

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

---

Scuola di Scienze  
Dipartimento di Fisica e Astronomia  
Corso di Laurea Magistrale in Fisica

Imaging quantitativo cerebrale in pazienti  
affetti da patologie neurodegenerative con  
traccianti PiB e FDG marcati con  $^{18}F$

Relatore:  
Prof. Maria Pia Morigi

Presentata da:  
Filippo Boschi

Correlatore:  
Dott. Caterina Ghetti

Anno Accademico 2015/2016

# Indice

<b>1</b>	<b>Prima parte</b>	<b>7</b>
1.1	L'imaging cerebrale funzionale . . . . .	7
1.1.1	La tomografia a emissione di positroni con annessa tomografia a raggi X (PET-CT) . . . . .	7
1.1.2	La formazione delle immagini: sinogramma e processo iterativo . . . . .	8
1.1.3	Le immagini CT come supporto alla PET . . . . .	10
1.2	Panoramica della patologie cerebrali riscontrabili tramite esame PET: demenze e malattie rare . . . . .	11
1.3	FDG-PET per malattia di Alzheimer e MCI . . . . .	12
1.4	Imaging amiloideo per la malattia di Alzheimer . . . . .	13
<b>2</b>	<b>Lo spazio di elaborazione e la standardizzazione delle immagini cerebrali</b>	<b>15</b>
2.1	Caratteristiche di un'immagine 3D ottenuta da scanner PET . . . . .	15
2.2	Cambiamenti spaziali in neuroimaging . . . . .	16
2.2.1	Lo standard DICOM per le immagini biomediche . . . . .	16
2.2.2	Lo spazio Talairach . . . . .	17
2.2.3	Lo spazio MNI . . . . .	17
2.2.4	L'immagine di template per il [ $^{18}F$ ]-FDG . . . . .	18
<b>3</b>	<b>Software SPM e algoritmo di normalizzazione</b>	<b>20</b>
3.1	Metodi di analisi per immagini PET funzionali . . . . .	20
3.2	Statistical Parametric Mapping . . . . .	21
3.3	Il processo di normalizzazione in SPM . . . . .	21
3.4	Registration tra una immagine e il template . . . . .	22
3.4.1	Funzioni base . . . . .	23
3.5	Regolarizzazione fondata su un approccio Bayesiano . . . . .	24
3.5.1	Determinare la distribuzione a priori: energia di membrana . . . . .	25
<b>4</b>	<b>Il modello lineare generale</b>	<b>27</b>
4.1	Stima dei parametri del modello . . . . .	28

4.2	Combinazione lineare di $\hat{\beta}$ e t-test . . . . .	29
4.2.1	Stimabilità e significato del contrasto . . . . .	30
4.3	F-test . . . . .	30
4.4	Interpretazione del contrasto relativo ai test t ed F . . . . .	32
4.5	Modelli base . . . . .	32
4.5.1	regressione lineare . . . . .	32
4.5.2	One sample t-test . . . . .	33
4.5.3	Two sample t-test . . . . .	33
4.5.4	One way ANOVA . . . . .	34
4.5.5	One way ANCOVA . . . . .	34
4.6	Analisi delle immagini PET con il GLM . . . . .	34
4.6.1	Il problema della varianza tra voxel . . . . .	34
4.6.2	Normalizzazione globale . . . . .	35
4.6.3	Scaling proporzionale . . . . .	35
4.6.4	Approccio ANCOVA . . . . .	36
4.7	Scelta dell'approccio per l'attività globale . . . . .	36
4.7.1	Grand mean scaling . . . . .	36
4.8	L'assunzione di sfericità . . . . .	36
<b>5</b>	<b>Random Field Theory</b>	<b>39</b>
5.1	Definizioni preliminari . . . . .	39
5.2	Il problema dell'ipotesi nulla . . . . .	39
5.3	La correzione di Bonferroni . . . . .	40
5.4	Random Field Theory . . . . .	41
5.4.1	Caratteristica di Eulero . . . . .	42
5.4.2	Condizioni sui dati e validità del metodo . . . . .	42
5.5	Stima della FWHM . . . . .	43
<b>6</b>	<b>Registrazione multimodalità con SPM</b>	<b>45</b>
6.1	Mutual information . . . . .	45
6.2	La registrazione multimodalità tramite mutual information: vantaggi e criticità . . . . .	46
6.3	Algoritmo . . . . .	48
6.4	Uso in Neuroimaging . . . . .	49
<b>7</b>	<b>Cortex ID</b>	<b>51</b>
7.1	Introduzione al software . . . . .	51
7.2	Standardized Uptake Value basato sul radiofarmaco . . . . .	51
7.3	Analisi basata su SSP Z-score . . . . .	52
7.4	Creazione delle immagini 3D-SSP . . . . .	52
7.5	Normalizzazione alla regione di riferimento e calcolo dello Z-score . . . . .	53

<b>8</b>	<b>Test effettuati, risultati e conclusioni</b>	<b>56</b>
8.1	Introduzione . . . . .	56
8.2	Procedura in SPM utilizzando il two sample t-test . . . . .	56
8.3	Processo di normalizzazione e smoothing . . . . .	57
8.4	Creazione del test e stima dei parametri . . . . .	59
8.5	Creazione della mappa statistica e dei p-values . . . . .	59
8.6	Analisi di pazienti con differenti patologie . . . . .	62
	8.6.1 Pazienti con sospetto morbo di Alzheimer . . . . .	62
	8.6.2 Pazienti con sindromi diverse da AD . . . . .	65
8.7	Confronto statistico tra gruppi affetti da MCI . . . . .	73
8.8	Analisi tramite Cortex ID di pazienti sottoposti al farmaco Vyzamil . . . . .	80

# Abstract

Il numero di casi riguardante patologie neurodegenerative che colpiscono il sistema nervoso centrale sotto forma di demenza aumenta di anno in anno. Si ha quindi la necessità di individuare la presenza della malattia non solo a livello qualitativo, ovvero tramite la sola diagnosi del medico, ma anche a livello quantitativo, cercando di elaborare un metodo di analisi che tenga conto della variabilità tra individuo e individuo, ma che rimanga applicabile per la maggior parte della popolazione. In questo lavoro di tesi sono stati utilizzati due metodi di analisi statistica di immagini PET cerebrali, denominati SPM e SSP Z-score, al fine di individuare mappe statistiche 3D che evidenzino, con probabilità fissata, le aree del cervello colpite. Entrambe le analisi statistiche si basano su un confronto del paziente con un gruppo di soggetti sani. Le immagini elaborate in questo lavoro di tesi provengono dal database dell'Ospedale di Parma, registrate dallo stesso scanner PET-CT, con l'utilizzo di traccianti diversi, denominati FDG e PiB marcato Fluoro. I due traccianti rilevano uno stato cerebrale anomalo, ma attraverso due indicatori diversi: FDG rende visibile l'afflusso sanguigno all'interno del cervello, legato al metabolismo; il PiB invece è in grado di rilevare i depositi di  $\beta$ -amiloide, una proteina che, legandosi ai tessuti cerebrali, forma delle placche in grado di bloccare le connessioni tra neuroni. I traccianti sono legati al radionuclide  $^{18}F$ . Le analisi sono state effettuate principalmente su pazienti con morbo di Alzheimer utilizzando i due metodi di analisi precedentemente introdotti. Sono anche stati confrontati attraverso SPM due gruppi di pazienti con iniziale demenza lieve, che nel tempo si è evoluta in morbo di Alzheimer in alcuni casi, mentre in altri non sono state riscontrate variazioni. Infine, tramite un approccio SPM, sono stati valutati due template diversi per determinare quale potesse essere considerato migliore per l'analisi quantitativa.

# Introduzione

L'aumento costante del numero di pazienti afflitti da patologie neurodegenerative desta particolare preoccupazione, soprattutto riguardo la malattia di Alzheimer, che viene ormai considerata come una patologia distruttiva del tessuto sociale ed economico a livello mondiale. Diviene quindi centrale la necessità di poter individuare la presenza della malattia non solo a livello qualitativo, ovvero determinandone la presenza attraverso una diagnosi effettuata da un esperto medico, ma anche a livello quantitativo, cercando di elaborare un metodo di analisi statistico che tenga conto della variabilità tra individuo e individuo, ma che al contempo sia applicabile per la maggior parte della popolazione. Il fine ultimo di tale approccio è facilitare il lavoro del medico in sede di valutazione della patologia. Le immagini elaborate in questo lavoro di tesi provengono dal database in dotazione all'Ospedale Maggiore di Parma, registrate dallo stesso scanner PET-CT e relative a pazienti con patologie neurodegenerative e, in misura minore, metaboliche. Le immagini sono state ottenute con due diversi tipi di traccianti, denominati FDG e PiB marcato Fluoro. Entrambi i traccianti sono in grado di rilevare la presenza di una anomalia cerebrale, ma attraverso due indicatori diversi: il tracciante FDG rende visibile l'afflusso sanguigno all'interno del cervello, misurandone quindi il metabolismo; il PiB invece è in grado di rilevare i depositi di  $\beta$ -amiloide, una proteina che, legandosi ai tessuti cerebrali, forma delle placche in grado di bloccare le connessioni tra neuroni. I traccianti sono legati al radionuclide  $^{18}F$  dall'emivita relativamente alta. In particolare in questo lavoro di tesi sono stati utilizzati due principali metodi di analisi statistica per immagini PET cerebrali, denominati SPM e SSP Z-score; il fine ultimo di queste analisi è la creazione di una mappa 3D che evidenzia le aree cerebrali colpite dalla malattia, se presenti. Entrambe le analisi statistiche si basano su un confronto del paziente con un gruppo di soggetti sani. Sono state effettuate analisi di confronto tra gruppi di pazienti con storia clinica diversa, inoltre sono state valutate alcune immagini che vengono utilizzate solitamente come punti di riferimento in sede di analisi (i cosiddetti template). Il primo capitolo costituisce una introduzione volta ad inquadrare il problema dell'imaging attraverso l'esame PET. Viene giustificata la necessità di determinare immagini funzionali del cervello, inquadrandone finalità e scopi. Viene inoltre presentato l'esame PET e il metodo di ricostruzione delle immagini attraverso un processo iterativo. Infine vengono date indicazioni sulle patologie studiate e sui traccianti utilizzati. Nel secondo capitolo viene affrontata la questione spaziale nell'ambito del neuroimaging. Vengono brevemente illustrate le caratteristiche di un'immagine PET in 3 dimensioni, dopodiché si affrontano le problematiche dello standard DICOM e dei due spazi nei quali vengono rappresentate le immagini: lo spazio Talairach e lo spazio MNI. Infine viene discusso l'utilizzo del template, un'immagine nello spazio MNI che, tramite il processo di normalizzazione, viene utilizzata per uniformare tutte le immagini a uno stesso spazio e garantire un'analisi corretta.

Il terzo capitolo illustra in profondità la normalizzazione effettuata dal software SPM. I punti salienti sono rappresentati dalla registrazione con il template tramite funzioni base e dal processo di regolarizzazione, attuato attraverso l'approccio Bayesiano.

Il quarto capitolo costituisce il cuore dell'analisi statistica effettuata con SPM: il modello lineare generale rappresenta infatti la teoria attraverso la quale è possibile costruire il modello analitico. Viene descritto l'approccio parametrico definendo e illustrando la matrice di design. Viene inoltre spiegata la funzione dei cosiddetti contrasti e il loro utilizzo per il confronto voxel per voxel. Successivamente vengono presentati i modelli più comuni di test, soffermandosi in particolare sul t-test, che verrà utilizzato per le analisi sui pazienti. Infine vengono trattati alcuni problemi legati alla varianza e all'assunzione di sfericità, che, se non adeguatamente trattati, possono portare ad un'analisi incorretta dei dati.

Il quinto capitolo tratta un problema specifico legato all'analisi statistica delle immagini 3D, il problema dell'ipotesi nulla quando si effettua un numero di test molto alto (nel caso corrente si parla di migliaia di test, uno per ogni voxel delle immagini). Vengono quindi introdotte delle soluzioni, da quelle più semplici, come la correzione di Bonferroni, a quella più avanzata denominata *Family Wise Error* che sfrutta la teoria matematica del *Random Field Theory*.

Il sesto capitolo tratta l'algoritmo di *Mutual Information*, che permette di combinare immagini anatomiche e funzionali provenienti da processi diversi cercando di mantenere la maggior quantità di informazioni possibili.

Il settimo capitolo si occupa del secondo metodo utilizzato per determinare una mappa statistica cerebrale, SSP Z-score. Partendo dalla definizione di Valore di Uptake e di Z-score, si analizza il processo che prevede la costruzione di un modello cerebrale 3D sul quale poi verranno applicati i risultati dell'analisi statistica. L'analisi stessa viene effettuata tramite un confronto tra paziente e un gruppo di soggetti sani. Alla conclusione del processo si ottiene una mappa cerebrale 3D che sottolinea la differenza tra cervello sano e malato in termini di deviazioni standard dalla media.

Nell'ottavo capitolo vengono presentati i risultati delle analisi effettuate. Iniziando da SPM per l'analisi metabolica, viene per prima cosa illustrato il metodo di analisi software. Le analisi vere e proprie con la presenza delle mappe statistiche sono state effettuate su gruppi di pazienti con sospette malattie di Alzheimer, Cogan e Bechet. Si è verificata, nell'ottica di un approccio conservativo, la bontà di un particolare tipo di template rispetto ad un'altro. Infine, per l'analisi relativa agli accumuli amiloidei, si è utilizzato un approccio basato su Z-score per la formazione delle mappe statistiche cerebrali 3D.

# Capitolo 1

## Prima parte

### 1.1 L'imaging cerebrale funzionale

Viene definito imaging cerebrale funzionale l'insieme di tecniche che misurano l'attività del cervello in maniera non invasiva, sia in volontari sani sia in pazienti affetti da malattie neurologiche o psichiatriche.

Le principali tecniche sono la risonanza magnetica funzionale (fMRI) e la tomografia a emissione di positroni (PET). Entrambe le tecniche non misurano direttamente l'attività dei neuroni, ma sono in grado di cogliere l'attività cerebrale registrando i cambiamenti metabolici ed emodinamici che la caratterizzano. Queste tecniche permettono lo studio dell'attività cerebrale legata a processi sensoriali e motori; hanno permesso di passare da una concezione più "chiusa" del funzionamento cerebrale, nella quale ad ogni funzione viene associata una determinata area del cervello, ad una più aperta, dove una stessa zona cerebrale può partecipare a più processi o, all'opposto, per una funzione singola possono attivarsi più aree[1]. Similmente è stato possibile indagare più a fondo la natura di molte malattie neurologiche e psichiatriche attraverso la comparazione tra individui sani e malati.

Questo lavoro di tesi si pone l'obiettivo di spiegare i concetti fondamentali di imaging e di presentare alcuni risultati ottenibili tramite tecniche di analisi statistiche su immagini PET di pazienti affetti da diverse patologie.

#### 1.1.1 La tomografia a emissione di positroni con annessa tomografia a raggi X (PET-CT)

La tomografia a emissione di positroni è una tecnica di medicina nucleare e diagnostica medica utilizzata per produrre bioimmagini. È una tecnica di tipo funzionale, ovvero si occupa di misurare la risposta metabolica dell'organismo a uno stimolo, in questo caso l'iniezione di un radiofarmaco, detto tracciante o marker. Il radiofarmaco è formato

da un radio-isotopo tracciante con emivita breve, legato chimicamente a una molecola attiva a livello metabolico (vettore), ad esempio il fluorodesossiglucosio (abbreviato in FDG)[2].

Una volta iniettato il radiofarmaco, è necessario attendere la giusta concentrazione della molecola attiva nel tessuto oggetto di indagine, dopodichè il paziente viene posizionato in un apposito scanner. L'isotopo di breve vita media decade, emettendo un positrone e un neutrino. Il positrone, continuamente deviato nella sua traiettoria per effetto dell'interazione Coulombiana, cede energia fino ad annichilire con uno degli elettroni presenti, in genere dopo un percorso di pochi millimetri al massimo. Vengono prodotti una coppia di fotoni gamma entrambi di energia pari a 511 keV emessi in direzioni anti-parallele.

Questi fotoni sono rivelati quando raggiungono uno scintillatore all'interno del dispositivo di scansione, dove creano un lampo luminoso rilevato attraverso dei tubi fotomoltiplicatori. Punto cruciale della tecnica è la rivelazione simultanea di coppie di fotoni: i fotoni che non raggiungono il rivelatore in coppia, cioè entro un intervallo di tempo di pochi nanosecondi, non sono presi in considerazione.

Dalla misurazione della posizione in cui i fotoni colpiscono il rivelatore, si può ricostruire l'ipotetica posizione all'interno del corpo da cui sono stati emessi, permettendo la determinazione dell'attività del radiofarmaco all'interno delle parti del corpo investigate. Il tomografo annesso permette di generare immagini tomografiche ad alta risoluzione che risulteranno molto utili in fase di ricostruzione della immagini PET, come spiegato in seguito.

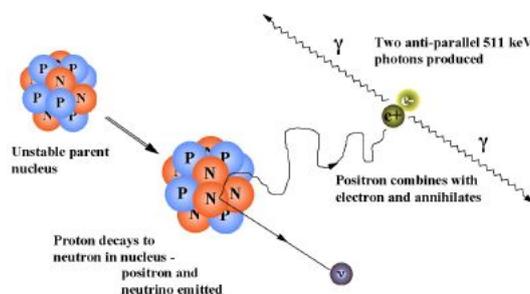


Figura 1.1: schema del fenomeno fisico su cui si basa il funzionamento della PET

### 1.1.2 La formazione delle immagini: sinogramma e processo iterativo

Si consideri un sistema di assi ortogonali  $x, y, z$  dove  $z$  viene diviso in segmenti. L'obiettivo della misura è ottenere un numero di immagini 2D per ogni segmento di  $z$ , e poi utilizzare queste immagini per ottenere il modello in tre dimensioni cercato. Si assuma quindi di aver fissato  $z$ : i due fotoni antiparalleli formano una linea detta LOR (line of

response) che ne rappresenta la possibile traiettoria.

Si considerino le coordinate ortogonali di riferimento (solitamente solidali con il paziente)  $x, y$ , e in più vengano introdotte le coordinate di proiezione  $s, \theta$ , con  $s$  asse perpendicolare alla LOR, e  $\theta$  angolo tra  $s$  e un asse di riferimento[3]. Fissato  $\theta$ , la proiezione  $p(s, \theta)$  si ottiene integrando lungo tutte le LOR. Un punto nelle coordinate  $f(x, y)$  è rappresentato come una sinusoidale in  $p(s, \theta)$ , e l'insieme delle sinusoidi viene definito sinogramma. Passare da  $f(x, y)$  a  $p(s, \theta)$  è possibile utilizzando la trasformata di Radon definita analiticamente come

$$p(s, \theta) = R[f(x, y)] = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) \delta(x \cos \theta + y \sin \theta - s) dx dy. \quad (1.1)$$

Una volta ottenuto il sinogramma, l'obiettivo è ricavare  $f(x, y)$  da  $p(s, \theta)$ . Per farlo è possibile utilizzare due approcci, uno analitico e uno iterativo. Si è scelto qui di illustrare il metodo iterativo in quanto offre un miglior controllo del rumore statistico, e permette inoltre di incorporare informazioni a priori come le acquisizioni CT[4].

La ricostruzione iterativa viene sintetizzata nei seguenti punti:

1. Stima dei valori iniziali che identificano il corpo sottoposto a esame.
2. Comparazione tra stima e valori della proiezione effettivamente misurati.
3. Correzione della stima basata sulla comparazione.

L'algoritmo è di tipo *maximization likelihood function*, e sfrutta la possibilità di descrivere i processi di disintegrazione radioattiva con la distribuzione di Poisson. Per cominciare è necessario scrivere una relazione che legghi i bin del sinogramma ai pixel dell'immagine. Si definisca  $\bar{p}$  il vettore dei conteggi reali nel sinogramma ed  $\bar{f}$  il vettore d'immagine ignoto. L'obiettivo dell'algoritmo è trovare la  $\bar{f}$  soluzione di

$$\bar{p} = \hat{C} \cdot \bar{f} \quad (1.2)$$

con  $\hat{C}$  matrice di coefficienti. Si definisca  $p_i$  il numero di conteggi nell' $i$ -esimo bin del sinogramma; il suo valore medio si può scrivere come

$$\langle p_i \rangle = \sum_{j=1}^J c_{ij} \langle f_j \rangle \quad (1.3)$$

con  $\langle f_j \rangle$  numero medio di eventi nel  $j$ -esimo pixel e  $c_{ij} \in [0, 1]$  coefficienti che rappresentano la probabilità degli eventi associate al bin  $i$ -esimo del sinogramma e al pixel  $j$ -esimo: sulla medesima linea integrale si avrà un totale di  $J$  pixel, da cui la sommatoria. Supponendo che il numero di eventi di annichilazione prodotti sia una variabile di Poisson, la probabilità di rivelare  $p_i$  fotoni è data da

$$P(p_i) = \frac{e^{-\langle p_i \rangle} \langle p_i \rangle^{p_i}}{p_i!} \quad (1.4)$$

da cui si può ricavare la funzione di probabilità

$$P(\bar{p}|\langle f \rangle) = \prod_{i=1}^n \frac{e^{-\langle p_i \rangle} \langle p_i \rangle^{p_i}}{p_i!} \quad (1.5)$$

che esprime la probabilità di osservare il vettore  $\bar{p}$  quando la mappa di emissione vale  $\langle f \rangle$ . Effettuando il logaritmo e sostituendo  $\langle p_i \rangle$  con la (1.3) si ottiene

$$\ln[P(\bar{p}|\langle f \rangle)] = \sum_{i=1}^n \left[ - \sum_{j=1}^J c_{ij} \langle f_j \rangle + \left( p_i \ln \sum_{j=1}^J c_{i,j} \langle f_j \rangle - \ln(p_i!) \right) \right]. \quad (1.6)$$

A questo punto è possibile calcolare i coefficienti cercati valutando i minimi della funzione rispetto a  $\langle f \rangle$ :

$$\frac{\partial \ln[P(\bar{p}|\langle f \rangle)]}{\partial \langle f \rangle} = - \sum_{i=1}^n c_{ij} + \sum_{i=1}^n c_{ij} \frac{p_i}{\sum_{j'=1}^J c_{ij'} \langle f_{j'} \rangle} = 0. \quad (1.7)$$

Una volta ricavati i coefficienti è possibile stimare la  $\langle f_j \rangle^{m+1}$  da usare nello step successivo:

$$\langle f_j \rangle^{(m+1)} = \frac{\langle f_j \rangle^{(m)}}{\sum_{i=1}^n c_{ij}} \left( \sum_{i=1}^n c_{ij} \frac{p_i}{\sum_{j'=1}^J c_{ij'} \langle f_{j'} \rangle^{(m)}} \right). \quad (1.8)$$

L'algoritmo converge piuttosto lentamente ma con un appropriato modello iniziale è possibile ridurre di molto il numero di interazioni necessarie.

### 1.1.3 Le immagini CT come supporto alla PET

La ricostruzione dell'immagine PET è basata sul conteggio dei fotoni emessi da una sorgente di posizione ignota; questi fotoni prima di giungere allo scintillatore attraversano tessuti che sono sconosciuti fino alla rilevazione[4]. Vi è quindi un fenomeno di attenuazione che deve essere accuratamente stimato per poter determinare la distribuzione del radiofarmaco all'interno del cervello. Le scan CT anatomiche permettono di definire l'attenuazione del paziente in quanto l'immagine che si ottiene è legata alla distribuzione del coefficiente di attenuazione dalla ben nota legge di Lambert-Beer

$$\Gamma = e^{-\sum_i \mu_i x_i} \quad (1.9)$$

dove  $\Gamma$  è la frazione di fotoni che attraversa spessori diversi  $x_i$  con coefficienti di attenuazione diversi  $\mu_i$ . Utilizzare le scansioni CT come mappe per la correzione dell'attenuazione diminuisce i tempi di ricostruzione e fornisce una stima molto accurata dell'*attenuation correction factor* (ACF).

È necessario però tenere conto della diversa energia dei fotoni che viene usata per PET e CT. Solitamente i valori di  $\mu$  ottenuti dalla tomografia sono ricavati da fotoni a  $70keV$  e necessitano di essere convertiti per i  $511keV$  utilizzati dalla PET. Dato che i valori di  $\mu$  ottenuti dalle scansioni CT dipendono dalla densità e dalla frazione dei singoli elementi che compongono i tessuti, il fattore di scala è legato alla densità elettronica. In generale ad un alto numero atomico efficace corrisponde un piccolo fattore di scala, in quanto l'attenuazione del fascio diminuisce più rapidamente dell'energia dei fotoni incidenti.

Una volta ottenuti i fattori di conversione (ad esempio tramite l'utilizzo di fantocci che simulano i tessuti di un organismo vivente) questi possono essere utilizzati per correggere con precisione l'attenuazione. Oltre a questo, le scan CT risultano utili per correggere artefatti dovuti al movimento grazie alla velocità con la quale vengono formate: il tempo di acquisizione di una scansione CT è di 30-50 secondi, contro un tempo indicativo di acquisizione di 20 minuti per la PET.

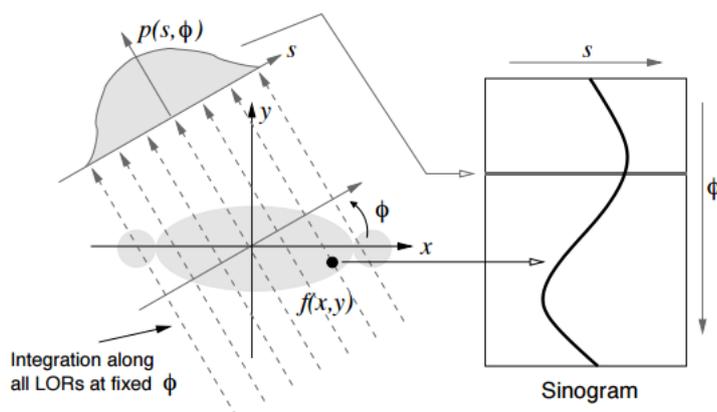


Figura 1.2: relazione tra spazio  $f(x, y)$  e  $p(s, \theta)$  con realizzazione del sinogramma

## 1.2 Panoramica della patologie cerebrali riscontrabili tramite esame PET: demenze e malattie rare

Con il termine demenza si intende l'insieme delle malattie che causano mancanze significative e persistenti alla memoria di un individuo. L'utilizzo dell'esame PET con

radiotraccianti è oggi largamente diffuso per fornire un'analisi quantitativa di ciò che accade a livello cerebrale quando insorge una demenza, e si rivela quindi uno strumento diagnostico di grande utilità.

La malattia di Alzheimer è ad oggi la forma più comune di demenza; si manifesta inizialmente con disturbi della memoria per poi degenerare attraverso disfunzioni multiple a livello cerebrale. Il rapporto mondiale Alzheimer 2015 a cura dell'OMS stima che nel 2015 erano presenti nel mondo 46,8 milioni di persone affette da una forma di demenza[5]. Questa cifra è destinata quasi a raddoppiare ogni 20 anni, fino a raggiungere 74,7 milioni di persone nel 2030 e 131,5 milioni nel 2050. Tali stime risultano più alte del 12-13% rispetto a quelle pubblicate nel *World Alzheimer Report* del 2009. I casi di demenza hanno un'incidenza economica stimata a 818 miliardi dollari nel 2015, in aumento del 35,4% rispetto ai 604 miliardi precedentemente stimati nel 2010. Per la malattia di Alzheimer (da ora in avanti chiamata per semplicità AD) non sono attualmente disponibili terapie risolutive.

Una ulteriore forma di demenza strettamente legata alla AD è la cosiddetta *Mild Cognitive Impairment* (MCI), una tipologia di demenza eterogenea senza presenza di sintomi evidenti che viene descritta come uno stato di transizione tra l'invecchiamento e la degenerazione in AD. L'MCI che degenera in AD mostra lo stesso percorso di riduzione metabolica riscontrabile nel primo stadio di AD conclamata [6]. In questo lavoro di tesi l'esame PET verrà utilizzato anche su pazienti che presentano due malattie rare di origine autoimmune, la sindrome di Behcet e la sindrome di Cogan. La sindrome di Behcet è una patologia autoimmune che si manifesta come un disordine infiammatorio multisistemico che coinvolge i vasi sanguigni di molti organi, compreso il sistema nervoso centrale. La sindrome di Cogan è anch'essa descritta come una patologia autoimmune che colpisce soprattutto l'apparato audio vestibolare con progressiva perdita dell'udito. In due casi su tre anche un altro organo viene colpito dalla malattia, ad esempio l'apparato oculare, causando un quadro di vasculite sistemica. L'utilizzo dell'esame PET in pazienti con queste patologie può aiutare lo studio della malattia mostrando le aree del cervello che subiscono una diminuzione metabolica rispetto a soggetti sani.

### 1.3 FDG-PET per malattia di Alzheimer e MCI

Il fluorodossiglucosio ( $C_6H_{11}^{18}FO_5$ ), abbreviato in FDG, è il radiofarmaco più utilizzato per l'individuazione di vari tipi di tumore nonché per la diagnosi della malattia di Alzheimer mediante l'esame PET[7]. Il Fluoro-18, radioisotopo con una emivita di circa 110 minuti, viene prodotto nel ciclotrone tramite bombardamento di molecole di ossigeno-18 con protoni ad alta energia; una volta iniettato nel paziente, il Fluoro-18 emette positroni rilevabili dalla PET come descritto in precedenza. In quanto analogo del glucosio, l'FDG viene captato in gran quantità dalle cellule che hanno un alto fabbisogno di glucosio, come quelle cerebrali.

Il tracciante FDG è considerato un marcatore del livello di degenerazione neuronale relativa alla malattia di Alzheimer. Nei casi di AD allo stadio iniziale, l'FDG-PET può mostrare una riduzione metabolica nelle corteccie di associazione parieto-temporale, cingolata posteriore, e nel precuneo. In particolare si ha un contrasto netto tra paziente sano e malato nella regione della corteccia cingolata posteriore, dove il paziente sano mostra solitamente ipermetabolismo. Negli stadi successivi della malattia l'ipometabolismo è presente anche nella corteccia frontale associativa, mentre i livelli metabolici nello striato, talamo, corteccia sensomotoria primaria, corteccia visiva e cervelletto rimangono sostanzialmente gli stessi in tutte le fasi della malattia.

L'utilizzo della FDG-PET è particolarmente raccomandato per i casi di MCI e nella prima forma lieve di AD, in quanto sembra fornire per questi casi il maggior grado di accuratezza rispetto ad altre tecniche diagnostiche come la risonanza magnetica.

## 1.4 Imaging amiloideo per la malattia di Alzheimer

Il morbo di Alzheimer opera modificazioni tissutali in un cervello sano. La malattia è dovuta a una diffusa distruzione di cellule cerebrali, principalmente attribuita alla  $\beta$ -amiloide, una proteina che, depositandosi tra i neuroni, agisce come una sorta di collante, rendendo impossibile per il neurone trasmettere gli impulsi nervosi e quindi generando la morte dello stesso, con conseguente atrofia progressiva del cervello nel suo complesso. Alla morte del neurone i frammenti amiloidi vengono liberati nello spazio extracellulare tendendo a depositarsi in aggregati fibrillari insolubili via via sempre più grandi, andando a formare le cosiddette placche amiloidi, rilevabili all'esame istologico.

Il tracciante maggiormente adatto per l'imaging delle placche amiloidee è chiamato *C-Pittsburgh Compound B* (PiB)[8]. Data la vita media breve del  $^{11}\text{C}$  il PiB può essere però essere prodotto e utilizzato solo nelle vicinanze di un ciclotrone. Per ovviare a questo problema sono stati studiati farmaci radiotraccianti a base di  $^{18}\text{F}$  che ha un'emivita di circa 110 minuti e può quindi essere trasportato lontano dalla zona di produzione. In particolare per le analisi effettuate in questo lavoro è stato utilizzato il farmaco Vyzamil contenente il flutemetamolo  $^{18}\text{F}$  la cui formula chimica è  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}^{18}\text{FN}_2\text{OS}$ .

L'accumulo di  $\beta$ -amiloide nei tessuti cerebrali comincia nella fase preclinica dell'AD; in particolare la presenza di accumuli amiloidi favorisce l'innescarsi della malattia, e contribuisce nel tempo ad aggravare la situazione pre-esistente. Tuttavia la presenza di  $\beta$ -amiloide non è causa diretta della malattia in quanto è possibile trovare depositi amiloidi anche in pazienti affetti da patologie diverse da AD. In generale i criteri suggeriti per l'utilizzo dell'esame PET amiloide coinvolgono:

1. Pazienti con MCI persistente e di cui ancora non si è trovata la causa.

2. Pazienti con possibile AD con una storia clinica non chiara, ad esempio un decorso della malattia atipico.
3. Pazienti affetti da demenza progressiva in età non avanzata.

## Capitolo 2

# Lo spazio di elaborazione e la standardizzazione delle immagini cerebrali

## 2.1 Caratteristiche di un'immagine 3D ottenuta da scanner PET

Come si è detto in precedenza, lo scanner PET produce un numero di immagini bidimensionali pari al numero di divisioni operate sull'asse  $z$  (slice). Queste immagini vengono elaborate dal software (in questo caso è stato usato l'import DICOM presente sul software di analisi SPM) e formano l'immagine in 3D.

Le caratteristiche di queste immagini alle quali bisogna fare attenzione sono le seguenti:

1. L'orientamento dell'immagine: per tutte le immagini il naso del paziente nelle immagini sagittali deve essere rivolto alla sinistra di chi effettua l'analisi.
2. La dimensione in voxel dell'immagine: il voxel è l'equivalente in tre dimensioni del pixel, l'unità cubica fondamentale che verrà analizzata per trarre delle conclusioni statistiche tra immagini diverse. Immagini confrontabili presentano la stessa dimensione in voxel.
3. La dimensione in mm del singolo voxel: per un confronto statistico anche questa misura deve essere uguale tra le immagini.
4. L'intensità in scala di grigi associata ad ogni singolo voxel: il valore confrontabile che permette operazioni statistiche sulle immagini. Idealmente tutto ciò che non è misurato dall'esame PET viene considerato sfondo dall'intensità pari a 0.

Quando immagini di questo tipo vengono caricate su un software per l'analisi viene determinato un voxel origine, che verrà utilizzato come punto di riferimento nelle operazioni successive. È importante non scegliere il voxel di origine tra quelli dello sfondo o in una posizione troppo vicina ai contorni dell'immagine, o si potrebbero avere problemi nelle successive fasi di elaborazione.

## 2.2 Cambiamenti spaziali in neuroimaging

L'imaging cerebrale si differenzia dagli altri tipi di imaging per la capacità di fornire informazioni sul funzionamento cerebrale legando l'attività di particolari zone del cervello a compiti specifici o, in diagnostica, alla presenza o meno di malattie. È quindi facilmente intuibile quanto la comparazione tra soggetti diversi sia importante per ottenere delle analisi accurate. Le differenze cerebrali in forma e dimensione tra soggetto e soggetto ostacolano questa necessità. La soluzione che viene adottata, detta normalizzazione, è il trasporto delle immagini da confrontare all'interno di uno spazio comune, deformandole in modo da garantire la confrontabilità ma senza azzerare completamente la variabilità tra le immagini. In questa sezione verrà approfondita la natura degli spazi usati in neuroimaging.

### 2.2.1 Lo standard DICOM per le immagini biomediche

L'imaging medico diagnostico è ormai una realtà quotidiana nell'ambito ospedaliero e non. Questa diffusione su scala mondiale ha portato al bisogno di determinare criteri standard per la comunicazione, la visualizzazione, l'archiviazione e la stampa di informazioni di tipo biomedico.

Lo standard DICOM (*Digital Imaging and COmmunications in Medicine*)[9] si è particolarmente diffuso per la sua accessibilità, e oggi è un valido strumento per lo scambio di informazioni tra apparecchiature di diversi produttori, server e PC. All'interno dello standard DICOM un ricovero, un'immagine, un paziente, viene definito come un oggetto; ogni oggetto contiene una serie di attributi, ad esempio l'oggetto paziente conterrà gli attributi dei dati anagrafici ecc. Definiti gli oggetti e tutti i loro attributi, DICOM definisce quali operazioni possono essere eseguite e su quali oggetti. Tra le operazioni disponibili vi sono lo scambio di file, la memorizzazione e la stampa di immagini.

I dati radiologici rappresentabili come immagini o le immagini vere e proprie che vengono archiviate secondo lo standard DICOM sotto forma di file vengono comunemente chiamate immagini DICOM. Spesso le immagini vengono archiviate in forma non compressa secondo la codifica con la quale vengono prodotte, ma esistono software che permettono la interpretazione di immagini DICOM contenenti dati compressi secondo diversi algoritmi (solitamente JPEG e le sue varianti *lossless* e *lossy*).

Oltre ai dati propri dell'immagine, lo standard DICOM include anche un *header*, ovvero

un file contenente le informazioni necessarie al software per l'interpretazione dei dati dell'immagine. All'interno dell'*header* vi possono essere ad esempio nome del paziente e data del ricovero, ma anche dimensione dell'immagine, dimensione dei voxel e altro ancora.

Il DICOM *Standards Committee* è l'organismo che si preoccupa di migliorare e mantenere efficiente lo standard DICOM a livello mondiale.

### 2.2.2 Lo spazio Talairach

Un generale problema della neuromedicina era la creazione di un criterio spaziale con il quale definire in maniera univoca l'anatomia cerebrale a dispetto delle differenze tra individui.

Lo spazio Talairach[10] risponde a questa esigenza definendo uno spazio tridimensionale nel quale vengono utilizzati due fasci di nervi (anterior commissure e posterior commissure, AC-PC) come punti fissi. Le coordinate in questo spazio sono definite come:

1. Asse x: una linea orizzontale che collega i due punti fissi
2. Asse y: una linea verticale passante per la anterior commissure (che diventa il centro del sistema di riferimento)
3. Asse z: una linea che passa attraverso i due emisferi e forma il piano sagittale.

Il sistema di coordinate Talairach fu costruito attraverso l'analisi di campioni di cervello sezionati, e pur mantenendo una sua importanza a livello storico, è oggi abbandonato in favore di sistemi più precisi e costruiti appositamente per l'imaging cerebrale, attraverso l'utilizzo delle immagini stesse.

### 2.2.3 Lo spazio MNI

Il sistema MNI (dal nome dell'istituto che lo ha introdotto, il Montreal Neurological Institute) è lo spazio di coordinate sul quale sono state effettuate le analisi presenti in questo lavoro, e verrà di conseguenza trattato approfonditamente.

Lo spazio MNI presenta lo stesso sistema assiale e la stessa nomenclatura dello spazio Talairach, ma a differenza di esso è concepito valutando direttamente database di immagini raccolte con diverse tecniche di imaging.

Il fine ultimo di questo procedimento è ottenere il cosiddetto template, ovvero un'immagine cerebrale creata ad hoc per essere il modello di riferimento durante il processo di normalizzazione. Questo significa che parlare di un solo spazio MNI è improprio, in quanto ne esistono diversi legati alle immagini prodotte.

I primi modelli di template nacquero da immagini MRI opportunamente elaborate. Come esempio si descrive la creazione del modello MNI 305 all'inizio degli anni 90, ad opera di Evans e colleghi[11,12,13,14]:

1. In 241 scan MRI pesate in T1, tutte raccolte da individui giovani e sani, sono stati individuati manualmente numerosi punti di riferimento, al fine di identificare la linea AC-PC e i bordi del cervello. Il metodo dei minimi quadrati è stato utilizzato per far corrispondere i punti di riferimento di ogni cervello con i rispettivi punti presenti nello Spazio Talairach.
2. Altre 305 MRI scan sono state elaborate da altrettanti soggetti e, tramite un algoritmo lineare a 9 parametri, sono state rese sovrapponibili alle 241 iniziali. Il template è stato poi elaborato facendo una media delle 305 scan trasformate.

Questa immagine, che può essere definita come una approssimazione dello spazio Talairach, ha definito per la prima volta lo spazio MNI. La possibilità di definire uno spazio ha quindi generato immagini di template più specifiche per vari tipi di radiofarmaci.

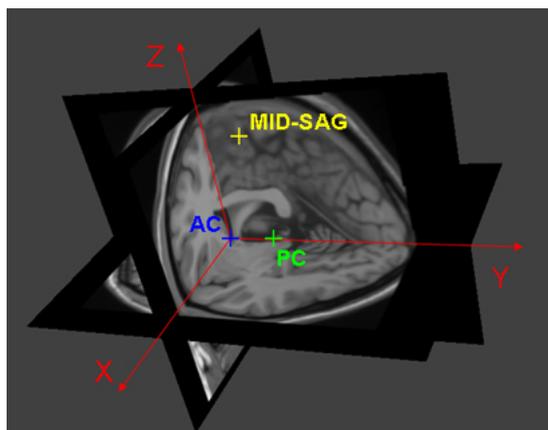


Figura 2.1: Gli assi dello spazio Talairach e MNI con il piano sagittale, e le due commissure

#### 2.2.4 L'immagine di template per il $[^{18}F]$ -FDG

Il template fornito dal software SPM, chiamato  $[^{15}O]$  –  $H_2O$  dal nome del radiofarmaco utilizzato, è basato su un database di pazienti sani sottoposti a esame clinico, ed è considerato il template di default per la normalizzazione con questo software; tuttavia numerosi studi hanno confermato che l'utilizzo di template basati solo su normali tendono a mostrare i pazienti malati come più sani di quanto non siano.

Sono inoltre emerse imperfezioni nell'utilizzo del template per l'analisi con traccianti di

diverso tipo, come ad esempio il  $[^{18}F]$ -FDG, per il quale è stato creato un modello apposito.

La creazione di un template è un processo che riguarda sia la corretta raccolta delle immagini da insiemi di pazienti sani e non, sia la giusta elaborazione software che nel caso particolare del template  $[^{18}F]$ -FDG[15] può essere sintetizzata in:

1. normalizzazione spaziale al template  $[^{15}O] - H_2O$ .
2. normalizzazione intensità di ogni immagine.
3. media delle immagini.
4. masking con maschera dell'encefalo per eliminare rumore al di fuori del cervello.
5. smoothing 8mm per il matching delle caratteristiche del template di SPM dell'ossigeno.

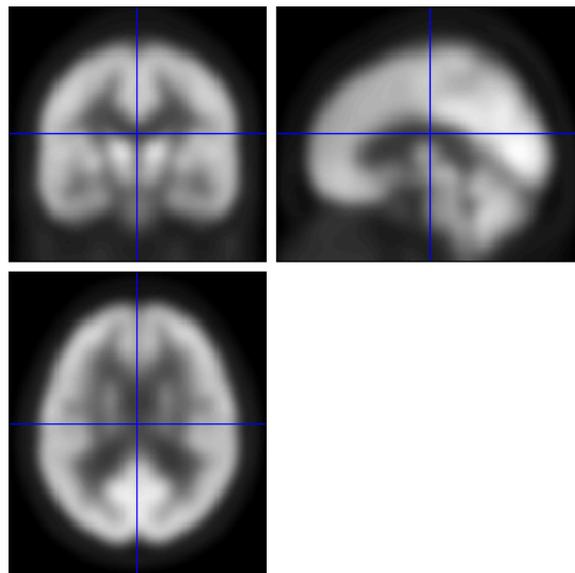


Figura 2.2: template  $[^{18}F]$ -FDG per l'analisi PET: la dimensione dei voxel è  $2mm^3$

## Capitolo 3

# Software SPM e algoritmo di normalizzazione

### 3.1 Metodi di analisi per immagini PET funzionali

L'analisi delle immagini 3D generate con l'esame PET è un campo di ricerca ancora oggi aperto e discusso. Le possibilità offerte dal neuroimaging PET per la diagnosi delle malattie cerebrali hanno prodotto una gran quantità di metodi per la trattazione e l'analisi dei dati provenienti da queste immagini.

La prima distinzione fondamentale che viene fatta riguarda la differenza tra metodi qualitativi e metodi quantitativi o semi-quantitativi[16]. L'approccio qualitativo consiste sostanzialmente nella valutazione visiva dell'immagine effettuata da un esperto: vi è ampia letteratura a riguardo, poichè la valutazione qualitativa costituisce una prima premessa per poter procedere verso metodi meno dipendenti da un osservatore.

I metodi quantitativi e semi-quantitativi mirano invece all'oggettività della valutazione attraverso metodi di individuazione e misura di quantità che possono essere assolute (un esempio è la misura diretta del flusso arterioso durante la PET con  $[^{18}F]$ -FDG, che per la sua invasività è poco utilizzato) o relative (come ad esempio un approccio basato sulla relazione tra regioni di riferimento, dove il parametro di interesse è il potenziale di legame tra le regioni). I metodi semi-quantitativi hanno poi bisogno di una lettura da parte di un esperto per la determinazione o meno della malattia, ma sono utili perchè riducono drasticamente le possibilità di errore.

A quest'ultima categoria appartengono i due approcci semi-quantitativi SPM e 3D-SSP Z-score, che verranno esaustivamente trattati insieme ai relativi software per l'utilizzo, rispettivamente SPM e CortexID Suite.

## 3.2 Statistical Parametric Mapping

Con il termine Statistical Parametric Mapping, o SPM, ci si riferisce a un modello per la costruzione e la valutazione di processi statistici usati per testare un'ipotesi (generalmente l'ipotesi nulla) su dati derivanti da neuroimaging funzionale. SPM viene utilizzato per identificare le risposte del cervello legate a processi sensoriali e motori, nonché per la diagnosi di malattie cerebrali. L'approccio che utilizza è detto voxel-based, ed è basato sull'assunzione che i voxel provenienti da diverse immagini ma nella stessa posizione provengano dalle stesse aree cerebrali, e siano quindi confrontabili. SPM fornisce una risposta statistica per l'intera area cerebrale sotto forma di mappa.

Il metodo con cui i dati di ogni voxel vengono valutati è parametrico: SPM utilizza un modello statistico detto *General Linear Model* (GLM) per la valutazione dei parametri del test che si vuole effettuare. Successivamente da questi parametri viene creata una statistica voxel per voxel basata sul rigetto dell'ipotesi nulla; questa statistica viene tradotta in una mappa cerebrale. Successivamente la mappa viene valutata esaltando i voxel che registrano un effetto mentre al contempo si scartano i falsi positivi. Un requisito fondamentale per l'utilizzo di SPM è l'appartenenza delle immagini a uno stesso spazio stereotassico, condizione che solitamente si ottiene tramite un processo di reallineamento e normalizzazione. SPM può essere utilizzato per immagini fMRI, PET, SPECT, EEG e MEG, rendendolo una scelta versatile anche nell'ambito della coregistrazione tra immagini funzionali e anatomiche.

In questo lavoro SPM verrà utilizzato per l'analisi su pazienti con possibile AD per determinare la presenza o meno della malattia. I passaggi fondamentali che verranno eseguiti e spiegati approfonditamente sono i seguenti:

1. processo di reallineamento e normalizzazione allo spazio stereotassico MNI e smoothing delle immagini.
2. processo di creazione del test e stima dei parametri secondo il modello GLM.
3. creazione e valutazione della mappa cerebrale.

## 3.3 Il processo di normalizzazione in SPM

In imaging cerebrale due approcci vengono ritenuti validi per la normalizzazione: il primo è detto label-based, e consiste nell'individuare caratteristiche geometriche comuni (labels) nelle immagini da normalizzare. Il secondo, quello utilizzato da SPM, è detto nonlabel-based: si cerca una trasformazione spaziale che minimizzi le differenze tra i soggetti e l'immagine di template, valutandole voxel per voxel. Ciò che solitamente viene fatto è minimizzare la somma del quadrato delle differenze (chiamato  $\chi^2$ ) o, ed è la stessa

cosa, massimizzare la correlazione tra le immagini. Il problema nasce dalla possibile enorme quantità di parametri necessari a descrivere la deformazione di un'immagine durante il suo processo di sovrapposizione ad un'altra. La soluzione adottata in SPM consiste nel ridurre il numero di parametri necessari a un totale di 12, ovvero quelli di posizione, orientamento e dimensione del cervello usati nel processo di *registration*. Le deformazioni dipendenti da differenze formali tra soggetti diversi vengono poi descritte da combinazioni lineari di funzioni base (tipicamente seni o coseni). I vincoli di queste deformazioni non lineari sono meno espliciti rispetto a quelli dovuti a trasformazioni di corpo rigido, e anche più arbitrari. Al fine di regolarizzare il più possibile questa situazione, viene introdotto un approccio bayesiano tramite l'uso di stimatori come il MAP (maximum a posteriori), la singola soluzione con la più alta probabilità a posteriori di essere corretta[17].

### 3.4 Registration tra una immagine e il template

La *registration* tra un'immagine cerebrale e il suo template viene effettuata tramite un processo iterativo. L'obiettivo è minimizzare il più possibile il quadrato della differenza tra i voxel dell'immagine da analizzare e quella del template (chi quadro). Ad ogni step l'algoritmo stima nuovi parametri finchè il chi quadro non smette di diminuire. Si definisca  $e_i(p)$  la funzione che descrive la differenza tra i voxel  $i$  dell'immagine da analizzare e di quella di template, con  $p$  valori del vettore dei parametri modellati. Determinare il chi quadro significa fondamentalmente trovare il valore di  $t$  che minimizza  $\sum_i e_i(p+t)^2$  con  $t$  aumento dei valori dei parametri  $p$ . Utilizzando lo sviluppo di Taylor al primo ordine

$$e_i(p+t) \simeq e_i(p) + t_1 \frac{\partial e_i(p)}{\partial p_1} + t_2 \frac{\partial e_i(p)}{\partial p_2} + \dots \quad (3.1)$$

In forma matriciale è possibile scrivere

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial e_1(p)}{\partial p_1} & \frac{\partial e_1(p)}{\partial p_2} & \dots \\ \frac{\partial e_2(p)}{\partial p_1} & \frac{\partial e_2(p)}{\partial p_2} & \dots \\ \vdots & \vdots & \ddots \end{pmatrix} \begin{pmatrix} t_1 \\ t_2 \\ \vdots \end{pmatrix} \simeq \begin{pmatrix} e_1(p) \\ e_2(p) \\ \vdots \end{pmatrix} \quad (3.2)$$

Da qui è possibile ricavare uno schema iterativo per la stima dei parametri: al passo  $n$

$$p^{(n+1)} = p^{(n)} - (A^T A)^{-1} A^T e \quad (3.3)$$

con

$$A = \begin{pmatrix} \frac{\partial e_1(p)}{\partial p_1} & \frac{\partial e_1(p)}{\partial p_2} & \cdots \\ \frac{\partial e_2(p)}{\partial p_1} & \frac{\partial e_2(p)}{\partial p_2} & \cdots \\ \vdots & \vdots & \ddots \end{pmatrix} \quad e = \begin{pmatrix} e_1(p) \\ e_2(p) \\ \vdots \end{pmatrix} \quad (3.4)$$

fatta la stima di  $p$ , viene computato il chi quadro. L'intero procedimento termina quando il chi quadro smette di diminuire. L'algoritmo non garantisce la soluzione globalmente esatta, in quanto vi è sempre la possibilità di ritrovarsi sopra un minimo relativo. Per diminuire la possibilità di un fenomeno simile è preferibile lavorare su immagini smoothed.

### 3.4.1 Funzioni base

Si rende necessario indagare la natura della funzione  $e_i(p)$ . Le trasformazioni spaziali vengono descritte da combinazioni lineari di funzioni base. Le funzioni scelte solitamente sono le basse frequenze della 3D *discrete sin transform* (DST) o della 3D *discrete cosine transform* (DCT), o un mix di entrambe. A titolo di esempio si è scelto di utilizzare la DCT, che al primo ordine si trova moltiplicando la funzione scelta con la matrice  $B^T$ , trasposta di una matrice  $B$  di dimensione  $M \times J$  i cui elementi sono definiti come

$$b_{m,1} = \frac{1}{\sqrt{M}} \quad m = 1 \dots M \quad (3.5)$$

$$b_{m,j} = \sqrt{\frac{2}{M}} \cos\left(\frac{\pi(2m-1)(j-1)}{2M}\right) \quad m = 1 \dots M \quad j = 2 \dots J \quad (3.6)$$

I parametri ottimizzati possono essere separati in un numero distinto di gruppi, tra i quali i più importanti sono quelli di traslazione ( $t_1 t_2 t_3$ ) nelle 3 dimensioni degli assi ortogonali. Una trasformazione dalla coordinata  $x_i$  alla coordinata  $y_i$  si scrive

$$y_{1,i} = x_{1,i} - u_{1,i} = x_{1,i} - \sum_{j=1}^J t_{j,1} b_{1,j}(x_i) \quad (3.7)$$

$$y_{2,i} = x_{2,i} - u_{2,i} = x_{2,i} - \sum_{j=1}^J t_{j,2} b_{2,j}(x_i) \quad (3.8)$$

$$y_{3,i} = x_{3,i} - u_{3,i} = x_{3,i} - \sum_{j=1}^J t_{j,3} b_{3,j}(x_i) \quad (3.9)$$

con  $t_{j,d}$  coefficiente j-esimo per la dimensione  $d$ , e  $b_{j,d}(x)$  è la j-esima funzione base in posizione  $x$  per la dimensione  $d$ . Definendo l'immagine oggetto di studio  $f$  e l'immagine di template  $g$ , l'ottimizzazione è data dalla somma del quadrato delle differenze

$$\sum_i (f(y_i) - wg(x_i))^2. \quad (3.10)$$

$w$  è un parametro che viene aggiunto per tenere conto delle possibili differenze di scala tra le due immagini. Ogni elemento del vettore  $e$  contiene questa somma. Sono quindi necessarie anche le derivate per il calcolo della matrice  $A$ : per la regola della catena

$$\frac{\partial f(y_i)}{\partial t_{j,1}} = \frac{\partial f(y_i)}{\partial y_{1,i}} \frac{\partial y_{1,i}}{\partial t_{j,1}} = \frac{\partial f(y_i)}{\partial y_{1,i}} b_j(x_i) \quad (3.11)$$

$$\frac{\partial f(y_i)}{\partial t_{j,2}} = \frac{\partial f(y_i)}{\partial y_{2,i}} \frac{\partial y_{2,i}}{\partial t_{j,2}} = \frac{\partial f(y_i)}{\partial y_{2,i}} b_j(x_i) \quad (3.12)$$

$$\frac{\partial f(y_i)}{\partial t_{j,3}} = \frac{\partial f(y_i)}{\partial y_{3,i}} \frac{\partial y_{3,i}}{\partial t_{j,3}} = \frac{\partial f(y_i)}{\partial y_{3,i}} b_j(x_i). \quad (3.13)$$

In questo modo è quindi possibile effettuare la stima dei parametri  $p$  alla ricerca di quelli più corretti.

## 3.5 Regolarizzazione fondata su un approccio Bayesiano

Nella forma appena descritta, la ricerca del chi quadro più piccolo possibile può determinare nell'immagine risultante la presenza di piccole deformazioni non necessarie al semplice processo di normalizzazione. Un approccio Bayesiano, ovvero tramite l'introduzione di una conoscenza a priori, può aiutare a regolarizzare il fenomeno. La regola di Bayes afferma che

$$p(a_p|b) \propto p(b|a_p)p(a) \quad (3.14)$$

con  $p(a)$  che rappresenta una distribuzione di probabilità a priori da cui sono estratti i parametri,  $p(b|a_p)$  è la probabilità di ottenere i dati  $b$  conoscendo i parametri, e  $p(a_p|b)$  è la funzione da massimizzare. La forma di Gibbs correlata alla probabilità  $p(a) \propto e^{-H(a)}$  consente di risolvere il problema minimizzando  $H(b|a_p) + H(a_p)$ , dove il primo termine è collegato alla somma delle differenze quadrate. Ipotizzando che i parametri derivino da una distribuzione a media zero multinormale descritta dalla matrice  $C_0$  di covarianza,  $H(a_p)$  è data da  $p^T C_0 p$ . E' possibile dimostrare che

$$p^{(n+1)} = (C_0^{-1} \sigma^2 + A^T A)^{-1} (A^T A p^n - A^T e) \quad (3.15)$$

dove

$$\sigma^2 = \sum_{i=1}^I \frac{e_i(p)^2}{\nu}. \quad (3.16)$$

Il valore  $\nu$  rappresenta il numero di gradi di libertà del sistema.

### 3.5.1 Determinare la distribuzione a priori: energia di membrana

Per poter procedere con un approccio MAP è inizialmente necessario stimare una distribuzione a priori dei parametri: ciò significa fondamentalmente fare una stima della media dei parametri (si assume qui che sia zero) e trovare una matrice di covarianza che dia informazioni riguardo la distribuzione di questi ultimi attorno alla media. Per compiere questo passaggio si può utilizzare un metodo ad hoc, detto dell'energia di membrana. In 3 dimensioni l'energia di membrana del campo di deformazione è

$$\sum_i \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^3 \lambda \left( \frac{\partial u_{ji}}{\partial x_{ki}} \right)^2 \quad (3.17)$$

con  $\lambda$  costante di scala. L'energia di membrana si ricava da  $t_1^T H t_1 + t_2^T H t_2 + t_3^T H t_3$  dove le  $t$  sono i vettori che contengono i parametri di traslazione nelle 3 dimensioni, ed  $H$  è definita come

$$\begin{aligned} H &= \lambda(B_3'^T B_3) \otimes (B_2^T B_2) \otimes (B_1^T B_1) \\ &+ \lambda(B_3^T B_3) \otimes (B_2'^T B_2') \otimes (B_1^T B_1) \\ &+ \lambda(B_3^T B_3) \otimes (B_2^T B_2) \otimes (B_1'^T B_1') \end{aligned} \quad (3.18)$$

dove  $B$  è la matrice delle funzioni base per una dimensione, e  $B'$  è la sua derivata. Se i parametri sono assunti  $(t_1^T t_2^T t_3^T w)^T$  allora

$$C_0^{-1} = \begin{pmatrix} H & 0 & 0 & 0 \\ 0 & H & 0 & 0 \\ 0 & 0 & H & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \quad (3.19)$$

Gli elementi della diagonale rappresentano il reciproco della varianza a priori di ogni parametro, e ognuno di questi è dato da

$$h_{j+J(K+J \times l)} = \lambda \pi^2 M^{-2} ((j-1)^2 + (k-1)^2 + (l-1)^2) \quad (3.20)$$

dove  $M$  e  $J$  sono le dimensioni della matrice  $B$  delle funzioni base (DCT). Questo approccio è dipendente dalla scelta di  $\lambda$ . Un valore troppo grande può introdurre troppa regolarizzazione con conseguente perdita di informazione, in quanto alcune deformazioni vengono soppresse. Un valore troppo piccolo al contrario rischia di fornire un risultato pesantemente affetto da rumore. Questo procedimento è funzionale, e utilizzabile in assenza di una conoscenza pregressa della distribuzione dei parametri attorno alla media. Se si è in possesso della vera distribuzione a priori dei parametri, data ad esempio da un gran numero di soggetti, è preferibile utilizzare la matrice di covarianza  $C_0$  che descrive la distribuzione.

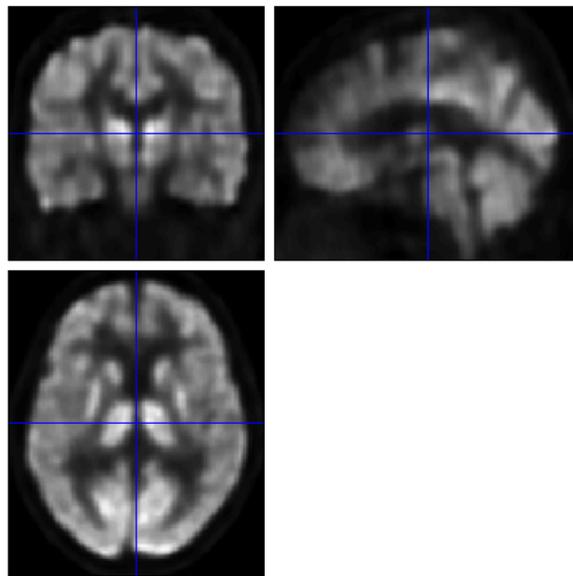


Figura 3.1: Immagine normalizzata con SPM5: la dimensione dei voxel è  $2mm^3$

# Capitolo 4

## Il modello lineare generale

Il *General Linear Model* è il modello statistico utilizzato da SPM[18]. Una volta che le immagini PET del paziente e dei controlli sono state portate nello stesso spazio stereotassico MNI e che il processo di filtraggio gaussiano è stato applicato, è necessario capire come il GLM viene utilizzato da SPM per determinare i parametri che interverranno nella statistica in fase di test.

Si supponga di effettuare un esame PET che dà origine a delle immagini cerebrali, e di aver già effettuato la fase di normalizzazione e smoothing. Ogni scan viene definita come una variabile di risposta  $Y_j$  con  $j = 1, \dots, J$  numero di scan totali; viene descritta all'interno del modello come il risultato di un'espressione lineare del tipo

$$Y_j = x_{j1}\beta_1 + \dots + x_{jL}\beta_L + \xi_j \quad (4.1)$$

dove  $x_{jl}$  sono delle variabili esplicative senza errore,  $l = 1, \dots, L$  è il numero di voxel dell'immagine,  $\beta_{jl}$  sono i parametri da stimare. Gli  $\xi_j$ , errori residui, sono variabili distribuite secondo una Gaussiana con media zero e deviazione standard  $\sigma$ . L'utilizzo di matrici permette di scrivere l'intero modello in forma compatta

$$\begin{pmatrix} Y_1 \\ \vdots \\ Y_j \\ \vdots \\ Y_J \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_{11} & \cdots & x_{1l} & \cdots & x_{1L} \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{j1} & \cdots & x_{jl} & \cdots & x_{jL} \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{J1} & \cdots & x_{Jl} & \cdots & x_{JL} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \vdots \\ \beta_l \\ \vdots \\ \beta_L \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \xi_1 \\ \vdots \\ \xi_j \\ \vdots \\ \xi_J \end{pmatrix} \quad (4.2)$$

Usando la notazione  $Y = X\beta + \xi$ , la matrice  $X$  di dimensione  $J \times L$  è chiamata design matrix, e le sue colonne sono chiamate regressori. Le componenti della matrice di design, dette regressori, possono essere covariate, ovvero variabili che introducono informazioni

sul modello attraverso caratteristiche dello stesso (ad esempio l'età dei pazienti quando si effettua uno studio medico) oppure *dummy variables*, ovvero variabili che assumono valore 0 oppure 1 a seconda che una certa condizione sia soddisfatta o meno. Il GLM è una generalizzazione dei modelli statistici (presentati più avanti nella trattazione) che vengono utilizzati da SPM.

$$\mathbf{y} = \mathbf{X} * \boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\varepsilon}$$

Figura 4.1: Il *General Linear Model*: i voxel nella stessa posizione ( $y$ ) vengono esplicitati come una moltiplicazione tra una matrice di design e dei parametri, a cui vengono sommati gli errori statistici

## 4.1 Stima dei parametri del modello

Tipicamente la dimensione  $J$  della matrice di design  $X$  è diversa dalla dimensione  $L$ ; questo rende non risolvibile il sistema di equazioni descritto dalla matrice. Tuttavia, la stima migliore dei parametri può essere trovata con il metodo dei minimi quadrati. Si considerino i parametri

$$\tilde{\beta} = [\tilde{\beta}_1 \dots \tilde{\beta}_l \dots \tilde{\beta}_L]^T \tag{4.3}$$

che combinati alla matrice di design danno luogo a

$$\tilde{Y} = [\tilde{Y}_1 \dots \tilde{Y}_j \dots \tilde{Y}_J]^T = X\tilde{\beta} \tag{4.4}$$

L'errore residuo viene scritto come

$$e = [e_1 \dots e_j \dots e_J]^T = Y - \tilde{Y} = Y - X\tilde{\beta}. \tag{4.5}$$

L'obiettivo è minimizzare il quadrato di questo errore: per ogni voxel si può scrivere

$$S = \sum_{j=1}^J (Y - x_{j1}\tilde{\beta}_1 - \dots - x_{jl}\tilde{\beta}_l - \dots - x_{jL}\tilde{\beta}_L)^2 \quad (4.6)$$

Il minimo viene trovato azzerando la derivata di  $S$  rispetto ai  $\tilde{\beta}_l$

$$\frac{\partial S}{\partial \tilde{\beta}_l} = 2 \sum_{j=1}^J (-x_{jl})(Y - x_{j1}\tilde{\beta}_1 - \dots - x_{jl}\tilde{\beta}_l - \dots - x_{jL}\tilde{\beta}_L) = 0. \quad (4.7)$$

Questa equazione non è altro che la  $l$ -esima riga di  $X^T Y = (X^T X)\tilde{\beta}$ . Si può affermare che la stima dei minimi quadrati denominata  $\hat{\beta}$  soddisfa il sistema di equazioni normali

$$X^T Y = (X^T X)\hat{\beta} \quad (4.8)$$

e che per il modello generale lineare  $\hat{\beta}$  è la stima della massima verosimiglianza: tra tutte le stime di parametri che si ottengono tramite combinazione lineare di dati osservati (con valore di aspettazione il vero valore dei parametri), i minimi quadrati sono quelle con la varianza più piccola.

Se  $(X^T X)$  è invertibile, ovvero se e solo se la matrice  $X$  è di rango massimo, è possibile scrivere

$$\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T Y \quad (4.9)$$

Una matrice è definita di rango massimo, e quindi invertibile, quando tutte le sue colonne sono linearmente indipendenti. Questo suggerisce che imponendo un vincolo al sistema sia sempre possibile ottenere la stima dei minimi quadrati. La soluzione più ovvia sembra quella di rimuovere colonne dalla matrice di design per ottenere il rango massimo: sebbene sia possibile farlo, questo metodo è sconsigliato poichè per matrici di design complesse diventa difficile riconoscere il modello alla fine del processo di trasformazione. Un'altra possibilità, utilizzata da SPM, consiste nell'ottenere la pseudoinversa della matrice tramite un algoritmo che sostanzialmente impone un vincolo sul design. Una volta ottenuta la pseudoinversa  $(X^T X)^-$  è possibile ottenere un set di

$$\hat{\beta} = (X^T X)^- X^T Y = X^- Y \quad (4.10)$$

che conducono ai valori  $\hat{Y} = X\hat{\beta}$ , ovvero ciò che è previsto dal modello.

## 4.2 Combinazione lineare di $\hat{\beta}$ e t-test

Preso un vettore colonna  $c$  contenente un numero di pesi pari al numero dei parametri è possibile dimostrare che

$$c\hat{\beta} \sim N(c\hat{\beta}, \sigma^2 c^T (X^T X)^{-1} c) \quad (4.11)$$

con  $\hat{\beta}$  e  $\sigma^2$  indipendenti per la regola di Fisher. Di conseguenza è possibile valutare ipotesi pregresse sulle componenti lineari  $c^T \beta$  scrivendo

$$\frac{c^T \hat{\beta} - c^T \beta}{\sqrt{\hat{\sigma}^2 c^T (X^T X)^{-1} c}} \sim t_{J-p} \quad (4.12)$$

dove  $t_{J-p}$  è una distribuzione t di Student con  $J - p$  gradi di libertà, con  $p$  rango della matrice di design. Ad esempio, l'ipotesi  $H : c^T \beta = d$  viene valutata come

$$T = \frac{c^T \hat{\beta} - d}{\sqrt{\hat{\sigma}^2 c^T (X^T X)^{-1} c}}. \quad (4.13)$$

Si può quindi valutare il cosiddetto p-value confrontando il risultato con la corrispondente distribuzione t di Student. In SPM, quando si sceglie il t-test per l'analisi, tutte le ipotesi nulle hanno la forma  $c^T \beta = 0$ .

### 4.2.1 Stimabilità e significato del contrasto

Se la matrice di design  $X$  non è di rango massimo alcuni parametri vengono detti "non stimabili". A titolo di esempio si considerino due valori uguali della matrice  $X$ ,  $x_1 = x_2$ , con i corrispondenti parametri  $\beta_1$  e  $\beta_2$ . La scelta di  $\hat{\beta}_1 + \hat{\beta}_2 = \text{costante}$  avrà come risultato la stessa  $\hat{Y}$ , lo stesso errore residuo ma infinite possibilità per la scelta di  $\beta_1$  e  $\beta_2$ , rendendone impossibile la stima univoca. Generalizzando è possibile scrivere

$$c_1 \hat{\beta}_1 + c_2 \hat{\beta}_2 + \dots = c^T \hat{\beta} \quad (4.14)$$

L'operazione  $c^T \hat{\beta}$  è chiamata semplicemente contrasto. Un contrasto è stimabile se e solo se il vettore contrasto può essere scritto come combinazione lineare delle righe della matrice di design  $X$ . Essendo il vettore che contiene i pesi associati ai parametri,  $c^T$  è utilizzato generalmente per determinare le ipotesi statistiche che influenzeranno la mappa-voxel risultante.

## 4.3 F-test

La scelta del contrasto adeguato dipende sia da quale ipotesi statistica si vuole verificare, sia dal tipo di test che si vuole o che è necessario effettuare sui dati. SPM basa l'analisi su due tipi di statistica, quella di Student (t-test) e quella di Fischer (F-test). Si è già visto come la modellazione dei dati fin qui descritta segua la statistica di Student, e permetta quindi l'attuazione del test di tipo t. Il test F organizza diversamente la

matrice di design per poter fare delle ipotesi comparative sui parametri attraverso l'uso del contrasto. Si supponga di avere un modello di parametri  $\beta$  che può essere diviso in due parti,  $[\beta_1^T \ \beta_2^T]$  e si supponga di testare l'ipotesi  $H : \beta_1 = 0$ . Anche la matrice di design sarà divisa in due parti,  $X = [X_1 \ X_2]$ , cosicchè possa essere scritto il full model

$$Y = [X_1 \ X_2] \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix} + \xi \quad (4.15)$$

che quando  $H$  è vera si riduce a  $Y = X_2\beta_2 + \xi$ .

Il test F misura la differenza tra le somme dei quadrati dei residui per i due modelli, ovvero  $S(\beta_1|\beta_2) = S(\beta_2) - S(\beta)$ . Se  $H$  è vera allora  $S(\beta_1|\beta_2) \sim \sigma^2\chi_p$  e indipendente da  $S(\beta)$ , con  $p$  numero di gradi di libertà pari a  $p = p_1 - p_2 = \text{rank}(X) - \text{rank}(X_2)$ . Il test F per il rigetto dell'ipotesi  $H$  viene quindi scritto come

$$F = \frac{\frac{S(\beta_2) - S(\beta)}{p_1 - p_2}}{\frac{S(\beta)}{J - p_1}} \sim F_{p_1 - p_2, J - p_1}. \quad (4.16)$$

Maggiore è il valore di F, maggiore è il rigetto dell'ipotesi nulla.

Questa formulazione del F-test presenta due limitazioni. La prima limitazione è dovuta alla scrittura di  $S(\beta_1|\beta_2)$  che prevede il fitting di due modelli in sequenza. La seconda è dovuta al fatto che un solo regressore può in linea teorica esprimere due effetti di interesse: se di questi ultimi vuole essere testata la differenza, è necessario rimodellare dall'inizio i dati per distinguere i due effetti in due regressori separati.

Per evitare tutto questo si introduce la matrice di contrasto, ovvero una generalizzazione del vettore di contrasto utilizzato per il test t. Ogni colonna della matrice di contrasto è formata da una vettore di contrasto. La funzione della matrice di contrasto è controllare la partizione della matrice di design  $X$ . Vengono introdotte quindi la matrice di contrasto  $c$  e  $X_c = Xc$ , sottospazio della matrice di design. La matrice  $c_0 = I_p - cc^T$  è detta contrasto ortogonale, e  $X_0 = Xc_0$  è la matrice di contrasto del modello ridotto. È possibile scrivere una matrice di proiezione  $M$  dai dati al sottospazio di  $X_c$ , quindi ortogonale a  $X_0$ : servendosi una matrice appartenente a questo sottospazio, chiamato  $X_a$ , non è necessario fare il fitting di due modelli separati. Questa matrice di proiezione  $M$  viene ricavata dalla differenza tra la matrice dei residui del modello ridotto  $R$  e quella del modello completo  $R_0$

$$M = R_0 - R = I_J - X_0X_0^- - (I_J - XX^-). \quad (4.17)$$

Una volta ottenuta questa matrice la statistica viene scritta come

$$F = \frac{Y^TMY(J-p)}{Y^TRY(p_a)} \sim F_{p_a, J-p}. \quad (4.18)$$

Il valore di F cercato può quindi essere ottenuto senza bisogno di parametrizzare più volte i dati.

## 4.4 Interpretazione del contrasto relativo ai test t ed F

Si è già specificato come la matrice contrasto  $c$  sia formata da vettori di contrasto. Questo suggerisce una relazione tra i due tipi di test statistici, che tuttavia non risultano intercambiabili. Il contrasto relativo al t-test può essere inteso come "l'effetto (cioè il peso relativo al parametro) di una condizione A è maggiore dell'effetto di una condizione B". È possibile effettuare il test relativamente a più parametri, ma solo rimanendo nell'ambito di un confronto a due. Un esempio possibile può essere "la somma dei parametri A e B è maggiore di quella dei parametri B e C".

Il contrasto F è invece utilizzato per testare le differenze che intercorrono tra più parametri: può essere pensato come un OR matematico tra più contrasti T che vogliono rigettare l'ipotesi nulla che il parametro sia zero. L'utilità del contrasto F viene dalla capacità del test di selezionare aree dove vi è un'attivazione cerebrale senza specificare a quale tipo di parametro sia collegata. I suoi svantaggi sono dovuti alla mancanza di informazioni precise sui parametri: si può per esempio notare una differenza tra due parametri A e B, ma non vi sono indizi su quale sia il maggiore dei due. Si noti comunque che, per i modelli più semplici di contrasti F, il valore T relativo al t-test non sia altro che la radice quadrata del valore F.

## 4.5 Modelli base

### 4.5.1 regressione lineare

Si è detto precedentemente che il GLM non è altro che la generalizzazione dei modelli che SPM utilizza per l'analisi statistica. Il modello più semplice utilizzato è la regressione lineare, il cui modello può essere sintetizzato come

$$Y_j = \mu + x_j\beta + \xi_j \quad (4.19)$$

dove  $\mu$  è un valore costante e  $\beta$  è la pendenza della retta di regressione[19]. Per uniformare questa scrittura al GLM basta introdurre una dummy variable sotto forma di  $x_{j1}$  che ha valore 1 e che viene moltiplicata alla costante.

### 4.5.2 One sample t-test

Il secondo modello è chiamato one sample t-test, ed è usato per testare l'ipotesi nulla che la media di  $J$  scans risulti uguale a 0. Il modello è

$$Y = x_1\beta_1 + \xi \quad (4.20)$$

dove  $x_1$  è un vettore costante di uno e  $\xi \sim N(0, \sigma^2 I_J)$ . L'ipotesi nulla è  $H : \beta_1 = 0$  mentre  $\bar{H} : \beta_1 > 0$ . Il test si effettua scrivendo

$$T = \frac{\hat{\beta}_1}{\sqrt{\frac{\hat{\sigma}^2}{J}}} \sim t_{J-1} \quad (4.21)$$

con  $\sigma^2 = Y^T R Y / (J - 1)$ , dove  $R$  è la matrice dei residui.

### 4.5.3 Two sample t-test

Il test successivo coinvolge due gruppi di immagini: nello specifico l'ipotesi nulla è che le medie dei due gruppi siano uguali. In SPM la matrice di design viene scritta a tre colonne, dove due rappresentano l'appartenenza di ogni scan al rispettivo gruppo, mentre la terza modella una costante comune tra i due gruppi. Si può subito notare che nella matrice di design la terza colonna è la somma delle altre due, ovvero che la matrice non è di rango massimo. Si definiscano  $J_1$  e  $J_2$  il numero delle scan contenute nei due gruppi. Il primo regressore sarà composto da  $J_1$  componenti uguali a 1 seguite da  $J_2$  componenti uguali a zero. Il secondo regressore avrà  $J_1$  componenti uguali a 0 e  $J_2$  componenti uguali a 1. Il terzo regressore sarà composto da  $J_1 + J_2$  componenti uguali a 1. In questa tipologia di test diventa importante il vettore contrasto  $c$  per la definizione delle ipotesi alternative: si ponga  $c = [-1, 1, 0]^T$ , ovvero  $\bar{H} = \beta_1 < \beta_2$ . Per la statistica si userà la pseudoinversa  $(X^T X)^{-1}$  come spiegato precedentemente. La statistica viene effettuata ponendo le condizioni  $J_1 = J_2$  e che la varianza  $\sigma^2$  tra i due gruppi sia la stessa. È possibile ora calcolare

$$T = \frac{\hat{\beta}_1 - \hat{\beta}_2}{\sqrt{\frac{\hat{\sigma}^2}{1/J_1 + 1/J_2}}} \sim t_{J-2}. \quad (4.22)$$

Il test risulta robusto anche non rispettando l'ipotesi  $J_1 = J_2$ . L'ipotesi di non-sfericità dovuta a varianze diverse è invece ritrovabile quando si parla di confrontare un gruppo di normali con uno di pazienti con sospetta malattia, e verrà trattata approfonditamente più avanti nel lavoro.

#### 4.5.4 One way ANOVA

Con il termine analisi della varianza (ANOVA) si intende l'insieme di tecniche statistiche che permettono di valutare due o più gruppi di dati mettendo a confronto la variabilità interna ai gruppi con la variabilità tra i gruppi. L'ipotesi iniziale è che la varianza totale sia esprimibile come somma della varianza interna ai gruppi  $\sigma_I^2$  e della varianza  $\sigma_T^2$  tra i gruppi. Se  $\sigma_I^2$  è relativamente maggiore di  $\sigma_T^2$  si può accettare l'ipotesi che il fenomeno oggetto di studio sia legato a caratteristiche proprie di tutti i gruppi, ovvero che non ci sia differenza a livello statistico tra i gruppi stessi. In caso contrario viene accettata l'ipotesi che almeno un gruppo abbia differenze significative rispetto al fenomeno che si vuole evidenziare tramite il test statistico. Il modello è scritto come

$$Y_{qj} = \mu + \alpha_q + \xi_{qj} \quad (4.23)$$

dove  $q$  è il numero dei gruppi (colonne della matrice di design),  $j$  il numero delle osservazioni (righe della matrice di design),  $\alpha_q$  è la differenza tra la media totale dei dati  $\mu$  e la media del singolo gruppo. Supponendo  $q = 3$ , la matrice di design  $X$  sarà composta da una colonna di 1, ovvero un regressore inteso come dummy variable, e tre colonne composte da 1 e 0. La matrice dei parametri è  $\beta^T = [\mu \ \alpha_1 \ \alpha_2 \ \alpha_3]$ . È possibile testare l'ipotesi nulla che consiste nel considerare ogni gruppo identico  $H : \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$  scrivendo un modello ridotto che divida la dummy variable dagli altri regressori.

#### 4.5.5 One way ANCOVA

Il modello ANCOVA è una particolare modello di ANOVA nel quale vengono aggiunti dei regressori per migliorare l'analisi. Può anche essere intesa come un modello che unisce ANOVA e regressione lineare. In SPM il modello viene scritto similmente all'ANOVA ma con l'aggiunta di uno o più regressori di tipo covariata (corrispondenti a colonne della matrice di design). Un approccio di tipo ANCOVA verrà discusso quando si tratterà l'argomento dell'attività cerebrale globale per le immagini PET.

## 4.6 Analisi delle immagini PET con il GLM

### 4.6.1 Il problema della varianza tra voxel

Adesso che il modello statistico utilizzato da SPM è stato presentato, diventa possibile discutere in maniera più approfondita della trattazione delle immagini PET da parte del programma. Il modello statistico utilizza un approccio voxel-based, il che significa che una varianza molto differente tra voxel del cervello potrebbe pregiudicarne l'analisi, in quanto pone un limite ai gradi di libertà utilizzabili. Le immagini PET cerebrali presentano spesso questo problema, dovuto principalmente al fatto che il cervello è composto

da materia grigia e materia bianca, due tipi di tessuti diversi che si attivano in maniera differente durante l'esame PET. È quindi facilmente comprensibile come all'interno di una immagine cerebrale si possano distinguere gruppi di voxel con varianza simile tra loro ma diversa da quella di un altro gruppo.

Il problema della varianza viene solitamente risolto tramite l'applicazione di un filtro di smoothness (tipicamente gaussiano): il filtro mette in correlazione voxel vicini, e di conseguenza abbassa la differenza tra la varianza dei voxel stessi. Di conseguenza le stime della varianza possono essere assunte valide per la maggior parte dei voxel. Applicando un test t a delle immagini con filtro smooth la stima della varianza è distribuita approssimativamente secondo una gaussiana: questa approssimazione è valida fintantoche non ci si avvicina alle code della distribuzione.

## 4.6.2 Normalizzazione globale

In neuroimaging è spesso necessario introdurre delle misure per differenziare l'attività cerebrale legata a piccoli gruppi di voxel (attività regionale) da quella globale di tutto il cervello. Ciò non è sempre banale, poichè è possibile dare tante definizioni di attività regionale o globale, e può accadere facilmente che una attività considerata in primis regionale sia invece dovuta ad un effetto globale. In SPM la definizione di attività globale è lasciata all'utente. la definizione di default è: l'attività globale è la media globale delle intensità relative ai tessuti cerebrali. In formula

$$g_j = \hat{Y}_j = \sum_{k=1}^K \frac{Y_j^k}{K} \quad (4.24)$$

dove  $g_j$  è l'attività globale per la scan  $j$ ,  $Y_j^k$  è l'intensità dell'immagine al voxel  $k = 1, \dots, K$ . Una volta definita l'attività globale, è necessario decidere come introdurla all'interno del modello statistico. SPM può farlo in due modi: scaling proporzionale e approccio ANCOVA.

## 4.6.3 Scaling proporzionale

Lo scaling proporzionale si pone come un aggiustamento dell'intensità delle scan utilizzando  $g_j$ . L'assunzione è che il processo di misura introduca un fattore di scala globale in ogni voxel dell'immagine. Questo approccio permette di convertire i dati raw entro un range tipico della fisiologia, rendendo i parametri più interpretabili a livello fisico e medico. Scegliendo un valore medio di  $50ml/min/100g$  (50 millilitri di sangue per 100 grammi di tessuto al minuto) il valore di scala diventa  $\frac{g_j}{50}$ . Il modello cambierà quindi in

$$Y_j^k = \frac{g_j}{50}(X\beta^k)_j + \hat{\xi}_j^k \quad (4.25)$$

con  $\hat{\xi}_j^k \sim N(0, \sigma_k^2 \times \text{diag}((g_j/50)^2))$ . L'operatore  $\text{diag}()$  trasforma un vettore in una matrice che ha come digonale principale il vettore. Il modello è una regressione pesata, e la matrice di covarianza assume l'aspetto di una funzione della attività globale.

#### 4.6.4 Approccio ANCOVA

Si parla di modello ANCOVA quando vengono inseriti dei regressori all'interno del modello nell'ipotesi di migliorare la statistica da effettuare. Il modello viene scritto come

$$Y_j^k = (X\beta)_j + \zeta^k(g_j - \bar{g}_{group}) + \xi_j^k \quad (4.26)$$

dove  $\zeta$  è la pendenza del vettore attività globale, formato dalla differenza tra l'attività calcolata per la scan e l'attività media del gruppo di cui fa parte. I dati sono assunti come risultato della somma di una attività regionale e una attività globale variabile tra le scan indipendenti tra loro.

## 4.7 Scelta dell'approccio per l'attività globale

Ora che sono stati presentati i modelli per l'inserimento dell'attività globale nel modello, si rende necessario capire quale di questi si adatti meglio alle immagini che si hanno a disposizione. In prima istanza bisogna capire come l'esame introduce il cosiddetto *gain factor*, cioè un fattore moltiplicativo proprio dell'apparecchio. Il *gain factor* può variare tra le scans o rimanere costante. Nel primo caso il *proportional scaling* è ritenuto più adatto, proprio per la capacità di riscaldare questo fattore. Solitamente questa assunzione è valida per scan fMRI. Nel secondo caso un approccio ANCOVA risulta più significativo, ed è solitamente adatto per scans PET dove la dose di radiofarmaco viene controllata durante il processo.

### 4.7.1 Grand mean scaling

Il *grand mean scaling* è la semplice moltiplicazione di ogni scan per un fattore costante, per fare in modo che la stima dell'attività globale sia quella decisa dall'utente. Non ha rilevanza a livello statistico, poiché il fattore può essere cancellato sia nella statistica F sia in quella t. Inoltre il *grand mean scaling* risulta ridondante se viene deciso di applicare l'approccio di scaling proporzionale.

## 4.8 L'assunzione di sfericità

I modelli lineari standard assumono errori indipendenti e identicamente distribuiti[20]. Questa è la base dell'assunzione di sfericità. I dati utilizzati in neuroimaging

funzionale spesso non rispettano questo requisito, e procedere in un'analisi statistica ignorando questo fatto porta a problemi di specificità a sensibilità: la statistica potrebbe deviare dalla distribuzione che regola la provenienza dei dati, e avere in generale meno capacità di determinare la presenza o meno di un effetto all'interno dei dati. Tra i modelli che presentano questo problema vi sono i test statistici *two-sample way* che presentano varianza diversa, e le misure ANOVA ripetute, che risultano utili per capire meglio cosa si intenda con sfericità. Supponiamo di avere un modello ANOVA composto da 4 condizioni e dodici soggetti. È possibile costruire dei grafici che evidenzino la risposta dei soggetti a una condizione 1 in relazione ad una condizione 2. Se l'assunzione di sfericità è rispettata, i contorni di probabilità avranno una forma sferica.

Un metodo per misurare un indice di sfericità è creare la matrice di covarianza, ovvero una matrice che comprende la varianza di ogni condizione e tutte le covarianze tra le condizioni. Chiamando  $\Phi_{a,a'}$  le entrate di questa matrice di dimensione  $A \times A$  con  $a$  e  $a'$  che rappresentano le condizioni. L'indice può essere calcolato scrivendo

$$\epsilon = \frac{\left( \sum_a \Phi_{a,a} \right)^2}{(A-1) \sum_{a,a'} \Phi_{a,a}^2}. \quad (4.27)$$

Questo indice influenza direttamente il numero di gradi di libertà usati in fase di test  $\nu$  secondo la formula  $\nu = \epsilon(A-1)(S-1)$  dove  $S$  è il numero delle condizioni. Questo suggerisce che sia possibile modificare la matrice di covarianza per effettuare una correzione dei gradi di libertà del sistema e risolvere il problema dovuto alla non sfericità: questo approccio viene chiamato correzione di Greenhouse-Geisser[21].

Si definiscano  $t_{a,a'}$  stima della covarianza tra le condizioni,  $\bar{t}_a$  la media della covarianza sulla condizione  $a$  e  $\bar{T}$  la media totale della matrice. Attraverso una procedura di double centering vengono scritte le entrate della nuova matrice

$$s_{a,a'} = (t_{a,a'} - \bar{T}) - (\bar{t}_a - \bar{T}) - (\bar{t}_{a'} - \bar{T}) = t_{a,a'} - \bar{t}_a - \bar{t}_{a'} + \bar{T}. \quad (4.28)$$

La stima del nuovo indice di sfericità viene quindi calcolata

$$\hat{\epsilon} = \frac{\left( \sum_a s_{a,a} \right)^2}{(A-1) \sum_{a,a'} s_{a,a}^2} \quad (4.29)$$

e utilizzata per correggere il numero di gradi di libertà

$$\nu_1 = \hat{\epsilon}(A-1)(S-1). \quad (4.30)$$

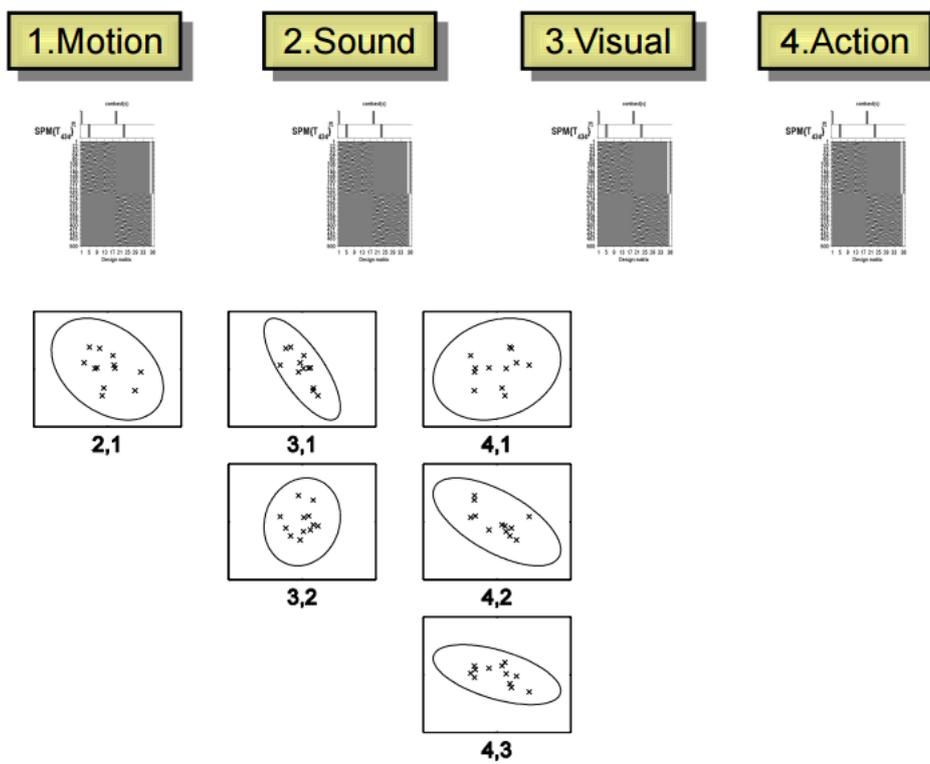


Figura 4.2: Schema della sfericità: le 4 condizioni con i contorni vengono messe in correlazione. Si notino le forme ellittiche delle distribuzioni di probabilità

# Capitolo 5

## Random Field Theory

### 5.1 Definizioni preliminari

Nei capitoli precedenti sono state illustrate le metodologie che permettono a SPM di generare un valore statistico dai voxel delle immagini PET attraverso i test F e t. È facile intuire che spesso si ha a che fare con una grande mole (l'ordine è delle migliaia) di valori statistici, e diventa necessario decidere se questo volume mostra evidenza dell'effetto cercato durante l'analisi. Questa difficoltà viene chiamata problema della comparazione multipla (multiple comparison) in imaging funzionale[22]. In questo capitolo si identificherà con precisione il problema e si introdurrà un metodo di risoluzione chiamato Random Field Theory. Per fare questo è necessario introdurre alcune definizioni preliminari:

1. Z score: chiamato anche standard score, descrive l'allontanamento dalla media in termini di deviazione standard. In formula  $z = \frac{x-\mu}{\sigma}$  con  $\mu$  media della popolazione e  $\sigma$  deviazione standard.
2. p-value: nel contesto dell'ipotesi nulla, il p-value indica la probabilità di ottenere un risultato uguale o più estremo di quello osservato. Data una soglia significativa  $\alpha$ , un p-value minore o uguale ad  $\alpha$  permette il rigetto dell'ipotesi nulla, mentre per un valore maggiore non è possibile fare affermazioni statistiche.

### 5.2 Il problema dell'ipotesi nulla

Quando viene effettuato un test statistico è necessario definire le condizioni del test, ovvero determinare quali risultati indicano la presenza dell'effetto desiderato e quali invece non portano a nessuna evidenza. Il test viene quindi effettuato solitamente contro la cosiddetta ipotesi nulla, ovvero l'ipotesi che non vi sia evidenza dell'effetto. Per fare

ciò il risultato del test viene comparato a alla distribuzione nulla, che è la distribuzione che ci si aspetta quando l'ipotesi nulla è soddisfatta. La decisione di rigettare o meno l'ipotesi nulla viene fatta all'interno di un valore di confidenza: ad esempio si consideri un valore statistico  $T$  che proviene con probabilità del 5% da una distribuzione nulla. L'affermazione precedente equivale a dire che rigettando l'ipotesi nulla si incorrerà in una probabilità del 5% di commettere il cosiddetto errore di tipo 1, ovvero il rigettare l'ipotesi nulla quando invece andrebbe accolta.

Quando si applicano queste definizioni al neuroimaging la situazione appare più complicata. Vi è infatti una grandissima quantità di dati che sono il risultato dell'applicazione del test ai voxel delle immagini: l'interpretazione di questi dati non è semplice in quanto non si conosce a priori in quale zona del cervello si verificherà l'effetto desiderato (sempre che si verifichi), e dunque si è costretti a considerare l'intero volume statistico. Si rende necessario quindi trovare il cosiddetto FWE rate (*family-wise error*) che esprime la probabilità che questa famiglia di voxel sia correlata ad un effetto. Un metodo è quello di stabilire una soglia: i valori statistici al di sopra di quella soglia vengono considerati come portatori di un effetto.

La scelta della soglia deve tenere conto del numero di test effettuati. Si ponga per esempio che un test statistico abbia l'1% per di probabilità di superare un valore  $x$ . Se il numero di test non è più uno ma mille, ci si aspetta di trovare 10 valori di test che superano  $x$ . Questo non è molto utile per stabilire o meno se rigettare o accogliere l'ipotesi nulla per la totalità dei test. Quello che serve è trovare una soglia tale che, nel caso citato, su un campione di 1000 test ci sia l'1% di probabilità che vi siano uno o più valori di test che superano quella soglia.

## 5.3 La correzione di Bonferroni

La correzione di Bonferroni è uno dei metodi per trovare la soglia sopracitata. Si definisca  $\alpha$  la soglia per un singolo valore di probabilità testato (in questo caso un voxel). Se tutti i valori di test provengono da una distribuzione nulla, allora ognuno di questi  $n$  valori ha una probabilità  $\alpha$  di superare la soglia. Di contro, la probabilità che tutti questi valori siano minori della soglia è  $(1 - \alpha)^n$ . Dalla definizione di FWE si può calcolare la probabilità:

$$P^{FWE} = 1 - (1 - \alpha)^n \quad (5.1)$$

che può essere approssimato in

$$P^{FWE} \leq n\alpha. \quad (5.2)$$

È quindi possibile calcolare la soglia cercata  $\alpha = P^{FWE}/n$ . Su un campione di 100000 test  $t$  con FWE 0.05 la correzioni di Bonferroni stabilisce una soglia di proba-

bilità di  $\alpha = 0.05/100000 = 5 \times 10^{-8}$ , che corrisponde a una statistica di 5.77. Se vi è almeno un voxel al di sopra della statistica è possibile affermare che si ha il 5% di probabilità che un valore del genere emerga da un volume di 100000 test derivanti dalla distribuzione nulla. In termini di p-value, la correzione ne introduce uno nuovo detto p-value corretto: il p-value corretto nel caso preso in considerazione è 0.05

La correzione di Bonferroni è utilizzata nell'ambito dell'imaging funzionale, ma ha il difetto di essere molto conservativa. Questo accade perchè la correzione di Bonferroni presuppone che i test singoli che formano il volume statistico risultino indipendenti tra loro[22]. Nelle immagini funzionali, e specialmente in quelle PET che per loro natura devono ricostruire l'immagine utilizzando anche i voxel vicini, è sempre possibile ritrovare un certo grado di correlazione spaziale. Inoltre il processo di *smoothing* sulla mappa, come ad esempio il filtraggio Gaussiano determinato da una FWHM (*Full Width at Half Maximum*, larghezza a metà altezza della campana Gaussiana), introduce una ulteriore correlazione spaziale che impedisce sempre di più di distinguere quali valori sono indipendenti da quelli nelle vicinanze.

## 5.4 Random Field Theory

La *Random Field Theory* (RFT) è una teoria matematica che aiuta a determinare varie soglie nell'ambito dell'imaging funzionale. Risulta quindi utile anche per determinare la soglia di una mappa statistica *smoothed*, data una  $P^{FWE}$ [22]. RFT utilizza la caratteristica di Eulero (EC), una proprietà dell'immagine quando le viene applicata una soglia, per stimare appunto quale sia l'altezza di questa soglia. La RFT procede per step:

1. Stima della correlazione spaziale tra voxel della mappa statistica.
2. Inserimento della stima nell'appropriata equazione RFT per determinare la EC per soglie differenti.
3. Calcolo della soglia entro la quale ci si aspetta che il 5% della mappa superi la soglia (ipotesi nulla: almeno un' area sopra la soglia).

La stima della correlazione spaziale è profondamente legata alla smoothness di un'immagine, ed è quindi possibile utilizzare quest'ultima per il calcolo della soglia. Diventa quindi semplice identificare lo smoothing con il filtro utilizzato. In particolare si utilizza il FWHM per calcolare i *resels*, definiti come blocchi di valori statistici della stessa dimensione del FWHM. Il *resel* è una misura degli elementi che definiscono la risoluzione di una mappa statistica.

### 5.4.1 Caratteristica di Eulero

Una definizione possibile, anche se inaccurata, dipinge la caratteristica di Eulero come il numero di blob composti da  $Z$  score presenti nella mappa che stanno al di sopra di una certa soglia. Con il termine blob si intendono dei che superano la soglia indicata. Per la definizione data un blob può anche essere composto da un solo voxel, mentre per definire un'area che presenta più valori vicini oltre soglia è più opportuno usare il termine cluster. Per la trattazione questa definizione è sufficiente, poichè crea problemi solo per soglie molto più basse di quelle che vengono utilizzate in neuroimaging funzionale. Ad alte soglie il valore di aspettazione di EC, scritto  $E[EC]$ , corrisponde approssimativamente alla probabilità di trovare un blob oltre soglia nell'immagine statistica. Di conseguenza  $P^{FWE} \approx E[EC]$ .

Si può dimostrare che conoscendo il numero di *resels* è possibile calcolare  $E[EC]$  a una data soglia. Si può scrivere

$$E[EC] = R(4\log_e 2)(2\pi)^{-\frac{3}{2}} Z_t e^{-\frac{1}{2}Z_t^2} \quad (5.3)$$

dove  $R$  è il numero di resels e  $Z_t$  la soglia  $Z$ -score. In definitiva si può affermare che per un numero  $R$  di resels e una soglia  $Z$ , la probabilità di ottenere uno o più blob oltre  $Z$  è  $E[EC]$ . È possibile quindi scegliere una soglia per cui il valore di  $E[EC]$  sia un numero di riferimento, come 0.05. Chiamando questo valore  $x$ , è possibile concludere che un blob che rimane nella mappa statistica ha il 5% di probabilità di non rappresentare un effetto.

### 5.4.2 Condizioni sui dati e validità del metodo

Si è visto che la caratteristica di Eulero dipende solo dal numero di *resels* contenuti nel volume statistico di voxel da analizzare. Questa affermazione non è sempre vera, ma dipende dalla grandezza del volume statistico in relazione alla grandezza del voxel. In particolare, se il volume dei resels è molto maggiore del volume dei voxel allora  $E[EC]$  dipenderà unicamente dal numero dei resels contenuti. In caso contrario si renderà necessario considerare una regione all'interno della mappa, e il valore di aspettazione della caratteristica di Eulero dipenderà da numero di resels, volume della mappa, area superficiale e grandezza della regione di riferimento.

Ora che è stato descritto il modo con cui è possibile trovare la soglia cercata tramite la RFT, è necessario parlare delle assunzioni che vanno rispettate per poter attuare l'analisi. La prima riguarda l'approssimazione di reticolo per gli errori verso un random field con una distribuzione Gaussiana multivariata. La seconda è che questi errori siano continui, e vi sia una funzione di autocorrelazione differenziabile almeno due volte. Se i dati sono sufficientemente smooth e il GLM è stato applicato correttamente (l'errore proveniente da una Gaussiana a media 0 e varianza  $\sigma^2$ ) allora la RFT è sempre applicabile.

Finora è stato descritto il cosiddetto approccio *voxel-level*, che misura la probabilità di presenza di voxel che fanno parte di un insieme (cluster) che supera la soglia calcolata. Esistono altri due tipi di approcci che hanno bisogno di una soglia in altezza (valore del voxel) ma anche di una di larghezza (intesa come numero di voxel) per essere valutati. I valori di p-value corretti possono quindi essere valutati come il numero di cluster che superano la soglia di altezza (set-level inference), come il numero di voxel presenti che superano la soglia di altezza ma solo se il loro numero supera la soglia di larghezza (cluster-level inference), e come i p-value corretti di cui si è parlato precedentemente (*voxel-level inference*). Tipicamente è quest'ultimo p-value quello che viene preso in considerazione poichè in imaging funzionale è preferibile una descrizione anatomica precisa.

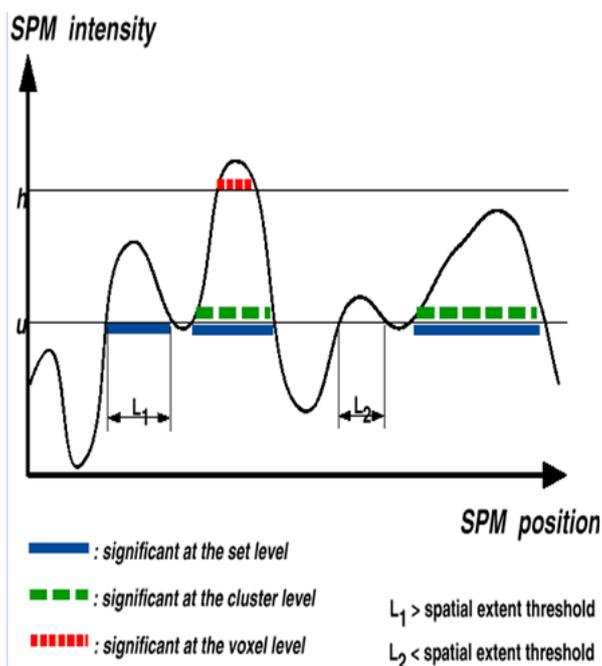


Figura 5.1: I 3 metodi per la valutazione dei dati di intensità SPM

## 5.5 Stima della FWHM

La stima della FWHM può rappresentare un ostacolo non banale, soprattutto per la differenza di smoothing che può registrarsi all'interno del cervello tra le diverse componenti della materia cerebrale. In generale una variazione troppo accentuata del campo di smoothing rende difficile la stima stima.

Un metodo utilizzabile per il calcolo della FWHM separatamente per ogni voxel è il

seguito: si considerino il vettore  $r$ , l' $n$ -esimo vettore dei residui derivanti dal modello lineare, e  $u = \frac{r}{(r'r)^{\frac{1}{2}}}$ . Definendo infine  $\hat{u}$  come la derivata nelle tre direzioni ortogonali del reticolo di voxel, è possibile scrivere la stima di FWHM

$$FWHM = (4\log 2)^{\frac{1}{2}} |\hat{u}'\hat{u}|^{\frac{1}{2D}} \quad (5.4)$$

con  $D$  numero delle dimensioni. Il numero di *resels* viene calcolato come

$$Resels_D = \sum_{volume} FWHM^{-D} v \quad (5.5)$$

dove  $v$  è il volume di un singolo voxel e la somma viene fatta su tutti i voxel della regione di riferimento.

## Capitolo 6

# Registrazione multimodalità con SPM

Attraverso SPM è possibile utilizzare i dati delle immagini cerebrali per determinare statisticamente la presenza o meno di patologie cerebrali quali l'AD. Le immagini utilizzate sono tuttavia di carattere funzionale e necessitano, per una migliore comprensione, dell'ausilio di immagini cerebrali di tipo anatomico, solitamente ottenute tramite TC o MRI. L'intento della cosiddetta registrazione multimodalità è la sovrapposizione della geometria tra immagini provenienti da modalità di acquisizione diverse. La coregistrazione tra immagini funzionali e anatomiche non è obbligatoria, ma presenta notevoli vantaggi in termini di visualizzazione e interpretazione dei dati, aiutando l'elaborazione del percorso medico più adeguato. Il metodo qui presentato per la registrazione è basato sulla teoria dell'informazione ed è chiamato *Maximization of Mutual Information* (MMI), e può essere usato anche per la registrazione di immagini ottenute con stessa modalità. Si tratta di un metodo voxel-based ed è quindi integrato all'interno del software SPM.

### 6.1 Mutual information

Si considerino due variabili aleatorie discrete A e B[23]. Si definisce distribuzione di probabilità congiunta  $p_{AB}(a, b)$  che determina la probabilità che ogni coppia (A,B) cada in un set discreto di valori specificati per quella variabile. Si definiscano ora le distribuzioni di probabilità marginale  $p_A(a)$  e  $p_B(b)$  come distribuzioni di probabilità legate al rispettivo sottinsieme. Quando A e B risultano statisticamente indipendenti allora  $p_{AB}(a, b) = p_A(a) \cdot p_B(b)$ , mentre sono massimamente dipendenti quando esiste una trasformazione T tale che  $p_A(a) = p_B(T(a)) = p_{AB}(a, T(a))$ . La *mutual information* misura la dipendenza tra A e B come la distanza tra  $p_{AB}(a, b)$  e la distribuzione associata al caso indipendente  $p_A(a) \cdot p_B(b)$

$$I(A, B) = \sum_{a,b} p_{AB}(a, b) \log \frac{p_{AB}(a, b)}{p_A(a) \cdot p_B(b)}. \quad (6.1)$$

Questa quantità è legata alla definizione di entropia dalla seguente equazione:

$$I(A, B) = H(A) + H(B) - H(A, B) = H(A) - H(A|B) = H(B) - H(B|A) \quad (6.2)$$

dove  $H(A)$  e  $H(B)$  sono le entropie di A e B rispettivamente,  $H(A, B)$  è l'entropia congiunta,  $H(A|B)$  è l'entropia condizionata di A dato B,  $H(B|A)$  è l'entropia condizionata di B dato A. In termini di probabilità si scrivono

$$H(A) = - \sum_a p_A(a) \log p_A(a) \quad (6.3)$$

$$H(A|B) = - \sum_{a,b} p_{A,B}(a, b) \log p_{A|B=b}(a) \quad (6.4)$$

$$H(A, B) = - \sum_{a,b} p_{A,B}(a, b) \log p_{A,B}(a, b) \quad (6.5)$$

con  $p_{A|B=b}(a)$  la probabilità condizionata di A dato B=b. L'entropia  $H(A)$  è una misura dell'incertezza sulla variabile A, mentre  $H(A|B)$  misura la quantità di incertezza rimasta in A quando si conosce il valore di B. Si può quindi affermare che  $I(A, B)$  evidenzia la riduzione di incertezza in A quando si conosce B o, alternativamente, che sia una misura dell'informazione che B contiene su A. È possibile, data la definizione, affermare che  $I(A, B) \geq 0$  sempre, ed è zero quando A e B sono statisticamente indipendenti tra loro.

## 6.2 La registrazione multimodalità tramite mutual information: vantaggi e criticità

Dopo aver illustrato le basi teoriche della *mutual information*, si rende necessario capire in che modo è possibile adattare il metodo al caso di immagini cerebrali. Si supponga esistano due immagini  $M_1$  e  $M_2$  e una trasformazione  $T_\alpha$  con parametri  $\alpha$  tale che un voxel  $v$  appartenente a  $M_1$  di intensità  $m_1$  corrisponde fisicamente al voxel  $T_\alpha(v)$  appartenente a  $M_2$  e di intensità  $m_2$ [24]. Il calcolo dell'informazione viene quindi effettuato

$$m_1 = M_1(v) \quad (6.6)$$

$$m_2 = M_2(v) \quad (6.7)$$

$$I(M_1, M_2) = \sum_{m_1, m_2} p_{M_1, M_2}(m_1, m_2) \log \frac{p_{M_1, M_2}(m_1, m_2)}{p_{M_1}(m_1) \cdot p_{M_2}(m_2)} \quad (6.8)$$

con le distribuzioni congiunta e marginali che vengono ricavate dalla normalizzazione degli istogrammi congiunto e marginali, che a loro volta si costruiscono dalle immagini sovrapposte.

L'idea alla base dell'intero approccio è che il miglior allineamento tra le immagini si verifichi quando  $T_\alpha(v) = T_{\alpha^*}(v)$ , con  $\alpha^*$  set di parametri tali che  $I(M_1, M_2)$  sia massimo. In base alla dipendenza da  $\alpha$  delle distribuzioni marginali  $p_{M_1}(m_1)$  e  $p_{M_2}(m_2)$  si possono individuare tre situazioni:

1. Per distribuzioni marginali entrambe indipendenti il criterio si riduce alla minimizzazione dell'entropia congiunta  $H_{M_1, M_2}(M_1, M_2)$ .
2. Per distribuzioni marginali con una delle distribuzioni indipendente il criterio diventa la minimizzazione dell'entropia condizionata,  $H(M_1|M_2)$  o alternativamente  $H(M_2|M_1)$ .
3. Per distribuzioni marginali non indipendenti da  $\alpha$  il calcolo dell'informazione non si riduce, le due immagini sono spazialmente correlate e  $I(M_1, M_2)$  varia in base ad  $|\alpha - \alpha^*|$  detto grado di deregistrazione.

Il vantaggio di utilizzare la MI per la coregistrazione è dovuto al fatto che l'algoritmo non si basa sulla misura diretta dell'intensità dei voxel, ma su una misura spaziale relativa effettuata tra ciascuna delle immagini separatamente e la combinazione di entrambe le immagini. Questo rende il metodo molto resistente alle trasformazioni di intensità che mantengono una corrispondenza biunivoca tra voxel.

Vi sono situazioni in cui l'approccio MI non è adatto alla registrazione, ad esempio quando le immagini contengono informazioni molto diverse o quando l'area di sovrapposizione tra le stesse è molto lontana dalla soluzione cercata. Ciò è dovuto principalmente alla struttura dell'algoritmo: la necessità di individuare il massimo dell'informazione viene resa complicata dalla presenza nella funzione di minimi e massimi relativi non corretti nei quali l'algoritmo di ricerca del massimo può bloccarsi. È il caso ad esempio della scansione toracica PET. L'immagine presenta blur dovuto alla respirazione, inoltre mostra picchi di attività funzionale all'interno di un background omogeneo: l'allineamento corretto tra questa immagine e una scansione CT può quindi non corrispondere con un massimo globale o relativo della MI. L'algoritmo MMI rimane efficace per l'acquisizione di parti del corpo nelle quali viene accettata l'assunzione di corpo rigido; tra queste vi sono appunto le immagini cerebrali.

## 6.3 Algoritmo

Si definiscano nuovamente le due immagini da coregistrare, rinominandole in immagine flottante  $F$  e immagine di riferimento  $R$ . I voxel dell'immagine  $F$  sono trasformati dalla trasformazione  $T_\alpha$  per corrispondere geometricamente a quelli di  $R$ . Le intensità sono rispettivamente scritte come  $f(s)$  e  $r(T_\alpha(s))$ . Il primo step coincide con la creazione dell'istogramma congiunto  $h_\alpha(f, r)$  prendendo le coppie  $f(s), r(T_\alpha(s))$  dalle due immagini. Per ottenere in modo efficiente l'istogramma l'intensità delle immagini viene solitamente riscalata al range  $[0, S_F]$  e  $[0, S_R]$  con  $S_F = S_R = 256$ .

Dato che l'algoritmo non richiede nessuna fase di preprocessing o segmentazione delle immagini, la trasformazione  $T_\alpha(s)$  in generale può non corrispondere ad un punto sulla griglia di  $R$ . In questo caso viene quindi utilizzato un metodo di interpolazione. L'interpolazione ai primi vicini non è sufficientemente accurata, mentre l'interpolazione trilineare può introdurre nuovi valori di intensità che influenzeranno la distribuzione marginale  $p_{R,\alpha}(r)$  della immagine di riferimento per piccole variazioni di  $\alpha$ . Viene quindi introdotto un metodo chiamato interpolazione trilineare con distribuzione di volume parziale (PV). In questo metodo il contributo di  $f(s)$  viene redistribuito sui valori di intensità dei primi otto vicini di  $T_\alpha(s)$  appartenenti a  $R$  utilizzando gli stessi pesi della interpolazione trilineare. L'uso del PV limita la variazione della distribuzione marginale al variare di  $\alpha$ . Si può adesso procedere al calcolo delle distribuzioni di probabilità  $p_{R,\alpha}(r)$ ,  $p_{F,\alpha}(f)$  e  $p_{RF,\alpha}(f, r)$

$$p_{RF,\alpha}(f, r) = \frac{h_\alpha(f, r)}{\sum_{f,r} h_\alpha(f, r)} \quad (6.9)$$

$$p_{F,\alpha}(f) = \sum_r p_{RF,\alpha}(f, r) \quad (6.10)$$

$$p_{R,\alpha}(r) = \sum_f p_{RF,\alpha}(f, r) \quad (6.11)$$

da cui si ricava l'informazione

$$I(\alpha) = \sum_{f,r} p_{RF,\alpha}(f, r) \log_2 \frac{p_{RF,\alpha}(f, r)}{p_{F,\alpha}(f)p_{R,\alpha}(r)}. \quad (6.12)$$

A questo punto resta da trovare il massimo di questa funzione, da cui verranno ricavati i migliori parametri di trasformazione  $\alpha^*$ : tra gli algoritmi possibili per la ricerca dei massimi viene quello maggiormente utilizzato in ambito di imaging funzionale cerebrale è il metodo di Powell, che non necessita del calcolo delle derivate.

## 6.4 Uso in Neuroimaging

L'algoritmo MMI applicato al neuroimaging si è rivelato uno strumento potente in termini di precisione e robustezza: è possibile utilizzarlo in MR a basse ed alte risoluzioni e con multiple orientazioni, inoltre è indicato anche per immagini CT convenzionali e a spirale, SPECT e PET. In SPM l'algoritmo può essere utilizzato per coregistrare immagini MR ottenute con protocolli diversi (pesate in T1 e T2 per esempio) ad uno stesso template senza dover modificare l'algoritmo.

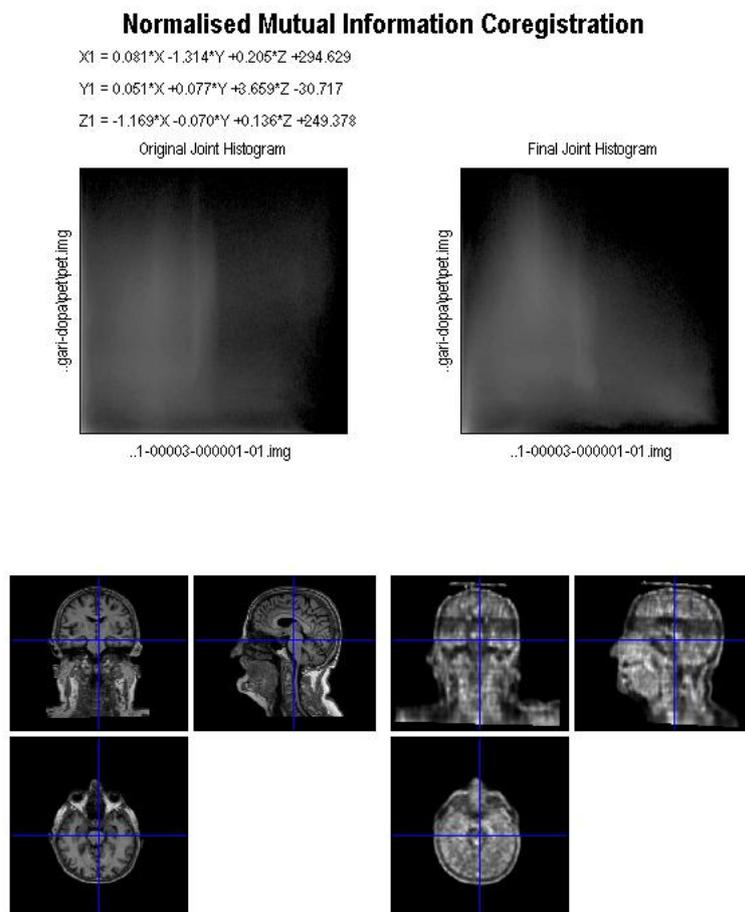


Figura 6.1: Fusione tra due immagini cerebrali dello stesso paziente, una ottenuta tramite MR e una ottenuta tramite PET

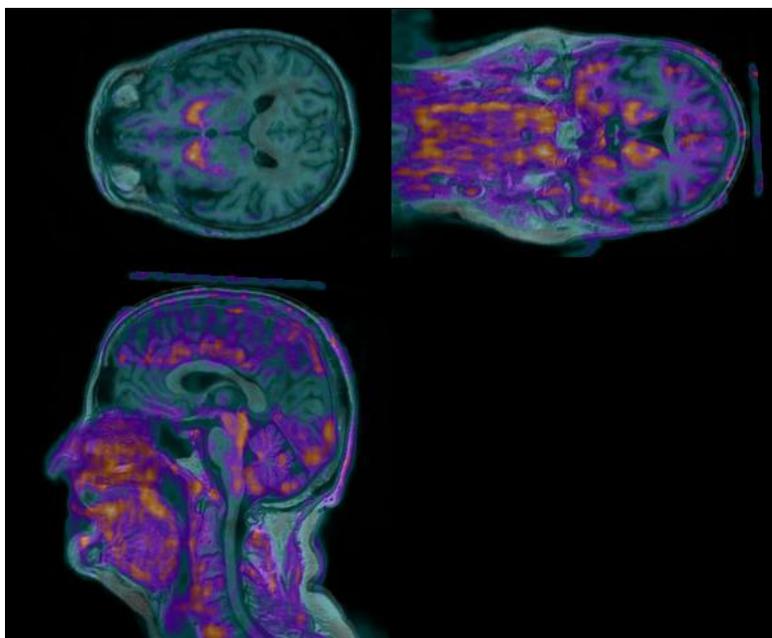


Figura 6.2: Esempio di sezione della fusione tra le immagini con l'utilizzo di falsi colori

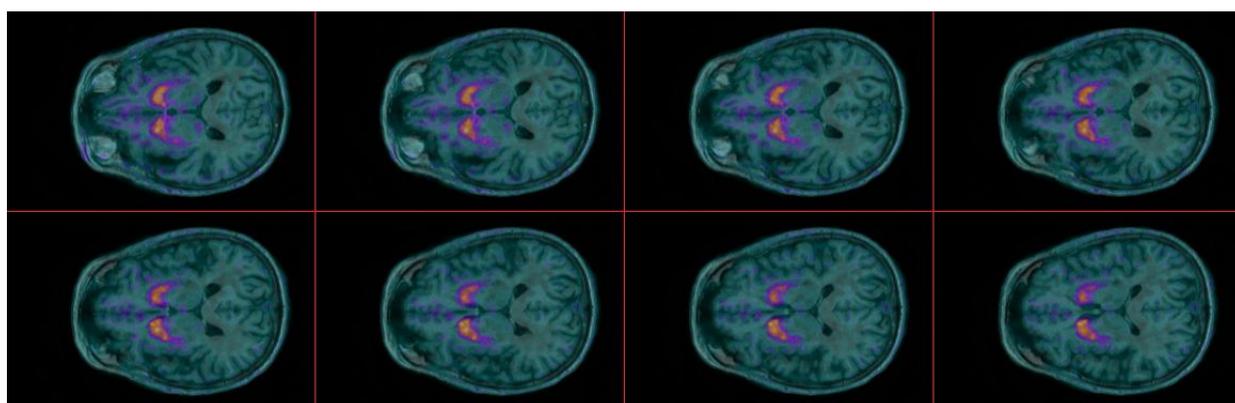


Figura 6.3: Esempio di slices della fusione tra le immagini con l'utilizzo di falsi colori

# Capitolo 7

## Cortex ID

### 7.1 Introduzione al software

CortexID Suite è un'applicazione di post-elaborazione di immagini PET per GE Advantage Workstation e GE AW Server. Le immagini acquisite tramite esame PET per i traccianti [ $^{18}F$ ]-FDG e [ $C - 11$ ]-PiB vengono normalizzate e analizzate attraverso una procedura che coinvolge anche la multimodalità. Il software incorpora la scansione RM del paziente per consentire la visualizzazione delle informazioni funzionali (dati PET) registrate con le informazioni strutturali (RM) attraverso l'algoritmo di *mutual information*. CortexID Suite divide la corteccia cerebrale in zone di riferimento e fornisce una valutazione statistica delle differenze tra gruppi di normali e il paziente oggetto dell'analisi. La valutazione statistica voxel-based viene effettuata e presentata attraverso la proiezione di superficie stereotassica 3D (3D SSP), con valutazione dello Z-score. I dati statistici ricavati da queste immagini vengono anche utilizzati per la creazione di un modello 3D. È prevista la normalizzazione anatomica per i set di dati PET e RM al fine di tenere conto di variazioni strutturali.

### 7.2 Standardized Uptake Value basato sul radiofarmaco

Lo *Standardized Uptake Value* (SUV) è una misura della quantità di radiofarmaco che si accumula nei tessuti. Gli scanner PET sono progettati per misurare la quantità di radioattività  $r$  in vivo [ $\frac{kBq}{ml}$ ][25]. È necessario anche tenere conto della quantità di radiofarmaco iniettato e delle differenze di taglia tra paziente e paziente. Il SUV viene quindi calcolato come

$$SUV = \frac{r}{ID/WB} \quad (7.1)$$

dove  $ID$  [ $kBq$ ] è la quantità di radiofarmaco iniettato corretta in relazione al decadimento, mentre  $WB$  [ $g$ ] è il peso corporeo del paziente che funge da surrogato per una distribuzione di tracciante. Il SUV è un valore adimensionato nell'assunzione che  $1ml$  di tessuto pesi  $1mg$ . Traccianti come il FDG hanno minore diffusione nel grasso corporeo: in casi dove la misura coinvolge la massa grassa, è preferibile utilizzare la massa snella al posto del peso per il calcolo del SUV.

### 7.3 Analisi basata su SSP Z-score

Un metodo per determinare la presenza o meno dell'AD in immagini PET cerebrali è ricorrere a un valore di riferimento chiamato Z-score. In statistica lo Z-score viene utilizzato per conoscere l'allontanamento dal valore medio (in termini di deviazioni standard) di una distribuzione nota da cui si suppone provengano i dati, che in questo caso sono i voxel delle immagini cerebrali. L'approccio SSP elabora questo concetto rendendolo utilizzabile per il confronto tra una popolazione di normali (che fungono da controllo) e un'immagine cerebrale nella quale si vuole valutare la presenza o meno della patologia. Il confronto viene effettuato suddividendo il volume cerebrale in aree specifiche, che si suppone vengano affette dalla malattia secondo gradi diversi. Il metodo ha bisogno di una buona confrontabilità tra i voxel delle immagini, rendendo quindi necessario un processo di allineamento allo stesso spazio stereotattico. Gli step fondamentali di questo approccio sono:

1. Processo di misurazione della quantità di radiofarmaco nei tessuti cerebrali (*Uptake Ratio SSP*).
2. Processo di normalizzazione allo spazio stereotattico MNI e creazione di un modello di superficie per l'analisi.
3. Confronto tra gruppi di normali e il paziente, calcolo dello Z-score.
4. Interpretazione dello Z-score in relazione a un valore di soglia e visualizzazione in tre dimensioni del risultato.

### 7.4 Creazione delle immagini 3D-SSP

L'intensità presente nei voxel delle immagini PET rappresenta il SUV associato a quel voxel. La procedura di creazione di un'immagine SSP avviene secondo passaggi ben

definiti, che partono da un modello cerebrale realizzato attraverso la coregistrazione di set di immagini diverse. Il modello è un'immagine 3D binaria che rappresenta la superficie cerebrale, completa di scissure e circonvoluzioni[25]. L'elaborazione di un modello avviene tramite l'utilizzo di due set di immagini appartenenti a un soggetto sano che non presenta nessuna anormalità cerebrale. Il primo set di immagini è composto da scansioni PET ottenute utilizzando il radiofarmaco che poi verrà usato in ambito diagnostico (in questo caso FDG o PiB) mentre l'altro set è composto da scansioni MRI pesate in T1. Il set di immagini PET subisce un processo di normalizzazione per l'allineamento allo spazio stereotattico desiderato (come esempio si consideri lo spazio MNI). I parametri della normalizzazione vengono successivamente applicati anche al set di immagini MRI, che sarà l'unico set utilizzato nei passaggi successivi.

Tramite l'utilizzo di filtri e operazioni manuali dal set vengono azzerate le intensità di tutti i voxel che non appartengono a materia bianca, materia grigia e fluido cerebrospinale. Successivamente viene rimosso l'emisfero destro del cervello, che viene sostituito dalla proiezione dell'emisfero sinistro formando un modello simmetrico. Il passo successivo consiste nel formare un'immagine binaria assegnando il valore 1 ai voxel che superano la soglia di intensità del fluido cerebrospinale, e 0 ai restanti. Si viene a formare così un modello cerebrale che mappa tutta la superficie tissutale, sia esterna sia interna. L'ultimo passaggio consiste nel creare, per ogni voxel di superficie, il vettore perpendicolare alla superficie cerebrale. Per fare questo viene calcolato il centro di massa di una sfera che ha il suo centro geometrico nel voxel di superficie e raggio di  $n < 10$  voxel: la congiungente questi due punti è il vettore cercato. Il modello di riferimento è completo, ed è ora possibile procedere con la creazione delle immagini SSP vere e proprie.

L'immagine PET di un paziente con presunta patologia deve essere adattata al modello appena creato, in altre parole è necessario capire quale valore di intensità va assegnato al voxel superficiale del modello. Appare ovvio che dovrà essere un valore di intensità appartenente all'immagine del paziente: l'algoritmo individua i voxel che corrispondono a quelli del modello e per ognuno di essi ricerca, all'interno dell'immagine del paziente, il voxel con la maggiore intensità lungo la direzione del vettore perpendicolare costruito nel modello. La profondità di ricerca è solitamente di circa una decina di millimetri. L'intensità trovata viene assegnata al voxel superficiale del modello. L'ultimo passaggio consiste nell'identificazione delle regioni cerebrali: è possibile utilizzare operare una suddivisione manuale delle aree di interesse o utilizzare quelle di default.

## 7.5 Normalizzazione alla regione di riferimento e calcolo dello Z-score

I valori di intensità vengono normalizzati utilizzando le zone cerebrali meno affette dalla malattia. La scelta è inoltre influenzata dal tipo di radiofarmaco in uso: Cortex ID

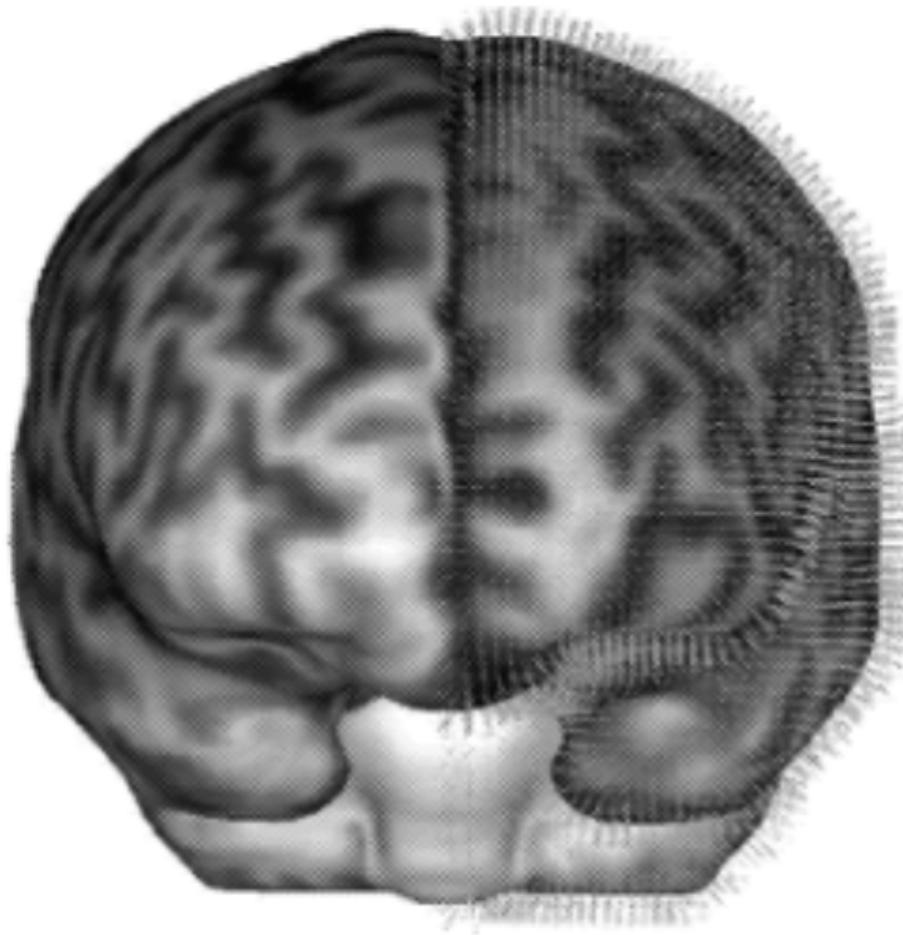


Figura 7.1: Modello binario del tessuto cerebrale con presenza di vettori perpendicolari alla superficie nell'emisfero destro

distingue le regioni di riferimento in ponte, corteccia cerebellare e regione pancerebellare per il radiofarmaco  $[^{18}F]$ -PiB, mentre per il  $[^{18}F]$ -FDG vengono utilizzate il ponte, la regione pancerebellare e la totalità dei dati cerebrali. Il processo di normalizzazione regionale viene scritto come

$$SUV_n = \frac{SUV}{SUV_{region}} \quad (7.2)$$

con  $SUV_{region}$  media dell'intensità sui voxel di superficie di quella regione. Cortex ID dispone di database di mappe di pazienti normali con i quali il modello può essere confrontato tramite il calcolo dello Z-score. Voxel di superficie nella stessa posizione all'interno dello spazio stereotassico vengono confrontati scrivendo

$$Z = \frac{(SSP_p - S\bar{S}P_n)}{DVS_n} \quad (7.3)$$

con  $SSP_p$  valore di SUV del paziente,  $S\bar{S}P_n$  valore di SUV medio tra i controlli,  $DVS_n$  deviazione standard del gruppo dei controlli.

Utilizzando il radiofarmaco FDG valori di Z-score negativi, se presenti, vengono rilevati in tutte le regioni dove è presente ipometabolismo, ovvero dove il flusso sanguigno nei tessuti è ridotto. Utilizzando invece il PiB, Z-score positivi identificano regioni di accumulo del radiofarmaco e di conseguenza la presenza di placche amiloidi.

# Capitolo 8

## Test effettuati, risultati e conclusioni

### 8.1 Introduzione

In questo capitolo verranno mostrati tutti i risultati ottenuti attraverso l'utilizzo dei software SPM e Cortex ID. In particolare tramite SPM è stato possibile fare un confronto statistico tra pazienti e gruppi di controllo nell'ambito del radiofarmaco FDG, mentre Cortex ID è stato utilizzato per determinare la presenza di placche amiloidi utilizzando il radiofarmaco Vyzamil.

### 8.2 Procedura in SPM utilizzando il two sample t-test

Al fine di illustrare la procedura utilizzata in SPM, viene qui descritta un'analisi two sample t-test tra due gruppi: il primo gruppo è rappresentato da un paziente singolo e quindi da una sola immagine, mentre il secondo gruppo si compone di immagini di controllo ottenute attraverso un database online. L'esame è stato effettuato con il radiofarmaco  $^{18}F$ -FDG. Le immagini di riferimento sono fornite da un database di 37 soggetti sani registrate presso Torino. Le immagini del gruppo di controllo sono fornite in standard DICOM, mentre l'immagine paziente è composta da 79 immagini slice in formato RAW che necessitano di essere standardizzate tramite il DICOM import presente in SPM. L'immagine del paziente presenta un numero di voxel  $256 \times 256 \times 79$  e ogni voxel ha dimensione  $1.17 \times 1.17 \times 3.26mm$ . Le caratteristiche delle immagini di controllo sono un numero di voxel pari a  $128 \times 128 \times 47$  per una dimensione del singolo voxel di  $2.34 \times 2.34 \times 3.27mm$ . Utilizzando la funzione *display* di SPM è possibile verificare e modificare la posizione dell'immagine rispetto a un sistema di assi tridimensionali di cui si può modificare l'origine.

## 8.3 Processo di normalizzazione e smoothing

Il processo di normalizzazione viene effettuato su tutte le immagini oggetto dell'analisi. Il template utilizzato è quello consigliato da SPM per il radiofarmaco in oggetto. SPM permette di impostare la normalizzazione al template per tutte le immagini inserendo i cosiddetti *subjects*: all'interno del subject è obbligatorio specificare l'immagine di partenza che deve essere normalizzata. Servono inoltre una o più immagini che verranno modificate con i parametri di normalizzazione che il programma calcolerà. Una terza immagine con valori di intensità compresi tra 0 e 1 può essere inserita per tenere conto di anomalie o lesioni cerebrali. Nel caso in esame non è necessario aggiungere una matrice con pesi, e l'unica immagine che verrà modificata sarà quella di partenza. Successivamente SPM richiede l'inserimento dell'immagine template e dello smooth da applicare ad entrambe le immagini, il troncamento della discrete cosine transform e la quantità di iterazioni che il programma effettuerà per la stima dei parametri: in questo caso vengono lasciate le impostazioni di default che garantiscono un buon risultato. Infine viene richiesto quale tipo di stima a priori utilizzare per la regolarizzazione, in questo caso si utilizza un template ICBM (*International Consortium of Brain Mapping*). La regolarizzazione può anche essere regolata tramite una costante moltiplicativa  $\lambda$  (si veda la sezione 3.5.1).

Si è effettuata poi una semplice interpolazione che porta le immagini alle dimensioni desiderate: è necessario stabilire però se l'intensità dei voxel vada mantenuta o se sia preferibile mantenere l'ampiezza del segnale totale delle immagini (aree cerebrali che si ingrandiscono subiscono un calo dell'intensità). Le immagini a questo punto sono pronte per essere normalizzate dall'algoritmo. L'ultimo passaggio è uno smoothing delle immagini tramite un kernel gaussiano con FWHM di  $8mm$ . Il risultato è visibile nelle immagini sottostanti.

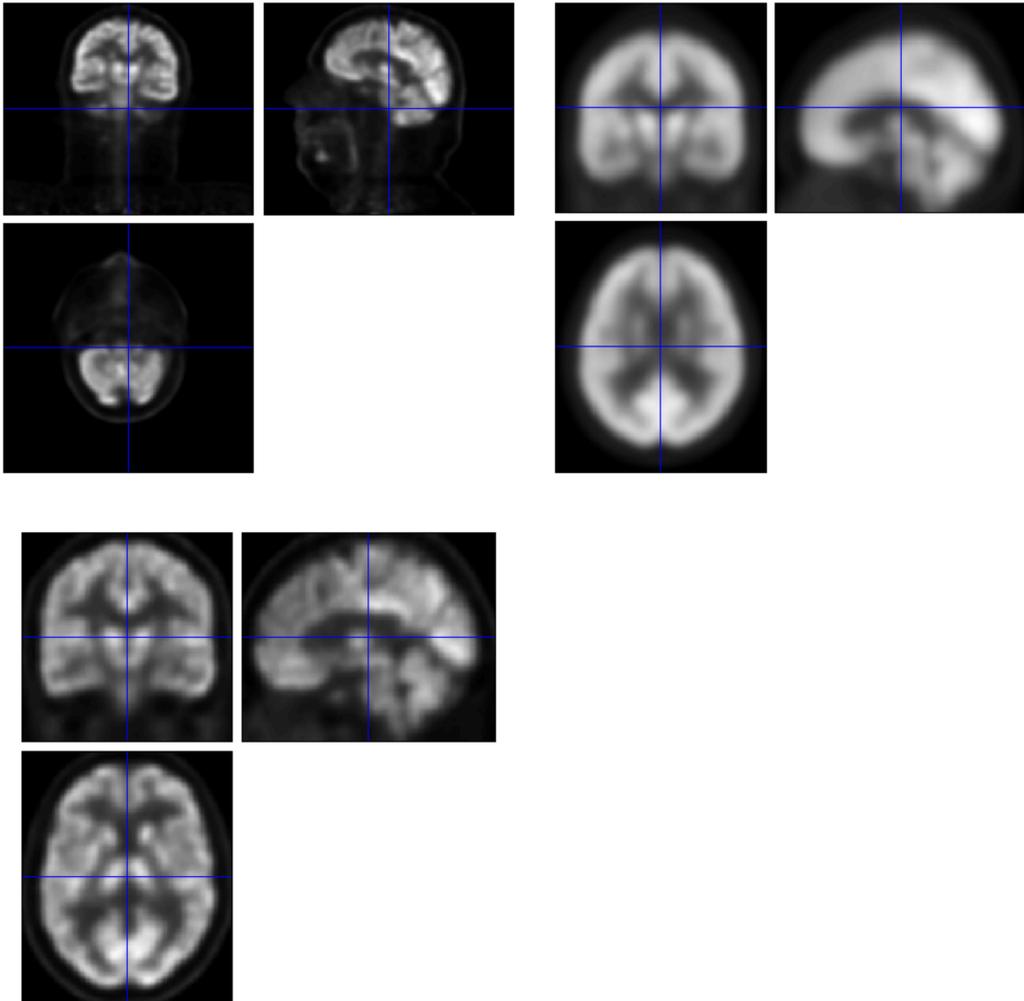


Figura 8.1: In alto a sinistra: slices cerebrali di un paziente così come viene scansionata dalla PET. In alto a destra: slices cerebrali del modello template FDG. In basso a sinistra: slices cerebrali dello stesso paziente dopo la normalizzazione al template

## 8.4 Creazione del test e stima dei parametri

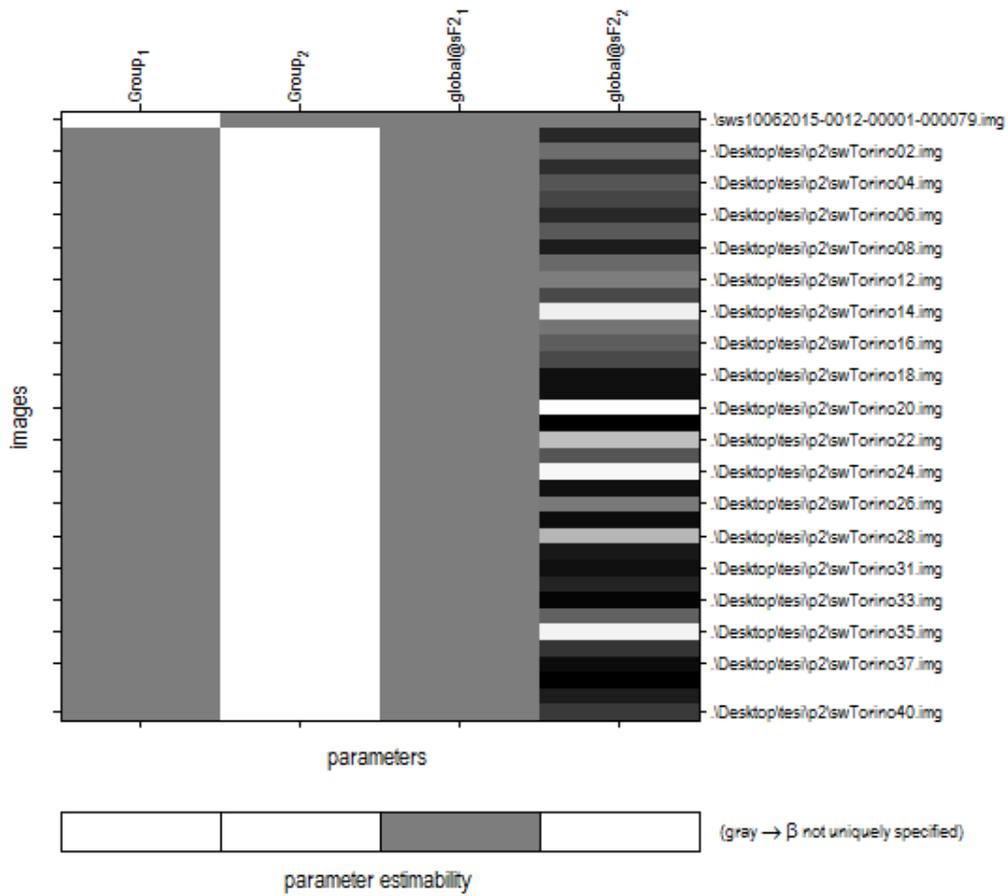
Una volta ottenute le immagini smoothed, tramite *basic models* è possibile creare il test adeguato alla situazione di cui si vuole avere un'analisi statistica. In questo caso il confronto tra due gruppi di individui suddivisi tra normali e pazienti viene fatto tramite *two sample t-test*. Il programma richiede di inserire i due gruppi di immagini e stabilire i metodi di calcolo per la varianza e gli effetti globali di cui si è discusso precedentemente. In particolare è necessario stabilire nel caso in esame una varianza unequal, una indipendenza tra i dati nei gruppi e un approccio ANCOVA dove viene valutata la covarianza "tra" i soggetti con annesso *grand mean scaling*. Non vi sono covariate da inserire, ma è necessario stabilire il criterio di calcolo del fattore globale e come verrà inserito nel modello. Per immagini PET di questo tipo si è scelta una normalisation ANCOVA con overall grand mean scaling. Con queste scelte il modello viene delineato tramite la matrice di design sottostante. Una volta ottenuta la matrice di design è possibile stimare i parametri, che vengono salvati in un file *.mat*.

## 8.5 Creazione della mappa statistica e dei p-values

Con l'ottenimento della stima dei parametri del modello è ora possibile effettuare la statistica e determinare la mappa adeguata al confronto tra i gruppi. Utilizzando il tasto *results* e scelto il file *.mat* si apre una finestra dove è possibile inserire i contrasti adeguati al tipo di test che si vuole condurre. In questo caso viene scelto un t-test e, per evidenziare le differenze tra primo gruppo e secondo, i contrasti vengono posti  $-1 \quad 1$ . Per quanto riguarda la correzione FWE, il p-value è stato identificato in  $p < 0.05$ . La mappa statistica viene evidenziata in figura 7.7. La mappa contiene i tre metodi che si possono usare per determinare il livello di significatività: il valore di  $p_{corr}$  si mantiene vicino allo 0 per tutti i cluster, pertanto è possibile affermare che vi sono differenze significative tra i valori metabolici del paziente e quelli dei gruppi di controllo.

## Statistical analysis: Design

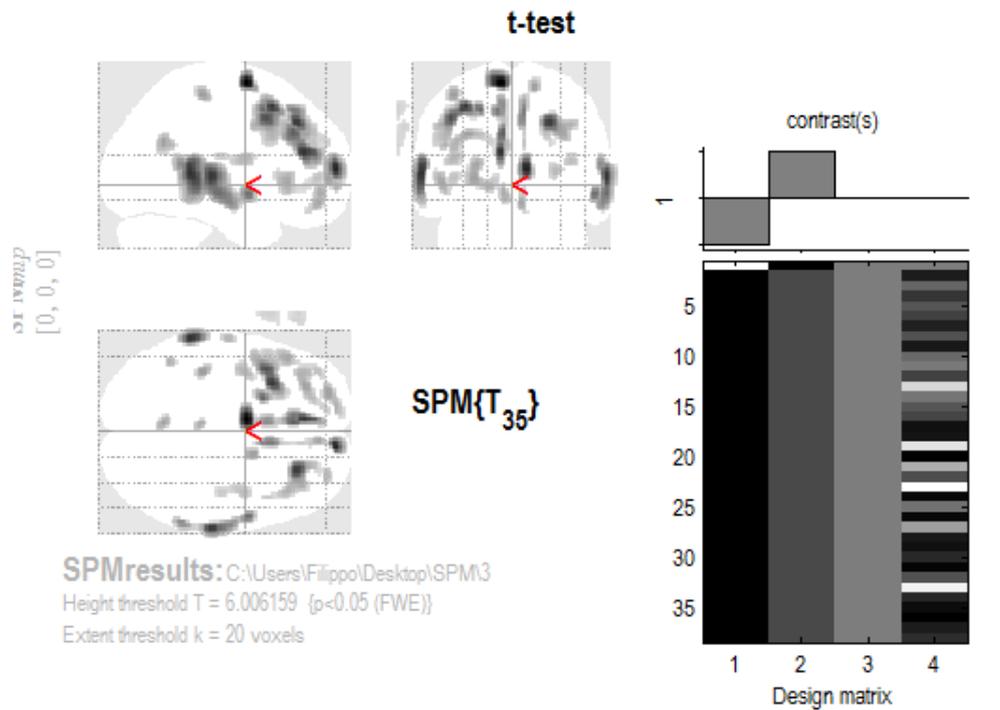
---



### Design description...

**Design** : Two-sample t-test  
**Global calculation** : mean voxel value (within per image fullmean/8 mask)  
**Grand mean scaling** : scaling of sF<sub>2</sub> grand means to 50  
**Global normalisation** : AnCova by sF<sub>2</sub>  
**Parameters** : 2 condition, +0 covariate, +0 block, +2 nuisance  
                   4 total, having 3 degrees of freedom  
                   leaving 35 degrees of freedom from 38 images

Figura 8.2: Matrice di design per il modello *two sample t-test* con regressori globali



**Statistics: p-values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm		
p	c	p <sub>corrected</sub>	k <sub>E</sub>	p <sub>uncorrected</sub>	p <sub>FWE-com</sub>	p <sub>FDR-com</sub>	T	(Z <sub>E</sub> )	p <sub>uncorrected</sub>			
0.000	24	0.000	191	0.000	0.000	0.000	13.49	Inf	0.000	-8	0	68
		0.000	169	0.000	0.000	0.000	12.09	7.54	0.000	10	62	10
		0.000	478	0.000	0.000	0.000	11.66	7.40	0.000	-62	-38	8
		0.000	546	0.000	0.000	0.000	11.56	7.37	0.000	-8	40	22
					0.000	0.000	10.19	6.90	0.000	-6	32	34
					0.000	0.000	9.39	6.59	0.000	-10	32	50
			0.000	676	0.000	0.000	11.51	7.36	0.000	64	-24	6
					0.000	0.000	9.68	6.71	0.000	64	-18	-6
					0.000	0.000	9.65	6.70	0.000	56	2	-6
			0.000	626	0.000	0.000	11.51	7.35	0.000	-32	18	52
					0.000	0.000	10.65	7.07	0.000	-42	14	44
					0.000	0.000	9.87	6.78	0.000	-22	12	50
			0.000	379	0.000	0.000	11.38	7.31	0.000	26	34	42
					0.000	0.000	7.89	5.94	0.000	34	38	34
			0.000	201	0.000	0.001	7.55	5.78	0.000	40	28	40
					0.000	0.000	9.21	6.52	0.000	8	18	50
				0.004	0.000	6.96	5.48	0.000	8	46	28	
				0.007	0.000	6.76	5.37	0.000	8	38	34	
		0.000	57	0.001	0.000	8.15	6.06	0.000	-40	-30	60	

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: T = 6.01, p = 0.000 (0.050) (p<0.05 (FWE))      Degrees of freedom = [1.0, 35.0]  
 Extent threshold: k = 20 voxels, p = 0.037 (0.002)      FWHM = 11.5 12.8 14.9 mm mm mm; 5.7 6.4 7.4 (voxels);  
 Expected voxels per cluster, <k> = 4.430      Volume: 4673800 = 584225 voxels = 2054.7 resels

Figura 8.3: Mappa statistica: in altro a destra la matrice di design con i contrasti.

## 8.6 Analisi di pazienti con differenti patologie

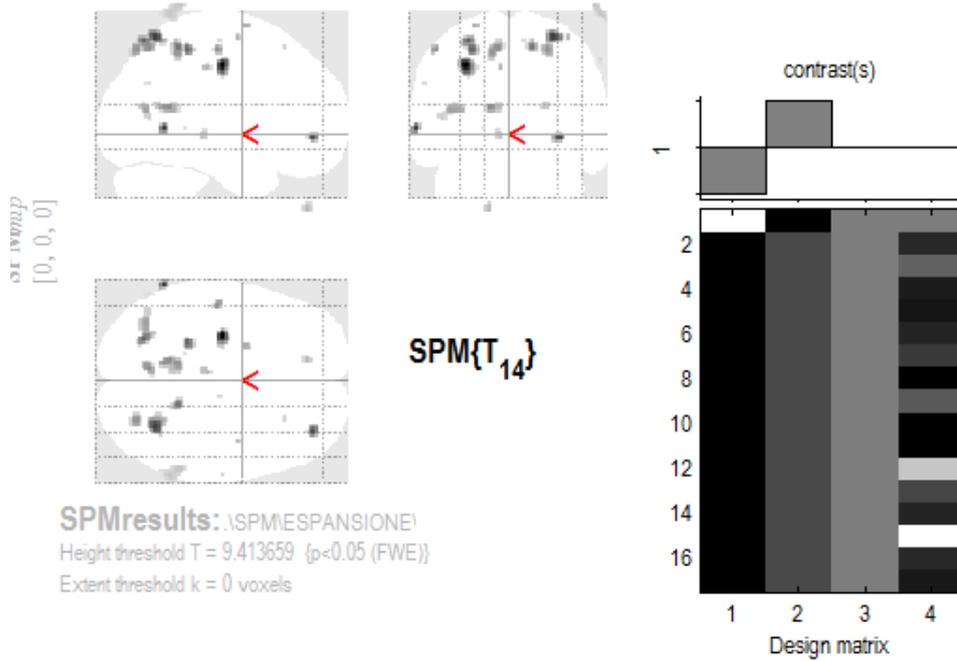
Il procedimento illustrato è stato effettuato su 4 pazienti al fine di determinare la presenza o meno di ipometabolismo tra i gruppi. Per due di questi pazienti si sospetta la presenza di AD, mentre gli altri due pazienti presentano rispettivamente sindrome di Cogan e sindrome di Bechet, rilevata attraverso una valutazione medica precedente. Tutti i pazienti sono stati analizzati secondo le modalità descritte nell'esempio precedente, ma utilizzando un campione diverso di normali formato da 16 soggetti. Scopo dell'analisi per i primi due casi è la determinazione quantitativa della malattia attraverso la presenza di ipometabolismo tra il paziente e i normali; per i casi di malattie comprovate lo studio si è concentrato sull'analisi delle zone cerebrali interessate.

### 8.6.1 Pazienti con sospetto morbo di Alzheimer

L'analisi dei pazienti con sospetto morbo di Alzheimer ha evidenziato la presenza di ipometabolismo per entrambi i casi oggetto di studio, ma con un grado di severità molto diverso che, coadiuvato all'analisi clinica dei sintomi, ha permesso di escludere la presenza di AD in uno dei due pazienti. L'analisi dei gruppi effettuata sul paziente risultato sano ha dato il risultato in figura: l'utilizzo di un p-value inferiore a 0.05 con FWE mostra un alto numero di cluster aventi però dimensione esigua. Risulta quindi difficile stabilire una correlazione tra ipometabolismo cerebrale e la presenza di malattie come AD o MCI.

L'analisi effettuata sul paziente risultato malato mostra invece una situazione di ipometabolismo diffuso in vaste zone cerebrali. L'analisi è stata effettuata scegliendo un p-value inferiore a 0.05 con FWE, e il risultato visibile è una vasta zona cerebrale di ipometabolismo rispetto al gruppo dei normali. È riscontrabile anche un certo grado di simmetria, spesso presente in analisi come questa che coinvolgono entrambi gli emisferi del cervello. In tabella 8.1 sono riportate le aree cerebrali interessate da ipometabolismo per i tre cluster più estesi.

### Paziente AD 1



#### Statistics: p-values adjusted for search volume

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm		
p	c	p <sub>corrected</sub>	k <sub>E</sub>	p <sub>uncorrected</sub>	p <sub>FWE-com</sub>	p <sub>FDR-com</sub>	T	(Z <sub>z</sub> )	p <sub>uncorrected</sub>			
0.000	25	0.000	72	0.000	0.000	0.000	16.55	6.42	0.000	-30	-14	46
		0.000	20	0.000	0.000	0.000	14.56	6.15	0.000	-64	-54	4
		0.000	76	0.000	0.000	0.000	14.52	6.15	0.000	30	-60	66
		0.000	23	0.000	0.000	0.000	14.16	6.10	0.000	34	48	-2
		0.000	41	0.000	0.001	0.000	13.24	5.95	0.000	-28	-68	62
		0.000	27	0.000	0.001	0.000	13.23	5.95	0.000	-26	-38	56
		0.000	27	0.000	0.001	0.000	12.77	5.88	0.000	16	-44	58
		0.000	32	0.000	0.002	0.000	11.97	5.74	0.000	-8	-64	58
		0.000	51	0.000	0.003	0.000	11.92	5.73	0.000	-14	-50	18
		0.000	10	0.003	0.003	0.000	11.89	5.72	0.000	-50	-18	56
		0.000	38	0.000	0.003	0.000	11.88	5.72	0.000	26	-72	56
		0.000	36	0.000	0.003	0.000	11.78	5.70	0.000	-12	-44	54
		0.000	39	0.000	0.005	0.000	11.34	5.62	0.000	-40	-66	16
		0.001	5	0.026	0.007	0.000	11.00	5.55	0.000	-24	2	72
		0.002	4	0.043	0.010	0.000	10.75	5.50	0.000	-6	-24	44
		0.004	3	0.075	0.011	0.000	10.66	5.48	0.000	40	-4	64
		0.000	11	0.002	0.012	0.000	10.55	5.46	0.000	-14	44	-50
		0.000	9	0.005	0.017	0.000	10.30	5.40	0.000	-8	-26	0
		0.000	10	0.003	0.017	0.000	10.25	5.40	0.000	24	-58	18

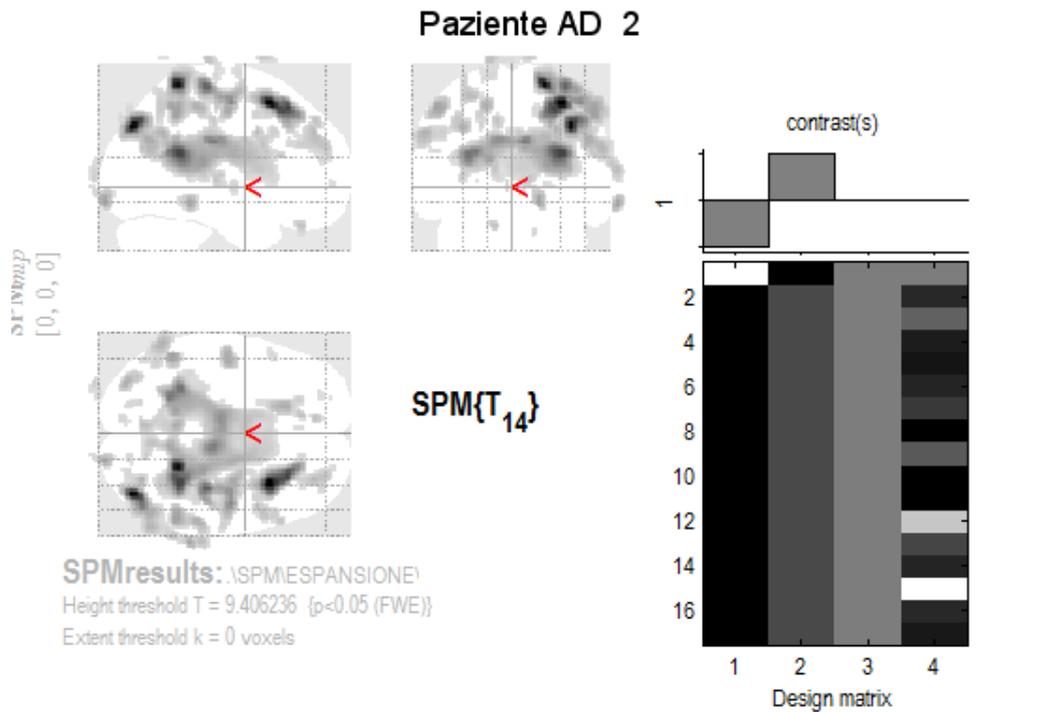
table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: T = 9.41, p = 0.000 (0.050) (p<0.05 (FWE))  
Extent threshold: k = 0 voxels, p = 1.000 (0.050)  
Expected voxels per cluster, <k> = 0.955  
Expected number of clusters, <c> = 0.05  
Expected false discovery rate, <= 0.00

Degrees of freedom = [1.0, 14.0]  
FWHM = 11.2 11.8 13.3 mm mm mm; 5.6 5.9 6.7 {voxels};  
Volume: 4073328 = 509166 voxels = 2225.8 resels  
Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 220.11 voxels)  
Page 1



Figura 8.4: Paziente con sospetto AD risultato sano



**Statistics: p-values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm		
p	c	p <sub>corrected</sub>	k <sub>E</sub>	p <sub>uncorrected</sub>	p <sub>FWE-corr</sub>	p <sub>FDR-corr</sub>	T	(Z <sub>≡</sub> )	p <sub>uncorrected</sub>			
0.000	34	0.000	2533	0.000	0.000	0.000	40.77	Inf	0.000	32	16	56
					0.000	0.000	38.45	Inf	0.000	22	-46	68
					0.000	0.000	30.35	7.57	0.000	28	28	52
		0.000	1261	0.000	0.000	0.000	38.66	Inf	0.000	40	-78	40
					0.000	0.000	16.31	6.39	0.000	52	-66	30
					0.000	0.000	15.80	6.32	0.000	30	-72	38
		0.000	7927	0.000	0.000	0.000	30.75	7.60	0.000	32	-46	24
					0.000	0.000	23.96	7.14	0.000	-30	-44	20
					0.000	0.000	23.17	7.08	0.000	-24	-52	24
		0.000	395	0.000	0.000	0.000	18.16	6.61	0.000	56	-48	50
					0.000	0.000	15.84	6.33	0.000	58	-34	52
		0.000	105	0.000	0.000	0.000	18.12	6.60	0.000	-52	-50	52
		0.000	96	0.000	0.000	0.000	17.97	6.58	0.000	18	-96	-10
					0.010	0.000	10.69	5.49	0.000	16	-104	-2
		0.000	69	0.000	0.000	0.000	17.20	6.50	0.000	72	-38	-10
		0.000	134	0.000	0.000	0.000	16.91	6.46	0.000	-50	-12	52
		0.000	119	0.000	0.000	0.000	16.41	6.40	0.000	-34	-82	40
		0.000	197	0.000	0.000	0.000	16.17	6.37	0.000	-18	28	54
					0.003	0.000	11.72	5.69	0.000	-22	36	48
					0.017	0.000	10.26	5.40	0.000	-22	10	60

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: T = 9.41, p = 0.000 (0.050) (p<0.05 (FWE))  
 Extent threshold: k = 0 voxels, p = 1.000 (0.050)  
 Expected voxels per cluster, <k> = 0.951  
 Expected number of clusters, <c> = 0.05  
 Expected false discovery rate, <= 0.00

Degrees of freedom = [1.0, 14.0]  
 FWHM = 11.1 11.8 13.4 mm mm mm; 5.6 5.9 6.7 (voxels);  
 Volume: 4034296 = 504287 voxels = 2217.3 resels  
 Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 218.79 voxels)  
 Page 1



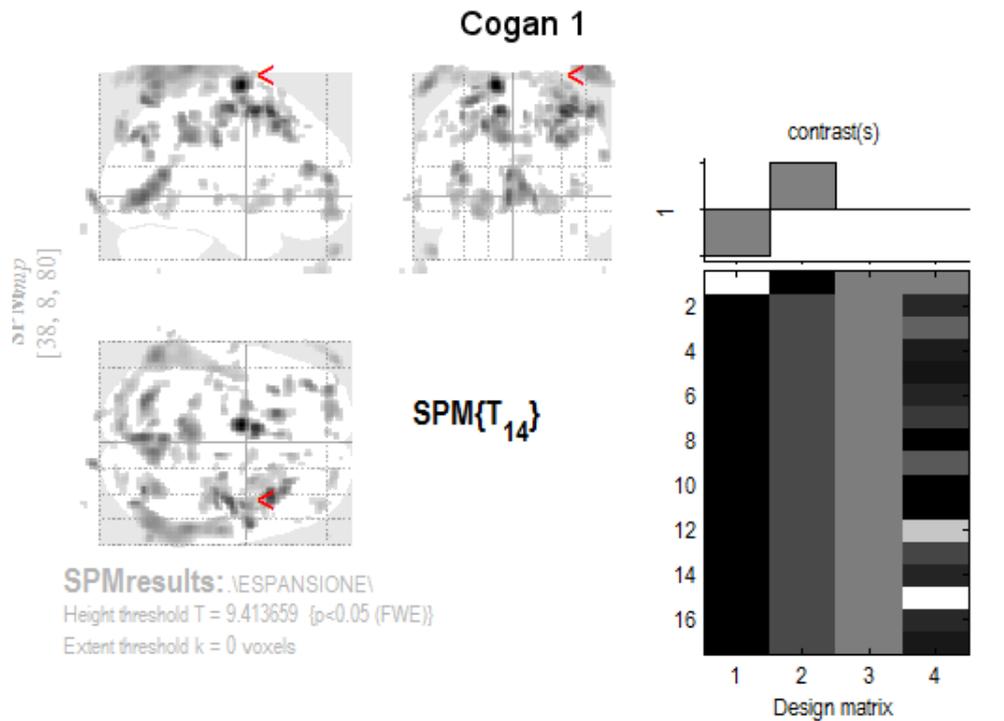
Figura 8.5: Paziente con sospetto AD risultato malato

<p>Aree cerebrali di ipometabolismo secondo lo spazio Talairach</p>
<p><i>Cluster 1 Gray Matter nearest to (32, 18, 51) :</i>  <i>Right Cerebrum, Frontal Lobe, Middle Frontal Gyrus,</i>  <i>Gray Matter, Brodmann area 6</i></p>
<p><i>Cluster 2 Gray Matter nearest to (40, -74, 40) :</i>  <i>Right Cerebrum, Parietal Lobe, Precuneus, Gray Matter,</i>  <i>Brodmann area 19</i></p>
<p><i>Cluster 3 Gray Matter nearest to (8, -20, 29) :</i>  <i>Right Cerebrum, Limbic Lobe, Cyngulate Gyrus,</i>  <i>Gray Matter, Brodmann area 23</i></p>

Tabella 8.1: zone cerebrali di ipometabolismo per il paziente con AD risultato malato

### 8.6.2 Pazienti con sindromi diverse da AD

Una volta valutata la capacità dell'analisi di distinguere tra pazienti affetti da AD e pazienti sani, è stata verificata la possibilità di estendere questo metodo di indagine anche ad altre malattie del cervello legate a fattori metabolici all'interno delle aree cerebrali. L'analisi è quindi stata estesa a tre pazienti che presentano morbo di Cogan e ad un altro che presenta malattia di Bechet. La sindrome di Cogan viene evidenziata da SPM con la presenza di estese aree di ipometabolismo (tabelle 8.2, 8.3, 8.4). L'analisi è stata effettuata con un p-value inferiore a 0.05 e l'utilizzo di FWE. Si noti che l'analisi evidenzia per tutti e tre i casi un coinvolgimento delle aree di Brodmann 6 e 8: si può quindi stabilire una relazione tra la malattia e aree ipometaboliche specifiche. Il render 3D evidenzia meglio le aree cerebrali coinvolte. Il paziente con sindrome di Bechet presenta cluster meno estesi ma ben definiti, che permettono di evidenziare concretamente quali aree del cervello sono interessate da ipometabolismo (tabella 8.5).



**Statistics:  $p$ -values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm		
$p$	$c$	$p_{corrected}$	$k_E$	$p_{uncorrected}$	$p_{FWE-corr}$	$p_{FDR-corr}$	$T$	$(Z_{\Xi})$	$p_{uncorrected}$			
0.000	76	0.000	271	0.000	0.000	0.000	23.11	7.07	0.000	-12	-4	74
		0.000	191	0.000	0.000	0.000	13.90	6.06	0.000	-26	0	72
		0.000	1072	0.000	0.000	0.000	19.88	6.78	0.000	-10	6	56
					0.001	0.000	13.33	5.97	0.000	-6	22	48
					0.008	0.000	10.95	5.54	0.000	-4	30	54
					0.000	0.000	19.32	6.73	0.000	34	16	56
					0.000	0.000	17.68	6.55	0.000	40	-10	58
					0.000	0.000	17.08	6.48	0.000	54	2	58
					0.000	0.000	17.25	6.50	0.000	-4	-70	0
					0.000	0.000	16.52	6.41	0.000	-2	-56	14
					0.000	0.000	15.69	6.31	0.000	6	-64	6
					0.000	0.000	16.76	6.44	0.000	-20	20	46
					0.036	0.000	9.67	5.26	0.000	-20	32	44
					0.000	0.000	16.26	6.38	0.000	-30	-68	62
					0.000	0.000	16.14	6.37	0.000	32	-70	38
					0.000	0.000	15.10	6.23	0.000	40	-76	40
					0.006	0.000	11.21	5.59	0.000	50	-70	44
					0.000	0.000	15.26	6.25	0.000	-6	-38	38
					0.000	0.000	14.83	6.19	0.000	-14	-44	50
					0.002	0.000	12.09	5.76	0.000	8	-38	38

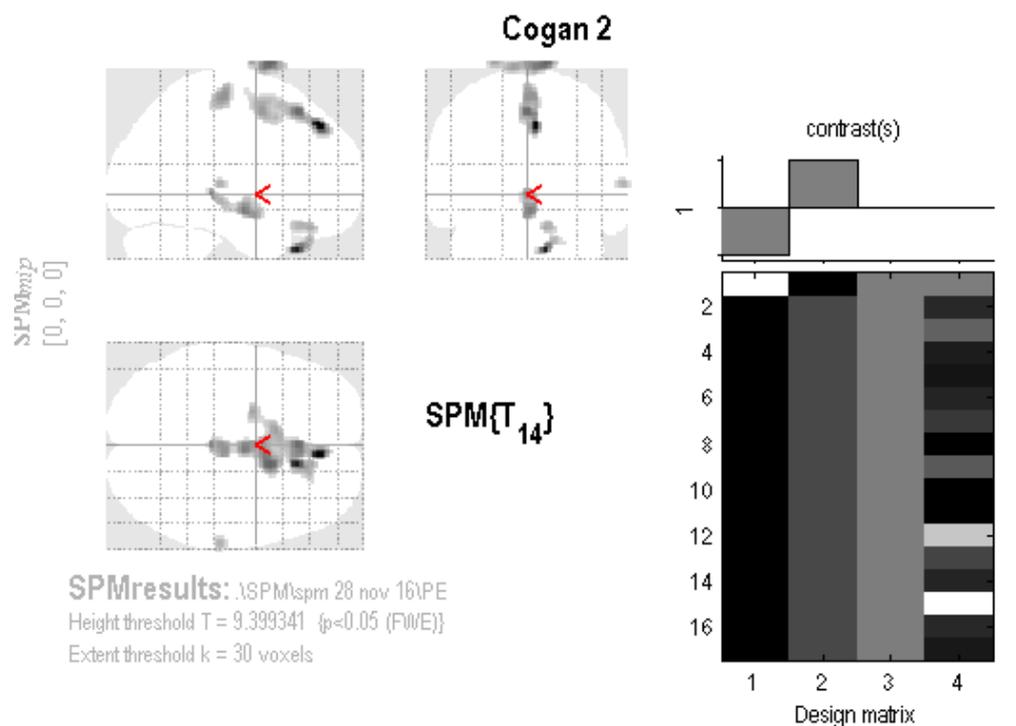
table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold:  $T = 9.41$ ,  $p = 0.000$  (0.050) ( $p < 0.05$  (FWE))  
 Extent threshold:  $k = 0$  voxels,  $p = 1.000$  (0.050)  
 Expected voxels per cluster,  $\langle k \rangle = 0.955$   
 Expected number of clusters,  $\langle c \rangle = 0.05$   
 Expected false discovery rate,  $\leq 0.00$

Degrees of freedom = [1.0, 14.0]  
 FWHM = 11.2 11.8 13.3 mm mm mm; 5.6 5.9 6.7 {voxels};  
 Volume: 4073328 = 509166 voxels = 2225.8 resels  
 Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 220.11 voxels)  
 Page 1



Figura 8.6: Paziente 1 con sindrome di Cogan



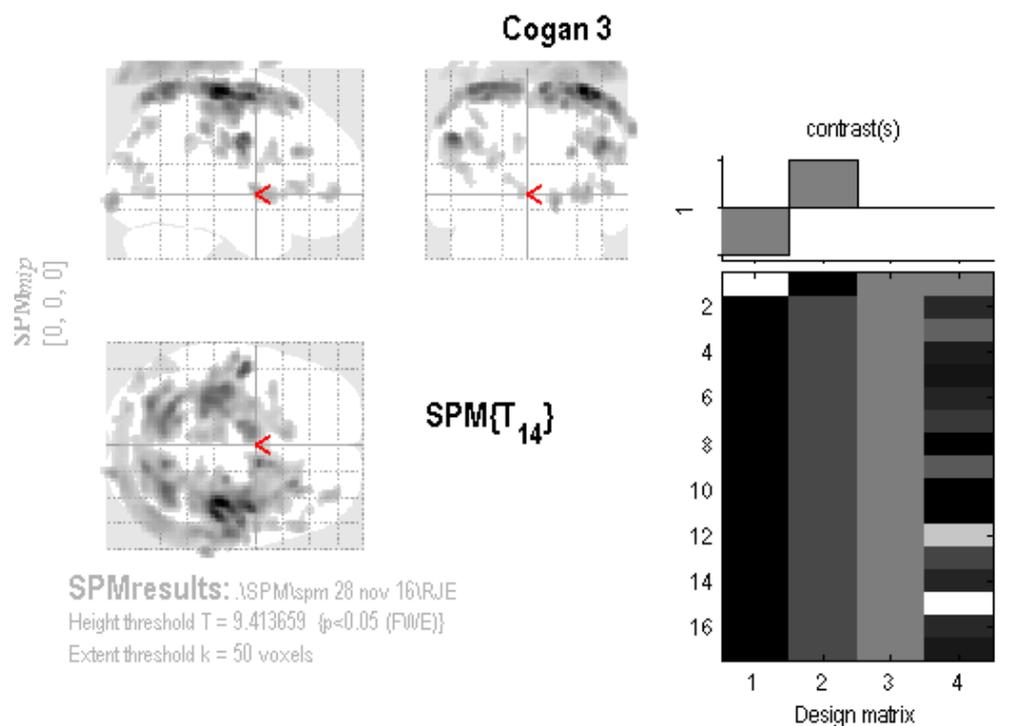
**Statistics: *p*-values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm			
$p$	$c$	$p_{corrected}$	$k$	$E$	$p_{uncorrected}$	$p_{FWE}$	$p_{FDR-corr}$	$T$	$(Z_{\geq})$	$p_{uncorrected}$			
0.000	6	0.000	545	0.000	0.000	0.000	21.78	6.96	0.000		6	42	46
					0.000	0.000	15.66	6.30	0.000		0	28	54
					0.001	0.000	13.03	5.92	0.000		-2	4	54
		0.000	161	0.000	0.000	0.000	19.86	6.78	0.000		12	28	-36
					0.002	0.000	12.28	5.79	0.000		12	36	-22
					0.037	0.000	9.63	5.25	0.000		24	38	-32
		0.000	424	0.000	0.000	0.000	16.04	6.35	0.000		12	10	86
					0.001	0.000	12.67	5.86	0.000		-10	14	82
					0.001	0.000	12.42	5.82	0.000		-22	-2	86
		0.000	250	0.000	0.000	0.000	14.61	6.16	0.000		2	-8	-10
					0.000	0.000	14.34	6.12	0.000		0	-30	0
					0.001	0.000	13.30	5.96	0.000		0	0	-14
		0.000	169	0.000	0.001	0.000	13.44	5.99	0.000		4	-20	64
		0.000	33	0.000	0.003	0.000	11.92	5.73	0.000		64	-24	8

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold:  $T = 9.40$ ,  $p = 0.000$  (0.050) ( $p < 0.05$  (FWE))      Degrees of freedom = [1.0, 14.0]  
 Extent threshold:  $k = 30$  voxels,  $p = 0.000$  (0.000)      FWHM = 11.1 11.7 13.4 mm mm mm; 5.6 5.9 6.7 (voxels);  
 Expected voxels per cluster,  $\langle k \rangle = 0.948$       Volume: 3998352 = 499794 voxels = 2209.8 resels  
 Expected number of clusters,  $\langle c \rangle = 0.00$       Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 217.52 voxels)  
 Expected false discovery rate,  $\leq 0.00$

Figura 8.7: Paziente 2 con sindrome di Cogan



**Statistics:  $p$ -values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm			
$p$	$c$	$p_{corrected}$	$k$	$E$	$p_{uncorrected}$	$p_{FWE}$	$p_{FDR-corr}$	$T$	$(Z_{\text{eq}})$	$p_{uncorrected}$			
0.000	19	0.000	6737	0.000	0.000	0.000	32.93	7.71	0.000		36	-24	68
					0.000	0.000	29.10	7.50	0.000		46	-26	64
					0.000	0.000	27.67	7.41	0.000		40	-4	64
		0.000	398	0.000	0.000	0.000	24.06	7.15	0.000		-48	-8	36
					0.000	0.000	14.81	6.19	0.000		-34	-18	32
					0.003	0.000	11.75	5.70	0.000		-50	-10	20
		0.000	376	0.000	0.000	0.000	22.03	6.98	0.000		50	-10	32
					0.000	0.000	13.91	6.06	0.000		36	-18	34
					0.000	0.000	13.65	6.02	0.000		60	-6	26
		0.000	1149	0.000	0.000	0.000	16.54	6.42	0.000		56	-40	86
					0.000	0.000	15.65	6.30	0.000		44	-68	86
					0.000	0.000	14.68	6.17	0.000		22	-88	78
		0.000	59	0.000	0.000	0.000	16.34	6.39	0.000		30	28	28
		0.000	87	0.000	0.000	0.000	16.19	6.37	0.000		18	-96	-6
		0.000	117	0.000	0.000	0.000	15.57	6.29	0.000		40	0	2
					0.000	0.000	14.63	6.16	0.000		38	10	-2
					0.005	0.000	11.31	5.61	0.000		30	20	0
		0.000	53	0.000	0.000	0.000	14.51	6.15	0.000		62	-22	28
		0.000	89	0.000	0.000	0.000	14.04	6.08	0.000		34	48	-2

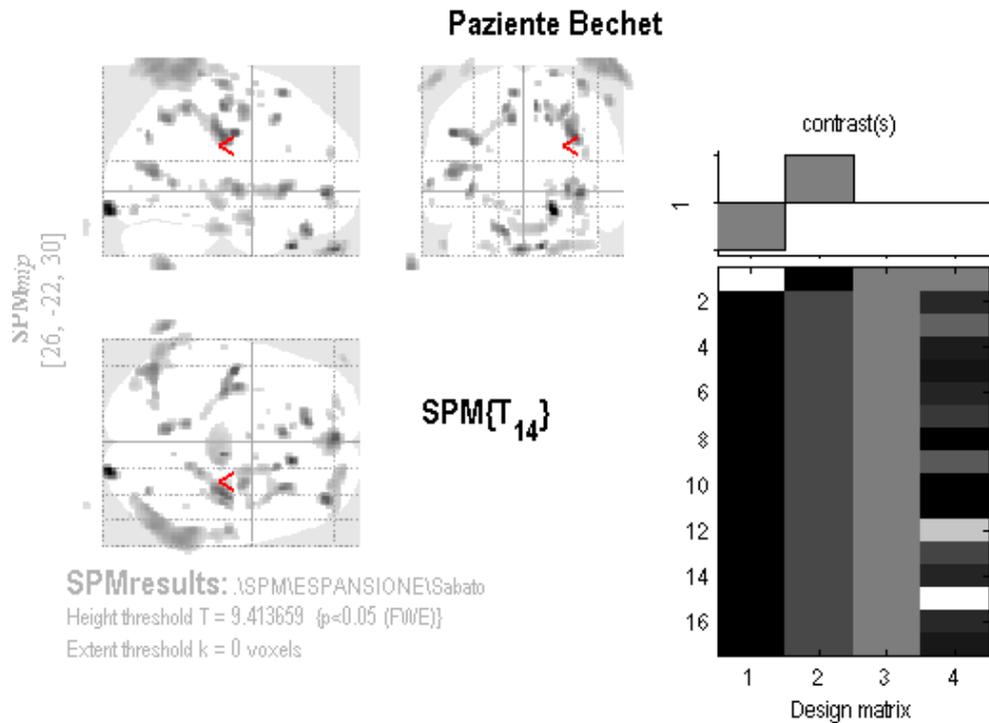
table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold:  $T = 9.41$ ,  $p = 0.000$  (0.050) ( $p < 0.05$  (FWE))  
 Extent threshold:  $k = 50$  voxels,  $p = 0.000$  (0.000)  
 Expected voxels per cluster,  $\langle k \rangle = 0.955$   
 Expected number of clusters,  $\langle c \rangle = 0.00$   
 Expected false discovery rate,  $\leq 0.00$

Degrees of freedom = [1.0, 14.0]  
 FWHM = 11.2 11.8 13.3 mm mm mm; 5.6 5.9 6.7 (voxels);  
 Volume: 4073328 = 509166 voxels = 2225.8 resels  
 Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 220.11 voxels)



Figura 8.8: Paziente 3 con sindrome di Cogan



**Statistics: *p*-values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm		
$p$	$c$	$p_{corrected}$	$k$	$E$	$p_{uncorrected}$	$p_{FDR-corr}$	$T$	$(Z_{\equiv})$	$p_{uncorrected}$			
0.000	54	0.000	69	0.000	0.000	0.000	20.07	6.80	0.000	20	-96	-14
		0.000	24	0.000	0.000	0.000	16.86	6.46	0.000	12	26	-36
		0.000	100	0.000	0.000	0.000	15.60	6.30	0.000	-2	56	-38
		0.000	128	0.000	0.000	0.000	15.58	6.30	0.000	-48	-12	38
					0.000	0.000	14.41	6.13	0.000	-34	-18	34
					0.022	0.000	10.07	5.36	0.000	-22	-30	42
		0.000	222	0.000	0.000	0.000	15.52	6.29	0.000	34	-20	36
					0.002	0.000	12.04	5.75	0.000	16	-42	56
					0.014	0.000	10.42	5.43	0.000	20	-36	50
		0.000	64	0.000	0.000	0.000	15.51	6.29	0.000	38	50	-2
		0.000	60	0.000	0.000	0.000	15.18	6.24	0.000	-14	36	-26
		0.000	20	0.000	0.000	0.000	14.70	6.17	0.000	8	-20	56
		0.000	168	0.000	0.000	0.000	14.27	6.11	0.000	30	20	0
					0.004	0.000	11.64	5.68	0.000	36	10	0
					0.006	0.000	11.13	5.58	0.000	18	6	0
		0.000	117	0.000	0.000	0.000	14.16	6.10	0.000	-8	-56	46
					0.001	0.000	13.27	5.96	0.000	-12	-44	54
		0.000	36	0.000	0.000	0.000	14.16	6.10	0.000	-6	20	64
		0.000	76	0.000	0.000	0.000	14.10	6.09	0.000	-36	-10	0
					0.006	0.000	11.10	5.57	0.000	-34	-18	2

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold:  $T = 9.41$ ,  $p = 0.000$  (0.050) ( $p < 0.05$  (FWE))  
 Extent threshold:  $k = 0$  voxels,  $p = 1.000$  (0.050)  
 Expected voxels per cluster,  $\langle k \rangle = 0.955$   
 Expected number of clusters,  $\langle c \rangle = 0.05$   
 Expected false discovery rate,  $\leq 0.00$

Degrees of freedom = [1.0, 14.0]  
 FWHM = 11.2 11.8 13.3 mm mm mm; 5.6 5.9 6.7 (voxels);  
 Volume: 4073328 = 509166 voxels = 2225.8 resels  
 Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 220.11 voxels)



Figura 8.9: Paziente con sindrome di Bechet

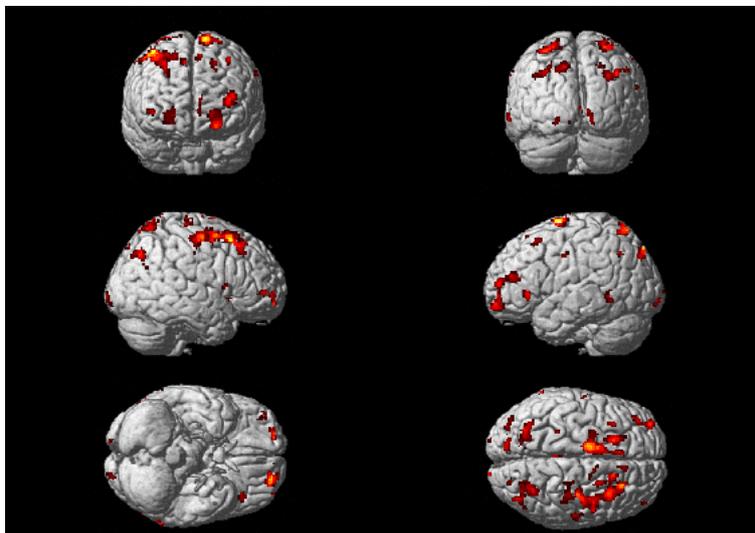


Figura 8.10: Rendering di paziente 1 con sindrome di Cogan

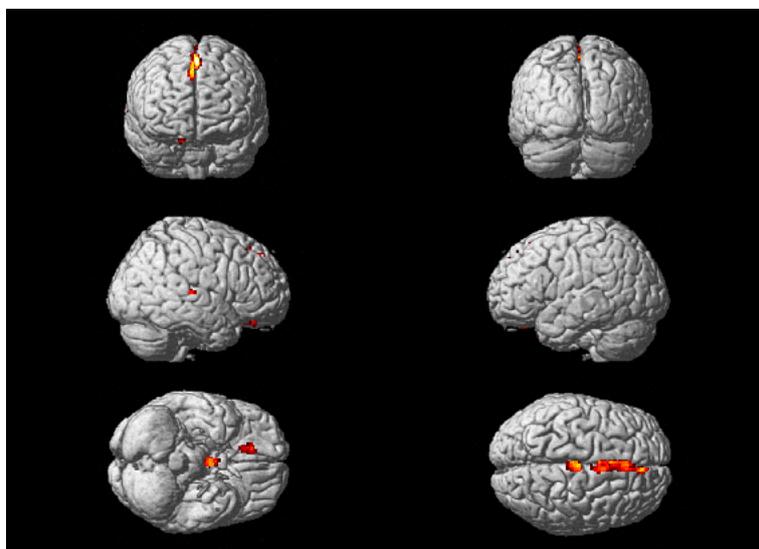


Figura 8.11: Rendering di paziente 2 con sindrome di Cogan

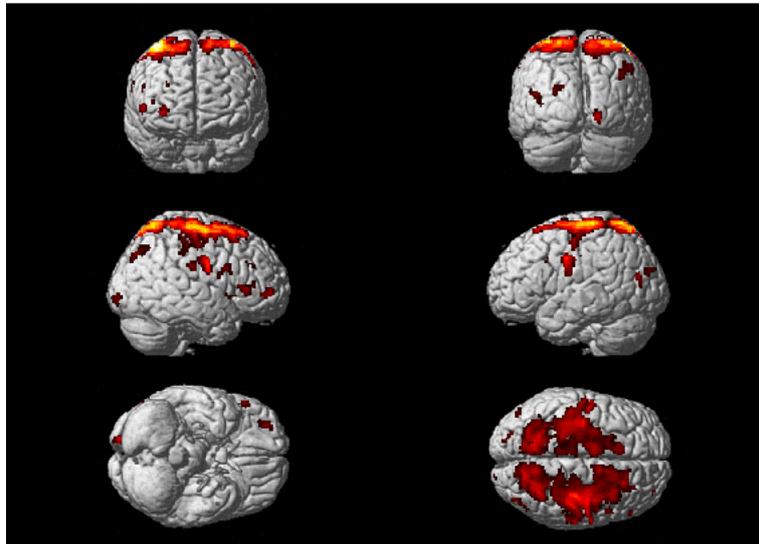


Figura 8.12: Rendering di paziente 3 con sindrome di Cogan

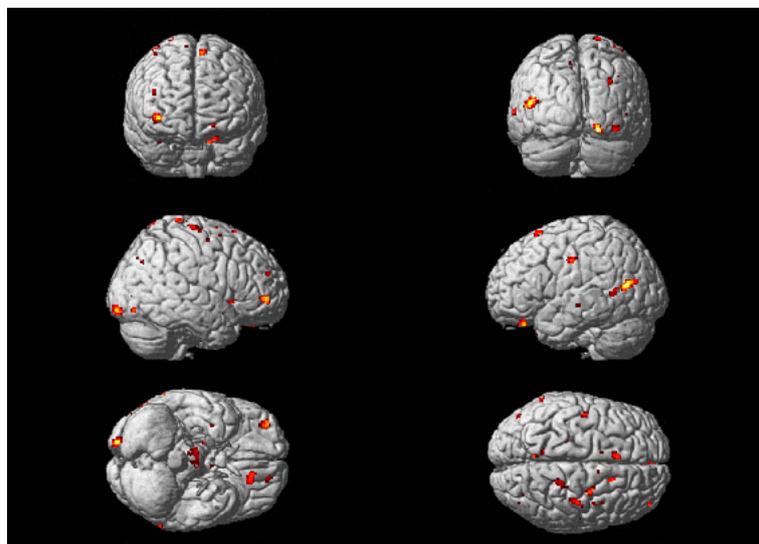


Figura 8.13: Rendering di paziente con sindrome di Bechet

Aree cerebrali di ipometabolismo secondo lo spazio Talairach
<i>Cluster 1 Gray Matter nearest to (34, 18, 51) : Right Cerebrum, Frontal Lobe, Middle Frontal Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 8</i>
<i>Cluster 2 Gray Matter nearest to (-4, -68, 3) : Left Cerebrum, Occipital Lobe, Ligual Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 18</i>
<i>Cluster 3 Gray Matter nearest to (-6, -35, 37) : Left Cerebrum, Limbic Lobe, Cyngulate Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 31</i>

Tabella 8.2: zone cerebrali di ipometabolismo per il paziente con malattia di Cogan

Aree cerebrali di ipometabolismo secondo lo spazio Talairach
<i>Cluster 1 Gray Matter nearest to (6, 42, 40) : Right Cerebrum, Frontal Lobe, Medial Frontal Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 8</i>
<i>Cluster 2 Gray Matter nearest to (2, -8, -8) : Right Brainstem, Midbrain, Gray Matter, Mammillary Body</i>
<i>Cluster 3 Gray Matter nearest to (4, -16, 60) : Right Cerebrum, Frontal Lobe, Medial Frontal Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 6</i>

Tabella 8.3: zone cerebrali di ipometabolismo per il paziente 2 con malattia di Cogan

Arete cerebrali di ipometabolismo secondo lo spazio Talairach
<i>Cluster 1 Gray Matter nearest to (36, -20, 64) : Right Cerebrum, Frontal Lobe, Precentral Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 6</i>
<i>Cluster 2 Gray Matter nearest to (-48, -6, 33) : Left Cerebrum, Frontal Lobe, Precentral Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 6</i>
<i>Cluster 3 Gray Matter nearest to (49, -8, 30) : Right Cerebrum, Frontal Lobe, Precentral Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 6</i>

Tabella 8.4: zone cerebrali di ipometabolismo per il paziente 3 con malattia di Cogan

Arete cerebrali di ipometabolismo secondo lo spazio Talairach
<i>Cluster 1 Gray Matter nearest to (34, -18, 34) : Right Cerebrum, Frontal Lobe, Precentral Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 4</i>
<i>Cluster 2 Gray Matter nearest to (30, 19, -1) : Left Cerebrum, Sub-lobar, Claustrum, Gray Matter</i>
<i>Cluster 3 Gray Matter nearest to (-48, -63, 14) : Left Cerebrum, Occipital Lobe, Middle Temporal Gyrus, Gray Matter, Brodmann area 19</i>

Tabella 8.5: zone cerebrali di ipometabolismo per il paziente con malattia di Bechet

## 8.7 Confronto statistico tra gruppi affetti da MCI

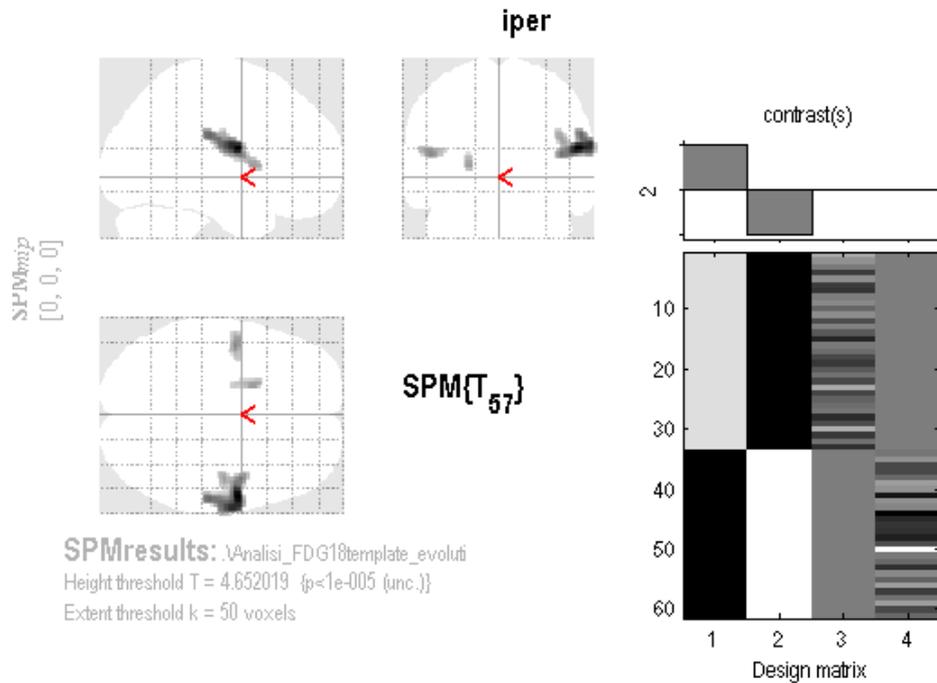
L'analisi tramite SPM è stata effettuata per la determinazione di disfunzioni metaboliche tra due gruppi di pazienti tutti affetti inizialmente da MCI. In circa tre anni l'evoluzione clinica è sfociata in una diagnosi di malattia di Alzheimer per il gruppo 1 formato da 33 pazienti, mentre per il gruppo 2 composto da 28 individui non si sono registrati peggioramenti che indicassero la presenza di AD. Conoscendo la storia clinica di questi due gruppi, l'interesse si è concentrato nell'individuare le differenze metaboliche tra immagini PET basali acquisite quando tutti i pazienti ancora non presentavano segni di evoluzione in AD. L'intento è di evidenziare pattern di metabolismo glucidico differenti fra i due gruppi in una fase prodromica di malattia al fine di procedere ad una diagnosi differenziale precoce. Il radiofarmaco utilizzato è il  $[^{18}\text{F}]$ -FDG. Il processo di normalizzazione è stato effettuato per tutti i gruppi tramite due diversi template, quello fornito da SPM  $[^{15}\text{O}] - \text{H}_2\text{O}$  e quello specifico per il FDG. La procedura di analisi consi-

ste in un *two sample t-test* tra i due gruppi, volto a sottolineare le differenze metaboliche tra i gruppi 1 e 2.

Sono stati misurati sia l'ipometabolismo sia l'ipermetabolismo espresso dal gruppo 1 rispetto al gruppo 2. L'analisi è stata condotta non utilizzando la correzione FWE per le multiple comparisons poichè troppo stringente per la caratteristica del test. La soglia utilizzata per il p-value è molto bassa, mantenendo una significatività statistica anche in relazione alla decisione di mantenere una soglia superiore ai 50 voxel in termini di ampiezza dei cluster. Il valore di  $p_{corr}$  si mantiene inferiore a 0.05 rendendo giustificabili i parametri di soglia utilizzati. Si evidenziano differenze tra il gruppo 1 e 2 sia per l'analisi di ipometabolismo (con contrasti  $c = [-1 \ 1]$ ) sia per quella di ipermetabolismo (con contrasti  $c = [1 \ -1]$ ). La presenza di cluster di voxel in entrambi i casi può essere dovuta al meccanismo di compensazione e adattamento delle aree cerebrali: le funzioni normalmente svolte da aree divenute ipometaboliche vengono prese in carico da altre aree, che hanno quindi bisogno di un maggior afflusso sanguigno. Viene visualizzata una differenza tra le analisi effettuate con i due diversi templates: Le immagini normalizzate con template fluoro 18 risultano avere, per tutti i casi presi in esame, aree più piccole all'interno della mappa statistica. Addirittura alcuni cluster presenti nella mappa per l'ossigeno 15 non risultano nell'analisi effettuata con Fluoro 18. La tabella sottostante è stata creata dalle coordinate dei picchi di intensità della mappa statistica: le coordinate  $x, y, z$  nello spazio MNI sono state trasformate in coordinate nello spazio Talairach tramite la trasformazione lineare di variabili. Tramite il software TalairachClient si sono poi determinate anatomicamente le aree cerebrali interessate. Nell'ottica di un atteggiamento conservativo, volto cioè a diminuire il più possibile la presenza di falsi positivi, è possibile affermare che il template specifico per il  $[^{18}F]$ -FDG è migliore di quello di default di SPM basato sull'ossigeno 15.

Gruppo 1 vs. Gruppo 2	
<b>Ipermetabolismo Ossigeno</b>	<b>Ipermetabolismo Fluoro</b>
$P_1 = (55, -1, 16) \equiv$ <i>RightCerebrum FrontalLobe</i> <i>PrecentralGyrus GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 6</i>	$P_1 = (55, -1, 18) \equiv$ <i>RightCerebrum FrontalLobe</i> <i>PrecentralGyrus GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 6</i>
$P_2 = (-63, -14, 19) \equiv$ <i>LeftCerebrum ParietalLobe</i> <i>PostcentralGyrus GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 43</i>	$P_2 = (-47, -3, 14) \equiv$ <i>LeftCerebrum Sub-lobar</i> <i>Insula GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 13</i>
$P_3 = (-45, -3, 14) \equiv$ <i>LeftCerebrum Sub-lobar</i> <i>Insula GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 13</i>	$P_3 = (-19, 8, 7) \equiv$ <i>LeftCerebrum Sub-lobar</i> <i>LentiformNucleus GrayMatter</i> <i>Putamen</i>
$P_4 = (-21, -3, 13) \equiv$ <i>LeftCerebrum Sub-lobar</i> <i>LentiformNucleus GrayMatter</i> <i>Putamen</i>	
<b>Ipometabolismo Ossigeno</b>	<b>Ipometabolismo Fluoro</b>
$P_1 = (-59, -47, -16) \equiv$ <i>LeftCerebrum TemporalLobe</i> <i>Inf.TemporalGyrus GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 20</i>	$P_1 = (-57, -9, -2) \equiv$ <i>LeftCerebrum TemporalLobe</i> <i>Sup.TemporalGyrus GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 21</i>
$P_1 = (-61, -15, -4) \equiv$ <i>LeftCerebrum TemporalLobe</i> <i>Sup.TemporalGyrus GrayMatter</i> <i>BrodmannArea 21</i>	

Tabella 8.6: tabella delle coordinate, con annesse parti anatomiche, in cui si presenta una differenza tra gruppi



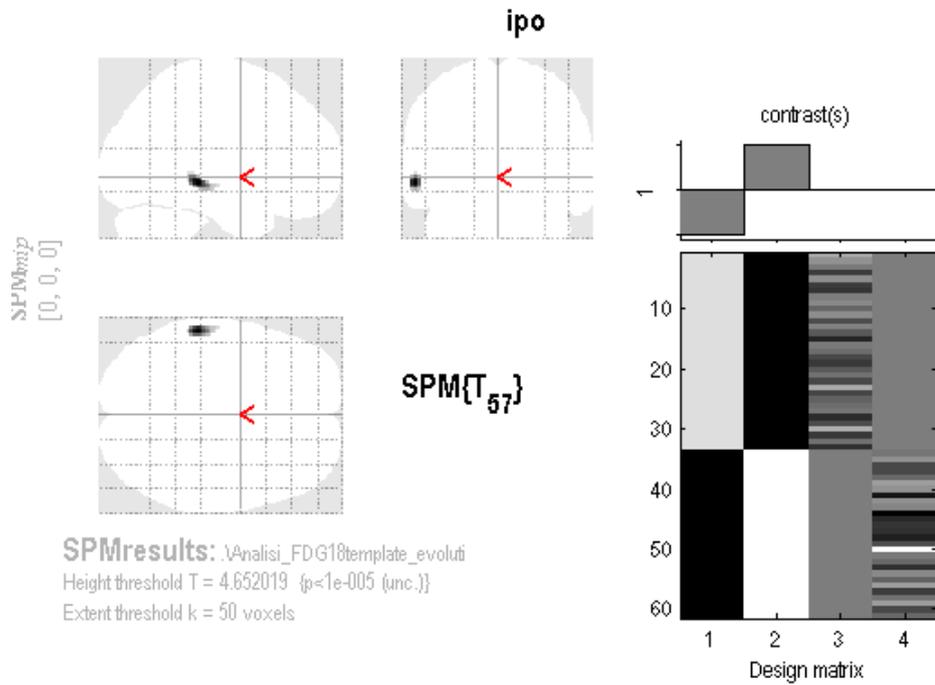
**Statistics: p-values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm		
p	c	p <sub>corrected</sub>	k <sub>E</sub>	p <sub>uncorrected</sub>	p <sub>FWE-corr</sub>	p <sub>FDR-corr</sub>	T	(Z <sub>max</sub> )	p <sub>uncorrected</sub>			
0.000	3	0.000	554	0.000	0.002	0.002	6.34	5.49	0.000	56	-2	20
						0.008	0.002	5.97	5.24	0.000	64	-6
			76	0.013	0.033	0.003	5.52	4.92	0.000	58	-22	28
			63	0.022	0.066	0.003	5.29	4.75	0.000	-48	-4	16
					0.102	0.004	5.14	4.64	0.000	-20	8	8

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: T = 4.65, p = 0.000 (0.374) {p<1e-005 (unc.)} Degrees of freedom = [1.0, 57.0]  
 Extent threshold: k = 50 voxels, p = 0.038 (0.018) FWHM = 12.4 13.5 15.5 mm mm mm; 6.2 6.7 7.7 {voxels};  
 Expected voxels per cluster, <k> = 11.212 Volume: 3979032 = 497379 voxels = 1476.0 resels  
 Expected number of clusters, <c> = 0.02 Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 324.04 voxels)  
 Expected false discovery rate, <c> = 0.01

Figura 8.14: Mappa statistica di ipermetabolismo presente nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2,effettuata con il template  $[^{18}F]$ -FDG. A destra vi è la matrice di design.



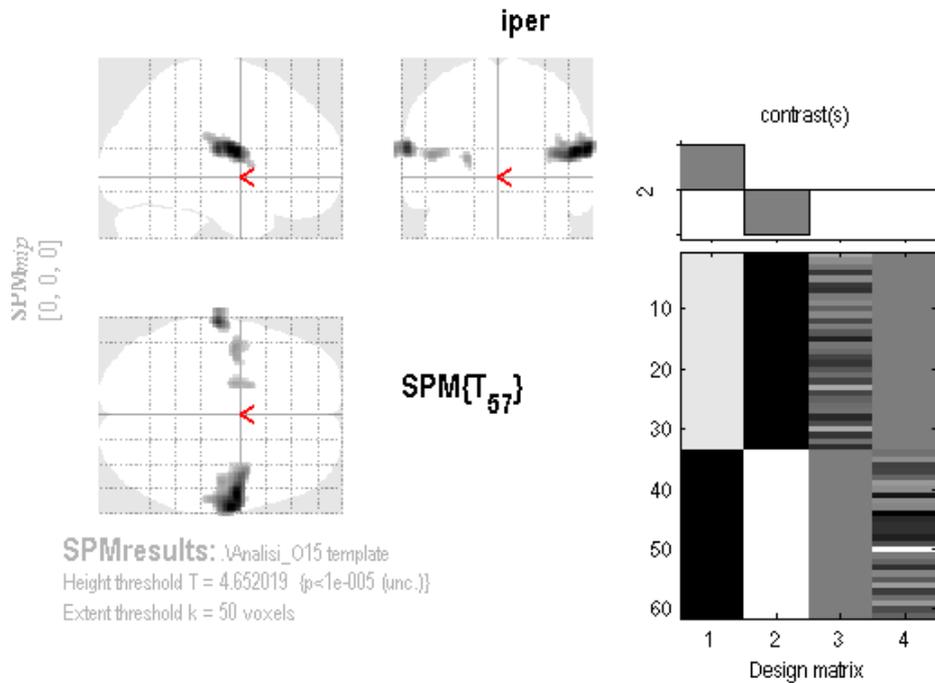
**Statistics: p-values adjusted for search volume**

cluster-level			voxel-level					mm mm mm		
$P_{corrected}$	k	$P_{uncorrected}$	$P_{R/B-corr}$	$P_{FDR-corr}$	T	$(Z_{\text{max}})$	$P_{uncorrected}$			
0.008	70	0.017	0.051	0.038	5.38	4.82	0.000	-58	-30	-4

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: T = 4.65, p = 0.000 (0.374) {p<1e-005 (unc.)}	Degrees of freedom = [1.0, 57.0]
Extent threshold: k = 50 voxels, p = 0.038 (0.018)	FWHM = 12.4 13.5 15.5 mm mm mm; 6.2 6.7 7.7 {voxels};
Expected voxels per cluster, <k> = 11.212	Volume: 3979032 = 497379 voxels = 1476.0 resels
Expected number of clusters, <c> = 0.02	Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 324.04 voxels)
Expected false discovery rate, <= 0.04	

Figura 8.15: Mappa statistica di ipometabolismo presente nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2, effettuata con il template  $[^{18}F]$ -FDG. A destra vi è la matrice di design.



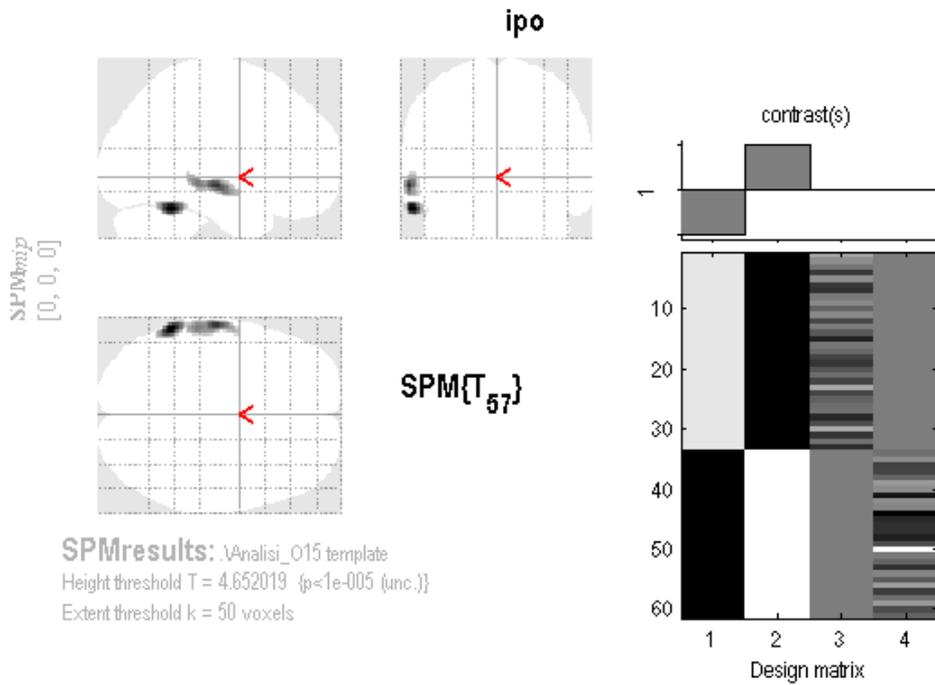
**Statistics: *p*-values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm			
$p$	$c$	$p_{\text{corrected}}$	$k$	$E$	$p_{\text{uncorrected}}$	$p_{\text{R}/\text{Bcorr}}$	$p_{\text{FDR-corr}}$	$T$	$(Z_{\text{c}})$	$p_{\text{uncorrected}}$			
0.000	4	0.000	724	0.000	0.001	0.001	6.53	5.62	0.000	0.000	56	-2	18
					0.095	0.002	5.18	4.67	0.000	0.000	46	-12	22
		0.000	171	0.001	0.006	0.001	6.08	5.31	0.000	0.000	-64	-16	20
		0.003	90	0.007	0.077	0.002	5.25	4.72	0.000	0.000	-46	-4	16
		0.013	57	0.026	0.105	0.002	5.14	4.64	0.000	0.000	-22	-4	14
					0.152	0.002	5.01	4.54	0.000	0.000	-20	6	10

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold:  $T = 4.65$ ,  $p = 0.000$  (0.381)  $\{p < 1e-005 \text{ (unc.)}\}$  Degrees of freedom = [1.0, 57.0]  
 Extent threshold:  $k = 50$  voxels,  $p = 0.036$  (0.017) FWHM = 12.5 13.5 14.9 mm mm mm; 6.2 6.8 7.5 {voxels};  
 Expected voxels per cluster,  $\langle k \rangle = 10.915$  Volume: 3974456 = 496807 voxels = 1514.3 resels  
 Expected number of clusters,  $\langle c \rangle = 0.02$  Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 315.47 voxels)  
 Expected false discovery rate,  $\leq 0.00$

Figura 8.16: Mappa statistica di ipermetabolismo presente nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2, effettuata con il template  $[^{15}\text{O}] - \text{H}_2\text{O}$ . A destra vi è la matrice di design.



**Statistics: p-values adjusted for search volume**

set-level		cluster-level			voxel-level					mm mm mm			
$p$	$c$	$p_{corrected}$	$k$	$E$	$p_{uncorrected}$	$p_{FWE-corr}$	$p_{FDR-corr}$	$T$	$Z_{max}$	$p_{uncorrected}$			
0.000	2	0.001	116	0.003	0.011	0.010	5.87	5.17	0.000	-60	-48	-22	
		0.000	192	0.000	0.030	0.010	5.56	4.95	0.000	-62	-16	-6	
					0.089	0.010	5.20	4.68	0.000	-60	-30	-4	

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold:  $T = 4.65$ ,  $p = 0.000$  (0.381)  $\{p < 1e-005$  (unc.)} Degrees of freedom = [1.0, 57.0]  
 Extent threshold:  $k = 50$  voxels,  $p = 0.036$  (0.017) FWHM = 12.5 13.5 14.9 mm mm mm; 6.2 6.8 7.5 {voxels};  
 Expected voxels per cluster,  $\langle k \rangle = 10.915$  Volume: 3974456 = 496807 voxels = 1514.3 resels  
 Expected number of clusters,  $\langle c \rangle = 0.02$  Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm; (resel = 315.47 voxels)  
 Expected false discovery rate,  $\leq 0.01$

Figura 8.17: Mappa statistica di ipometabolismo presente nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2, effettuata con il template  $[^{15}O] - H_2O$ . A destra vi è la matrice di design.

## 8.8 Analisi tramite Cortex ID di pazienti sottoposti al farmaco Vyzamil

Vyzamil è un radiofarmaco contenente il principio attivo flutemetamolo ( $^{18}F$ ) che, iniettato nel paziente sottoposto ad esame PET, permette la rilevazione delle placche amiloidi cerebrali, che a loro volta possono essere sintomo di AD. Tramite Cortex ID sono stati analizzati 5 pazienti con sospetta sindrome di Alzheimer. Per ciascuno di essi verranno presentati gli Z-score di ogni area cerebrale presa in esame, normalizzati al ponte di Varolio. Uno Z-score alto e positivo indica la presenza di placche amiloidi in quella zona del cervello:

1. Paziente 1: viene registrato uno Z-score pari a circa 3 deviazioni standard nella corteccia sensomotora, e superiore a 2 nella corteccia prefrontale. Viene evidenziata la presenza di placche in vaste aree cerebrali con Z-score superiori a una deviazione standard, con l'eccezione dei lobi temporali mesiali e del cervelletto, che storicamente non sono sede di depositi amiloidei. Deviazioni dalla media di questa intensità vengono considerate lievi, e possono indicare la presenza di MCI non ancora degenerata in malattia di Alzheimer.
2. Paziente 2: Lo Z-score calcolato è superiore a 4 deviazioni standard in tutte le aree cerebrali con l'eccezione del cervelletto e dei lobi temporali mesiali. Rispetto al paziente precedente il deposito amiloideo sotto forma di placche risulta essere molto più abbondante ed esteso.
3. Pazienti 3, 6, 8 e 9: Lo Z-score calcolato per questi pazienti è negativo in tutta l'area cerebrale; questo permette di escludere la presenza di MCI.
4. Paziente 4: Lo Z-score calcolato dal confronto con il gruppo dei normali è in quasi tutta l'area cerebrale compreso tra le 3 e le 4 deviazioni standard. Vi è sicuramente presenza di placche amiloidee, ma per stabilire o meno una diagnosi di AD conclamato si rende necessaria una valutazione medica specifica.
5. Paziente 5: La deviazione dalla media è misurata tra le 3 e le 8 deviazioni standard in relazione all'area cerebrale. La presenza di placche amiloidi così estese è sicuramente indice della probabile presenza di MCI con alte probabilità di degenerare in AD.
6. Paziente 7: Lo Z-score di questo paziente si presenta superiore alle 4 deviazioni standard per le aree del precuneo, cingolata posteriore e parietale. Per la maggiore parte delle altre aree lo Z-score si presenta compreso tra le 2 e le 3 deviazioni standard. Questa è una situazione da monitorare, poichè una differenza importante

di Z-score tra aree cerebrali diverse può indicare la possibilità di una degenerazione successiva.

7. Paziente 10: Questo paziente presenta uno Z-score superiore alla soglia dei normali solo nella zona del precuneo e nella zona temporale laterale. Si rendono necessarie valutazioni mediche ulteriori.

Le immagini da 8.18 a 8.27 forniscono i dati degli Z-score applicati alle diverse regioni cerebrali.

## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** VP 1.0 mIn  
**Inj.Dose :** 186.59 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.59	1.96
Prefrontal R	0.59	2.17
Prefrontal L	0.59	2.04
Anterior Cingulate R	0.59	1.63
Anterior Cingulate L	0.64	1.79
Precuneus PostCing R	0.57	1.36
Precuneus PostCing L	0.62	1.95
Parietal R	0.56	1.16
Parietal L	0.59	2.15
Temporal Lateral R	0.59	1.55
Temporal Lateral L	0.57	1.03
Occipital R	0.52	-0.38
Occipital L	0.58	0.92
Sensorimotor R	0.66	2.90
Sensorimotor L	0.67	3.04
Temporal Mesial R	0.39	-3.51
Temporal Mesial L	0.38	-3.76
Cerebellum Grey	0.35	-1.75
Cerebellum Whole	0.43	-1.53
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		

Right Lateral

Left Lateral

Right Medial

Left Medial

Anterior

Posterior



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.18: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 1

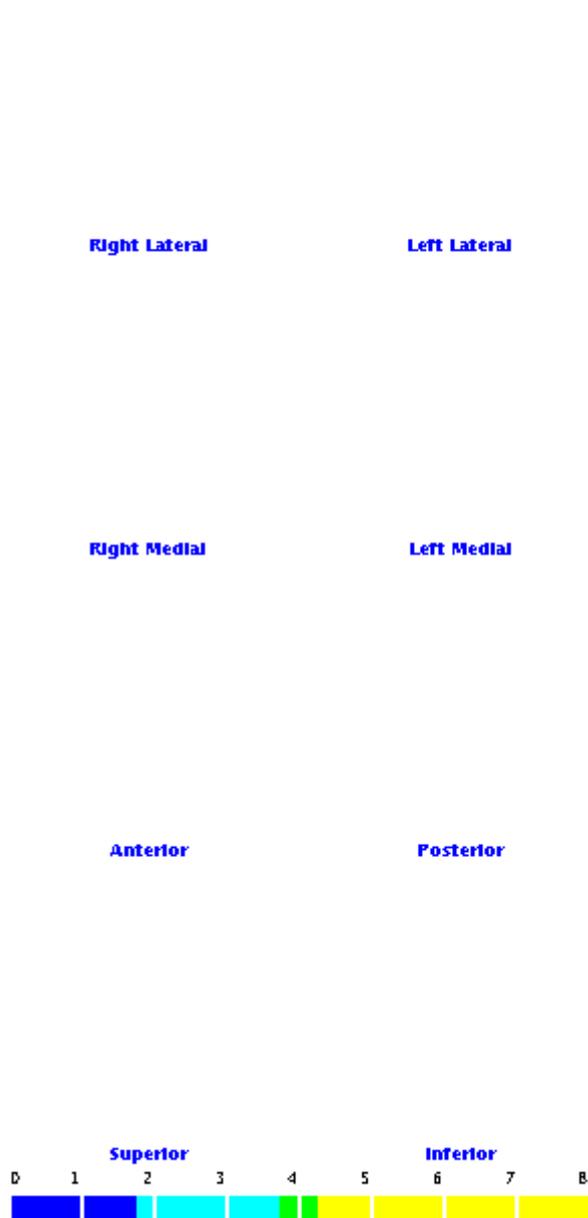
## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** VP 20 min  
**Inj.Dose :** 187.71 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET BRAIN VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.87	8.24
Prefrontal R	0.85	7.17
Prefrontal L	0.82	6.41
Anterior Cingulate R	0.89	6.55
Anterior Cingulate L	0.91	5.91
Precuneus PostCing R	0.99	9.35
Precuneus PostCing L	0.95	8.21
Parietal R	0.90	8.19
Parietal L	0.82	6.73
Temporal Lateral R	0.87	8.38
Temporal Lateral L	0.86	8.21
Occipital R	0.72	4.25
Occipital L	0.69	3.38
Sensorimotor R	0.71	3.85
Sensorimotor L	0.65	2.68
Temporal Mesial R	0.55	0.94
Temporal Mesial L	0.56	1.06
Cerebellum Grey	0.39	-0.47
Cerebellum Whole	0.47	-0.29
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.19: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 2

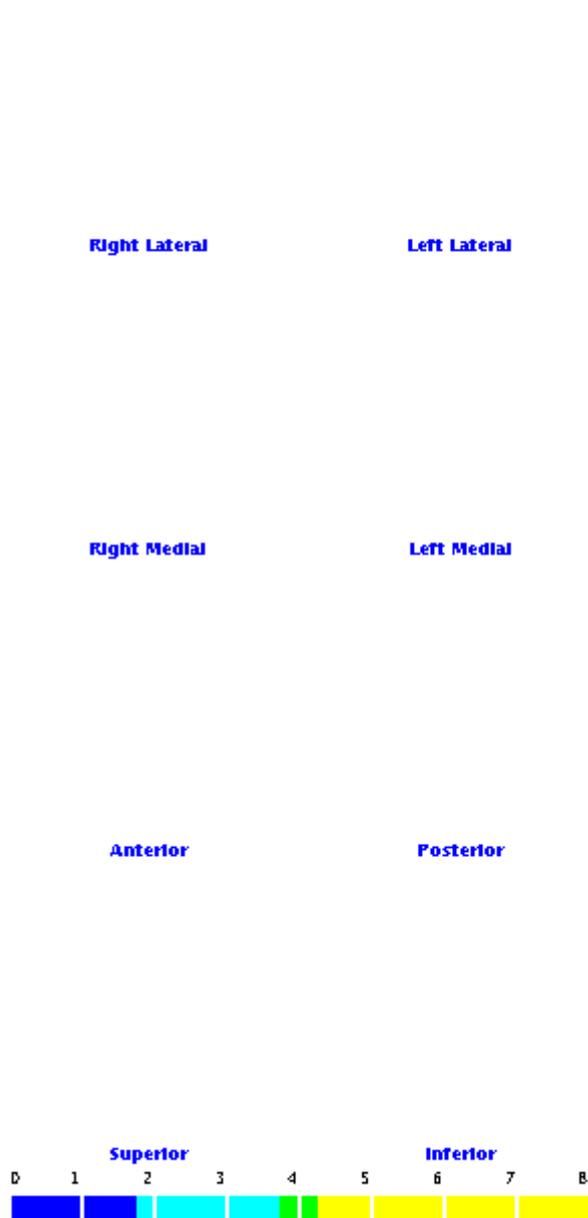
## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** QC 10 min  
**Inj.Dose :** 176.59 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET BRAIN VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.45	-1.21
Prefrontal R	0.40	-1.58
Prefrontal L	0.39	-1.63
Anterior Cingulate R	0.37	-1.94
Anterior Cingulate L	0.46	-1.07
Precuneus PostCing R	0.40	-1.85
Precuneus PostCing L	0.41	-2.16
Parietal R	0.49	-0.33
Parietal L	0.48	-0.16
Temporal Lateral R	0.52	-0.29
Temporal Lateral L	0.52	-0.11
Occipital R	0.51	-0.65
Occipital L	0.49	-1.34
Sensorimotor R	0.44	-1.19
Sensorimotor L	0.41	-1.80
Temporal Mesial R	0.43	-2.37
Temporal Mesial L	0.46	-1.54
Cerebellum Grey	0.34	-1.91
Cerebellum Whole	0.42	-2.18
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.20: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 3

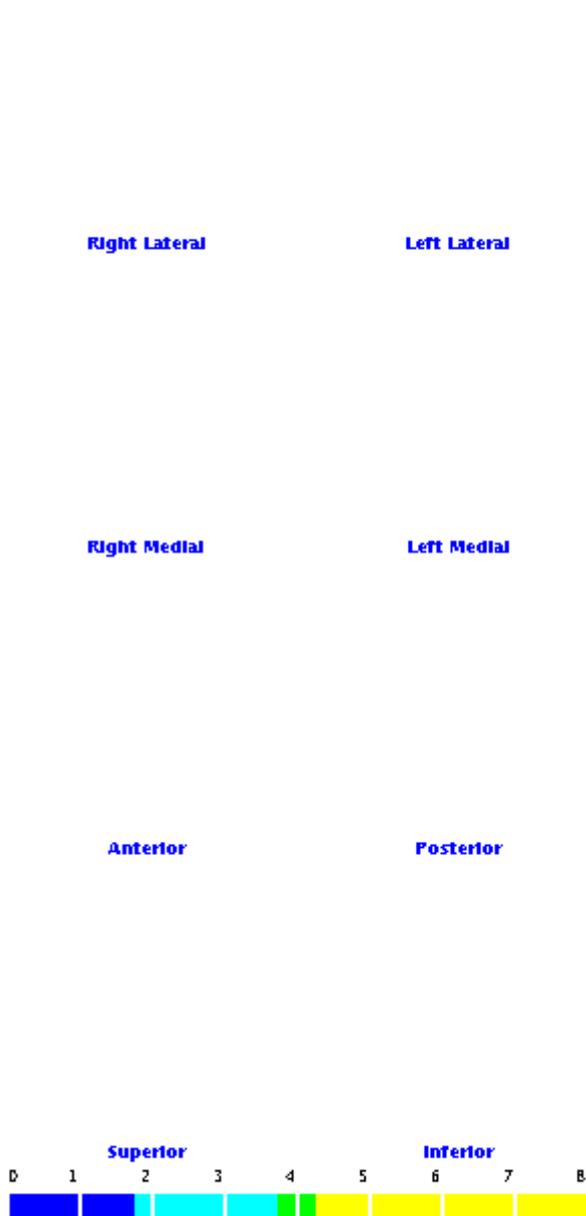
## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** QC 10 min  
**Inj.Dose :** 181.15 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET BRAIN VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.70	4.41
Prefrontal R	0.74	5.00
Prefrontal L	0.72	4.46
Anterior Cingulate R	0.73	3.87
Anterior Cingulate L	0.78	3.93
Precuneus PostCing R	0.72	4.20
Precuneus PostCing L	0.70	3.38
Parietal R	0.65	3.10
Parietal L	0.60	2.25
Temporal Lateral R	0.70	4.08
Temporal Lateral L	0.65	3.19
Occipital R	0.61	1.54
Occipital L	0.58	0.77
Sensorimotor R	0.60	1.67
Sensorimotor L	0.61	1.88
Temporal Mesial R	0.45	-1.83
Temporal Mesial L	0.45	-1.86
Cerebellum Grey	0.37	-1.14
Cerebellum Whole	0.45	-0.89
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.21: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 4

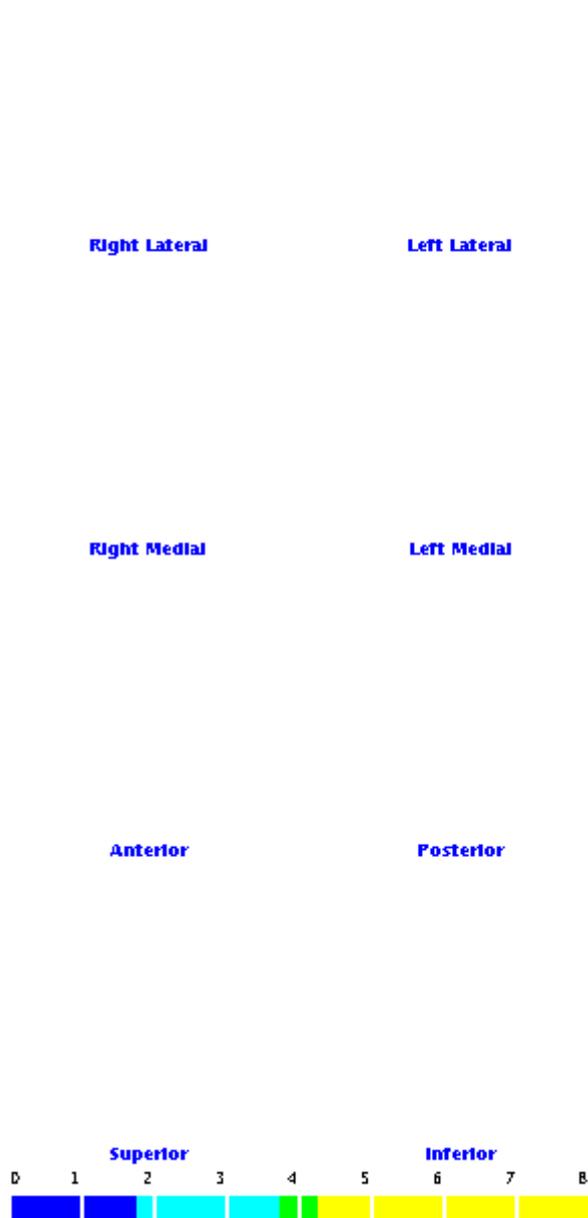
## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** VP 1.0 mIn  
**Inj.Dose :** 194 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.84	7.68
Prefrontal R	0.87	7.50
Prefrontal L	0.82	6.41
Anterior Cingulate R	0.86	6.10
Anterior Cingulate L	0.91	5.95
Precuneus PostCing R	0.93	8.35
Precuneus PostCing L	0.92	7.64
Parietal R	0.89	8.05
Parietal L	0.82	6.61
Temporal Lateral R	0.84	7.52
Temporal Lateral L	0.73	5.03
Occipital R	0.68	3.25
Occipital L	0.67	3.00
Sensorimotor R	0.76	4.70
Sensorimotor L	0.71	3.85
Temporal Mesial R	0.57	1.41
Temporal Mesial L	0.53	0.39
Cerebellum Grey	0.40	-0.11
Cerebellum Whole	0.50	0.73
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.22: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 5

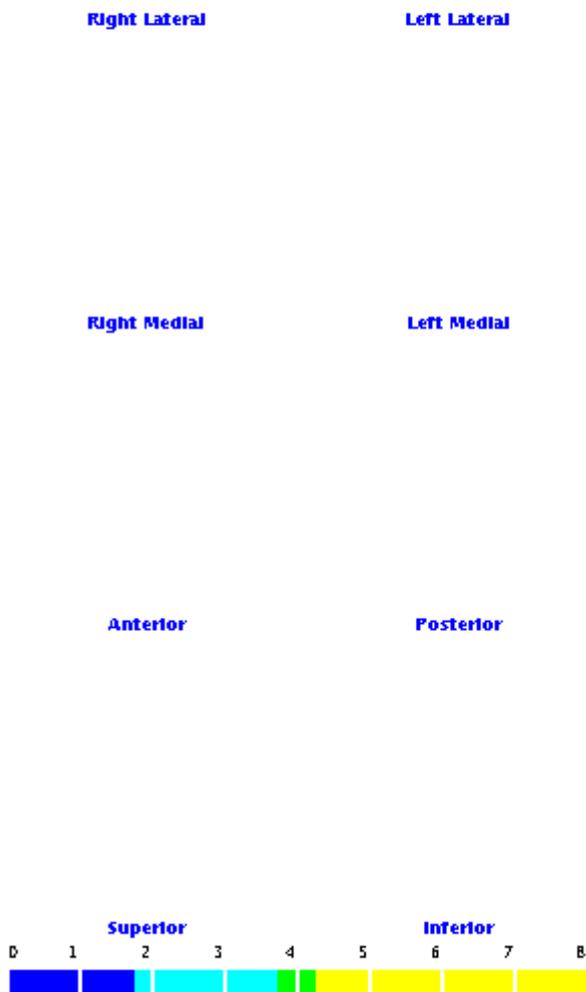
## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** VP 1.0 mIn  
**Inj.Dose :** 181.15 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET BRAIN VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.45	-1.07
Prefrontal R	0.45	-0.67
Prefrontal L	0.46	-0.31
Anterior Cingulate R	0.50	0.19
Anterior Cingulate L	0.53	0.11
Precuneus PostCing R	0.47	-0.51
Precuneus PostCing L	0.49	-0.56
Parietal R	0.42	-1.65
Parietal L	0.42	-1.37
Temporal Lateral R	0.44	-2.10
Temporal Lateral L	0.45	-1.72
Occipital R	0.48	-1.35
Occipital L	0.48	-1.54
Sensorimotor R	0.48	-0.57
Sensorimotor L	0.49	-0.21
Temporal Mesial R	0.40	-3.20
Temporal Mesial L	0.40	-3.28
Cerebellum Grey	0.32	-2.58
Cerebellum Whole	0.40	-2.75
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.23: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 6

## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** VP 20 min  
**Inj.Dose :** 185.79 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.66	3.57
Prefrontal R	0.58	1.89
Prefrontal L	0.63	2.83
Anterior Cingulate R	0.63	2.33
Anterior Cingulate L	0.72	3.03
Precuneus PostCing R	0.75	4.83
Precuneus PostCing L	0.77	4.73
Parietal R	0.71	4.40
Parietal L	0.64	3.06
Temporal Lateral R	0.69	3.91
Temporal Lateral L	0.68	3.85
Occipital R	0.66	2.80
Occipital L	0.57	0.51
Sensorimotor R	0.57	1.22
Sensorimotor L	0.62	2.13
Temporal Mesial R	0.51	-0.16
Temporal Mesial L	0.52	0.09
Cerebellum Grey	0.32	-2.59
Cerebellum Whole	0.43	-1.78
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		

Right Lateral

Left Lateral

Right Medial

Left Medial

Anterior

Posterior



Images shown have a 2 SD threshold applied

## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** QC 10 min  
**Inj.Dose :** 186.4 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.43	-1.61
Prefrontal R	0.40	-1.63
Prefrontal L	0.41	-1.27
Anterior Cingulate R	0.31	-2.91
Anterior Cingulate L	0.33	-3.09
Precuneus PostCing R	0.40	-1.82
Precuneus PostCing L	0.41	-2.22
Parietal R	0.44	-1.29
Parietal L	0.43	-1.10
Temporal Lateral R	0.49	-0.88
Temporal Lateral L	0.47	-1.24
Occipital R	0.49	-1.10
Occipital L	0.48	-1.53
Sensorimotor R	0.49	-0.37
Sensorimotor L	0.50	0.02
Temporal Mesial R	0.43	-2.54
Temporal Mesial L	0.41	-2.79
Cerebellum Grey	0.33	-2.44
Cerebellum Whole	0.38	-3.41
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		

Right Lateral

Left Lateral

Right Medial

Left Medial

Anterior

Posterior



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.25: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 8

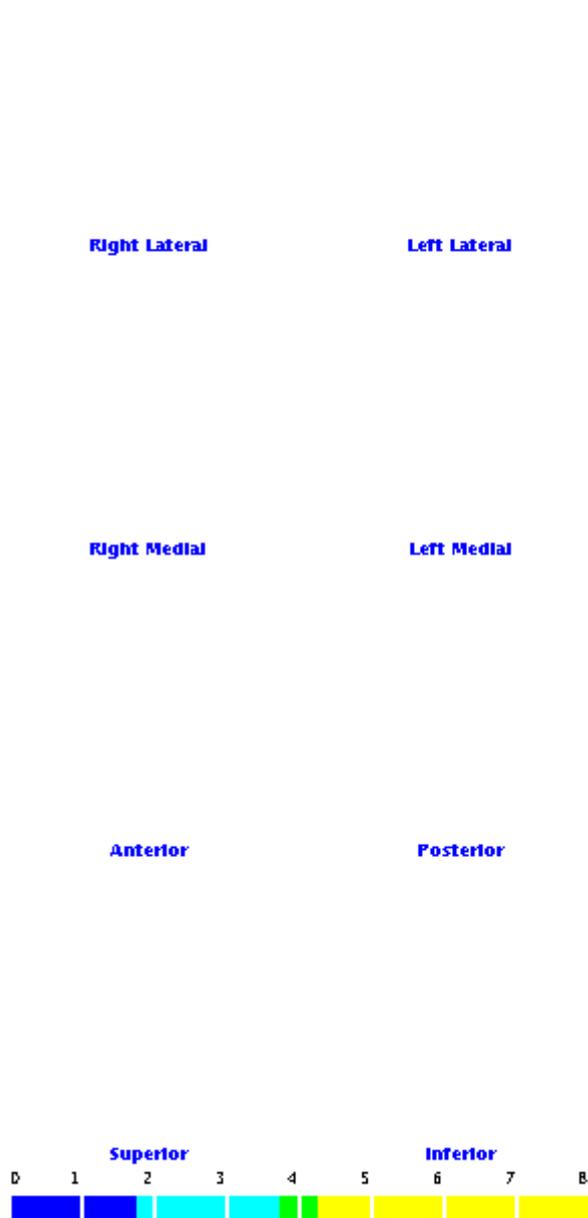
## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** VP 20 min  
**Inj.Dose :** 192.52 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.46	-0.87
Prefrontal R	0.43	-0.90
Prefrontal L	0.45	-0.60
Anterior Cingulate R	0.47	-0.37
Anterior Cingulate L	0.47	-0.84
Precuneus PostCing R	0.45	-0.91
Precuneus PostCing L	0.45	-1.47
Parietal R	0.44	-1.26
Parietal L	0.43	-1.16
Temporal Lateral R	0.51	-0.45
Temporal Lateral L	0.51	-0.30
Occipital R	0.47	-1.75
Occipital L	0.45	-2.15
Sensorimotor R	0.45	-1.07
Sensorimotor L	0.48	-0.45
Temporal Mesial R	0.47	-1.29
Temporal Mesial L	0.47	-1.37
Cerebellum Grey	0.33	-2.16
Cerebellum Whole	0.41	-2.31
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.26: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 9

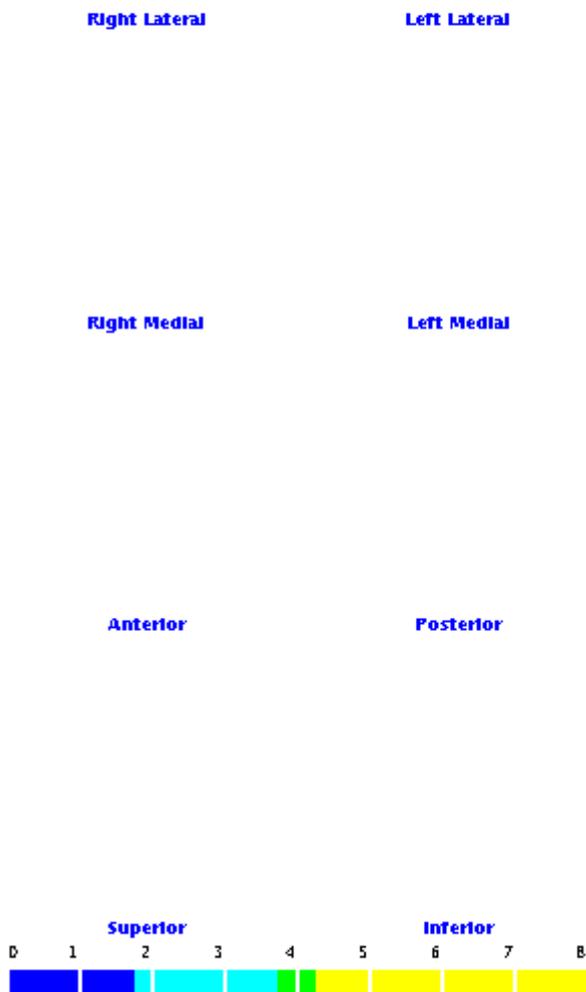
## PET Flutemetamol Test Results

**Patient :**  
**Patient Id :**  
**Ordering Provider :** Not Available  
**Reading Physician :** VP 1.0 mIn  
**Inj.Dose :** 179.53 MBq/ml Flutemetamol

**Age :**  
**Test Date :**  
**Birth Date :**  
**Exam :** PET VIZAMYL LATE  
**Scanner :** GE MEDICAL SYSTEMS Discovery IQ

### Z-Score Images

Region	Uptake Ratio	Z-Score
Composite	0.57	1.63
Prefrontal R	0.50	0.29
Prefrontal L	0.54	1.13
Anterior Cingulate R	0.58	1.39
Anterior Cingulate L	0.67	2.23
Precuneus PostCing R	0.58	1.56
Precuneus PostCing L	0.63	2.09
Parietal R	0.56	1.13
Parietal L	0.56	1.56
Temporal Lateral R	0.63	2.37
Temporal Lateral L	0.66	3.26
Occipital R	0.58	0.83
Occipital L	0.59	1.00
Sensorimotor R	0.51	0.10
Sensorimotor L	0.51	0.08
Temporal Mesial R	0.51	-0.23
Temporal Mesial L	0.51	-0.32
Cerebellum Grey	0.41	0.08
Cerebellum Whole	0.49	0.26
Pons	1.00	0.00
Reference Region: Pons		



Images shown have a 2 SD threshold applied

Figura 8.27: Rapporto di Uptake Ratio e Z-score per il paziente 10

## Conclusioni

Le analisi effettuate sui pazienti hanno dato esito positivo. Sia utilizzando SPM sia con il metodo SSP Z-score è stato infatti possibile identificare le aree cerebrali coinvolte nel decadimento cognitivo dovuto alla demenza. In particolare l'uso del metodo statistico SPM, con relativo software dedicato, ha permesso di capire a livello quantitativo se fossero presenti zone cerebrali legate a fenomeni di ipometabolismo. I casi studiati, che hanno compreso anche pazienti con malattia di Cogan e malattia di Bechet, sono stati tutti condotti scegliendo un p-value minore di 0.05 corretto FWE, secondo la *Random Field Theory*. In un caso di sospetta demenza dovuta alla malattia di Alzheimer sono state evidenziate ampie regioni di ipometabolismo, e si può quindi avere conferma statistica del rigetto dell'ipotesi nulla, ovvero che vi sia una differenza significativa nel confronto tra paziente e gruppo di individui sani. In un altro caso le analisi hanno evidenziato la presenza di cluster di dimensione molto piccola e sparsi in tutta l'area cerebrale (ipotesi nulla non rigettata). Ciò non permette di escludere la presenza della malattia, ma costituisce sicuramente un fattore di giudizio che peserà sulla valutazione medica.

Le analisi condotte sui pazienti con sindrome di Cogan registrano la presenza di un comportamento anomalo di alcune zone cerebrali rispetto ad individui sani. Diviene però difficile trovare delle analogie tra le zone interessate nei diversi pazienti, anche se può essere notata, soprattutto in un caso, una simmetria tra emisferi cerebrali, che solitamente è indice della bontà dell'analisi. Un maggior numero di casi sarebbe ovviamente auspicabile per trarre conclusioni più approfondite sull'effetto che la malattia causa a livello cerebrale. È possibile fare un discorso analogo per il caso della malattia di Bechet: la zone cerebrali evidenziate non consentono di determinare aree cerebrali specifiche colpite dalla malattia.

Successivamente, sempre tramite l'uso di SPM, sono state condotte analisi per valutare il decorso di alcuni pazienti che hanno presentato evoluzioni cliniche diverse partendo da uno stato di MCI: uno dei due gruppi presentava un'evoluzione della malattia sfociata infine in morbo di Alzheimer, mentre l'altro nello stesso periodo temporale non mostrava segni visibili di cambiamento. L'analisi, effettuata senza l'ausilio della correzione FWE, mostra la presenza sia di ipermetabolismo sia di ipometabolismo, evidenziando un fenomeno di compensazione tra regioni cerebrali diverse. Da notare come la modalità scelta per l'analisi sia quella tra gruppi, che permette un confronto tra più elementi di gruppi con caratteristiche o, come in questo caso, evoluzioni diverse nel tempo partendo da uno stato comune. Sono stati utilizzati due template diversi al fine sia di verificare la bontà del processo, sia di valutare i miglioramenti che un template, costruito utilizzando il [ $^{18}F$ ]-FDG, porta rispetto ad uno costruito con [ $^{15}O$ ] -  $H_2O$ . Le aree evidenziate sono le stesse, ma si registra una riduzione in termini di voxel presenti nel cluster di circa il 25% per l'analisi ipermetabolica, e del 40% per quella ipometabolica. In un'ottica conservati-

va, questo risultato è importante poichè garantisce una presenza minore di falsi positivi con l'utilizzo del template [ $^{18}F$ ]-FDG. La possibilità futura di utilizzare una casistica più ampia potrebbe permettere un'analisi migliore, come l'utilizzo di una condizione molto stringente come il FWE.

Passando alle analisi effettuate con metodo SSP Z-score per l'identificazione di  $\beta$ -amiloide, i casi esaminati hanno fornito i seguenti risultati:

1. Nel 40% dei casi non vengono riscontrati Z-score che si discostano dalla media fornita dai casi di controllo considerati sani.
2. Nel 30% dei casi viene rilevata una differenza superiore alle 3 deviazioni standard in vaste aree cerebrali. Ciò indica alte probabilità di contrarre o aver già contratto il MCI, con possibilità future di una degenerazione in AD.
3. Nel restante 30% dei casi, pur evidenziando una differenza dalla media tra le 2 e le 3 deviazioni standard in alcune aree cerebrali, si rende necessaria una ulteriore valutazione medica per l'accertamento della presenza di MCI.

In ultima analisi, i due metodi di valutazione si sono rivelati efficaci per la capacità di rispondere all'esigenza di una misura quantitativa dell'impatto che malattie come l'AD hanno sul cervello. Ulteriori valutazioni future con la possibilità di utilizzare una casistica più ampia potranno portare all'identificazione di metodi per distinguere in maniera sempre più efficace i casi di MCI da AD conclamato, e fornire in futuro uno strumento per l'individuazione dei soggetti che, dagli stadi più lievi della malattia, evolveranno in casi di malattia di Alzheimer conclamata.

# Bibliografia

- [1] Enciclopedia della Scienza e della Tecnica 2007
- [2] Maurizio Dondi e Raffaele Giubbini, *Medicina nucleare nella pratica clinica*, 2003, ISBN 88-555-2728-2.
- [3] Henkin et al.: *Nuclear Medicine* 2nd Ed.
- [4] Levin C.G., *Positron Emission Tomography I: Images Reconstruction Strategy*, Department of Radiology and Molecular Imaging Program, Stanford University School of Medicine, 2005.
- [5] World Alzheimer Report 2009-2015
- [6] K.Ishii, Pet approaches for diagnosis of Dementia
- [7] Kelloff GJ, Hoffman JM, Johnson B, Scher HI, Siegel BA, Cheng EY, Cheson BD, O'shaughnessy J, Guyton KZ, Mankoff DA, Shankar L, Larson SM, Sigman CC, Schilsky RL, Sullivan DC (2005). *Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development*. Clin Cancer Res. 11: 2785-2808.
- [8] Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. *Imaging Brain Amyloid in Alzheimer's Disease with Pittsburgh Compound-B*. Ann Neurol 2004;55:306-319.
- [9] DICOM site: <http://dicom.nema.org/>
- [10] J. Talairach and P. Tournoux, *Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-Dimensional Proportional System - an Approach to Cerebral Imaging*, Thieme Medical Publishers, New York, NY, 1988
- [11] Collins, D.L., Neelin, P., Peters, T.M., Evans, A.C., 1994. *Automatic 3-D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space*. J. Comput. Assist. Tomogr. 18 (2), 192-205.

- [12] Evans, A.C., Collins, D.L., Milner, B., 1992a. *An MRI-based stereotaxic atlas from 250 young normal subjects*. Proc 22nd Annual Symposium, Society for Neuroscience, 18, p. 408.
- [13] Evans, A.C., Marrett, S., Neelin, P., Collins, D.L., Worsley, K., Dai, W., Milot, S., Meyer, E., Bub, D., 1992b. *Anatomical mapping of functional activation in stereotactic coordinate space*. NeuroImage 1 (1), 43-63.
- [14] Evans, A.C., Collins, D.L., Mills, S.R., Brown, E.D., Kelly, R.L., Peters, T.M., 1993. *3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes*. Proc IEEE-Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, pp. 1813-1817.
- [15] Pasquale Anthony Della Rosa, Chiara Cerami, Francesca Gallivanone, Annapao-la Prestia, Anna Caroli, Isabella Castiglioni, Maria Carla Gilardi, Giovanni Frisoni, Karl Friston, John Ashburner, Daniela Perani and the EADC-PET Consortium, *A Standardized [18F]-FDG-PET Template for Spatial Normalization in Statistical Parametric Mapping of Dementia* Published online: 22 June 2014
- [16] Daniela Perani, Leonardo Iaccarino, Valentino Bettinardi. *The need for "objective measurements" in FDG and amyloid PET neuroimaging*. Published online: 5 August 2014
- [17] John Ashburner and Karl J. Friston. *Nonlinear Spatial Normalization Using Basis Functions Human Brain Mapping*. 7:254-266(1999)
- [18] John Ashburner and Karl J. Friston. *Human Brain Function section 2 Modeling: general linear model* pp 2-16 pp 23-25, *contrasts and classical inference* pp 7-9 pp 12-14
- [19] <https://onlinecourses.science.psu.edu/stat502>
- [20] R. Henson and W. Penny. *ANOVAs and SPM*. Institute of Cognitive Neuroscience, Wellcome Department of Imaging Neuroscience, University College London. July 12, 2005 ,pp 7-8
- [21] Neil Salkind (Ed.), *Encyclopedia of Research Design*. Thousand Oaks, CA: Sage. 2010  
*The Greenhouse-Geisser Correction* Hervè Abdi pp. 1-4
- [22] Matthew Brett, Will Penny and Stefan Kiebel. *An Introduction to Random Field Theory*. MRC Cognition and Brain Sciences Unit, Cambridge UK; Functional Imaging Laboratory, Institute of Neurology, London, UK.

- [23] Frederik Maes, André Collignon, Dirk Vandermeulen, Guy Marchal, Paul Suetens KU Leuven. *Multi-modality Image Registration By Maximization of Mutual Information*. Laboratory for Medical Imaging Research Radiologie-ESAT, UZ Gasthuisberg, Herestraat 49, B-3000 Leuven, Belgium
- [24] Josien P. W. Pluim, J. B. Antoine Maintz and Max A. Viergever. *Mutual information based registration of medical images: a survey*
- [25] Thie JA. *Understanding the standardized uptake value, its methods, and implications for usage*. J Nucl Med 2004; 45: 1431-1434.
- [26] Satoshi Minoshima, Kirk A. Frey, Robert A. Koeppe, Norman L. Foster and David E. Kuhl. *A Diagnostic Approach in Alzheimer's Disease Using Three-Dimensional Stereotactic Surface Projections of Fluorine-18-FDG PET*. Jan. 25,1995.

# Lista degli acronimi in ordine alfabetico

3D-SSP-Stereotactical Surface Projection 3D

AC-PC- Anterior e Posterior Commissure

ACF-Attenuation Correction Factor

AD-Alzheimer Disease

ANCOVA-ANalysis Of COVariance

ANOVA-ANalysis Of VAriance

CT-Computed Tomography

DCT e DST-Discrete sin(cosine) Transform

DICOM-Digital Imaging and COmmunications in Medicine

EC-Euler Characteristic

EEG-Electroencephalography

fMRI-Functional Magnetic Resonance Imaging

FDG-Fluodeoxyglucose

FWE-Family Wise Error

FWHM-Full Width Half Maximum

GLM-General Linear Model

ICBM-International Consortium of Brain Mapping

LOR-Line Of Response

MAP-Maximum A Posteriori

MCI-Mild Cognitive Impairment

MEG-Magnetoencephalography

MMI-Maximization of Mutual Information

MNI-Montreal Neurological Institute

OMS-Organizzazione Mondiale Sanità

PET-Positron Emission Tomography

PiB-PIttsburgh Compound B

RFT-Random Field Theory

SPECT-Single Photon Emission Computed Tomography

SPM-Statistical Parametric Mapping

SUV-Standardized Uptake Value