

Relazione finale del terzo anno di dottorato

Dipartimento Interateneo di Fisica “Michelangelo Merlin”

Dottorato di Ricerca in Fisica – XXXI ciclo

Dottoranda: Eufemia Lella

Tutor: Prof. Roberto Bellotti, Prof. Sebastiano Stramaglia

Attività di ricerca

Introduzione

L’attività di ricerca svolta durante il terzo anno di dottorato è consistita nell’estensione del lavoro svolto durante il secondo anno dal punto di vista delle classi del problema, della metodologia e della scala di analisi. La ricerca si colloca nell’ambito della fisica medica e applica alla neuroscienza strumenti della fisica insieme a metodologie statistiche e di *machine learning*. L’obiettivo è studiare le malattie neurodegenerative a partire da dati di imaging allo scopo di individuare nuovi biomarcatori e di supportare l’attività dei medici con algoritmi e sistemi di diagnosi automatica. Particolare interesse si pone nella diagnosi precoce della malattia. In particolare il lavoro da me sviluppato in questi tre anni riguarda lo studio dell’*Alzheimer’s disease* (AD) a partire da immagini di *Diffusion Tensor Imaging* (DTI).

Tra le malattie neurodegenerative l’*Alzheimer’s disease* è la più diffusa e in crescente aumento nella popolazione mondiale. È caratterizzata da perdita di memoria e da un progressivo declino delle funzioni cognitive. Tra gli stadi della malattia, fondamentale oggetto di studio per la diagnosi precoce è lo stadio intermedio noto come *Mild Cognitive Impairment* (MCI) (Alzheimer’s Association et al., 2017). È uno stato caratterizzato da perdita di memoria che può evolvere o non evolvere nella malattia.

Esistono numerose evidenze in letteratura a supporto dell’ipotesi biologica che questo declino sia dovuto ad una perdita di connettività tra le regioni del cervello, causata da una riduzione di integrità delle fibre di materia bianca (eg. Rose et al., 2000). A causa della composizione chimica omogenea delle fibre di materia bianca, la risonanza magnetica (*magnetic resonance imaging* – MRI) convenzionale non è adatta a investigarne la struttura e le disconnessioni fisiche causate dal loro deterioramento. La DTI, invece, è una tecnica emersa negli ultimi dieci anni capace di misurare la diffusione delle molecole d’acqua lungo le fibre di materia bianca fornendo così informazioni circa la loro integrità. L’applicazione di gradienti impulsati di campo magnetico rende il segnale di risonanza magnetica sensibile al coefficiente di diffusione. Per ogni voxel dell’immagine DTI è possibile ricavare il cosiddetto tensore di diffusione, una matrice 3×3 simmetrica, che esprime la mobilità molecolare lungo ciascuna delle tre direzioni spaziali e le correlazioni tra queste direzioni. A partire dal tensore di diffusione per ogni voxel si possono calcolare degli indici di diffusione molto informativi, tra i quali i più usati sono l’anisotropia frazionaria (FA) e la diffusività media (MD), strettamente connessi all’integrità delle fibre di materia bianca (Le Bihan et al., 2001). La diffusione dell’acqua lungo un assone sano è altamente anisotropa, essendo limitata quasi completamente ad una direzione, e dunque valori alti di FA e valori bassi di MD sono indicativi di condizioni non patologiche.

Utilizzando algoritmi di trattografia a partire da immagini DTI, è possibile ricostruire i tratti fibrosi che collegano le regioni del cervello fornendo una caratterizzazione della connettività del cervello che si presta ad essere studiata con le reti complesse (Bullmore & Sporns, 2009). Il cervello può essere modellizzato come una rete i cui nodi sono le regioni e i link sono i tratti fibrosi. Ogni soggetto può essere così rappresentato da una matrice di connettività pesata in cui il peso del link è dato dal numero di fibre che connettono le regioni collegate da quel link; oppure da una matrice di connettività non pesata in cui si considera solo la presenza o assenza di connessione tra due regioni.

La maggior parte dei lavori che in letteratura hanno avuto come obiettivo la discriminazione automatica degli AD, o degli MCI, dai soggetti sani (*healthy control* – HC), a partire da immagini DTI, ha utilizzato approcci *ROI-based* o *voxel-based*. In tali approcci, le *feature* per l’addestramento dei modelli di classificazione sono nel primo caso i valori medi di FA e MD nelle regioni del cervello, nel secondo caso i valori di questi indici nei voxel dei tratti principali di materia bianca. Il lavoro svolto durante il primo anno di dottorato e nella prima parte del secondo aveva riguardato l’applicazione di un approccio di tipo voxel-based portando a due pubblicazioni scientifiche (Maggipinto et al., 2017; Lella et al., 2017).

Pochi lavori hanno invece applicato ai dati DTI la trattografia, in combinazione con la teoria dei grafi, per la medesima discriminazione automatica degli AD tramite algoritmi di apprendimento automatico. La maggior parte degli studi che applicano l'approccio basato su reti sono stati infatti mirati a rivelare differenze statisticamente significative tra i valori degli indicatori propri delle reti complesse in soggetti sani e in AD, anche allo stadio precoce. Inoltre, tutti questi lavori utilizzano metriche classiche delle reti complesse che si basano principalmente sulla *shortest path length*, ossia sul numero di link che compongono il cammino di minima lunghezza tra due nodi. Nel lavoro svolto durante la seconda parte del secondo anno erano state utilizzate le reti di connettività corticale ottenute dalle immagini DTI con l'obiettivo di investigare l'utilizzo di una metrica delle reti complesse più recente delle metriche tradizionali, la *communicability*, e di indagare le potenzialità di tale metrica nel problema di discriminazione HC/AD.

La *communicability* quantifica il grado di comunicazione tra due nodi di una rete considerando non solo il cammino di minima lunghezza, ma tutti i possibili cammini tra di essi. Questa metrica riflette la proprietà delle reti per cui l'informazione fluisce secondo un processo diffusivo e si presenta dunque come particolarmente adatta all'analisi di reti DTI del cervello. In effetti è stata già utilizzata con successo su dati DTI, per esempio per lo studio dell'ictus cerebrale (Crofts & Higham, 2009). Nel lavoro svolto durante il secondo anno di dottorato era stato effettuato uno studio comparativo tra modelli di classificazione addestrati su metriche tradizionali delle reti e modelli addestrati con la *communicability*. Inoltre, lo studio ha avuto come scopo investigare se questa metrica fosse in grado di descrivere le alterazioni di comunicazione tra regioni del cervello causate dall'AD e di individuare quali fossero le regioni maggiormente coinvolte in queste alterazioni e di verificare se, da letteratura, fossero regioni connesse alla malattia. L'applicazione di questa metrica in questo contesto di ricerca è del tutto nuova in letteratura.

Il lavoro del terzo anno ha portato a due contributi scientifici. Il primo contributo riguarda l'estensione al caso della discriminazione a tre classi HC/AD/MCI *converter* (MCI che sono convertiti in AD) della metodologia di analisi sviluppata nel secondo anno e applicata alla discriminazione HC/AD. Questo contributo ha completato quello dello scorso anno portando ad una pubblicazione scientifica su rivista (Lella et. al., 2018) e ad un lavoro presentato a conferenza. Il secondo contributo riguarda l'analisi della rete subcorticale in termini di comunicabilità tra le regioni subcorticali, notoriamente molto connesse all'AD, analisi svolta sia dal punto di vista della discriminazione automatica HC/AD che dell'individuazione di *pattern* di connettività nelle reti cerebrali degli AD.

Primo contributo: estensione del lavoro del secondo anno sull'applicazione della comunicability all'analisi delle reti corticali (caso a tre classi HC/AD/MCI)

Il lavoro svolto nella prima parte di questo terzo anno ha riguardato l'estensione del lavoro svolto l'anno scorso sulle reti di connettività corticale ottenute dalle immagini DTI. Il lavoro era consistito nell'implementazione di un algoritmo di classificazione automatica HC/AD basato sulla *communicability* e nell'individuazione delle regioni con differenze di comunicabilità tra sani e malati. Dal punto di vista della classificazione si era trovato che l'utilizzo delle *communicability* tra coppie di nodi come feature per l'addestramento dei modelli di classificazione migliorava le prestazioni ottenute utilizzando, invece, gli altri indicatori classici delle reti complesse. Dal punto di vista dell'analisi statistica tra gruppi si erano trovate 186 coppie di nodi con differenza di comunicabilità statisticamente significativa ($p\text{-value} < 0.05$) tra sani e malati e che le regioni maggiormente coinvolte in queste coppie sono regioni connesse, da letteratura, all'AD. Il lavoro della prima parte di quest'anno estende questa analisi al caso della discriminazione a tre classi HC/AD/MCI.

Materiali & Metodi

Dataset. I dati utilizzati per lo studio provengono dal database pubblico Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). Le immagini analizzate appartengono a 122 soggetti suddivisi tra donne e uomini, di cui 52 HC, 40 AD e 30 MCI *converter* (convertiti da MCI ad AD dai 3 mesi ai 5 anni dopo la data dell'esame). Le scansioni pesate in diffusione sono state acquisite con un dispositivo medico di acquisizione di immagini con risonanza magnetica a 3 Tesla.

Elaborazione delle immagini. Sono stati eseguiti i seguenti step di elaborazione delle immagini (illustrati in Fig. 1):

- a) correzione delle distorsioni dovute alle eddy current e ai movimenti della testa durante l'acquisizione delle scansioni;

- b) estrazione dell'encefalo utilizzando il *Brain Extraction Tool (BET)* di FSL;
- c) registrazione affine di tutte le immagini allo spazio standard MNI152;
- d) calcolo del tensore di diffusione per ogni voxel dell'immagine;
- e) trattografia con l'algoritmo probabilistico *ProbTrackX* da cui si sono ottenute le matrici di connettività dei soggetti. Per la parcellazione del cervello in regioni è stato utilizzato l'atlante corticale Harvard-Oxford costituito da 96 regioni, 48 per emisfero.

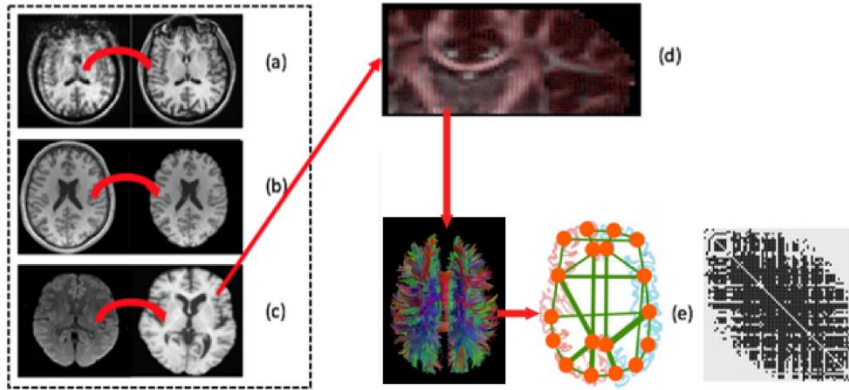


Figura 1. Step di elaborazione delle immagini DTI del cervello.

Feature extraction. Ogni soggetto è dunque rappresentato da una matrice di connettività pesata il cui elemento ij rappresenta il numero di tratti fibrosi che connettono le regioni i e j . È possibile considerare anche la matrice di connettività binaria ponendo a 1 tutti gli elementi diversi da 0. Le matrici di connettività pesate sono state normalizzate ottenendo pesi compresi tra 0 e 1.

Le matrici di connettività costituiscono una rappresentazione delle reti cerebrali le cui proprietà topologiche possono essere descritte da indicatori propri delle reti complesse. Questi indicatori costituiscono le feature che estraiamo e che descrivono i dati di partenza. Sono state calcolate le metriche classiche di link, shortest path length e *edge betweenness*, ed inoltre la comunicabilità. La shortest path length è definita come il numero di link che compongono il cammino di minima lunghezza tra due nodi, mentre l'*edge betweenness* è definita come il numero di cammini di minima lunghezza tra coppie di nodi della rete che passano per quel link (Newman et al., 2004). Queste metriche tradizionali assumono che l'informazione tra due nodi fluisca attraverso il cammino di minima lunghezza tra di essi e dunque che questa grandezza quantifichi la comunicabilità tra i due nodi. Tuttavia, in molte reti reali, ad esempio quelle sociali e le reti di comunicazione, il flusso di informazioni non può essere limitato al cammino di minima lunghezza (Hromkovic et al., 2005).

Sulla base di questa idea Estrada e Hatano (Estrada & Hatano, 2008) hanno proposto un nuovo concetto di comunicabilità, inizialmente solo per reti binarie, definendo la comunicabilità tra due nodi di una rete come una funzione del numero totale di cammini che connettono i due nodi dando più importanza a quelli con minore lunghezza. Si supponga che G sia una rete di N nodi connessi da link e che A sia la matrice di adiacenza $N \times N$, risulta che:

$$(A^k)_{pq} = \sum_{r_1=1}^N \sum_{r_2=1}^N \cdots \sum_{r_{k-1}=1}^N a_{p,r_1} a_{r_1,r_2} a_{r_2,r_3} \cdots a_{r_{k-2},r_{k-1}} a_{r_{k-1},q}$$

dove $(A^k)_{pq}$ conta il numero di cammini di lunghezza k che partano dal nodo p e terminano nel nodo q . La comunicabilità G_{pq} tra i nodi p e q è data dal numero totale di cammini, pesati in ordine decrescente di lunghezza, che connettono i due nodi nella rete G :

$$G_{pq} = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(A^k)_{pq}}{k!} = (e^A)_{pq}$$

che in termini di spettro del grafo si può riscrivere come:

$$G_{pq} = \sum_{j=1}^N \varphi_j(p) \varphi_j(q) e^{\lambda_j}$$

dove $\varphi_j(p)$ è il p -esimo elemento del j -esimo autovettore ortonormale della matrice di adiacenza associato all'autovalore λ_j .

Successivamente la definizione è stata estesa al caso delle reti pesate (Crofts & Higham, 2009). La definizione di $(A^k)_{pq}$ è ancora valida ma in questo caso A è la matrice pesata i cui elementi a_{pq} sono i pesi. Per evitare l'eccessiva influenza di un nodo a causa del suo alto peso, viene introdotto uno step di normalizzazione dividendo il peso a_{pq} per il prodotto $\sqrt{s_p s_q}$ dove s_p e s_q sono rispettivamente le strength del nodo p e del nodo q :

$$s_p = \sum_{k=1}^N a_{pk} \quad s_q = \sum_{k=1}^N a_{qk}$$

La communicability tra i nodi p e q è dunque data da:

$$G_{pq} = \left(\exp(D^{-1/2} A D^{-1/2}) \right)_{pq} \quad \text{con } D = \text{diag}(s_p)$$

I valori delle communicability tra tutte le possibili coppie di nodi sono stati utilizzati per una duplice analisi: un'analisi statistica a tre classi per individuare coppie di regioni con differenze di comunicabilità statisticamente significative nelle tre classi in esame e un confronto tra le performance di classificazione a tre classi ottenute utilizzando come feature la communicability rispetto alle altre metriche classiche.

Analisi statistica a tre classi tra HC, AD e MCI sui valori di communicability delle coppie di nodi. Il test statistico non parametrico di Kruskal–Wallis è stato effettuato per confrontare le distribuzioni dei valori di communicability per i tre gruppi HC/AD/MCI allo scopo di determinare coppie di nodi con differenza di communicability statisticamente significativa. Il test confronta le mediane dei tre gruppi e restituisce i p -value. Trattandosi di un test multiplo, condotto su tutte le coppie di nodi, il p -value è stato corretto con il metodo di *False Discovery Rate*. Se il p -value corretto relativo a una coppia di nodi è minore del livello di significatività 0.05, allora la communicability di questa coppia di nodi è significativamente differente con livello di significatività del 5%. Le coppie di nodi significative sono state individuate e confrontate con il caso a due classi.

Classificazione HC/AD/MCI. Il secondo obiettivo dell'analisi è stato lo studio comparativo tra modelli di classificazione addestrati con le metriche classiche e i modelli di classificazione addestrati utilizzando la communicability nel caso della classificazione a tre classi HC/AD/MCI. Le feature estratte dalle reti di ogni soggetto (shortest path length pesata e binaria, edge betweenness pesata e binaria, assenza o presenza del link nella rete, communicability pesata) sono state utilizzate per addestrare e testare i modelli di classificazione. La procedura di apprendimento e classificazione è stata effettuata utilizzando SVM lineare: il workflow del procedimento è rappresentato in Fig. 2. Per determinare le performance di classificazione si è effettuata una 10-fold cross validation ripetuta 50 volte. Per ogni iterazione sulle matrici di connettività dei soggetti di training sono stati effettuati due step di feature selection. La prima fase di feature selection è consistita nel calcolo di una matrice binaria rappresentativa dei soggetti sani. Per ottenerla è stata calcolata la matrice media delle matrici pesate dei soggetti sani appartenenti al training set. Questa è stata poi binarizzata secondo un test binomiale che ha stabilito di considerare un link nella matrice rappresentativa dei sani solo se questo fosse presente in più del 70% delle matrici considerate nella media. La matrice binaria così ottenuta è stata utilizzata come una “maschera” sulla quale sono state proiettate le matrici delle feature riducendone quindi la dimensione. Le feature ottenute sono state poi sottoposte ad una seconda selezione effettuata con un classificatore SVM gaussiano che, attraverso un algoritmo di *recursive feature elimination (RFE)*, restituisce un ordinamento delle feature a seconda del loro potere discriminante. Subset di feature a dimensione crescente sono stati utilizzati per addestrare il modello e per testarlo sui soggetti della fold di test valutando la performance di classificazione migliore.

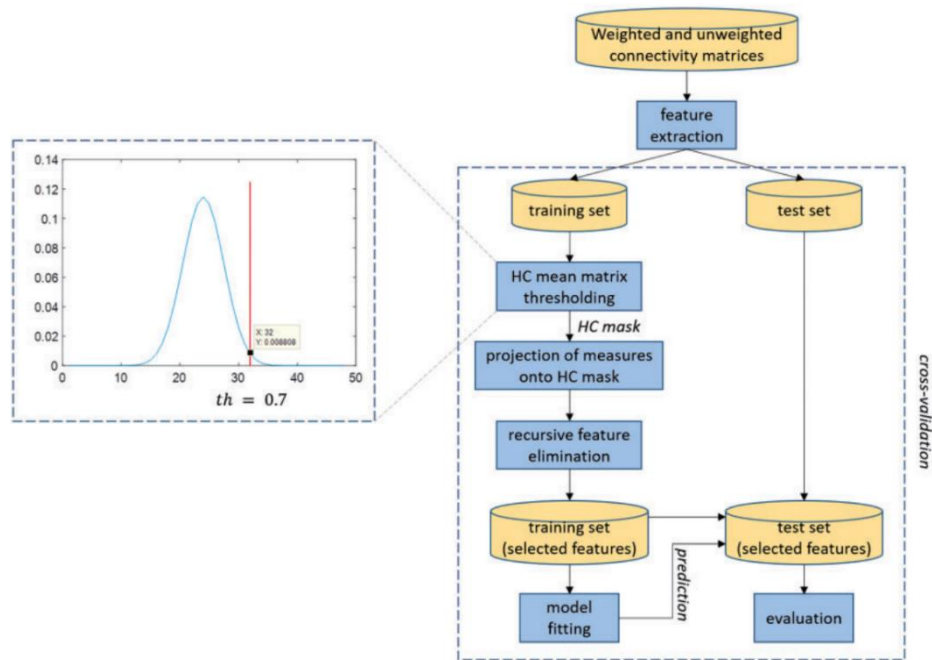


Figura 2 Workflow del processo di classificazione. Nel riquadro è presente la soglia stabilita dal test binomiale per determinare la “maschera” della matrice media dei sani su cui proiettare le feature.

Risultati sperimentali

Analisi statistica a tre classi sui valori di communicability delle coppie di nodi. Dall’analisi statistica a tre classi condotta sui valori di communicability delle coppie di nodi, 70 di queste sono risultate con differenza statisticamente significativa nel valore della metrica, al livello di significatività del 5%. Di queste coppie di nodi con communicability significativamente diversa nei tre gruppi, 63 sono in comune con le 186 trovate nel caso dell’analisi statistica a due classi HC/AD. La significatività di questa sovrapposizione è stata testata tramite un test di permutazione ($p\text{-value} < 0.01$). Le regioni maggiormente coinvolte in queste coppie di nodi sono regioni connesse all’AD, alcune ai sintomi che si presentano nella fase precoce della malattia. Per esempio, tra le aree individuate, il *Parietal Lobule* è considerata una zona di demenza preclinica (H. I. Jacobs et al. 2011) coinvolta nell’alterazione di molte funzioni cognitive tra cui la memoria, il *Supra-marginal Gyrus* è coinvolto nel declino della memoria semantica e della memoria a breve termine (Harasty et al., 1999), il *Middle Frontal Gyrus* è stato già individuato come regione di anormale connettività negli MCI (Li et al., 2017). Ancora, tra le regioni trovate c’è l’*Angular Gyrus* destro, nota in letteratura come zona in cui si presentano perdite sinaptiche collegate al declino delle funzioni di linguaggio degli AD (Yun et al., 2015), e come regione coinvolta nell’elaborazione semantica, nella scrittura, lettura e comprensione delle parole, nel calcolo numerico, nel recupero della memoria, nella cognizione spaziale e sociale (Seghier, 2013), l’*Insular Cortex* correlata alle capacità mnemoniche (Lin et al., 2017).

Classificazione HC/AD/MCI. Le performance di classificazione, mediate su tutti i round di cross-validation, sono state espresse in termini di accuracy e AUC, quest’ultima calcolata sia con la strategia “uno verso tutti” considerando come classe positiva prima gli AD e poi gli MCI, sia con la strategia “uno verso uno” (multiclass AUC). In Fig. 3 sono rappresentate le migliori performance di classificazione ottenute utilizzando come feature le singole misure di link, shortest path length pesata (Spl weighted) e binaria (Spl binary), edge betweenness pesata (Eb weighted) e binaria (Eb binary), assenza o presenza del link nella rete (Edge y/n), communicability pesata (Communicability). Nel bar plot l’altezza indica il valore medio delle prestazioni ottenute su tutte le suddivisioni in fold ottenute nei diversi round, la barra di errore indica invece lo standard error. Il valore migliore di accuracy (0.60 ± 0.02) è stato ottenuto usando la communicability, più alto del migliore ottenuto usando le metriche classiche (0.49 ± 0.02 con shortest path length pesata). L’AUC ottenuta nel caso della communicability (0.79 ± 0.02 nel caso degli AD come classe positiva e 0.72 ± 0.02 nel caso degli MCI come classe positiva) è migliore delle performance più alte ottenute con le metriche classiche, in particolare considerando la presenza o l’assenza dei link come feature (0.70 ± 0.02 nel caso degli AD come classe positiva, 0.64 ± 0.03 nel caso degli MCI come classe positiva). Allo stesso modo, anche nel caso della multiclass AUC la communicability esibisce prestazioni

migliori delle altre metriche (0.77 ± 0.02 rispetto a 0.68 ± 0.02 ottenuto con le misure classiche). In tutti i casi le differenze sono statisticamente significative al livello di significatività del 5%.

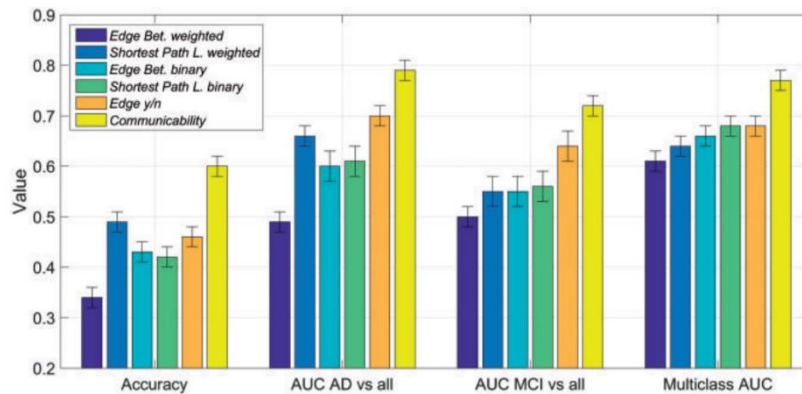


Figura 3. Migliori performance di classificazione ottenute utilizzando come feature le singole misure di link.

Secondo contributo: analisi di comunicabilità della rete sottocorticale per la discriminazione HC/AD

Il secondo contributo del terzo anno trae spunto dall'analisi finora descritta ma si focalizza su un diverso schema di parcellazione del cervello e su algoritmi di trattografia più recentemente sviluppati. Grande impegno è stato profuso in questo anno di lavoro nello sviluppo di una *pipeline* di trattografia (dai dati grezzi di ADNI alle reti DTI) basata sul pacchetto software MRtrix3 (<http://mrtrix.org>). Inoltre, utilizzando uno schema di parcellazione contenente sia le regioni corticali che subcorticali, è stato possibile focalizzare l'attenzione sulle regioni subcorticali, in particolare sulla comunicabilità di ognuna di esse con le altre regioni subcorticali e di ognuna di esse con le regioni corticali. Anche questa analisi è stata sviluppata sia da un punto di vista statistico, volto all'individuazione di pattern di connettività che discriminino sani da AD, sia dal punto di vista della classificazione per quantificare il contenuto informativo delle regioni subcorticali nella discriminazione dell'AD. L'interesse nello studiare la rete subcorticale nasce sia dal ruolo che queste regioni hanno da letteratura nell'AD, sia dal fatto che la maggior parte della letteratura esistente sulle reti di connettività DTI ha analizzato le anomalie di connettività dovute all'AD a livello globale o corticale. Non ci sono molti lavori invece che si concentrino sulle alterazioni dovute alla malattia a livello subcorticale.

Materiali & Metodi

Dataset. I dati utilizzati per lo studio provengono nuovamente da ADNI. Le immagini analizzate appartengono a 89 soggetti suddivisi tra donne e uomini, di cui 49 HC e 40 AD.

Elaborazione delle immagini. Per ogni soggetto si hanno a disposizione le immagini DTI (46 scansioni, 41 pesate in diffusione con diverse direzioni di gradiente e 5 non pesate) e un'immagine anatomica T1. Gli step della pipeline che a partire da questi dati porta alle matrici di connettività, sono rappresentati in Fig. 4 e possono essere riassunti in modo semplice nel seguente elenco:

1. Pre-elaborazione delle immagini:
 - Pre-elaborazione delle DTI (eliminazione del rumore, correzione da correnti parassite e movimento della testa, estrazione dell'encefalo, correzione del campo di bias).
 - Pre-elaborazione delle T1 (orientazione secondo l'immagine standard di riferimento MNI152, estrazione dell'encefalo, correzione del campo di bias, registrazione allo spazio standard lineare e non lineare).
2. Corregistrazione tra le DTI e le T1.
3. Trattografia probabilistica.
4. Parcellazione utilizzando l'atlante AAL2 contenente le regioni corticali e subcorticali.
5. Costruzione delle matrici di connettività a partire dalla trattografia e dallo schema di parcellazione del cervello.

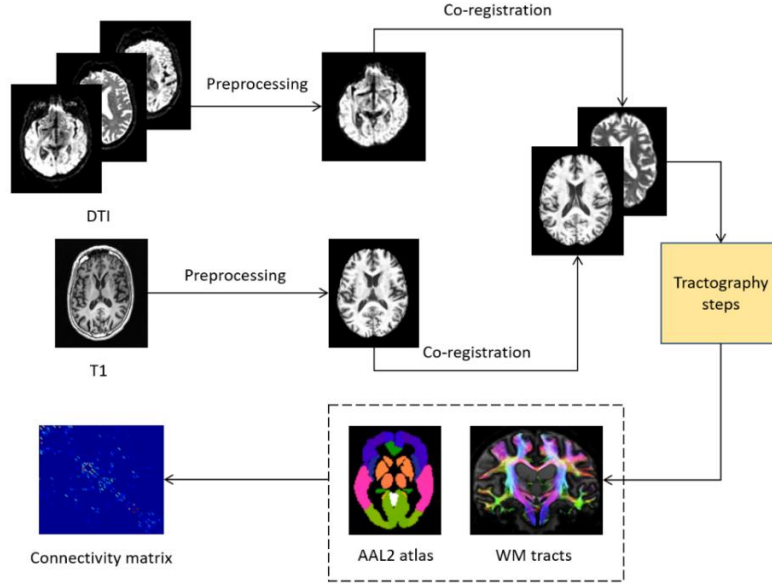


Figura 4. Step di elaborazione delle immagini DTI del cervello.

Analisi della rete subcorticale. Al termine degli step precedenti, ogni soggetto è rappresentato da una matrice di connettività W , 120×120 simmetrica e pesata il cui elemento ij rappresenta il numero di tratti fibrosi che connettono le regioni i e j . Le matrici sono state normalizzate nel range $[0,1]$ e per ogni soggetto è stata estratta la matrice subcorticale considerando soltanto le 6 regioni corticali *Hippocampus*, *Amygdala*, *Putamen*, *Pallidum* e *Thalamus* sia di destra che di sinistra. Si è così ottenuta per ogni soggetto la rete subcorticale descritta dalla matrice pesata W_s , 12×12 . Al fine di studiare le alterazioni di connettività legate alla malattia, è stato analizzato il ruolo delle regioni subcorticali nel distinguere i sani dagli AD in termini di comunicability, avendo già dimostrato il maggiore potere discriminante di questa metrica rispetto alle metriche classiche. Dunque per prima cosa è stata calcolata la comunicability pesata per ogni coppia di regioni subcorticali p e q considerando soltanto la rete subcorticale W_s :

$$G_{pq}^{sub} = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(M^k)_{pq}}{k!} = (e^M)_{pq}$$

con $M = D^{-1/2}W_s D^{-1/2}$, essendo D la matrice diagonale subcorticale delle *strength*.

A partire da questa misura si è definita la *intra-strength communicability* per ogni nodo $i \in N_s$:

$$SC_i^{intra} = \sum_{j \in N_s} G_{ij}^{sub}$$

che esprime l'intensità della connettività totale del nodo con gli altri nodi subcorticali in termini di comunicabilità. Successivamente, al fine di valutare la inter-comunicabilità tra le regioni subcorticali e il resto della rete, è stata calcolata l'intera matrice di comunicabilità G i cui elementi sono le comunicability tra le coppie di nodi dell'intera rete (corticale + sottocorticale). A partire da questa matrice si è definita la *inter-strength communicability* del nodo subcorticale i , come l'intensità totale di comunicability tra il nodo i e tutti i nodi corticali. Se chiamiamo S il subset degli indici della matrice W corrispondenti alle regioni subcorticali, $\forall i \in S$ la inter-strength communicability si può definire come:

$$SC_i^{inter} = \sum_{j \in \{N - \{S - i\}\}} G_{ij}$$

Analisi statistica a gruppi. Per tutti i soggetti e per ogni coppia di nodi è stata calcolata la comunicability subcorticale G_{pq}^{sub} ed è stato eseguito un *rank sum* test non parametrico per identificare le coppie di regioni con differenza statisticamente significativa di questa grandezza (p -value corretto < 0.05) tra HC e AD. Anche in questo caso è stato utilizzato il False Discovery Rate come correzione del p -value per test multipli. La stessa analisi statistica è stata utilizzata per

trovare se ci fossero delle regioni, tra le 12 subcorticali, con differenza significativa nella intra-strength communicability o nella inter-strength communicability tra sani e malati. Per rendere più robusta l'identificazione di queste regioni sono stati effettuati test di permutazione assegnando in modo random i soggetti ai 2 gruppi 10000 volte. Le differenze sono considerate significative se le differenze non appartengono al 95% della distribuzione nulla derivata dai test di permutazione (p -value < 0.05).

Classificazione HC/AD. I valori delle communicability tra tutte le coppie di regioni subcorticali sono stati utilizzati come feature per la classificazione HC/AD. Il procedimento di classificazione è lo stesso utilizzato nella precedente analisi sulle reti corticali. In questo caso è stato utilizzato come modello di classificazione Random Forest con 500 alberi ed inoltre è stato effettuato uno studio delle performance al variare della soglia sulla matrice media dei sani applicata per determinare la maschera nel primo step di feature selection.

Risultati

Analisi statistica a gruppi. Tra le 78 coppie di regioni subcorticali 35 sono risultate avere differenza statisticamente significativa in communicability. Fig. 5 a) mostra le differenze tra i valori medi di communicability nei sani e nei malati relativi alle 35 coppie di regioni trovate. È interessante osservare che, benché ci sia mediamente una riduzione di comunicabilità negli AD rispetto ai sani, alcune coppie di regioni presentano maggiore comunicabilità nei malati, in particolare le coppie (Hippocampus sinistro, Amygdala sinistra) e (Caudate destro, Pallidum destro). Fig. 5 b) mostra invece che Hippocampus, Amygdala e Caudate sono le regioni coinvolte con più frequenza nelle coppie di regioni significative. Il ruolo chiave di queste regioni nell'AD è ben noto in letteratura (Cuénod et al., 1993, Rombouts et al., 2000). Un altro interessante risultato riguarda l'analisi statistica tra gruppi sui valori di strength communicability. Mentre per la intra-strength communicability non sono stati trovati nodi con differenza statisticamente significativa, l'Hippocampus destro e sinistro sono risultate le uniche due regioni con inter-strength communicability significativamente differente in HC e AD, in particolare maggiore negli AD che negli HC. Non è la prima volta che regioni con maggiore comunicabilità nei malati sono state trovate in una sindrome da disconnessione usando dati DTI. Per esempio in Crofts & Higham, 2009 sono stati trovati valori più grandi di communicability in pazienti con ictus anche in regioni dell'emisfero lesionato. Una possibile interpretazione di questi risultati potrebbe essere che l'aumento di communicability di alcune regioni negli AD rifletta cambiamenti adattivi nella materia bianca che occorrono successivamente all'insorgere della malattia.

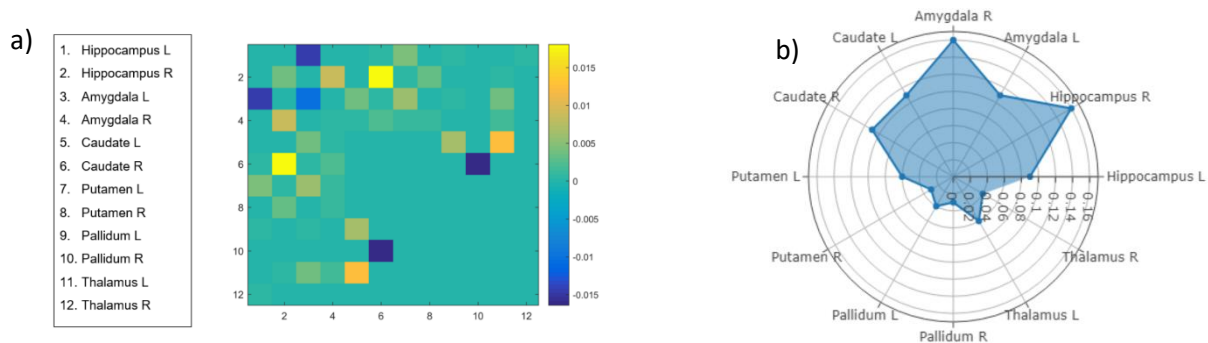


Figura 5. a) Heat map delle differenze tra i valori medi di communicability tra gli HC e gli AD. b) Radar plot che mostra la frequenza alla quale le regioni sono coinvolte nelle coppie significative.

Essendoci evidenze in letteratura dell'isolamento, in termini di connessione, della formazione ippocampale negli AD (Delbeuck et al., 2003), si può ipotizzare che le connessioni che coinvolgono l'Hippocampus sviluppino una sorta di meccanismo di resilienza che tende ad accrescere l'intensità della comunicabilità totale con le regioni corticali per compensare la disconnessione fisica. Questo interessante pattern di connettività necessita ulteriori indagini.

Classificazione HC/AD. Le performance di classificazione, espresse in termini di accuracy, AUC, sensitivity e specificity, sono state calcolate al variare del valore di soglia della matrice media dei sani tra 0 e 0.9 con uno step di 0.1. I valori medi delle performance calcolati su tutti i round di cross validation rappresentati in Fig. 6 mostrano che i migliori risultati si ottengono con la soglia 0.8 benché siano piuttosto comparabili al variare del valore di soglia. Le migliori performance di classificazione sono: 0.74 ± 0.02 di accuracy, 0.80 ± 0.02 di AUC, 0.80 ± 0.03 di specificity e 0.74 ± 0.02 di sensitivity.

Si osserva che i risultati ottenuti utilizzando le feature estratte dalla sola matrice subcorticale 12×12 sono comparabili a quelli ottenuti nel precedente lavoro sulle matrici corticali 96×96 .

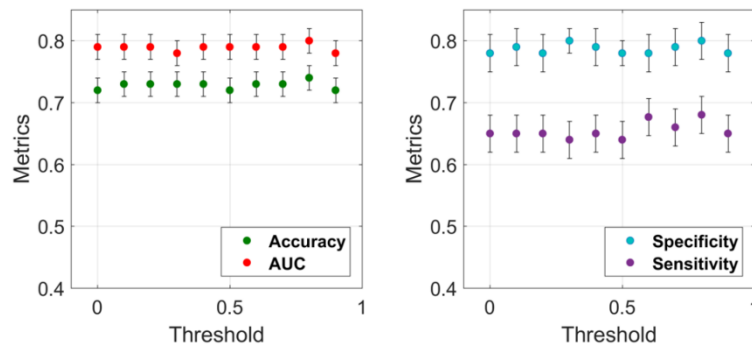


Figura 6. Performance di classificazione al variare della soglia.

Conclusioni

L'analisi automatica di dati di neuroimaging ha suscitato negli ultimi anni un crescente interesse di ricerca. Essa prefigura infatti lo scenario di una valutazione clinica delle condizioni patologiche di soggetti affetti da Alzheimer supportata da sistemi automatici non invasivi e a basso costo. La ricerca, nell'ambito specifico della DTI, ha tradizionalmente applicato un approccio cosiddetto voxel-based volto a costruire modelli predittivi sulla base dei soli voxel costituenti mappe di indici ricavate dalle immagini del cervello. Più recentemente, invece, ha cominciato a essere indagato l'impiego di un approccio alternativo, basato su reti complesse. Attraverso algoritmi di trattografia, infatti, è possibile ricavare, dalle suddette immagini DTI, reti di connettività che permettono di disporre di nuove feature per la classificazione.

Nel corso del terzo anno di dottorato, la ricerca ha dapprima esteso quanto era già stato oggetto di analisi nel secondo anno, in particolare ha esteso la metodologia già applicata sulle due classi HC/AD, allo studio delle tre fasi HC/MCI converter/AD. Questo approccio basato sulle reti complesse e in particolare sull'utilizzo di una metrica non comune si è rivelato promettente. L'utilizzo della communicability come metrica descrittiva della connettività delle reti DTI e delle alterazioni nei cervelli malati, è stata quindi investigata sulla rete subcorticale misurando il potere informativo e discriminante di questa metrica in relazione alle sole regioni sottocorticali. Inoltre, introducendo delle misure basate sulla communicability, interessanti pattern di connettività sono stati individuati. Future analisi potranno sviluppare i seguenti punti:

- Estendere l'analisi subcorticale al caso della discriminazione degli MCI.
- Investigare i pattern di connettività trovati per l'ippocampo analizzando le singole connessioni con tutte le regioni corticali e studiando la sua connettività in relazione ad altre misure di rete.
- Estendere le analisi a studi longitudinali per verificare la validità dell'ipotesi dei cambiamenti adattivi nella materia bianca degli AD.

Riferimenti

1. Alzheimer's Association et al. 2017 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 13(4):325–373, 2017.
2. E. Bullmore and O. Sporns. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(3):186–198, 2009.
3. J. J. Crofts and D. J. Higham. A weighted communicability measure applied to complex brain networks. *Journal of the Royal Society Interface*, pages rsif–2008, 2009.
4. Cuénod, C. A., Denys, A., Michot, J. L., Jehenson, P., Forette, F., ... & Boller, F. (1993). Amygdala atrophy in Alzheimer's disease: an in vivo magnetic resonance imaging study. *Archives of neurology*, 50(9), 941-945.
5. Delbeuck, X., Van der Linden, M., & Collette, F. (2003). Alzheimer's disease as a disconnection syndrome?. *Neuropsychology review*, 13(2), 79-92.
6. E. Estrada and N. Hatano. Communicability in complex networks. *Physical Review E*, 77(3):036111, 2008.

7. Harasty, J. A., et al. "Specific temporoparietal gyral atrophy reflects the pattern of language dissolution in Alzheimer's disease." *Brain* 122.4 (1999): 675-686.
8. J. Hromkovic, R. Klasing, A. Pelc, P. Ruzicka, and W. Unger. *Dissemination of information in communication networks: broadcasting, gossiping, leader election, and fault-tolerance*. Springer Science & Business Media, 2005.
9. H. I. Jacobs, M. P. Van Boxtel, H. B. Uylings, E. H. Gronenschild, F. R. Verhey, & J. Jolles. Atrophy of the parietal lobe in preclinical dementia. *Brain and Cognition*, 75(2), 154-163, 2011
10. D. Le Bihan, J.-F. Mangin, C. Poupon, C. A. Clark, S. Pappata, N. Molko, and H. Chabriat. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *Journal of magnetic resonance imaging*, 13(4):534–546, 2001.
11. Lella, E., Amoroso, N., Bellotti, R., Diacono, D., La Rocca, M., Maggipinto, T., ... & Tangaro, S. (2017, September). Machine learning for the assessment of Alzheimer's disease through DTI. In *Applications of Digital Image Processing XL* (Vol. 10396, p. 1039619). International Society for Optics and Photonics.
12. Lella, E., Amoroso, N., Lombardi, A., Maggipinto, T., Tangaro, S., Bellotti, R. (2018). Communicability disruption in Alzheimer's disease connectivity networks. *Journal of Complex Networks*
13. Li, M., Zheng, G., Zheng, Y., Xiong, Z., ... & Chen, L. (2017). Alterations in resting-state functional connectivity of the default mode network in amnesic mild cognitive impairment: an fMRI study. *BMC medical imaging*, 17(1), 48.
14. Lin, F., Ren, P., Lo, R. Y., Chapman, B. P., Jacobs, A., Baran, T. M., ... & Foxe, J. J. (2017). Insula and Inferior Frontal Gyrus' Activities Protect Memory Performance Against Alzheimer's Disease Pathology in Old Age. *Journal of Alzheimer's Disease*, 55(2), 669-678.
15. Maggipinto, T., Bellotti, R., Amoroso, N., Diacono, D., Donvito, G., Lella, E., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2017). DTI measurements for Alzheimer's classification. *Physics in Medicine & Biology*, 62(6), 2361.
16. M. E. Newman and M. Girvan. Finding and evaluating community structure in networks. *Physical review E*, 69(2):026113, 2004.
17. Rombouts, S. A., Barkhof, F., Witter, M. P., & Scheltens, P. (2000). Unbiased whole-brain analysis of gray matter loss in Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*, 285(3), 231-233.
18. S. E. Rose, F. Chen, J. B. Chalk, F. O. Zelaya, W. E. Strugnell, M. Benson, J. Semple, and D. M. Doddrell. Loss of connectivity in Alzheimer's disease: an evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 69(4):528–530, 2000.
19. Seghier, M. L. (2013). The angular gyrus: multiple functions and multiple subdivisions. *The Neuroscientist*, 19(1), 43-61.
20. Yun, H. J., Kwak, K., Lee, J. M., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2015). Multimodal discrimination of Alzheimer's disease based on regional cortical atrophy and hypometabolism. *PloS one*, 10(6), e0129250.

Publicazioni (solo del terzo anno)

1. Lella, E., Amoroso, N., Lombardi, A., Maggipinto, T., Tangaro, S., Bellotti, R., edited by Estrada, E. (2018). Communicability disruption in Alzheimer's disease connectivity networks. *Journal of Complex Networks* (*in preparation alla fine del primo anno*).
2. Lella, E., Amoroso, N., Lombardi, A., Maggipinto, T., Tangaro, S., Bellotti, R.. A Classification Framework for Alzheimer's Disease based on Graph Communicability. Workshop on GRaphs in biomedial Image anaLysis (GRAIL), in MICCAI 2018
3. Lella, E., Amoroso, N., Diacono, D., Lombardi, A., Maggipinto, T., Tangaro, S., Bellotti, R. DTI-based subcortical network analysis in Alzheimer's Disease (*in preparation*).

Partecipazione a conferenze internazionali

Presentazione orale al 2nd Workshop on GRaphs in biomedial Image anaLysis (GRAIL), evento satellite di MICCAI 2018, 20 Settembre, Granada, Spagna

Didattica

1. 40 ore di sostegno alla didattica per l'insegnamento di Fisica Generale al Politecnico di Bari
2. Seminario didattico dal titolo "Complex networks and applications" all'interno del corso di Elaborazione numerica dei segnali per il corso di laurea in Ingegneria Elettronica, 16 Maggio 2018, Politecnico di Bari