro.

Ulteriori applicazioni ausiliarie, per lo più basate sull'intelligenza artificiale, sono già state integrate in piattaforme disponibili in commercio, quali la quantificazione dell'indice mitotico, l'indice proliferativo mediante valutazione immunohistochimica di Ki-67 per determinare il tasso di proliferazione di un tumore, la positività del recettore nucleare degli estrogeni e del progesterone nel cancro al seno, nonché la valutazione immunohistochimica di HER2. Queste applicazioni sono state incluse in modo variabile nei visualizzatori DP per un facile utilizzo. Inoltre, è stata sviluppata un'applicazione per stimare il contenuto residuo di cellule tumorali dopo la chemioterapia.

È possibile visualizzare più immagini affiancate e interconnesse per essere spostate in modo sincrono o sovrapposte, facilitando la correlazione spaziale dei diversi colori.

Un primo esempio di un'applicazione "AI" di routine incorporata nel flusso di lavoro è il sistema Galen TM di seconda lettura (Ibex Medical Analytics, Tel Aviv, Israele).

Il software può essere configurato per analizzare il referto istopatologico pronto, nonché le immagini delle biopsie mammarie o prostatiche al fine di avvisare automaticamente il patologo delle discrepanze della valutazione tra patologo e intelligenza artificiale prima della validazione del referto definitiva.

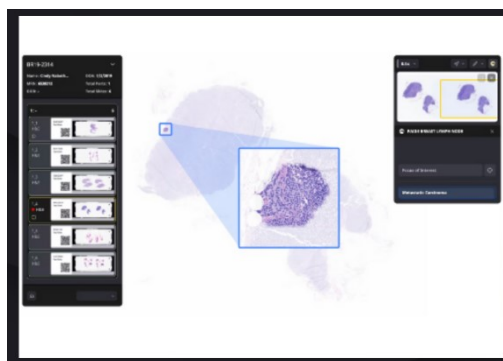
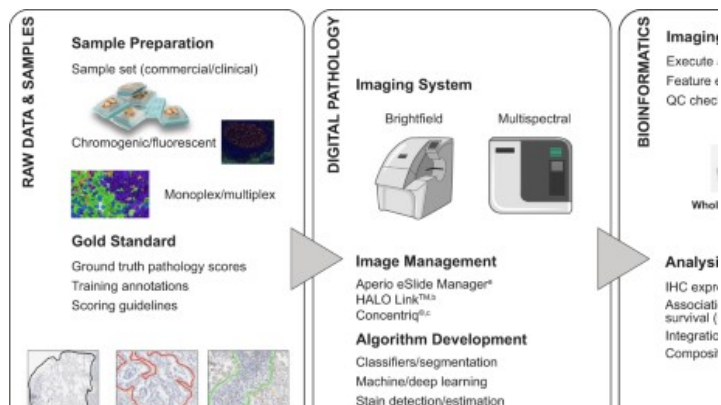
Galen consente inoltre di preordinare automaticamente il pannello di immunohistochimica mammaria (IHC) e altri test che possono aiutare a ridurre i tempi di risposta alla diagnosi dei casi di cancro, massimizzando i guadagni di efficienza per i laboratori e consentendo ai pazienti di iniziare il trattamento prima.

È stato anche proposto il prescreening dell'IA per il cancro per valutare i casi da segnalare e ottimizzare la distribuzione del carico di lavoro. In futuro, il prescreening automatizzato potrebbe persino sostituire la valutazione umana nei casi negativi al cancro.

Il feedback umano utile per lo sviluppo dell'IA può anche essere integrato nel flusso di lavoro della PS.

È stato dimostrato che le applicazioni di intelligenza artificiale traggono vantaggio dall'input umano per migliorare le prestazioni di classificazione e ridurre il numero di diapositive digitali necessarie per la formazione, un concetto chiamato "Human-in-the loop". Lutnick et al.

L'algoritmo è stato addestrato attraverso ripetuti cicli di correzione dal feedback umano e classificazioni AI sempre più accurate. Ciò ha comportato un notevole miglioramento dell'efficienza nell'addestramento dell'algoritmo, in modo che fosse necessario solo un piccolo numero di WSI inizialmente annotate (<5 immagini annotate). L'algoritmo è stato quindi in grado di identificare glomeruli renali intatti e atrofici e aree di atrofia tubulare nelle biopsie renali. Pertanto, l'interazione umana potrebbe essere incorporata nella formazione dell'algoritmo AI attraverso annotazioni grafiche su un'interfaccia DP di routine.



I vetrini colorati con H&E vengono scansionati utilizzando uno con ingrandimento 40× (risoluzione di 0,25 μm / pixel) L'algoritmo descritto, la cui tecnologia di base si basa su reti neurali convoluzionali (CNN) multistrato progettate specificamente per attività di classificazione delle immagini.

Il sistema analizza l'intera immagine di un vetrino in tre fasi consecutive:

- Rilevamento dei tessuti
- Classificazione
- Analisi a livello di vetrino

In breve, il primo passaggio utilizza un classificatore Gradient Boosting, addestrato su migliaia di patch di immagini, per distinguere tra le aree del tessuto e dello sfondo all'interno della diapositiva. Successivamente, un insieme di tre modelli basati sulla CNN viene eseguito su tutte le aree dei tessuti.

Le fase di rilevazione si basa su modelli che sono stati addestrati su 1357480 patch di immagini etichettate che sono state estratte da annotazioni manuali su 549 immagini, selezionate tra più di 65 000 immagini nel archiviare sulla base di vari criteri morfologici precedentemente definite (es.il grado istologico).

Le annotazioni sono realizzate da patologi senior.

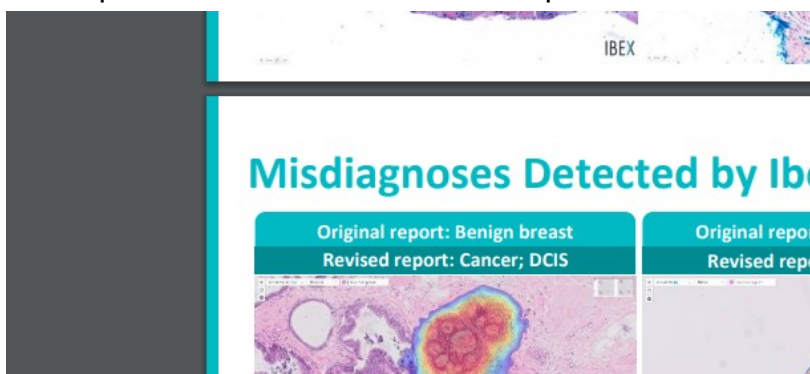
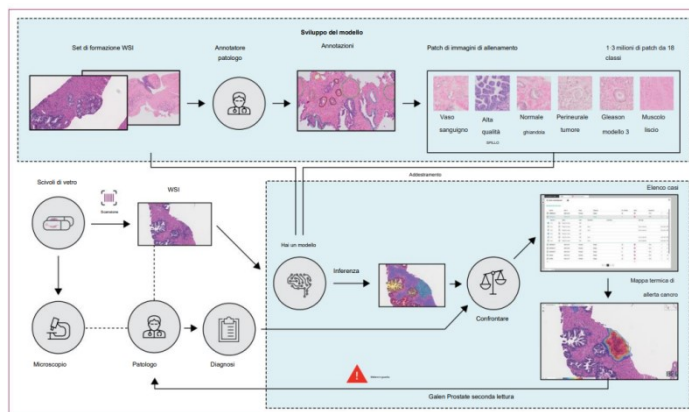
La fase di classificazione fornisce previsioni (probabilità) per ogni area dell'immagine digitale (WSI) appartenente a ciascuna delle classi predefinite, come il cancro, la ghiandola normale e l'infiammazione cronica. Infine, il terzo passaggio, l'analisi, combina le mappe termiche probabilistiche e calcola i punteggi a livello di (WSI) per gli endpoint scelti.

Per calibrare l'algoritmo per gli attributi dell'immagine dell'intera diapositiva specifici di UPMC (ad es. scanner e colorazione) e per verificare la validità tecnica dell'intera immagine del vetrino (ad es. formato e risoluzione del file) è necessario un set di calibrazione, che comprende varie parti, selezionate in base ai criteri utilizzati nelle precedenti immagini di addestramento, che sono state annotate manualmente da patologi senior.

A questo si è aggiunto un set di dati d'archivio separato di immagini di interi quadri che hanno incluso 100 casi consecutivi di casi precedentemente ricevuti e firmati.

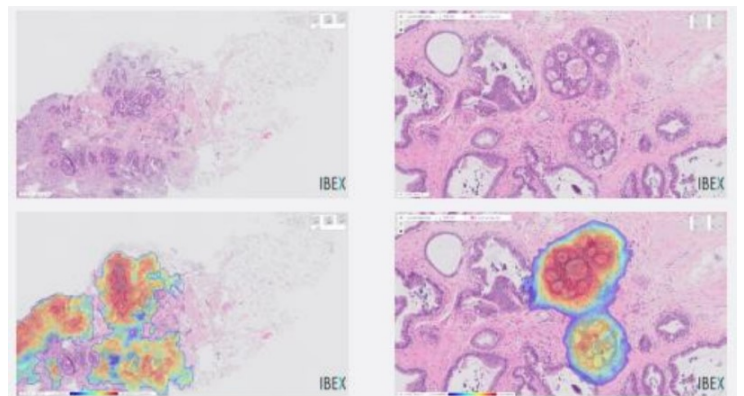
Tutte le immagini sono colorate con ematossilina ed eosina e visualizzate con un ingrandimento di $0,6 \times$ (16,67 μm /pixel; pannello A) e $20 \times$ (0,50 μm /pixel; pannelli B-E).

Nel pannello A: esempio di percentuale di cancro riportata dai patologi rispetto ai calcoli eseguiti dall'algoritmo nel set di dati di convalida esterno. Con la mappa termica del cancro, si può valutare la probabilità che in quelle aree vi sia una lesione neoplastica maligna o meno (es. il blu mostra una bassa probabilità e il rosso mostra un'alta probabilità) o valutare il "grado" di differenziazione della neoplasia (es. con una mappa di calore i vari colori potrebbero identificare i gradi morfologici di Elston del carcinoma mammario).



In conclusione, gli algoritmi in grado di eseguire queste operazioni offrono ai laboratori l'opportunità di armonizzare la pratica clinica tra i patologi ed agevolare l'implementazione di strumenti basati sull'intelligenza artificiale per il lavoro clinico tramite:

- La valutazione istologica automatizzata di diversi parametri morfologici: dal grading della neoplasia alla determinazione quantitativa e qualitative della fibrosi (es. valutazione stroma mixoide del ca. mammella, compresa la valutazione del rapporto tumore/stroma).
- Automazione della conta mitotica nel carcinoma mammario sull'intero vetrino, con increment della precisione ed efficienza della valutazione, fondamentale per il grading della neoplasia.
- Quantificazione dell'infiltrato immunitario, in considerazione che infiltrati immunitari linfocitari sono stati ampiamente studiati come biomarcatori promettenti della risposta ai farmaci e della prognosi nel cancro della mammella, cervicale/uterino, della prostata, del polmone, del colon, del pancreas, dello stomaco, della vescica, del retto e della pelle.
- Valutazione invasione angio-linfatica con l'ausilio anche dell'immunoistochimica (CD31, D2-40) e della quota vascolare microambientale.
- Determinazione automatizzata nel carcinoma mammario dei biomarcatori prognostici e predittivi, valutati attraverso colorazioni IHC :
 - ER, PR e HER2, nonché l'analisi automatizzata dei diversi gradi di espressione di HER2 (0,1+,2+,3+) nel carcinoma mammario.
 - Determinazione dell'indice di proliferazione cellulare Ki67, con colorazione IHC, che offre una panoramica del comportamento biologico dei tumori ed è importante nella classificazione/sottotipizzazione di alcune neoplasie tra cui tumori cerebrali, carcinoma mammario, alcuni linfomi non Hodgkin e tumori neuroendocrini.
 - La valutazione dell'espressione di PD-L1, fondamentale per l'idoneità di alcuni pazienti oncologici all'immunoterapia.



L'applicazione di questi strumenti basati sull'intelligenza artificiale (AI) su immagini digitali di sezioni intere (WSI) di sezioni istopatologiche può fornire una maggiore accuratezza diagnostica, riducendo la variabilità tra gli osservatori e alleviando la pressione sui patologi che devono far fronte a carichi di lavoro crescenti.

Produrrà risultati più rapidi e dati più accurati e riproducibili. La convalida di tutte le componenti del flusso di lavoro (colorazione, digitalizzazione e analisi dell'algoritmo) è necessaria e cruciale per la corretta implementazione della IA dei biomarcatori tissutali per algoritmi sia interni che disponibili in commercio.

L'applicazione di sistemi basati sull'intelligenza artificiale (AI) può favorire l'interazione fra sistemi diagnostici, ad es. L'Istopatologia e la Diagnostica per Immagini (TC, RMN) nella valutazione dell'efficienza delle terapie neoadiuvanti, paragonando in modo automatizzato le immagini digitali prodotte ed eventuali marcatori prognostici nelle fasi pre e post terapeutiche.