

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

FACOLTÀ DI INGEGNERIA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE



TESI DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA

ANALISI QUANTITATIVA CON
REGIONE DI RIFERIMENTO DI
IMMAGINI PET DI TRACCIANTE
[^{11}C]PIB

Relatore: Prof.ssa Alessandra Bertoldo

Correlatore: Ing. Denis Peruzzo

Laureando: Enrico Fietta

ANNO ACCADEMICO 2009-2010

Indice

1	Introduzione	1
2	Tracciante [11C]PIB e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer	3
2.1	Il morbo di Alzheimer	3
2.2	La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET)	7
2.3	Il tracciante [11C]PIB	11
3	Materiali e metodi	17
3.1	Dataset	17
3.2	Creazione maschera binaria	23
3.3	Correzione per i metaboliti	28
3.4	Logan livello voxel	29
3.5	Logan livello ROI	34
3.6	EBEGA	35
3.7	MVW-PCA	40
4	Risultati e confronti	45
4.1	Creazione maschera binaria	45
4.2	Correzione per i metaboliti	47
4.3	Logan livello voxel	56
4.4	Logan livello ROI	61
4.5	EBEGA	73
4.6	MVW-PCA	84

5	Discussione	91
6	Conclusioni	97
	Appendice	101
	Bibliografia	107
	Ringraziamenti	111

Elenco delle figure

2.1	Incremento annuo soggetti con demenza	4
2.2	Ipotesi progressione nel tempo della deposizione amiloide . . .	5
2.3	Tomografo PET	7
2.4	Emissione positrone e annichilazione	9
2.5	Anello coassiale con rivelatori PET	9
2.6	Tracciante, ritenzione	12
2.7	Modello PIB	13
2.8	Distribuzione tracciante 11C-PIB	15
2.9	Distribuzione tracciante 11C-PIB	16
2.10	Ritenzione del tracciante 11C-PIB	16
3.1	Dati PET soggetto 12	19
3.2	Concentrazione di tracciante nel plasma, non corretto per i metaboliti	20
3.3	Concentrazione di tracciante nel plasma, non corretto per i metaboliti	20
3.4	Frazione reale di tracciante, per un soggetto sano	21
3.5	Frazione reale di tracciante, per un soggetto malato	21
3.6	TAC nelle regioni, per un soggetto sano	22
3.7	TAC nelle regioni, per un soggetto malato	22
3.8	Dati PET soggetto 14	23
3.9	Dati PET soggetto 14	24
3.10	Dati PET soggetto 14	24
3.11	Maschera ricavata da valutazioni sulle connessioni 3D	25

3.12	Maschera da valutazione connessioni	26
3.13	Maschera con riempimento	27
3.14	Maschera con riempimento	27
3.15	Plasmatica originale e plasmatica corretta per i metaboliti . .	29
3.16	Logan GA	30
3.17	Logan GA con reference	33
3.18	MVW-PCA HC	42
3.19	MVW-PCA AD	42
3.20	Step algoritmo per individuare la reference region	44
3.21	Reference region confrontata con altre immagini	44
4.1	Esempi di maschera binaria	46
4.2	NHBTA018 - Andamento (pre-stima) curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti	48
4.3	NHBTA018 -Andamento curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti, con parametri da WNLS	49
4.4	NHBTA018 -Residui pesati	50
4.5	NHBTA018 -Curve concentrazione plasmatica	51
4.6	NHBTA39 - Andamento (pre-stima) curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti	52
4.7	NHBTA039 -Andamento curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti, con parametri da WNLS	53
4.8	NHBTA039 -Residui pesati	54
4.9	NHBTA039 -Curve concentrazione plasmatica	55
4.10	NHBTA005 (HC) - Vd stimato con Logan Graphical Analysis	57
4.11	NHBTA010 (HC) - Vd stimato con Logan Graphical Analysis	58
4.12	NHBTA009 (AD) - Vd stimato con Logan Graphical Analysis	59
4.13	NHBTA013 (AD) - Vd stimato con Logan Graphical Analysis	60
4.14	Grafici correlazione Vdind Vdpop	65
4.15	Grafici Vdind Vdpop di soggetti HC	66
4.16	Grafici Vdind Vdpop di soggetti AD	67
4.17	Grafici Vdind Vdpop, con SD	68

4.18	Distribuzione dei voxel nei cluster	74
4.19	Distribuzione dei cluster	75
4.20	Soggetto NHBTA010: TAC centroidi, TAC+SD, TAC-SD . . .	77
4.21	Soggetto NHBTA039: TAC centroidi, TAC+SD, TAC-SD . . .	78
4.22	NHBTA005 (HC) - Vd stimato con EBEGA	80
4.23	NHBTA010 (HC) - Vd stimato con EBEGA	81
4.24	NHBTA009 (HC) - Vd stimato con EBEGA	82
4.25	NHBTA013 (AD) - Vd stimato con EBEGA	83
4.26	NHBTA003 (HC) - PCA	85
4.27	NHBTA010 (HC) - PCA	85
4.28	PCA soggetti HC e AD	86
4.29	NHBTA020 (AD) - PCA	86
4.30	NHBTA012 (AD) - PCA	87
4.31	NHBTA012 (AD) - reference region	90
4.32	NHBTA012 (AD) - reference region confrontata con immagine sommata e con PC1	90

Elenco delle tabelle

3.1	Informazioni sul dataset soggetti	18
4.1	Analisi curva tracciante-metaboliti	56
4.2	Risultati PCA	88
4.3	PCA e tessuti, tutti i soggetti	89
4.4	PCA e tessuti, soggetti AD	89
4.5	PCA e tessuti, soggetti HC	89

Sommario

L'analisi quantitativa di immagini PET di tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ ha ottenuto importanti parametri fisiologici, che hanno consentito di studiare la distribuzione e il deposito di placche di β amiloide, le quali si accumulano patologicamente nel morbo di Alzheimer.

In questo lavoro sono stati utilizzati e posti a confronto diversi metodi e approcci, allo scopo di valutare le tecniche migliori per la quantificazione di immagini PET. Le analisi permettono di discriminare i soggetti sani da quelli malati, trovando le regioni cerebrali colpite dalla malattia. Le analisi sono condotte con il metodo Logan GA (graphical analysis) e con il metodo EBEGA (Empirical Bayesian Estimation in Graphical Analysis): il primo è un metodo tradizionale, il secondo utilizza un nuovo framework Bayesiano che migliora le stime e fornisce immagini parametriche di qualità.

È stato sperimentato un approccio che utilizza una concentrazione plasmatica di popolazione, per valutare se è possibile applicare il Logan a livello ROI (region of interest) senza effettuare misure invasive dell'arteriale.

Alle immagini PET di tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ è stata applicata la MVW-PCA (Masked Volumewise Principal-Component Analysis), una tecnica utile per individuare in modo automatico la reference region.

Metodi: Le analisi sono compiute su un dataset di 22 soggetti: 11 sani e 11 malati. Per ognuno di questi è stata eseguita la correzione della plasmatica per i metaboliti. È stato applicato Logan a livello ROI per ogni regione, utilizzando sia la concentrazione plasmatica di tracciante di popolazione, sia quella ricavata specificatamente per ogni soggetto.

Sono state effettuate le stime del volume di distribuzione (V_d) del tracciante a livello voxel, con il metodo Logan e il metodo EBEGA. Per velocizzare le analisi e studiare solamente l'area cerebrale è stata creata una maschera binaria. Il metodo MVW-PCA aumenta il contrasto delle immagini PET e distingue per ogni slice i vari tessuti cerebrali. Una volta ricavata la componente principale PC2, è stato applicato l'algoritmo per l'individuazione automatica della reference region. **Risultati:** La maschera binaria è risultata utile alle analisi a livello voxel. Tra i modelli matematici utilizzati nella correzione della plasmatica per i metaboliti, è da preferire quello a due esponenziali. La tecnica Logan a livello ROI con curva plasmatica da popolazione, non ha trovato differenze significative nella stima dei V_d rispetto all'approccio individuale. Il metodo EBEGA migliora le stime dei parametri e fornisce immagini parametriche complete rispetto alla tecnica Logan GA. La MVW-PCA individua per ogni componente diversi tessuti; se la PC2 evidenzia la materia grigia allora è possibile ottenere la reference region in maniera automatica.

Conclusioni: È possibile evitare la misura invasiva dell'arteriale grazie all'approccio di popolazione, che non utilizza la curva di concentrazione plasmatica ricavata individualmente. I V_d ricavati con Logan a livello ROI hanno la stessa validità sia utilizzando la plasmatica da popolazione sia quella ricavata individualmente per ogni soggetto. Per la quantificazione di immagini PET a livello voxel, EBEGA è la tecnica migliore, perchè riduce la variabilità delle stime e fornisce immagini parametriche di maggior qualità rispetto al Logan GA. La tecnica MVW-PCA può essere applicata per aumentare il contrasto delle immagini e se la PC2 è associata alla materia grigia, allora è possibile delineare automaticamente la reference region.

Capitolo 1

Introduzione

La PET (Positron Emission Tomography) è un'importante tecnica di medicina nucleare che trova applicazione sia in ambito di ricerca sia in ambito clinico. In questa tesi vengono analizzate le immagini PET di ventidue soggetti: undici sani e undici malati di Alzheimer. Ad ognuno è stato somministrato il tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ (Pittsburg Compound B), utilizzato per studiare l'Alzheimer, una malattia degenerativa che colpisce il cervello e per la quale si stanno ancora studiando delle terapie. Questo tracciante si lega alle placche extracellulari di β amiloide, che si accumulano patologicamente in soggetti affetti dalla malattia. Studiando la cinetica e la distribuzione del tracciante nelle aree cerebrali, si riescono ad identificare le deposizioni di β amiloide; per questo sono necessarie tecniche di quantificazione delle immagini PET di tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$.

In questa tesi vengono descritti e analizzati dei metodi per ottenere parametri fisiologici legati al morbo di Alzheimer. L'obiettivo è quello di eseguire la quantificazione con diverse tecniche ed approcci messi a confronto, per ricavare informazioni al fine di distinguere i soggetti sani da quelli malati. Confrontando le analisi di diverse categorie di soggetti è possibile individuare le regioni colpite dall'Alzheimer, comprendere maggiormente come il morbo può presentarsi e collegare eventi patologici con i sintomi clinici della malattia.

Oltre a migliorare le stime dei parametri fisiologici, in questo lavoro si sono sperimentati e valutati nuovi metodi per la quantificazione delle immagini PET, che potrebbero trovare applicazione clinica. Si è valutato l'impatto nelle stime utilizzando la concentrazione plasmatica di popolazione, anziché quella ricavata specificatamente per ogni soggetto. Alle immagini inoltre si è applicato il metodo finalizzato all'individuazione automatica della reference region. Questi approcci permettono di eseguire la quantificazione senza ricorrere alle misure arteriali invasive, sfruttando i parametri ricavati dalle immagini PET.

La tesi è sviluppata nel modo seguente:

- Capitolo 2: Tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer
Esposizione generale sul morbo di Alzheimer, descrizione della tecnica PET e delle caratteristiche del tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$.
- Capitolo 3 - Materiali e metodi
Elenco del dataset con le caratteristiche dei soggetti analizzati. Spiegazione dettagliata dei metodi utilizzati.
- Capitolo 4 - Risultati e confronti
Presentazione dei risultati significativi e confronti tra i metodi.
- Capitolo 5 - Discussione
Trattazione dei risultati ottenuti con analisi critica e valutazioni sui metodi.
- Capitolo 6 - Conclusioni
Descrizione conclusiva dei metodi e dei risultati ottenuti. Proposte per gli sviluppi futuri dei metodi di quantificazione e di individuazione automatica di tessuti cerebrali.

Capitolo 2

Tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

2.1 Il morbo di Alzheimer

Il morbo di Alzheimer (AD) è una malattia degenerativa che colpisce il cervello ed è caratterizzata da perdita di memoria, difficoltà cognitive e cambiamenti comportamentali. Nei casi più gravi causa inoltre stati confusionali e difficoltà nell'orientamento temporale e/o spaziale.

Solitamente la malattia si presenta nei soggetti di età superiore ai 65 anni, tuttavia l'incidenza della stessa sta aumentando anche nei soggetti più giovani.

È stato stimato che 35.6 milioni di persone nel mondo sono affette da demenza, tra queste il 50-70% dei casi sono dovuti al morbo di Alzheimer (fonte <http://www.alzheimer-europe.org>). Si prevede che questo numero sia destinato a raddoppiare ogni 20 anni, per arrivare così a 65,7 milioni nel 2030 e 115,4 milioni nel 2050 [1].

2. Tracciante [11C]PIB e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

Caratteristiche

L'AD è caratterizzato dalla presenza di placche neuritiche di beta-amiloide ($A\beta$) e di grovigli neuro fibrillari (NFTs, Neurofibrillary Tangles) nelle zone corticali del cervello (Mirra et al, 1991).

La deposizione di placche $A\beta$, considerate tossiche e causanti atrofia corticale, avviene in maniera progressiva durante la malattia e ad una velocità variabile, come si può vedere nella figura 2.2.

Solitamente le alterazioni più significative avvengono nelle aree frontale, temporale, parietale e occipitale [10].

Sintomi clinici rilevanti compaiono solo dopo un accumulo significativo di placche $A\beta$. Infatti dalla fase iniziale fino a quella di equilibrio (vedi Figura 2.2) i sintomi non sono evi-

denti, anche se in questo intervallo di tempo gli eventi patologici continuano ad avanzare (es: patologie neurofibrillari, perdita sinapsi, ecc) [15].

Per curare il morbo di Alzheimer le terapie mirano ad arrestare l'accumulo di $A\beta$ e a ridurre le placche $A\beta$ già presenti nel cervello.

Se la presenza di queste placche neuritiche viene individuata nella fase iniziale della malattia, si può procedere con trattamenti di prevenzione per ridurre l'avanzamento. Per questo è importante trovare delle tecniche in-vivo per individuare e discernere i soggetti sani dai soggetti che potrebbero contrarre il morbo di Alzheimer.

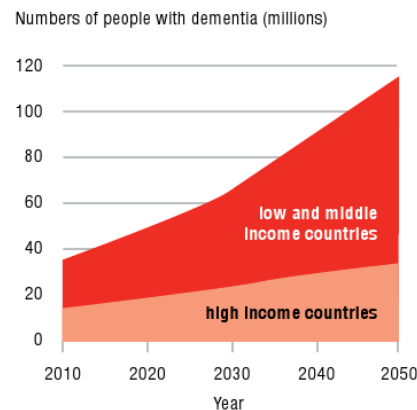


Figura 2.1: Incremento annuo soggetti con demenza

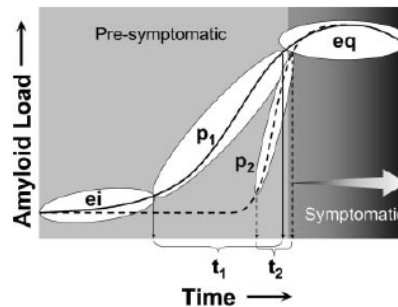


Figura 2.2: *Ipotesi progressione nel tempo della deposizione amiloide, fase iniziale (ei), fase progressiva (p), fase finale di equilibrio (eq).*

Diagnosi e fattori di rischio

La diagnosi del morbo di Alzheimer è più accurata nella fase avanzata della malattia, mentre è più difficile in quella iniziale, in cui non è facile distinguere tra: soggetto sano (HC, Healthy Control), paziente con malattia lieve (Mild Cognitive Impairment, MCI) e paziente malato di Alzheimer (AD, Alzheimer Disease). In particolare la condizione di MCI è caratterizzata da isolate o severe perdite di memoria, ma non così serie da rientrare nei criteri diagnostici per l'AD (Morris and Price, 2001; Morris et al, 2001; Petersen et al, 2001a,b). Circa metà dei pazienti MCI progrediscono contraendo l'AD con percentuali del 10-15% annuo, mentre l'altra metà non sviluppa l'AD per un periodo di 10 anni (Larrieu et al, 2002, Yesavage et al, 2002; Ganguli et al, 2004).

Basandosi su una analisi di un vasto numero di persone, che comprendeva soggetti sani e pazienti affetti da Alzheimer, i ricercatori hanno individuato dei fattori di rischio riguardanti la possibilità di contrarre la malattia. Non esiste perciò una singola causa, ma ci può essere una combinazione di elementi che possono determinare lo sviluppo del morbo di Alzheimer. Questi tuttavia possono essere diversi da persona a persona. I fattori di rischio sono:

- Età: si è stimato che circa una persona su 20 soffre di Alzheimer al di

2. Tracciante [11C]PIB e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

sopra dei 65 anni, mentre se l'età è inferiore l'incidenza scende ad un caso su 20. L'invecchiamento comunque non è da ritenersi una causa diretta della malattia.

- Sesso: alcuni studi hanno suggerito che le donne sono le più colpite dall'Alzheimer; tuttavia in media le donne vivono più degli uomini perciò, se consideriamo i valori in percentuale, l'incidenza della malattia è la stessa per entrambi i sessi.
- Fattori genetici (ereditari): per un numero estremamente limitato di famiglie, l'Alzheimer costituisce un fattore genetico dominante; nel resto dei casi accade che solo la metà dei figli di genitori malati sviluppi l'Alzheimer. Si è riscontrato inoltre un possibile collegamento tra il cromosoma 21 e l'Alzheimer.
- Traumi alla testa: i soggetti che, a causa di incidenti, hanno subito colpi alla testa, potrebbero essere a rischio di sviluppare l'Alzheimer soprattutto se il soggetto ha più di 50 anni ed ha perso conoscenza dopo il trauma.
- Altri fattori: non vi è alcuna prova che esistano altri fattori che aumentino la probabilità di contrarre il morbo di Alzheimer. Razza, professione, posizione geografica e condizione socio-economica non sono fattori determinanti. Si hanno invece sempre più prove a sostegno del fatto che le persone con un livello di istruzione più elevato siano meno a rischio rispetto alle persone con un basso livello di istruzione.

(fonte: <http://www.alzheimer-europe.org>)

2.2 La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET)

La PET è un'importante tecnica di Medicina Nucleare che permette di ottenere informazioni fisiologiche, generando immagini dei tessuti analizzati. La tecnica PET permette di ottenere immagini dell'attività funzionale con una buona risoluzione, consente inoltre misure in vivo di qualsiasi molecola per la quale sia disponibile un radiofarmaco ed è in grado di localizzare e misurare la distribuzione di neurorecettori rilevando la concentrazione di farmaci marcati. È una tecnica non invasiva che permette di studiare vari soggetti ed è indicata anche per monitorare gli stessi nell'arco di più anni.

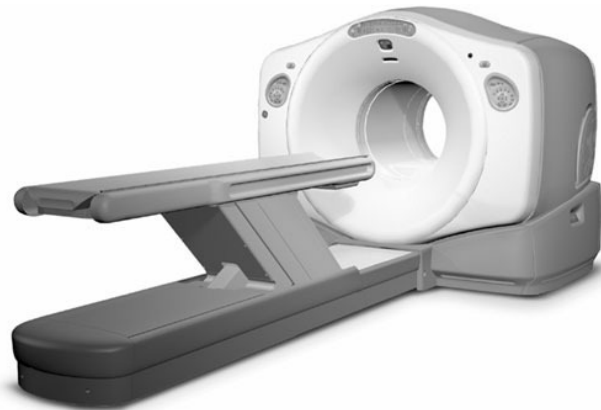


Figura 2.3: *Tomografo PET*

La PET si è rivelata un ottimo strumento per la diagnosi clinica e per l'individuazione della prognosi adeguata alla severità della demenza. È una tecnica che permette di studiare parametri biochimici e fisiologici, di riconoscere cambiamenti neuro patologici e di evidenziare le aree cerebrali coinvolte nella malattia. Nel caso di malattie come l'Alzheimer si può determinare se i farmaci, che si ritenga agiscano su amiloide cerebrale, eliminino davvero le placche e, nel caso, come questo effetto sia correlato al miglioramento clinico.

2. Tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

Negli ultimi anni si è quindi passati dall'uso esclusivo della PET nella ricerca, all'applicazione clinica in oncologia, neurologia e cardiologia.

La PET spesso è utilizzata in combinazione con la Computed Tomography (CT, anche nota come TAC). Effettuando esami PET/CT si ottenengono allo stesso tempo informazioni fisiologiche e informazioni morfologiche. Questa tecnica tuttavia comporta un'esposizione del paziente ai raggi X e la risoluzione delle immagini CT alle volte può non risultare adeguata.

Un altro metodo utile alla fusione di dati fisiologici e dati morfologici, consiste nell'utilizzare i dati PET in combinazione con i dati ricavati dalla tecnica Magnetic Resonance Imaging (MRI). La MRI, a differenza della tecnica PET, fornisce informazioni sulla morfologia dei tessuti con un'alta risoluzione, perciò combinando le informazioni fisiologiche della PET con le informazioni anatomiche della MRI, si ottiene una corrispondenza tra morfologia e attività fisiologica dei tessuti in esame. Questa tecnica combinata si è rivelata molto utile per studiare i tessuti cerebrali e per la diagnosi e prognosi di tumori o malattie degenerative come nel caso dell'Alzheimer.

Negli ultimi anni sono stati realizzati degli scanner per applicare simultaneamente PET e MRI, dando nuove opportunità alla ricerca biomedica e fornendo nuovi approcci per le applicazioni mediche [8].

Principi fisici

Lo scanner PET utilizza un circuito di coincidenza per la rivelazione degli eventi decadimento radioattivo. Questa tecnica utilizza isotopi che emettono positroni e quindi una coppia di fotoni γ colineari a 511 keV. La tecnica PET richiede l'iniezione per via endovenosa di un tracciante (un radionuclide) nel soggetto da esaminare. Gli isotopi utilizzati sono generalmente ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O . Questi isotopi sono instabili ed hanno emivita relativamente breve (da alcuni minuti fino a due ore), così è possibile analizzare il soggetto senza esporlo a radiazioni per tempi prolungati.

La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET)

I radionuclidi vengono preparati in ciclotroni e poi associati a composti normalmente assimilati dal corpo umano (ad esempio il glucosio o acqua) per analizzare i tessuti corporei nei quali si distribuiscono. Per l'esame PET è quindi necessario avere un ciclotrone in prossimità dello scanner PET, vista la breve emivita degli isotopi. Questa procedura di generazione degli isotopi ha dei costi elevati e ciò può rappresentare un ostacolo all'esecuzione di esami PET.

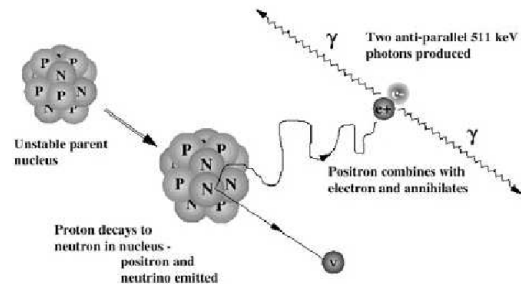


Figura 2.4: *Emissione positrone e annichilazione*

I traccianti vengono scelti specificatamente per l'analisi che si desidera effettuare. Nel nostro studio il tracciante utilizzato ha un'alta affinità con le placche di β amiloide, così che risultino marcate le zone in cui queste si formano e si accumulano.

Il rivelamento dell'evento e la collimazione avvengono grazie ad una serie numerosa di cristalli scintillatori, separati da setti di piombo o tungsteno su anelli coassiali. Si sfrutta il fatto che i fotoni γ sono emessi a 180° l'uno rispetto all'altro. Ogni rivelatore che registra un fotone incidente genera un impulso temporizzato e gli impulsi vengono poi combinati in uno schema di coincidenza [13]. Con il software di ricostruzione vengono generate le mappe (immagini) delle sezioni, nelle quali viene rappresentata la densità

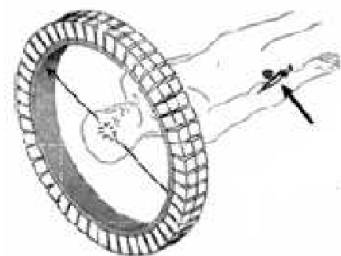


Figura 2.5: *Anello coassiale con rivelatori PET*

2. Tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

degli eventi di decadimento.

Le immagini riflettono la concentrazione dei positroni emessi dall'isotopo, con una precisa localizzazione spaziale del punto in cui sono stati emessi i fotoni.

Quantificazione dei dati PET

La quantificazione dei dati PET richiede la misura dell'attività tessutale di interesse (TAC, Time Activity Curve), ricavata dall'immagine PET, e la misura di un campionamento arteriale, indicato come $C_p(t)$. Il metodo gold standard per la quantificazione dei dati PET esegue una stima WNLS (minimi quadrati pesati non lineari).

I dati ricavati dalle immagini e la funzione di ingresso arteriale $C_p(t)$, costituiscono l'input per un modello teorico che descrive la cinetica del tracciante utilizzato per la stima dei parametri di interesse. Questo metodo tuttavia presenta l'inconveniente di dover effettuare misure per la funzione arteriale, invasiva per il paziente, e richiede inoltre molto tempo e competenze tecniche.

Tutto ciò costituisce un problema per la pratica quotidiana dell'analisi con tecnica PET. Per questo motivo esistono delle varianti che non comprendono le misure invasive dell'arteriale. In questo lavoro si considerano due approcci alternativi: il primo consiste nell'utilizzare una funzione arteriale di popolazione, quindi una funzione ricavata da studi già effettuati e che non richiedono un'ulteriore misura sul paziente in esame; il secondo utilizza un modello in cui non è necessaria la funzione arteriale, ma è sufficiente l'informazione ricavata da una regione di riferimento.

La quantificazione di immagini PET può avvenire a livello ROI (Region Of Interest) o a livello pixel. L'approccio a livello ROI comporta un buon rapporto segnale disturbo, ma allo stesso tempo viene persa la risoluzione spaziale originale delle immagini. A livello ROI si può utilizzare la stima WNLS per ottenere i parametri, metodo computazionalmente oneroso ma

veloce considerando il numero limitato di ROI.

A livello pixel il vantaggio principale consiste nel mantenere la risoluzione spaziale delle immagini, ma gli svantaggi non sono trascurabili: il rapporto segnale disturbo delle TAC è peggiore rispetto a quello relativo alle ROI; si hanno molti dati (migliaia di pixel) da analizzare ed è necessario l'utilizzo di algoritmi veloci per la loro identificazione.

Per ottenere buone stime, ma con metodi computazionalmente meno onerosi, si possono utilizzare dei metodi grafici per l'analisi (GA), come il metodo grafico di Logan (Logan et al., 1990). Utilizzando il metodo di Logan si possono stimare il macroparametro V_d che identifica il volume di distribuzione del tracciante (rapporto tra la concentrazione del tracciante nel tessuto e la concentrazione nel plasma in stato stazionario) e il potenziale di legame (BP, Binding Potential). Questi metodi sono descritti nel capitolo successivo.

2.3 Il tracciante [11C]PIB

Il tracciante N-metil-[(11) C] 2 - (4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole (o [(11) C] PIB per Pittsburgh Compound-B), è utilizzato per lo studio delle malattie degenerative quali l'Alzheimer. Il tracciante [11C]PIB infatti si lega alle placche extracellulari di β amiloide ($A\beta$), che si accumulano patologicamente in soggetti affetti dal morbo di Alzheimer (AD). Studi effettuati su gruppi di soggetti hanno rilevato che l'accumulo di [11C]PIB è maggiore nei pazienti con AD rispetto ai soggetti sani (healthy controls, HC), ma non esiste per ora un metodo ottimale per distinguere questi due gruppi.

Con la Positron Emission Tomography (PET) è possibile studiare le modalità di legame del tracciante [11C]PIB e quantificare il livello di $A\beta$ presente nel cervello. Il tracciante potenzialmente rappresenta un marker per identificare la deposizione di β amiloide, ed il relativo avanzamento nei pazienti AD, e valutare l'efficacia delle terapie anti-amiloide (Klunk et al, 1994, 2001; Wengenack et al, 2000; Agdeppa et al, 2001; Zhuang et al, 2001).

Per i pazienti MCI non ci sono sostanziali differenze rispetto ai pazienti con

2. Tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

AD. Questo è dimostrato da diversi studi (tra i quali Forsberg et al. [4]) che hanno messo a confronto immagini PIB-PET di soggetti con AD e soggetti MCI. Dalle immagini è perciò difficile ricavare se il paziente con MCI si convertirà in AD oppure se rimarrà sostanzialmente stabile. Si possono riscontrare alcune differenze dovute al fatto che i depositi di βA evolvono gradualmente col passare del tempo, per arrivare poi a coinvolgere buona parte delle zone cerebrali nei soggetti con AD. Risultati simili sono stati riscontrati confrontando le immagini parametriche di soggetti sani e di pazienti MCI. Gli studi effettuati mirano ad individuare quali potrebbero essere gli indicatori per stabilire se un MCI è destinato a progredire verso l'AD oppure no. Nella figura che segue sono riportati alcuni tra questi casi: in basso a sinistra l'immagine relativa ad un paziente con MCI che svilupperà AD, in basso a destra un paziente con MCI che rimarrà stabile, in alto a sinistra un malato di Alzheimer e in alto a destra un controllo sano.

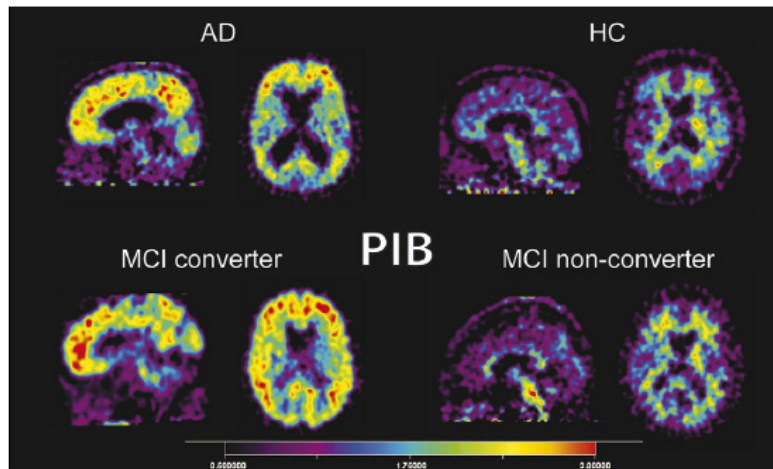


Figura 2.6: Tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$: immagini PET di un soggetto sano, due MCI, e un malato AD (Forsberg et al., 2007)

Modelli per il tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$

Il $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ è un tracciante con dinamica reversibile, per rappresentare i

Il tracciante [11C]PIB

dati PIB si può utilizzare il modello compartimentale con 3-compartimenti, 6 parametri (3T-6k, vedi Koeppe et al, 1994):

$$\begin{aligned}\frac{dC_F(t)}{dt} &= K_1 C_p(t) - (K_2 + K_3 + K_5) C_F(t) + K_4 C_S(t) + K_6 C_{NS}(t) \\ \frac{dC_{NS}(t)}{dt} &= K_5 C_F(t) - K_6 C_{NS}(t) \\ \frac{dC_S(t)}{dt} &= K_3 C_F(t) - K_4 C_S(t)\end{aligned}$$

dove C_F , C_{NS} e C_S sono rispettivamente le quantità nel cervello per il tracciante libero, legato in modo non specifico, legato specificamente.

I parametri K_1 (mL/min mL) e K_2 (min^{-1}) rappresentano il trasporto bidirezionale del tracciante tra sangue e barriera emato-encefalica. I parametri di k_3 e k_4 sono rispettivamente coefficienti per l'associazione bimolecolare (min^{-1}) e la dissociazione unimolecolare (min^{-1}) per descrivere il legame del tracciante. I parametri di associazione e dissociazione per i legami non specifici corrispondono a k_5 (min^{-1}) e k_6 (min^{-1}) rispettivamente [6].

Questo modello a 3 compartimenti e 6 parametri (3T-6k) non è identificabile a priori, per renderlo tale si unisce il compartimento del tracciante libero nel tessuto (C_F) con quello del tracciante non specificatamente legato (C_{NS}). Si adotta per esso un modello a 2 compartimenti e 4 parametri che risulta univocamente identificabile a priori (vedi Figura 2.7). Con il modello 2T-4K

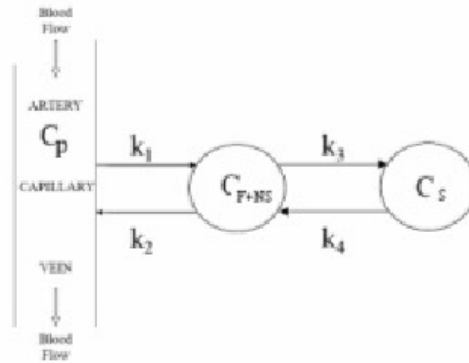


Figura 2.7: modello a 2 compartimenti per la cinetica del tracciante [11]C-PIB

2. Tracciante [11C]PIB e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

è possibile stimare la concentrazione di PIB libero e non-specificatamente legato dai dati del cervelletto. In questa regione, considerata regione di riferimento (REF), la concentrazione di tracciante specificatamente legato è trascurabile. Il modello quindi si riduce ad un compartimento con 2 parametri. Il cervelletto è considerato regione di riferimento per i seguenti motivi:

1. ha bassi livelli di affinità con le fibre di amiloide;
2. dati sperimentali hanno verificato livelli bassi di affinità, osservati in studi post-mortem di soggetti malati e sani;
3. la concentrazione del tracciante nei soggetti sani e malati è simile, dati ricavati da studi in-vivo sul tracciante PIB (Klunk et al, 2003, 2004a).

I parametri di interesse nel modello 2T-4k che si possono ricavare sono:

- Volume di distribuzione del tracciante: indicato come V_d (mL/mL), in generale dato dal rapporto tra la concentrazione del tracciante nel tessuto e la concentrazione nel plasma in stato stazionario. Nel modello qui considerato si ottiene da: $V_d = \frac{K_1}{K_2}(1 + \frac{K_3}{K_4})$ mentre nel cervelletto applicando il modello 1T-2k si ottiene $V_d^{Reference} = \frac{K_1^{Reference}}{K_2^{Reference}} = \frac{K_1}{K_2}$
- Potenziale di legame: indicato come BP, dato da $BP = \frac{Bmax}{Kd}$, rapporto tra il valore di recettori presenti e l'affinità del tracciante ai recettori. In questo modello si calcola $BP = \frac{Vd_{ROI}}{Vd_{REF}} - 1 = \frac{Bmax}{Kd} = \frac{K_3}{K_4}$
- Distribution Volume ratio: DVR, è il volume di distribuzione del tracciante (Vd_{ROI}) normalizzato per l'assorbimento non specifico nella regione di riferimento (Vd_{REF}). $DVR = \frac{Vd_{ROI}}{Vd_{REF}} = BP + 1$

Risultati e applicazioni per il tracciante [11C]PIB

I dati ricavati dall'esame PET permettono di confrontare i diversi livelli di accumulo del tracciante [11C]PIB relativi al cervelletto rispetto alle altre

Il tracciante [11C]PIB

regioni. Nell'immagine che segue sono rappresentati questi valori relativi a 19 soggetti con Alzheimer e a 14 controlli. In alcune regioni (anterior cingulate, posterior cingulate, thalamus, striatum, frontal, temporal, parietal, occipital) si nota una differenza significativa tra soggetti sani e malati [10].

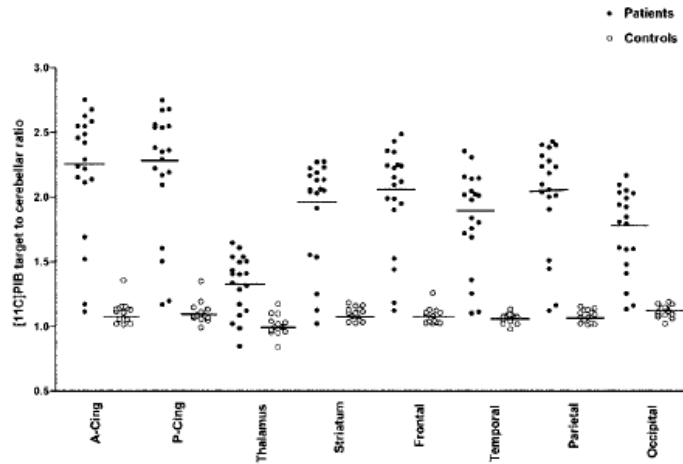


Figura 2.8: *Distribuzione tracciante 11C-PIB*

Da altri studi delle immagini PIB-PET con il metodo SPM (Statistical Parametric Mapping), che confronta i livelli di assorbimento del tracciante tra pazienti AD e controlli, sono state ottenute osservazioni significative. Nelle immagini così generate vengono messe in evidenza le regioni cerebrali in cui si riscontrano differenze notevoli dell'assorbimento del tracciante tra sani e malati [10] (vedi Fig. 2.9). Il tracciante [11C]PIB presenta un maggior standardized uptake values (SUVs) in alcune aree cerebrali (es: frontal cortex) dei pazienti AD rispetto ai soggetti sani [2], dovuto alla presenza significativa di placche di β amiloide [7]. Mentre in altre aree cerebrali i valori sono pressochè simili tra pazienti AD e soggetti sani, queste sono aree dove non avviene deposizione di amiloide (subcortical white matter, pons, cerebellum).

Per evidenziare i risultati ottenibili con il tracciante [11C]PIB troviamo nel-

2. Tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ e tecnica PET nello studio dell'Alzheimer

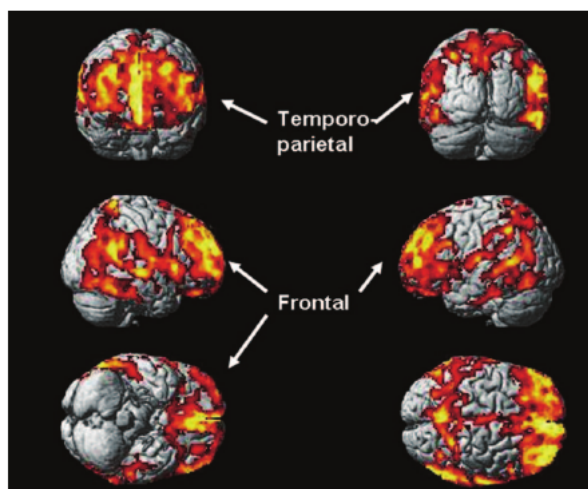


Figura 2.9: *Distribuzione tracciante ^{11}C -PIB*

le immagini sottostanti la ritenzione del tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ nella materia bianca in soggetti sani (Fig. 2.10 in alto) e nelle zone corticali e subcorticali nei pazienti malati (Fig. 2.10 in basso) [14]:

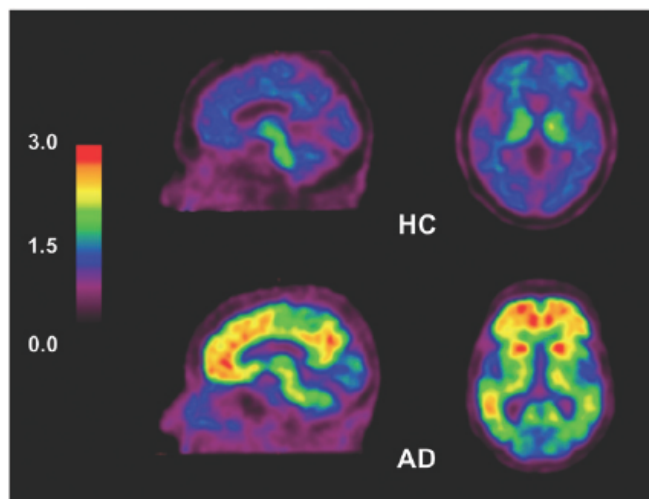


Figura 2.10: *Ritenzione del tracciante ^{11}C -PIB*

Capitolo 3

Materiali e metodi

3.1 Dataset

Per questo studio sono stati analizzati 22 soggetti, di cui 11 soggetti sani e 11 soggetti malati di Alzheimer. I dati sono stati forniti dalla Columbia University (New York) nell'ambito di una collaborazione con il prof. Ramin Parcey (Dipartimento di Psichiatria, Columbia University, New York) per lo studio di pazienti affetti da Alzheimer.

In Tabella 3.1 sono elencate le variabili demografiche relative ai soggetti analizzati.

Il tomografo PET 3D ha acquisito per ogni soggetto 63 fette assiali e le immagini 2D sono state ricostruite in una matrice di 128x128 pixel. L'acquisizione emissiva dinamica è stata suddivisa in 18 intervalli, di durata crescente, per un totale di 90min. Il protocollo ha seguito questa griglia temporale: 3x20s, 3x60s, 3x120s, 2x300s, 7x600s. Perciò i dati PET per ciascun soggetto sono rappresentati dalla matrice 128x128x63x18.

I dati tissutali sono espressi in MBq/cc.

Durante l'acquisizione PET ai soggetti è stato fatto un prelievo di sangue, tramite catetere arteriale, per misurare la concentrazione del tracciante nel plasma ad intervalli di tempo prestabiliti, acquisiti per un totale di 90'. I dati della plasmatica così misurata formano un array di 30 elementi. Sono

3. Materiali e metodi

Soggetto	Età	Sesso	Tipo
NHBTA001	78	M	HC
NHBTA002	81		HC
NHBTA003	58	F	HC
NHBTA004	79	F	HC
NHBTA005	82	M	HC
NHBTA006	61	F	AD
NHBTA007	59	M	AD
NHBTA008	71	F	AD
NHBTA009	75	M	AD
NHBTA010	70	F	HC
NHBTA011	60	F	AD
NHBTA012	61	F	AD
NHBTA013	70	M	AD
NHBTA014	72	M	HC
NHBTA015	70	M	HC
NHBTA017	59	F	HC
NHBTA018	70	F	AD
NHBTA019	69	M	AD
NHBTA020	70	M	AD
NHBTA023	67	F	HC
NHBTA039	62	F	HC
NHBTA055	72	M	AD
Età media HC	71+/-9		
Età media AD	67+/-6		
Sesso HC	6F/5M		
Sesso AD	5F/6M		

Tabella 3.1: *Informazioni sul dataset soggetti*

Dataset

stati forniti i dati relativi alle ROI e a ciascuna ROI è associato un array di dati PET. Per poter effettuare la correzione per i metaboliti della curva di concentrazione plasmatica, per ogni soggetto è stata fornita la frazione di tracciante non metabolizzato contenuto nel plasma, misurata in 7 istanti temporali.

Analisi dei dati

Le analisi sono effettuate utilizzando Matlab R2009b.

Uno dei soggetti (denominato NHBTA008) si è rivelato un esperimento fallimentare, perciò lo si è escluso dalle analisi.

Le immagini che seguono rappresentano alcuni dati di esempio:

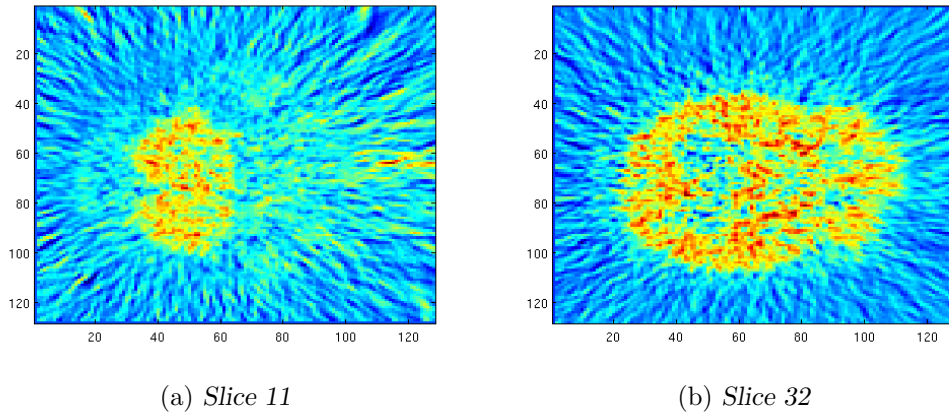


Figura 3.1: *Dati PET soggetto 12*

3. Materiali e metodi

Grafici con le concentrazioni di tracciante nel plasma arteriale e nelle regioni di interesse (ROI):

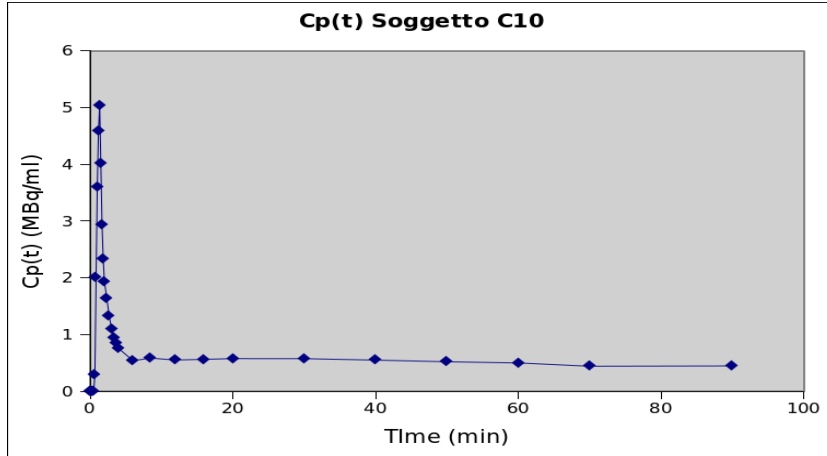


Figura 3.2: Misure della concentrazione di tracciante nel plasma arteriale non corretto dai metaboliti, per un soggetto sano

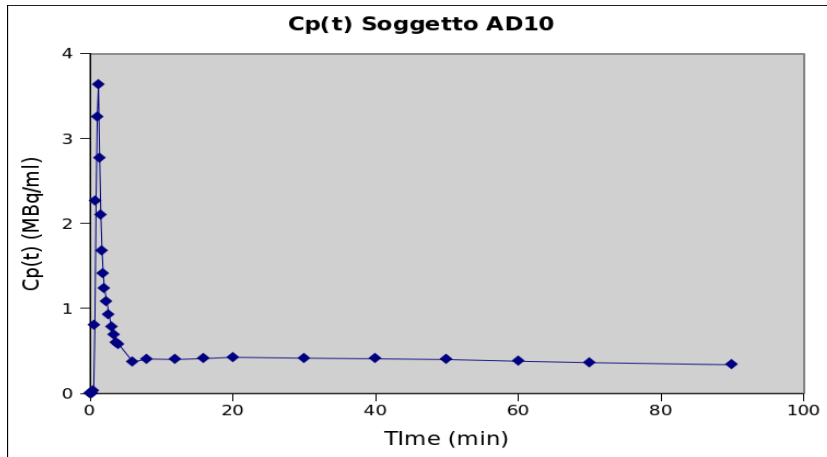


Figura 3.3: Misure della concentrazione di tracciante nel plasma arteriale non corretto dai metaboliti, per un soggetto malato

Dataset

Grafici con la frazione reale di tracciante nel plasma, utilizzata per la correzione per i metaboliti:

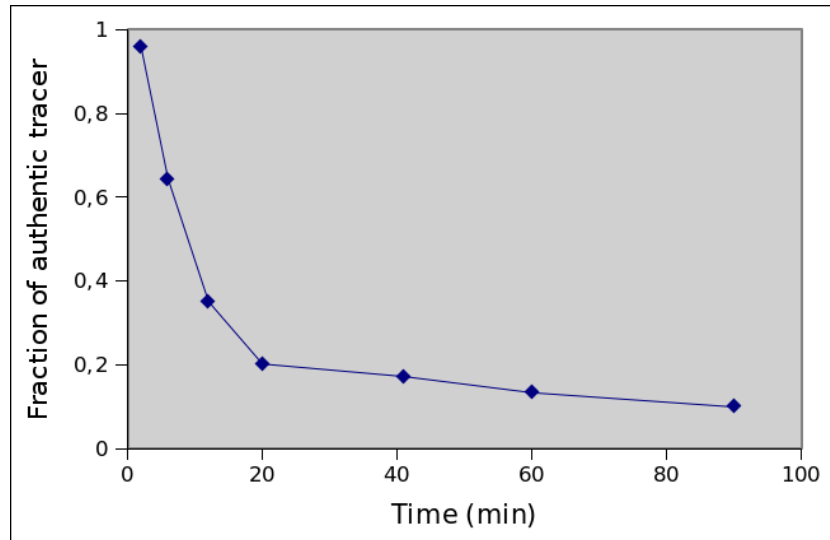


Figura 3.4: *Frazione reale di tracciante, per un soggetto sano*

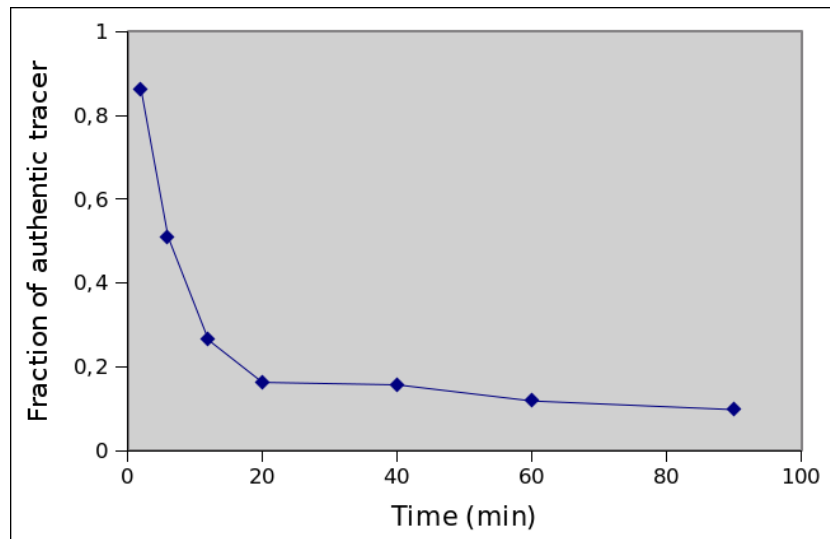


Figura 3.5: *Frazione reale di tracciante, per un soggetto malato*

3. Materiali e metodi

TAC di alcune regioni di interesse:

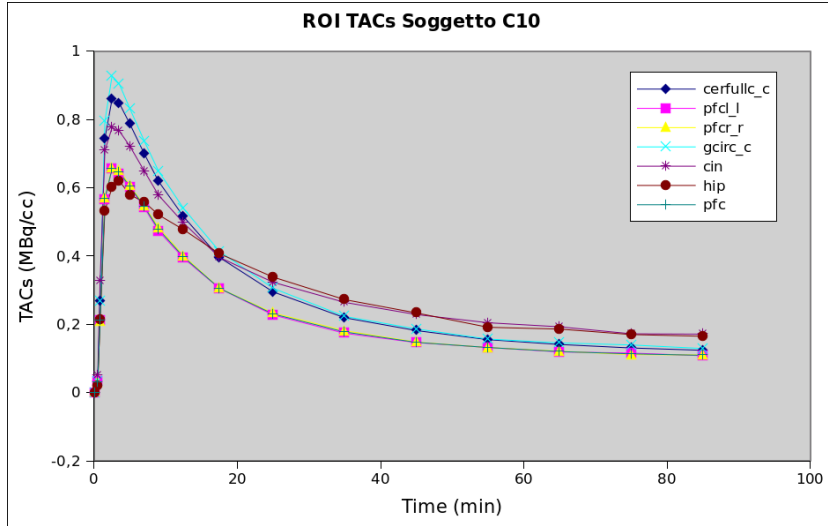


Figura 3.6: TAC nelle regioni, per un soggetto sano

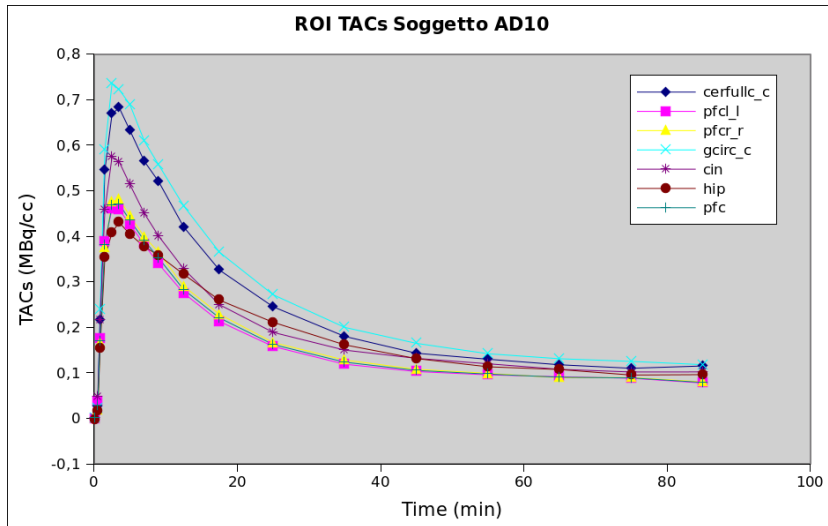


Figura 3.7: TAC nelle regioni, per un soggetto malato

3.2 Creazione maschera binaria

Per ogni soggetto è stata creata una maschera binaria, che rappresenta l'area cerebrale, utilizzata per le analisi effettuate in questo lavoro. Per la generazione della maschera le valutazioni si basano su:

- una soglia di valori, determinata da valutazioni sull'istogramma
- connessioni tra i voxel, 3D e 2D
- localizzazione spaziale dei voxel
- grandezza aree formate da voxel adiacenti

Dalle immagini PET si è quindi esclusa l'informazione attribuibile al rumore e l'informazione relativa ad altre aree anatomiche. La prima operazione per creare la maschera binaria è stata di thresholding, basandosi sull'immagine sommata lungo gli istanti temporali.

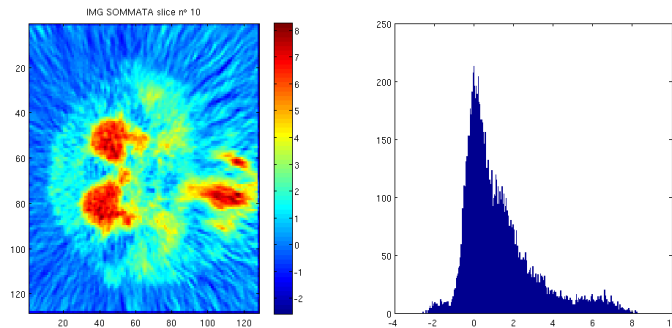


Figura 3.8: *Dati PET soggetto 14, slice 10*

3. Materiali e metodi

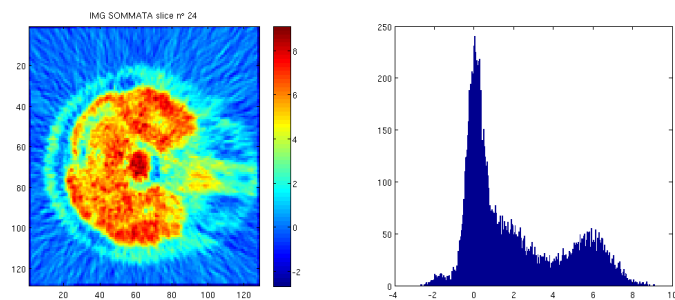


Figura 3.9: *Dati PET soggetto 14, slice 24*

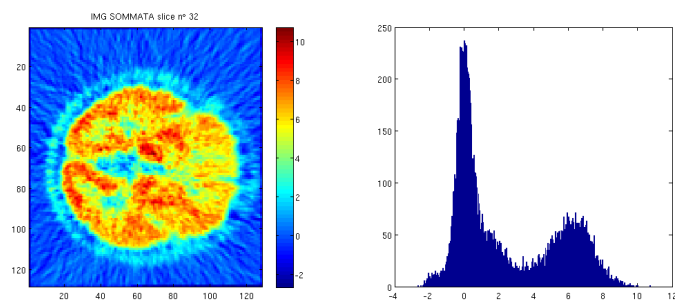


Figura 3.10: *Dati PET soggetto 14, slice 32*

Creazione maschera binaria

L'operazione successiva valuta le connessioni 3D e 2D dei voxels. La maschera così generata manterrà i voxel adiacenti lungo le 3 dimensioni. Per affinare ulteriormente la maschera si sono valutate anche le connessioni 2D per le varie slice.

Dei dati così ottenuti vengono poi mantenute le aree sufficientemente grandi (numero di pixel adiacenti maggiore di 90) e le aree collocate nelle zone cerebrali. Sono state così escluse le aree identificate come non cerebrali.

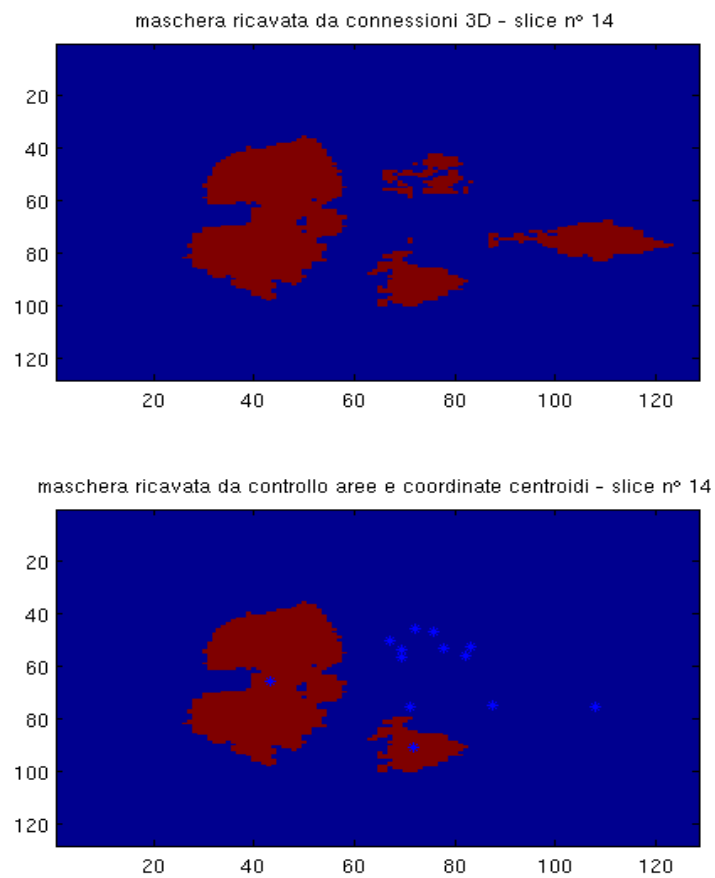


Figura 3.11: *Maschera ricavata da valutazioni sulle connessioni 3D, con centroidi, slice 14*

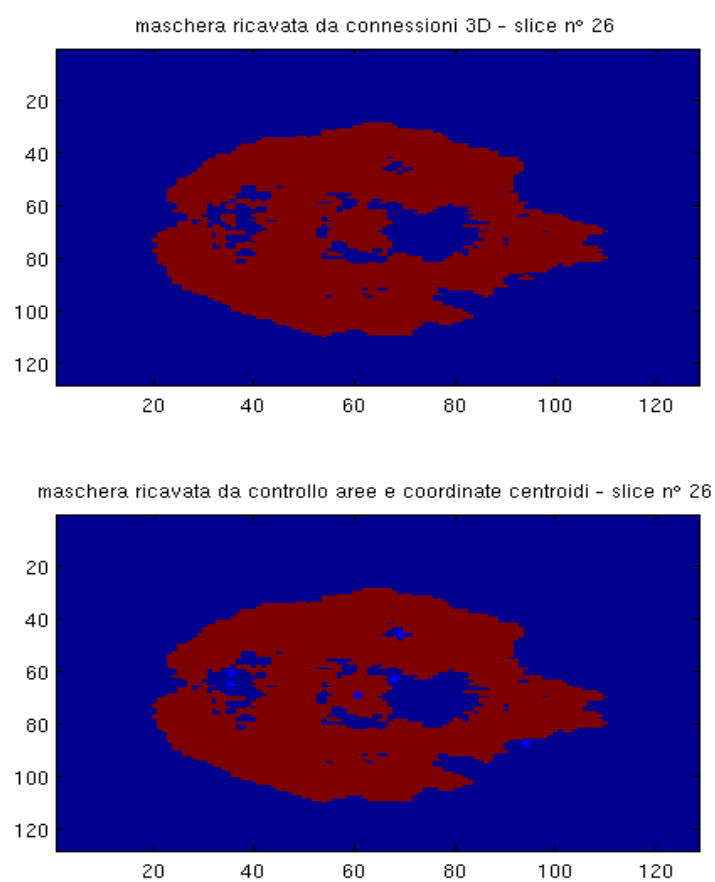


Figura 3.12: *Maschera ricavata da valutazioni sulle connessioni 3D, con centroidi, slice 26*

Creazione maschera binaria

La procedura per la creazione della maschera binaria si conclude con il riempimento delle zone vuote.

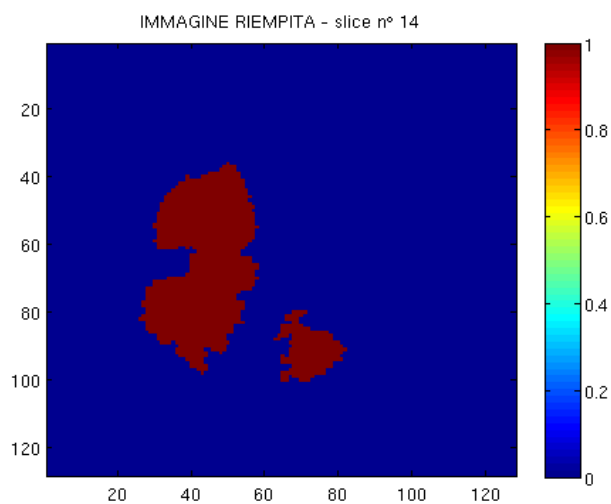


Figura 3.13: *Maschera con riempimento*

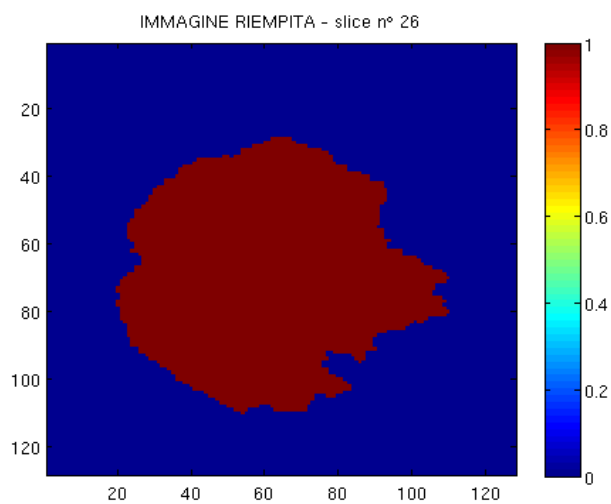


Figura 3.14: *Maschera con riempimento*

3.3 Correzione per i metaboliti

Il tracciante PET viene metabolizzato dal fegato, dai reni o da altri organi del corpo durante lo svolgimento dell'esame PET. La Time Activity Curve (TAC) della concentrazione plasmatica, non corretta per i metaboliti, contiene una parte significativa di informazione, derivante dal tracciante legato ai metaboliti. Questo contributo aggiuntivo sulla TAC dovrà essere tolto, così da ottenere la $C_p(t)$ contenente solo la concentrazione reale di tracciante nel plasma. In questo modo la $C_p(t)$ corretta potrà essere utilizzata come funzione di ingresso per le analisi quantitative.

Il modello per i metaboliti non è noto, quindi sono stati utilizzati dei modelli a complessità crescente per ottenere una curva dell'andamento della frazione reale di tracciante nel tempo. Con il criterio di Akaike sono stati poi confrontati i diversi modelli per scegliere quello migliore. I modelli matematici per creare queste curve sono somme di esponenziali ed in questo lavoro ve ne sono 3:

1 esponenziale: $\text{fit} = Ae^{-\alpha t}$;

2 esponenziali: $\text{fit} = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$;

3 esponenziali: $\text{fit} = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} + Ce^{-\gamma t}$;

Per ogni modello sono stati stimati i parametri (A, α , B, ...) per ottenere la curva di concentrazione dei metaboliti. I modelli sono non lineari nei parametri, quindi viene usato lo stimatore WNLS.

I valori dei parametri per la stima WNLS sono quelli che rendono minima la loro norma, ovvero la funzione costo:

$$WRSS = [z - G(p)]^T \Sigma_v^{-1} [z - G(p)]$$

Non si può ottenere una soluzione esplicita nel caso di modelli non lineari nei parametri, quindi si procede per linearizzazioni successive (metodo Gauss-Newton). Per ricercare il minimo di funzioni si utilizza *lsqnonlin*, dell'optimization toolbox di matlab.

Il metodo descritto è sensibile ai dati iniziali dei parametri, per questo motivo

Logan livello voxel

essi vengono scelti in modo tale che risultino corrispondenti ai valori medi dei parametri ottenuti da una prima stima, così da migliorare i risultati ricavati. Per ciascuno dei tre modelli (un esponenziale, due esponenziali, tre esponenziali), sono stati calcolati: residui, residui pesati, valore di Akaike $AIC = (WRSS) + 2 \cdot M$ in cui M = numero di parametri e $WRSS$ = Weighted Residual Sum of Square.

Una volta ottenuta la curva che descrive l'andamento della frazione reale del tracciante nel plasma, è stata eseguita la correzione della concentrazione plasmatica per i metaboliti: $C_p^{corretta}(t) = C_p(t) \text{ curvaStimata}$

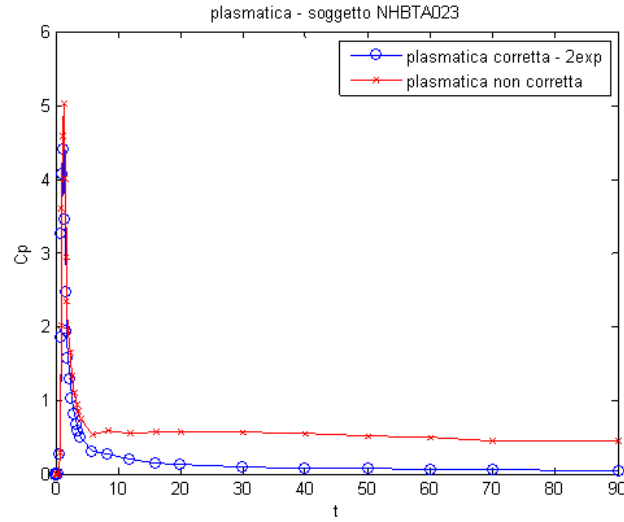


Figura 3.15: *Plasmatica originale e plasmatica corretta per i metaboliti*

3.4 Logan livello voxel

Le analisi con il metodo Logan sono un valido strumento per la quantificazione dei dati PIB-PET *in vivo* che fornisce risultati quantitativi utili nello studio di soggetti AD, MCI e HC relativamente, ad esempio, all'accumulo

3. Materiali e metodi

del tracciante nelle aree cerebrali. Rispetto ad altre analisi, il metodo Logan si è rivelato stabile per i risultati ottenuti per le region-of-interest e robusto nella generazione di immagini parametriche [6].

Il metodo Logan permette di stimare il macroparametro $V_d [ml_{plasma}/gr_{tessuto}]$. V_d è il volume di distribuzione del tracciante, definito come rapporto tra la concentrazione del tracciante nel tessuto e nel plasma in stato stazionario:

$$V_d = \frac{C_{measured}(t)}{C_p(t)}|_{ss}$$

Logan si applica a modelli reversibili, con le seguenti ipotesi:

- il tracciante lascia i compartimenti reversibili attraverso il plasma;
- la cinetica del tracciante è descritta da equazioni differenziali lineari, del primo ordine a coefficienti costanti;
- se l'organismo metabolizza il tracciante, i suoi prodotti metabolici sono misurabili;

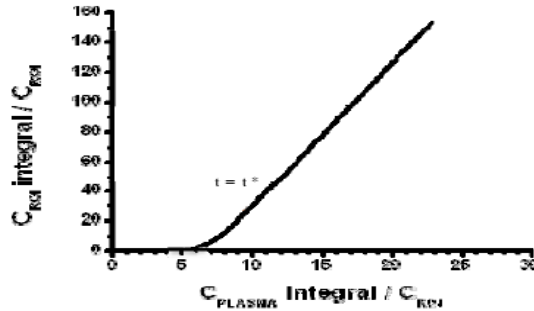


Figura 3.16: *Logan GA*

- la concentrazione iniziale del tracciante nel tessuto è nulla, e si suppone esista un istante t^* tale che per $t > t^*$ tutti i compartimenti siano in equilibrio con il plasma:

$$\frac{C_i(t)}{C_p(t)} = costante$$

in cui C_i rappresenta un compartimento reversibile ($i= 1...N$).

Se tutte queste ipotesi sono verificate, allora si dimostra che, per $t > t^*$, la relazione tra la variabile x e y (vedi Fig. 3.17) è lineare con una pendenza $m = V_d$, con:

$$x = \frac{\int_0^t C_p(\tau) d\tau}{C_{measured}(t)}$$

$$y = \frac{\int_0^t C_{measured}(\tau) d\tau}{C_{measured}(t)}$$

La stima di V_d

Passo 1: per ciascun pixel e per ogni istante di acquisizione delle immagini si calcola:

$$x = \frac{\int_0^t C_p(\tau) d\tau}{C_{measured}(t)}$$

$$y = \frac{\int_0^t C_{measured}(\tau) d\tau}{C_{measured}(t)}$$

Passo 2: il tempo t^* viene fissato in base all'osservazione del plot $x - y$. t^* è l'istante temporale per il quale il plot diviene lineare. In queste analisi si è scelto t^* in modo da considerare sempre gli ultimi sette dati acquisiti.

Passo 3: fissato t^* , si considerano i valori di x e y ottenuti solo per $t > t^*$.

Passo 4: stima ai minimi quadrati lineari:

$$z = G p + v^{pWLS} = (G^T \Sigma_v^{-1} G)^{-1} G^T \Sigma_v^{-1} z$$

$$\begin{bmatrix} \frac{C_{measured}(t_k)}{C_p(t_k)} \\ \frac{C_{measured}(t_{k+1})}{C_p(t_{k+1})} \\ \vdots \\ \frac{C_{measured}(t_N)}{C_p(t_N)} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\int_0^{t_k} C_p(\tau) d\tau}{C_p(t_k)} & 1 \\ \frac{\int_0^{t_{k+1}} C_p(\tau) d\tau}{C_p(t_{k+1})} & 1 \\ \vdots & \vdots \\ \frac{\int_0^{t_N} C_p(\tau) d\tau}{C_p(t_i)} & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} m \\ q \end{bmatrix} + v$$

$$\begin{bmatrix} m \\ q \end{bmatrix} = (G^T \Sigma_v^{-1} G)^{-1} G^T \Sigma_v^{-1} z$$

con la matrice peso Σ_v :

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & 1 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 1 \end{pmatrix}$$

Il parametro BP

Un altro parametro che si può ottenere dalle analisi con il metodo Logan è il Potenziale di Legame (BP, Binding Potential). Il BP è pari al valore di recettori presenti nel pixel (Bmax) diviso per l'affinità del tracciante (K_d) ai recettori:

$$(BP = \frac{B_{max}}{K_d})$$

Siccome l'affinità del tracciante è costante, variazioni di BP indicano variazioni del numero di recettori. Per calcolare il BP è necessario stimare il V_d nella regione di riferimento e in tutti i voxel (o ROI) dell'immagine, BP è dato da:

$$BP = \frac{V_d - V_d^{reference}}{V_d^{reference}}$$

Variante di Logan in assenza di misure plasmatiche

Per stimare il V_d con il metodo Logan si necessita della misura plasmatica (invasiva), esiste tuttavia una variante di Logan che permette di stimare il Binding Potential senza che sia richiesta tale misura. L'unica differenza è che ora si considera per $t > t^*$:

$$x = \frac{\int_0^t C_{reference}(\tau) d\tau}{C_{measured}(t)}$$

$$y = \frac{\int_0^t C_{measured}(\tau) d\tau}{C_{measured}(t)}$$

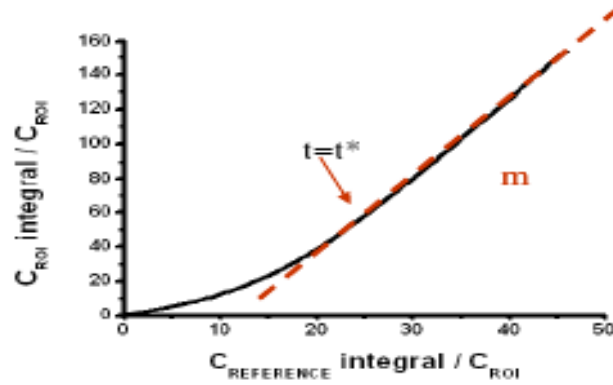


Figura 3.17: *Logan GA con reference*

In questo contesto $BP = m - 1$. Quindi per l'analisi dei dati PIB-PET, se si individua correttamente la reference region, si può ovviare alle misure invasive della plasmatica. Nella pratica medica la reference region viene tracciata manualmente nella maggior parte dei casi, questo comporta un dispendio di tempo e un'ampia variabilità nei risultati ottenibili. Nel capitolo 3.7 vengono spiegate queste problematiche.

Vantaggi e svantaggi del Logan GA

Pro:

- Velocità computazionale.
- Non richiede un modello compartimentale definito.
- L'utilizzo della variante con l'uso della reference region lo rende molto versatile.

Contro:

- Non permette di stimare i singoli parametri cinetici.
- Le stime sono affette da errore.
- La scelta di t^* può essere non banale e influenzare il risultato.

Applicazione metodo Logan Per tutti i soggetti del dataset è stato applicato il metodo Logan a livello voxel. In questo modo per tutti i voxel compresi nella maschera binaria, è stato stimato il parametro V_d . Dai risultati ottenuti vengono generate delle mappe parametriche per ogni slice, che permettono di studiare la distribuzione del tracciante nelle diverse aree cerebrali. In questa analisi è stata utilizzata la funzione $C_p(t)$ corretta per i metaboliti, specifica per ogni soggetto.

3.5 Logan livello ROI

Come descritto nel capitolo precedente, il metodo Logan si può applicare anche a livello ROI (Region Of Interest), stimando i volumi di distribuzione di tracciante (V_d) in tutte le regioni.

In questa analisi a livello ROI sono state utilizzate due differenti funzioni di concentrazione plasmatica del tracciante:

1. $C_p^{ind}(t)$: concentrazione plasmatica ottenuta dai dati forniti, specifica per ogni soggetto in esame;

2. $C_p^{pop}(t)$: curva plasmatica ottenuta con la correzione dei metaboliti con approccio di popolazione.

Per ogni regione si otterranno quindi due V_d : uno utilizzando la funzione $C_p^{ind}(t)$ e l'altro con la funzione $C_p^{pop}(t)$.

Le ROI coinvolte in queste analisi sono così denominate:

CER-CIRC-C, CER-GMC-C, CER-GMCS-C, CER-RVPC-C, CER-RVPCS-C, CERFULLC-C (Cerebellum-full), CERFULLCS-C, NCERFULLC-C, CIN (Cingulate) CINL-L (Cingulate Left) CINR-R (Cingulate Right), GCIRC-C (Gcircular), GCIRCS-C, GCIRNEWCS-C, CERS-CIRCS-C, HIP (Hippocampus), HIPL-L (Hippocampus Left), HIPR-R (Hippocampus Right), PFC (Prefrontal Cortex), PFCL-L (Prefrontal Cortex Left), PFCR-R (Prefrontal Cortex Right), PIP (Parahippocampal gyrus), PIPL-L, (Parahippocampal gyrus Left), PIPR-R (Parahippocampal gyrus Right).

Per alcuni soggetti non si hanno i dati di tutte le ROI, tuttavia in questi casi le ROI mancanti sono limitate a poche unità.

3.6 EBEGA

Il volume di distribuzione del tracciante (V_d), ricavato dalle analisi grafiche (Logan GA) dei dati PET a livello voxel, è soggetto ad errore bias, fornendo risultati con varianza significativa ed immagini dipendenti da rumore. Per ridurre questi inconvenienti si può utilizzare un approccio bayesiano per migliorare le stime del parametro V_d a livello voxel, chiamato Empirical Bayesian Estimation in Graphical Analysis (EBEGA) [5].

Il metodo EBEGA determina le informazioni a priori direttamente dai dati PET in maniera completamente automatica. Queste sono espresse da una probability density function (PDF). Grazie allo stimatore MAP, la distribuzione a posteriori dei parametri sarà il risultato dell'interazione dell'informazione a priori con la likelihood dei dati osservati R_i .

In queste analisi i parametri da stimare sono β_{MAP} e γ_{MAP} , dove β_{MAP} rap-

presenta il parametro fisiologico V_d . L'obiettivo della stima MAP è scegliere i parametri β e γ tali da massimizzare la PDF a posteriori, assumendo una distribuzione gaussiana della PDF a priori dei parametri β e γ , β_{MAP} e γ_{MAP} .

$$\begin{bmatrix} \hat{\beta}_{MAP} \\ \hat{\gamma}_{MAP} \end{bmatrix} = \underset{\beta, \gamma}{\operatorname{argmin}} \left\{ [R_i^*(\beta, \gamma) - R_i]^T W^{-1} [R_i^*(\beta, \gamma) - R_i] + \left(\begin{bmatrix} \beta \\ \gamma \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} \bar{\beta} \\ \bar{\gamma} \end{bmatrix} \right)^T \Sigma^{-1} \left(\begin{bmatrix} \beta \\ \gamma \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} \bar{\beta} \\ \bar{\gamma} \end{bmatrix} \right) \right\}$$

dove W è la matrice diagonale dei pesi w_i , $i=k, k+1, \dots, n$, e Σ , $\bar{\beta}$ e $\bar{\gamma}$ sono rispettivamente la matrice di covarianza a priori e la media di β e γ . $\hat{\beta}_{MAP}$ e $\hat{\gamma}_{MAP}$ sono ottenuti minimizzando l'equazione scritta sopra con algoritmi di ottimizzazione non lineare, scegliendo tra tutte le possibili scelte di β e γ . L'EBEGA comprende anche l'esecuzione di un algoritmo di clustering, perciò ciascun voxel sarà allocato in un cluster specifico. Ogni cluster contiene le informazioni a priori, utilizzate per la stima di $\hat{\beta}_{MAP}$ e $\hat{\gamma}_{MAP}$ da tutti i voxel appartenenti a quel cluster.

Questi sono gli step eseguiti per ottenere la stima dei parametri $\hat{\beta}_{MAP}$ e $\hat{\gamma}_{MAP}$ con il metodo EBEGA:

a) Clustering

Il primo passo consiste nel creare un set iniziale di cluster, tali da identificare le differenti cinetiche presenti nel cervello.

Questi cluster saranno utili per fornire l'informazione a priori per ogni voxel. L'algoritmo di clustering utilizzato è il k-means, con K cluster, ripetuto più volte.

Il numero di cluster K è stato individuato automaticamente per ogni soggetto, applicando un algoritmo di clustering [3] su un subset di TAC (Time Activity Curves). Questo algoritmo è stato applicato considerando un 5% di TAC rispetto al totale, scelte in maniera random. Ogni TAC è considerata come un potenziale centroide e ad essa viene associato un potenziale P_i , che iterativamente viene aggiornato finchè tutte le TAC non si trovino entro una certa distanza d dai centroidi a cui appartengono.

La distanza d è decisiva nella determinazione del numero di cluster k , infatti valori piccoli di d comportano valori alti di K , mentre valori alti di d (quindi distanze più ampie tra dati e centroidi) comportano valori piccoli di K . La distanza dunque determina il livello di definizione per l'algoritmo di clustering. La distanza d è stata scelta empiricamente in un range di valori tra 0.08 e 0.5. Per i dati analizzati la scelta migliore si è rivelata essere $d=0.14$. Un altro parametro decisivo in questo algoritmo, che può influenzare il valore di K , è il numero di TAC considerate in maniera random. Se le TAC scelte sono troppo poche il risultato non è attendibile perciò, nelle valutazioni fatte in questo lavoro, considerare circa il 5% di TAC sul totale si è rivelata una scelta stabile.

Questo è l'algoritmo utilizzato per la scelta automatica del numero di cluster:

1. Scelgo un dataset $x_1, x_2, \dots, x_n$ dove x_i è il vettore dati per il voxel i .

2. Per ogni dato x_i misuro il potenziale ad esso associato: $P_i = \sum_{j=0}^n e^{-\alpha \|x_i - x_j\|^2}$

in cui r_a è la distanza d descritta sopra.

$$\alpha = \frac{4}{r_a^2}$$

3. Seleziono come primo cluster quello con potenziale maggiore:

$$x_1^* = cluster_1$$

4. Aggiorno il potenziale di tutti gli altri dati

$$P_i = P_i - P_i^* e^{-\beta \|x_i - x_1^*\|^2}$$

$$\text{con } \beta = \frac{4}{r_b^2}$$

5. Seleziono il dato x_i che ha il potenziale maggiore tra i rimanenti dati, questo costituirà il 2° centroide.

6. Per tutti gli altri cluster, una volta scelto il k-esimo cluster, ricalcolo tutti gli altri potenziali in questo modo:

$$P_i = P_i - P_k^* e^{-\beta \|x_i - x_k^*\|^2}$$

7. Si procede secondo i criteri dettati dal seguente algoritmo:

If $P_k > \epsilon_{sup}$

accetta x_k^* come centroide e continua

else if $P_k^* < \epsilon_{inf}$

rifiuta x_k^* e finisci algoritmo clustering

else

calcola d_{min} = distanza minima tra x_k^* e tutti i centroidi trovati

in precedenza

if $\frac{d_{min}}{r_a} + \frac{P_k^*}{P_1^*} \geq 1$

accetta x_k^* come centroide e continua

else

rifiuta x_k^* e imposta il potenziale di x_k^* a 0. Seleziona il dato con il prossimo potenziale maggiore come nuovo x_k^* e rifai la verifica.

endif

endif

con $\epsilon_{inf} = 0.15$ e $\epsilon_{sup} = 0.5$

Una volta ottenuto il numero di cluster K , procedo con l'applicazione dell'algoritmo di clustering k-means (MacQueen, 1967). Il numero di cluster e i grafici con la distribuzione dei voxel nei cluster sono stati salvati per le successive analisi.

k-means è un algoritmo di clustering non gerarchico che suddivide le N osservazioni del dataset in K cluster. L'algoritmo è iterativo e mira a minimizzare la funzione obiettivo:

$$J = \sum_{n=1}^N \sum_{k=1}^K ||x_n - \mu_k||^2$$

con N dati e K centroidi, in cui $r_{nk} = \{0, 1\}$ stabilisce se assegnare o meno il dato x_n al cluster k , μ_k è il centroide k .

b) Informazione a priori

Per ricavare le informazioni a priori per la stima dei parametri con il metodo EBEGA, si utilizzano i dati di tutte le TAC. Si calcolano:

- La TAC media ottenuta da tutte le TAC appartenenti ad un cluster. Da questi dati si ricavano i corrispondenti $\hat{\beta}_{mean}$ e $\hat{\gamma}_{mean}$.
- La TAC media più la standard deviation (SD) valutata per ogni istante temporale. Da questi dati si ricavano i corrispondenti $\hat{\beta}_{SD+}$ e $\hat{\gamma}_{SD+}$.
- La TAC media meno la standard deviation (SD) valutata per ogni istante temporale. Da questi dati si ricavano i corrispondenti $\hat{\beta}_{SD-}$ e $\hat{\gamma}_{SD-}$.

Queste stime ($\hat{\beta}_{mean}$ e $\hat{\gamma}_{mean}$, $\hat{\beta}_{SD+}$ e $\hat{\gamma}_{SD+}$, $\hat{\beta}_{SD-}$ e $\hat{\gamma}_{SD-}$) rappresentano le basi per costruire le informazioni a priori per ogni cluster:

$$\bar{\beta} = \hat{\beta}_{mean}$$

$$\hat{\gamma} = \hat{\gamma}_{mean}$$

$$\Sigma = diag[\sigma_{\beta}^2 \sigma_{\beta}^2]$$

dove: $\sigma_\beta = \min[|\hat{\beta}_{mean} - \hat{\beta}_{SD-}|, |\hat{\beta}_{mean} - \hat{\beta}_{SD+}|]$

e $\sigma_\gamma = \min[|\hat{\gamma}_{mean} - \hat{\gamma}_{SD-}|, |\hat{\gamma}_{mean} - \hat{\gamma}_{SD+}|]$

c) Stima MAP

Per eseguire la stima MAP di ogni voxel seguo questa procedura:

- (1) trovo il cluster a cui appartiene il voxel;
- (2) utilizzo l'informazione a priori relativa al cluster selezionato;
- (3) eseguo la stima MAP per ricavare $\bar{\beta}$ e $\bar{\gamma}$.

Espressione analitica Stima MAP:

$$p_{MAP} = ((G^T * \Sigma^{-1} * G + \Sigma_{MAP}^{-1}) * (G^T * \Sigma^{-1} * z + \Sigma_{MAP}^{-1} * \mu_{MAP}))$$

con la matrice peso Σ :

$$\Sigma = \begin{pmatrix} \sigma_1 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & \sigma_2 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & \sigma_M \end{pmatrix}$$

in cui $\sigma_i = \frac{\text{valorecentroide}}{\text{delta}_t}$.

I dati così stimati formano delle mappe parametriche per ogni soggetto, contenenti i valori di V_d .

Per vedere i listati delle procedure in codice matlab vedere l'Appendice.

3.7 MVW-PCA

La Principal Component Analysis (PCA) è un valido strumento per lo studio di immagini PET che permette di evidenziare le differenti cinetiche del tracciante. Può rappresentare un valido supporto per l'applicazione medica al fine di discernere pazienti con AD da pazienti MCI o dai soggetti sani (vedi

Fig. 3.19 e Fi. 3.20). In questo contesto la Masked Volumewise Principal-Component Analysis (MVW-PCA) viene utilizzata per l'individuazione automatica della reference region. Questo metodo presenta dei vantaggi rispetto alle tecniche di individuazione manuale della reference, basate sul confronto di immagini MRI e immagini sommate lungo gli istanti temporali. Le immagini sommate tendono infatti a ridurre sia il contrasto tra le regioni del cervello, sia la differenza all'interno di tali aree che presentano varie cinetiche del tracciante. Inoltre, se la reference region viene tracciata manualmente, ci saranno un dispendio di tempo ed una variabilità dipendente da chi la disegna.

Le caratteristiche degli studi PET rendono difficoltosa l'analisi dei dati, soprattutto a causa del rumore insito nei dati stessi. A differenza delle altre tecniche, utilizzando la Masked Volumewise Principal-Component Analysis (MVW-PCA) in studi [11]C-PIB PET, si ottengono immagini con più alto signal-to-noise ratio (SNR) e valori tali da facilitare la diagnosi del soggetto analizzato. Inoltre le immagini presentano informazioni anatomiche più dettagliate, di maggior qualità e precisione rispetto alle analisi delle immagini sommate nel tempo [11] (vedi Fig. 3.18 e Fig. 3.19).

Applicazione della MVW-PCA

Il metodo MVW-PCA utilizza come input le immagini PET a cui è stata applicata una maschera binaria. Per questi dati viene adottata una tecnica per la correzione del rumore che mira a ridurre l'effetto, così da migliorare la qualità delle immagini e visualizzare le variazioni significative della cinetica del tracciante. Il livello di rumore nelle immagini PET può essere elevato e ciò a causa di diversi fattori tra i quali il sistema di rivelamento, gli algoritmi di ricostruzione, tipo di scansioni ed altro, descritti in varie pubblicazioni (Holm et al., 1996, Tsui, 1977, Faulkner and Moores, 1984, Razifar et al., 2005a,b). Questo metodo calcola la standard deviation del rumore (SD_n) nelle zone esterne all'area cerebrale, per ogni istante temporale. Successivamente le

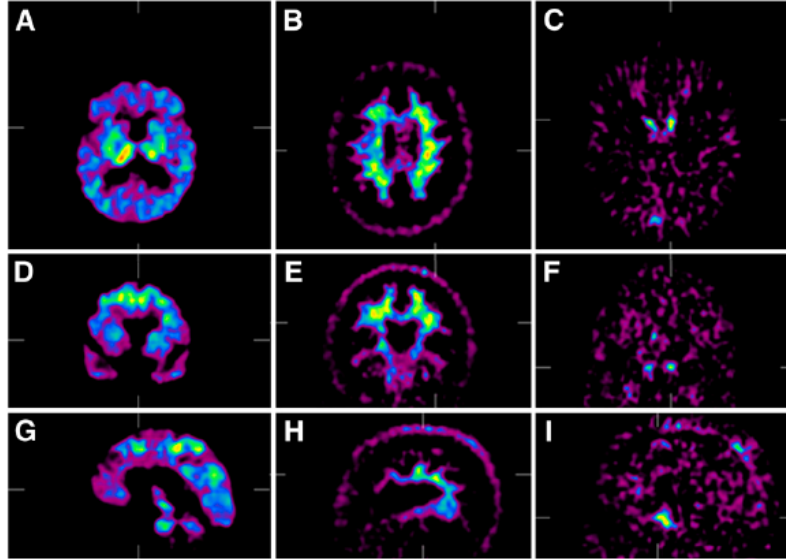


Figura 3.18: *MVW-PCA HC*

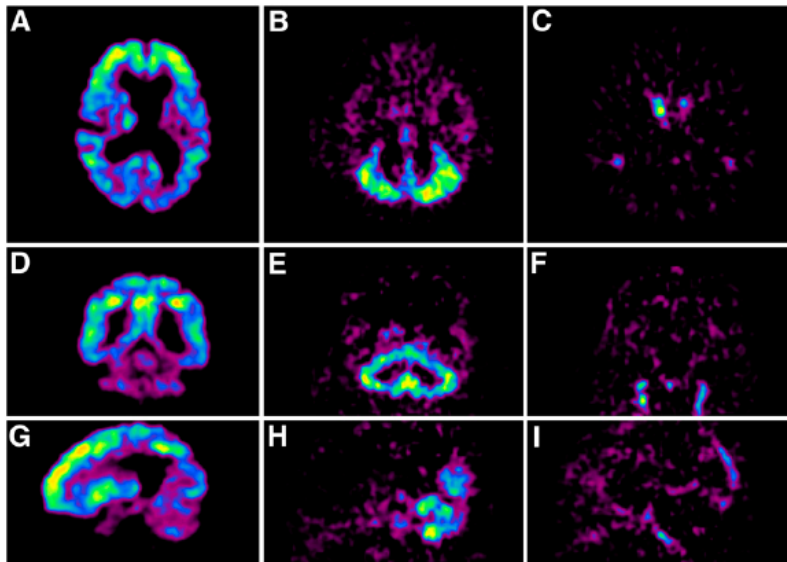


Figura 3.19: *MVW-PCA AD*

slice per ogni frame vengono divise per questo valore SD_n [12].

Dopo queste correzioni sulle immagini PET, si applica la PCA che permette di ottenere le varie componenti principali. In questo lavoro i dati opportunamente preparati, sono stati analizzati con la funzione *princomp* di matlab. Le prime 3 componenti principali (PC1, PC2, PC3) sono le più significative, in quanto differenziano le caratteristiche delle cinetiche del tracciante [11C]PIB nei pazienti con AD e nei soggetti sani (HC). L'algoritmo in seguito descritto utilizza la seconda componente principale (PC2) per ricavare in maniera automatica la regione di riferimento:

1. Uso la MVW-PC2 come dato input (vedi Fig 3.4).
2. Creo una maschera binaria della MVW-PC2 utilizzando il metodo di Otsu [9]. Questo metodo divide i pixel dell'immagine in due classi, con un algoritmo che determina la soglia t ottima di separazione tra le due. L'algoritmo di Otsu cerca la soglia che minimizza la varianza intra-classe, definita come somma pesata della varianza delle due classi:

$$\sigma_w^2(t) = w_1(t)\sigma_1^2(t) + w_2(t)\sigma_2^2(t)$$

in cui w_i rappresentano i pesi e σ_i le varianze.

Minimizzare la varianza intra-classe è equivalente a massimizzare la varianza inter-classe:

$$\sigma_b^2(t) = \sigma^2 - \sigma_w^2 = w_1(t)w_2(t)[\mu_1(t) - \mu_2(t)]$$

in cui μ_i è la media per la classe i , w_i è il peso associato alla classe i . w_i viene calcolato come probabilità dei pixel ad appartenere alla classe i , ad una certa soglia t .

3. Seleziono gli oggetti con area di almeno 250 pixel, per ogni slice.
4. Riempio le parti vuote (buchi) nell'area selezionata per ogni slice.
5. Salvo le coordinate dei pixel selezionati (vedi Fig 3.18).

3. Materiali e metodi

6. Calcolo la media dell'andamento dei pixel selezionati in questa regione, utilizzando i dati PET acquisiti.
7. Visualizzo la TAC delle regioni per ogni slice.
8. Definisco i pixel di contorno dell'area selezionata.
9. Confronto quest'area definita dal contorno con le altre immagini PC1, PC3 (vedi Fig 3.18).

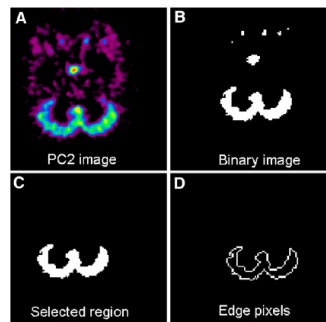


Figura 3.20: *Step algoritmo per individuare la reference region*

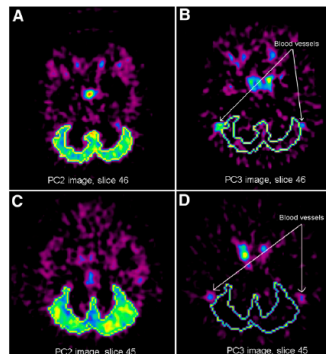


Figura 3.21: *Reference region confrontata con altre immagini*

Capitolo 4

Risultati e confronti

In questo capitolo vengono presentati i risultati principali delle analisi condotte sulle immagini PET di tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$. Per ogni metodo si espongono solo i dati più significativi, senza trascurare le descrizioni che rappresentano le analisi sull'intero dataset.

Nella prima sezione troviamo le maschere binarie, utili per le applicazioni successive. A seguire vengono elencati i risultati di alcuni modelli per la correzione per i metaboliti.

È data particolare attenzione ai metodi per la stima dei parametri nelle region-of-interest (ROI), confrontando l'approccio con la curva plasmatica ricavata individualmente e con quella di popolazione. Nelle stime a livello voxel riportiamo le analisi con il metodo Logan GA e con il metodo EBEGA. Nell'ultima sezione proponiamo quanto è stato ottenuto dall'applicazione della MVW-PCA, per aumentare il contrasto delle immagini al fine di distinguere i tessuti cerebrali. In alcuni casi dalla MVW-PCA è stato possibile tracciare la regione di riferimento in modo automatico.

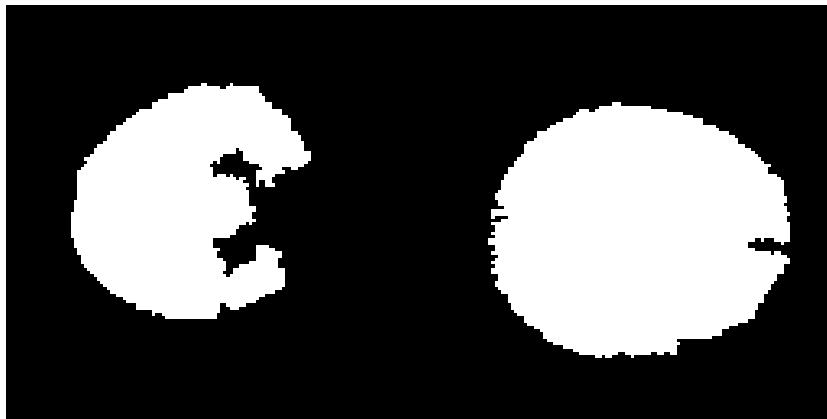
4.1 Creazione maschera binaria

Riportiamo alcuni esempi della maschera binaria, ottenuta secondo quanto descritto nel capitolo precedente. Per ogni soggetto e per ogni slice è stata

ricavata una maschera binaria 2D, che ha permesso di analizzare solamente la regione cerebrale. Nei metodi a livello voxel infatti, grazie alla maschera binaria, si considerano esclusivamente i voxel di interesse, riducendo i tempi computazionali.

Grazie alla valutazione sulle connessioni 3D e 2D dei voxel, la maschera comprende tutta la regione cerebrale di interesse. È stato poi possibile eliminare le regioni anatomiche da escludere (ad esempio il naso), basandosi sulla collocazione spaziale dei voxel.

Con la maschera binaria inoltre si escludono i voxel considerati rumorosi.



(a) *Soggetto 6, slice 16*

(b) *Soggetto 14, slice 40*

Figura 4.1: *Esempi di maschera binaria*

4.2 Correzione per i metaboliti

Dell'intero dataset elaborato, vengono qui riportati solamente i grafici relativi a due soggetti, NHBTA018 (AD) e NHBTA039 (HC), considerati rappresentativi. Le elaborazioni sono fatte per ogni soggetto. Si veda la Tabella 4.1 per i risultati complessivi.

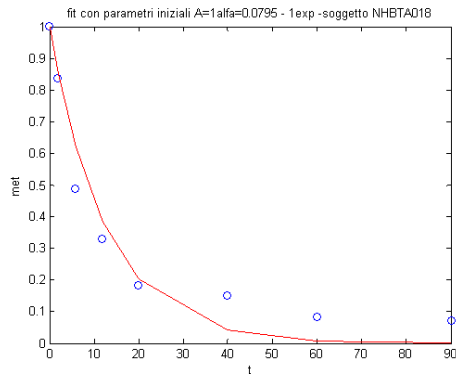
I grafici di Fig. 4.3 e 4.7 descrivono l'andamento della frazione di tracciante nel plasma rispetto ai metaboliti, con i dati forniti dal dataset e le curve ottenute utilizzando i tre modelli matematici (uno, due e tre esponenziali) prima dell'applicazione della stima WNLS.

I parametri di questi modelli sono ricavati da una media sui parametri stessi, ottenuti da una prima stima WNLS. Questi costituiscono perciò i parametri iniziali per tutti i soggetti.

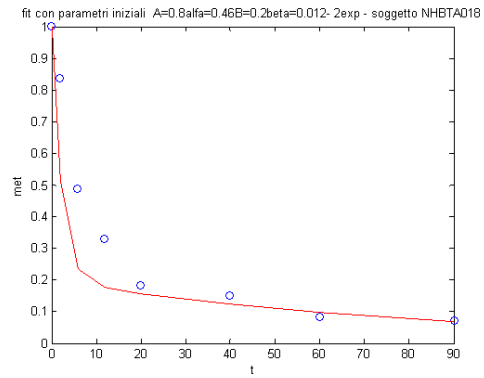
Nelle figure 4.4 e 4.8 troviamo per ogni modello le curve stimate con il metodo WNLS. Come si può notare le curve con i parametri stimati nel modello a due e tre esponenziali descrivono bene l'andamento dei dati, mentre del modello ad un esponenziale non si può dire altrettanto. I modelli a due e tre esponenziali sono risultati i migliori per tutti i soggetti analizzati. Per valutare la bontà del fit, si sono analizzati i residui pesati (Fig. 4.5 e 4.9), mentre per la scelta finale del modello da utilizzare ci si avvale del criterio di Akaike (vedi risultati nella Tab. 4.1).

Le figure 4.6 e 4.10 riportano gli andamenti delle curve plasmatiche non corrette e quelle corrette per i metaboliti. Grazie a questi grafici è possibile notare come l'andamento della plasmatica corretta rifletta quello reale; dopo il picco iniziale, la curva decresce tendendo a zero, mentre nella curva dell'andamento della plasmatica non corretta si ha una fase di plateau positivo.

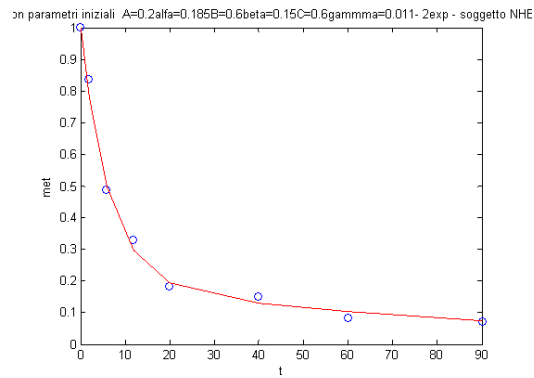
4. Risultati e confronti



(a) Modello 1exp



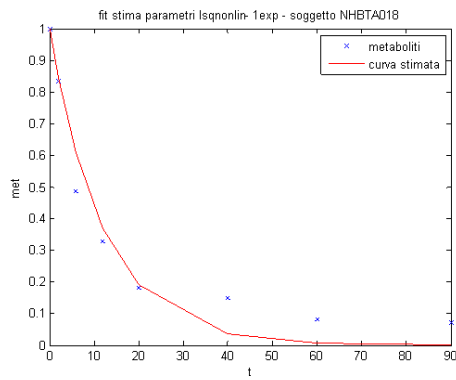
(b) Modello 2exp



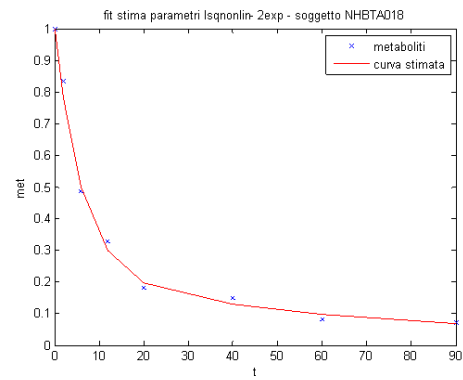
(c) Modello 3exp

Figura 4.2: *NHBT A018* - Andamento (pre-stima) curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti

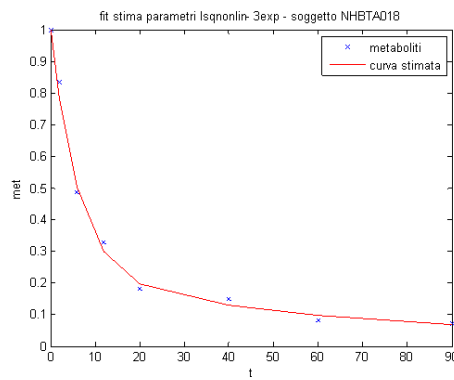
Correzione per i metaboliti



(a) Modello 1exp



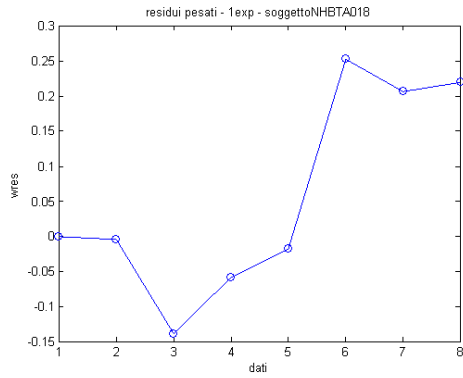
(b) Modello 2exp



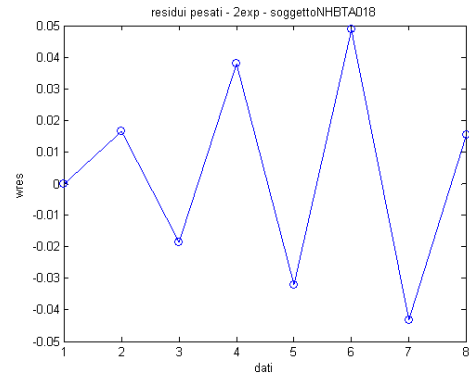
(c) Modello 3exp

Figura 4.3: *NHBT A018* -Andamento curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti, con parametri da WNLS

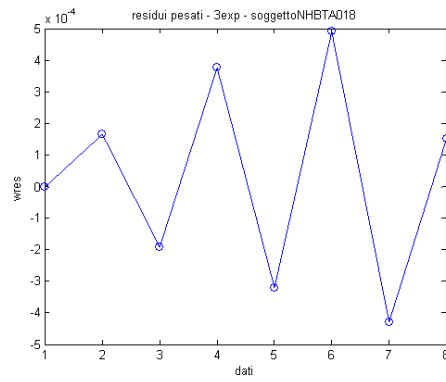
4. Risultati e confronti



(a) *Modello 1exp*



(b) *Modello 2exp*



(c) *Modello 3exp*

Figura 4.4: *NHBT018 -Residui pesati*

Correzione per i metaboliti

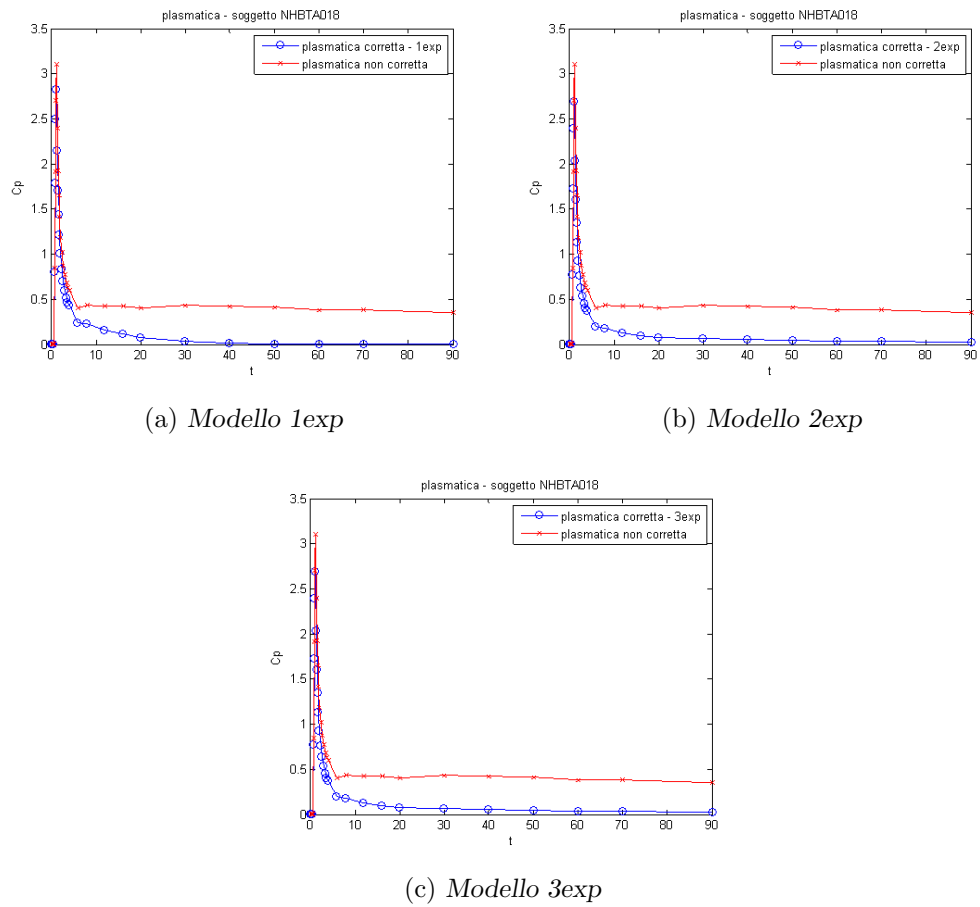
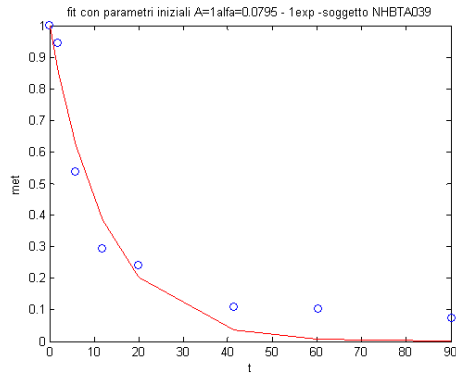
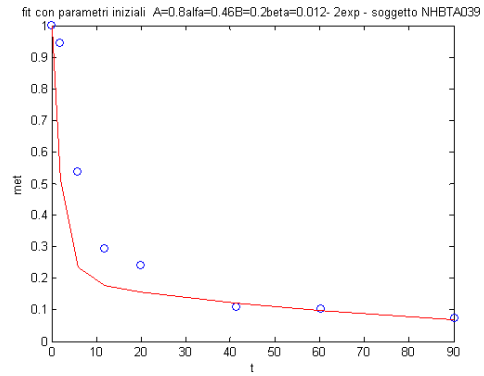


Figura 4.5: *NHBTA018 -Curve concentrazione plasmatica*

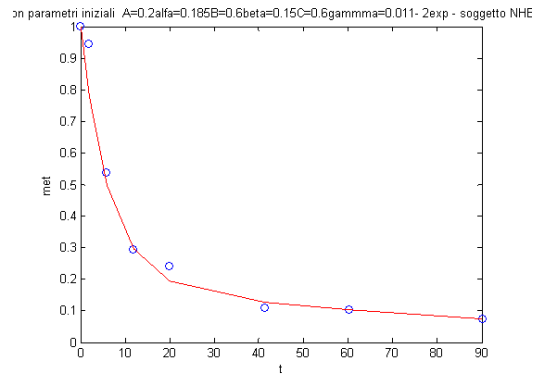
4. Risultati e confronti



(a) Modello 1exp



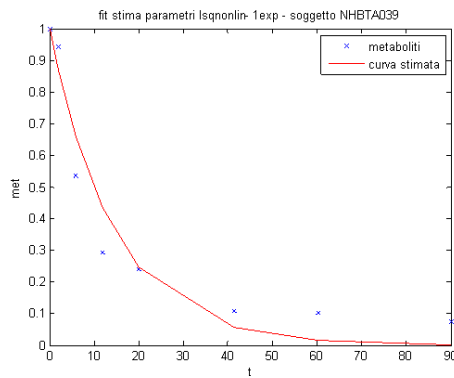
(b) Modello 2exp



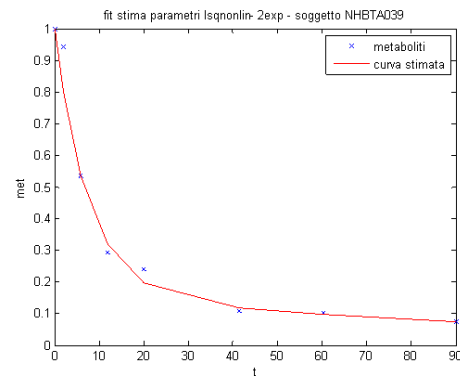
(c) Modello 3exp

Figura 4.6: *NHBT39* - Andamento (pre-stima) curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti

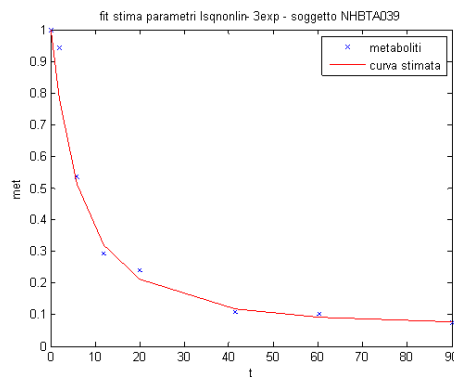
Correzione per i metaboliti



(a) Modello 1exp



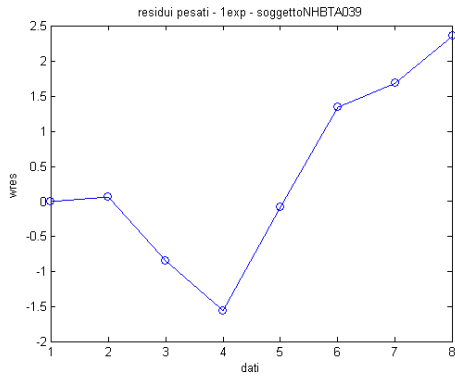
(b) Modello 2exp



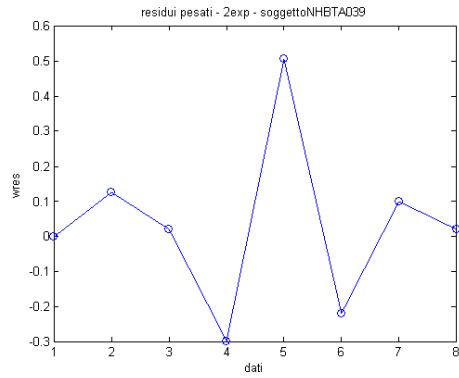
(c) Modello 3exp

Figura 4.7: *NHBTA039* -Andamento curve frazione tracciante rispetto ai metaboliti, con parametri da WNLS

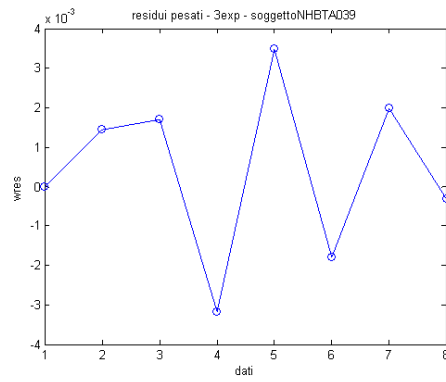
4. Risultati e confronti



(a) Modello 1exp



(b) Modello 2exp



(c) Modello 3exp

Figura 4.8: NHBT039 -Residui pesati

Correzione per i metaboliti

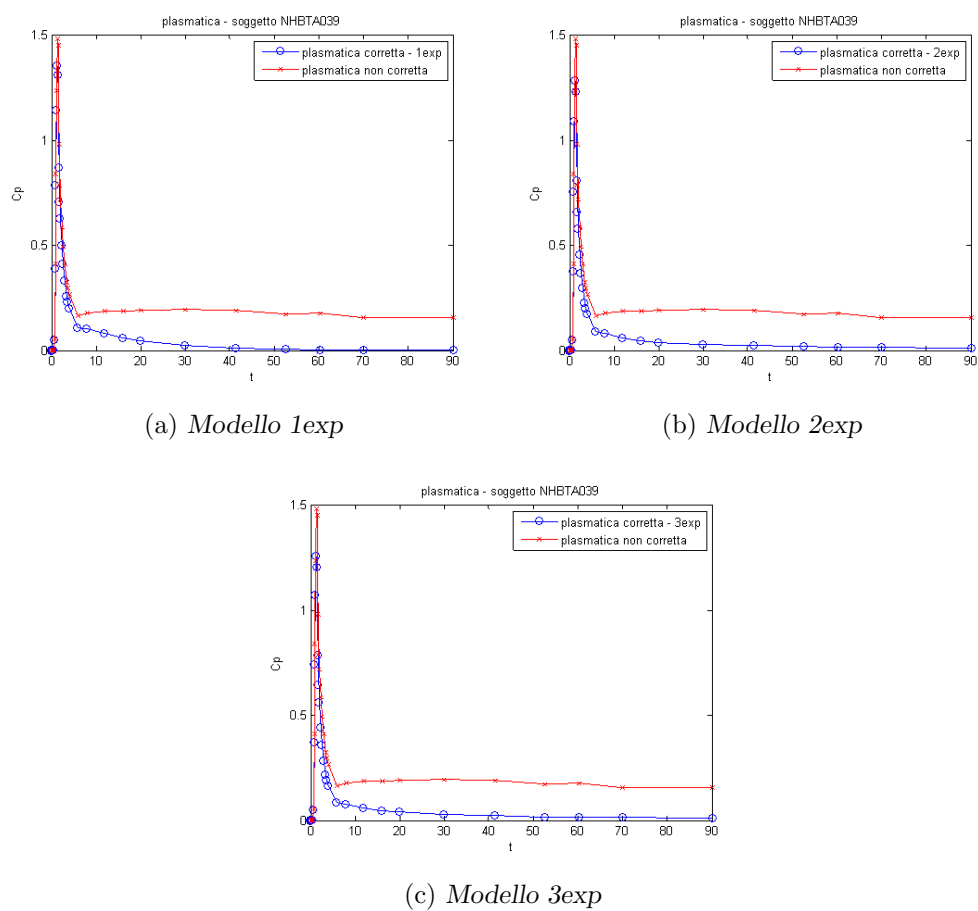


Figura 4.9: *NHBTA039 -Curve concentrazione plasmatica*

1 exp	media e sd soggetti	media e sd HC	media e sd AD
WRSS	6,33	8,43	2,40
AIC	8,33 +/- 10	10,43 +/-12,42	4,40 +/-2,83

2 exp	media e sd soggetti	media e sd HC	media e sd AD
WRSS	0,15	0,18	0,08
AIC	6,15 +/-0,24	6,18 +/-0,29	6,08 +/-0,12

3 exp	media e sd soggetti	media e sd HC	media e sd AD
WRSS	0,00	0,00	0,00
AIC	10 +/-0	10 +/-0	10 +/-0

Tabella 4.1: *Tabella con analisi del fit per la curva tracciante-metaboliti*

La Tabella 4.1 presenta i risultati medi ottenuti per i tre modelli. Media e sd soggetti, media e sd HC e media e sd AD si riferiscono rispettivamente all'analisi di tutti i ventuno soggetti, dei soli controlli e dei soli malati di Alzheimer.

Si può notare come il modello a due esponenziali sia quello con AIC minore, perciò questo fungerà da riferimento per l'ottenimento della curva plasmatica corretta per il metaboliti.

4.3 Logan livello voxel

Con il metodo Logan a livello voxel sono state ottenute le mappe parametriche di V_d , e i relativi coefficienti di variazione CV.

Riportiamo alcuni esempi riguardanti due soggetti sani e due malati, nei quali è possibile individuare le regioni con elevato volume di distribuzione di tracciante. Queste immagini consentono di differenziare i soggetti sani dai soggetti malati. Oltre a livelli di V_d differenti, le due categorie di soggetti sono distinte anche per la localizzazione spaziale delle zone ad alto V_d . Ana-

Logan livello voxel

lizzando tutti i casi si nota infatti che i soggetti AD presentano molto spesso una distribuzione asimmetrica del tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$, questo dato si può attribuire alla diversa disposizione della placche di beta amiloide. Oltre a questo, nei soggetti malati di Alzheimer il tracciante localizza le placche di beta amiloide in regioni differenti rispetto ai soggetti sani.

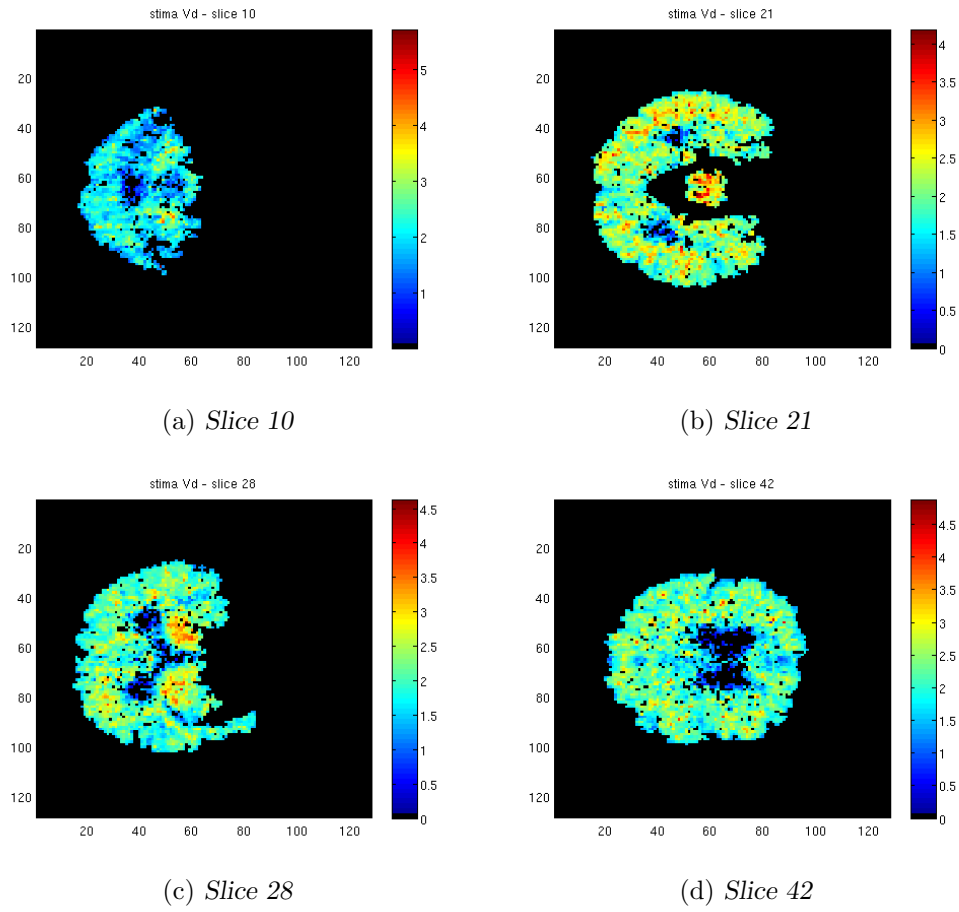


Figura 4.10: *NHBTA005 (HC) - V_d stimato con Logan Graphical Analysis*

4. Risultati e confronti

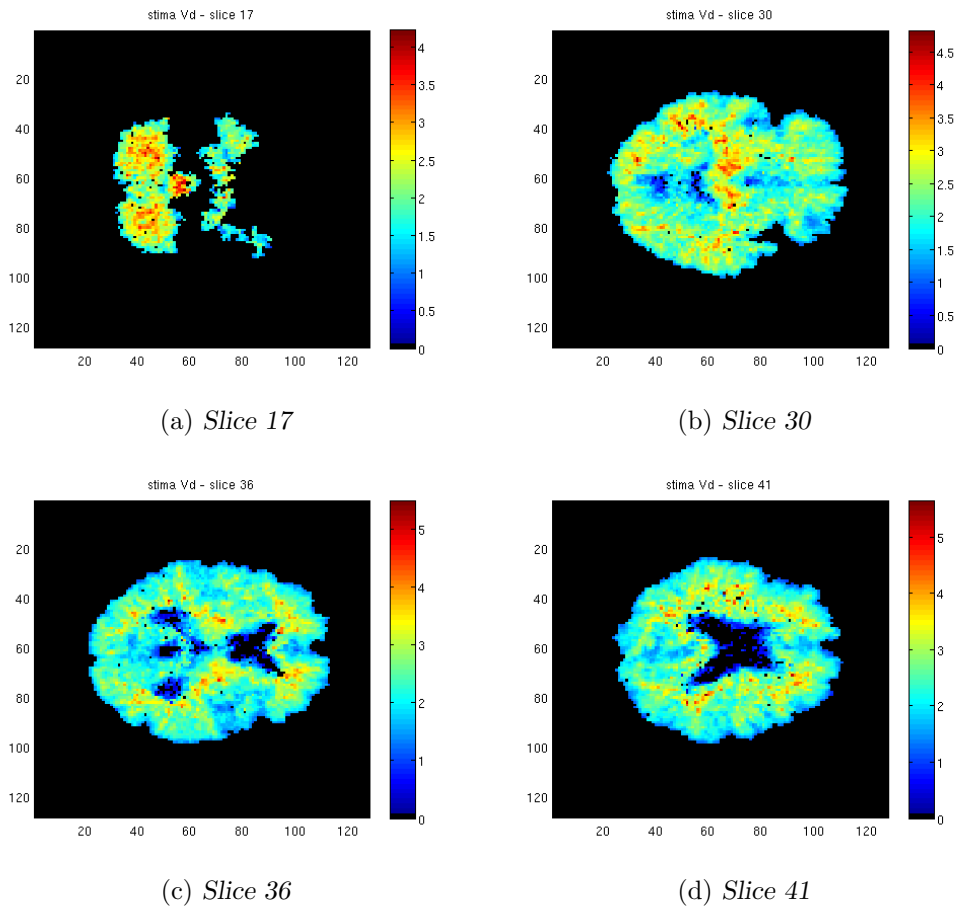


Figura 4.11: *NHBTA010 (HC) - V_d stimato con Logan Graphical Analysis*

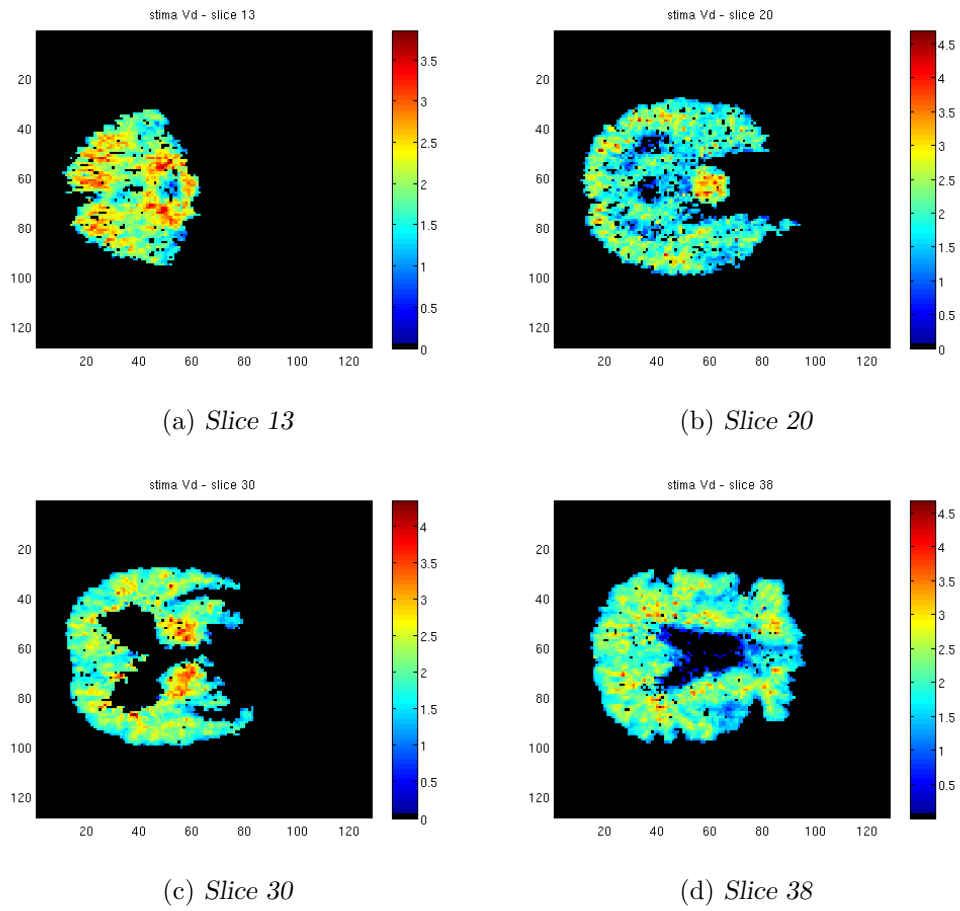


Figura 4.12: NHBTA009 (AD) - V_d stimato con Logan Graphical Analysis

4. Risultati e confronti

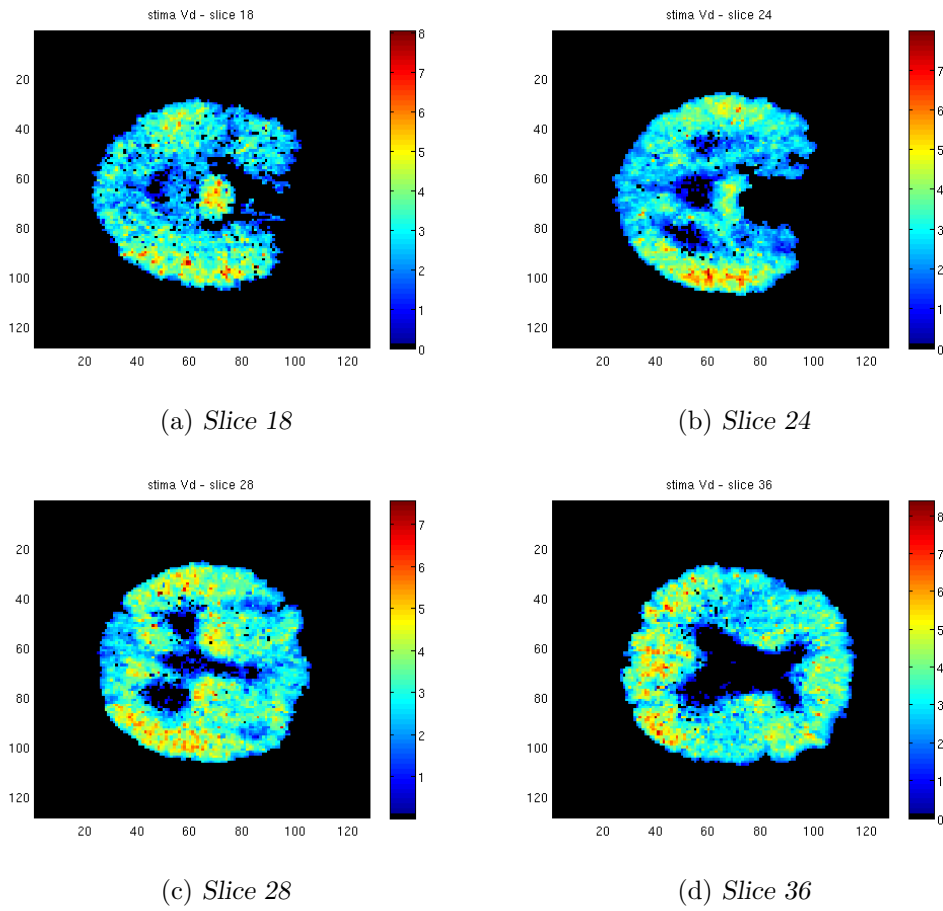


Figura 4.13: *NHBTA013 (AD) - V_d stimato con Logan Graphical Analysis*

Note sui risultati V_d

Il metodo Logan stima il parametro V_d per ogni voxel di interesse, tuttavia se in quel voxel la presenza di rumore è elevata allora non è possibile stimare correttamente il volume di distribuzione del tracciante. Nel metodo Logan infatti si utilizzano le acquisizioni nei vari istanti temporali, ma se alcune di queste risultano non fisiologiche (cioè negative) allora vengono escluse e la curva viene interpolata basandosi sugli altri dati.

Se molte delle acquisizioni risultano non fisiologiche, allora il parametro V_d viene posto a zero, assumendo che in quel voxel il livello di rumore sia troppo elevato per poter effettuare una stima significativa. In questo caso nelle immagini parametriche compaiono dei voxel in cui $V_d=0$, anche se nei voxel adiacenti la stima è effettuata correttamente.

Questo metodo ha fornito risultati utili in modo veloce e stabile. Per ogni soggetto le mappe dei V_d e dei corrispettivi CV (Coefficienti di Variazione) sono stati salvati in matrici 3D.

4.4 Logan livello ROI

Per tutti i soggetti e per tutte le regioni è stato applicato il metodo Logan a livello ROI, per ottenere i volumi di distribuzione V_d^{ind} e V_d^{pop} , utilizzando rispettivamente la funzione $Cp_{ind}(t)$ e $Cp_{pop}(t)$.

$Cp_{ind}(t)$ è la concentrazione plasmatica di tracciante ottenuta specificatamente per ciascun soggetto, seguendo i metodi proposti nelle sezioni precedenti. $Cp_{pop}(t)$ è la concentrazione plasmatica di tracciante ottenuta con la correzione dei metaboliti con approccio di popolazione.

I risultati del metodo Logan a livello voxel sono stati messi a confronto eseguendo delle analisi statistiche, questo ha permesso di valutare vantaggi e svantaggi nell'utilizzare la $Cp_{ind}(t)$ e la $Cp_{pop}(t)$ e capire se l'approccio di popolazione può considerarsi valido nelle analisi di dati PET.

4. Risultati e confronti

Come prima cosa si valutano le differenze percentuali tra V_d^{ind} e V_d^{pop} per tutte le regioni di interesse (ROI): $variazione = [(V_d^{pop} - V_d^{ind})/V_d^{ind}] * 100$. Elenchiamo in questa tabella solo le variazioni medie (%) tra V_d^{ind} e V_d^{pop} per ogni soggetto:

Soggetto	Variazione (%)
NHBTA001	0,87
NHBTA002	-1,68
NHBTA003	-3,35
NHBTA004	1,27
NHBTA005	-2,72
NHBTA006	-17,47
NHBTA007	8,86
NHBTA009	-10,51
NHBTA010	-7,87
NHBTA011	-3,14
NHBTA012	-14,33
NHBTA013	-5,36
NHBTA014	-49,6
NHBTA015	-6,72
NHBTA017	8,85
NHBTA018	30,66
NHBTA019	-2,6
NHBTA020	3,83
NHBTA023	12,45
NHBTA039	0,66
NHBTA055	-1,07

La variazione percentuale media tra tutti i V_d calcolati è del -2,81%. Questi dati hanno fornito le prime indicazioni sul possibile utilizzo della $Cp_{pop}(t)$ anziché della $Cp_{ind}(t)$. Le variazioni percentuali sulla stima di V_d seguendo l'approccio di popolazione, alternativo a quello individuale, hanno aperto la strada alle successive analisi statistiche.

Valutazioni intra-soggetto

Di seguito si trovano dei test statistici il cui obiettivo è quello di rilevare le differenze intra-soggetto.

È stata applicata la funzione matlab *ttest2* (due gruppi con standard deviation (SD) diversa, soglia al 5%), in cui il primo gruppo di dati è formato dai

Logan livello ROI

Vd_{ind} di tutte le regioni del soggetto in esame, e il secondo gruppo dai Vd_{pop} .

Questa tabella è un esempio di quanto fatto per ogni soggetto:

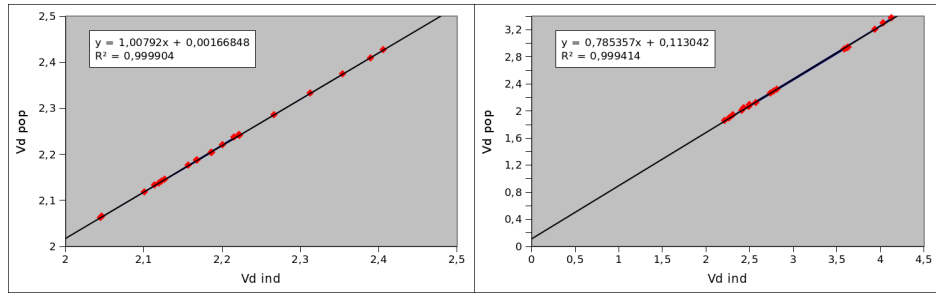
Regione	Vd Ind	Vd Pop
CER CIRC C	2,22	2,24
CER GMC C	2,16	2,18
CER GMCS C	2,13	2,15
CER RVPC C	2,19	2,2
CER RVPCS C	2,1	2,12
CERFULLC C	2,17	2,19
CERFULLCS C	2,12	2,14
CERS CIRCS C	2,22	2,24
CIN	2,11	2,13
CINL L	2,17	2,19
CINR R	2,05	2,06
GCIRC C	2,41	2,43
GCIRCS C	2,39	2,41
HIP	2,22	2,24
HIPL L	2,22	2,24
HIPR R	2,2	2,22
PFC	2,12	2,14
PFCL L	2,19	2,2
PFCL R	2,05	2,06
PIP	2,31	2,33
PIPL L	2,35	2,37
PIPR R	2,27	2,29
risultato t-test		0,53

Questa è la tabella riassuntiva dei risultati:

Soggetto	risultato t-test
NHBTA001	0,53
NHBTA002	0,66
NHBTA003	0,17
NHBTA004	0,66
NHBTA005	0,27
NHBTA006	0,02
NHBTA007	0
NHBTA009	0,04
NHBTA010	0,1
NHBTA011	0,7
NHBTA012	0,02
NHBTA013	0,37
NHBTA014	0
NHBTA015	0,29
NHBTA017	0,01
NHBTA018	0
NHBTA019	0,58
NHBTA020	0,25
NHBTA023	0,01
NHBTA039	0,72
NHBTA055	0,9

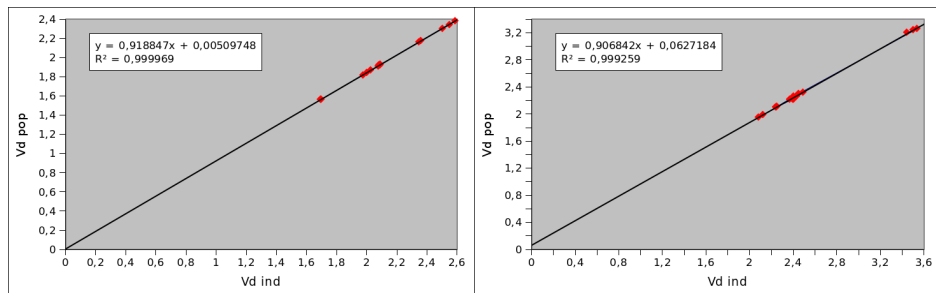
Il t-test perciò determina che per 13 soggetti su 21 non c'è differenza tra i due gruppi di dati (risultato $p - value > 0.05$), cioè tra V_d^{ind} e V_d^{pop} delle regioni. Mentre per 8 su 21 c'è differenza significativa tra i due gruppi. Tuttavia questa conclusione può essere rivalutata dalle analisi di correlazione che riportiamo in seguito. Nei grafici relativi ad alcuni soggetti è indicato il coefficiente di determinazione R^2 , vedi Fig. 4.14.

Per capire il significato e la causa dei risultati del t-test intra-soggetto, riportiamo i grafici a colonne, i quali permettono di confrontare agevolmente i Vd_{ind} con i Vd_{pop} (Fig. 4.15, 4.16, 4.17). Si può notare come i risultati dell'approccio di popolazione (V_d^{pop}) per ogni soggetto differiscano in maniera omogenea rispetto all'approccio individuale (V_d^{ind}), sovrastimando o sottostimando tutti i valori.



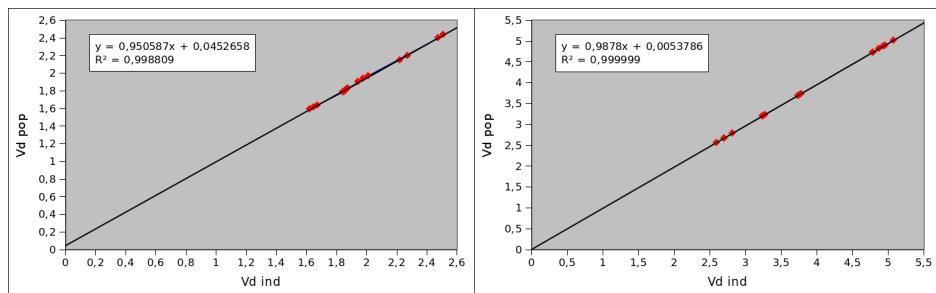
(a) *Soggetto 01*

(b) *Soggetto 06*



(c) *Soggetto 10*

(d) *Soggetto 15*

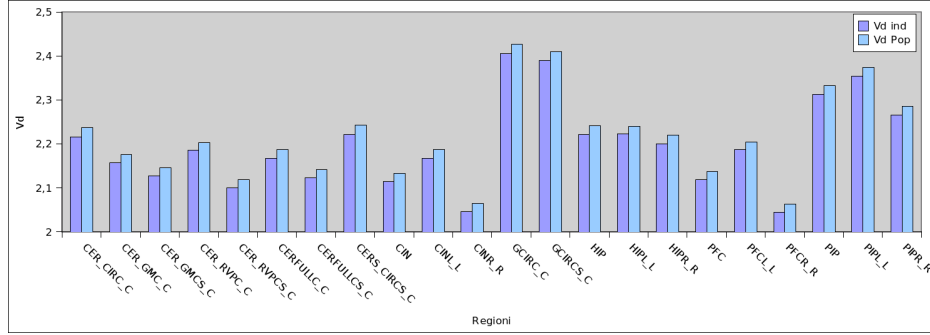


(e) *Soggetto 19*

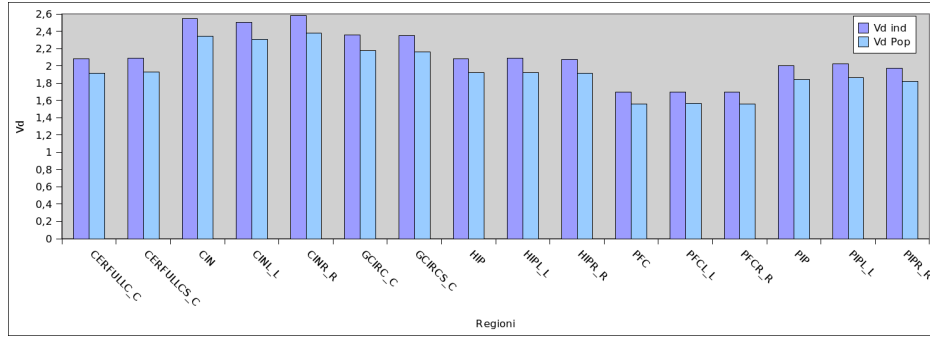
(f) *Soggetto 03*

Figura 4.14: Grafici correlazione $Vd\ ind$ $Vd\ pop$

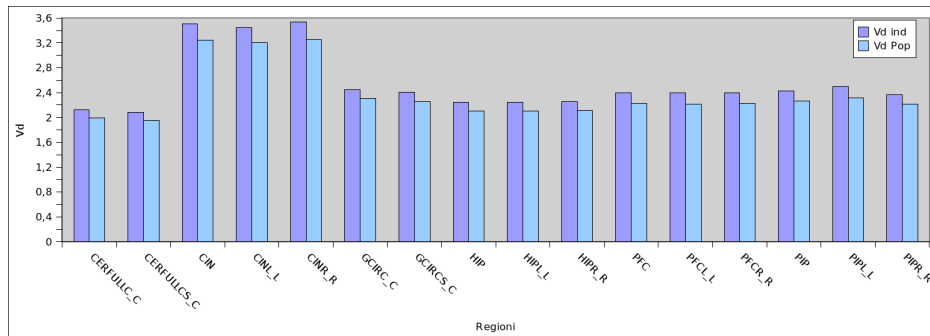
4. Risultati e confronti



(a) Soggetto 01



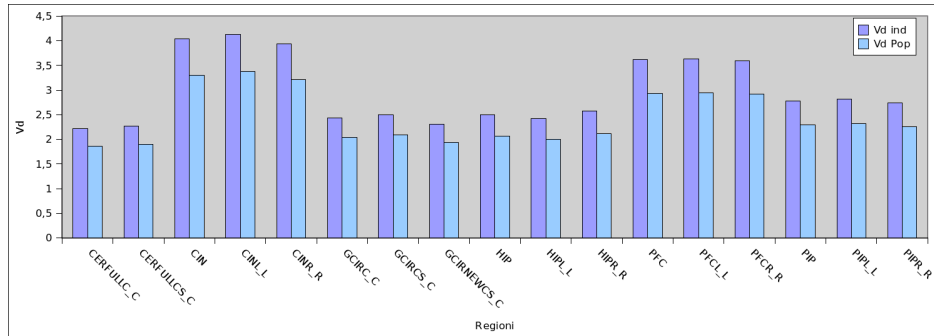
(b) Soggetto 10



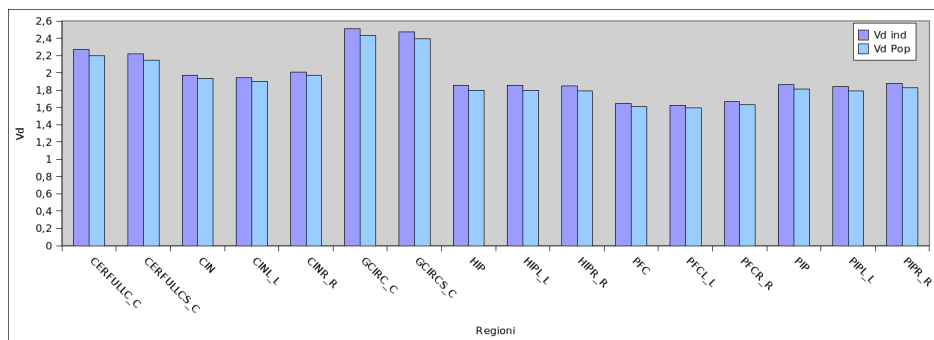
(c) Soggetto 15

Figura 4.15: Grafici V_{dind} V_{dpop} di soggetti HC

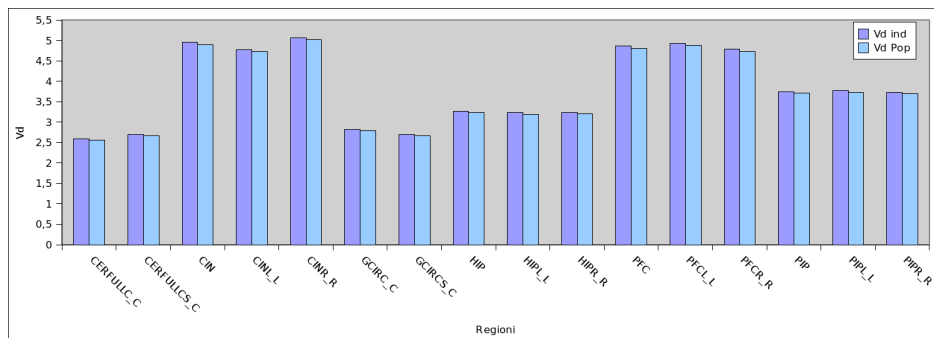
Logan livello ROI



(a) Soggetto 06



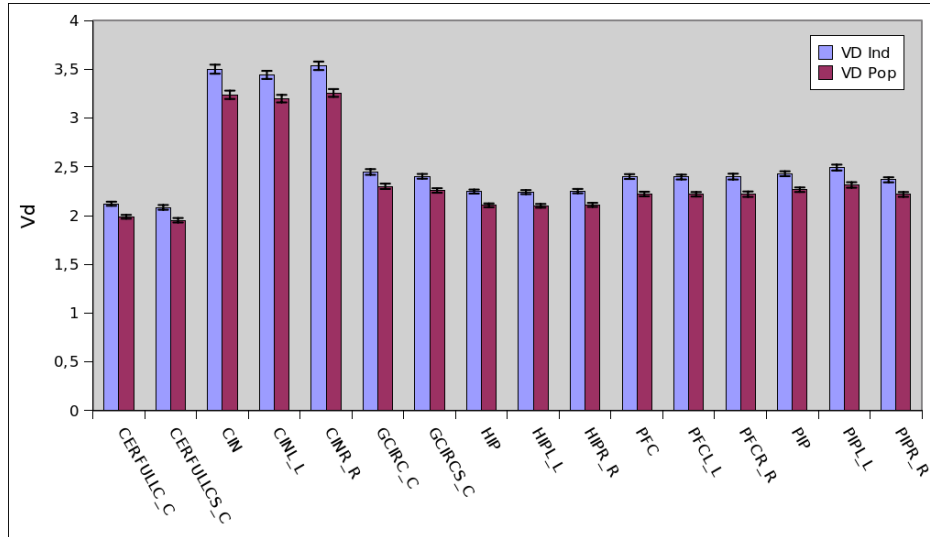
(b) Soggetto 19



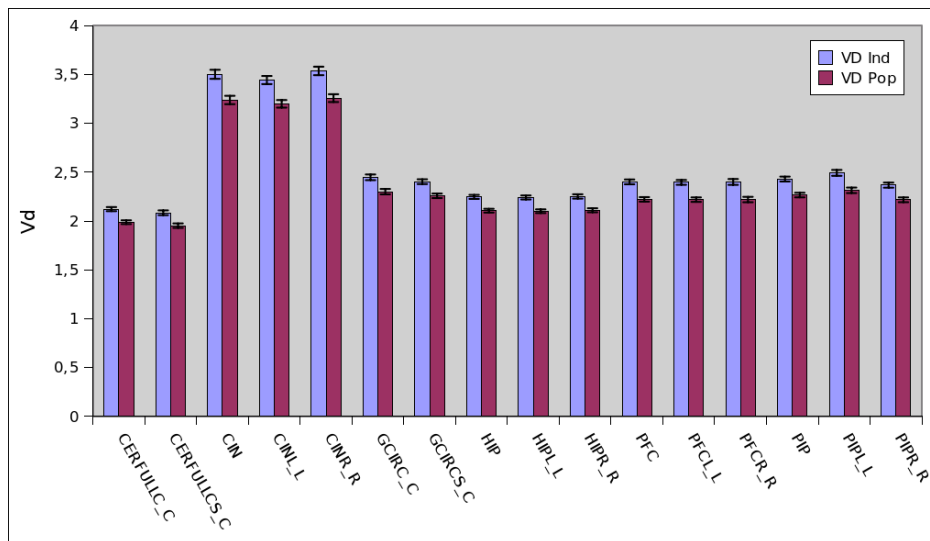
(c) Soggetto 03

Figura 4.16: Grafici Vdind Vdpop di soggetti AD

4. Risultati e confronti



(a) Soggetto 06



(b) Soggetto 19

Figura 4.17: Grafici V_{dind} V_{dpop} , con SD

Logan livello ROI

Valutazioni nelle ROI

Allo stesso modo delle valutazioni intra-soggetto, con il metodo t-test (due gruppi, SD diverse), sono analizzate le differenze intra-ROI. I due gruppi di dati per il test sono costituiti dai V_d^{ind} e V_d^{pop} di tutti i soggetti; riportiamo i risultati per alcune regioni:

	Ind	Pop	Ind	Pop	Ind	Pop
regione	CINL L	CINL L	HIP	HIP	PFC	PFC
Vd	2,17	2,19	2,22	2,24	2,12	2,14
	3,92	3,85	3,64	3,58	3,47	3,41
	1,79	1,73	1,88	1,82	1,56	1,5
	2,19	2,22	1,99	2,01	2	2,03
	2,06	2,02	1,96	1,9	1,86	1,8
	4,13	3,38	2,49	2,06	3,62	2,93
	2,04	2,22	2,05	2,23	1,91	2,08
	1,58	4,64	1,26	3,63	1,54	4,52
	2,42	2,15	1,74	1,56	1,84	1,65
	2,51	2,3	2,08	1,92	1,7	1,56
	3,73	3,61	2,21	2,15	3,12	3,02
	3,98	3,4	2,5	2,14	3,3	2,82
	4,5	4,2	2,87	2,73	3,74	3,52
	2,09	1,05	1,99	1,01	1,56	0,78
	3,44	3,2	2,25	2,11	2,4	2,22
	2,1	2,29	2,02	2,2	1,66	1,81
	1,9	2,5	1,7	2,21	1,51	1,98
	1,94	1,9	1,86	1,8	1,65	1,61
	1,7	1,78	1,66	1,73	1,4	1,46
	2,16	2,43	2,01	2,26	1,46	1,65
	2,62	2,63	2,52	2,53	2,31	2,32
	4,78	4,72	3,27	3,23	4,87	4,81
H		0		0		0
p value		0.9222		0.8201		0.8735

Per tutte le ROI l'analisi statistica effettuata con t-test ha determinato che non ci sono differenze nell'utilizzare V_d^{ind} e V_d^{pop} .

4. Risultati e confronti

Valutazioni HC vs AD

Per ricavare le differenze tra i soggetti HC e i soggetti AD in ogni regione, i dati V_d dei soggetti HC e dei soggetti AD costituiscono i due gruppi del t-test (due gruppi, SD diverse), applicato secondo lo schema che segue. Il V_d sarà immesso nel corrispondente nome soggetto (NHBTA0xx).

ROI			
Vd ind		Vd pop	
soggetti HC	soggetti AD	soggetti HC	soggetti AD
NHBTA001	NHBTA006	NHBTA001	NHBTA006
NHBTA002	NHBTA007	NHBTA002	NHBTA007
NHBTA003		NHBTA003	
NHBTA004	NHBTA009	NHBTA004	NHBTA009
NHBTA005	NHBTA011	NHBTA005	NHBTA011
NHBTA010	NHBTA012	NHBTA010	NHBTA012
NHBTA014	NHBTA013	NHBTA014	NHBTA013
NHBTA015	NHBTA018	NHBTA015	NHBTA018
NHBTA017	NHBTA019	NHBTA017	NHBTA019
NHBTA023	NHBTA020	NHBTA023	NHBTA020
NHBTA039	NHBTA055	NHBTA039	NHBTA055
	p value		p value

Segue quanto ricavato per alcune regioni significative:

CERFULLC C			
Vd ind		Vd pop	
Control	AD	Control	AD
2,1677	2,2162	2,1870	1,8587
3,8120	2,0147	3,7450	2,1909
1,7766		1,7171	
2,0582	2,5846	2,0854	2,3048
1,9571	2,0428	1,9137	1,9831
2,0797	2,6109	1,9176	2,2402
1,8266	2,8999	0,9223	2,7891
2,1220	2,1760	1,9883	2,8396
1,9536	2,2704	2,1187	2,1951
1,7918	1,6961	2,0151	1,7550
2,3686	2,5907	2,3882	2,5642
	0,5258		0,4551

Logan livello ROI

CIN			
Vd ind		Vd pop	
Control	AD	Control	AD
2,1143	4,0370	2,1328	3,2967
4,2388	2,0716	4,1638	2,2600
1,8823		1,8162	
2,2180	2,2575	2,2470	2,0075
2,1067	3,7017	2,0553	3,5765
2,5484	3,9221	2,3447	3,3491
2,0984	4,5423	1,0471	4,2459
3,5026	1,9084	3,2397	2,5157
2,1024	1,9770	2,2960	1,9391
2,1248	1,6673	2,3889	1,7362
2,6190	4,9559	2,6290	4,9004
	0,1887		0,1657

HIP			
Vd ind		Vd pop	
Control	AD	Control	AD
2,2219	2,4930	2,2412	2,0612
3,6386	2,0535	3,5782	2,2339
1,8756		1,8156	
1,9891	1,7384	2,0137	1,5596
1,9626	2,2101	1,8952	2,1455
2,0838	2,4962	1,9198	2,1436
1,9862	2,8744	1,0057	2,7330
2,2473	1,6992	2,1061	2,2051
2,0190	1,8581	2,2026	1,8016
2,0111	1,6639	2,2615	1,7298
2,5187	3,2664	2,5314	3,2314
	0,9891		0,8664

4. Risultati e confronti

PFC			
Vd ind		Vd pop	
Control	AD	Control	AD
2,1194	3,6150	2,1371	2,9341
3,4696	1,9077	3,4076	2,0805
1,5601		1,5044	
2,0033	1,8373	2,0299	1,6458
1,8554	3,1153	1,7999	3,0155
1,6959	3,2952	1,5624	2,8154
1,5637	3,7428	0,7838	3,5223
2,4009	1,5051	2,2220	1,9772
1,6630	1,6464	1,8143	1,6134
1,4639	1,4025	1,6462	1,4610
2,3051	4,8656	2,3192	4,8120
	0,1048		0,0968

Riportiamo una tabella con tutti i risultati ottenuti (p-value):

	Ind	Pop
CERFULLC C	0,52	0,45
CERFULLCS C	0,50	0,45
CIN	0,18	0,16
CINL L	0,13	0,11
CINR R	0,23	0,20
GCIRC C	0,67	0,57
GCIRCS C	0,65	0,56
HIP	0,98	0,86
HIPL L	0,98	0,84
HIPR R	0,94	0,84
PFC	0,10	0,09
PFCL L	0,10	0,09
PFCL R	0,10	0,09
PIP	0,36	0,33
PIPL L	0,37	0,32
PIPR R	0,29	0,27

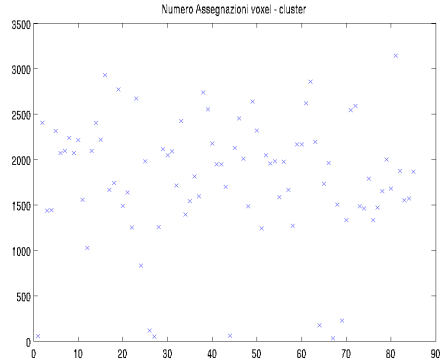
In grassetto troviamo i p-value delle regioni che si avvicinano alla soglia del 5% del t-test. In queste regioni quindi i due gruppi di dati si differenziano maggiormente. Questo indica che nelle regioni CIN, CINL L, PFC, PFCL e PFCL R i soggetti sani si differenziano dai soggetti malati.

4.5 EBEGA

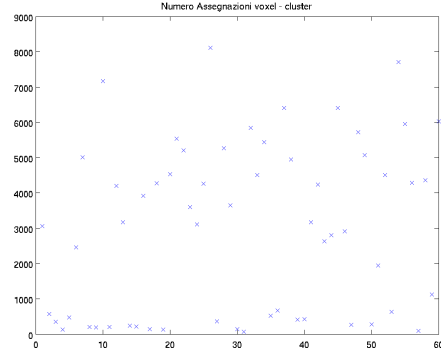
Per presentare i risultati dell'analisi EBEGA sono stati scelti alcuni soggetti, per i quali si esporranno dei dati esemplificativi delle procedure eseguite.

Il metodo EBEGA in principio applica un algoritmo per l'individuazione automatica del numero di cluster. In seguito si propongono i grafici della distribuzione dei voxel nei vari cluster. In ordinata si trova il numero di voxel assegnati al corrispondente cluster indicato in ascissa. Gli algoritmi di clustering qui applicati, forniscono un numero di cluster K variabile tra 10 e 100, come si può notare anche dal grafico ad ogni cluster sono associati in media dai 100 ai 7000 voxel.

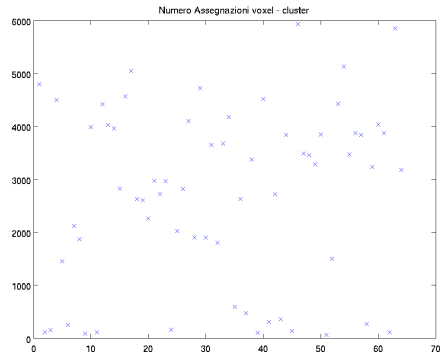
4. Risultati e confronti



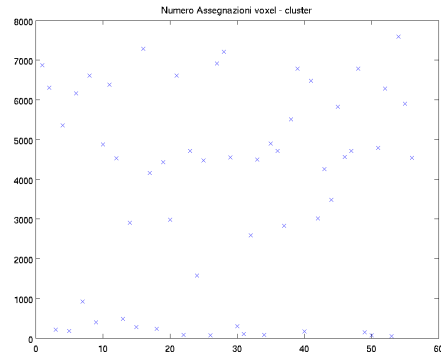
(a) *Soggetto NHBTA005*



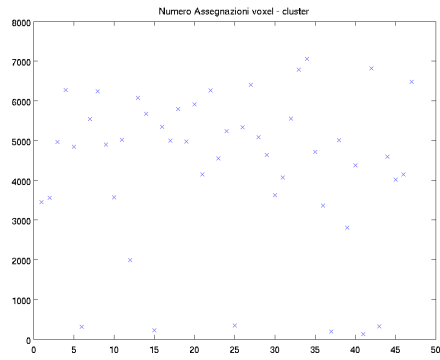
(b) *Soggetto NHBTA009*



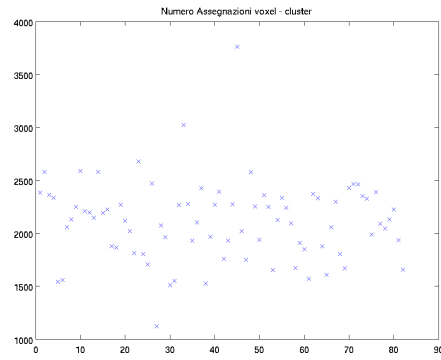
(c) *Soggetto NHBTA010*



(d) *Soggetto NHBTA013*



(e) *Soggetto NHBTA017*



(f) *Soggetto NHBTA039*

Figura 4.18: *Distribuzione dei voxel nei cluster*

Una volta ottenuto il numero di cluster K , viene applicato l'algoritmo di clustering k-means, che assegna ogni voxel ad un cluster. In queste immagini si può vedere l'allocazione dei voxel in alcune slice:

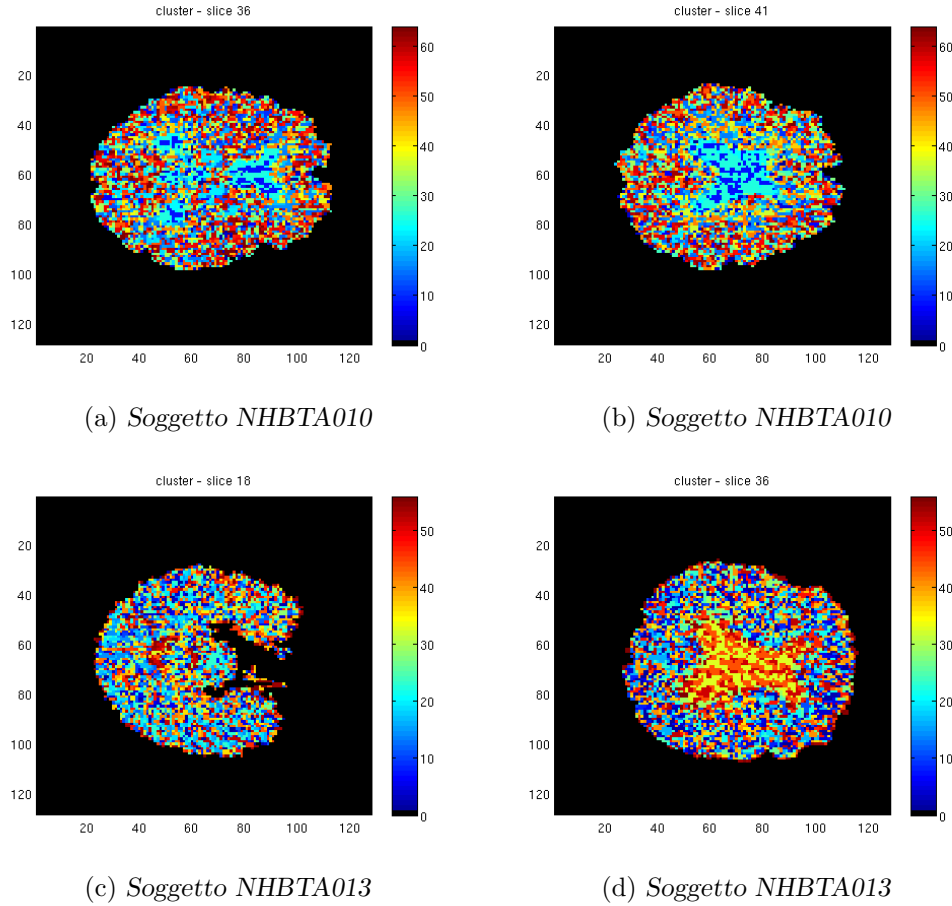
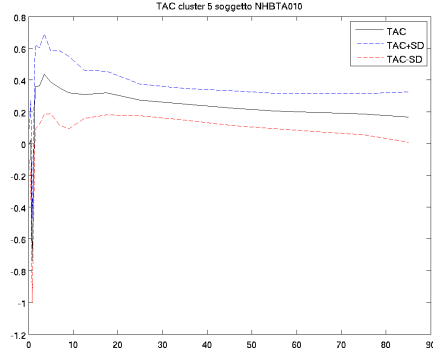
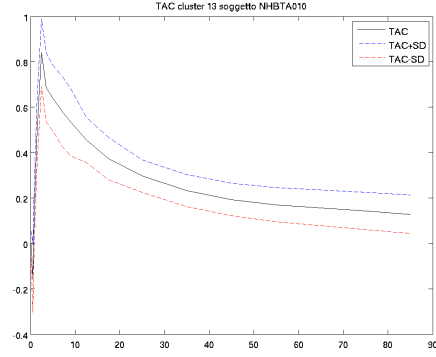


Figura 4.19: *Distribuzione dei cluster*

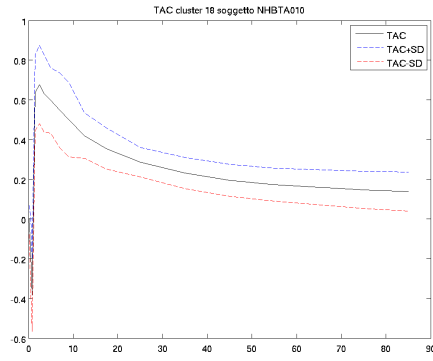
Come descritto nel capitolo 3.6, per ogni cluster sono state ricavate la TAC, TAC+SD, TAC-SD. Questi andamenti forniscono le basi per costruire le informazioni a priori della stima MAP, ma si sono rivelati utili anche nell'individuazioni delle differenti cinetiche del tracciante. Grazie alla suddivisione in cluster è possibile infatti studiarne l'andamento; alcuni possono essere cluster rumorosi, altri sono associati a strutture tessutali (ad esempio arterie o capillari). Per illustrare questi risultati, in Figura 4.20 e Figura 4.21 sono riportate alcune TAC dei cluster.



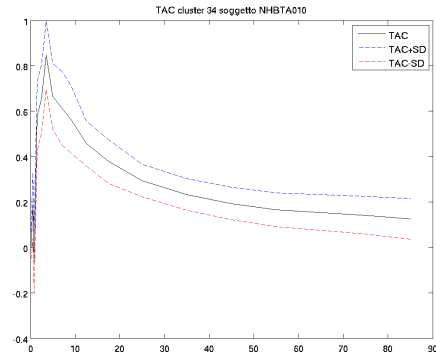
(a) Cluster 5



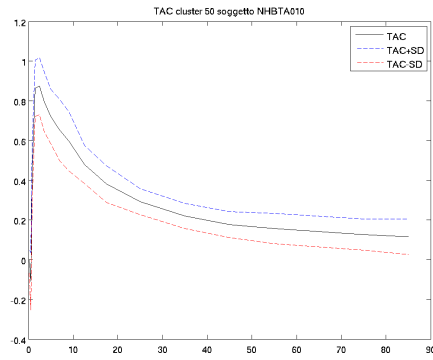
(b) Cluster 13



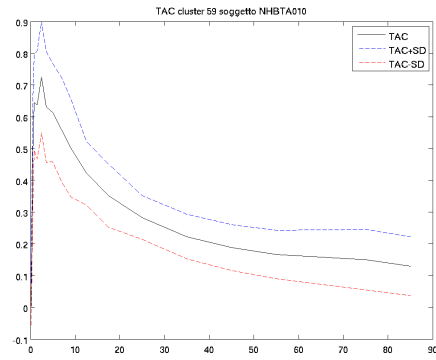
(c) Cluster 18



(d) Cluster 34



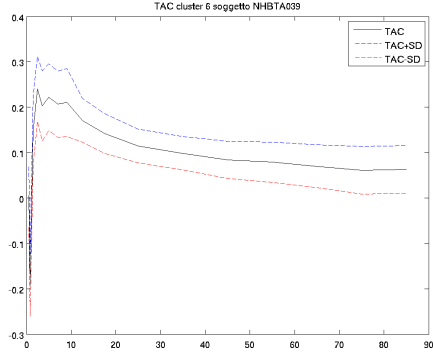
(e) Cluster 50



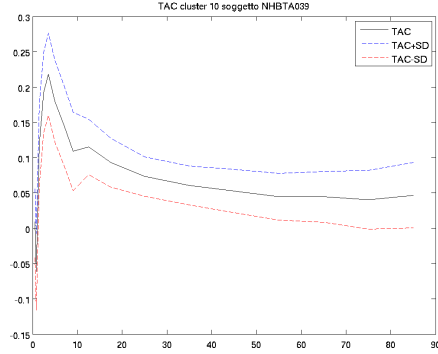
(f) Cluster 59

Figura 4.20: Soggetto NHBTA010: TAC centroidi, TAC+SD, TAC-SD

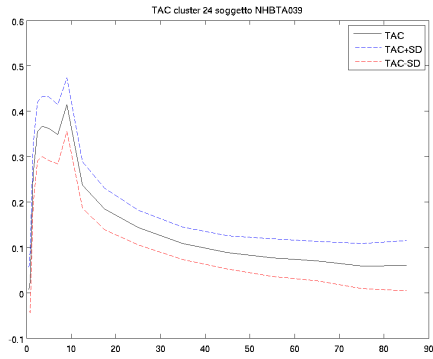
4. Risultati e confronti



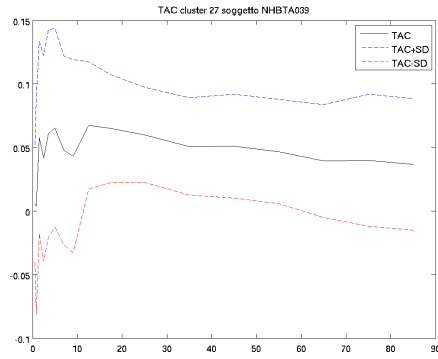
(a) Cluster 6



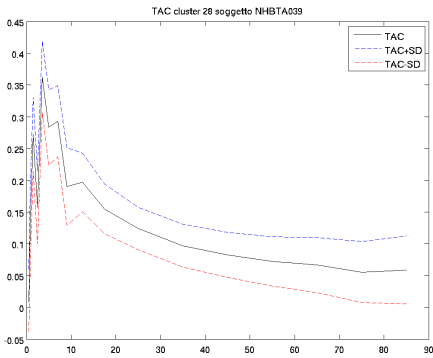
(b) Cluster 10



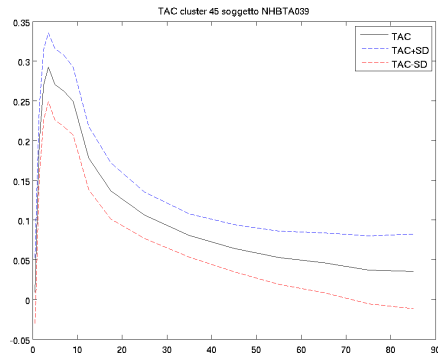
(c) Cluster 24



(d) Cluster 27



(e) Cluster 28



(f) Cluster 45

Figura 4.21: Soggetto NHBTA039: TAC centroidi, TAC+SD, TAC-SD

La stima di V_d , ottenuta con il metodo EBEGA, viene applicata per ogni voxel appartenente alla maschera binaria. In questo lavoro i risultati forniti dall'analisi con EBEGA sono stati confrontati con quelli dall'analisi Logan. Come si potrà vedere anche dalle figure che seguono, il metodo EBEGA permette di stimare il macroparametro V_d anche in voxel rumorosi, le immagini parametriche così ottenute risulteranno complete. Il metodo Logan invece lasciava irrisolti i voxel rumorosi, in cui veniva posto $V_d = 0$. EBEGA, grazie al clustering e alle informazioni a priori per la stima MAP, riesce a garantire buoni risultati per tutti i voxel. Per i voxel rumorosi, è stata aumentata la SD dei dati considerati non fisiologici (concentrazioni negative). Dai confronti effettuati si è trovato che con le stime EBEGA si hanno CV inferiori rispetto al metodo Logan.

4. Risultati e confronti

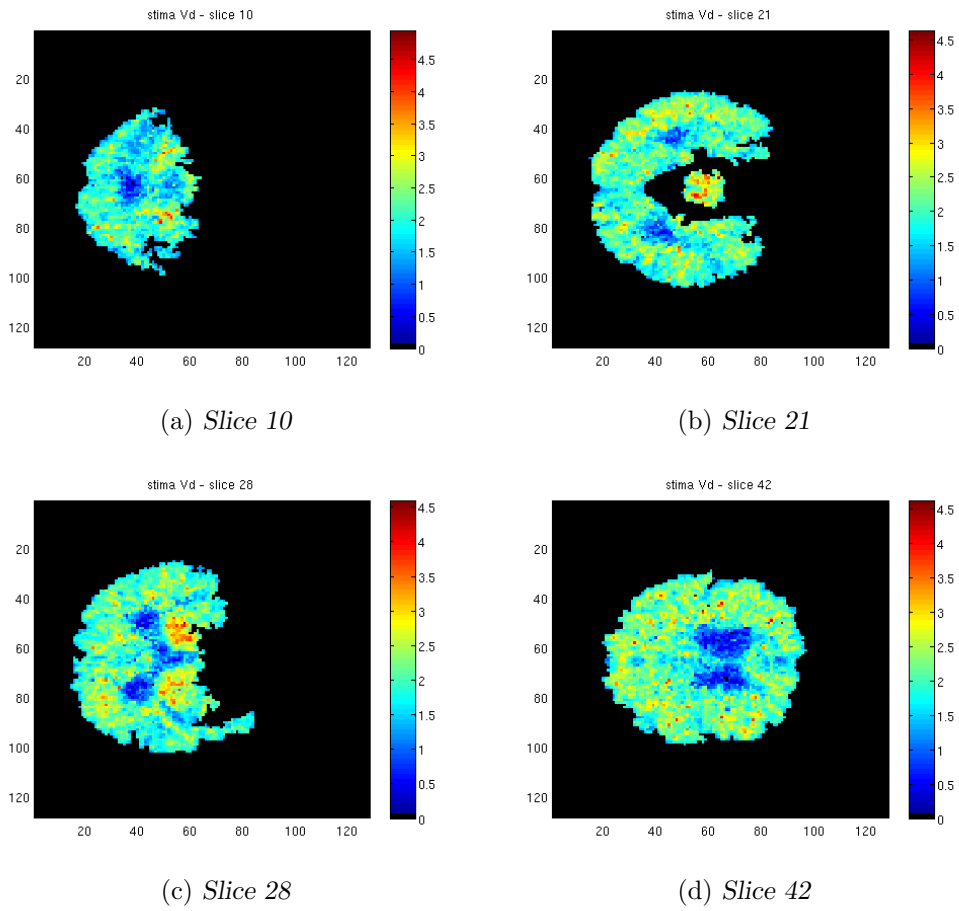


Figura 4.22: *NHBTA005 (HC) - V_d stimato con EBEGA*

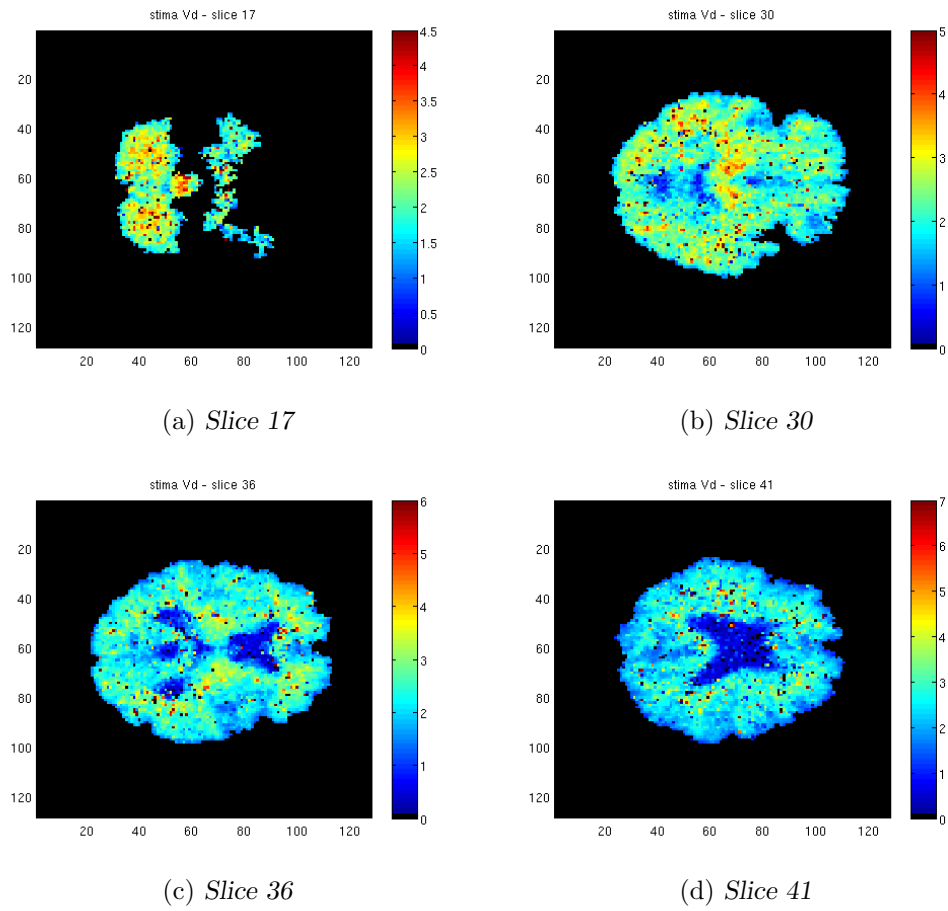


Figura 4.23: *NHBTA010 (HC) - Vd stimato con EBEGA*

4. Risultati e confronti

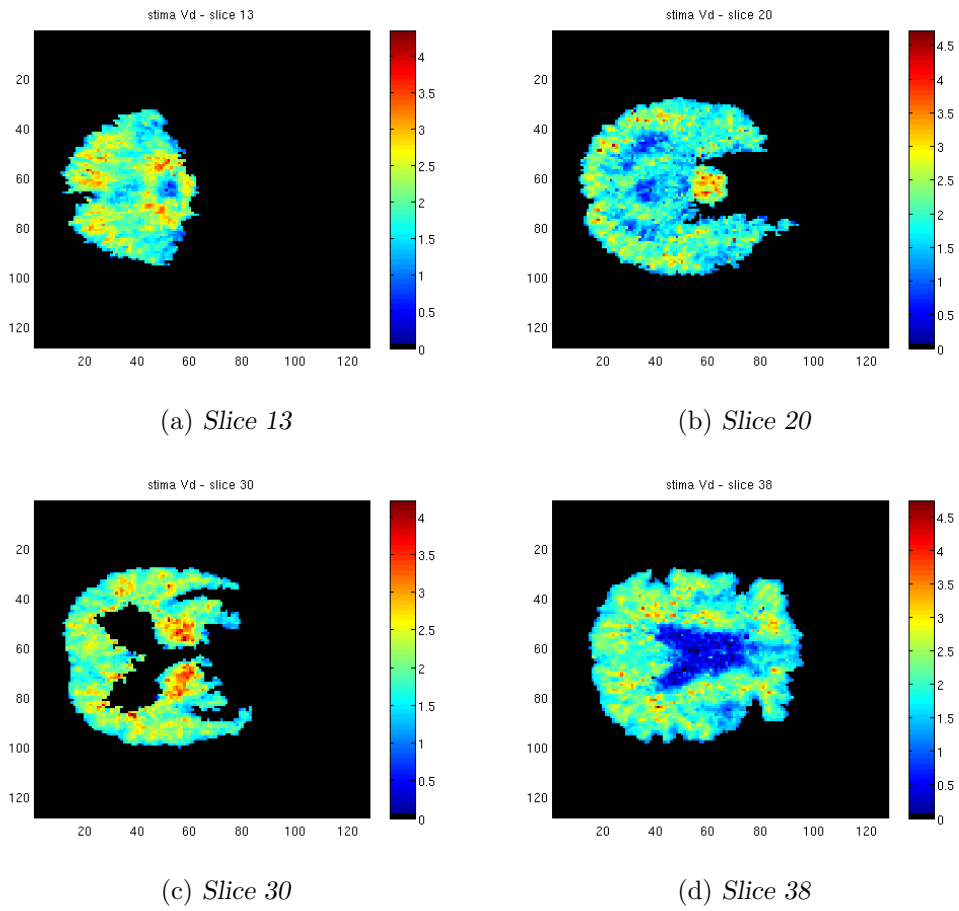


Figura 4.24: NHBTA009 (HC) - V_d stimato con EBEGA

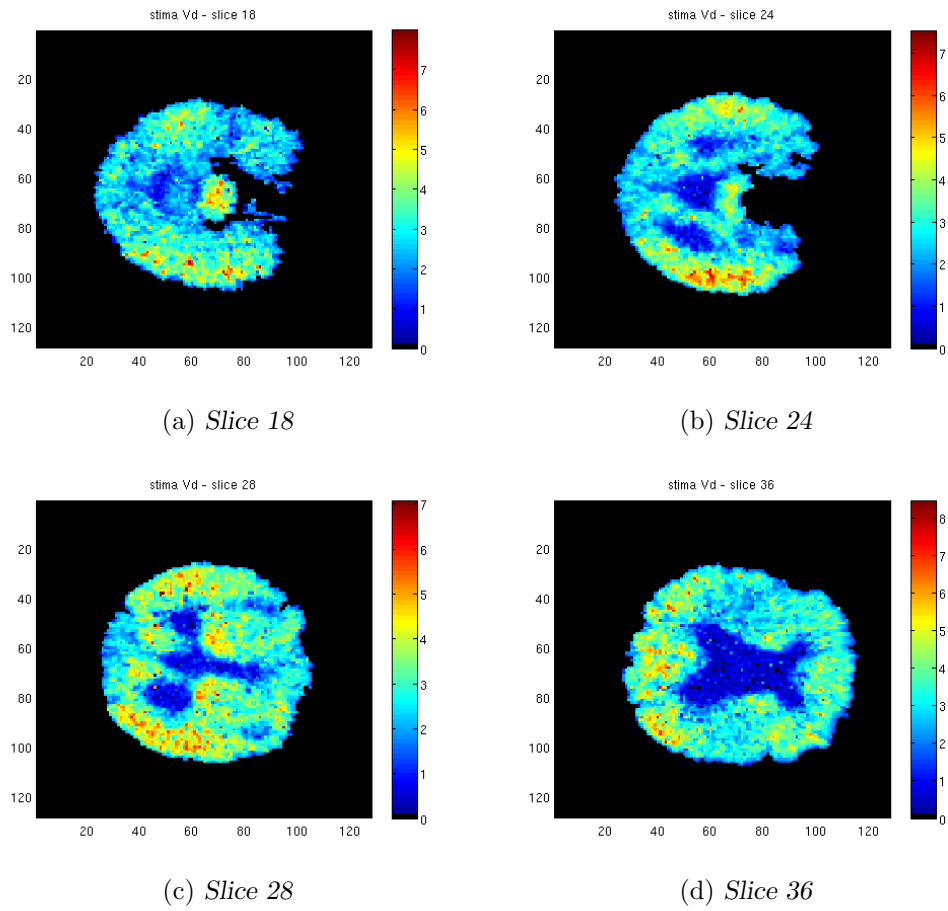


Figura 4.25: *NHBT013 (AD) - Vd stimato con EBEGA*

4.6 MVW-PCA

Le immagini ricavate con la tecnica MVW-PCA hanno alto SNR, migliore rispetto alle immagini parametriche o alle immagini sommate. Questo approccio ha aumentato il contrasto tra le strutture anatomiche del cervello, rappresentando le diverse caratteristiche cinetiche del tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$.

Tale metodo ha permesso di riconoscere le aree cerebrali di materia bianca, di materia grigia e di liquido cerebrospinale. Le componenti principali ottenute dalla PCA infatti, formano delle immagini cerebrali nelle quali è possibile distinguere diversi tessuti. In questo lavoro sono state analizzate le prime tre componenti principali, perchè dalla terza componente in poi le immagini visualizzano solo dati rumorosi.

Prima di applicare la tecnica PCA, le immagini sono state elaborate in maniera tale da ridurre l'impatto del rumore (come descritto nel capitolo 3.7). Sono state eseguite diverse analisi per studiare l'impatto del rumore sulle immagini. Su ogni slice infatti, e per ogni istante di acquisizione, il rumore di fondo è variabile. Per ottenere la standard deviation del rumore è stata scelta un'area circostante quella cerebrale, formando una sorta di anello, costituita da circa 2000 voxel. Applicando questa correzione per il rumore di fondo le immagini sono notevolmente migliorate.

La tecnica MVW-PCA invece non ha fornito buoni risultati per poter tracciare in maniera automatica la reference region. Come si potrà vedere dalle immagini che seguono, il cervelletto non è delineato in modo chiaro in alcuna componente, perciò l'algoritmo di identificazione automatica non può essere applicato.

In queste figure si presentano i risultati delle analisi delle immagini PIB-PET; per ciascuna slice si trovano le prime tre componenti principali. Infine la Tabella 4.2 riassume i risultati ottenuti per tutti i soggetti.

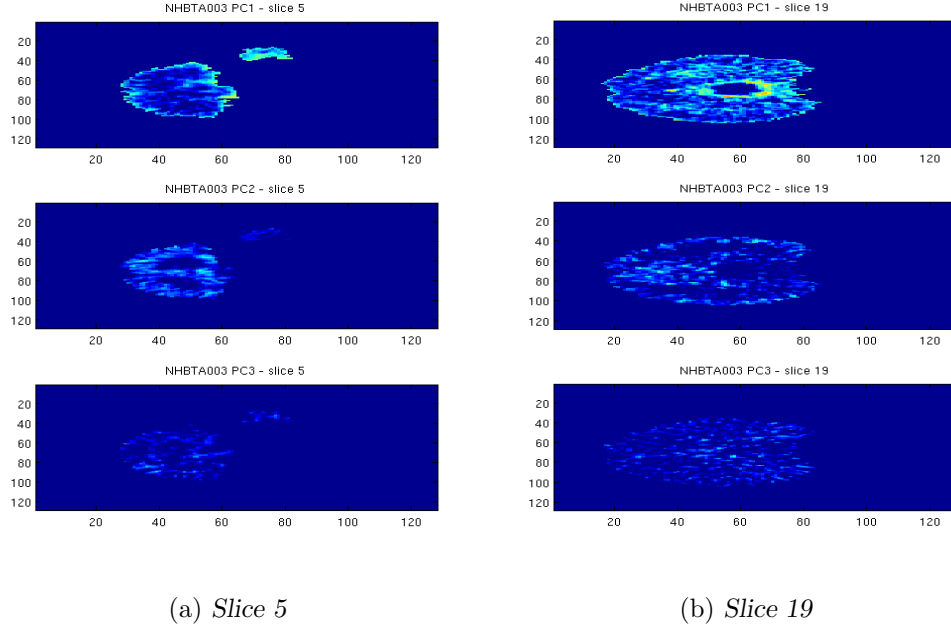


Figura 4.26: *NHBTA003 (HC) - PCA*

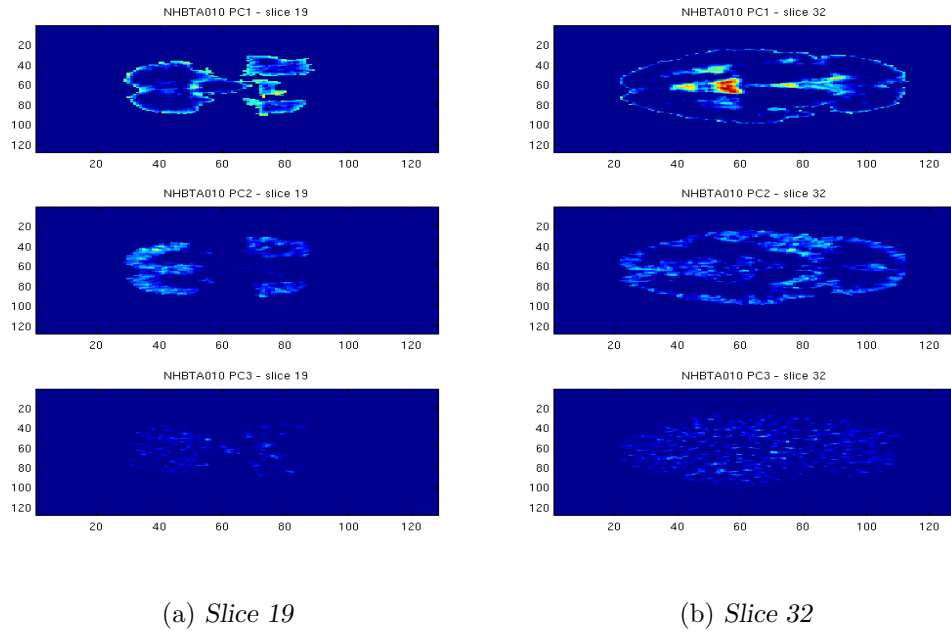
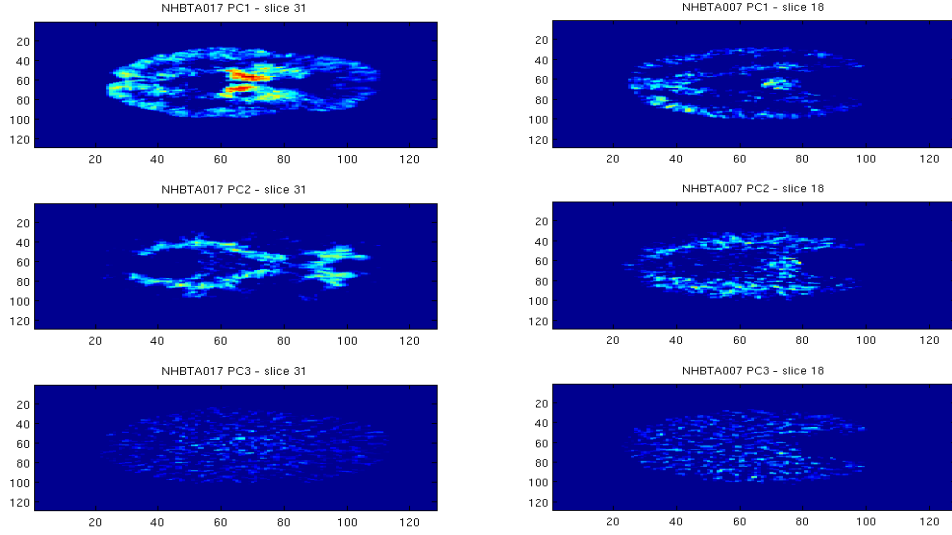


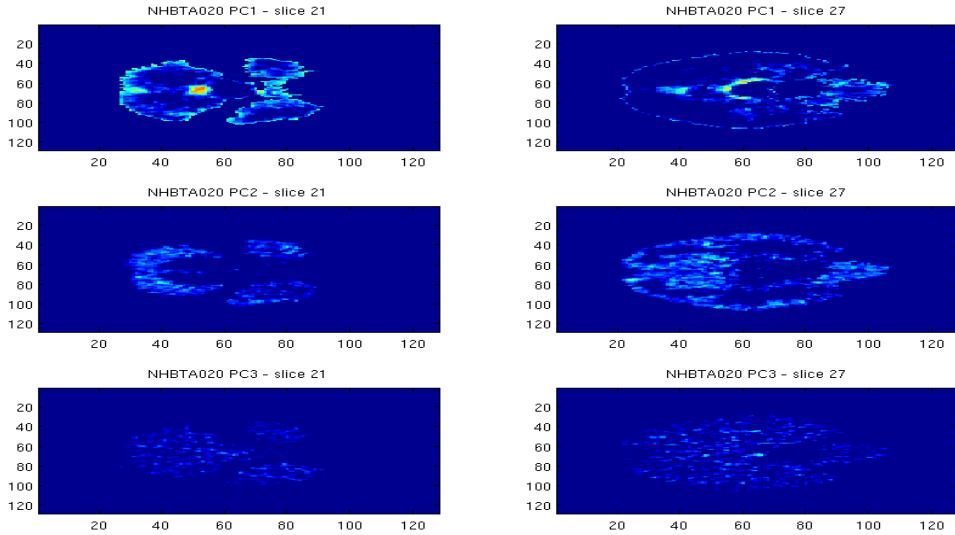
Figura 4.27: *NHBTA010 (HC) - PCA*

4. Risultati e confronti



(a) Soggetto NHBTA017 (HC) Slice 31 (b) Soggetto NHBTA007 (AD) Slice 18

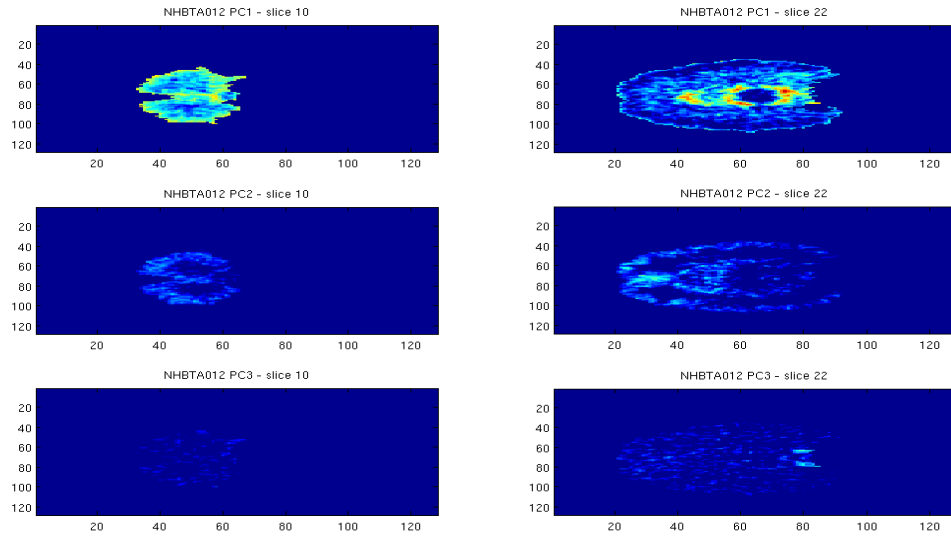
Figura 4.28: PCA soggetti HC e AD



(a) Slice 21

(b) Slice 27

Figura 4.29: NHBTA020 (AD) - PCA



(a) *Slice 10*

(b) *Slice 22*

Figura 4.30: *NHBTA012 (AD) - PCA*

4. Risultati e confronti

Soggetto	Tipo	PC1	PC2	PC3	Reference
NHBTA006	AD	CSF	GM e WM	R	N
NHBTA007	AD	GM	WM	R	N
NHBTA009	AD	CSF	WM	R	N
NHBTA011	AD	GM	WM	R	N
NHBTA012	AD	CSF + WM	GM	R	Y
NHBTA013	AD	CSF + WM	GM	R	Y
NHBTA018	AD	CSF	WM	R	N
NHBTA019	AD	GM	WM	R	N
NHBTA020	AD	CSF	GM	R	Y
NHBTA055	AD	WM	GM	R	Y
NHBTA001	HC	GM	WM	R	N
NHBTA002	HC	CSF	WM	R	N
NHBTA003	HC	CSF	GM	R	Y
NHBTA004	HC	CSF	WM	R + GM	N
NHBTA005	HC	GM	WM	R	N
NHBTA010	HC	CSF	GM	R	Y
NHBTA014	HC	CSF + WM	GM	R	Y
NHBTA015	HC	GM	WM	R	N
NHBTA017	HC	GM	WM	R	N
NHBTA023	HC	CSF + GM	WM	R	N
NHBTA039	HC	GM + WM	GM	R	Y

Tabella 4.2: *Risultati PCA, prime tre componenti. WM=Materia Bianca, GM=Materia Grigia, CSF = Liquido Cerebrospinale, R=Rumore, Reference evidente: si (Y) no (N)*

	GM	WM	CSF	R
PC1	8	1	12	
PC2	9	12		
PC3				21

Tabella 4.3: Nella tabella viene indicato il numero di soggetti, dell'intero dataset, nei quali un tessuto è individuato da una certa componente principale (PC)

AD	GM	WM	CSF	R
PC1	3	1	6	
PC2	5	5		
PC3				10

Tabella 4.4: Nella tabella viene indicato il numero di soggetti AD nei quali un tessuto è individuato da una certa componente principale (PC)

HC	GM	WM	CSF	R
PC1	5		6	
PC2	4	7		
PC3				11

Tabella 4.5: Nella tabella viene indicato il numero di soggetti HC nei quali un tessuto è individuato da una certa componente principale (PC)

4. Risultati e confronti

L'algoritmo per l'individuazione automatica delle reference region di fatto è applicabile solo per otto soggetti (4 AD, 4 HC). Prendendo come input la componente principale nella quale è visibile il cervelletto, è stato possibile tracciare il contorno della regione di riferimento.

Questa tecnica non è valida per l'intero dataset, tuttavia presentiamo delle immagini di esempio per il soggetto 12:

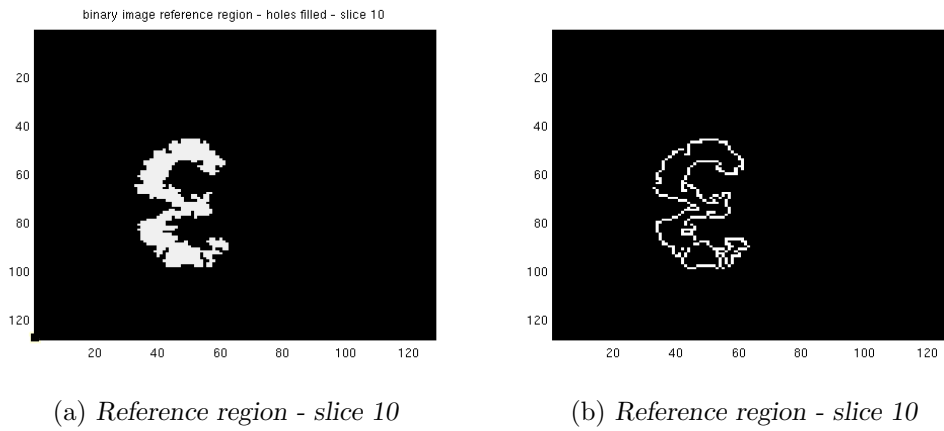


Figura 4.31: *NHBTA012 (AD) - reference region*

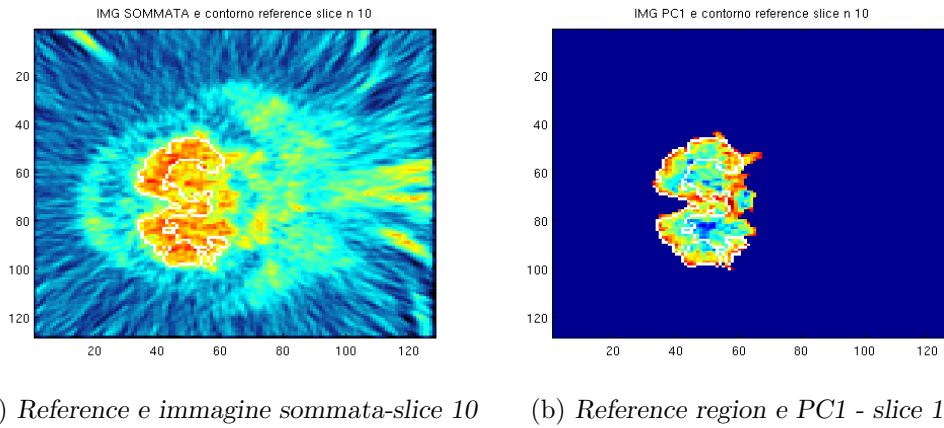


Figura 4.32: *NHBTA012 (AD) - reference region confrontata con immagine sommata e con PC1*

Capitolo 5

Discussione

I risultati conseguiti da questo lavoro forniscono dei criteri per valutare l'applicabilità dei metodi e studiare differenti approcci per l'analisi di immagini PET di tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$.

CORREZIONE PER I METABOLITI

La **correzione della plasmatica per i metaboliti** ha utilizzato dei metodi per la stima dei parametri. Le informazioni sui metaboliti procurate dal dataset si sono rivelate sufficienti, utilizzando i modelli matematici proposti è stato perciò possibile stimare i parametri che descrivono l'andamento della frazione di tracciante nel plasma. La $C_p(t)$ corretta per i metaboliti è stata ricavata in relazione al modello a due esponenziali che presentava il valore di Akaike inferiore. In queste analisi l'approccio che utilizza modelli a due esponenziali, con la stima dei parametri con WNLS, fornisce buoni risultati. Come descritto dai grafici, i residui pesati sono scorrelati e a media nulla, lo stesso si può dire per il modello a tre esponenziali.

I ventuno soggetti hanno permesso di effettuare l'analisi su molti dati, confermando la scelta del modello a due esponenziali per descrivere l'andamento del tracciante rispetto ai metaboliti.

LOGAN GA E EBEGA LIVELLO VOXEL

Il **metodo Logan** è un ottimo strumento per la stima del parametro relativo al volume di distribuzione del tracciante. È veloce e facile da implementare, tuttavia le stime ottenute sono affette da una sottostima sistematica e sono influenzate dalla presenza di outliers. Se il livello di rumore nel voxel è troppo elevato, la stima non è affidabile e i valori delle acquisizioni non possono fornire informazioni utili per la stima di V_d . Per ovviare a questo problema una delle tecniche che si possono utilizzare è un'operazione di smoothing delle immagini PET, gli outliers decrescono ma viene a mancare molta informazione spaziale. Le immagini PET contengono una percentuale elevata di rumore, che con lo smoothing viene semplicemente distribuito su tutta l'immagine.

Per ottenere buone stime senza perdere la qualità delle immagini PET, la tecnica **EBEGA** ha fornito risultati soddisfacenti: migliora le stime dei parametri e, come descritto nel Cap. 4, riesce a stimare il volume di distribuzione anche nei voxel rumorosi. Grazie alla tecnica del clustering e all'utilizzo delle informazioni a priori per ogni voxel, si ottengono immagini parametriche con bassi CV e stime non affette da negative-bias (come nel caso Logan). I V_d posti a zero, sono quelli appartenenti a cluster in cui il livello di rumore è molto elevato. Rispetto alla tecnica Logan tradizionale, le immagini parametriche ottenute con EBEGA sono complete, cioè con una riduzione delle zone cerebrali nelle quali non è stato possibile stimare V_d .

Se confrontiamo la Fig. 4.10 con la Fig. 4.22, o la Fig. 4.12 con la Fig. 4.24, quanto appena detto è evidente, nelle immagini con EBEGA infatti la stima del volume di distribuzione è riuscita in gran parte dei voxel.

Il metodo di individuazione automatica del numero di cluster per ogni soggetto, i cui parametri sono stati trovati empiricamente, ha costituito la base per l'analisi delle informazioni a priori. Questo algoritmo è veloce e fornisce a k-means il numero ottimale di cluster K . Se si fosse utilizzato un numero fissato di cluster uguale per tutti i soggetti, questi sarebbero stati gli scenari possibili: (1) il numero di cluster poteva non essere sufficiente per descrivere la variabilità delle cinetiche del tracciante nei diversi voxel; (2) dei cluster

potevano risultare in esubero, quindi k-means non assegnava alcun voxel a questi centroidi, oppure i voxel assegnati si limitavano ad essere pochissimi; (3) con numero K fissato non si teneva conto della variabilità delle cinetiche tra i vari soggetti, in questo lavoro in cui si confrontano soggetti sani e malati di Alzheimer, questa non può essere trascurata.

Nella Fig. 4.18 si può notare la buona distribuzione dei voxel nei cluster e nella Fig. 4.19 vediamo come sono localizzati nelle slice. Nonostante il numero di cluster sia elevato, si riescono comunque a distinguere alcune regioni anatomiche. Lo scopo del clustering nell'EBEGA non era di individuare i diversi tessuti cerebrali, ma quello di formare una base per costruire le informazioni a priori. Se si volessero unire entrambi gli scopi, cioè differenziare i tessuti nell'immagine e formare la base per le informazioni a priori, si potrebbe ridurre il numero di cluster. Questo non è stato fatto, ma potrebbe costituire un percorso interessante per definire in maniera automatica le ROI e confrontare i risultati nelle ROI tra il metodo Logan e l'EBEGA.

Utilizzare la tecnica di clustering, in sostituzione alla delineazione manuale delle ROI, permette di slegarsi dalle strutture definite anatomicamente e costruire delle regioni basandosi solo sulle differenti cinetiche del tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$.

Le TAC dei cluster, presentate nelle Fig. 4.20 e 4.21, sono degli esempi che mettono in evidenza le cinetiche differenti presenti nei tessuti cerebrali. Questi andamenti, risultanti dalla media tra i voxel che afferiscono allo stesso cluster, possono essere molto differenti. Alcuni sono attribuibili a voxel di arterie e capillari, altri sono palesemente attribuibili a voxel rumorosi. Nei grafici troviamo anche le TAC+SD e le TAC-SD, in questo modo possiamo valutare anche l'impatto della standard deviation, che costituirà parte integrante per le informazioni a priori nella stima MAP.

EBEGA è quindi una tecnica affidabile per correggere e ridurre l'errore bias nelle stime con metodi grafici a livello voxel. L'approccio Bayesiano riesce a ridurre la varianza dei V_d stimati e, con l'informazione a priori ricavata in maniera completamente automatica, migliora l'analisi delle immagini a

livello voxel. Grazie a questo metodo si riesce ad estendere l'applicabilità del metodo Logan non solo a livello ROI ma anche a livello voxel.

LOGAN LIVELLO ROI

Per quanto riguarda il **Logan a livello ROI** i risultati sono stati molteplici. In primo luogo i dati sulle variazioni percentuali tra i V_d^{ind} e i V_d^{pop} hanno messo in risalto come l'approccio di popolazione non sia dissimile rispetto all'approccio individuale. I volumi di distribuzioni trovati utilizzando la $Cp_{ind}(t)$ e la $Cp_{pop}(t)$ infatti, in media differiscono del 2,81%. Solo in sei soggetti la differenza media è superiore al 10%. Per valutare in modo approfondito le differenze tra i due approcci, si devono osservare i dati delle analisi statistiche intra-soggetto, intra-ROI e quelle HC-AD.

Il primo t-test è funzionale all'individuazione delle differenze nell'utilizzare V_d^{ind} e i V_d^{pop} nello stesso soggetto. Si è visto che per tredici soggetti su ventuno non c'è differenza significativa tra i due approcci, mentre per gli altri non possiamo dire altrettanto. Questo risultato è più significativo rispetto alle variazioni percentuali (dove si effettuava una media), se lo si prende in esame potremmo asserire che i due approcci non sempre risultano equivalenti. Tuttavia questa conclusione è dovuta al fatto che la stima dai dati di popolazione fornisce dei risultati che: (1) sono tutti sovrastimati o (2) sono tutti sottostimati. In ogni soggetto quindi l'approccio di popolazione tende a sottostimare o sovrastimare in maniera simile tutti i V_d delle rispettive regioni.

Questo fatto è confermato dai grafici di correlazione, nei quali la linea di regressione ha coefficiente angolare tendente ad 1, quindi il coefficiente di correlazione R^2 , visibile anche nei grafici di Fig. 4.14, evidenzia come i due gruppi di dati siano correlati. Per valutare ulteriormente le affinità dei parametri stimati dai due approcci, sono stati creati i grafici a colonne (come gli esempi in Fig. 4.15, 4.16), nei quali si possono facilmente verificare le asserzioni sopra esposte.

Anche le standard deviation dei parametri V_d^{ind} e V_d^{pop} sono simili, si vedano

gli esempi in Fig. 4.17.

Le valutazioni statistiche ottenute dal t-test per valutare le differenze considerando le singole ROI hanno sempre determinato che non c'è differenza significativa nell'utilizzare la curva plasmatica da popolazione piuttosto che quella individuale. Questo è un dato interessante, che non fa altro che confermare come i due approcci possano essere utilizzati in maniera alternativa. Viste le finalità di questo lavoro e il tipo di soggetti analizzati, è stato interessante scoprire come questi diversi criteri intervengano nella stima, differenziando i soggetti sani da quelli malati di Alzheimer. Valutando il p-value per ogni regione è possibile trovare quelle nelle quali il tracciante si distribuisce in modo differente nei soggetti sani rispetto ai soggetti malati.

Questi risultati sono in concordanza con i dati trovati in letteratura, dai quali risulta che le regioni nelle quali si ipotizzava di trovare un lieve deposito di placche beta amiloidee hanno basso volume di distribuzione di tracciante. In queste regioni inoltre non si trova differenza tra soggetti sani e malati. Invece nelle regioni come PFC o CIN i volumi di distribuzione V_d sono diversi, in altre parole in queste ROI c'è differenza tra soggetti sani e malati. L'approccio di popolazione inoltre fornisce p-value inferiori, che si avvicinano maggiormente alla soglia del 5% fissata nel t-test.

Con questi risultati si può affermare che se lo scopo è individuare le differenze nelle ROI tra soggetti sani e malati, l'approccio di popolazione è valido. Per questo motivo si potrebbero evitare le misure invasive dell'arteriale nell'applicazione del metodo Logan a livello ROI.

MVW-PCA

La tecnica **MVW-PCA** ha fornito risultati dissimili nei soggetti esaminati. Come elencato nelle tabelle del Cap. 4.6, le componenti principali dei vari soggetti non definiscono sempre le stesse strutture anatomiche. Le immagini risultanti dalle diverse componenti aumentano effettivamente il contrasto

rispetto alle altre tecniche, ma alcuni tessuti anatomici possono non comparire. La tecnica MVW-PCA utilizzata in questo dataset non ha la stessa validità per il dataset utilizzato nel lavoro di Razifar e colleghi [11]. Anche se distinguiamo le prime tre componenti per i soggetti sani e soggetti malati, non è possibile associare una componente direttamente ad una struttura anatomica. Questo strumento mette in risalto le differenti cinetiche del tracciante e per ogni slice è possibile valutare come questo avviene. La tecnica per la correzione del rumore di fondo ha migliorato la qualità delle immagini, ma questo non influisce sul tipo di tessuto che ogni componente individua. La MVW-PCA doveva fornire dei risultati per poter delineare in modo automatico la reference region, ma solo per alcuni soggetti questo è stato possibile. Nella Tab 4.2 è indicato dove è visibile la reference region (costituita dal cervelletto). Possiamo concludere che se la seconda componente rappresenta la materia grigia (GM), allora è possibile ricavare in maniera automatica la reference region. Negli altri casi, in cui la seconda componente individua la materia bianca (WM), non è possibile applicare lo stesso algoritmo.

Nei casi in cui la PC2 evidenzia il cervelletto è stato possibile eseguire l'algoritmo per tracciare i voxel della regione di riferimento. L'algoritmo, in queste condizioni, è efficace e fornisce buoni risultati, la reference region viene delineata correttamente e in modo chiaro.

Se dalle immagini PC2 o da altre componenti si riesce ad estrarre la materia grigia, che in alcuni casi viene persa, allora la MVW-PCA potrebbe costituire un valido strumento anche per l'applicazione medica quotidiana. La procedura automatica infatti è molto stabile rispetto alla procedura manuale, quest'ultima infatti è soggetta ai problemi indicati nel Cap. 3.7: dispendio di tempo ed alta variabilità dei risultati.

Capitolo 6

Conclusioni

Il tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ si lega alle placche extracellulari di β amiloide che si accumulano patologicamente in soggetti malati di Alzheimer. Ottenere informazioni sulla distribuzione di queste placche nei soggetti HC e nei soggetti AD ha richiesto l'utilizzo di alcune tecniche per la quantificazione di immagini PET di tracciante $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$. Sono stati esplorati alcuni approcci per la stima a livello ROI e a livello voxel per ricavare i volumi di distribuzione del tracciante.

I metodi tradizionali per l'analisi delle immagini PET comprendono una misura invasiva dell'arteriale, per ottenere la concentrazione plasmatica del tracciante e la frazione di metaboliti. È stato adottato e studiato un approccio di popolazione, utilizzando la $C_{p_{pop}}$ (concentrazione plasmatica con la correzione dei metaboliti con approccio di popolazione), in cui per la stima dei volumi di distribuzione delle Region Of Interest (ROI) è stato applicato il metodo Logan. I risultati hanno indicato come questa procedura fornisca risultati affidabili tanto quanto l'utilizzo di una curva di concentrazione plasmatica ricavata specificatamente per ogni soggetto.

Questo significa che per la quantificazione dei parametri per le ROI è possibile utilizzare un approccio di popolazione, questo evita di dover prelevare campioni arteriali (invasivi).

Nella quantificazione a livello ROI confrontando i metodi utilizzati risulta migliore il metodo EBEGA. Infatti, rispetto al metodo Logan GA, risolve i problemi legati agli outliers e al negative-bias, le stime hanno CV più bassi e si riesce a quantificare tutto il volume cerebrale anche nei voxel in cui il livello di rumore è elevato.

Grazie alle mappe parametriche ricavate con questi metodi, è possibile studiare quali sono le zone colpite dalla deposizione di placche β amiloidee e determinare le differenze tra soggetti sani, soggetti malati e soggetti MCI. Il tracciante $[11C]PIB$, legandosi alle placche βA , mette in evidenza le zone cerebrali colpite dal morbo di Alzheimer. Usando la tecnica EBEGA in futuro si potrebbero individuare in modo automatico, ad esempio con tecniche di clustering, le regioni con le diverse distribuzioni del tracciante, senza basarsi sulle regioni anatomiche definite con l'ausilio di immagini MRI o atlanti cerebrali.

Il dataset studiato ha fornito delle informazioni sulle regioni cerebrali in cui i soggetti malati si differenziano da quelli sani (come la corteccia pre-frontale). In seguito si potrebbero continuare le analisi, basandosi sui parametri ottenuti da EBEGA, per ricavare le aree in cui agisce maggiormente il morbo di Alzheimer. Le regioni non saranno necessariamente coincidenti con le regioni anatomiche tradizionali, nei soggetti malati (AD) analizzati in questo contesto si è visto infatti che la distribuzione del tracciante può essere molto variabile anche nello stesso soggetto. Tali risultati potrebbero aggiungere nuovi criteri per lo studio della malattia e fornire un sussidio nella diagnosi e prognosi medica.

Oltre a valutare i metodi per la quantificazione di immagini PET di tracciante $[11C]PIB$ è stata sperimentata la tecnica MVW-PCA per l'individuazione automatica della reference region. Le immagini ottenute, formate dalle componenti principali, hanno un buon contrasto e mettono in evidenza le differenze cinetiche del tracciante in esame. Ogni componente perciò è associabile ad un tessuto cerebrale; materia bianca, grigia e liquido cerebrospina-

le nella maggior parte dei casi sono facilmente riconoscibili. Questa tecnica tuttavia difficilmente trova applicabilità in algoritmi automatici, visto che i risultati possono variare di molto. Le componenti principali infatti identificano tessuti diversi in soggetti diversi.

Per identificare in maniera automatica la reference region è necessario ottenere il cervelletto dalla seconda componente. La procedura è stata applicata per alcuni soggetti, dove la PC2 conteneva i voxel di materia grigia e del cervelletto. In questi casi è stato possibile delineare accuratamente e in modo automatico la reference region.

Vengono ora elencati alcuni sviluppi futuri per la tecnica MVW-PCA. (1) In questo lavoro è stato possibile delineare la reference region solo nel caso in cui la seconda componente individuava la materia grigia. Potrebbe essere interessante valutare se negli altri casi sia possibile ottenere la stessa informazione, agendo sui coefficienti della PCA, oppure ricavando l'area del cervelletto a partire dalle componenti che individuano altri tessuti cerebrali. (2) Alla terza componente è stata associata l'informazione relativa al rumore, come del resto a quelle ad essa successive. Agendo opportunamente sulla componente PC3 si potrebbero migliorare le immagini PET e ridurre l'impatto del rumore nei metodi di quantificazione. (3) Indagando sul significato delle componenti principali ottenute, si potranno ricavare anche i voxel di arterie e capillari. (4) Sono richiesti altri studi delle componenti principali e le loro corrispettive immagini, per valutare dei criteri utili a differenziare soggetti sani, soggetti MCI e malati AD. (5) Utilizzare l'andamento medio della concentrazione di tracciante nella reference region, delineata in modo automatico. In questo modo sarà possibile applicare alle immagini PET il metodo Logan con la variante della reference region, evitando le misure invasive dell'arteriale.

Appendice

Presentiamo in questa sezione alcuni listati matlab di interesse.

Algoritmo per l'individuazione automatica del numero di cluster da utilizzare nella procedura EBEGA:

```
%fase 1: scelgo dataset (scelta random)
% il numero totale di dati è "Voxeltot"

%parametri:
ra=0.14; % raggio, è un indice per impostare il livello di definizione desiderato
alpha=4/(ra^2);
rb=1.5*ra;
beta=4/(rb^2) ;

%seleziono tra tutti gli andamenti numDatiBase dati
numDatiBase= 5000; % numero di TAC per una prima analisi
indiciCasuali= randi(nVoxeltot,1,numDatiBase);
    % individuo degli indici casuali nel range 1:Voxeltot

dati2Dselezionati=zeros(numDatiBase,nT); % matrice
    %contenente i voxel selezionati per l'analisi
for ind=1:numDatiBase
    dati2Dselezionati(ind,:)= dati2D(indiciCasuali(1,ind),:);
end

%fase 2:
%i dati sono nella matrice dati2Dselezionati
%fase 3: misuro il potenziale per ogni dato
Potenziale= zeros(numDatiBase,1);
valori=zeros(1,numDatiBase);

for ind=1:numDatiBase % calcolo il potenziale per ogni dato
    for z=1:numDatiBase
        if (z ~= ind) %così non considero il dato stesso
            norma=norm(dati2Dselezionati(ind,:)-dati2Dselezionati(z,:));
```

6. Conclusioni

```
        valori(1,z)=exp(-alpha * (norma^2));
    end
end
Potenziale(ind)= sum(valori);
end

%fase 4: scelgo il potenziale maggiore
k=0; % è la variabile indice che in questo caso indentificherà
      %il dato con potenziale maggiore
[P1, k] = max(Potenziale);

centroidi=zeros(1,1,nT);
centroidi(1,1,:)= dati2Dselezionati(k,:); % il primo centroide è quello
      %con potenziale maggiore, individuato dall'indice k

%fase 5: ricalcolo il potenziale di tutti i dati
for z=1:numDatiBase
    norma=norm(dati2Dselezionati(z,:)-dati2Dselezionati(k,:));
    Potenziale(z)= Potenziale(z) - P1 * exp(-beta * (norma.^2));
end

% ##### trovo gli altri centroidi
numeroCentroide=1;
variabileControlloA=0;
variabileControlloB=0;
variabileControlloC=0;
variabileControlloD=0;

for inddato=1:numDatiBase

    %tutto questo qui sotto andrà fatto per ogni possibile cluster, esco
    %dal for quando non soddisfo le condizioni imposte dall'algoritmo di
    %decisione del numero di cluster

    %fase 6: seleziono il dato che ha potenziale maggiore, tra
    % quelli rimasti (tutti tranne il primo), questo sarà il secondo centroide
    % il potenziale relativo al primo centroide
    % ora sarà pari a zero: ( Pi - P1)=0

    k=0; % è la variabile indice che in questo caso indentificherà
          %il dato con potenziale maggiore tra tutti tranne il primo
    [P_k, k] = max(Potenziale);

    epsilonSup=0.5;
    epsilonInf=0.15;

    % Pk è il potenziale dell'ultimo centroide selezionato
    % P1 è il potenziale del primo centroide scelto
    if (P_k > epsilonSup*P1)
        % accetta x_k come centroide e continua algoritmo
    end
end
```

```

        numeroCentroidi=numeroCentroidi+1;
        variabileControlloA=variabileControlloA+1; % variabile per controllare
                                                % modalità assegnazione cluster
        centroidi(numeroCentroidi,:)= dati2Dselezionati(k,:);
        % aggiorno il potenziale di tutti gli altri centroidi

        for z=1:numDatiBase
            norma=norm(dati2Dselezionati(z,:)-dati2Dselezionati(k,:));
            Potenziale(z,1)= Potenziale(z,1) - P_k * exp(-beta * (norma.^2));
        end

    elseif (P_k < epsilonInf * P1)
        % esco, chiudo il processo clustering
        variabileControlloC=variabileControlloC+1;
        break; %
    else
        datok= dati2Dselezionati(k,:);
        [numCluster 1]=size(centroidi);
        for indz=1:numCluster
            distanzePrec(indz) = norm(datok-centroidi(indz));
        end

        d_min= min(distanzePrec);

        if ((d_min/ra + P_k/P1) >= 1)
            % accetta x_k come centroide e continua algoritmo
            numeroCentroidi=numeroCentroidi+1;
            centroidi(numeroCentroidi,1,:)= dati2Dselezionati(k,:);
            variabileControlloB=variabileControlloB+1;

            % aggiorno il potenziale di tutti gli altri
            % centroidi
            for z=1:numDatiBase
                norma=norm(dati2Dselezionati(z,:)-dati2Dselezionati(k,:));
                Potenziale(z,1)= Potenziale(z,1) - P_k * exp(-beta * (norma.^2))
            end
        else
            %rifiuto x_k
            %P_k=0, impostato con questa istruzione:
            Potenziale(k)=0;

            variabileControlloD=variabileControlloD+1;
            %seleziono il successivo centroide con il potenziale maggiore tra
            %quelli da analizzare.
            %tornando
            %all'inizio del ciclo for scelgo il nuovo x_k e rifaccio il test
        end
    end
end
end

```

Stima MAP:

```
P_MAP=inv(G'*inv(sigma)*G+inv(sigmapMAP))*(G'*inv(sigma)*z
+inv(sigmapMAP)*mediaMAP);
cov_MAP=inv(G'*inv(sigma)*G+inv(sigmapMAP));
CV_Vd_MAP(i,j,s)=sqrt(cov_MAP(1,1))/P_MAP(1)*100;
```

Codice per l'applicazione MVW-PCA:

```
% CORREZIONE RUMORE
```

```
% sdNoise è stato calcolato in precedenza per ogni slice, per ogni istante temporale
%la matrice 'dati' conterra solo i valori di interesse
```

```
dati=zeros(nR,nC,nS,nT);
for r=1:nR
    for c=1:nC
        %per le slice
        for s=1:nS
            if mask(r,c,s)==1 %maschera ricavata per ogni soggetto
                for t=1:nT
                    dati(r,c,s,t)=ImageMatrix_uCi(r,c,s,t)/sdNoise(s,t);
                end
            end
        end
    end
end
end
```

```
% PREPARO I DATI PER L'ANALISI PCA
```

```
nVoxelTot=sum(sum(sum(mask))); %ottengo il numero di voxel da considerare per l'algoritmo
dati2D=zeros(nVoxelTot,nT); %matrice in cui righe:voxels, colonne: tempi
```

```
pos=1;
for r=1:nR
    for c=1:nC
        for s=1:nS
            if mask(r,c,s)==1
                dati2D(pos,:)=reshape(dati(r,c,s,:),1,nT);
                pos=pos+1;
            end
        end
    end
end
end
```

```
% applico la funzione matlab princomp
```

```

[COEFF, SCORE, LATENT] = princomp(dati2D);

[varaa numComponenti]=size(SCORE);

PC_1_nc=zeros(nR,nC,nS);
PC_2_nc=zeros(nR,nC,nS);
PC_3_nc=zeros(nR,nC,nS);

pos=1;
for r=1:nR
    for c=1:nC
        for s=1:nS
            if mask(r,c,s)==1
                PC_1_nc(r,c,s)=SCORE(pos,1); %1^ Componente principale
                PC_2_nc(r,c,s)=SCORE(pos,2); %2^ componente principale
                PC_3_nc(r,c,s)=SCORE(pos,3); %3^ componente principale
                pos=pos+1;
            end
        end
    end
end
end

```

Codice per riempimento reference region e per delineare i contorni:

```

RefBinaryImageFull(:,:,j)=imfill(RefBinaryImage(:,:,j),'holes');
EdgeRefImage(:,:,j)=edge(RefBinaryImageFull(:,:,j));

```


Bibliografia

- [1] World alzheimer report 2010. Technical report, Alzheimer’s Disease International, 2010.
- [2] William E. Klunk MD PhD Chester A. Mathis PhD Jessica A. Hoge BS Scott K. Ziolko BS-Xueling Lu MS Carolyn C. Meltzer MD Kurt Schimmel BS Nicholas D. Tsopelas MD Steven T. DeKosky MD Brian J. Lopresti, BS and PhD Julie C. Price. Simplified quantification of pittsburgh compound b amyloid imaging pet studies: A comparative analysis. *Journal of Nuclear Medicine*, 46(12):1959–1972, 2005.
- [3] Stephen L. Chiu. Fuzzy model identification based on cluster estimation. *Journal of Intelligent and Fuzzy Systems*, 2:264–278, 1994.
- [4] Almkvist O et al. Forsberg A, Engler H. Pet imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging*, pages 1–10, 2007.
- [5] Alessandra Bertoldo Claudio Cobelli J. John Mann Ramin V. Parsey Francesca Zanderigo, R. Todd Ogden. Empirical bayesian estimation in graphical analysis: a voxel-based approach for the determination of the volume of distribution in pet studies. *Nuclear Medicine and Biology*, (37):443–451, 2010.
- [6] Brian J Lopresti Xueling Lu Jessica A Hoge Scott K Ziolko Daniel P Holt Carolyn C Meltzer Steven T DeKosky Julie C Price, William E Klunk and Chester A Mathis. Kinetic modeling of amyloid binding in humans

- using et imaging and pittsburgh compound-b. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, (25):1528–1547, 2005.
- [7] Nordberg A et al. Klunk WE, Engler H. Imaging brain amyloid in alzheimer’s disease with pittsburgh compound-b. *Ann Neurol*, (55):306–319, 2004.
- [8] Danny F Newport Ciprian Catana Stefan B Siegel Markus Becker Axel Thielscher Manfred Kneilling Matthias P Lichy1 Martin Eichner Karin Klingel Gerald Reischl Stefan Widmaier Martin Röcken Robert E Nutt Hans-Jürgen Machulla Kamil Uludag Simon R Cherry Claus D Claussen Bernd J Pichler Martin S Judenhofer, Hans F Wehrl. Simultaneous pet-mri: a new approach for functional and morphological imaging. *Nature Medicine*, (14):459–465, 2008.
- [9] Nobuyuki Otsu. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, 9(1):62–66, 1979.
- [10] MRCP; R. Hinz PhD; A. Hammers PhD; N. Pavese MD; Y.F. Tai MR-CP; G. Hotton MRCP; D. Cutler BSc; N. Fox PhD; A. Kennedy MD; M. Rossor MD DSc; P. Edison, MRCP; H.A. Archer and DSc D.J. Brooks, MD. Amyloid, hypometabolism, and cognition in alzheimer disease an [11c]pib and [18f]fdg pet study. *Neurology*, (68):501–508, 2007.
- [11] Anna Ringheim Sergio Estrada Anders Wall Pasha Razifar, Henry Engler and Bengt Langström. An automated method for delineating a reference region using masked volumewise principal-component analysis in 11c-pib pet. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, Vol. 37(No. 1):38–44, 2009.
- [12] Harald Schneiderb Bengt Långströmb Ewert Bengtssona Pasha Razifara, Jan Axelssonb and Mats Bergströmc. A new application of pre-normalized principal component analysis for improvement of image qua-

BIBLIOGRAFIA

- lity and clinical diagnosis in human brain pet studies—clinical brain studies using [11c]-gr205171, [11c]-l-deuterium-deprenyl, [11c]-5-hydroxy-l-tryptophan, [11c]-l-dopa and pittsburgh compound-b. *NeuroImage*, (33):588–598, 2006.
- [13] Alfredo Ruggeri. Corso di strumentazione biomedica.
- [14] Sam Berlangieri¹ Sze-Ting Lee¹ Martin Cherk¹ Sylvia J. Gong¹ Uwe Ackermann¹ Tim Saunderson¹ Henri Tochon-Danguy¹ Gareth Jones¹ Clare Smith¹ Graeme O’Keefe¹ Colin L. Masters^{2 3} Steven Ng¹, Victor L. Villemagne^{1–3} and Christopher C. Rowe¹. Visual assessment versus quantitative assessment of 11c-pib pet and 18f-fdg pet for detection of alzheimer’s disease. *J Nuclear Medicine*, (48):547–552, 2007.
- [15] Julie C. Price Brian J. Lopresti William E. Klunk, Chester A. Mathis and Steven T. DeKosky. Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with alzheimer’s disease. *Brain*, (129):2805–2807, 2006.

BIBLIOGRAFIA

Ringraziamenti

Desidero innanzitutto ringraziare la Prof.ssa Alessandra Bertoldo per avermi dato la possibilità di scrivere la tesi con lei e per i preziosi insegnamenti ricevuti durante i suoi corsi e nel lavoro di questa tesi.

Ringrazio sentitamente l'Ing. Denis Peruzzo per la disponibilità e per il tempo che mi ha dedicato. Con i suoi insegnamenti e i suoi consigli è stato sempre un valido supporto in questi mesi di tesi.

Un grazie ai miei compagni di corso, con i quali ho condiviso l'esperienza universitaria.

Grazie con affetto alla mia famiglia. Daniele, Nadia, Giulia ed Anna mi avete sempre sostenuto nei miei progetti e nelle mie avventure.

Un sincero ringraziamento a una persona speciale: Lorenza mi sei sempre stata vicino e sei stata formidabile nell'aiutarmi nella realizzazione della tesi. Sono felice di condividere questi importanti momenti assieme a te.