

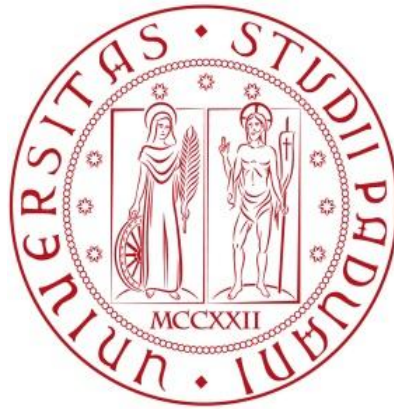
**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

---

**FACOLTÀ DI INGEGNERIA**

*Corso di Laurea in Ingegneria dell'Informazione*

**TESI DI LAUREA TRIENNALE**



**Modelli Compartmentali a Parametri  
Concentrati e Distribuiti per la quantificazione  
di immagini PET**

***Laureando***

Nicolò Giuseppe Pegoraro

*Matricola* 1007491

***Relatore***

*Prof.essa* Alessandra Bertoldo



# Indice

Indice	3
Introduzione	5
Capitolo 1	7
1 Modelli compartimentali	7
1.1 Il modello	7
1.1.1 Formulazione	9
1.1.2 Identificazione	11
1.1.3 Validazione	12
1.1.4 Simulazione	13
1.2 Modelli Compartimentali a parametri concentrati	13
1.3 Modelli compartimentali a parametri distribuiti	20
1.3.1 Modello per lo scambio sangue - tessuto	21
1.3.1.1 Modello a singolo capillare	23
1.3.1.2 Modello capillare - fluido interstiziale	24
1.3.1.3 Modello capillare - fluido interstiziale - cellula	26
1.3.2 Modello dell'organo	28
Capitolo 2	32
2 Modelli per la quantificazione di immagini PET	32
2.1 Cos'è la PET	32
2.1.1 Come funziona?	32
2.2 Modelli a parametri concentrati PET	34
2.2.1 Modello a tre compartimenti	34
2.2.2 Modello a due compartimenti	37
2.2.3 Modello grafico	41
2.3 Modelli a parametri distribuiti PET	42
Capitolo 3	46
3 Applicazioni dei due modelli per studi recettoriali sul cuore	46
3.1 Strategie d'analisi e Generazione dati	46

Capitolo 4	52
4 Conclusioni	52
Glossario	54
Bibliografia	57

## **Introduzione**

Nel corso degli anni si sono sviluppati sempre di più i modelli matematici e conseguentemente anche il loro utilizzo in vari ambiti scientifici, soprattutto fisiologici e medici per migliorare la comprensione quantitativa e qualitativa dei sistemi biologici. Lo scopo di tali modelli trova utilizzo sia nella ricerca di base, sia nella didattica e sia nel supporto alle decisioni cliniche.

Il loro grande utilizzo è spiegato dal fatto che consentono di rappresentare la realtà con un certo grado di approssimazione e quindi non richiedono la conoscenza perfetta del sistema in esame.

Scopo di questa Tesi è quello di presentare nella prima parte i modelli compartimentali a parametri concentrati e distribuiti mettendo in evidenza le loro somiglianze, ma soprattutto le loro differenze, mentre nella seconda analizzare il loro utilizzo per l'acquisizione di immagini PET.

Nel primo capitolo, infatti, vengono presentati e definiti in modo rigoroso i concetti di modello e, soprattutto, di modello compartimentale. Vengono inoltre presentate le relazioni matematiche che li definiscono dove verranno sottolineate le differenze esistenti tra i modelli a parametri concentrati e distribuiti.

Nel secondo capitolo, invece, dopo aver definito il concetto di tomografia ad emissione di positroni (PET) e l'ambito di utilizzo, si passa allo studio della quantificazione di immagini PET nei due casi: a parametri concentrati o distribuiti.

Infine, nell'ultimo capitolo, verrà presentato un esempio di acquisizione di dati riguardante due recettori che interessano le dinamiche fisiologiche del cuore.

Come aiuto nella lettura è presente, alla fine, un glossario con alcuni termini tecnici utilizzati nel corso di questa Tesi.



# **CAPITOLO 1**

## **Modelli compartimentali**

Lo scopo di questo capitolo è quello di definire il concetto di modello, e in particolare di modello compartimentale, e darne una formulazione matematica completa. Inoltre vengono presentati i vari passi che portano alla definizione di un modello, quali: formulazione, identificazione, validazione e simulazione.

### **1.1 Il Modello**

Con il termine modello indichiamo una rappresentazione della realtà con un certo grado di approssimazione. Tale grado di approssimazione è deciso direttamente dal modellista e questo sarà esplicitamente collegato allo scopo che ci si è prefissi.

Nel corso di questo lavoro ci focalizzeremo essenzialmente sui modelli matematici, cioè rappresentazioni semplificate della realtà fisiologica espresse sotto forma di equazioni matematiche.

Il grado di approssimazione con il quale rappresentiamo il sistema lo decidiamo noi e questo sarà direttamente collegato allo scopo che ci siamo stabiliti. Oltre a questo tipo di modello, comunque, ce ne sono di altri tipi, per esempio: modelli concettuali, predittivi, mentali, verbali, fisici, statistici, logici, grafici, etc.

Tuttavia, derivare il modello è un processo di trasformazione, dove tale trasformazione è realizzata da un'opportuna metodologia modellistica (si veda Figura 1.1).

Come abbiamo detto in precedenza, lo scopo del modello ci aiuta a capire sia il modo attraverso il quale dovremmo formularlo sia il suo grado di dettaglio. Fondamentalmente nell'ambito dell'Ingegneria e delle Scienze, esistono quattro diverse categorie di modelli:

- Descrittivi: vengono utilizzati quando vogliamo esprimere relazioni quantitative in termini di equazioni. Questi sono sfruttati perché ci forniscono una

descrizione concisa ed economica del sistema considerato e facilitano l'analisi e il trattamento dei dati;

- Interpretativi: quando lo scopo primo è quello, appunto, di interpretare i dati ottenuti sperimentalmente;
- Predittivi: utilizzati quando ci poniamo la domanda di come un sistema risponderebbe ad uno stimolo o ad una variazione della sua struttura;
- Esplicativi: per fornire una spiegazione fisiologica degli effetti dinamici osservati.

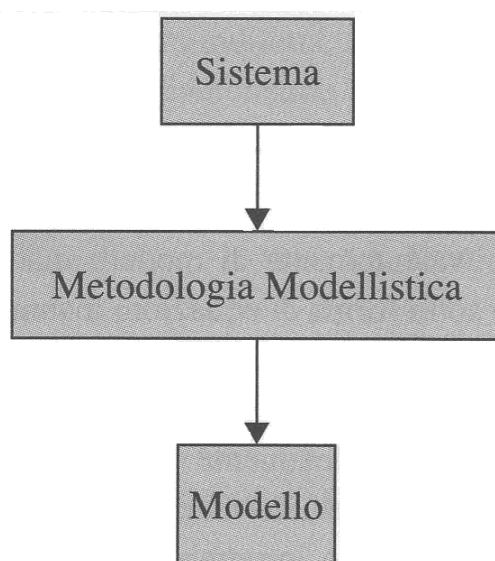


Figura 1.1 Metodologia modellistica per trasformare un sistema in un modello.

Per sviluppare un modello matematico possiamo utilizzare due diversi tipi di approcci, che vengono descrittivi brevemente di seguito<sup>[2]</sup>.

Il primo metodo è basato essenzialmente sui dati sperimentali ed è essenzialmente un approccio guidato dai dati (data-driven o black-box). Infatti, la descrizione della relazione ingresso-uscita non si basa su nessuna conoscenza della struttura interna ma solamente sui dati ottenuti dal sistema. In questo tipo di modello, la conoscenza fisiologica è scarsa ed è utilizzato quando non c'è la necessità di conoscere specificatamente come i meccanismi fisiologici generino una tale risposta ingresso-uscita.

Per quanto riguarda il secondo metodo, invece, questo è utilizzato quando si vuole descrivere specificatamente ed esplicitamente la fisiologia del sistema (white-box). Il



vantaggio fondamentale in questo caso è quello di mettere in relazione diretta le caratteristiche del comportamento dinamico osservate con i parametri fisiologici e le variabili descrittive il modello.

Questi due diversi approcci hanno una caratteristica comune: l'uso di una chiara ed appropriata metodologia modellistica.

Nel seguito vengono descritti i passaggi fondamentali per trasformare un sistema in un modello<sup>[1]</sup>.

### 1.1.1 - Formulazione

Questa prima fase si differenzia nel caso in cui utilizziamo il primo o secondo tipo di approccio modellistico. Per quanto riguarda il primo metodo, il grado di complessità della descrizione matematica è scelto in modo consistente allo scopo che ci siamo posti. Tale passo è descritto nella figura sottostante:

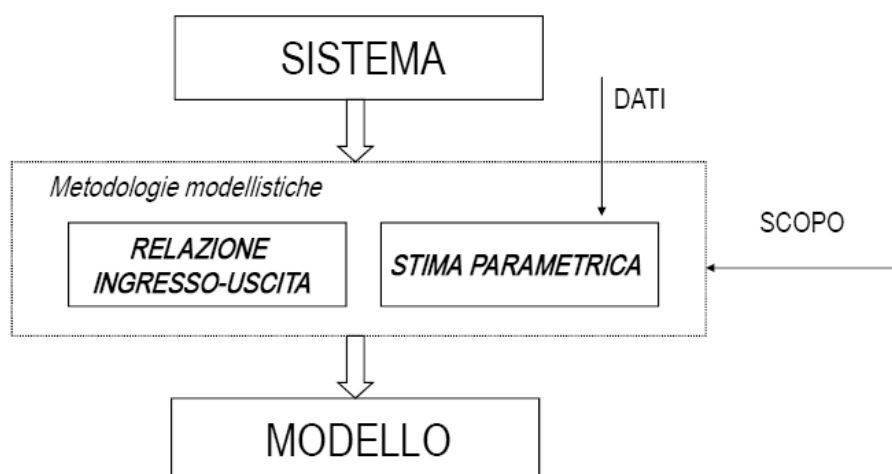


Figura 1.2 Metodologia modellistica per un modello di dati.

Nel secondo caso, invece, dove vogliamo descrivere in modo dettagliato la fisiologia del sistema, abbiamo bisogno di tre passi diversi nel processo di modellizzazione: formulazione di un modello concettuale, descrizione matematica e soluzione del modello.

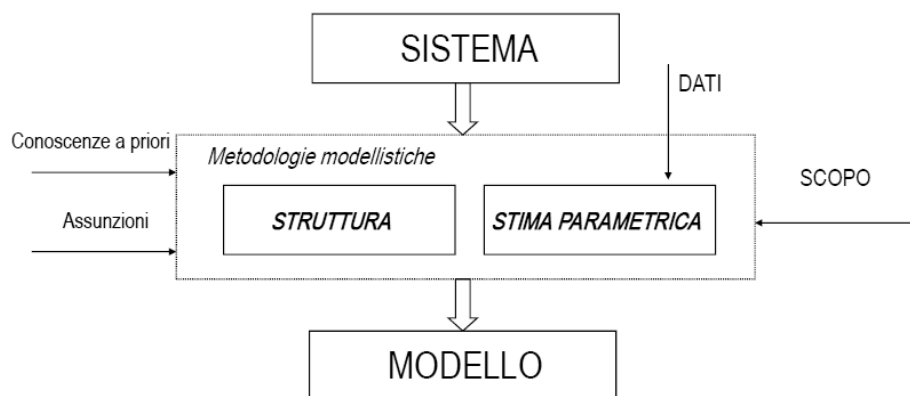


Figura 1.3 Metodologia modellistica per un modello di sistema.

Il modello concettuale che consideriamo si basa sulle conoscenze fisiologiche che vogliamo che esso rappresenti, ma visto che questo è caratterizzato da un certo grado di approssimazione, sarà necessario fare tre ipotesi semplificative: aggregazione, astrazione e idealizzazione.

La prima è ben definita quando uniamo assieme tutti gli spazi extravascolari e li consideriamo come un unico compartimento; l'astrazione è descritta dal dettaglio attraverso il quale gli aspetti del sistema vengono considerati nel modello. Infine, nel caso in cui alcuni compartimenti o strutture siano difficili da definire o trattare, possono essere approssimati con una versione più semplice.

Definito questo, si passa alla definizione delle equazioni matematiche che lo descrivono e, solitamente, in un modello dinamico queste rappresentano il modo in cui variano uno o più parametri nel tempo. Attraverso l'uso di queste relazioni matematiche, vorremmo essere in grado di ottenere delle relazioni esplicite tra variabili e parametri del modello in modo da riuscire a risolvere il sistema.

In questa Tesi, le relazioni matematiche che verranno trattate e analizzate saranno equazioni differenziali lineari ordinarie o alle derivate parziali.

### 1.1.2 - Identificazione

Per poter passare dal sistema al modello, un passo necessario è specificare la struttura del modello stesso e aver determinato il valore di tutti i parametri che lo descrivono, in modo da poterlo risolvere completamente.

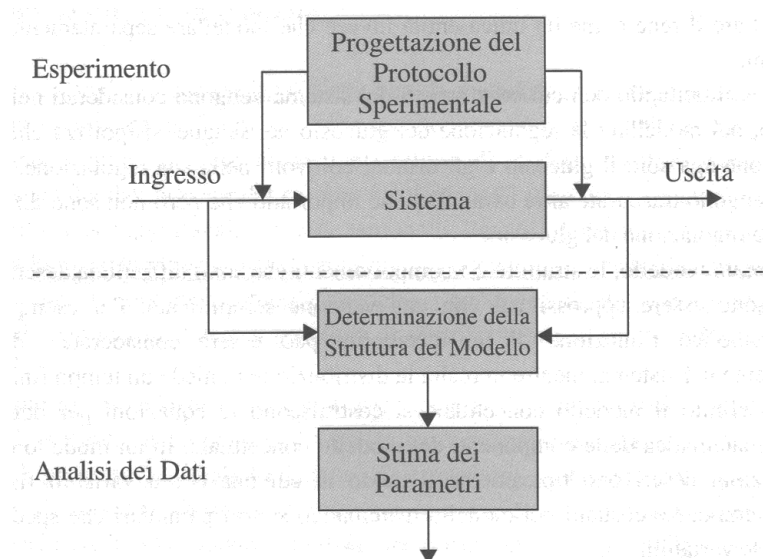


Figura 1.4 Identificazione di un modello.

A volte, però, può capitare che nel modello che stiamo trattando non tutti i parametri siano noti, a prescindere dal fatto che utilizziamo un approccio data-driven o white-box. Scopo di tale fase è quello di stabilire teoricamente se, dato il modello ed una certa configurazione di ingressi e uscite, è possibile trovare il valore di tutti i parametri incogniti nel caso puramente ideale, cioè in assenza di errori e con le uscite note perfettamente a tempo continuo. Questa analisi può portare a tre diverse conclusioni:

- Modello univocamente identificabile, se il valore di ogni parametro è identificabile in modo univoco;
- Modello identificabile ma non univocamente, se almeno un parametro non è identificabile, ma per il quale si hanno soluzioni finite;
- Modello non identificabile, se almeno un parametro non è identificabile e ammette quindi infinite soluzioni.

Nel caso in cui ci trovassimo in uno degli ultimi due casi, esistono due possibili rimedi che potrebbero rendere il modello identificabile univocamente:

- arricchire l'esperimento e quindi aggiungere misure;
- semplificare il modello, eliminando uno o più compartimenti.

### 1.1.3 - Validazione

Dopo aver definito il modello e aver calcolato il valore dei parametri, dobbiamo validarlo, cioè esaminare se esso descrive in modo esauriente il sistema per lo scopo che ci siamo stabiliti.

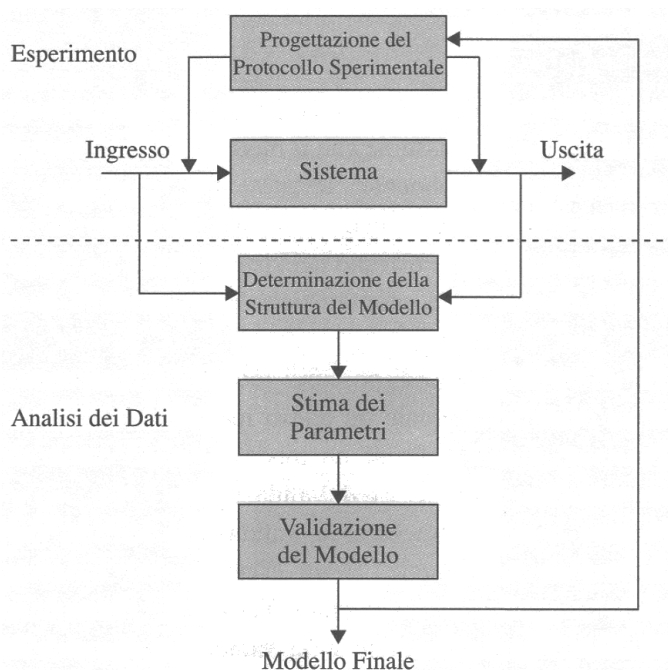


Figura 1.5 Validazione del modello completo.

Tale fase viene eseguita sia in fase di progettazione del modello durante la quale viene testata la sua ragionevolezza in quanto approssimazione della realtà, sia a modello completato.

In questa fase viene analizzata matematicamente ogni differenza tra risposta teorica e sperimentale, in modo da migliorare i risultati e renderli il più aderenti possibili l'uno all'altro.

Infine, nel caso di due modelli entrambi accettabili dal punto di vista della risposta, viene preferito quello con il minor numero di parametri.

### *1.1.4 - Simulazione*

Questo è lo stadio conclusivo nel processo di modellizzazione durante il quale il modello viene testato in modo da esaminare l'uscita prodotta.

Questa fase, come quella di validazione, può essere effettuata sia in fase di progettazione sia a modello completo. Nel primo caso è sfruttata per chiarire alcuni aspetti del sistema e capire se la rappresentazione adottata è corretta; nel secondo caso, invece, ne fornisce l'uscita e con essa tutte le informazioni riguardo al comportamento del sistema.

## **1.2 Modelli Compartimentali a parametri concentrati**

I modelli compartimentali a parametri concentrati sono una classe fondamentale dei modelli dinamici, varianti cioè nel tempo, e sono descritti da equazioni differenziali ordinarie. Essi sono basati sul principio fisico del bilancio di massa il quale fornisce una relazione che intercorre tra i flussi entranti ed uscenti di una certa grandezza fisica in esame, la quantità che viene ad essere generata o distrutta e la quantità accumulata, riferendosi ad un intervallo di tempo e ad un dato volume che contiene il sistema fisico in esame.

Questo tipo di modelli vengono utilizzati soprattutto per studiare quantitativamente la cinetica di sostanze all'interno di sistemi fisiologici; le sostanze usate possono essere sia esogene (farmaci o traccianti) oppure endogene (ormoni o substrati).

Il nome compartimentali deriva dal fatto che solitamente, modellizzando il sistema, questo viene diviso in varie parti che vengono appunto chiamati compartimenti; questi identificano uno spazio fisico nel quale supponiamo che la quantità di materia si comporti in maniera omogenea.

Tale caratteristica di omogeneità racchiude in sé due ipotesi fondamentali:

- Uniformità di informazione, e quindi stessa concentrazione in ogni punto;
- Uguale probabilità di seguire una delle possibili strade per lasciare il compartimento.

A fronte di ciò, un modello compartimentale è dato da un numero arbitrario di compartimenti interconnessi, dove le connessioni rappresentano flussi di materia e segnali di controllo che noi desideriamo studiare e definire.

Nel momento in cui siamo di fronte ad un sistema fisiologico al quale vogliamo associare un modello compartimentale, abbiamo varie alternative che dipendono dal sistema stesso, dalle conoscenze fisiologiche disponibili e, infine, dalla ricchezza dell'esperimento utilizzato per lo studio. Durante questa fase iniziale, dobbiamo anche definire quali compartimenti sono accessibili e quali no e indirizzare il nostro studio sui primi, considerando i secondi il più possibile veritieri.

Dal punto di vista grafico, un compartimento è definito nel seguente modo:

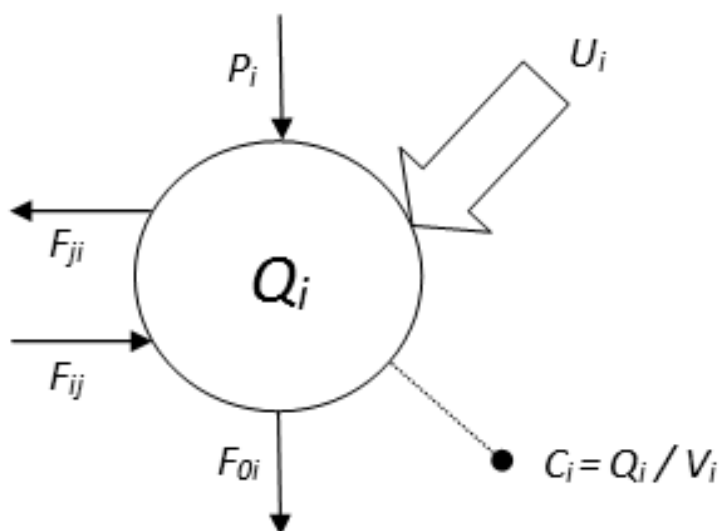


Figura 1.6 Rappresentazione dell'i-esimo compartimento con i flussi d'ingresso e d'uscita e la misura della concentrazione.

Le varie frecce indicano i flussi, rispettivamente:

- $F_{ji}$ : il flusso uscente dal compartimento i-esimo verso il j-esimo;
- $F_{ij}$ : il flusso uscente dal compartimento j-esimo verso l'i-esimo;
- $F_{0i}$ : il flusso verso l'ambiente esterno;
- $P_i$ : il flusso endogeno, dovuto alla produzione di una sostanza;
- $U_i$ : il flusso esogeno, dovuto all'immissione di una sostanza.

L'ultimo simbolo nel disegno,  $C_i$ , indica la concentrazione di una sostanza all'interno del compartimento, e questa è presente solo se questo è accessibile.

Supponendo ci siano  $M$  compartimenti di tale tipo, questa si calcola come:

$$C_i(t) = \frac{Q_i(t)}{V_i} \quad i \in [1, \dots, M] \quad (1.1)$$

dove  $V_i$  è il volume del compartimento.

Il compartimento  $Q_i$ , con  $i = 1, 2, \dots, n$  è descritto da una equazione, tenendo conto di tutti i flussi e rispettando sempre il bilancio di massa, del seguente tipo:

$$\dot{Q}_i(t) = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n F_{ij}(t) - \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n F_{ji}(t) + P_i(t) - F_{0i}(t) + U_i(t) \quad (1.2)$$

$$Q_i(0) = Q_{i0}, \quad i = 1, 2, \dots, n$$

Nell'equazione (1.2) alcuni termini possono essere nulli; il termine  $Q_{i0}$  indica la massa del compartimento al tempo 0.

Tutti i flussi, endogeni, esogeni o tra compartimenti sono caratterizzati dai seguenti fatti:

- I flussi sono non negativi;
- Essi sono positivi quando esiste un collegamento diretto, fra compartimenti o fra compartimento e mondo esterno, nel quale abbiamo scambio di materia, nullo altrimenti;
- Analogamente per gli ingressi; essi, se presenti, sono positivi o nulli.

I vari flussi  $F_{ij}$  sono funzione delle masse di tutti i compartimenti  $Q_i$  e, a volte, anche del tempo cioè:

$$F_{ij}(t) = F_{ij}[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)] \quad \text{con} \quad \begin{array}{l} i = 0, 1, \dots, n \\ j = 1, 2, \dots, n \\ j \neq i \end{array} \quad (1.3)$$

Da tale equazione possiamo anche esplicitare il termine  $k_{ij}$  che rappresenta il coefficiente frazionario di trasferimento dal compartimento  $j$  a quello  $i$ , cioè la velocità con la quale avviene il trasferimento di materia tra essi o la trasformazione di una sostanza al loro interno:

$$F_{ij}[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)] = k_{ij}[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)]Q_j(t) \quad (1.4)$$

Tale coefficiente, funzione di tutti i compartimenti  $Q_i$ , è sempre definito positivo o al massimo nullo.

La relazione (1.2) di conseguenza si può riscrivere così:

$$\begin{aligned} \dot{Q}_i = & \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n k_{ij}[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)] Q_j - \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n k_{ji}[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)] Q_i(t) + \\ & + P_i[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)] - k_{oi}[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)] + U_i(t) \end{aligned} \quad (1.5)$$

Il coefficiente  $k_{ij}$  può assumere varie forme, la più semplice delle quali è quando è costante, e quindi non c'è controllo su di esso:

$$k_{ij}[Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)] = k_{ij} \quad (1.6)$$

che porta ad avere il flusso funzione lineare di  $Q_j$ :

$$F_{ij} = k_{ij}Q_j(t) \quad (1.7)$$

In questo caso l'equazione (1.2) assume la seguente forma:

$$\begin{aligned} \dot{Q}_i = & \sum \text{flussi entranti} - \sum \text{flussi uscenti} \\ = & \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n k_{ij} * Q_j(t) - \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n k_{ji} * Q_i(t) - k_{oi} * Q_i(t) + P_i(t) + U_i(t) \end{aligned} \quad (1.8)$$

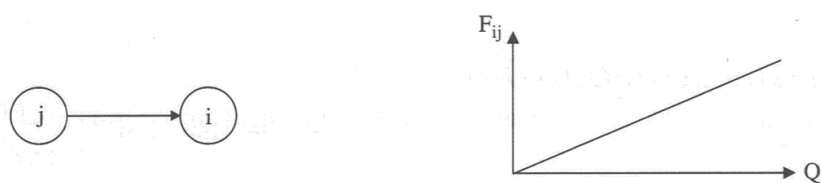


Figura 1.7 Dipendenza funzionale del flusso tra compartimenti senza controllo.

Un'altra descrizione, più realistica della precedente, è quella di Michealis-Menten (vedi Figura 1.8), nella quale:

$$k_{ij}[Q_j(t)] = \frac{V_M}{k_m + Q_j(t)} \quad (1.9)$$

e quindi otteniamo:

$$F_{ij}[Q_j(t)] = \frac{V_M Q_j(t)}{k_m + Q_j(t)} \quad (1.10)$$

dove  $V_M$  è il valore di saturazione e  $k_m$  è il valore di  $Q_i$  per cui si ha  $V_M/2$ .



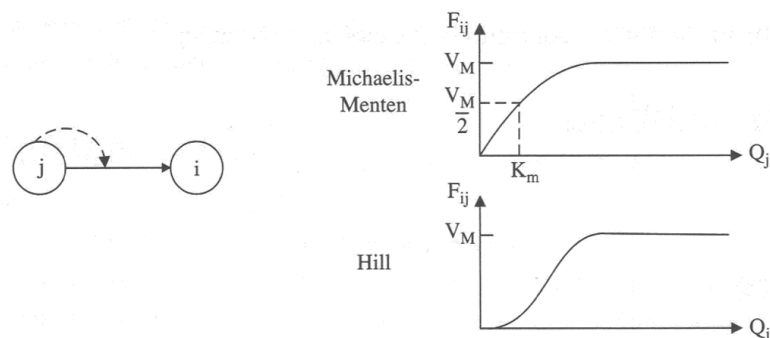


Figura 1.8 Dipendenza funzionale del flusso tra compartimenti con controllo dal compartimento d'origine.

Tuttavia la maggior complessità di questo modello non tiene conto del fatto che spesso intervengono anche fenomeni di soglia (si veda Figura 1.8, secondo grafico); questi sono compresi nella relazione di Hill:

$$k_{ij}[Q_j(t)] = \frac{V_M Q_j^{q-1}(t)}{k_m + Q_j^q(t)} \quad (1.11)$$

Il valore di  $q$  è intero e positivo e, nel caso particolare di  $q = 1$ , ritorniamo alla relazione di Michealis-Menten.

Un ultimo tipo di controllo può essere esercitato da uno o più compartimenti diversi da  $Q_j$ . Se, per esempio, consideriamo  $Q_h$  il controllore otterremo, nel caso di controllo lineare:

$$k_{ij}[Q_h(t)] = \alpha + \beta Q_h(t) \quad (1.12)$$

mentre se il controllo fosse lineare e derivativo avremmo:

$$k_{ij}[Q_h(t)] = \alpha + \beta Q_h(t) + \gamma \dot{Q}_h(t) \quad (1.13)$$

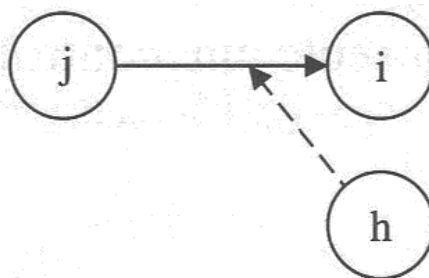


Figura 1.9 Dipendenza funzionale del flusso tra compartimenti con controllo da compartimento remoto.

A volte il compartimento di controllo coincide con quello di arrivo e, in questo caso, possiamo definire la relazione di Langmuir:

$$\begin{cases} k_{ij}[Q_i(t)] = \alpha \left[ 1 - \frac{Q_i(t)}{\beta} \right] & Q_i < \beta \\ k_{ij}[Q_i(t)] = 0 & Q_i \geq \beta \end{cases} \quad (1.14)$$

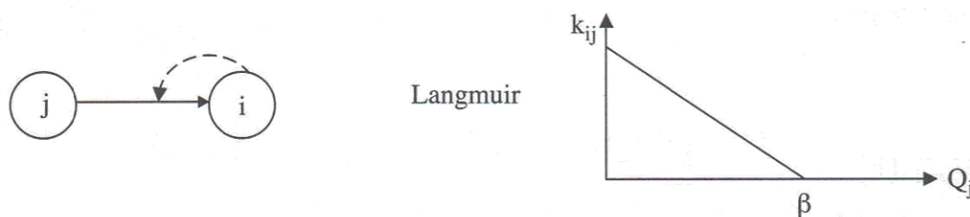


Figura 1.10 Rappresentazione grafica della relazione di Langmuir.

In questi ultimi casi la linearità viene meno e questa è a sua volta sostituita da un comportamento del modello non lineare in grado di incorporare al suo interno tutti gli effetti non lineari della struttura del sistema fisiologico.

Molto spesso durante l'analisi è utile scrivere tutte le relazioni precedenti sotto forma di vettore-matrice e questo è possibile definendo i vettori:

$$\begin{aligned} Q(t) &= [Q_1(t), Q_2(t), \dots, Q_n(t)]^T \\ P(t) &= [P_1(t), P_2(t), \dots, P_n(t)]^T \\ U(t) &= [U_1(t), U_2(t), \dots, U_n(t)]^T \\ C(t) &= [C_1(t), C_2(t), \dots, C_n(t)]^T \end{aligned} \quad (1.15)$$

In questo modo, infatti, otteniamo il seguente sistema di equazioni:

$$\begin{cases} \dot{Q}(t) = K[Q(t)]Q(t) + P[Q(t)] + U(t) & Q(0) = Q_0 \\ C(t) = HQ(t) \end{cases} \quad (1.16)$$

con  $K[Q(t)]$  matrice compartimentale  $n \times n$  dei coefficienti di trasferimento e  $H$  matrice di misura  $m \times n$ .

La matrice compartimentale  $K[Q(t)]$  gode di tre proprietà fondamentali che derivano direttamente dal principio di bilancio di massa:

1.  $k_{ii}[Q(t)] = -\sum_{j=0, j \neq i}^n k_{ji}[Q(t)] \leq 0$  per tutti gli  $i$ ;
2.  $k_{ij}[Q(t)] \geq 0$  per tutti  $i \neq j$ ;
3. È diagonale dominante rispetto alle colonne, cioè  $|k_{ii}[Q(t)]| \geq \sum_{j=1, j \neq i}^n k_{ji}[Q(t)]$ .

Avendo introdotto le definizioni matriciali che descrivono la dinamica di un sistema compartimentale, possiamo anche studiare la stabilità di questo al variare del tempo in un determinato punto. Come primo caso studiamo quelli lineari, cioè per i quali

$$F_{ij} = k_{ij} = \text{cost} \text{ e li indicheremo con } \dot{Q} = KQ + GU \text{ dove } G = I = \begin{bmatrix} 1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \ddots & 0 & \vdots \\ \vdots & 0 & \ddots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & 1 \end{bmatrix}.$$

Prima di proseguire la descrizione, bisogna innanzitutto distinguere tra stabilità semplice e asintotica<sup>[6]</sup>:

*Definizione 1: Un punto di equilibrio  $q_{eq}$  si dice semplicemente stabile se  $\forall \varepsilon > 0 \exists \delta > 0$  tale che se  $\|q(0) - q_{eq}\| \leq \delta$  allora si ha  $\|q(t) - q_{eq}\| \leq \varepsilon, \forall t \geq 0$  mentre si dice asintoticamente stabile se :*

1. *è semplicemente stabile;*
2.  *$\lim_{t \rightarrow \infty} q(t) = q_{eq}$  purché la condizione iniziale  $q(0)$  sia scelta "sufficientemente vicina" ad  $q_{eq}$ .*

Fatta questa distinzione, siamo in grado ora di definire i seguenti teoremi:

*Teorema 1: Dato un sistema compartimentale descritto dalla seguente equazione  $\dot{Q} = KQ + GU$ , se  $Q(0) > 0$  e  $U(t) = 0$ , allora  $Q(t), t \geq 0$  è limitata, e la matrice  $K$  è almeno semplicemente stabile.*

*Dimostrazione:* Assumendo  $V(x) = \sum_{i=1}^n Q_i$  e  $U(t) = 0$  (evoluzione libera, cioè con ingressi tutti nulli), otteniamo:

$$\dot{V}(x) = \sum_{i=0}^n \dot{Q}_i = \sum_{i=1}^n (\sum_{j=1}^n k_{ij} x_j) = \sum_{j=1}^n x_j (\sum_{i=1}^n k_{ij}) = \sum_{j=1}^n c_j x_j \quad (1.17)$$

dove  $c_j$  è la somma degli elementi della colonna j-esima:

$$c_j = \sum_{i=1}^n k_{ij} = \sum_{i \neq j} k_{ij} + k_{jj} = \sum_{i \neq j} k_{ij} - F_{0i} - \sum_{i \neq j} k_{ij} = -F_{0i} \leq 0 \quad (1.18)$$

Ma  $Q_i(t) \geq 0$  e  $c_j \leq 0$  per ipotesi, quindi  $\dot{V}(x(t)) \leq 0$  e quindi  $V(x(t))$  decresce. Ne segue facilmente che  $Q(t)$  rimane per sempre all'interno del primo quadrante il che implica la limitatezza di  $Q(t)$ , ma anche che  $Q(t)$  non si allontani di molto dall'origine; tutto questo equivale alla stabilità, almeno semplice, del punto di equilibrio  $q_{eq} = 0$ .

*Teorema 2: Dato un sistema compartimentale  $\dot{Q} = KQ$ , gli autovalori di  $K$  soddisfano  $Re(\lambda) < 0$  oppure  $\lambda = 0$ .*

Tale teorema afferma che il sistema può avere oscillazioni, ma solo smorzate.

Un modo alternativo per capire velocemente se il sistema che stiamo studiando è stabile semplicemente o asintoticamente è studiare la matrice  $K$ ; infatti se  $K$  ha tutte le somme di colonna strettamente negative, allora  $\lambda=0$  non può essere autovalore e questo porta alla stabilità asintotica; se, invece, tutte le colonne hanno somma nulla (sistema chiuso), allora  $\lambda=0$  è autovalore. Nei casi intermedi, nei quali non tutte le colonne hanno somma nulla, non possiamo concludere nulla.

### 1.3 Modelli compartimentali a parametri distribuiti

La discussione fino ad ora affrontata riguardava sistemi che potevano essere facilmente trasformati in modelli a parametri concentrati, dove cioè potevamo assumere che una determinata sostanza fosse uniformemente distribuita in un unico spazio fisico trattato come singolo compartimento.

Tuttavia questa assunzione non risulta più valida nei modelli che andremo a studiare in questa sezione, dove la concentrazione del farmaco non è più funzione del solo tempo, ma anche dello spazio.

Dal punto di vista matematico, questo comporta l'utilizzo di equazioni matematiche più complicate che coinvolgono anche due derivate parziali:  $\frac{\delta x}{\delta t}$ , cioè la variazione della concentrazione del farmaco rispetto al tempo e  $\frac{\delta x}{\delta z}$ , cioè la variazione della concentrazione del farmaco rispetto lo spazio<sup>[1]</sup>.

Tale tipo di modello tiene conto dell'eterogeneità dei flussi, intendendo con ciò che il flusso che interessa un organo è suddiviso tra i capillari in modo non uniforme.

Nei prossimi paragrafi vengono presentati tre diversi modelli per descrivere la dinamica dello scambio sangue-tessuto, ambito nel quale vengono maggiormente utilizzati. In tutti e tre i casi viene considerato un singolo capillare ma si differenziano l'uno dall'altro per la complessità via via crescente: prima si considera il solo capillare, poi lo

scambio capillare-fluido interstiziale ed infine lo scambio capillare-fluido interstiziale-cellula.

### 1.3.1 - Modello per lo scambio sangue-tessuto

Lo scambio sangue-tessuto è un processo fisiologico fondamentale e consiste nel passaggio di molecole dal plasma, attraverso i capillari, al fluido interstiziale e, da qui, attraverso il sarcolemma o la membrana cellulare, alle cellule del parenchima dove il metabolismo prende luogo. La suddivisione di tale flusso non è uniforme e si parla per questo motivo di eterogeneità del flusso, che a sua volta comporta eterogeneità di metabolismo in ogni unità capillare - tessuto (vedi Figura 1.11).

Le tecniche sperimentali attraverso le quali possiamo studiare questo flusso sono basate sull'uso di traccianti.

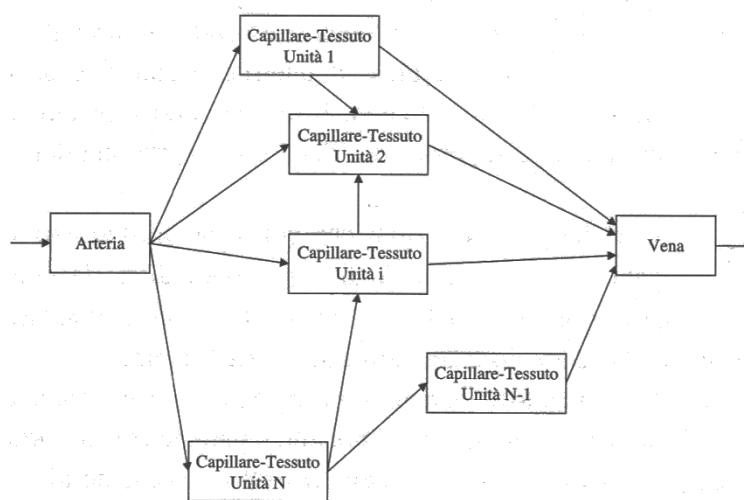


Figura 1.11 Rappresentazione schematica della rete vascolare di un organo che mostra l'eterogeneità dello scambio sangue-tessuto. Il trasporto ed il metabolismo hanno luogo nell'unità capillare-tessuto (adattata da Vicini, 2001).

Questi sono molecole nelle quali uno o più atomi sono stati sostituiti con i rispettivi isotopi, stabili o radioattivi; tali molecole hanno le stesse caratteristiche chimiche rispetto alla sostanza "tracciata" ma diverse caratteristiche fisiche.

Dal punto di vista teorico si vorrebbe che il tracciante fosse ideale, cioè indistinguibile dalla sostanza tracciata in modo da non influenzare la cinetica del tracciato.

Un primo tipo di approccio alla quantificazione di questo tipo di scambio è basato sul *Principio di Fick* (1870) che descrive la tecnica per determinare il consumo di una sostanza dopo il passaggio attraverso un organo. Questo è calcolato come prodotto tra la differenza della concentrazione arteriovenosa della sostanza prima e dopo il passaggio nell'organo e il flusso di sangue. Oltre a questo metodo ce ne sono altri, più raffinati, che sfruttano la diluizione di più traccianti, la tomografia a emissione di positroni (PET), sulla quale ci focalizzeremo, o la risonanza magnetica nucleare (NMR).

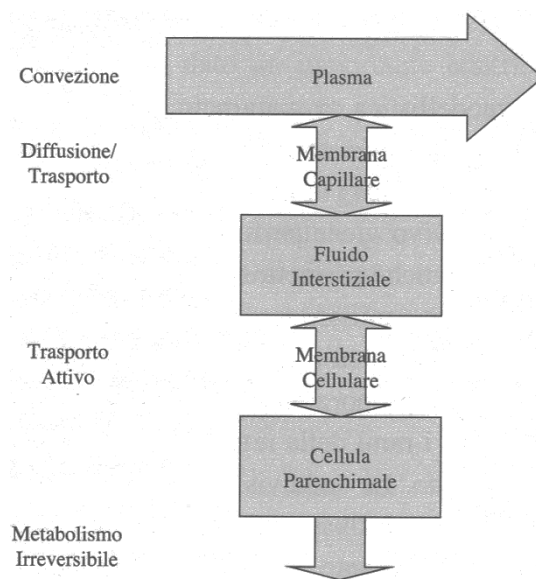


Figura 1.12 Processi elementari dello scambio sangue-tessuti.

Come detto in precedenza, in un modello a parametri distribuiti, la concentrazione del tracciante è funzione sia dello spazio che del tempo e il primo esempio che mise in pratica tale definizione è stato quello di *Krogh* (1919, 1936). Questo modello descriveva il capillare come un cilindro con flusso omogeneo, caratterizzato da una simmetria radiale e immerso in una sostanza omogenea (il tessuto). Tale modello ha tre diverse applicazioni:

1. A singolo capillare;
2. Capillare–fluido interstiziale (a due regioni);
3. Capillare-fluido interstiziale-cellula (a tre regioni).

### 1.3.1.1 - Modello a singolo capillare

In tale tipo di modello consideriamo un generico tracciante in un capillare. Dopo aver supposto che la diffusione radiale sia trascurabile, la concentrazione del tracciante è funzione sia dello spazio che del tempo e quindi è descritta da una funzione del seguente tipo:  $C(x, t)$ .

In particolare l'equazione differenziale per questo tipo di modello è la seguente:

$$\frac{\delta C(x,t)}{\delta t} = -v(x) \frac{\delta C(x,t)}{\delta x} + D \frac{\delta^2 C(x,t)}{\delta x^2} \quad (1.19)$$

dove:  $v$  è la velocità di convezione ( $\text{cm s}^{-1}$ );

$D$  il coefficiente di diffusione ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ).

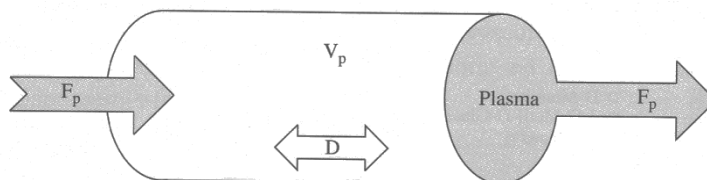


Figura 1.13 Modello di scambio sangue-tessuto di un capillare (adattata da Vicini, 2001).

Definita tale equazione, è possibile fare alcune semplificazioni; prima fra tutte possiamo supporre che il sistema sia stazionario (cioè non vari nel tempo). Inoltre, la presenza di globuli rossi crea nei capillare delle zone di puro trasporto convettivo (plug flow) che possono essere non considerate. Di conseguenza la formula semplificata risulta:

$$\frac{\delta C(x,t)}{\delta t} = -v(x) \frac{\delta C(x,t)}{\delta x} \quad (1.20)$$

Tuttavia, se a questo punto assumiamo che il diametro sia uniforme, possiamo effettuare un'ulteriore semplificazione, cioè porre  $v(x) = v$ .

Ora ci poniamo l'obiettivo di scrivere la velocità in funzione del volume del capillare  $V_p$  ( $\text{ml g}^{-1}$ ), del flusso del plasma  $F_p$  ( $\text{ml min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) e, infine, della lunghezza del capillare stesso  $L$  ( $\text{cm}$ ); otteniamo in questo modo:

$$v(x) = \frac{F_p L}{V_p} \quad (1.21)$$

Considerando ora la concentrazione del tracciante nel capillare con  $C_p(x, t)$  otteniamo che l'equazione finale descrittiva il modello è:

$$\frac{\delta C_p(x,t)}{\delta t} = -\frac{F_p L}{V_p} \frac{\delta C_p(x,t)}{\delta x} \quad (1.22)$$

$$C_p(0, t) = u(t)$$

con  $u(t)$  profilo di concentrazione all'entrata del capillare.

Infine, l'uscita del modello si può trovare calcolando la convoluzione tra l'ingresso e un impulso traslato nel tempo:

$$C_p(L, t) = \delta\left(t - \frac{V_p}{F_p}\right) \otimes u(t) = u\left(t - \frac{V_p}{F_p}\right) \quad (1.23)$$

Da tale risultato possiamo evincere che la risposta del sistema all'ingresso  $u(t)$  è l'ingresso stesso traslato nel tempo di una quantità pari al tempo di transito del capillare; la sua lunghezza, inoltre, non influisce nel calcolo perché abbiamo supposto la diffusione assiale trascurabile.

### 1.3.1.2 - Modello capillare-fluido interstiziale (due regioni)

In questo modello supponiamo che il capillare sia immerso nel fluido interstiziale, cioè in un mezzo omogeneo e inattivo (la convezione avviene solo all'interno del capillare). Tale fluido divide la membrana capillare da quella cellulare e quest'ultima è caratterizzata da fessure tra le cellule endoteliali; la possibilità che una sostanza, quindi, passi da una membrana all'altra dipenderà da molti fattori come la larghezza degli spazi e la loro distribuzione. Possiamo definire permeabilità della membrana (*Crone e Lassen, 1970*):

$$P = \frac{\text{flusso attraverso la membrana}}{\text{superficie della membrana} \times \text{gradiente di concentrazione attraverso la membrana}} \quad (1.24)$$

Anche in questo modello consideriamo la concentrazione del tracciante all'interno del capillare con  $C_p(x, t)$  e definiamo quella all'interno del fluido interstiziale con  $C_{isf}(x, t)$ . A questo punto l'equazione che descrive la dinamica attraverso la membrana è data da:

$$\frac{\delta C_p(x,t)}{\delta t} = -\frac{S_g(x)}{V_p} [P_-(x)C_p(x, t) - P_+(x)C_{isf}(x, t)] \quad (1.25)$$



dove:  $S_g(x)$  individua la superficie della membrana capillare interessata allo scambio (con  $g$  che indica i gap endoteliali);

$P_-(x)$  è la permeabilità nella direzione d'uscita (permeabilità centrifuga);

$P_+(x)$  è la permeabilità nella direzione entrante nel capillare (permeabilità centripeta).

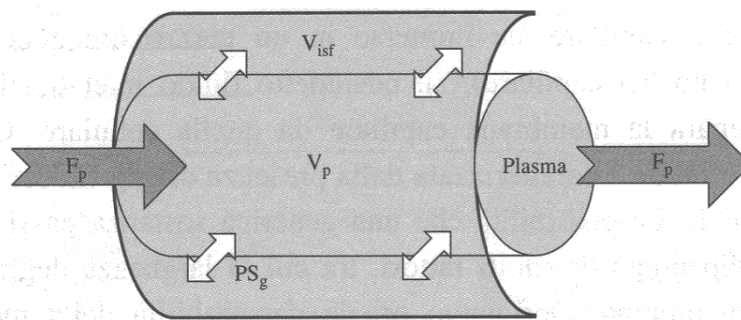


Figura 1.14 Modello scambio sangue-tessuti di un capillare a due regioni (adottato da Vicini, 2001).

Come fatto precedentemente, dopo aver definito l'equazione generica, possiamo fare delle ipotesi che ci consentano di semplificarla e in particolare:

- La dimensione del capillare e del tessuto sono uniformi rispetto alla direzione assiale e questo porta ad avere  $S_g(x) = S_g$ ;
- La permeabilità è uniforme sia in direzione assiale che radiale (rispettivamente  $P(x) = P$  e  $P_+(x) = P$ ) e quindi  $PS_g$  è una costante;
- La diffusione radiale nell'interstizio è rapida.

Detto questo il modello risultante a due regioni può essere schematizzato come in Figura 1.14.

Le soluzioni di questo modello si devono a *Rose-Goresky* (1976) e, successivamente, a *Bassingthwaighe* (1992) che propose algoritmi efficienti per il loro calcolo.

In tale modello possiamo definire l'equazione della regione plasmatica:

$$\frac{\delta C_p(x,t)}{\delta t} = -\frac{F_p L}{V_p} \frac{\delta C_p(x,t)}{\delta x} - \frac{PS_g}{V_p} [C_p(x,t) - C_{isf}(x,t)] \quad (1.26)$$

e anche quella per il fluido interstiziale ( $V_{isf}$  è il volume del fluido interstiziale):

$$\frac{\delta C_{isf}(x,t)}{\delta t} = \frac{PS_g}{V_{isf}} [C_p(x,t) - C_{isf}(x,t)] \quad (1.27)$$

Le equazioni appena definite descrivono come avviene il trasporto attraverso i gap endoteliali della membrana capillare per un capillare. Assumendo sempre vero che  $C_p(0, t) = u(t)$ , la soluzione finale è data da:

$$C_p(L, t) = e^{-PSg/F_p} \delta\left(t - \frac{V_p}{F_p}\right) + \sum_{n=1}^{+\infty} \frac{\left(\frac{V_p PSg PSg}{F_p V_{isf} V_p}\right)^n \left(t - \frac{V_p}{F_p}\right)^{n-1} e^{-PSg/V_{isf}(t-V_p/F_p)-PSg/F_p} \mathbb{1}_{(t-\tau)}}{n!(n-1)!} \quad (1.28)$$

e definendo le costanti  $\tau = \frac{V_p}{F_p}$ ,  $k_a = \frac{PSg}{V_p}$ ,  $k_b = \frac{PSg}{V_{isf}}$  l'equazione può essere riscritta più facilmente nel seguente modo:

$$C_p(L, t) = e^{-\tau/k_a} \delta(t - \tau) + \sum_{n=1}^{+\infty} \frac{(\tau k_a k_b)^n (t-\tau)^{n-1} e^{-k_b(t-\tau)-\tau k_a} \mathbb{1}_{(t-\tau)}}{n!(n-1)!} \quad (1.29)$$

Da tale risposta possiamo individuare due addendi: il primo rappresenta le molecole che fluiscono direttamente attraverso il capillare senza mai lasciarlo (frazione throughput-risposta intravascolare del capillare) mentre il secondo il ritorno della sostanza dal fluido interstiziale al capillare (backdiffusion).

### 1.3.1.3 - Modello capillare-fluido interstiziale-cellula (tre regioni)

Il modello a due regioni appena descritto può essere ulteriormente ampliato e complicato considerando anche il movimento del tracciante dal fluido interstiziale fino alla cellula. Proprio perché ne è un'estensione, le equazioni matematiche che ne regolano il comportamento sono simili al modello a due regioni; in particolare:

$$\frac{\delta C_p(x, t)}{\delta t} = -\frac{F_p L}{V_p} \frac{\delta C_p(x, t)}{\delta x} - \frac{PSg}{V_p} [C_p(x, t) - C_{isf}(x, t)] \quad (1.30)$$

$$\frac{\delta C_{isf}(x, t)}{\delta t} = -\frac{PSg}{V_{isf}} [C_{isf}(x, t) - C_p(x, t)] - \frac{PS_{pc}}{V_{isf}} [C_{isf}(x, t) - C_{pc}(x, t)] \quad (1.31)$$

$$\frac{\delta C_{pc}(x, t)}{\delta t} = -\frac{PSg}{V_{pc}} [C_{pc}(x, t) - C_{isf}(x, t)] - \frac{G_{pc}}{V_{pc}} C_{pc}(x, t) \quad (1.32)$$

dove:  $PS_{pc}$  ( $\text{ml min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) è il prodotto permeabilità-superficie della membrana cellulare;

$V_{pc}$  ( $\text{ml g}^{-1}$ ) il volume della cellula parenchimale;

$G_{pc}$  ( $\text{ml min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) il metabolismo irreversibile.

Come avvenuto nello scorso modello, una soluzione esplicita è dovuta a *Rose e Goresky* (1976), mentre *Bassingthwaighte et al.* (1989) ha aggiunto alla soluzione anche la componente dovuta alla diffusione.

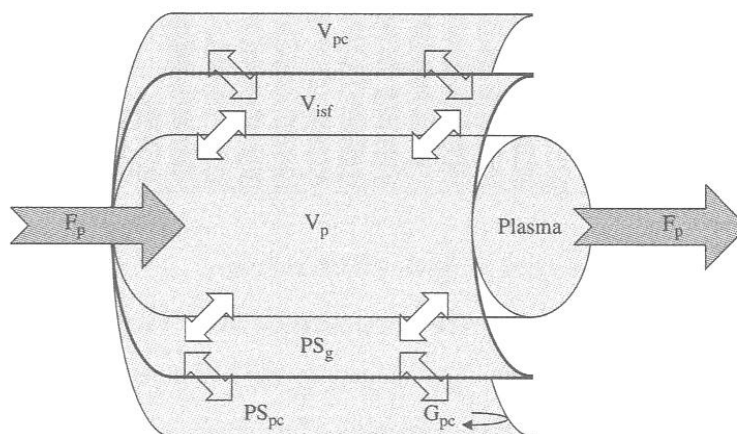


Figura 1.15 Modello dello scambio sangue-tessuto di un capillare a tre regioni (adattato da Vicini, 2001).

Questo modello può essere ulteriormente complicato tenendo conto anche del trasporto delle cellule endoteliali (*Bassingthwaighte et al.* (1989)), della diffusione assiale in ogni regione (*Bassingthwaighte et al.* (1992)) e della cinetica dei globuli rossi per i quali tale cinetica incide nella soluzione finale (*Li et al* (1995)).

Fino ad ora abbiamo descritto modelli compartimentali a parametri distribuiti che descrivevano lo scambio sangue-tessuto considerando un singolo capillare.

Volendo però trattare un contesto generale, dobbiamo considerare il fatto che un organo è caratterizzato da una rete di capillari interconnessi fra di loro. In questo modo il flusso viene suddiviso e questo comporta, di conseguenza, l'eterogeneità della permeabilità locale dei capillari, limitando la quantità di sostanze che possono essere scambiate fra sangue e tessuti. Conoscere tale fenomeno è di fondamentale importanza per poter descrivere in modo rigoroso tale modello di scambio.

Per valutare l'eterogeneità dei flussi esistono vari modi, tra i quali i più comuni sono: l'autoradiografia (*Stapleon et al*, 1995), il deposito di microsfere (*Bassingthwaighte e Goresky*, 1984) o la PET.

Quest'ultimo metodo è quello più utilizzato e oggetto della nostra analisi nel paragrafo che segue.

### 1.3.2 - Modello dell'organo

Il metodo che sfrutta la PET per considerare l'eterogeneità del flusso è quello maggiormente utilizzato perché le immagini ottenute di un organo, attraverso un particolare marcatore, forniscono informazioni non solo sul flusso medio nella regione d'interesse, ma anche sulla sua distribuzione spaziale.

I due modelli classici più famosi sono quello proposto da *Goresky et al* e il secondo quello di *Bassingthwaighte et al*<sup>[5]</sup>.

Quello che descriveremo nel seguito è il secondo, chiamato anche modello a capillari paralleli o modello a rete parallela; il nome deriva dal fatto che in un organo i capillari sono disposti parallelamente gli uni agli altri. Inoltre si considera che tutti i capillari finiscano nello stesso punto.

Dato un organo, al suo interno possiamo individuare  $N$  possibili strade diverse (pathway) parallele, ognuna delle quali rappresenta una frazione del flusso totale  $F$  (Figura 1.16). Gli elementi caratterizzanti ogni pathway sono due: la massa frazionaria  $w_i$  e il flusso regionale, dato da  $f_i = F_i/F$ , con  $i = 1, 2, \dots, N$ .

L'uscita, rappresentante il flusso totale, è data dalla somma pesata delle risposte dei singoli capillari.

Ora il nostro obiettivo è quello di definire l'ampiezza della  $i$ -esima classe di flussi  $\Delta f_i$  per una generica distribuzione di essi; in particolare otteniamo:

$$\begin{aligned} \Delta f_1 &= f_2 - f_1 \\ \Delta f_i &= \frac{f_{i-1} + f_{i+1}}{2} \quad i = 2, \dots, N - 1 \\ \Delta f_N &= f_N - f_{N-1} \end{aligned} \tag{1.33}$$

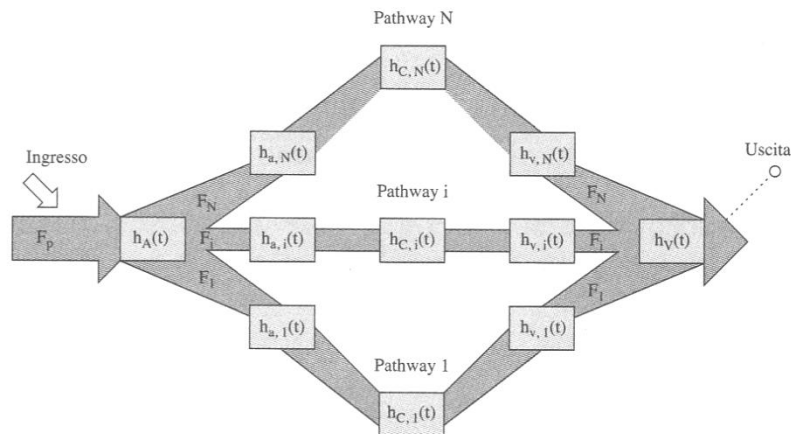


Figura 1.16 Struttura del modello d'organo a parametri distribuiti.

Inoltre, possiamo affermare che la distribuzione dei flussi ha sia area sia media unitaria, cioè:

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^N w_i \Delta f_i &= 1 \\ \sum_{i=1}^N f_i w_i \Delta f_i &= 1 \end{aligned} \quad (1.34)$$

Aver definito queste relazioni ci permette di calcolare la risposta del modello al generico ingresso  $u(t) = \delta(t)$  che risulta:

$$h(t) = h_A(t) \otimes \left[ \sum_{i=1}^N f_i w_i \Delta f_i h_{a,i}(t) \otimes h_{c,i}(t) \otimes h_{v,i}(t) \right] \otimes h_V(t) \quad (1.35)$$

dove:  $h_A(t)$  rappresenta la risposta impulsiva dell'arteria, che non prende parte allo scambio sangue-tessuti;

$h_V(t)$  rappresenta la risposta impulsiva della vena, anch'essa non compresa nello scambio sangue-tessuti;

$h_{a,i}(t)$  indica la risposta impulsiva delle arteriole nell' $i$ -esimo pathway;

$h_{v,i}(t)$  individua la risposta impulsiva delle venule nell' $i$ -esimo pathway;

$h_{c,i}(t)$  descrive la risposta impulsiva dei capillari nell' $i$ -esimo pathway (=  $\delta(t - \tau_i) = \delta(t - V_p / F_i)$ , con  $V_p$  volume del capillare).

La rappresentazione dell'uscita scritta nella formula (1.35) può essere semplificata calcolando prima la convoluzione tra risposta dell'arteria e risposta della vena ( $h_{AV}(t) = h_A(t) \otimes h_V(t)$ ) e quella tra le arteriole e le venule ( $h_{av,i}(t) = h_{a,i}(t) \otimes h_{v,i}(t)$ ). In questo modo, infatti, otteniamo:

$$h(t) = h_{AV}(t) \otimes \left[ \sum_{i=1}^N f_i w_i \Delta f_i h_{av,i}(t) \otimes h_{c,i}(t) \right] \quad (1.35)$$

La formulazione che abbiamo descritto è abbastanza generale, ma a causa della ricchezza parametrica, per ottenere l'identificabilità dei parametri rilevanti è necessario assumere note alcune caratteristiche del modello, come i volumi dei vasi, l'eterogeneità del flusso,... In caso queste non siano disponibili, il modello risulta non identificabile.



## **CAPITOLO 2**

### **Modelli per la quantificazione di immagini PET**

Lo scopo di questo capitolo è quello di spiegare cos'è la tomografia ad emissione di positroni (PET), gli ambiti di applicazione e, in un secondo momento, studiare come i modelli a parametri concentrati e distribuiti possono essere utilizzati per spiegare la quantificazione di immagini PET.

#### **2.1 Cos'è la PET**

Il termine PET è l'acronimo di *positron emission tomography* ed è una tecnica della medicina nucleare e di diagnostica medica che permette di ottenere immagini di distribuzione tridimensionale (bioimmagini) della radioattività all'interno di una sezione corporea, recuperando informazioni in profondità. Assieme alla SPECT (*single photon emission computed tomography* – tomografia computerizzata a emissione di singoli fotoni) ha trovato grande impiego nella medicina clinica, soprattutto nell'oncologia, e nella ricerca cardiologica e neurologica, dove viene sfruttata per analizzare l'attività metabolica del sistema nervoso centrale; grazie al loro impiego è infatti possibile effettuare la diagnosi precoce di numerose malattie, come per esempio il Morbo di Alzheimer e quello di Parkinson.

##### *2.1.1 - Come funziona?*

Tale tipo di procedura inizia con l'iniezione nel paziente di una piccola quantità di radio-farmaco, al fine di indagare le caratteristiche funzionali degli organi e degli apparati nei quali il radiofarmaco si localizza. Dopo essere stato somministrato per via endovenosa, il radiofarmaco si distribuisce nel corpo del paziente permettendo di ottenere delle immagini diagnostiche, interpretate dai medici specialisti.



Il radio-farmaco è formato da un radio-isotopo tracciante con emivita breve, legato chimicamente ad un vettore, cioè ad una molecola attiva a livello metabolico. Tra i radio-isotopi maggiormente utilizzati ci sono:  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$  e  $^{18}\text{F}$ , i quali sono prodotti da un ciclotrone, un acceleratore di particelle cariche pesanti (protoni, particelle  $\alpha$  ecc.), posto nelle vicinanze dello scanner a causa del loro breve periodo di dimezzamento.



Figura 2.1 Macchinario per effettuare la tomografia ad emissione di positroni.

Dopo la somministrazione si aspettano un paio di minuti affinché il radiofarmaco raggiunga una concentrazione minima all'interno dei tessuti dell'organo da analizzare e, nel frattempo, il paziente viene fatto stendere supino all'interno dello scanner.

L'isotopo iniettato nel paziente dopo un breve periodo decade, emettendo un positrone, il quale, dopo aver percorso un tragitto di pochi millimetri durante i quali perde parte della sua energia cinetica, si annichila con un elettrone. Col termine annichilazione indichiamo la reazione che avviene quando un elettrone si scontra con un positrone (l'antiparticella dell'elettrone) che produce due fotoni e, più raramente, tre fotoni o particelle; tale reazione rispetta quattro leggi di conservazione: della carica elettrica, della quantità di moto, dell'energia totale e del momento angolare.

Tale processo produce una coppia di fotoni gamma  $\gamma$  (511 KeV) con direzioni opposte. Questi fotoni prodotti sono, poi, rilevati quando raggiungono lo scanner (lo scintillatore) dove creano un lampo luminoso che è a sua volta rivelato dai tubi fotomoltiplicatori. Tuttavia non tutte le coppie di fotoni sono rilevati; infatti, se queste dopo un certo periodo di tempo (qualche nanosecondo) non raggiungono un rivelatore, non vengono prese in considerazione.

Dopo aver misurato la posizione dalla quale i fotoni colpiscono il rilevatore, questi dati vengono trasferiti su supporti magnetici dove vengono rielaborati per cercare di ricostruire la posizione del corpo dal quale sono stati emessi e capire quale attività o utilizzo chimico ne è stato fatto della sostanza da parte di quell'organo.

In questa Tesi ci focalizzeremo sull'uso della PET in ambito cardiologico, dove permette di indagare gli aspetti funzionali biochimici e metabolici del miocardio. Tale analisi si basa sul principio di marcare composti di interesse biologico (glucosio, l' $\text{H}_2\text{O}$  o neurotrasmettitori) con isotopi radioattivi che, non modificando la struttura e il comportamento biochimico, permettono di seguirne il destino all'interno del tessuto cerebrale e cardiaco.

## 2.2 Modelli a parametri concentrati PET

La tomografia ad emissione di positroni permette lo studio della densità dei recettori e le affinità del radiofarmaco con il cervello o, nel caso di studi cardiologici, con il miocardio. In questi sistemi la quantificazione del legame ligando-recettore è di fondamentale importanza per capire come lavora il cervello, e come si sviluppano alcune malattie, come l'Alzheimer o il Parkinson, o per studiare le dinamiche dei recettori nel cuore.

Nel seguito viene presentato il modello a tre compartimenti di quest'ultimo.

### 2.2.1 - *Modello a tre compartimenti*

Le interazioni tra ligando e recettore possono essere schematizzate come nella Figura 2.2, ma per un'analisi più facile e accurata si può considerare, invece, la Figura 2.3. In tale schema con  $C_p$  indichiamo la concentrazione del plasma,  $C_f$  la concentrazione del ligando libero,  $C_{ns}$  la concentrazione del ligando non legato nel tessuto e con  $C_s$  la concentrazione del ligando perfettamente legato.

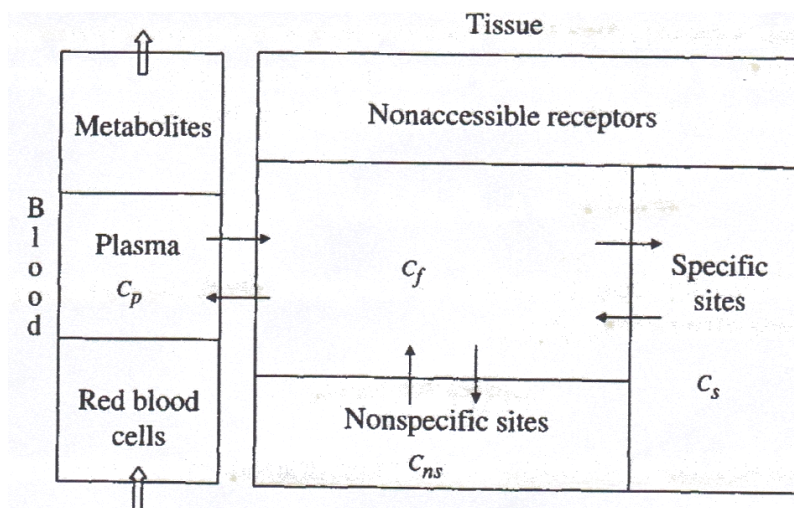


Figura 2.2 Schema della relazione ligando-recettore.

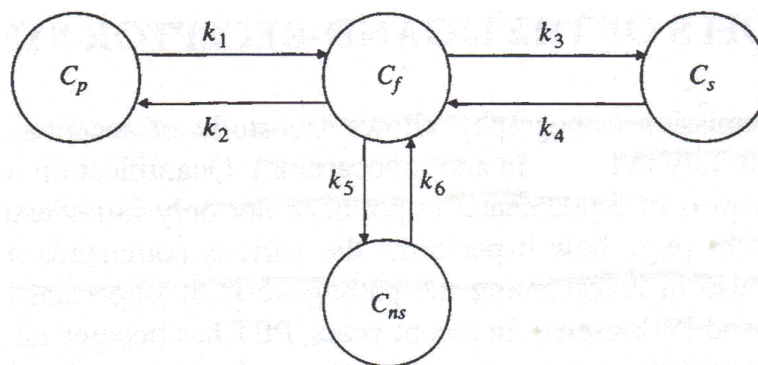


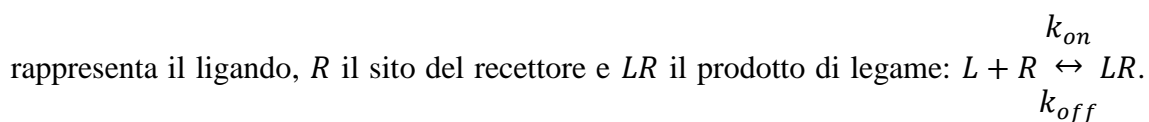
Figura 2.3 Modello della relazione ligando-recettore a tre compartimenti.

Da tale schema deriviamo le equazioni che ne descrivono la dinamica:

$$\begin{aligned}
 \dot{C}_f(t) &= k_1 C_p(t) - (k_2 + k_3 + k_5) C_f(t) + k_4 C_s(t) + k_6 C_{ns}(t) & C_f(0) &= 0 \\
 \dot{C}_s(t) &= k_3 C_f(t) - k_4 C_s(t) & C_s(t) &= 0 \\
 \dot{C}_{ns}(t) &= k_5 C_f(t) - k_6 C_{ns}(t) & C_{ns}(t) &= 0
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

con  $k_1$  ( $\text{ml}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{min}$ ) la costante di trasferimento dal plasma al compartimento con il ligando libero, e  $k_2, k_3, k_4, k_5, k_6$  le costanti che descrivono il trasferimento del ligando dal tessuto al plasma e all'interno del tessuto; il compartimento  $C_p$  non viene considerato perché è quello "forzante".

Per capire meglio il significato fisiologico dei parametri  $k_3$  e  $k_4$ , assumiamo che il legame tra il ligando e il sito del recettore sia descritto dalla seguente reazione dove  $L$



Le costanti  $k_{on}$  e  $k_{off}$  rappresentano, rispettivamente, il tasso di associazione e dissociazione del ligando con il sito del recettore.

Nella figura sopra se consideriamo  $C_f$  e  $C_s$  rispettivamente  $L$  e  $LR$ , e  $C_r$  la concentrazione del recettore, l'equazione diventa:

$$\frac{dC_s(t)}{dt} = k_{on}C_f(t)C_r(t) - k_{off}C_s(t) \quad (2.2)$$

Un modo alternativo per vedere questa equazione è quello di considerare tutti i siti dove possono avvenire le reazioni e considerare  $B_{max} = C_s + C_r$ ; in questo modo otteniamo:

$$\frac{dC_s(t)}{dt} = k_{on}B_{max}C_f(t) - k_{off}C_s(t) = k_3C_f(t) - k_4C_s(t)$$

$$k_3 = k_{on}B_{max} \quad (2.3)$$

$$k_4 = k_{off}$$

In tale modello un altro dato importante è quello che ci descrive l'affinità apparente, cioè la capacità di un legante (L) di legarsi al suo recettore (R). Tale reazione reversibile è definita da una costante denominata  $K_d$  (costante di legame), esprimibile come il rapporto tra la concentrazione dei complessi tracciante-recettore ( $LR$ , ovvero i recettori occupati) e il prodotto tra concentrazione del tracciante e recettore libero:

$$K_d = \frac{[LR]}{[L][R]} = \frac{C_s}{C_r C_f} = \frac{k_{on}}{k_{off}} \quad (2.4)$$

Analizzando tale parametro si riscontra che più l'affinità apparente è alta, maggiore sarà la formazione di complessi tra il tracciante e il recettore; il parametro stabilisce una forma diretta del numero di legami chimici che s'instaurano nel sito di analisi.

La costante  $K_d$  è inoltre utilizzata come indice della potenza del farmaco o del radioligando adottato in fase di sperimentazione.

Conseguentemente, la misura fornita da questa applicazione PET è il risultato della quantità di tracciante presente nel tessuto e quello presente nel sangue della regione di interesse; questo è spiegato dalla seguente equazione di misura:

$$C_i(t) = (1 - V_b) \left( C_f(t) + C_{ns}(t) + C_s(t) \right) + V_b C_b(t) \quad (2.5)$$

dove con  $V_b$  indichiamo il volume vascolare e con  $C_b$  la concentrazione del tracciante nel sangue.

Un altro modo per conoscere la concentrazione del tracciante radioattivo, e quindi l'output, nel tessuto  $M$  è quello di calcolare il seguente integrale:

$$M(t_j, \theta) = \frac{1}{t_j^e - t_j^b} \int_{t_j^b}^{t_j^e} \sum_i [\gamma S^i V_{ev} (F^i + B^i) + \varepsilon A^i] dt \quad (2.6)$$

In questa formula abbiamo indicato con  $t_j^e$  il tempo al quale inizia la scansione,  $t_j^b$  il tempo al quale la scansione termina,  $\theta$  il vettore comprendente tutti i parametri del modello e con  $A^i$  la concentrazione radioattiva del sangue arteriale. Con  $F^i$  e  $B^i$  abbiamo rappresentato la concentrazione del ligando quando è, rispettivamente, perfettamente libero o legato ed infine con  $S^i$  abbiamo espresso la costante attività di decadenza della radioattività del tracciante; le costanti  $\gamma$  e  $\varepsilon$  possono essere utilizzate per considerare la dimensione spaziale e il movimento cardiaco (esempio poi analizzato nel Capitolo 3).

Nella prima parte di questa Tesi abbiamo definito che un passo importante quando lavoriamo con un modello è capire se esso è identificabile o meno, cioè se i suoi parametri descrittivi possono essere calcolati in maniera univoca.

Nel caso appena esaminato, il modello è identificabile ma non univocamente perché ogni parametro ha due soluzioni distinte. Tuttavia, un possibile rimedio per ottenere l'univoca identificabilità è quello di considerare rapidi gli scambi tra i compartimenti in cui il tracciante è libero e i compartimenti di legame (specifici e non).

## 2.2.2 - Modello a due compartimenti

Adottando l'accorgimento sopra definito, il modello a tre parametri diventa a due compartimenti descritto dalle seguenti relazioni matematiche (vedi Figura 2.4):

$$\begin{aligned} \dot{C}_{f+ns}(t) &= k_1 C_p(t) - (k_2 + k_3) C_{f+ns}(t) + k_4 C_s(t) & C_{f+ns}(0) &= 0 \\ \dot{C}_s(t) &= k_3 C_{f+ns}(t) - k_4 C_s(t) & C_s(0) &= 0 \end{aligned} \quad (2.7)$$

$$k_3 = k_{on} B_{max} f \quad \text{dove } f \text{ è dato da:} \quad (2.8)$$

$$f = \frac{C_f}{C_{f+ns}} = \frac{C_f}{C_f + C_{ns}} = \frac{C_f}{C_f \left(1 + \frac{C_{ns}}{C_f}\right)} = \frac{1}{1 + \frac{k_5}{k_6}} \quad (2.9)$$

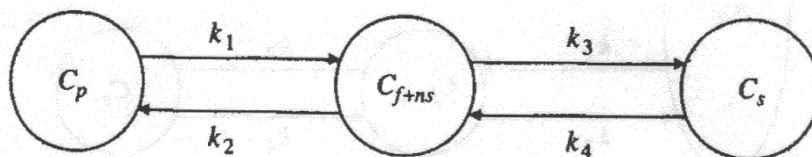


Figura 2.4 Modello della relazione ligando-recettore a due compartimenti.

Fatta questa semplificazione, l'equazione di misura del modello si semplifica nel seguente modo:

$$C_i(t) = (1 - V_b) (C_{f+ns}(t) + C_s(t)) + V_b C_b(t) \quad (2.10)$$

Infine, poiché il sistema è diventato univocamente identificabile, siamo in grado di calcolare anche un altro parametro che è una misura combinata tra la densità dei recettori della zona interessata e l'affinità apparente: il potenziale di legame BP (binding potential). Tale dato esprime la capacità della totalità dei recettori affini, che indichiamo con  $B_{max}$ , di legarsi ai traccianti specifici:

$$BP = \frac{B_{max}}{K_d} = \frac{k_3}{k_4} \quad (2.11)$$

A parità di  $K_d$ , ad un aumento di  $B_{max}$  corrisponderà un incremento di  $BP$ ; invece a parità di densità recettoriale  $B_{max}$ , una diminuzione di  $K_d$  comporterà un significativo aumento di  $BP$ .

Il modello appena descritto richiede la conoscenza della concentrazione plasmatica del tracciante/ligando e quindi della conoscenza della funzione d'ingresso; un metodo alternativo per studiare la cinetica dei recettori senza conoscere tale funzione è stato proposto da *Lammertsma et al* (1996). Questo metodo si basa sulla presenza di una regione senza legami specifici per il tracciante/ligando che può essere presa da riferimento per tutte le altre regioni; in letteratura questo modello prende il nome di modello a tessuto di riferimento (Figura 2.5).

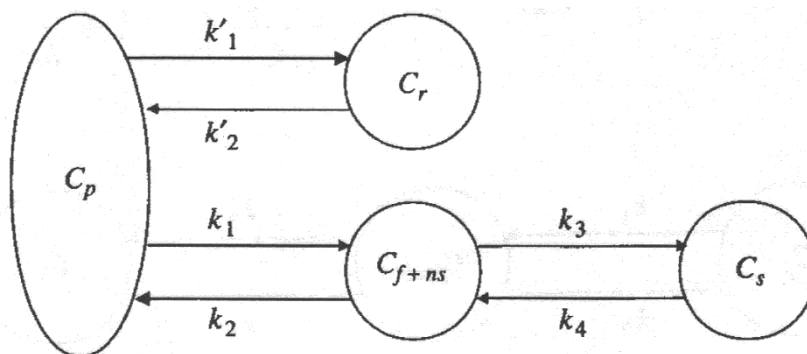


Figura 2.5 Modello a tessuto di riferimento ligando-recettore.

Da tale schema si possono definire facilmente le seguenti equazioni:

$$\begin{aligned} \dot{C}_r(t) &= k'_1 C_p(t) - k'_2 C_r(t) & C_r(0) &= 0 \\ \dot{C}_{f+ns}(t) &= k_1 C_p(t) - (k_2 + k_3) C_{f+ns}(t) + k_4 C_s(t) & C_{f+ns}(0) &= 0 \end{aligned} \quad (2.12)$$

$$\dot{C}_s(t) = k_3 C_{f+ns}(t) - k_4 C_s(t) \quad C_s(0) = 0$$

$$k_3 = k_{on} B_{max} f \quad (f \text{ vedi formula (2.9)}) \quad (2.13)$$

$$k_4 = k_{off} \quad (2.14)$$

Considerando ora l'identificabilità o meno del sistema, se definiamo il parametro  $R_1 = \frac{k_1}{k'_1}$  e assumiamo che il volume di distribuzione del tracciante non legato sia lo stesso in entrambi i tessuti  $\left( V_d = \frac{C_{f+ns}}{C_p} = \frac{C_r}{C_p}; \frac{k_1}{k_2} = \frac{k'_1}{k'_2} \right)$  otteniamo che l'uscita del modello è data da:

$$C_{f+ns}(t) + C_s(t) = R_1 C_r(t) + a \int_0^t C_r(\tau) e^{-c(t-\tau)} d\tau + b \int_0^t C_r(\tau) e^{-d(t-\tau)} d\tau \quad (2.15)$$

In tale formula abbiamo indicato con  $C_r$  l'input del modello e con  $a, b, c, d$  le combinazioni dei parametri  $R_1, k_2, k_3, k_4$ . Da tali formule possiamo definire sia l'equazione finale di misura sia il potenziale di legame BP che risultano, rispettivamente:

$$C_i(t) = C_{f+ns}(t) + C_s(t) \quad (2.16)$$

$$BP = \frac{k_3}{k_4} \quad (2.17)$$

Nonostante questo sia il modello di riferimento, a volte potrebbe essere difficile distinguere tra i compartimenti liberi e quelli perfettamente legati, e per questo si opera una semplificazione che porta a lavorare con il seguente modello descritto dalle relazioni:

$$\begin{aligned} \dot{C}_r(t) &= k'_1 C_p(t) - k'_2 C_r(t) & C_r(0) &= 0 \\ \dot{C}_t(t) &= k_1 C_p(t) - k_{2a} C_t(t) & C_t(0) &= 0 \end{aligned} \quad (2.18)$$

dove con  $C_t$  indichiamo la concentrazione totale del tracciante ( $C_{f+ns}(t) + C_r(t)$ ) e con  $k_{2a}$  la costante apparente di trasferimento dal compartimento perfettamente legato al plasma, funzione dei parametri  $k_2, k_3, k_4$   $\left( \frac{k_2}{1+BP} = \frac{k_2}{1+k_3/k_4} \right)$ .

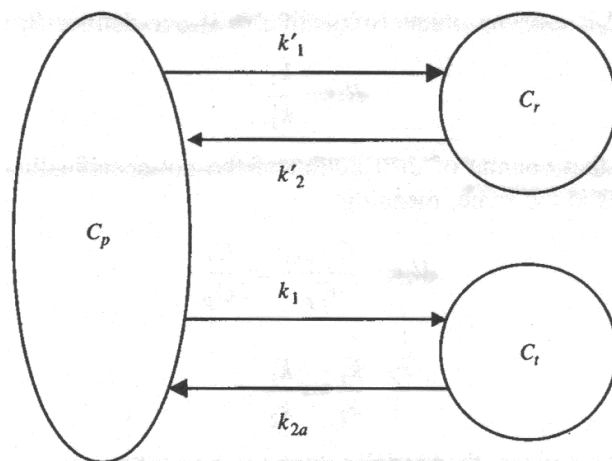


Figura 2.6 Modello a tessuto di riferimento semplificato.

In questo caso semplificato, assumendo che siano sempre valide le definizioni di  $R_1$  e l'uguaglianza fra  $k_1, k_2, k'_1, k'_2$  (vedi pagina precedente) possiamo ottenere l'output risolvendo la seguente equazione:

$$C_t(t) = R_1 C_r(t) + \left[ k_2 - \frac{R_1 k_2}{1+BP} \right] \int_0^t C_r(\tau) e^{-\left(\frac{k_2}{1+BP}\right)(t-\tau)} d\tau \quad (2.19)$$

e l'equazione di misura  $C_i(t) = C_t(t)$ .

Tuttavia, nei casi pratici il modello lineare presentato sopra permette di determinare il potenziale di legame  $BP$ , ma non di avere una stima precisa delle variabili  $B_{max}$ ,  $k_{on}$  e  $K_d$ . Per poter ottenere anche queste informazioni è necessario passare da un esperimento in cui consideriamo un solo ligando, ad uno in cui consideriamo l'iniezione di un ligando "non etichettato". Sotto queste ipotesi, tutti i siti dei recettori sono occupati e quindi il parametro  $C_s$  non può più essere trascurato e  $k_3$  non è più costante.

L'equazione (2.2), in questo caso, diventa:

$$\frac{dC_s(t)}{dt} = k_{on}(B_{max} - C_s(t))C_f(t) - k_{off}C_s(t) = k_3C_f(t) - k_{off}C_s(t) \quad (2.20)$$

$$\begin{aligned} k_3(t) &= k_{on}(B_{max} - C_s(t)) \\ k_4 &= k_{off} \end{aligned} \quad (2.21)$$

In questo modello, però, dobbiamo descrivere la cinetica del ligando non etichettato, che si differenzia da quella descritta dalle formule (2.7); in questo caso, infatti, abbiamo:

$$\begin{aligned} \dot{C}'_{f+ns}(t) &= k_1 C'_p(t) - (k_2 + k_3) C'_{f+ns}(t) + k_4 C'_s(t) & C'_{f+ns}(0) &= 0 \\ \dot{C}'_s(t) &= k_3 C'_{f+ns}(t) - k_{off} C'_s(t) & C'_s(0) &= 0 \end{aligned} \quad (2.22)$$



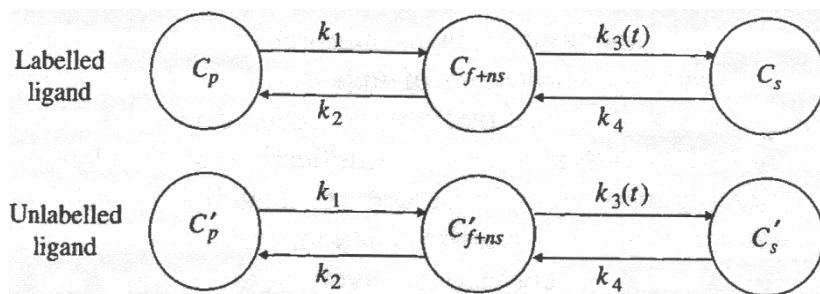


Figura 2.7 Modello compartimentale del ligando etichettato e non del sistema ligando-recettore.

Tuttavia, l'equazione di misura rimane invariata come (2.10).

Ora, considerando entrambi i sistemi di equazioni (2.7) e (2.22), siamo in grado di affermare che il modello è univocamente identificabile a priori avendo a disposizione una misura di  $C_i$ ,  $C_p$  e  $C'_p$ .

### 2.2.3 - Modello grafico

Oltre ai due modelli presentati precedentemente, ne esiste un ultimo che non richiede la conoscenza di alcun valore numerico dei parametri: il metodo grafico.

Tale metodo, proposto da *Logan et al* (1990) considera il modello a tre compartimenti come in Figura 2.4 e utilizza le curve della concentrazione del tracciante nel plasma e nel tessuto per connettere i vari punti nel piano cartesiano.

Le variabili del piano si calcolano:

$$\begin{aligned} x &= \frac{\int_0^t C_p(\tau) d\tau}{C_i(t)} \\ y &= \frac{\int_0^t C_i(\tau) d\tau}{C_i(t)} \end{aligned} \quad (2.23)$$

Ora, se esiste un tempo  $t^*$  durante il quale la concentrazione del tracciante nel tessuto è in equilibrio con quella nel plasma, dopo tale tempo il grafico diventa una retta con pendenza  $m$  data da:

$$m = \frac{k_1}{k_2} + \frac{k_1 k_3}{k_2 k_4} + V_b = V_d \left( 1 + \frac{B_{max}}{K_d} \right) + V_b = V_d (1 + BP) + V_b \quad (2.24)$$

Trovato il valore della pendenza  $m$ , assumendo  $V_d$  noto e  $V_b$  noto o ininfluenza (nel cervello  $V_b \cong 3 - 4\%$ ), possiamo calcolare il valore del potenziale di legame BP.

## 2.3 Modelli a parametri distribuiti PET

Definita la cinetica del tracciante nella quantificazione di immagini PET con la modellistica a parametri concentrati, in questo paragrafo ci poniamo l'obiettivo di descrivere quella a parametri distribuiti e derivare eventuali somiglianze e differenze.

Tale analisi è molto simile a quella vista nel primo capitolo quando abbiamo descritto alcuni modelli a parametri distribuiti per lo scambio sangue-tessuto e, proprio per questo motivo, alcune formule verranno semplicemente definite senza dare spiegazioni particolari, mentre altre verranno debitamente descritte; per le prime si rimanda il lettore alle pagine 16-21.

Il modello che prendiamo in esame ha due distinte regioni coassiali come si può vedere dalla Figura 2.8: la più interna rappresenta il capillare, mentre quella più esterna corrisponde allo spazio extravascolare del tessuto circostante.

Attraverso il plasma del capillare, la concentrazione del ligando libero dopo l'iniezione  $i$ -esima varia seguendo la seguente relazione:

$$\frac{\delta C_p^i}{\delta t} = -\frac{F_p L}{V_p} \frac{\delta C_p^i}{\delta x} + D_p \frac{\delta^2 C_p^i}{\delta^2 x} - \frac{PS_g}{V_p} (C_p^i - \lambda C_{isf}^i) \quad (2.25)$$

Ancora una volta il primo termine tiene conto della convezione, il secondo della dispersione e il terzo della diffusione tra il plasma e le regioni extravascolari. Il tempo in cui il ligando rimane nel capillare è determinato dal rapporto tra il volume e il flusso del plasma ( $V_p/F_p$ ) e il tempo di diffusione tra le regioni dipende dalla permeabilità della superficie che le separa ( $V_p/PS_g$ ).

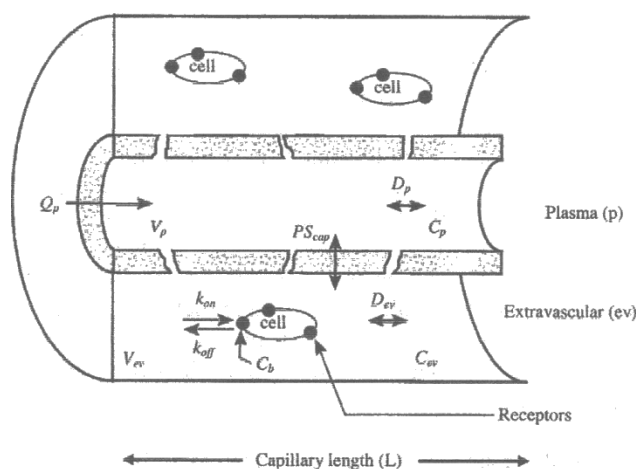


Figura 2.8 Schema del modello a parametri distribuiti considerato in questo paragrafo.

Il coefficiente  $\lambda$  che moltiplica la concentrazione nel fluido interstiziale definisce la distribuzione di equilibrio del ligando tra le regioni.

Le seguenti due formule definiscono la condizione alla frontiera dopo l'iniezione nell'arteria del tracciante e quella nella vena:

$$\begin{aligned} C_p^i(t, x) &= C_{p0}^i(t) & x &= 0 \\ \frac{\delta C_p^i(t, x)}{\delta x} &= 0 & x &= L \end{aligned} \quad (2.26)$$

Se ora ci spostiamo nello spazio extravascolare del tessuto, possiamo notare che una parte del ligando libero è legato ai recettori ma questa concentrazione varia da zona a zona secondo:

$$\frac{\delta C_{isf}^i}{\delta t} = D_{isf} \frac{\delta^2 C_{isf}^i}{\delta^2 x} + \frac{PSg}{V_{isf}} (C_p^i - \lambda C_{isf}^i) - R_d^i \quad (2.27)$$

dove l'ultimo termine indica il tasso di combinazione ligando-recettore. Tale tasso può essere calcolato risolvendo questa espressione:

$$R_d^i = \frac{\delta C_b^i}{\delta t} = k_{on} C_{isf}^i (B_{max} - \sum_j C_b^i - k_{off} C_b^i) \quad (2.28)$$

avendo tenuto conto, con il termine  $C_b^i$ , della concentrazione del ligando legato al recettore.

Nel caso che stiamo prendendo in esame un'ulteriore ipotesi che facciamo è quella di considerare i recettori distribuiti uniformemente in modo da poter considerare le varie cinetiche di legame uguali a quelle considerate nello stesso modello compartimentale.

Inoltre, quando stiamo analizzando una regione dobbiamo tener presente che ai bordi di questa i flussi non vengono più considerati, o meglio sono considerati ininfluenti e quindi:

$$\frac{\delta C_{isf}^i(t, x)}{\delta x} = 0 \quad x = 0, L \quad (2.29)$$

Tale equazione infatti ci ribadisce che all'inizio ( $t = 0$ ) non c'è ligando nel sistema e di conseguenza  $C_p^i = C_{isf}^i = C_b^i$ .

Avendo definito la dinamica totale del sistema si possono notare delle somiglianze con quella definita da *Bassingthwaighte et al* (cap. 1, par. 1.3.2), ma quella appena studiata è più ricca poiché tiene conto anche del valore di saturazione del ligando al recettore.

Ricapitolando, il modello a parametri distribuiti per l'acquisizione di immagini PET è descritto dall'equazione (2.25), ma la sua risoluzione in questo formato risulta complicata. Proprio per questo motivo, viene convertita in una serie di equazioni differenziali ordinarie alle differenze utilizzando il metodo delle linee, ottenendo quindi una discretizzazione delle derivate spaziali, continuando però a considerare le condizioni ai bordi.

Fatta questa semplificazione, il modello è risolto come un problema al valore iniziale in cui ogni singola equazione differenziale rappresenta uno specifico nodo.

Risolviendo il sistema di equazioni definito, otteniamo la concentrazione del ligando nel fluido interstiziale e quella del ligando legato ad un recettore, rispettivamente  $C_{isf}^i$  e  $C_b^i$ .

In modo analogo a quanto fatto nel modello compartimentale, calcoliamo l'output che è ottenuto risolvendo sempre un integrale del seguente tipo:

$$M_d(t_j) = \frac{1}{t_j^e - t_j^b} \int_{t_j^b}^{t_j^e} \sum_i [\gamma S^i V_{ev} (\bar{C}_{isf}^i + \bar{C}_b^i) + \varepsilon C_a^i] dt \quad (2.30)$$

I vari termini hanno lo stesso significato visto in precedenza e, in aggiunta,  $C_a^i = A^i$  e  $\bar{C}_{isf}^i$  e  $\bar{C}_b^i$  sono le concentrazioni medie calcolate utilizzando la *Regola di Simpson*; tale regola fornisce un metodo per il calcolo numerico di integrali definiti nel seguente modo:  $F \triangleq \int_a^b f(x) dx$  (per approfondimenti si veda il Glossario alla voce Regola di Simpson).



## **CAPITOLO 3**

# **Applicazione dei due modelli per studi recettoriali sul cuore**

Nel precedente capitolo abbiamo esposto i due modelli, uno a parametri concentrati e uno a parametri distribuiti, per la quantificazione di immagini PET; in questo capitolo, invece, focalizzeremo la nostra attenzione sui risultati forniti da questi due modelli nello studio del legame recettore-ligando in un esempio riguardante il cuore.

### **3.1 Strategie d'analisi e Generazione dei Dati**

Molto spesso per analizzare un problema o un sistema abbiamo a disposizione diversi metodi e cerchiamo di scegliere quello migliore, cioè quello che ci permette di ottenere un risultato nel minor tempo possibile e commettendo il minor numero d'errori. Anche in questo campo d'analisi abbiamo due diversi modelli a disposizione e per capire quale dei due è vincente sull'altro confronteremo le loro uscite e cioè la dinamica dell'evoluzione della concentrazione del tracciante nella regione di interesse. Per quanto riguarda il modello a parametri distribuiti, l'uscita la considereremo priva di qualsiasi componente d'errore (noise-free) mentre, nel caso del modello a parametri concentrati, l'uscita sarà resa coerente con i dati sperimentali utilizzando la stima ai minimi quadrati.

Nel corso dell'analisi prenderemo in considerazione due diversi protocolli: uno a due e uno a tre iniezioni. Per quanto riguarda il primo considereremo una funzione di ingresso con due iniezioni, l'uscita misurata dopo 120 minuti ottimizzata per stimare la concentrazione del recettore adrenergico  $\beta_1$  del miocardio utilizzando fluorocarazolo. Per quanto riguarda il secondo protocollo, invece, usiamo una funzione d'ingresso con tre iniezioni e l'uscita la misuriamo dopo 60 minuti; in questo caso vogliamo

determinare la concentrazione del recettore muscarinico (uno dei due possibili recettori dell'acetilcolina) utilizzando il [<sup>11</sup>C]MQNB.

Come affermato all'inizio la nostra volontà è quella di poter confrontare i due modelli e per essere sicuri che questo possa essere fatto abbiamo utilizzato un programma a computer (MATLAB) per generare dati che corrispondessero a vari ligandi con funzioni fisiologiche diverse (vedi Tabella 1); per evitare, poi, che il tempo potesse compromettere i risultati finali li abbiamo campionati ogni 10 secondi.

Parameter	Two-injection Protocol			Three-injection Protocol		
	Initial Guess	Lower Bound	Upper Bound	Initial Guess	Lower Bound	Upper Bound
$K_1$	0.3	0.05	5.	0.3	0.05	5.
$k_2$	0.61	0.05	4.	0.61	0.05	4.
$B_{max}$	10	1	40	10	1	40
$k_{on}$	0.15	0.01	2	0.15	0.01	2
$k_{off}$	0.005	0.001	0.5	0.005	0.001	0.5
$\varepsilon$	0.3	0.1	0.9	0.1	0.01	0.9

Tabella 1 Dettagli riguardanti i valori ipotizzati e i limiti dei vari parametri.

Il valore dei parametri è stato stimato minimizzando la funzione ai minimi quadrati:

$$\varphi(\theta) = \sum_{j=1}^n [M(t_j, \theta) - M_d(t_j)]^2 \quad (3.1)$$

con  $j = 1, 2, 3, \dots$  che rappresenta il  $j$ -esimo intervallo di misura e  $\theta$  il vettore dei parametri non noti. Le uscite sono rappresentate, come visto nei capitoli precedenti, da  $M$  per il modello compartimentale e  $M_d$  per quello a parametri distribuiti.

La Tabella 2 sottostante mostra chiaramente che per entrambi i protocolli è stato definito un valore massimo e minimo per tutti i parametri, presi considerando una funzione di distribuzione uniforme, e nel caso questi lo superassero o non lo raggiungessero, la misura verrebbe effettuata nuovamente, ripetendola, se necessario, anche una decina di volte.

Parameter	$Q_p$	$PS_{cap}$	$B_{max}$	$k_{on}$	$k_{off}$	$\lambda$
Units	ml ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	ml ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	pmol ml <sup>-1</sup>	ml pmol <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	min <sup>-1</sup>	(unitless)
Minimum	0.25	5	5	0.01	0.001	0.5
Maximum	1.5	100	30	0.1	0.05	2.0

Tabella 2 Insieme dei parametri utilizzati nelle analisi con i valori minimo e massimo che possono assumere.

Le regole appena definite, se applicate, ci permettono di definire tre diverse metodologie (Tabella 3):

- A: facciamo variare cinque parametri ( $\epsilon, K_1, k_2, k_{on}, k_{off}$ ) per capire se  $B_{max}$  ha o meno un comportamento consistente:
- B: facciamo variare tre parametri ( $\epsilon, K_1, k_2$ ) e vogliamo capire se il set di parametri ( $B_{max}, k_{on}, k_{off}$ ) ha lo stesso effetto nei due modelli;
- C: facciamo variare tre parametri ( $\epsilon, B_{max}, K_1$ ) mentre il valore di  $k_2$  è messo in relazione al prodotto  $\lambda K_1$ . In questo caso lo scopo è quello di stimare il valore di  $B_{max}$  usando il modello compartimentale ma i dati di quello a parametri distribuiti.

Strategy	Fixed at true <sup>1</sup> values	Estimated
A	$\gamma, B_{max}$	$\epsilon, K_1, k_2, k_{on}, k_{off}$
B	$\gamma, B_{max}, k_{on}, k_{off}$	$\epsilon, K_1, k_2$
C	$\gamma, k_{on}, k_{off}$ $k_2 = \lambda K_1$	$\epsilon, B_{max}, K_1$

Tabella 3 Parametri fissi e stimati nelle tre diverse strategie.

<sup>1</sup>Il valore vero è quello usato per generare i dati simulati usando il modello a parametri distribuiti.

Ora, dopo aver stimato i vari parametri, possiamo confrontare i risultati ottenuti nel modello compartimentale a parametri concentrati con quelli del modello a parametri distribuiti nelle varie strategie e nei due diversi protocolli e questo è evidenziato dalla seguente tabella, nella quale: la prima colonna indica il nome dei parametri interessati, la seconda e terza, invece, la media e la deviazione standard di questi parametri se sono presenti anche nel modello a parametri distribuiti e “non applicabile” (na) altrimenti. La quarta e quinta colonna, inoltre, definiscono la media e la deviazione standard dei parametri stimate adattando il modello compartimentale con quello a parametri distribuiti. Infine, le ultime due colonne mostrano la differenza tra il valore dei parametri nei due modelli e danno una misura della loro discrepanza.



Parameter	Distributed		Compartment		Distributed-Compartment	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD
<b>2 injection protocol</b>						
Data Analysis Strategy A						
$K_1$	na	na	0.619	0.271	na	na
$k_2$	na	na	0.652	0.110	na	na
$k_{on}$	0.0544	0.0250	0.188	0.0783	-0.134	0.0688
$k_{off}$	0.0255	0.0144	0.0893	0.0447	-0.0638	0.0347
$\varepsilon$	0.4	0	0.411	0.00457	-0.0106	0.00457
Data Analysis Strategy B						
$K_1$	na	na	0.927	0.529	na	na
$k_2$	na	na	0.903	0.509	na	na
$\varepsilon$	0.4	0	0.408	0.00444	-0.00829	0.00445
Data Analysis Strategy C						
$K_1$	na	na	1.79	0.640	na	na
$B_{max}$	17.8	7.32	17.7	7.21	-0.132	0.566
$\varepsilon$	0.4	0	0.400	0.00163	-0.000219	0.00163
<b>3 injection protocol</b>						
Data Analysis Strategy A						
$K_1$	na	na	1.58	0.511	na	na
$k_2$	na	na	1.85	0.807	na	na
$k_{on}$	0.0541	0.0257	0.0536	0.0252	0.000512	0.00211
$k_{off}$	0.0270	0.0140	0.0272	0.0142	-0.000265	0.000443
$\varepsilon$	0.08	0	0.119	0.0730	-0.0391	0.0730
Data Analysis Strategy B						
$K_1$	na	na	1.59	0.52059	na	na
$k_2$	na	na	1.95	0.905	na	na
$\varepsilon$	0.08	0	0.113	0.0727	-0.0333	0.0727
Data Analysis Strategy C						
$K_1$	na	na	1.64	0.541	na	na
$B_{max}$	18.0	7.38	18.0	7.41	-0.0288	0.114
$\varepsilon$	0.08	0	0.109	0.0663	-0.0287	0.0662

Tabella 4 Sommario dei parametri ottenuti usando il modello compartimentale comparati con quelli assegnati dal modello a parametri distribuiti.

Dei cinque parametri presi in considerazione, solitamente incogniti nelle misurazioni PET, solo tre di questi  $B_{max}$ ,  $k_{on}$ ,  $k_{off}$  hanno i corrispettivi parametri nel modello a parametri distribuiti.

Come evidenziato anche dalla Tabella 4, le varie strategie adottate nei due protocolli forniscono risultati diversi e in particolare possiamo dedurre che la strategia A è poco affidabile in quanto c'è una differenza sostanziale tra il valore finale ottenuto nei due modelli e questo è dovuto principalmente alla poca precisione del metodo di stima e all'elevato numero di parametri incogniti. La strategia B, invece, molto più rigorosa e con meno parametri variabili, fornisce delle uscite molto più simili nei due modelli e questa somiglianza raggiunge il valore massimo nella strategia C, che risulta per questo motivo quella vincente.

Attraverso le tecniche sopra definite si possono ottenere delle immagini del seguente tipo che poi vengono analizzate e studiate da medici specialisti:

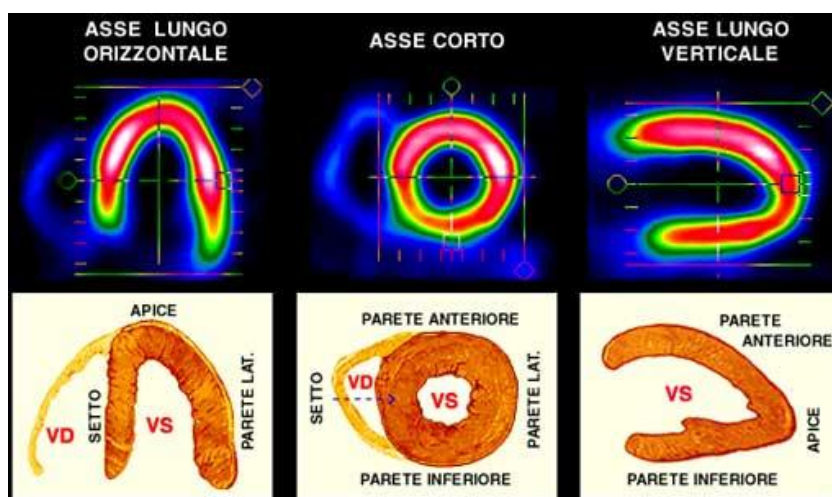


Figura 3.1 Immagini ottenute applicando la tecnica tomoscintigrafica a emissione di singolo fotone (SPET).

Tali immagini sono ottenute considerando diverse sezioni del miocardio orientate lungo tre piani:

- *Asse Lungo Orizzontale*, a forma di "ferro di cavallo" ed esplora il miocardio dalla parete inferiore a quella anteriore;
- *Asse Corto*, a forma di "ciambella", in cui la parte centrale vuota corrisponde alla cavità ventricolare, con sezioni che procedono dalla punta verso la base;
- *Asse Lungo Verticale*, a forma di "ferro di cavallo schiacciato", in cui la porzione aperta rappresenta la base del cuore, ed esplora il miocardio ventricolare procedendo dal setto alla parete libera.



## **Capitolo 4**

### **Conclusioni**

Lo scopo di questa Tesi è stato quello di dare una spiegazione dettagliata dei modelli, del perché vengono utilizzati, per quali scopi e, infine, sono state presentate le due maggiori categorie usate in ambito fisiologico: quelli a parametri concentrati e distribuiti.

In particolare nell'ultimo capitolo abbiamo presentato un esempio riguardante lo studio di due recettori (quello adrenergico  $\beta_1$  del miocardio e quello muscarinico) e attraverso le tabelle abbiamo schematizzato i risultati ottenuti sperimentalmente. Tali risultati sono stati ottenuti sotto una serie di condizioni restrittive in grado di evidenziare i più piccoli cambiamenti e molti dei parametri presi in considerazione avevano il compito di simulare un comportamento del modello perfetto in assenza di qualsiasi forma di rumore.

Sotto tali vincoli, possiamo concludere che il modello compartimentale a parametri concentrati, sebbene non tenga conto dell'eterogeneità del sistema, è in grado di riprodurre fedelmente i risultati ottenuti con quello a parametri distribuiti, più preciso ma anche più difficile da rappresentare e studiare.

A sostegno di tale conclusione possiamo evidenziare il fatto che molto spesso i risultati finali erano indistinguibili e, nel peggiore dei casi, le differenze erano così piccole che sarebbe stato difficile individuarle in presenza del rumore introdotto generalmente dalle scansioni PET.

Concludendo, sebbene i modelli a parametri concentrati non considerino la complessità totale del sistema, non ci forniscano informazioni dettagliate sulla dinamica interna ai capillari e non prendano in considerazione l'eterogeneità del sistema, possiamo affermare che questi siano da preferire a quelli a parametri distribuiti, quando però la risoluzione temporale è bassa.



## Glossario

**Acetilcolina:** estere acetico della colina, il principale tra i mediatori chimici della trasmissione nervosa; interviene in numerose funzioni fisiologiche.

**Bioimmagini:** rappresentazione, a scopo diagnostico e sotto forma di immagine, delle informazioni derivanti dall'interazione fra varie forme di energia e strutture di un organismo vivente.

**Cellule endoteliali:** cellule che rivestono l'interno del cuore, dei vasi sanguigni e dei vasi linfatici in un singolo strato.

**Convoluzione:** operazione di integrazione matematica che fornisce come risultato d'output la combinazione di una funzione  $f(x)$  con una risposta d'impulso del sistema  $g(x)$ ; il simbolo per rappresentarla è  $\otimes$ .

**Fluido interstiziale:** soluzione acquosa presente fra le cellule di un tessuto. La principale funzione è quella di mediare gli scambi fra le componenti cellulari dei vasi sanguigni e le cellule di un determinato tessuto.

**Fotoni:** pacchetto elementare di energia che costituisce la radiazione elettromagnetica. Secondo il modello standard è una particella elementare mediatore e quindi responsabile dell'interazione elettromagnetica.

**Ligando:** atomo, ione o molecola che generalmente dona i suoi elettroni per formare un legame di coordinazione, agendo da base di Lewis. La molecola risultante dalla coordinazione di uno o più ligandi è definita complesso.

**Membrana cellulare:** sottile rivestimento, con spessore di 5 nm (50 Å), che delimita la cellula in tutti gli organismi viventi, la separa dall'ambiente esterno e ne regola gli scambi con questo.

**Miocardio:** parte muscolare e fondamentale del cuore, rivestita internamente dall'endocardio ed esternamente dal pericardio.

**Parenchima:** termine generico con cui si indica il tessuto proprio e funzionalmente differenziato di un organo (parenchima epatico, parenchima polmonare, parenchima renale), in contrapposizione al tessuto di sostegno (o stroma), che costituisce invece la trama di supporto dell'organo.

**Recettori:** in biologia e in medicina, qualsiasi struttura capace di reagire a sollecitazioni specifiche, sviluppando una reazione caratteristica. In immunologia, struttura di membrana in grado di reagire con l'antigene.

**Recettore adrenergico  $\beta_1$ :** i recettori adrenergici sono recettori di membrana che interagiscono con l'adrenalina ed altre catecolamine e sono recettori metabotropici; ne esistono due tipi:  $\alpha$  ( $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ ) e  $\beta$  ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ ).  $\beta_1$ : è un recettore di tipo eccitatorio, importantissimo per l'attività cardiovascolare, è principalmente presente a livello cardiaco e renale; la sua stimolazione genera a livello cardiaco un effetto inotropo e cronotropo positivo mentre a livello renale stimola la secrezione di renina da parte delle cellule juxtaglomerulari.

**Recettore muscarinico:** recettore di transmembrana appartenente alla grande famiglia dei recettori accoppiati alle proteine G. Il ligando naturale del recettore muscarinico è l'acetilcolina, neurotrasmettitore deputato alla trasmissione dell'informazione nervosa ed in grado di legarsi anche ai recettori nicotinici.

**Regola di Simpson:** essa prevede la suddivisione dell'intervallo di integrazione in sottointervalli e la sostituzione in questi della funzione integranda mediante archi di parabola, cioè mediante polinomi quadratici. Tale metodo si utilizza per funzioni  $f(x)$  delle quali non si conosce la funzione primitiva, della cui primitiva si conoscono solo caratteristiche dalle quali non si riesce a ricavare una espressione tramite funzioni elementari o quando non è nota un'espressione analitica della funzione da integrare, ma si conoscono soltanto alcuni suoi valori oppure quando è noto soltanto il suo diagramma.

**Sarcolemma:** complesso di membrane (membrana plasmatica e lamina basale) che avvolge le fibre muscolari; nel miocardio, il sarcolemma presenta profonde invaginazioni tubulari connesse tra loro in senso trasversale e longitudinale probabilmente deputate alla propagazione dell'impulso nell'interno della fibrocellula.





## Bibliografia

- [1] C. Cobelli, E. Carson, *Introduzione alla modellistica in fisiologia e medicina*, Pàtron Editore, Bologna, 2012, Cap. 3, pp. 106 – 117 e pp. 142 - 150.
- [2] G. Toffolo, materiale didattico di “Sistemi compartimentali lineari” (2012), Corso di Sistemi e Modelli, Università degli Studi di Padova.
- [3] Enciclopedia italiana Treccani: bioimmagini, cellule endoteliali, fluido interstiziale, fotoni, ligando, membrana cellulare, parenchima, recettori, sarcolemma, tomografia a emissione di positroni in Dizionario di Medicina.
- [4] C. Cobelli, materiale didattico di “Modellistica a livello d’organo: modelli compartimentali per lo studio del sistema recettoriale cerebrale da immagini PET” (2007), Corso di Modelli e Controllo di Sistemi Biologici 2, Università degli Studi di Padova.
- [5] E. Carson, C. Cobelli, *Modelling methodology for physiology and medicine*, Academic Press, San Diego, 2001, cap 7, 13.
- [6] M. Bisiacco, S. Braghetto, *Teoria dei sistemi dinamici*, Progetto Leonardo, Bologna, 2010, pp. 27-34.
- [7] R. F. Muzic Jr., G. M. Sidel, “Distributed versus Compartment Models for PET receptor studies”, *IEEE Transaction on Medical Imaging* (Gennaio 2003), Vol. 22, pp. 11 – 21.
- [8] A. Panese, materiale didattico di “Teoria dei traccianti”, Corso di Fisica Medica, Università degli Studi dell’Emilia Romagna.
- [9] S. Dittrich, J. Van Den Hoff, R. P. Maguire, “PET Pharmacokinetic Course”, Loch Lomond (18-21 Luglio 2010) Università di Glasgow, Università di Aberdeen.



