



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Μορφοκλασματικοί βιοδείκτες της δομής του μεταστατικού μελανώματος με χρήση PET/CT απεικονίσεων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

Κόσμου Αναστασίας

Επιβλέπων: Γεώργιος Ματσόπουλος,

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Ιούνιος 2021



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Μορφοκλασματικοί βιοδείκτες της δομής του μεταστατικού μελανώματος με χρήση PET/CT απεικονίσεων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

Κόσμου Αναστασίας

Επιβλέπων: Γεώργιος Μασσόπουλος,

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 17^η Ιουνίου 2021.

(Υπογραφή)

(Υπογραφή)

(Υπογραφή)

.....
Γεώργιος Μασσόπουλος,
Καθηγητής Ε.Μ.Π

.....
Αστέρω Προβατά,
Διευθύντρια Ερευνών Ε.Κ.Ε.Φ.Ε.
«Δημόκριτος»

.....
Δημήτριος-Διονύσιος Κουτσούρης
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Ιούνιος 2021

.....
Αναστασία Θ. Κόσμου

Διπλωματούχος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.

Copyright © Αναστασία Κόσμου, 2021

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται στον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Περίληψη

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η μελέτη ιατρικών απεικονίσεων μέσω μορφοκλασματικής και πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης, σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα που λαμβάνουν ανοσοθεραπεία. Αρχικός στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση του κατά πόσον η μορφοκλασματική διάσταση της διασποράς των μεταστάσεων και οι γενικευμένες μορφοκλασματικές διαστάσεις, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την ανάλυση της εξέλιξης μεταστατικών νόσων. Με βάση τα θετικά αποτελέσματα του αρχικού στόχου, έγινε εκτίμηση της απόδοσης της ανοσοθεραπείας, της κατανομής των μεταστάσεων στους ασθενείς και η σύγκριση ασθενών και υγιών ατόμων με τη χρήση μορφοκλασματικών βιοδεικτών.

Στους 19 ασθενείς των οποίων τα δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν, έχει χορηγηθεί ανοσοθεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα (ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab) που αναστέλλουν βασικά σημεία ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης (immune checkpoint inhibitors) και έχουν ληφθεί ολόσωμες PET/CT απεικονίσεις σε τρία διαδοχικά στάδια (πριν και μετά τη θεραπεία), με τη χρήση ραδιοφαρμάκου 2-δεοξυ-2-(¹⁸F) φθοριο-d-γλυκόζη (FDG). Η οπτικοποίηση των τρισδιάστατων δεδομένων πραγματοποιήθηκε μέσω λογισμικών απεικόνισης κατάλληλων για την ανάγνωση και ψηφιοποίηση ιατρικών εικόνων με το πρότυπο DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine). Οι ολόσωμες απεικονίσεις των ατόμων μετατράπηκαν σε τρισδιάστατους πίνακες των οποίων τα στοιχεία αντιστοιχούν στις τοπικές τιμές φωτεινότητας των εικονοστοιχείων, οι οποίες αντιπροσωπεύουν την πρόσληψη της γλυκόζης στις περιοχές του σώματος.

Για τη μελέτη και σύγκριση της κατανομής του ραδιοφαρμάκου σε υγείς και ασθενείς αναπτύχθηκαν αλγόριθμοι που υλοποιούν μορφοκλασματική (fractal) και πολυμορφοκλασματική (multifractal) ανάλυση στα τρισδιάστατα δεδομένα και υπολογίζουν την μορφοκλασματική διάσταση και τις γενικευμένες διαστάσεις. Η ταυτοποίηση της καταλληλότερης μεθόδου υλοποίησης επετεύχθη μέσα από διαφορετικούς τρόπους εφαρμογής των αλγορίθμων, με τη χρήση δύο εναλλακτικών μεθόδων ανάγνωσης δεδομένων και την δοκιμή τριών διαφορετικών κατωφλίων έντασης των εικονοστοιχείων (pixel).

Τέλος, τα αποτελέσματα ήρθαν σε σύγκριση με τα ιατρικά πορίσματα, ώστε να εκτιμηθεί η εγκυρότητα τους και η δυνατότητα χρησιμοποίησης μορφοκλασματικών παραμέτρων για την αξιολόγηση του θεραπευτικού αποτελέσματος του μεταστατικού μελανώματος. Παρατηρήθηκε πως τα αποτελέσματα της μορφοκλασματικής ανάλυσης συμφωνούν με τα ιατρικά πορίσματα στο 77.42% των περιπτώσεων, ενώ της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης παρέχουν καλύτερη πρόβλεψη, με ταύτιση των αποτελεσμάτων στο 80.65% των περιπτώσεων.

Λέξεις-κλειδιά: μεταστατικό μελάνωμα, ανοσοθεραπεία, PET/CT απεικονίσεις, επεξεργασία εικόνων, μορφοκλασματική ανάλυση, πολυμορφοκλασματική ανάλυση, μορφοκλασματικοί βιοδείκτες

Abstract

The subject of this diploma thesis is the use of fractal and multifractal analysis for the study of PET/CT medical images of patients with metastatic melanoma receiving immunotherapy. The initial goal of the study was to investigate whether the fractal and generalized dimensions of the dispersion of metastases can be used as biomarkers to analyze the evolution of metastatic diseases. Based on the positive results of the initial goal, fractal biomarkers were evaluated for the assessment of treatment response, the distribution of metastases in patients and the comparison of patients and control subjects.

The 19 patients, whose data were used, received immunotherapy with immune checkpoint inhibitors with monoclonal antibodies (ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab). For each patient, full-body PET/CT imaging was performed in three consecutive stages (prior and during immunotherapy), using the radiopharmaceutical ^{18}F -Fluorodeoxyglucose (FDG). The visualization of the 3D data was carried out through software suitable for reading and digitizing medical images with the DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) standard. The full body images of the patients were converted into three-dimensional tables whose data correspond to the values of local brightness (i.e. ^{18}F -FDG uptake) of the pixels.

Algorithms were developed for the examination and comparison of the distribution of radiopharmaceuticals in control subjects and patients. These algorithms implement the fractal and multifractal analysis in three-dimensional data by calculating their fractal and generalized dimensions. The determination of the best implementation method was achieved by applying alternative ways of algorithm implementation, using two different data reading methods and testing three different pixel intensity thresholds.

Finally, the results of the analysis, were compared with the medical findings, in order to assess their validity and the possibility of using fractal parameters to assess therapeutic outcome of metastatic melanoma after immunotherapy. The results of fractal analysis agree with clinical findings in 77.42% of the cases, while multifractal analysis provides better predictions, with results matching in 80.65% of the cases.

Keywords: metastatic melanoma, immunotherapy, PET/CT imaging, image processing, fractal analysis, multifractal analysis, fractal biomarkers

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη μου Δρ. Αστέρω Προβατά, διευθύντρια ερευνών στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών "Δημόκριτος", η οποία με καθοδήγησε πλήρως σε όλη την διάρκεια της διπλωματικής μου, βοηθώντας με ανά πάσα στιγμή.

Ακόμη, ευχαριστώ τον Καθηγητή της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών κ. Γεώργιο Ματσόπουλο για την ανάθεση της διπλωματικής, την βοήθεια και τη συμβολή του στην εκπόνηση της και τον Δρ. Θεόδωρο Οικονομόπουλο για την επιστημονική υποστήριξη και την παροχή των εργαλείων οπτικοποίησης και της βιβλιοθήκης Insight Segmentation and Registration Toolkit (ITK) που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της ανάπτυξης της εφαρμογής.

Θα ήθελα, επίσης να ευχαριστήσω την Prof. Dr. Antonia Dimitrakopoulou-Strauss και τους συνεργάτες της, Dr. Leyun Pan και Dr. Christos Sachpekidis από το German Cancer Research Center, Heidelberg, που μας παρείχαν τα ιατρικά δεδομένα των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη και για την συμβολή τους στην ανάλυση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την υποστήριξη τους, την οικογένεια και τους φίλους μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή	20
1.1 Στόχος Διπλωματικής Εργασίας	21
1.2 Διάρθρωση Εργασίας.....	22
2. Ιατρικά Δεδομένα Μεταστατικού Μελανώματος	24
2.1 Το Μεταστατικό Μελάνωμα	24
2.1.1 Παράγοντες κινδύνου	24
2.1.2 Διάγνωση και Σταδιοποίηση.....	25
2.1.3 Μεταστατικό Μελάνωμα – Στάδιο IV	26
2.2 Ανοσοθεραπεία	27
3. Μέθοδοι Απεικόνισης	32
3.1 Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET)	32
3.1.1 Αρχές Λειτουργίας PET	32
3.1.2 PET στην Ογκολογία	34
3.2 PET/CT Απεικόνιση.....	34
3.3 Πρότυπο DICOM	35
4. Μορφοκλασματική και Πολυμορφοκλασματική Ανάλυση	39
4.1 Μορφοκλάσματα	39
4.1.1 Ορισμός φράκταλ και ιδιότητες.....	39
4.1.2. Μορφοκλασματικές Δομές	40
4.1.3. Φράκταλ στη φύση.....	42
4.1.4. Φράκταλ στη φυσιολογία και την ιατρική	43
4.2 Μορφοκλασματική Διάσταση	45
4.3 Πολυμορφοκλασματικό Φάσμα.....	48
4.4 Διάσταση Συσχέτισης - Correlation	49
5. Μέθοδοι Επεξεργασίας και Ανάλυσης Δεδομένων	51
5.1 Δεδομένα	51
5.1.1 Ανοσοθεραπεία Ασθενών	51
5.1.2 Χαρακτηριστικά Λήψης Απεικονίσεων	51
5.1.3 Πρόσληψη Γλυκόζης (¹⁸ F-FDG)	52
5.1.4 Τελικό σύνολο απεικονίσεων	52
5.2 Οπτικοποίηση Δεδομένων και Μεθοδολογία Ανάλυσης.....	53
5.2.1 Οπτικοποίηση Εικόνων	53
5.2.2 Μεθοδολογία	53
5.3 Μέθοδοι Ανάγνωσης Τρισδιάστατων Δεδομένων	54
5.3.1 Μέθοδος με χρήση βιβλιοθήκης ΙΤΚ	54
5.3.2 Μέθοδος με αρχεία κειμένου μέσω ImageJ	55

5.4 Μορφοκλασματική Ανάλυση	57
5.4.1 Εύρεση Μορφοκλασματικής Διάστασης - Μέθοδος Box Counting Dimension	57
5.4.2 Αλγόριθμος Υλοποίησης Καταμέτρησης Υπερκύβων	59
5.5 Πολυμορφοκλασματική Ανάλυση	61
5.5.1 Αλγόριθμος γενικευμένων διαστάσεων	61
5.5.2 Πολυμορφοκλασματικός Δείκτης Βελτίωσης/Επιδείνωσης	62
5.6 Διάσταση Συσχέτισης	63
5.7 Στατιστική Ανάλυση	63
6. Αποτελέσματα	65
6.1 Κριτήρια Αξιολόγησης Αποτελεσμάτων	65
6.2 Αποτελέσματα Μορφοκλασματικής και Πολυμορφοκλασματικής Ανάλυσης Ατόμων Αναφοράς	67
6.2.1 Μορφοκλασματική Διάσταση Ατόμου Αναφοράς	67
6.2.2 Πολυμορφοκλασματικό Φάσμα Ατόμου αναφοράς	68
6.2.3 Συνολικά Αποτελέσματα Ατόμων Αναφοράς	69
6.3 Αποτελέσματα Μορφοκλασματικής Ανάλυσης Ασθενών	71
6.3.1 Αποτελέσματα Ασθενών	71
6.3.2 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMR	72
6.3.3 Αποτελέσματα Ασθενούς με SMD	73
6.3.4 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMD	74
6.3.5 Συνολικά Αποτελέσματα Ασθενών	76
6.4 Αποτελέσματα Πολυμορφοκλασματικής Ανάλυσης Ασθενών	81
6.4.1 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMR	81
6.4.2 Αποτελέσματα Ασθενούς με SMD	82
6.4.3 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMD	83
6.4.4 Συνολικά Αποτελέσματα Ασθενών	84
6.4 Αποτελέσματα Διάστασης Συσχέτισης – Correlation Dimension	87
6.5 Ειδικές Περιπτώσεις (immune related Adverse Events, irAEs)	89
6.5.1 Ειδική περίπτωση Patient No.16 με εμφάνιση κολίτιδας (colitis)	89
6.5.2 Εξαιρέση όλων των ειδικών περιπτώσεων εμφάνισης κολίτιδας (colitis)	91
7. Συμπεράσματα	96
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	100
Βιβλιογραφία	112

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 2.1: Τα στάδια I-IV του μελανώματος.	25
Σχήμα 2.2: Ανοσοθεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα anti-CTLA-4	28
Σχήμα 2.3: Ανοσοθεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα anti-PD-1.	29
Σχήμα 3.1: Ανιχνευτική διάταξη ενός μηχανήματος PET απεικόνισης.	32
Σχήμα 3.2: Παραδείγματα απεικονίσεων (α) PET, (β) CT και (γ) συνδυασμού PET/CT	35
Σχήμα 3.3: Παράδειγμα εικόνας DICOM ενός ασθενούς και τα χαρακτηριστικά της.....	36
Σχήμα 3.4.α: Χαρακτηριστικά εικόνας DICOM.....	36
Σχήμα 3.4.β: Χαρακτηριστικά εικόνας DICOM.....	37
Σχήμα 4.1: Το πιο γνωστό fractal – The Mandelbrot Set.	39
Σχήμα 4.2: Κατασκευή του συνόλου Cantor (Cantor Set).....	40
Σχήμα 4.3: Δημιουργία του τριγώνου Sierpinski.....	41
Σχήμα 4.4: Η Χιονοφιβάδα του Koch.	41
Σχήμα 4.5: Παραδείγματα φυσικών μορφοκλασματικών δομών που παρουσιάζουν αυτο-ομοιότητα σε διαφορετικές κλίμακες: <i>κέλυφος σαλιγκαριού, χιονοφιβάδα, σπειροειδής αλόη, μπρόκολο Ρομανέσκο.</i>	42
Σχήμα 4.6: Παραδείγματα φράκταλ στη φυσιολογία: α) το βρογχικό δέντρο των ανθρωπίνων πνευμόνων και β) το καρδιαγγειακό σύστημα.	43
Σχήμα 4.7: Εύρεση τοπικών διαστάσεων με σφαίρες ακτίνας ϵ	49
Σχήμα 5.1: Εφαρμογή του αλγορίθμου καταμέτρησης υπερκύβων για $s=1,2,3$	57
Σχήμα 6.1: Διάγραμμα υπολογισμού της μορφοκλασματικής διάστασης της κατανομής της ^{18}F -FDG στο σώμα του ατόμου αναφοράς 4.	67
Σχήμα 6.2: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα, D_q ως προς την τάξη q , για το άτομο αναφοράς 6.	68
Σχήμα 6.3: Μορφοκλασματικές διαστάσεις (D_f) ασθενούς Patient_10 με PMR σε σύγκριση με άτομο αναφοράς.....	72
Σχήμα 6.4: Μορφοκλασματικές διαστάσεις (D_f) ασθενούς Patient_9 με SMD σε σύγκριση με άτομο αναφοράς.....	73
Σχήμα 6.5: Μορφοκλασματικές διαστάσεις (D_f) ασθενούς Patient_11 με PMD σε σύγκριση με άτομο αναφοράς.....	74
Σχήμα 6.6: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα ασθενούς Patient_10 με PMR σε σύγκριση με το αντίστοιχο φάσμα τυπικού ατόμου αναφοράς.	81
Σχήμα 6.7: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα ασθενούς Patient_12 με SMD σε σύγκριση με το αντίστοιχο φάσμα τυπικού ατόμου αναφοράς.	82
Σχήμα 6.8: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα ασθενούς Patient_11 με PMD σε σύγκριση με με το αντίστοιχο φάσμα τυπικού ατόμου αναφοράς.	83
Σχήμα 6.9: Ειδική περίπτωση ασθενούς Patient_16 – Μορφοκλασματικές διαστάσεις και σύγκριση με άτομο αναφοράς.	89
Σχήμα 6.10: Ειδική περίπτωση ασθενούς Patient_16 – Πολυμορφοκλασματικό φάσμα και σύγκριση με άτομο αναφοράς.	90

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 6.1: Μορφοκλασματικές διαστάσεις ατόμων αναφοράς (υγιών)	69
Πίνακας 6.2: Μορφοκλασματικές διαστάσεις για τρία κατώφλια με ΙΤΚ βιβλιοθήκη.	76
Πίνακας 6.3: Μορφοκλασματικές διαστάσεις για τρία κατώφλια με αρχεία κειμένου από ImageJ.	78
Πίνακας 6.4: Δείκτης πολυμορφοκλασματικότητας των ασθενών.	85
Πίνακας 6.5: Διάσταση συσχέτισης των ασθενών.....	87
Πίνακας 6.6: Εξαίρεση των ασθενών με κολίτιδα – Μορφοκλασματικά και Πολυμορφοκλασματικά αποτελέσματα.	92

1. Εισαγωγή

Το μελάνωμα αποτελεί ένα τύπο καρκίνου του δέρματος. Στο στάδιο IV, το μελάνωμα είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο, γιατί είναι μεταστατικό και δημιουργεί μεταστάσεις σε όλο το σώμα, τόσο μέσω της λέμφου, όσο και μέσω του αίματος. Αφού γίνει η διάγνωση του, είναι σημαντικό να ελεγχθεί ολόκληρο το σώμα για απομακρυσμένες μεταστάσεις. Η ύπαρξη μεταστάσεων καθορίζει την πρόγνωση για το προσδόκιμο ζωής των ασθενών και την επιλογή της θεραπείας που θα ακολουθηθεί. Ο έλεγχος των ασθενών γίνεται με τη βοήθεια ιατρικών απεικονίσεων, όπως η χρήση PET/CT απεικόνισης με ραδιοφάρμακο 2-δεοξυ-2-(¹⁸F) φθοριο-d-γλυκόζη (FDG), λόγω της ιδιότητας των καρκινικών όγκων να προσλαμβάνουν τη γλυκόζη σε υψηλά επίπεδα [1]. Η δεοξυγλυκόζη είναι μια τροποποιημένη γλυκόζη, η οποία προσλαμβάνεται από τα κύτταρα με πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης (glucose transporter), στη συνέχεια επέρχεται φωσφορυλίωση σε 6-φωσφορική γλυκόζη με κατάλυση από εξοκινάσες και τέλος παγιδεύεται σε αυτή τη μορφή χωρίς να ακολουθεί το μεταβολισμό της γλυκόζης. Η ποσοτικοποίηση της κατανομής της δεοξυγλυκόζης στο σώμα με κατάλληλες παραμέτρους, θα συμβάλλει στην καλύτερη εκτίμηση της διασποράς των μεταστάσεων στους ασθενείς, την κατηγοριοποίηση τους ανάλογα με την εξέλιξη της νόσου και την εκτίμηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης για τον προγραμματισμό της θεραπείας που θα ακολουθηθεί. Ιδιαίτερη σημασία έχει η έγκαιρη αναγνώριση της μη ανταπόκρισης στην ανοσοθεραπεία και η ανίχνευση μεταστάσεων που είναι ανθεκτικές και πρέπει να αντιμετωπιστούν με άλλη θεραπεία.

Το ανθρώπινο σώμα εμπεριέχει πολύπλοκα και συζευγμένα συστήματα οργάνων με ενδιαφέρουσες γεωμετρίες και δομές που εμφανίζουν ιεραρχικά χαρακτηριστικά. Στα συστήματα του, συχνά υπάρχουν διακλαδώσεις από μεγαλύτερες σε μικρότερες δομές, οι οποίες παρουσιάζουν όμως κοινά χαρακτηριστικά σε πολλαπλές χωρικές κλίμακες [2]. Όπως είναι γνωστό τα χαρακτηριστικά της αυτοομοιότητας, δηλαδή της ικανότητας μίας δομής να επαναλαμβάνεται σε διαφορετικές κλίμακες, αποτελούν την πιο σημαντική ιδιότητα των *μορφοκλασματικών δομών*. Μερικά από τα ανθρώπινα σύστημα με μορφοκλασματικές ιδιότητες είναι το κυκλοφορικό σύστημα, το νευρικό σύστημα και το αναπνευστικό σύστημα.

Συγκεκριμένα, το κυκλοφορικό σύστημα είναι ένα σύστημα του ανθρώπινου σώματος που εμφανίζει μορφοκλασματικά χαρακτηριστικά, όπου η ροή του αίματος διακλαδίζεται μέσω ενός δικτύου φλεβών και αρτηριών σε πολλές κλίμακες μεγεθών.

Στο μεταστατικό μελάνωμα, οι μεταστάσεις που είναι σε απομακρυσμένα σημεία του σώματος, δημιουργούνται μέσω της κυκλοφορίας καρκινικών κυττάρων από το αίμα ή/και το λεμφικό σύστημα. Η μορφοκλασματικότητα του κυκλοφορικού συστήματος μέσα από το οποίο διέρχεται το αίμα δίνει το έναυσμα για την μελέτη της ύπαρξης μορφοκλασματικότητας στην κατανομή των μεταστάσεων σε όλο το σώμα.

Σε προηγούμενη έρευνα, στην οποία υπολογίστηκαν οι μορφοκλασματικές παράμετροι για την εκτίμηση της κατανομής των μεταστάσεων σε ασθενείς με μελάνωμα που λάμβαναν ανοσοθεραπεία, τα αποτελέσματα έδειξαν πως υπάρχουν προοπτικές ανάπτυξης μορφοκλασματικών βιοδεικτών οι οποίοι θα συμβάλλουν στην πρόγνωση και την παρακολούθηση της θεραπείας. Συγκεκριμένα, οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν έδωσαν αποτελέσματα τα οποία ανταποκρίνονταν κατά ένα μεγάλο ποσοστό στην πραγματική ανταπόκριση με βάση τα κλινικά δεδομένα των ασθενών [3]. Μέσα από την μελέτη αυτή της

μορφοκλασματικής διασποράς του μελανώματος, τέθηκε το ζήτημα της ανάπτυξης μη-γραμμικών βιοδεικτών που θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν αξιόπιστα για την αξιολόγηση ανοσοθεραπειών.

1.1 Στόχος Διπλωματικής Εργασίας

Στην παρούσα μελέτη, στόχος είναι η χρήση μεθόδων μορφοκλασματικής και πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης για την ανάπτυξη βιοδεικτών που σχετίζονται με το στάδιο εξέλιξης του μεταστατικού μελανώματος και παραμέτρων αξιολόγησης της ανοσοθεραπείας, μετά από την εφαρμογή της.

Η λήψη των δεδομένων των ασθενών πραγματοποιήθηκε από το German Cancer Research Center, Heidelberg (Prof. Dr Antonia Dimitrakopoulou-Strauss, Dr. Christos Sachpekidis και συνεργάτες). Οι ασθενείς έλαβαν ανοσοθεραπεία με χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων που δρουν σαν αναστολείς των σημείων ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης (Immune Checkpoint Inhibitors- ICIs). Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε εξέταση PET/CT σε τρία στάδια, αρχικά πριν την έναρξη της θεραπείας και δύο φορές κατά τη χρονική διάρκεια της θεραπείας. Η ανίχνευση των μεταστάσεων στους ασθενείς έγινε με την χορήγηση ραδιοφαρμάκου 2-δεοξυ-2-(¹⁸F) φθοριο-d-γλυκόζης (FDG), καθώς οι μεταστάσεις απεικονίζονται σε περιοχές που δεν υπάρχει φυσιολογική πρόσληψη της γλυκόζης ή αν βρίσκονται σε όργανα που προσλαμβάνουν γλυκόζη, όπως στο ήπαρ, τότε ξεχωρίζουν γιατί προσλαμβάνουν περισσότερη γλυκόζη από ότι το φυσιολογικό ηπατικό παρέγχυμα. Στα υγιή άτομα παρατηρείται φυσιολογική κατανομή του ραδιοφαρμάκου με αυξημένη αλλά ομοιογενή πρόσληψη στον εγκέφαλο, στην καρδιά, στο ήπαρ, στους νεφρούς και στο ουροποιητικό.

Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας, ήταν η μελέτη της διασποράς της δεοξυγλυκόζης (άρα και της διασποράς των μεταστάσεων) στους ασθενείς μεταξύ των τριών σταδίων τους και η σύγκριση της διασποράς αυτής μεταξύ υγιών ατόμων και ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα. Η μορφοκλασματική και πολυμορφοκλασματική ανάλυση που διεξήχθησαν, περιλάμβαναν την εύρεση της μορφοκλασματικής διάστασης (fractal dimension) και του πολυμορφοκλασματικού φάσματος των εικόνων από PET/CT απεικονίσεις στα τρία στάδια (follow-up's) των ασθενών και των υγιών (ατόμων αναφοράς). Οι μορφοκλασματικές αυτές παράμετροι που υπολογίστηκαν, μελετήθηκαν ως προς την χρησιμότητα τους για την αξιολόγηση της εξέλιξης του μεταστατικού μελανώματος. Τα κλινικά στοιχεία που αφορούν την ανταπόκριση των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας αποτέλεσαν το μέτρο σύγκρισης και αξιολόγησης των αποτελεσμάτων.

1.2 Διάρθρωση Εργασίας

Στο **Κεφάλαιο 2**, περιγράφονται τα κυριότερα χαρακτηριστικά του μεταστατικού μελανώματος, οι παράγοντες που οδηγούν στην ανάπτυξη του, η διαδικασία διάγνωσης και η κατηγοριοποίηση των ασθενών ανάλογα με την κλινική τους εικόνα. Ειδικότερα αναλύεται το στάδιο IV του μεταστατικού μελανώματος, η ανοσοθεραπεία που χορηγείται στους ασθενείς και οι μηχανισμοί λειτουργίας της. Τονίζεται ακόμη, ο ρόλος της δεοξυγλυκόζης ^{18}F -FDG στην απεικόνιση της κατανομής των μεταστάσεων.

Στο **Κεφάλαιο 3**, παρουσιάζονται οι γενικές αρχές της Τομογραφίας Εκπομπής Ποζιτρονίων (PET), ο συνδυασμός της με αξονική τομογραφία (PET/CT) και τα χαρακτηριστικά του προτύπου DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine).

Στο **Κεφάλαιο 4**, περιλαμβάνονται η θεωρία των μορφοκλασμάτων, ο ορισμός του φράκταλ και της μορφοκλασματικής δομής και παρουσιάζονται παραδείγματα μορφοκλασματικών δομών, που είτε κατασκευάζονται με μαθηματικό αλγόριθμο είτε υπάρχουν ήδη στη φύση. Ορίζεται ακόμη, η μορφοκλασματική διάσταση, η διάσταση Hausdorff, δίνονται στοιχεία για την πολυμορφοκλασματική ανάλυση και την εύρεση των γενικευμένων διαστάσεων και τη διάσταση συσχέτισης (correlation dimension).

Στο **Κεφάλαιο 5**, συζητούνται οι μέθοδοι επεξεργασίας και ανάλυσης των δεδομένων. Αρχικά περιγράφονται τα χαρακτηριστικά των δεδομένων των ασθενών, ο τρόπος λήψης των απεικονίσεων, η διαδικασία οπτικοποίησης των τρισδιάστατων δεδομένων και οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή των μορφοκλασματικών δεικτών. Η διαδικασία εύρεσης μορφοκλασματικής διάστασης και γενικευμένων διαστάσεων επεξηγούνται αναλυτικά.

Στο **Κεφάλαιο 6**, παρατίθενται τα αποτελέσματα της μορφοκλασματικής ανάλυσης για τα άτομα αναφοράς και τους ασθενείς με τη χρήση πολλαπλών εφαρμογών των μεθόδων με διαφορετικές τιμές παραμέτρων, ώστε να προσδιοριστούν οι κατάλληλες παράμετροι που αποδίδουν χαρακτηριστικά της ασθένειας στα διάφορα στάδιά της. Στη συνέχεια παρουσιάζονται και τα αποτελέσματα της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης τόσο των υγιών όσο και των ασθενών και η διάστασης συσχέτισης τους. Στην τελευταία υποενότητα του Κεφαλαίου επισημαίνονται ορισμένες ειδικές περιπτώσεις που εμφανίζουν μη αναμενόμενα αποτελέσματα τα οποία οφείλονται στην ύπαρξη παρενεργειών που δεν σχετίζονται με το μεταστατικό μελάνωμα.

Στο **Κεφάλαιο 7**, παρουσιάζονται τα τελικά συμπεράσματα της εργασίας που προκύπτουν από τα αποτελέσματα του Κεφαλαίου 6, σχόλια και περιορισμοί που αφορούν την μελέτη και μελλοντικές προεκτάσεις.

2. Ιατρικά Δεδομένα Μεταστατικού Μελανώματος

2.1 Το Μεταστατικό Μελάνωμα

Το μελάνωμα, επίσης γνωστό ως κακήθες μελάνωμα, είναι ένας από τους πιο επιθετικούς καρκίνους του δέρματος λόγω της ικανότητας του να επεκτείνεται γρήγορα στο σώμα, δημιουργώντας μεταστάσεις. Ο μέσος όρος ηλικίας διάγνωσης των ασθενών με μελάνωμα παγκοσμίως είναι κοντά στα 63 χρόνια [4], αλλά μπορεί να διαγνωσθεί σε όλες τις ηλικιακές ομάδες. Αποτελεί έναν από τους πιο θανατηφόρους καρκίνους του δέρματος και η συχνότητα εμφάνισης του αυξάνεται σταθερά τα τελευταία χρόνια [5]. Εάν η διάγνωση επιτευχθεί στα πρώτα δύο στάδια (I, II) της ασθένειας, τα άτομα παρουσιάζουν υψηλότερες πιθανότητες ίασης με ποσοστά πενταετούς επιβίωσης που ξεπερνούν το 80%, καθώς τα ύποπτα ευρήματα μπορούν να αφαιρεθούν με εγχείρηση [6]. Ασθενείς στα αρχικά στάδια της ασθένειας έχουν καλύτερη πρόγνωση σε αντίθεση με άτομα που έχουν διαγνωσθεί στα στάδια III, IV [7]. Το μεταστατικό μελάνωμα στο τέταρτο στάδιο (IV) αποτελεί το πιο επικίνδυνο στάδιο της ασθένειας, καθώς εμφανίζει απομακρυσμένες μεταστάσεις σε ολόκληρο το σώμα και τα ποσοστά επιβίωσης από τη στιγμή της διάγνωσης είναι μικρά [8]. Η πρόγνωση των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα πριν την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών μεθόδων, ήταν μόλις λίγος μήνες ζωής [9].

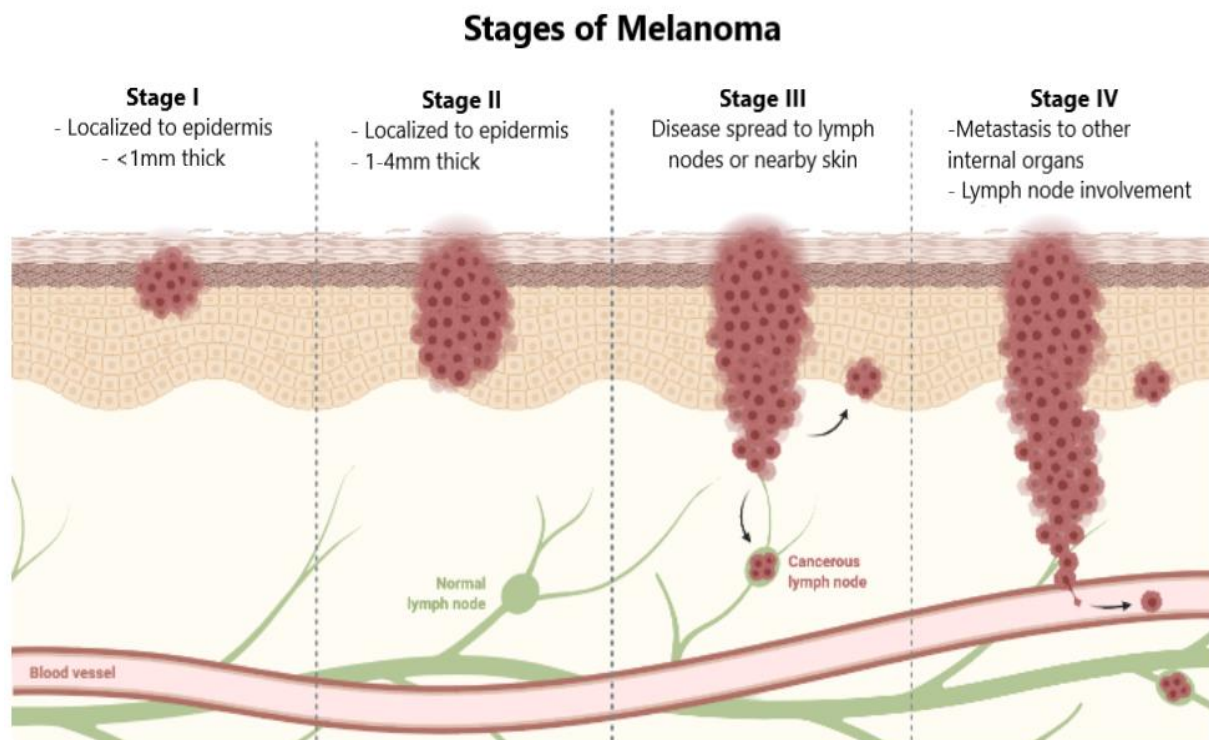
2.1.1 Παράγοντες κινδύνου

Το μελάνωμα είναι μια δερματολογική κακοήθεια που αναπτύσσεται από τα κύτταρα που παράγουν χρωστική (μελανίνη), γνωστά ως μελανοκύτταρα, τα οποία πολλαπλασιάζονται με ανεξέλεγκτο ρυθμό. Εμφανίζεται συνήθως στο δέρμα, αλλά μπορεί σπάνια να εμφανιστεί στο στόμα, το έντερο ή τα μάτια. Υπάρχει μια σειρά από παράγοντες που προκαλούν την εμφάνιση μελανώματος [10]. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι η υπεριώδης ακτινοβολία UV, η οποία μπορεί να επιταχύνει την δημιουργία κακοήθειας [9] και η γενετική προδιάθεση του κάθε ατόμου για την ανάπτυξη μελανώματος (εμφάνιση ύποπτων μορφών σπίλων) [10]. Η υπεριώδης ακτινοβολία μέσω της ηλιακής έκθεσης θέτει σε μεγάλο κίνδυνο ειδικά τους ανθρώπους με ευαίσθητο δέρμα, οι οποίοι έχουν την τάση να παθαίνουν εγκαύματα ιδιαίτερα επικίνδυνα για την υγεία [4]. Η αυξημένη έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV) είναι ιδιαίτερα επιβλαβής, έχει χαρακτηριστεί καρκινογόνος και συχνά αποτελεί την αιτία ανάπτυξης μελανωμάτων [5].

2.1.2 Διάγνωση και Σταδιοποίηση

Η διάγνωση του καρκίνου στο δέρμα προκύπτει αρκετές φορές από την παρατήρηση μίας επίμονης βλάβης στο δέρμα (σημάδι ή ελιά) η οποία εμφανίζει αλλαγές στο χρώμα, το μέγεθος και το σχήμα. Ύποπτα ευρήματα που υποδεικνύουν την ύπαρξη κακοήθειας είναι πιθανό να βρεθούν τυχαία μέσω μιας τυπικής δερματικής εξέτασης. Στη συνέχεια τα ευρήματα μελετώνται μέσω βιοψίας, η οποία δίνει πληροφορίες για την ιστολογία της κάκωσης, βοηθάει στη διάγνωση και την πρόβλεψη της πορείας τους ασθενούς [4]. Αναγνωρίζεται το στάδιο στο οποίο είναι ο ασθενής και σχεδιάζεται η ανάλογη θεραπευτική οδός που θα ακολουθηθεί.

Τα στάδια I και II έχουν υψηλές προοπτικές ίασης, καθώς αναφέρονται σε τοπικά μελανώματα με πάχος μικρότερο του 1mm στο στάδιο I και μεταξύ 1-4mm στο στάδιο II. Οι όγκοι αυτοί συνήθως αφαιρούνται με χειρουργείο και αναλύονται ως προς το μέγιστο πάχος (πάχος Breslow) ώστε να εξεταστεί εάν υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης μεταστάσεων. Από την άλλη, στα στάδια III και IV η ασθένεια έχει προχωρήσει σε δημιουργία μεταστάσεων. Στο στάδιο III η ασθένεια έχει εξαπλωθεί στους λεμφαδένες και στο τέταρτο στάδιο οι ασθενείς χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μεταστάσεων σε απομακρυσμένα σημεία σε ολόκληρο το σώμα [8]. Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις δημιουργούνται από τη μεταφορά των καρκινικών κυττάρων μέσω του κυκλοφορικού ή/και του λεμφικού συστήματος.



Source: [11]

Σχήμα 2.1: Τα στάδια I-IV του μελανώματος.

Λόγω της ικανότητας του μελανώματος να δημιουργεί μεταστάσεις είναι χρήσιμη η λήψη απεικονίσεων, ώστε να παρακολουθείται στενά η εξέλιξη της ασθένειας. Βέβαια, στα στάδια I και II η συχνή ακτινολογική απεικόνιση είναι απαραίτητη μόνο μετά την παρατήρηση ύποπτων ενδείξεων, διαφορετικά δεν έχει ουσιαστική αξία [4]. Αντίθετα στα στάδια III και IV η παρατήρηση του μελανώματος με την λήψη εικόνων είναι κρίσιμη, καθώς συμβάλλει στην εκτίμηση της κατάστασης του ασθενούς, στην εύρεση νέων μεταστάσεων με την εξέλιξη του χρόνου και στην ανάλογη προσαρμογή της φαρμακευτικής αγωγής [5]. Πιο συγκεκριμένα, οι μεταστάσεις στο πνεύμονα είναι ορατές σε αξονικές τομογραφίες (Computed Tomography), ενώ στον εγκέφαλο δεν είναι ευδιάκριτες και χρειάζεται μαγνητική τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging) [4]. Παρόλα αυτά έχει αποδειχθεί πως η βέλτιστη απεικονιστική μέθοδος για τον εντοπισμό μεταστάσεων και αξιολόγηση των μεταστατικών καρκίνων είναι η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography) σε συνδυασμό με αξονική τομογραφία, ονομαζόμενη ως PET/CT [12].

2.1.3 Μεταστατικό Μελάνωμα – Στάδιο IV

Στο στάδιο IV το μεταστατικό μελάνωμα παρουσιάζει την πιο επιθετική του μορφή καθώς έχει την τάση να εξαπλώνεται με γοργό ρυθμό, δημιουργώντας μεταστάσεις σε απομακρυσμένα σημεία του σώματος. Από τη στιγμή που ο ασθενής διαγνωσθεί στο προχωρημένο αυτό στάδιο η πρόγνωση του δεν είναι καλή και όπως προκύπτει ιστορικά, το μέσο χρονικό διάστημα επιβίωσης είναι λιγότερο από ένα χρόνο [9]. Η δυσάρεστη αυτή πρόβλεψη οφείλεται στη μεγάλη ανθεκτικότητα του μελανώματος ως προς τις ήδη υπάρχουσες θεραπείες και η συνεχόμενη δημιουργία νέων μεταστάσεων. Ασθενείς προχωρημένου σταδίου συχνά δεν μπορούν να υποβληθούν σε χειρουργικές επεμβάσεις, έχοντας περιορισμένες επιλογές για την αντιμετώπιση της ασθένειας όπως η συστηματική θεραπεία με χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία [7]. Ωστόσο, μέσα από τα χρόνια, φαίνεται πως η χημειοθεραπεία δεν έχει καταφέρει να επεκτείνει την διάρκεια ζωής των καρκινοπαθών με μεταστατικό μελάνωμα. Βοηθάει στη βελτίωση της κλινικής εικόνας των ασθενών, αλλά δεν επεκτείνει το προσδόκιμο ζωής τους. Για αυτόν ακριβώς το λόγο, η ανακάλυψη και η εξέλιξη της ανοσοθεραπείας έχει αλλάξει σημαντικά την αντιμετώπιση του μεταστατικού μελανώματος [13] και αποτελεί μία πρωτοφανή και υποσχόμενη μέθοδο για την καλύτερευση της ζωής και την αύξηση του χρόνου επιβίωσης των ασθενών μετά τη διάγνωση [4].

2.2 Ανοσοθεραπεία

Η *ανοσοθεραπεία* στοχεύει στην τόνωση του ανοσοποιητικού συστήματος, ενισχύοντας την ικανότητα του ίδιου του σώματος, να αναγνωρίζει και να σκοτώνει καρκινικά κύτταρα [6]. Η ανοσοθεραπεία έχει ως στόχο την αναγνώριση των αντιγόνων που σχετίζονται με κακοήγη κύτταρα και η ενεργοποίηση των κυττάρων της άμυνας του οργανισμού ώστε να τα πολεμήσουν [12]. Συγκεκριμένα, η θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης εστιάζει σε σημεία του ανοσοποιητικού ελέγχου εμποδίζοντας τα από το να καταστείλουν την ανοσολογική ανταπόκριση και ωθεί τα Τ-λεμφοκύτταρα στον εντοπισμό και την καταστροφή καρκινικών κυττάρων [6]. Η ανάπτυξη της ανοσοθεραπείας αποτελεί μια υποσχόμενη μέθοδο για την αντιμετώπιση του καρκίνου και η κατανόηση των μηχανισμών οι οποίοι αντιστέκονται σε αυτήν, καθώς και η εξέλιξη και η βελτίωση των φαρμακευτικών της μεθόδων αναμένεται να οδηγήσουν σε καλύτερα κλινικά αποτελέσματα μελλοντικά [13].

Οι θεραπευτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην ανοσοθεραπεία περιλαμβάνουν διάφορες μεθόδους όπως την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων που δρουν σαν αναστολείς των σημείων ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης (Immune Checkpoint Inhibitors- ICIs). Ειδικότερα, χρησιμοποιούνται ο αναστολέας της κυτταροτοξικής πρωτεΐνης 4 που σχετίζεται με τα Τ-λεμφοκύτταρα, CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) γνωστός ως ipilimumab και οι αναστολείς της πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1, PD-1 (programmed cell death protein 1) γνωστοί ως nivolumab και pembrolizumab [1]. Από κλινικής άποψης έχει καταγραφεί ότι ο συνδυασμός των αντισωμάτων PD-1 με τους CTLA-4 αναστολείς οδηγεί σε θετικά αποτελέσματα, επεκτείνοντας το προσδόκιμο ζωής έως και τα 5 χρόνια στο 50% των ασθενών. Βέβαια η σύνθεση αυτή παρουσιάζει υψηλή τοξικότητα, σε αντίθεση με την περιορισμένη τοξικότητα της μονοθεραπείας με αναστολείς PD-1, είτε nivolumab είτε pembrolizumab [6]. Συνολικά, οι αναστολείς PD-1 φαίνεται να δίνουν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τα πρώτα ICI και οι ασθενείς επιβιώνουν για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα [13]. Όπως περιγράφεται και στη συνέχεια, οι ασθενείς οι οποίοι συμμετέχουν στην παρούσα μελέτη έχουν λάβει ανοσοθεραπεία είτε μονοθεραπεία με αναστολείς PD-1 (nivolumab ή pembrolizumab) είτε συνδυασμό ipilimumab και nivolumab.

Αυτές οι θεραπευτικές οδοί έχουν φέρει επανάσταση στην αντιμετώπιση του προχωρημένου μεταστατικού μελανώματος βελτιώνοντας το προσδόκιμο ζωής των ασθενών. Παρόλα αυτά υπάρχει ακόμη ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών της τάξης του 40-45% που δεν δείχνουν ανταπόκριση στη θεραπεία και επιπρόσθετα, παρατηρείται η εμφάνιση ορισμένων απροσδόκων παρενεργειών στους ασθενείς [14].

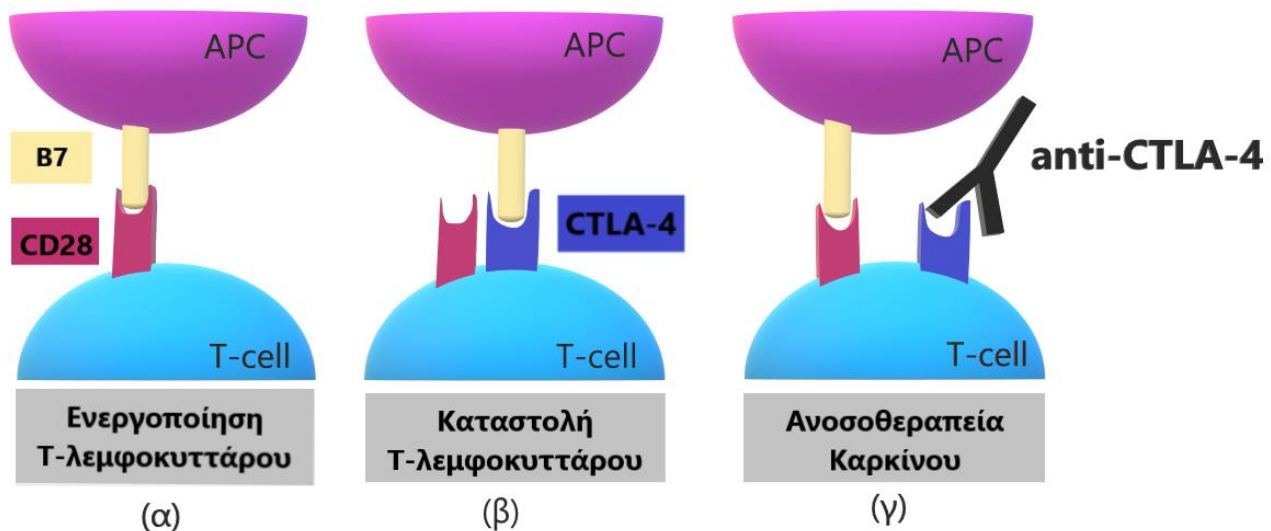
Παρενέργειες

Οι παρενέργειες που παρουσιάζονται από την ανοσοθεραπεία χαρακτηρίζονται ως ανοσοποιητικά σχετιζόμενα δυσμενή συμβάντα (immune-related adverse events- irAEs) και περιλαμβάνουν εντεροκολίτιδα, πνευμονίτιδα, δερματίτιδα, θυροειδίτιδα, αρθρίτιδα, ηπατίτιδα και άλλα συμπτώματα. Οι δυσμενείς αυτές παρενέργειες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στην εκτίμηση της κατάστασης του ασθενούς, καθώς σε απεικονιστικές μεθόδους μπορεί να

προκαλέσουν σύγχυση ως προς την ερμηνεία τους [1]. Η αναγνώριση και ο διαχωρισμός τους από τις καρκινικές μεταστάσεις αποτελεί πρόκληση και δυσκολεύει την καθαρή εκτίμηση των μεταστάσεων του μελανώματος. Όπως θα δούμε και στη συνέχεια, το 84% των ασθενών που συμμετέχουν στην παρούσα μελέτη, έχει κάποιες από τις παραπάνω παρενέργειες οι οποίες σε ορισμένες περιπτώσεις περιορίζουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου.

Αναστολείς σημείων ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης του ανοσοποιητικού CTLA-4

Το ανοσοποιητικό σύστημα διαθέτει έναν μηχανισμό που αναστέλλει την δράση των κυττάρων άμυνας και οι καρκινικοί όγκοι έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν αυτό τον μηχανισμό ώστε να μειώσουν την αντικαρκινική ανταπόκριση του οργανισμού [4]. Η ιπιλιμουμάπη (ipilimumab) αποτελεί ένα μονοκλωνικό αντίσωμα (anti-CTLA-4) που εμποδίζει το κυτταροτοξικό αντιγόνο 4 (CTLA-4) που σχετίζεται με τα Τ-λεμφοκύτταρα, από το να καταστείλει την ανοσολογική δράση τους και με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος εναντίον των καρκινικών κυττάρων. Έχει αποδειχθεί πως σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα σταδίου IV, η χορήγηση αυτών των αντισωμάτων έχει επιφέρει θετικά κλινικά αποτελέσματα, σε αντίθεση με τις χημειοθεραπείες, αυξάνοντας το προσδόκιμο ζωής κατά 5 χρόνια σε ορισμένες περιπτώσεις. Βέβαια, τα ποσοστά απόκρισης στην ανοσοθεραπεία των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα είναι μικρά, περίπου 15-20% των περιπτώσεων [15].



Modification of original Figure 1 from: [16].

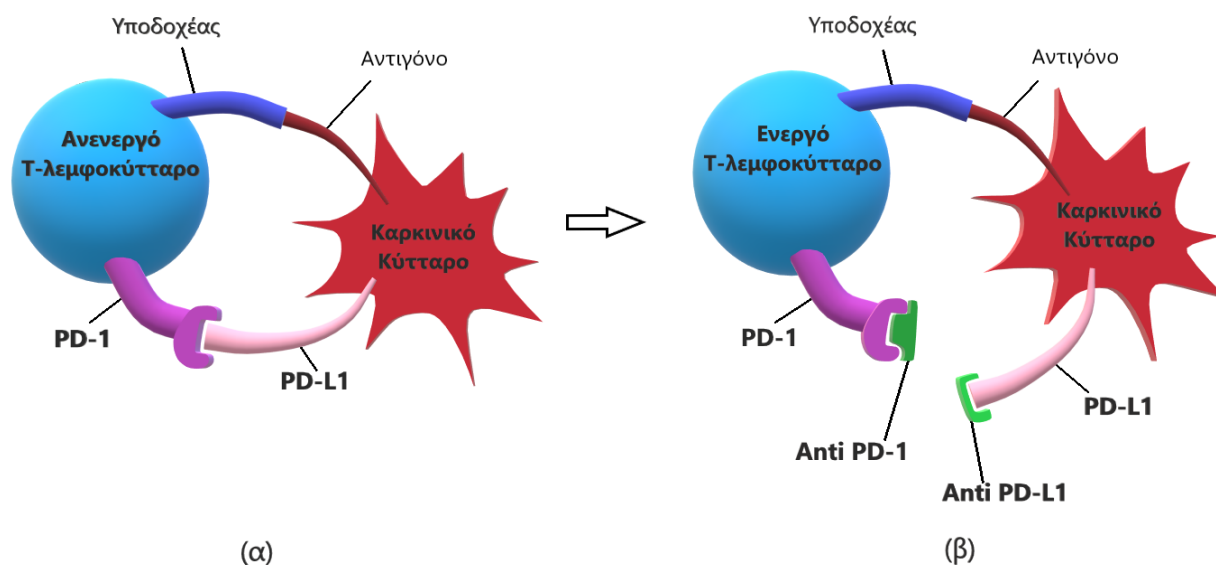
Σχήμα 2.2: Ανοσοθεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα anti-CTLA-4

Στο Σχήμα 2.2 παρουσιάζεται ο τρόπος λειτουργίας της ανοσοθεραπείας με το μονοκλωνικό αντίσωμα anti-CTLA-4. Τα Τ λεμφοκύτταρα (γαλάζιου χρώματος) ενεργοποιούνται από την αλληλεπίδραση του υποδοχέα CD28, με το προσδέτη B7 του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου, (Antigen Presenting Cell – APC) (μωβ χρώματος), το οποίο βοηθά τα Τ-

λεμφοκύτταρα να αναγνωρίσουν διάφορα αντιγόνα [17] (Σχήμα 2.2.α). Το αντιγόνο CTLA-4 καταστέλλει την ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων με ανταγωνιστική πρόσδεση με το B7. (Σχήμα 2.2.β). Ο αναστολέας του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού, anti-CTLA-4, εμποδίζει την πρόσδεση CTLA-4 / B7. (Σχήμα 2.2.γ) [18]. Μπλοκάρει λοιπόν, την πρόσδεση που οδηγεί στην καταστολή της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος και επιτρέπει την ενεργοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων, κυττάρων άμυνας του οργανισμού. Με αυτόν τον τρόπο τα Τ-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν και επιτίθενται στα καρκινικά κύτταρα, ώστε να τα εξαλείψουν.

Αναστολείς πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1)

Μετά από έρευνες και δοκιμές σε ασθενείς είναι πλέον κοινώς αποδεκτό πως οι αναστολείς της πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1) όπως οι nivolumab και pembrolizumab επιφέρουν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τη μονοθεραπεία με ipilimumab. Ο μηχανισμός λειτουργίας των αντισωμάτων anti-PD-1 φαίνεται στο Σχήμα 2.3. Ο υποδοχέας προγραμματισμένου θανάτου-1, PD-1 υπάρχει όπως ανακαλύφθηκε σε πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και σε πρόσδεση με το PD-L1 που βρίσκεται σε καρκινικά κύτταρα έχει την ικανότητα να σταματά την δραστηριότητα των Τ-λεμφοκυττάρων. (Σχήμα 2.3.α) Η καταστροφή του κλειδώματος PD-1/PD-L1 μέσω των μονοκλωνικών αντισωμάτων anti-PD-1 ενεργοποιεί την ανοσολογική ανταπόκριση εναντίον των μελανωμάτων. (Σχήμα 2.3.β) [6].



Modification of original Figure 1 from: [19]

Σχήμα 2.3: Ανοσοθεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα anti-PD-1.

Οι αναστολείς της πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1), όπως το pembrolizumab και το nivolumab, οδήγησαν σε επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου και συνολικά ποσοστά επιβίωσης με λιγότερες παρενέργειες. Η χρήση τους ως μονοθεραπεία, αλλά και η χορήγηση τους σε συνδυασμό με το αντίσωμα για την CTLA-4 (ipilimumab+nivolumab) θεωρούνται πλέον οι κυριότερες και σημαντικότερες μέθοδοι θεραπείας για το μεταστατικό μελάνωμα προχωρημένων σταδίων [1].

Χρήση ραδιοφαρμάκου ^{18}F -FDG για την εκτίμηση της ανοσοθεραπείας

Τεχνικές απεικόνισης, όπως η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων μαζί με την υπολογιστική τομογραφία (PET/CT) σε ολόκληρο το σώμα, με χρήση του ραδιοφαρμάκου 2-δεοξυ-2-(^{18}F) φθοριο-d-γλυκόζη (^{18}F -FDG) βοηθούν σημαντικά στην διάγνωση του καρκίνου και χρησιμοποιούνται σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα προχωρημένου σταδίου [13], [20]. Οι PET/CT απεικονίσεις έχουν αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο για την κατηγοριοποίηση των ασθενών στα διάφορα στάδια του μελανώματος και στην παρακολούθηση της πορείας τους κατά τη διάρκεια ανοσοθεραπείας [13].

Η FDG-PET εικόνα δίνει στοιχεία για τις λειτουργίες του οργανισμού, αφού υπολογίζει τον μεταβολισμό της δεοξυγλυκόζης ^{18}F -FDG στα κύτταρα. Τα κακοήθη κύτταρα έχουν την τάση να μεταβολίζουν την γλυκόζη σε αρκετά υψηλά επίπεδα, για αυτόν τον λόγο η PET απεικόνιση με ^{18}F -FDG αποτελεί την κύρια μέθοδο παρακολούθησης των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα. Συγκριτικά με την αξονική τομογραφία (CT) και την μαγνητική τομογραφία (MRI), παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία στον εντοπισμό μεταστάσεων σε όλο το σώμα, εξαιρουμένου του εγκεφάλου που προτιμάται η MRI και των πνευμόνων που προτιμάται η CT.

Ο συνδυασμός της τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων PET με αξονική τομογραφία CT χαμηλής δόσης αποτελεί την προτεινόμενη απεικόνιση για μεταστατικό μελάνωμα, καθώς πέρα από στοιχεία για τις μεταβολικές διαδικασίες προσδίδει και ανατομικές πληροφορίες [21]. Συνολικά λοιπόν ο συνδυασμός ^{18}F -FDG PET με CT επιτρέπει τη σύγκριση λειτουργικών και μορφολογικών πληροφοριών και ενισχύει την ικανότητα ταξινόμησης των βλαβών με αυξημένη πρόσληψη του ιχνηθέτη (ραδιοφαρμάκου ^{18}F -FDG), λαμβάνοντας υπόψη και μορφολογικά κριτήρια.

Ωστόσο, η ανάπτυξη πιο ειδικών ιχνηθετών είναι ζωτικής σημασίας τόσο για τη διάγνωση όσο και για τη διαχείριση της θεραπείας [13].

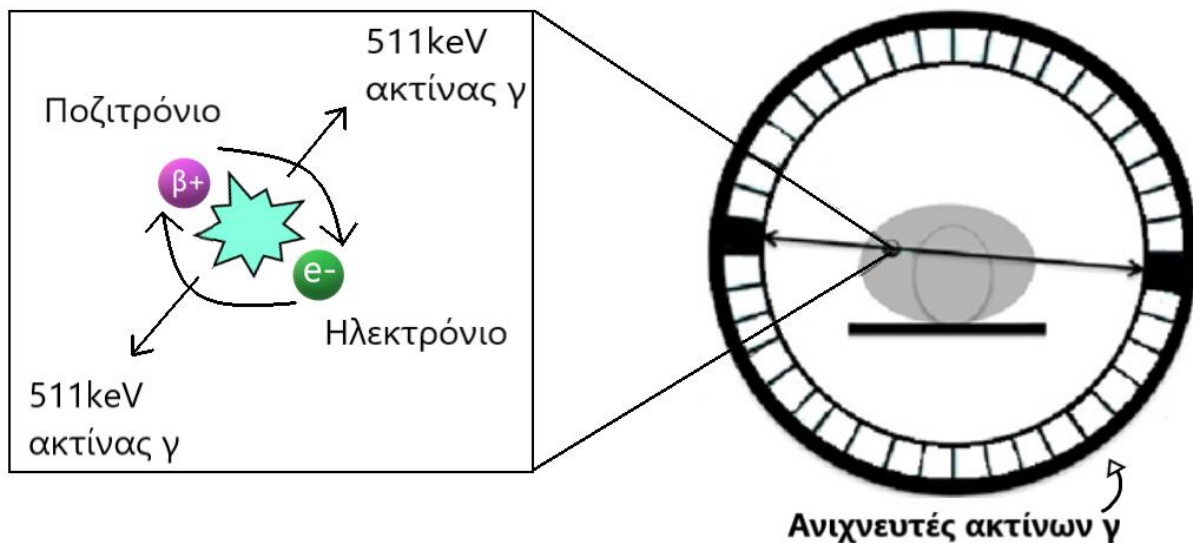
3. Μέθοδοι Απεικόνισης

3.1 Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET)

Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography - PET) αποτελεί μια απεικονιστική τεχνική της πυρηνικής ιατρικής. Η τομογραφία PET είναι μία απεικόνιση με ραδιοφάρμακα που έχει ως βάση τις αρχές της υπολογιστικής τομογραφίας (CT). Η αναπαράσταση των εικόνων της εσωτερικής δομής του ανθρώπινου σώματος προκύπτει από τη χρήση αλγορίθμων ανακατασκευής εικόνας από συνδυασμό πολλαπλών προβολών. Το πλεονέκτημα της απεικόνισης PET είναι πως επειδή παρέχει πληροφορίες για τις λειτουργίες του οργανισμού, όπως για παράδειγμα μεταβολικές διαδικασίες, μπορεί να ανιχνεύσει διαταραχές που δεν μπορούν να ανιχνευθούν από ανατομικές απεικονίσεις [22] και παρέχει υψηλή ευκρίνεια στις εγκάρσιες λήψεις [23]. Με την έγχυση των ραδιενεργών ιχνηθετών είναι δυνατή η παρατήρηση των βιοχημικών διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα στα κύτταρα του οργανισμού [24]. Στη σύγχρονη ιατρική χρησιμοποιείται ευρέως στους τομείς της Ογκολογίας, της Νευρολογίας και της Καρδιολογίας και αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο για την διάγνωση και την παρακολούθηση παθολογικών καταστάσεων [22].

3.1.1 Αρχές Λειτουργίας PET

Η βασική αρχή λειτουργίας της τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων είναι η χορήγηση ραδιοφαρμάκου το οποίο συγκεντρώνεται στην περιοχή ενδιαφέροντος και εκπέμπει ποζιτρόνια (β^+). Τα ραδιοϊσότοπα ^{11}C , ^{13}N και ^{18}F είναι ασταθή. Σταθεροποιούνται με την μετατροπή ενός πρωτονίου σε νετρόνιο, που γίνεται με εκπομπή ενός ποζιτρονίου β^+ (κι ενός νετρίνου).



Modification of original Figure 2 from: [25]

Σχήμα 3.1: Ανιχνευτική διάταξη ενός μηχανήματος PET απεικόνισης.

Μετά την εκπομπή του, το ποζιτρόνιο αντιδρά με τους ιστούς και τελικά εξουδετερώνεται με ένα ηλεκτρόνιο, σε αντίδραση εξαΰλωσης, όπου ταυτόχρονα εκπέμπονται αντιδιαμετρικά δύο φωτόνια γ (δίδυμη γένεση) με ενέργεια 511KeV. Οι ακτίνες γ αφού διαπεράσουν το σώμα και τους ιστούς, ανιχνεύονται από τους ανιχνευτές που βρίσκονται κυκλικά γύρω από τον ασθενή (Σχήμα 3.1). Όταν γίνουν πολλές καταγραφές δίδυμης γένεσης είναι δυνατή η εύρεση της θέσης προέλευσης του πρωτονίου που τα προκάλεσε και άρα του σημείου που έχει καταναλωθεί το ραδιοφάρμακο.

Ανάλογα με τον τύπο των ιστών και τις διεργασίες στα διάφορα σημεία του σώματος υπάρχει απορρόφηση ενέργειας η οποία αποτυπώνεται στους ανιχνευτές. Έτσι έχουμε αυξομειώσεις της έντασης, οι οποίες αποτυπώνονται στις αντίστοιχες εικόνες και δίνουν πληροφορίες για τη τοπική δομή και τις διεργασίες. Οι προβολές ανακατασκευάζονται μέσω αλγορίθμου και δίνουν την εικόνα της εκάστοτε τομής. Τομές σε όλο το σώμα κάνουν εφικτή και την τρισδιάστατη αναπαράσταση [22].

Ραδιοφάρμακα

Τα κύρια ραδιοϊσότοπα που εκπέμπουν ποζιτρόνια και χρησιμοποιούνται ευρέως στην απεικόνιση PET είναι τα ^{15}O (οξυγόνο), ^{13}N (άζωτο), ^{11}C (άνθρακας) και ^{18}F (φθόριο) [24]. Το φθόριο-18 χρησιμοποιείται αντί του υδρογόνου, καθώς το υδρογόνο δεν έχει ισότοπο που να εκπέμπει ποζιτρόνια [26]. Τα ραδιοφάρμακα προσκολλώνται στα σημεία προς μελέτη και δίνουν τόσο ανατομικές πληροφορίες όσο και λειτουργικές, αφού έχουν την ιδιότητα να επισημαίνουν χημικές ουσίες μεταβολικών και βιοχημικών διαδικασιών [22].

Για παράδειγμα, το ραδιοφάρμακο 2-δεοξυ-2-(^{18}F) φθοριο-d-γλυκόζη, $^{18}\text{F-FDG}$, παρέχει πληροφορίες για τις λειτουργικές διαδικασίες των κυττάρων και συγκεκριμένα τον μεταβολισμό της γλυκόζης και συμβάλλει στην ανίχνευση καρκινικών όγκων οι οποίοι προσλαμβάνουν την γλυκόζη σε υψηλά επίπεδα [22]. Βέβαια, η $^{18}\text{F-FDG}$ δεν είναι αποκλειστικά ανιχνευτής καρκινωμάτων, αλλά συγκεντρώνεται φυσιολογικά σε σημεία που εμφανίζουν αυξημένη κατανάλωση της γλυκόζης, όπως διάφορες φλεγμονές και ο καφέ λιπώδης ιστός, που μεταβολίζει τη γλυκόζη με μεγάλο ρυθμό [27]. Ακόμη, ορισμένα όργανα λόγω των μεταβολικών τους διαδικασιών, όπως είναι ο εγκέφαλος, η καρδιά, το ήπαρ, οι νεφροί και το ουροποιητικό, παρουσιάζουν υψηλή πρόσληψη της $^{18}\text{F-FDG}$. Στην παρακολούθηση θεραπείας ασθενών με καρκίνο, η πρόσληψη της $^{18}\text{F-FDG}$ από φυσιολογικούς ιστούς, δημιουργεί δυσκολίες στην ανίχνευση των πραγματικών κακοηθειών.

3.1.2 PET στην Ογκολογία

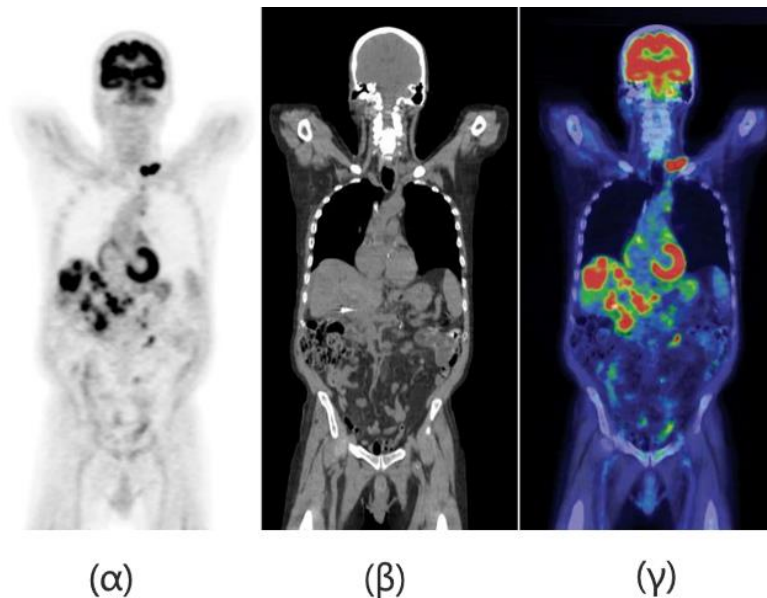
Η απεικόνιση PET αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα εργαλεία για την Ογκολογία. Οι όγκοι χαρακτηρίζονται από κύτταρα που πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα, επομένως καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες ενέργειας και αυξάνεται ο ρυθμός μεταβολισμού της γλυκόζης. Με την χρήση κατάλληλων ραδιοφαρμάκων, και ειδικότερα της 2-δεοξυ-2-(¹⁸F) φθοριο-d-γλυκόζη (¹⁸F-FDG), η οποία λαμβάνεται σε υψηλά επίπεδα και συσσωρεύεται σε καρκινικά κύτταρα [24], το PET μπορεί να προσφέρει πληροφορίες για τη διάγνωση και παρακολούθηση καρκινικών όγκων. Παρέχει πληροφορίες σχετικά με το μεταβολισμό και την έκχυση του όγκου [22] και χρησιμοποιείται για την έγκαιρη διάγνωση νέων μεταστάσεων, τη σταδιοποίηση της ασθένειας, την αξιολόγηση θεραπειών και τον εντοπισμό επανεμφάνισης όγκων, σε μετεγχειρητικό στάδιο [24].

Από τη μελέτη [28], που εκτιμήθηκε η καταλληλότητα των ιατρικών PET απεικονίσεων για την αξιολόγηση καρκίνων, προέκυψε πως σε αρκετά είδη καρκίνων η διαγνωστική ακρίβεια ήταν αυξημένη. Ορισμένα από αυτά είναι το λέμφωμα, ο καρκίνος του παχέος εντέρου, όγκοι στο κεφάλι και στο λαιμό.

Η PET απεικόνιση έχει επίσης υψηλή διαγνωστική αξία σε καρκίνους όπως το μελάνωμα και ο καρκίνος των πνευμόνων [24]. Συγκεκριμένα, σε έρευνα που μελέτησε την ακρίβεια, την ευαισθησία και τη χρησιμότητα της ολόσωμης PET απεικόνισης στην ανίχνευση μεταστάσεων σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα, τα αποτελέσματα έδειξαν υπεροχή της PET από την CT απεικόνιση σε ορισμένες περιπτώσεις. Στους πνεύμονες, οι κακοήθειες εντοπίστηκαν με την ίδια ακρίβεια για τις δύο μεθόδους, ενώ στις περιοχές των λεμφαδένων, σε μαλακούς ιστούς, και στο ήπαρ, η PET απεικόνιση παρείχε υψηλότερη ευαισθησία από την αξονική [29].

3.2 PET/CT Απεικόνιση

Όπως αναφέρθηκε και στη προηγούμενη ενότητα, οι τομογραφίες εκπομπής ποζιτρονίων (PET) είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στον τομέα της Ογκολογίας. Οι πληροφορίες που δίνουν για τις βιοχημικές διαδικασίες στους καρκινικούς όγκους είναι κρίσιμες για την διάγνωση και την αντιμετώπιση τους [22]. Ωστόσο, παρουσιάζουν δυσκολία ως προς τον προσδιορισμό της ακριβούς ανατομικής θέσης της δομής που εμφανίζει λειτουργική ανωμαλία, όπως για παράδειγμα την αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης. Ο συνδυασμός της απεικόνισης PET με υπολογιστική τομογραφία CT λύνει αυτό το πρόβλημα. Τα μηχανήματα PET/CT παρέχουν εικόνες για τις μεταβολικές διαδικασίες στις εσωτερικές δομές με ταυτόχρονο προσδιορισμό της μορφολογίας τους. Στο Σχήμα 3.2 φαίνονται (α) PET, (β) CT απεικονίσεις και (γ) το αποτέλεσμα του συνδυασμού τους.



Source: [30]

Σχήμα 3.2: Παραδείγματα απεικονίσεων (α) PET, (β) CT και (γ) συνδυασμού PET/CT

Η PET/CT απεικόνιση με ραδιοφάρμακο 2-δεοξυ-2-(^{18}F) φθοριο-d-γλυκόζη (^{18}F -FDG) είναι ο επιλεγμένος τρόπος λήψης εικόνων στους καρκίνους, όπως το μεταστατικό μελάνωμα [31]. Συμβάλλει στην αρχική εκτίμηση και διάγνωση, την κατηγοριοποίηση των ασθενών ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκονται και την επίβλεψη της πορείας της θεραπευτικής αγωγής που θα ακολουθηθεί. Ο συνδυασμός PET/CT βοηθάει στο σχεδιασμό και την παρακολούθηση των επιπτώσεων της χημειοθεραπείας και της ακτινοθεραπείας [31], ενώ έχει δείξει και ακριβή πρόβλεψη των αποτελεσμάτων ανοσοθεραπειών. Συγκεκριμένα, η FDG-PET/CT ενισχύει την παρακολούθηση της ανοσοθεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα, εντοπίζει την πιθανή εξέλιξη της ασθένειας και παρενέργειες που μπορεί να προκύψουν [32].

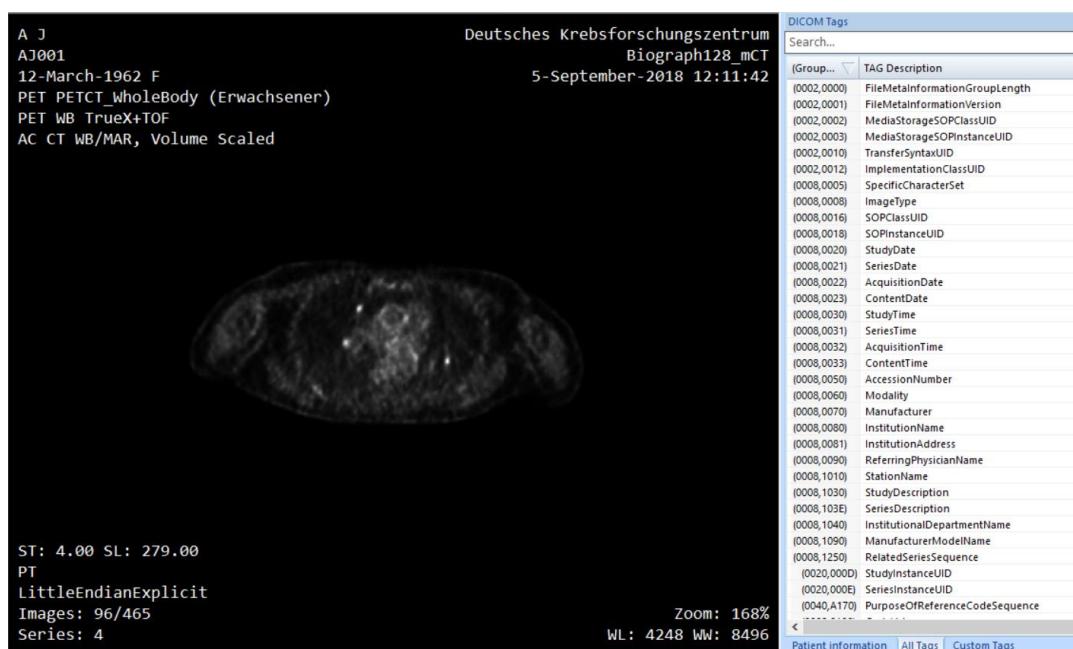
Οι ολόσωμες στατικές PET/CT εικόνες χρησιμοποιούνται ευρέως για την παρακολούθηση της θεραπείας σε καρκίνους. Παράλληλα, γίνεται προσπάθεια της εφαρμογής δυναμικών PET/CT εικόνων, μέσω των οποίων παρατηρείται η κατανομή της διασποράς του ραδιοφαρμάκου στο χρόνο. Η μελέτη της φαρμακοκινητικής του ραδιοφαρμάκου και του τρόπου κατανομής του χρονικά, μπορεί να βοηθήσει στο διαχωρισμό των κακοηθειών από τους φυσιολογικούς ιστούς. Η εξέλιξη των τεχνολογικών μέσων λήψης και αξιολόγησης των δυναμικών εικόνων, θα ενισχύσει την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων νέων θεραπευτικών μεθόδων [33].

3.3 Πρότυπο DICOM

Το πρότυπο DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) χρησιμοποιείται για την αποθήκευση ιατρικών εικόνων και την μετάδοσή τους, επιτρέποντας την αναγνώρισή τους

από ιατρικές συσκευές πολλών διαφορετικών κατασκευαστών [34]. Αποτελεί ένα από τα βασικότερα εργαλεία της σύγχρονης ιατρικής καθώς έχει συμβάλει στην εξέλιξη της σε διαγνωστικό και απεικονιστικό επίπεδο. Αρχικά, οι εικόνες τύπου DICOM αποτελούν την βασικό τύπο ιατρικής εικόνας παγκοσμίως, γεγονός που έχει διευκολύνει σημαντικά την ανταλλαγή και μεταφορά ιατρικών δεδομένων λόγω του καθολικού τρόπου αναπαράστασης. Το πρότυπο DICOM περιλαμβάνει όλα τα δεδομένα και τις ιατρικές πληροφορίες για την ανάλυση και επεξεργασία των ιατρικών εικόνων [35].

Ένα DICOM αρχείο περιλαμβάνει ψηφιοποιημένα τα ιατρικά δεδομένα [35]. Συγκεκριμένα, εμπεριέχει τις εικόνες ενός ασθενούς, μαζί με όλες τις πληροφορίες για το μηχάνημα απεικόνισης, τον τύπο της εικόνας και τα στοιχεία που αφορούν τα χαρακτηριστικά του ασθενούς [34]. Ορισμένα από τα χαρακτηριστικά που εμπεριέχονται σε ένα DICOM αρχείο είναι το φύλο, η ηλικία, το βάρος, η ακριβής ημέρα και ώρα λήψης της απεικόνισης, καθώς και κλινικά στοιχεία του ασθενούς εάν είναι διαθέσιμα από τον θεράποντα ιατρό.



Σχήμα 3.3: Παράδειγμα εικόνας DICOM ενός ασθενούς και τα χαρακτηριστικά της

Οι κωδικοί «0008» και «0018» περιλαμβάνουν τα χαρακτηριστικά της μελέτης και τεχνικά χαρακτηριστικά που αφορούν τον λογισμικό αντίστοιχα.

(0008,0020)	StudyDate	(0018,0050)	SliceThickness
(0008,0021)	SeriesDate	(0018,1000)	DeviceSerialNumber
(0008,0022)	AcquisitionDate	(0018,1020)	SoftwareVersions
(0008,0023)	ContentDate	(0018,1181)	CollimatorType
(0008,0030)	StudyTime	(0018,1200)	DateOfLastCalibration
		(0018,1201)	TimeOfLastCalibration

Σχήμα 3.4.α: Χαρακτηριστικά εικόνας DICOM

Ο κωδικός «0010» αναφέρεται στα χαρακτηριστικά του ασθενούς όπως φαίνεται παρακάτω και ο κωδικός «0028» αναφέρεται στα χαρακτηριστικά της εικόνας όπως είναι οι στήλες και οι γραμμές των εικονοστοιχείων, η απόσταση των pixel και άλλα.

(0010,0010)	PatientName	(0028,0002)	SamplesPerPixel
(0010,0020)	PatientID	(0028,0004)	PhotometricInterpretation
(0010,0030)	PatientBirthDate	(0028,0010)	Rows
(0010,0040)	PatientSex	(0028,0011)	Columns
(0010,1010)	PatientAge	(0028,0030)	PixelSpacing
(0010,1030)	PatientWeight	(0028,0051)	CorrectedImage

Σχήμα 3.4.β: Χαρακτηριστικά εικόνας DICOM

4. Μορφοκλασματική και Πολυμορφοκλασματική Ανάλυση

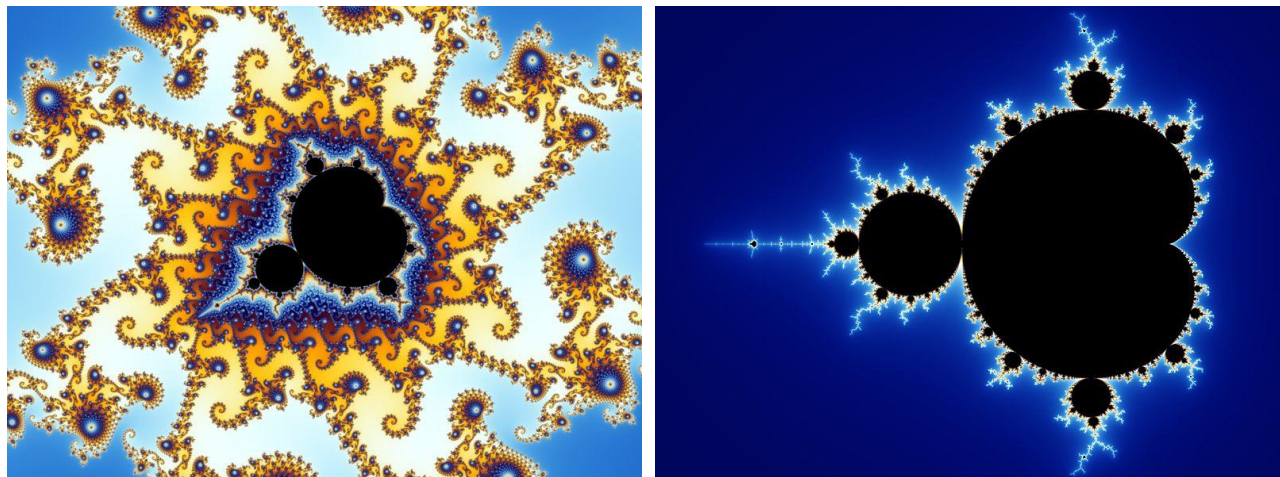
4.1 Μορφοκλάσματα

4.1.1 Ορισμός φράκταλ και ιδιότητες

Η προέλευση της λέξης **Fractal** είναι από το λατινικό επίθετο *fractus* και σημαίνει "θρυμματισμένο", "σπασμένο" (*Frangere* = σπάζω) [36]. Ο όρος «fractal» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον μαθηματικό Μπενουά Μάντελμπροτ (Benoit Mandelbrot) το 1975. Στην θεμελίωση της θεωρίας των φράκταλ συνέβαλαν με τις θεωρίες τους και οι Μαθηματικοί Georg Cantor, Felix Hausdorff, Gaston Julia, Pierre Fatou [37].

Με το όνομα φράκταλ (*fractal*) ή μορφοκλάσμα ή μορφοκλασματικό σύνολο ορίζεται ένα γεωμετρικό σχήμα που επαναλαμβάνεται ίδιο σε άπειρο βαθμό μεγέθυνσης. Το μορφοκλάσμα όσες φορές και να μεγεθυνθεί, εμφανίζεται αυτούσιο σε διαφορετικές κλίμακες [38]. Στο μορφοκλάσμα (*fractal*), η φράκταλ διάσταση του, είναι πάντοτε μικρότερη από τη διάσταση εμβάπτισής του, δηλαδή από την διάσταση του χώρου στον οποίο ενυπάρχει το μορφοκλάσμα.

Τα αντικείμενα φράκταλ χαρακτηρίζονται από την πολυπλοκότητα που εμφανίζουν σε διαδοχικές κλίμακες μεγέθυνσης ή σμίκρυνσης [37]. Ένα παράδειγμα μορφοκλασματικού συνόλου αποτελεί το σύνολο Mandelbrot, που απεικονίζεται στο Σχήμα 4.1.



Sources: [39], [40]

Σχήμα 4.1: Το πιο γνωστό fractal – The Mandelbrot Set.

Ειδικότερα, ένα φράκταλ χαρακτηρίζεται από τις παρακάτω ιδιότητες:

- Σε κάθε μεγέθυνση του παρουσιάζει καινούργιες λεπτομέρειες και αυτό αναφέρεται ως "δομή μέσα σε δομή".
- Χαρακτηρίζεται από *αυτοομοιότητα υπό αλλαγή κλίμακας*. Σε εναλλαγές της κλίμακας του συνόλου επανεμφανίζονται όμοια επί μέρους τμήματα.
- Η αυτοομοιότητα του μπορεί να αποτελέσει και στατιστική ιδιότητα του και το μαθηματικό ή αλγοριθμικό φράκταλ χαρακτηρίζεται από άπειρη ακολουθία κλιμάκων.
- Η κατασκευή του είναι δυνατή με την χρήση των ίδιων μαθηματικών εφαρμογών επαναληπτικά [37].

Η θεωρία των φράκταλ είναι μια μαθηματική θεωρία που σχετίζεται και με τη θεωρία του Χάους [37].

4.1.2. Μορφοκλασματικές Δομές

Οι δομές που εμφανίζουν τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες των φράκταλς ονομάζονται μορφοκλασματικές δομές. Μερικά παραδείγματα γνωστών μορφοκλασματικών δομών και ο τρόπος κατασκευής τους αναφέρονται παρακάτω.

Το Τριαδικό Σύνολο Cantor (Cantor Set)

Ένα από τα πιο γνωστά φράκταλς αποτελεί το «σύνολο Cantor» που έλαβε την ονομασία του από τον Georg Cantor, μαθηματικό που το δημιούργησε [41]. Κατασκευάζεται με ευκολία και αποτελεί ένα σύνολο που εμφανίζει τα χαρακτηριστικά των φράκταλς. Στο Σχήμα 4.2 φαίνεται η διαδικασία αυτή με την αναπαράσταση της δημιουργίας ενός Cantor set για 4 επαναλήψεις.



Σχήμα 4.2: Κατασκευή του συνόλου Cantor (Cantor Set).

Στην αρχή θεωρούμε την ευθεία με μήκος 1. Στην πρώτη επανάληψη η ευθεία αυτή χωρίζεται σε τρία ίσα κομμάτια και αφαιρείται το μεσαίο από αυτά. Τα κομμάτια που απομένουν έχουν μήκος 1/3. Στη δεύτερη επανάληψη κάθε ένα από τα δύο κομμάτια που έχουν μέγεθος

1/3 χωρίζεται με τη σειρά σου σε τρία ίσα κομμάτια από τα οποία αφαιρείται το μεσαίο. Άρα προκύπτουν 2 ευθείες μήκους 1/9 για κάθε τμήμα μήκους 1/3. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται αντιστοίχως για κάθε κομμάτι και σε κάθε επανάληψη προκύπτουν τμήματα ίσα με το 1/3 του προηγούμενου τους. Το σύνολο Cantor παρουσιάζει παρόμοιες ιδιότητες με αυτές που εμφανίζουν πολλά fractals [42].

Τρίγωνο Sierpinski (Sierpinski triangle)

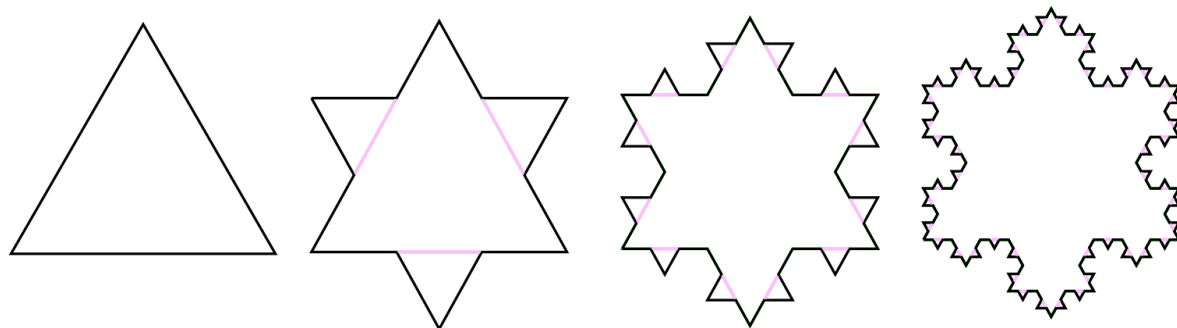
Το τριαδικό σύνολο Cantor της προηγούμενη ενότητας, αναπτύσσεται σε μονοδιάστατο χώρο. Ένα χαρακτηριστικό φράκταλ που αναπτύσσεται στον δισδιάστατο χώρο αποτελεί το τρίγωνο του Sierpinski. Το φράκταλ αυτό κατασκευάζεται μέσω επαναληπτικής διαδικασίας κατά την οποία από το αρχικό ισόπλευρο τρίγωνο, αφαιρούνται αντίστοιχα ισόπλευρα τρίγωνα [42]. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.3 στην πρώτη επανάληψη αφαιρέθηκε 1 ισόπλευρο τρίγωνο και δημιουργήθηκαν 3 μικρά ισόπλευρα τρίγωνα. Στην δεύτερη επανάληψη αφαιρούνται 3 μικρότερα τρίγωνα και ούτω καθεξής [41].



Σχήμα 4.3: Δημιουργία του τριγώνου Sierpinski.

Χιονονιφάδα Koch

Ένα άλλο παράδειγμα μορφοκλασματικής δομής που βασίζεται στα τρίγωνα είναι το μορφόκλασμα που ονομάζεται «χιονονιφάδα Von Koch». Η χιονονιφάδα αυτή κατασκευάζεται από την επανάληψη του ίδιου σχήματος και την δημιουργία πολυπλοκότερων σχημάτων που προκύπτουν με τις επαναλήψεις όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.4.



Σχήμα 4.4: Η Χιονονιφάδα του Koch.

Και στα τρία παραπάνω παραδείγματα, καθώς προχωρούμε από την μία επανάληψη στην επόμενη προκύπτουν αυτο-όμοιες δομές σε πολλές κλίμακες μεγέθους.

4.1.3. Φράκταλ στη φύση

Φράκταλ απαντώνται και στη φύση, χωρίς όμως να υπάρχει άπειρη λεπτομέρεια στη μεγέθυνση όπως στα φράκταλ που προκύπτουν από μαθηματικές σχέσεις [38]. Τα συστήματα που περιέχουν διακλαδώσεις σε μεγαλύτερες και μικρότερες κλίμακες εμφανίζουν μορφοκλασματικά χαρακτηριστικά. Στη φύση τέτοια συστήματα είναι τα κλαδιά των δέντρων, τα φύλλα τους, οι ρίζες τους, το κέλυφος ενός σαλιγκαριού, μία χιονονιφάδα και πολλά άλλα.



Sources: [43], [44], [45], [46].

Σχήμα 4.5: Παραδείγματα φυσικών μορφοκλασματικών δομών που παρουσιάζουν αυτο-ομοιότητα σε διαφορετικές κλίμακες: κέλυφος σαλιγκαριού, χιονονιφάδα, σπειροειδής αλόη, μπρόκολο Ρομανέσκο.

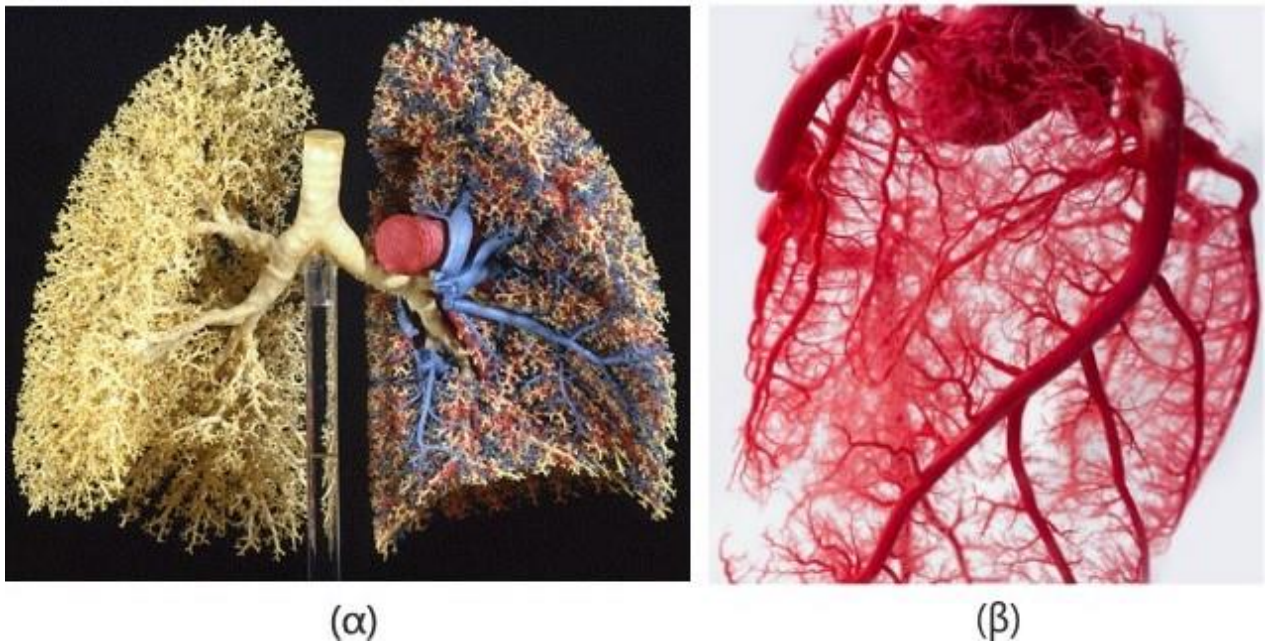
Φράκταλ, φυσικά συναντώνται και στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς υπάρχουν και εκεί συστήματα με διακλαδώσεις όπως είναι το νευρικό σύστημα, το βρογχικό σύστημα, η δομή του εγκεφάλου, ο αμφιβληστροειδής χιτώνας [47], αλλά και το κυκλοφορικό σύστημα μέσω του οποίου μεταφέρονται τα καρκινικά κύτταρα που θα μας απασχολήσουν στα επόμενα κεφάλαια.

4.1.4. Φράκταλ στη φυσιολογία και την ιατρική

Ο ανθρώπινος οργανισμός εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως προς την δομή και την γεωμετρία των συστημάτων που τον αποτελούν. Η πολυπλοκότητα των δομών του ανθρώπινου σώματος και η σύνθετη λειτουργικότητά τους έχει αποτελέσει μία πρόκληση για την σύγχρονη ιατρική και την βιολογία.

Ένα παράδειγμα περίπλοκου συστήματος που εμφανίζει μορφοκλασματικά χαρακτηριστικά, δηλαδή ιεραρχική δομή και υψηλή πολυπλοκότητα, είναι το βρογχικό σύστημα των πνευμόνων. Ξεκινώντας από την τραχεία, διακλαδίζεται σε ένα δενδροειδές δίκτυο αεραγωγών μικρότερης κλίμακας, όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.6(α).

Υπάρχουν, ακόμη πολλές φυσιολογικές δομές που εμφανίζουν μορφοκλασματικές ιδιότητες, δηλαδή αυτοομοιότητα σε διαφορετικές κλίμακες μέσω διακλαδώσεων. Μερικά παραδείγματα των δομών αποτελούν το νευρικό σύστημα, η επιφάνεια του εγκεφάλου, και το κυκλοφορικό σύστημα. Συγκεκριμένα η μορφοκλασματική φύση του κυκλοφορικού συστήματος περιλαμβάνει την καρδιά την οποία διαπερνά ένα σύστημα διακλαδώσεων που αποτελείται από τις αρτηρίες και τις φλέβες (Σχήμα 4.6(β)) [2].



Sources: α) [48], β) [49].

Σχήμα 4.6: Παραδείγματα φράκταλ στη φυσιολογία: α) το βρογχικό δέντρο των ανθρωπίνων πνευμόνων και β) το καρδιαγγειακό σύστημα.

Εφαρμογές μορφοκλασματικής θεωρίας στην ιατρική

Η εύρεση της μορφοκλασματικής διάστασης βοηθάει στην εκτίμηση της υφής μίας εικόνας, καθώς θεωρείται πως η τιμή της σχετίζεται με την τραχύτητα της εικόνας [50]. Ειδικότερα, η εφαρμογή της μορφοκλασματικής ανάλυσης σε ιατρικές εικόνες έχει αποτελέσει ένα εργαλείο για την εξαγωγή συμπερασμάτων και την ποσοτικοποίηση παραμέτρων που βοηθούν στην αξιολόγηση της λειτουργίας του ανθρωπίνου σώματος και των παθήσεων του.

Σε παθήσεις όπως η πνευμονική υπέρταση, έχει πραγματοποιηθεί μελέτη των πνευμονικών αγγείων, με εύρεση της τρισδιάστατης φράκταλ διάστασης, ώστε να προκύψουν συμπεράσματα για την μορφολογία του πνευμονικού αγγειακού δέντρου και των αιμοφόρων αγγείων [51].

Η μορφοκλασματική ανάλυση έχει πραγματοποιηθεί και σε ιατρικές εικόνες ασθενών με καρκίνο στο ήπαρ, έχοντας δείξει ότι με τις παραμέτρους της δίνει πληροφορίες για την μορφολογία των όγκων και μελλοντικά μπορεί να συμβάλλει στην διάγνωση και παρακολούθηση θεραπειάς [52]. Άλλες εφαρμογές της, αφορούν τη μελέτη της αρχιτεκτονικής των μικρών αγγείων των όγκων του εγκεφάλου [53], την εκτίμηση της υφής των αθηρωματικών πλακών στα τοιχώματα της καρωτίδας [54], την ανάλυση μαστογραφιών, αλλά και τον εντοπισμό ανωμαλιών στο ήπαρ [55]. Ακόμη, η φράκταλ ανάλυση φαίνεται να καταλήγει σε χρήσιμα συμπεράσματα για την αξιολόγηση παθήσεων που αφορούν την αρχιτεκτονική του καρδιαγγειακού συστήματος, την μορφολογία των κυττάρων και τον προσδιορισμό των ορίων των καρκινικών όγκων [56].

Στην παρούσα μελέτη, περιγράφεται η μορφοκλασματική ανάλυση της κατανομής των μεταστατικών όγκων του μελανώματος (καρκίνου το δέρματος), όπως είχε πραγματοποιηθεί και σε προηγούμενη έρευνα [3], προκειμένου να διαπιστωθεί εάν οι μορφοκλασματικές παράμετροι εξαρτώνται από τον τύπο της θεραπείας, ipilimumab σε σύγκριση με nivolumab και pembrolizumab, και κατά πόσον η συγκεκριμένη μέθοδος δίνει συγκρίσιμα αποτελέσματα σε διαφορετικές ομάδες ασθενών.

4.2 Μορφοκλασματική Διάσταση

Η **μορφοκλασματική διάσταση** D_f μίας δομής ή ενός αντικειμένου, είναι ένα στατιστικό μέτρο το οποίο ποσοτικοποιεί την κατανομή του αντικειμένου αυτού στο χώρο και πως αυτό καλύπτει το χώρο εάν μεγεθυνθεί σε μεγάλο βαθμό. Οι λεπτομέρειες της δομής και τα ιεραρχικά χαρακτηριστικά της περιγράφονται από τις μορφοκλασματικές διαστάσεις της. Μερικές εύκολα υπολογίσιμες μορφοκλασματικές διαστάσεις είναι η διάσταση καταμέτρησης υπερκύβων (box-counting dimension) και η διάσταση συσχέτισης.

Στη μέθοδο box-counting, ο αριθμός των κύβων $N(s)$ που καλύπτουν ένα σύνολο σημείων, ακολουθεί εκθετική συνάρτηση ως προς το μέγεθος s του κύβου. Η **μορφοκλασματική διάσταση** αποτελεί την απόλυτη τιμή του εκθέτη αυτής της συνάρτησης. Αν και σε ορισμένα φράκταλς όλες οι διάφορες μορφοκλασματικές διαστάσεις ταυτίζονται, γενικά δεν είναι ισοδύναμες [57].

Για τον ορισμό της μορφοκλασματική διάστασης καταμέτρησης υπερκύβων ενός αντικειμένου A , θα πρέπει να υπολογιστεί ο ελάχιστος αριθμός των υπερκύβων που καλύπτουν πλήρως το A . Ο χώρος που καταλαμβάνει το αντικείμενο A χωρίζεται σε μικρότερους υπερκύβους ακμής s οι οποίοι δημιουργούν ένα πλέγμα υπερκύβων. Κάθε υπερκύβος που περιλαμβάνει έστω και ένα σημείο του A προσμετράται στο πλήθος $N(s)$ των «γεμάτων» υπερκύβων (που περιέχουν τμήμα του αντικειμένου).

Αρχικά, υπολογίζεται η τοπική μάζα $m(s)$ που βρίσκεται στον μικρό υπερκύβο ακμής s , οποία δίνεται από την σχέση:

$$m(s) \approx s^{D_f} \quad (4.2.1)$$

Στη συνέχεια υπολογίζεται η συνολική μάζα $M(s)$ του αντικειμένου σε διαμέριση s , όπου $N(s)$ =αριθμός “γεμάτων” υπερκύβων

$$M(s) = N(s) \times m(s) = N(s) \times s^{D_f} \quad (4.2.2)$$

Ως μορφοκλασματική διάσταση ορίζεται η τιμή του D_f , για την οποία οι κύβοι δεν περιλαμβάνουν κενό χώρο, αλλά αποκλειστικά τη πεπερασμένη μάζα M του αντικειμένου, και ισχύει $M(s) = M$:

$$M = \lim_{s \rightarrow 0} M(s) = \lim_{s \rightarrow 0} N(s) \times s^{D_f} \quad (4.2.3)$$

Η τελική μορφή της σχέσης μάζας-γεμάτων υπερκύβων που προκύπτει είναι:

$$N(s) = M \times s^{-D_f}, \quad s \rightarrow 0 \quad (4.2.4)$$

με D_f = κλίση της καμπύλης [36].

Χρησιμοποιώντας λογάριθμους και στις δύο πλευρές της σχέσης (4.2.4), είναι δυνατή η εύρεση της διάστασης D_f :

$$\log N(s) = \log M - D_f \log s \quad (4.2.5)$$

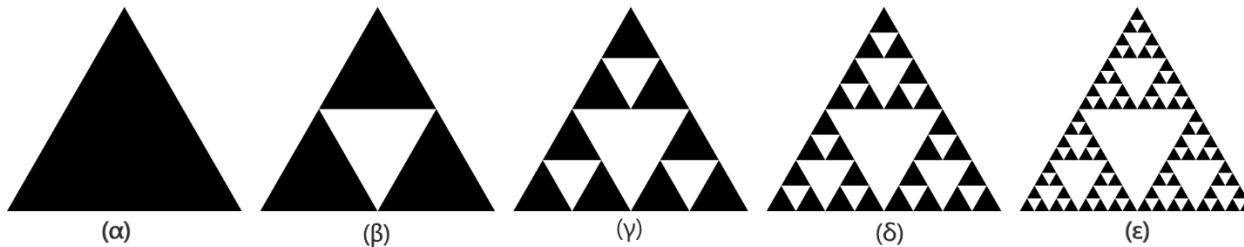
Και τελικά προκύπτει ο ορισμός:

$$D_f = \lim_{s \rightarrow 0} \frac{\log(N)}{-\log(s)} = \lim_{s \rightarrow 0} \frac{\log(N)}{\log(\frac{1}{s})} \quad (4.2.6)$$

Ο αριθμός D_f που θα προκύψει, συνήθως, θα είναι ένας μη ακέραιος αριθμός. Ο τύπος που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της διάστασης D_f (4.2.6) είναι κατάλληλος για οποιοδήποτε μορφόκλασμα έχει δημιουργηθεί επαναληπτικά σε μία κλίμακα αυτοομοιότητας [37].

Μορφοκλασματική διάσταση του Sierpinski triangle

Η κατασκευή του τριγώνου Sierpinski γίνεται με επαναληπτική διαδικασία, στην οποία αφαιρείται ένα τριγωνικό τμήμα κάθε ισόπλευρου τριγώνου που προκύπτει από την προηγούμενη επανάληψη, όπως αναλύθηκε στην υποενότητα 4.1.2 (Σχήμα 4.3). Από ένα μαύρο τρίγωνο πλευράς 1 (α), προκύπτουν 3 τρίγωνα πλευράς $\frac{1}{4}$, (β), στη συνέχεια από αυτά προκύπτουν 9 τρίγωνα πλευράς $\frac{1}{8}$ (γ) και ούτω καθεξής.



Σχήμα 4.3: Δημιουργία του τριγώνου Sierpinski

Με τη βοήθεια του ορισμού του εμβαδού ισόπλευρου τριγώνου πλευράς α :

$$\frac{\text{βάση} \times \text{ύψος}}{2} = \frac{1}{2} \alpha \frac{\sqrt{3}\alpha}{4} = \alpha^2 \frac{\sqrt{3}}{4} \quad (4.2.7)$$

Προκύπτει πως το εμβαδόν των επιμέρους τριγώνων στην n-οστή επανάληψη δίνεται από τον τύπο:

$$E_n = 3^n \left(\frac{1}{2^n}\right) \left(\frac{1}{2^n} \frac{\sqrt{3}}{4}\right) = \left(\frac{3}{4}\right)^n \frac{\sqrt{3}}{4} \xrightarrow{n \rightarrow \infty} 0 \quad (4.2.8)$$

Τελικά το ολικό εμβαδόν του τριγώνου Sierpinski είναι μηδέν, επομένως το τμήμα που καταλαμβάνει στο επίπεδο, έχει διάσταση που είναι μικρότερη από 2. Επομένως, σύμφωνα με τη σχέση (4.2.8) η μορφοκλασματική διάσταση του τριγώνου Sierpinski δίνεται από τον τύπο (4.2.6) για $s = (\frac{1}{2})^n$ και $N(s) = 3^n$ [37]:

$$D_f = \lim_{s \rightarrow 0} \frac{\log(N)}{\log(\frac{1}{s})} = \lim_{k \rightarrow \infty} \frac{\log(3^k)}{\log(2^k)} = \frac{\log(3)}{\log(2)} \approx 1.5849 \quad (4.2.9)$$

Οι μετρήσεις της μορφοκλασματικής διάστασης, μπορούν να εκτιμηθούν χρησιμοποιώντας μεθόδους, όπως η καταμέτρηση των υπερκύβων ή ο υπολογισμός συσχετίσεων. Σε φράκταλ ορισμένα με μαθηματικό τρόπο, ο υπολογισμός είναι εύκολος. Σε αντικείμενα του φυσικού κόσμου που εμφανίζουν μορφοκλασματικές ιδιότητες η διαδικασία εύρεσης της φράκταλ διάστασης είναι περιπλοκότερη και χρησιμοποιούνται υπολογιστικές μέθοδοι όπως η box-counting που αναφέρθηκε παραπάνω ή η διάσταση συσχέτισης που θα δούμε και στη συνέχεια.

4.3 Πολυμορφοκλασματικό Φάσμα

Το πολυμορφοκλασματικό φάσμα (ή γενικευμένες διαστάσεις D_q) περιλαμβάνει πολλούς εκθέτες, όπως η box counting διάσταση, η διάσταση πληροφορίας και η διάσταση συσχέτισης. Η πολυμορφοκλασματική ανάλυση χρησιμοποιείται συχνά σε συνδυασμό με μορφοκλασματική ανάλυση, για την πληρέστερη μελέτη χωρικών ή χρονικών συνόλων. Ορισμένες πρακτικές εφαρμογές της είναι η πρόβλεψη σεισμών [58] και η ερμηνεία ιατρικών εικόνων [59]. Πολυμορφοκλασματικά συστήματα απαντώνται και στη φύση, από το μήκος των ακτογραμμών έως και τη δυναμική των καρδιακών παλμών [60] και την εγκεφαλική δραστηριότητα [61]. Οι γενικευμένες διαστάσεις εφαρμόζονται επιτυχώς στη φύση και στις ιατρικές επιστήμες και δίνουν συγκεκριμένες πληροφορίες. Η γενικευμένη διάσταση $D_{q=0}$ ταυτίζεται με την διάσταση χώρου και συχνά με την box counting διάσταση, η $D_{q=1}$ ονομάζεται διάσταση πληροφορίας και η $D_{q=2}$ είναι ίση με την διάσταση συσχέτισης (correlation) [62].

Επομένως με μία πολυμορφοκλασματική ανάλυση υπολογίζονται πολλά μορφοκλασματικά μέτρα.

Αφού προηγηθεί η ανάλυση με την καταμέτρηση υπερκύβων (box counting) της μορφοκλασματικής διάστασης το πολυμορφοκλασματικό φάσμα για μέγεθος υπερκύβου $\varepsilon > 0$, προκύπτει από την εύρεση των γενικευμένων διαστάσεων (D_q), σύμφωνα με τον τύπο:

$$D_q = \lim_{s \rightarrow 0} \left[\frac{1}{q-1} \frac{\ln \sum_{i=1}^s p_i^q}{\ln s} \right], \quad -\infty < q < \infty \text{ και } q \neq 1 \quad (4.3.1)$$

$$D_1 = \lim_{s \rightarrow 0} \left[\frac{\sum_{i=1}^s p_i \ln p_i}{\ln s} \right], \quad q = 1 \quad (4.3.2)$$

όπου p_i ορίζεται ως η τοπική συγκέντρωση σημείων στον εκάστοτε υπερκύβο και υπολογίζεται από το κλάσμα [36]:

$$p_i = \frac{\text{τοπική συγκέντρωση στον υπερκύβο } i}{\text{άθροισμα όλων των συγκεντρώσεων}} \quad (4.3.3)$$

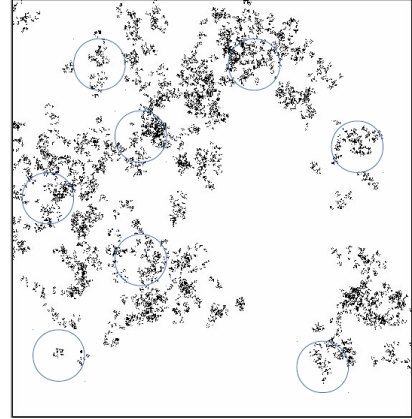
4.4 Διάσταση Συσχέτισης - Correlation

Η διάσταση συσχέτισης είναι ο μέσος όρος των τοπικών διαστάσεων για αντικείμενα που ζουν σε χώρο διάστασης εμβάπτισης d , και όπου η μορφοκλασματική διάσταση διαφέρει τοπικά. Γύρω από κάθε ένα σημείο του χώρου με χρήση σφαίρας ακτίνας ε , υπολογίζεται το πλήθος σημείων που η απόστασή τους είναι μικρότερη από την ακτίνα ε .

$$\theta(|P_j - P_i|) = \begin{cases} 1, & \text{όταν } |P_j - P_i| < \varepsilon \\ 0, & \text{αλλιώς} \end{cases} \quad (4.4.1)$$

Η τοπική συγκέντρωση $C_i(\varepsilon)$ γύρω από το κάθε σημείο i ταυτίζεται με το πλήθος των σημείων αυτών.

$$C_i(\varepsilon) = \sum_{j=1}^N \theta(|P_j - P_i|) \quad (4.4.2)$$



Source: [36]

Σχήμα 4.7: Εύρεση τοπικών διαστάσεων με σφαίρες ακτίνας ε

Από το άθροισμα των τοπικών αυτών συγκεντρώσεων προκύπτει και η διάσταση συσχέτισης, D_2 , σύμφωνα με τις παρακάτω σχέσεις [36]:

$$C(\varepsilon) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N C_i(\varepsilon) \quad (4.4.3)$$

$$C(\varepsilon) \approx \varepsilon^{D_2} \quad (4.4.4)$$

Δηλαδή, αφού υπολογιστεί ο μέσος όρος των τοπικών συγκεντρώσεων, σύμφωνα με τη σχέση 4.4.3, προσαρμόζεται σε σχέση νόμου δύναμης της μορφής 4.4.4. Από την προσαρμογή προκύπτει ο εκθέτης D_2 που ταυτίζεται με τη διάσταση συσχέτισης [36].

Η correlation dimension χρησιμοποιείται για την εύρεση μορφοκλασματικών διαστάσεων σε ένα φράκταλ αντικείμενο και το πλεονέκτημα της είναι ο άμεσος και γρήγορος υπολογισμός της, με περιορισμένο θόρυβο, ειδικά εάν το πλήθος των σημείων είναι μικρό [63]. Η διάσταση συσχέτισης μπορεί να υπολογίσει τη μέση κατανομή των σημείων στο χώρο, σε αυξανόμενες κλίμακες [47].

5. Μέθοδοι Επεξεργασίας και Ανάλυσης Δεδομένων

5.1 Δεδομένα

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα από 19 ασθενείς (7 άντρες, 12 γυναίκες, μέσος όρος ηλικίας 54.5, από 20 έως 84 έτη) με μη εγχειρήσιμο μεταστατικό μελάνωμα. Οι PET/CT απεικονίσεις των ασθενών πραγματοποιήθηκαν στο German Cancer Research Center [64], από την καθηγήτρια Dr. Αντωνία Δημητρακοπούλου-Strauss και τον συνεργάτη της, Dr. Χρήστο Σαχπεκίδη. Όλοι οι ασθενείς έχουν διαγνωσθεί με μεταστατικό μελάνωμα σταδίου IV και συμμετείχαν σε κύκλους ανοσοθεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα, που δρουν ως αναστολείς των σημείων ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης του ανοσοποιητικού.

Καθώς η μελέτη αυτή στοχεύει, μεταξύ άλλων, και στη σύγκριση των μορφοκλασματικών βιοδεικτών μεταξύ ασθενών και υγιών, οι αλγόριθμοι επεξεργασίας εφαρμόστηκαν και στις απεικονίσεις 9 ατόμων αναφοράς. Οι μορφοκλασματικοί δείκτες των ατόμων αναφοράς αποτέλεσαν μέτρο σύγκρισης για τους ασθενείς σε όλα τα στάδια των κλινικών/απεικονιστικών εξετάσεων τους, πριν και μετά την θεραπεία.

5.1.1 Ανοσοθεραπεία Ασθενών

Η θεραπεία των ασθενών περιλάμβανε είτε τη χορήγηση συνδυασμού του PD-1 αναστολέα nivolumab με τον αναστολέα CTLA-4 ipilimumab είτε τη μονοθεραπεία με PD-1 αναστολέα pembrolizumab ή nivolumab.

Στην πρώτη περίπτωση οι ασθενείς έλαβαν 4 κύκλους nivolumab (1mg/kg) και ipilimumab (3mg/kg) ανά 3 εβδομάδες και στη συνέχεια έλαβαν αποκλειστικά nivolumab σε δόση 3mg/kg ανά 2 εβδομάδες. Στη μονοθεραπεία με χορήγηση pembrolizumab, οι ασθενείς έλαβαν ενδοφλεβικά 2mg/kg κάθε 3 εβδομάδες, ενώ με χορήγηση nivolumab η δόση ήταν 3mg/kg ανά 2 εβδομάδες.

Όλοι οι ασθενείς έχουν δώσει την συγκατάθεση τους για την χρήση των ιατρικών τους δεδομένων για έρευνα. Η μελέτη έχει πάρει επίσης έγκριση από το Ethical Committee του Πανεπιστημίου της Χαϊδελβέργης και τον Ομοσπονδιακό Οργανισμό Ακτινοπροστασίας [32].

5.1.2 Χαρακτηριστικά Λήψης Απεικονίσεων

Για κάθε ασθενή υπάρχουν τρία σετ απεικονίσεων όλου του σώματος, το πρώτο πριν την έναρξη της θεραπείας, το δεύτερο μετά από τους πρώτους δύο κύκλους της θεραπείας (1,7 μήνες μετά, κατά μέσο όρο) και το τρίτο μετά από τέσσερις κύκλους θεραπείας (2,6 μήνες μετά, κατά μέσο όρο).

Οι PET/CT απεικονίσεις έγιναν, αφού προηγήθηκε η ενδοφλέβια χορήγηση της ^{18}F -FDG με όριο τα 250MBq και είχαν διάρκεια 60 λεπτά. Η ολόσωμη λήψη διαρκούσε 2 λεπτά για κάθε διαφορετική θέση του ασθενούς στο κρεβάτι του μηχανήματος. Το σύστημα απεικόνισης που χρησιμοποιήθηκε στη τρισδιάστατη λειτουργία του ήταν το PET/CT Biograph mCT, S128 το οποίο διαθέτει αξονικό οπτικό πεδίο 21,6 εκ. με TruePoint και TrueV. Το συγκεκριμένο μηχάνημα παρέχει συνδυαστική λήψη τομογραφίας PET με CT. Η αξονική τομογραφία χρησιμοποιείται για την διόρθωση της εξασθένισης των εικόνων PET και την σύμπτυξη των εικόνων PET και CT κι έγινε με χαμηλή δόση αξονικής τομογραφίας CT (120kV, 30mA).

Για την ανακατασκευή των εικόνων PET, δημιουργήθηκε ένας πίνακας 400x400 εικονοστοιχείων (pixels) για κάθε εικόνα (επίπεδο κάθετο στον άξονα του σώματος) [1]. Το πλήθος των επιπέδων που λήφθηκαν για την αναπαράσταση ολόκληρου του σώματος ενός ασθενούς ήταν περίπου 400-500.

5.1.3 Πρόσληψη Γλυκόζης (^{18}F -FDG)

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, οι μεταστατικοί όγκοι έχουν την τάση να προσλαμβάνουν την ^{18}F -FDG σε υψηλά επίπεδα. Η οπτική παρατήρηση της μη φυσιολογικής πρόσληψης της ^{18}F -FDG βοήθησε στην εκτίμηση της ύπαρξης κακοηθειών του μελανώματος. Οι περιοχές που εμφάνιζαν υψηλή πρόσληψη δεοξυγλυκόζης μελετήθηκαν και συγκρίθηκαν με τις ανατομικές πληροφορίες της συγχωνευμένης CT, ώστε να καθοριστεί με ακρίβεια η καλοήθης ή κακοήθης φύση τους και η ανατομική τους τοποθεσία.

Η κατανομή του ραδιοφαρμάκου ^{18}F -FDG ποσοτικοποιείται με τη χρήση του δείκτη SUV σύμφωνα με τον τύπο:

$$SUV = \frac{\text{συγκέντρωση γλυκόζης στον ιστό (Bq/g)}}{\text{χορηγούμενη δόση (Bq)/βάρους του σώματος (g)}} \quad (5.1.3.1)$$

Στη συνέχεια υπολογίζεται η ποσοστιαία μεταβολή του SUV δείκτη ως μέτρο αξιολόγησης της θεραπείας σύμφωνα με την εξίσωση:

$$SUV \text{ μεταβολή (\%)} = (\text{τελικός SUV} - \text{αρχικός SUV}) / \text{αρχικός SUV} \times 100\% \quad (5.1.3.2)$$

5.1.4 Τελικό σύνολο απεικονίσεων

Η λήψη ολόσωμων εικόνων συμβάλλει στην εύρεση αλλοιώσεων σε απομακρυσμένα σημεία και στην εκτίμηση της κατάστασης του ασθενούς μετά την θεραπεία. Οι μεταστάσεις που δημιουργούνται ενδοκρανιακά δεν είναι ορατές σε μία PET εικόνα καθώς όλος ο εγκέφαλος προσλαμβάνει υψηλά την σεσημασμένη γλυκόζη, αλλά η εύρεση τους είναι εφικτή με την χρήση μαγνητικής τομογραφίας (MRI). Επομένως, στις λήψεις PET/CT οι εικόνες που αναπαριστούν τον εγκέφαλο δεν παρέχουν συνήθως πληροφορίες για τις μεταστάσεις. Για αυτόν τον λόγο, η

επεξεργασία των δεδομένων στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε εξαιρουμένου του εγκεφάλου, με αφαίρεση των λήψεων του. Συνεπώς τα σετ των απεικονίσεων ξεκινούν από την μύτη και φθάνουν ως τα πέλματα και περιλαμβάνουν περίπου 370-430 εικόνες για κάθε ασθενή.

5.2 Οπτικοποίηση Δεδομένων και Μεθοδολογία Ανάλυσης

5.2.1 Οπτικοποίηση Εικόνων

Η οπτικοποίηση των τρισδιάστατων PET/CT απεικονίσεων των ασθενών υλοποιήθηκε με τα προγράμματα RadiAnt [65], και MicroDicom [66], του λειτουργικού συστήματος Windows και με το πρόγραμμα ImageJ [67], στο περιβάλλον Linux-Ubuntu. Όλα τα προγράμματα έχουν την δυνατότητα ανάγνωσης ιατρικών εικόνων τύπου DICOM [34].

Όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 5.1.4, για την επεξεργασία των δεδομένων, αφαιρέθηκαν οι εικόνες που αναπαριστούσαν τον εγκέφαλο των ασθενών από τα σύνολα απεικόνισης και δημιουργήθηκαν καινούργιοι φάκελοι δεδομένων για κάθε ασθενή που περιείχαν την αλληλουχία των εικόνων από τη μύτη ως τα πόδια.

5.2.2 Μεθοδολογία

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την κατασκευή αλγορίθμου στη γλώσσα C++ και εφαρμόστηκε στα ιατρικά δεδομένα του κάθε ασθενούς με μεταστατικό μελάνωμα ήταν η εξής:

- Ανάγνωση του συνόλου των εικόνων από τον αντίστοιχο φάκελο (directory).
- Μετατροπή των τιμών της έντασης των εικονοστοιχείων (pixel) σε τιμές που ανήκουν στο διάστημα [0, 255] δηλαδή αναπαράσταση σε 8-bit.
- Κατασκευή τρισδιάστατου πίνακα, τα στοιχεία του οποίου αντιστοιχούν στην τιμή των εικονοστοιχείων όλων των εικόνων του εκάστοτε ασθενούς.
- Εκτέλεση αλγορίθμων μορφοκλασματικής και πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης στον τρισδιάστατο πίνακα αναπαράστασης.
- Υπολογισμός μορφοκλασματικών βιοδεικτών για τα τρία στάδια απεικόνισης του ασθενούς.
- Σύγκριση των αποτελεσμάτων με τα κλινικά συμπεράσματα που προέκυψαν για τον ασθενή από τα στάδια της ανοσοθεραπείας και έλεγχος της ταύτισης μορφοκλασματικών βιοδεικτών με την κλινική εκτίμηση.
- Σύγκριση των αποτελεσμάτων με άτομα αναφοράς (που δεν ασθενούν από μεταστατικό μελάνωμα).

Η μεθοδολογία αυτή υλοποιήθηκε με τη χρήση δύο εργαλείων ανάγνωσης DICOM εικόνων, α) με την χρήση της βιβλιοθήκης Insight Segmentation and Registration Toolkit (ITK) [68], για την ανάγνωση των εικόνων και β) με την εξαγωγή αρχείων κειμένου από το πρόγραμμα προβολής εικόνων ImageJ. Οι δύο μέθοδοι ανάγνωσης αναλύονται περαιτέρω στην επόμενη ενότητα (5.3). Οι εικόνες μεταφέρθηκαν ως σύνολα τιμών (τοπικών συγκεντρώσεων $^{18}\text{F-FDG}$) εικονοστοιχείων σε τρισδιάστατο πίνακα και η διαδικασία μορφοκλασματικής και πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης ήταν κοινή και για τις δύο μεθόδους. Για να προκύψει ποια μέθοδος είναι καταλληλότερη για την επιθυμητή ανάλυση και την εύρεση έγκυρων βιοδεικτών, τα αποτελέσματα των δύο μεθόδων συγκρίθηκαν ως προς την ταύτιση τους με την ιατρική πορεία του κάθε ασθενούς. Η σύγκριση επετεύχθη με την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων στο συνολικό δείγμα των 19 ασθενών.

5.3 Μέθοδοι Ανάγνωσης Τρισδιάστατων Δεδομένων

Όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 5.2.2, για την ανάγνωση των δεδομένων από το φάκελο του ασθενούς χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές μέθοδοι και συγκρίθηκαν τα αποτελέσματά τους. Η πρώτη μέθοδος περιλαμβάνει τη χρήση βιβλιοθήκης που διαβάζει ιατρικές εικόνες και η δεύτερη μέθοδος βασίζεται στην εξαγωγή αρχείων κειμένου από τις εικόνες τα οποία περιέχουν τις τιμές των εικονοστοιχείων τους.

5.3.1 Μέθοδος με χρήση βιβλιοθήκης ITK

Μεθοδολογία

Η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν με χρήση της βιβλιοθήκης ITK (Insight Segmentation and Registration Toolkit) και η διαδικασία ήταν η εξής:

- ✓ Φόρτωση των αρχείων των εικόνων τύπου DICOM από το επιθυμητό μονοπάτι (directory).
- ✓ Μετατροπή της έντασης των pixel σε σύστημα αναπαράστασης 8-bit με εύρος τιμών από 0 έως 255, με την χρήση κατάλληλου φίλτρου.
- ✓ Αποθήκευση των φιλτραρισμένων τιμών σε τρισδιάστατο πίνακα.

Υλοποίηση αλγορίθμου

Η διαδικασία εφαρμογής του αλγορίθμου ξεκινάει αρχικά ζητώντας από τον χρήστη να εισάγει στην οθόνη το αντίστοιχο μονοπάτι του φακέλου του εκάστοτε ασθενούς. Ο φάκελος

αυτός περιέχει μία αλληλουχία αρχείων τύπου DICOM από την PET/CT εξέταση του. Το κύριο σώμα του αλγορίθμου καλεί την κλάση *Loader* με είσοδο του φακέλου που δόθηκε από το χρήστη. Ο *Loader* λαμβάνει ως είσοδο το μονοπάτι του φακέλου και δίνει ως έξοδο τον τρισδιάστατο πίνακα των εικόνων.

Η κλάση *Loader*

Αρχικά αποθηκεύει σε έναν δείκτη (pointer) τύπου *GDCMSeriesFileNames* τη σειρά των αρχείων των εικόνων τύπου DICOM του φακέλου μέσω της συνάρτησης *SetDirectory()*. Τα ονόματα των αρχείων ταξινομούνται με την σωστή σειρά και αποθηκεύονται σε έναν pointer μέσω της συνάρτησης *GetInputFileNames()*. Στη συνέχεια ένας αναγνώστης (reader) διαβάζει τις εικόνες με την κλήση των συναρτήσεων: *SetFileNames()*, που λαμβάνει ως είσοδο τα ονόματα των αρχείων (filenames) και *SetImageIO()*, με είσοδο της, τον τύπο της εικόνας DICOM.

Για την μετατροπή της έντασης των pixel των εικόνων στο εύρος των 8-bit, δηλαδή σε τιμές από 0 έως και 255 χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλα φίλτρα. Μέσω του συνδυασμού των κλάσεων *RescaleIntensityImageFilter* και *CastImageFilter* της βιβλιοθήκης ΙΤΚ, το σύνολο των εικόνων DICOM από το reader χρησιμοποιήθηκε ως είσοδος στα φίλτρα που μετέτρεψαν τα pixel των εικόνων από integers (με εύρος από -2,147,483,648 έως 2,147,483,647), σε unsigned char (με εύρος από 0 έως 255).

Η έξοδος του τελευταίου φίλτρου αποθηκεύτηκε σε pointer κλάσης *Image<unsigned char,3>*, δηλαδή εικόνας με pixel τύπου = unsigned char και αριθμό διαστάσεων = 3 με όνομα *image_3d*. Ο δείκτης *image_3d* αποτελεί την επιθυμητή τρισδιάστατη αναπαράσταση, στην οποία εφαρμόστηκαν οι αλγόριθμοι των μορφοκλασματικών αναλύσεων.

Η υλοποίηση της κλάσης *Loader* παρατίθεται στο αρχείο *Loader.cpp* του Παραρτήματος.

5.3.2 Μέθοδος με αρχεία κειμένου μέσω *ImageJ*

Μεθοδολογία

Η δεύτερη μέθοδος ανάγνωσης των εικόνων που χρησιμοποιήθηκε ήταν η εξαγωγή αρχείων κειμένου μέσω του προγράμματος *ImageJ* και η διαδικασία ήταν η εξής:

- ✓ Φόρτωση των αρχείων των εικόνων τύπου DICOM από το επιθυμητό μονοπάτι (directory).
- ✓ Με επιλογή του προγράμματος μετατροπή της έντασης των pixel σε σύστημα αναπαράστασης 8-bit με εύρος τιμών από 0 έως 255.

- ✓ Αποθήκευση αρχείων κειμένου, όπου κάθε αρχείο είναι ένας δισδιάστατος πίνακας που περιέχει τις τιμές των pixel μίας εικόνας, άρα το σύνολο των αρχείων αποτελεί την τρισδιάστατη αναπαράσταση του ασθενούς.

Υλοποίηση αλγορίθμου

Το πρώτο βήμα εφαρμογής της μεθόδου αυτής είναι το άνοιγμα του συνόλου των εικόνων προς ανάλυση από το πρόγραμμα ImageJ. Μέσω του προγράμματος επιλέγεται η αποθήκευση των εικόνων σε μορφή αρχείων κειμένου σε 8-bit αναπαράσταση.

Έτσι δημιουργείται σε καινούργιο μονοπάτι ένας φάκελος που περιέχει αρχεία κειμένου που περιέχουν τις τιμές των pixel των εικόνων. Κάθε αρχείο κειμένου είναι μία εικόνα DICOM μεταφρασμένη σε αριθμούς από το 0 έως το 255. Όλα τα αρχεία κειμένου αποτελούν την συνολική τρισδιάστατη αναπαράσταση.

Το κύριο σώμα του αλγορίθμου (που αναλύεται στο Παράρτημα-Main.cpp) ξεκινάει ζητώντας από το χρήστη να εισάγει στην οθόνη το αντίστοιχο μονοπάτι του φακέλου που περιέχει μία αλληλουχία αρχείων κειμένου από την PET/CT εξέταση του εκάστοτε ασθενούς. Ανοίγοντας το μονοπάτι αυτό ο αλγόριθμος αποθηκεύει σε ένα διάνυσμα τα ονόματα των αρχείων που διάβασε. Στη συνέχεια δημιουργεί ένα αντικείμενο «*boxObj*» της κλάσης *Box*.

Η κλάση *Box*

Η κλάση *Box* εμπεριέχει όλες τις συναρτήσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την μορφοκλασματική και την πολυμορφοκλασματική ανάλυση. Οι συναρτήσεις αυτές είναι: 1)*setArrayItrk*, 2)*boxCountingItrk*, 3)*allocate3d*, 4)*setArrayTtxt*, 5)*boxCountingTtxt*, και 6)*multifractal*.

Η υλοποίηση των συναρτήσεων της κλάσης *Box* παρουσιάζεται στο αρχείο *Box.cpp* του Παραρτήματος.

Στην μέθοδο με αρχεία κειμένου μέσω Image J χρησιμοποιούνται οι συναρτήσεις *allocate3d* *setArrayTtxt* για το διάβασμα των εικόνων και την δημιουργία του τρισδιάστατου πίνακα. Χρησιμοποιώντας το διάνυσμα με τα ονόματα των αρχείων καλείται η συνάρτηση *allocate3d* της κλάσης *Box* η οποία δεσμεύει τον απαραίτητο χώρο ώστε να δημιουργηθεί ένας δείκτης (pointer) τρισδιάστατου πίνακα που να χωράει όλα τα αρχεία κειμένου του εκάστοτε φακέλου. Στη συνέχεια, με τη συνάρτηση *setArrayTtxt* της κλάσης *Box*, αποθηκεύονται στον πίνακα οι τιμές των pixel που διαβάζονται από κάθε αρχείο κειμένου, με επαναληπτικό τρόπο. Τελικά, δημιουργείται ο τρισδιάστατος πίνακας που περιλαμβάνει τις τιμές των εικονοστοιχείων όλων των εικόνων και σε αυτόν εφαρμόζονται οι αλγόριθμοι μορφοκλασματικής ανάλυσης.

Επισημαίνεται και εδώ, ότι κατά την δημιουργία του 3D πίνακα που περιλαμβάνει τις τοπικές συγκεντρώσεις δεοξυγλυκόζης (τιμές των αντίστοιχων εικονοστοιχείων), έχουν παραληφθεί τα επίπεδα (εικόνες) που αντιστοιχούν στην περιοχή του εγκεφάλου, όπως συζητήθηκε στην ενότητα 5.1.4.

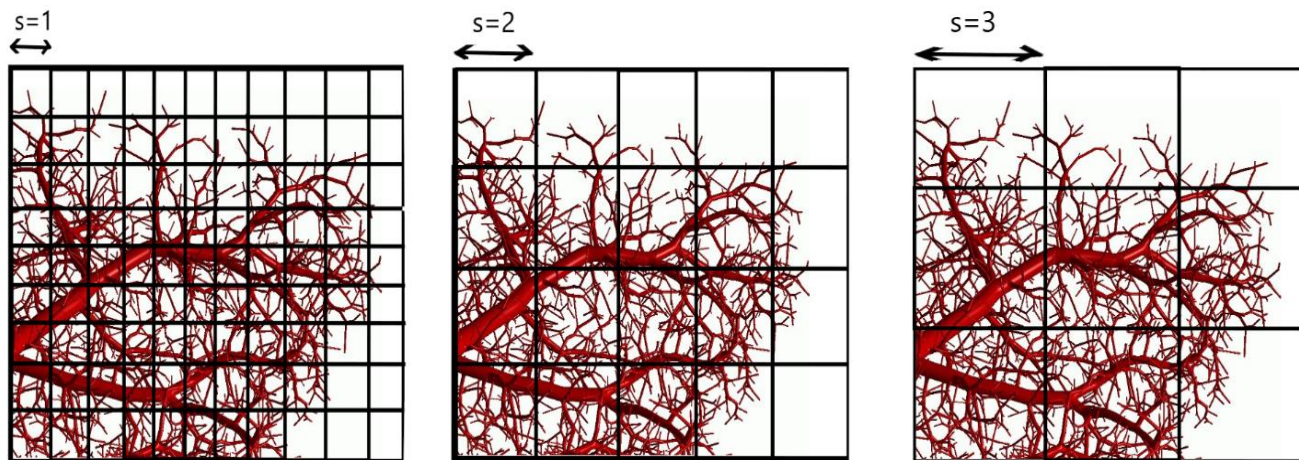
5.4 Μορφοκλασματική Ανάλυση

5.4.1 Εύρεση Μορφοκλασματικής Διάστασης - Μέθοδος Box Counting Dimension

Η επεξεργασία των δεδομένων και η εύρεση της μορφοκλασματικής διάστασης επιτεύχθη με την μέθοδο καταμέτρησης υπερκύβων, γνωστή ως box counting dimension, που αναπτύχθηκε στην ενότητα 4.2. Η μέθοδος καταμέτρησης υπερκύβων χαρακτηρίζεται από το διαχωρισμό του συνόλου, σε υπερκύβους και στη συνέχεια από τον υπολογισμό των «γεμάτων» υπερκύβων. Με την έννοια του υπερκύβου αναφερόμαστε στη διαμέριση με την οποία διαχωρίζεται το σύνολο και εξαρτάται από τις διαστάσεις του συνόλου. Σε μονοδιάστατο σύνολο είναι ένα ευθύγραμμο τμήμα μήκους s , σε δισδιάστατο σύνολο ένα τετράγωνο ακμής s και σε τρισδιάστατο σύνολο ένας κύβος ακμής s [69].

Συγκεκριμένα, στην παρούσα ανάλυση ο υπερκύβος αφορά τρισδιάστατο σύνολο και θα αναφερόμαστε σε αυτόν σαν κύβο ακμής s . Κάθε κύβος χαρακτηρίζεται ως «γεμάτος», εάν περιέχει έστω και ένα μικρό τμήμα της δομής και τότε προσμετράται στο σύνολο των κύβων που περιέχουν την πληροφορία που ζητείται.

Για παράδειγμα όταν χρειάζεται να μετρηθούν οι κύβοι που περιέχουν το σχήμα της εικόνας 5.1, τότε κάθε κύβος που περιέχει έστω και λίγο χρώμα πρέπει να ληφθεί υπόψιν. Επομένως η διαδικασία ξεκινάει με την δημιουργία πλέγματος για την εφαρμογή της μεθόδου για διάφορες τιμές ακμής s των κύβων.



Σχήμα 5.1: Εφαρμογή του αλγορίθμου καταμέτρησης υπερκύβων για $s=1,2,3$

Η μάζα του αντικειμένου παραμένει σταθερή. Σε κάθε διαφορετικό s_i για $i=1,2,3\dots$ αντιστοιχεί διαφορετικό $N_i(s)$ και σύμφωνα με τον τύπο 4.2.4 της ενότητας 4.2 προκύπτει:

$$N_i(s) = M \times s_i^{-D_f} \Rightarrow s_i^{-D_f} = \frac{N_i(s)}{M} \quad (5.4.1)$$

Για τις διάφορες τιμές διαμέρισης s , δηλαδή για διάφορα μεγέθη υπερκύβου, η **φράκταλ διάσταση (D_f)** προκύπτει από την κλίση της ευθείας της γραφικής παράστασης «Αριθμός Κύβων($N(s)$)-Μέγεθος Κύβου(s)» σε διπλή λογαριθμική κλίμακα.

Μία πρώτη προσέγγιση θα ήταν η D_f να υπολογιστεί από τη γραφική παράσταση των λογαριθμικών τιμών $\log(N(s))-\log(s)$ και να προκύψει από την μέση κλίση της ευθείας ως εξής:

$$\frac{s_1^{-D_f}}{s_2^{-D_f}} = \frac{\frac{N_1(s)}{M}}{\frac{N_2(s)}{M}} \Rightarrow \left(\frac{s_1}{s_2}\right)^{-D_f} = \frac{N_1(s)}{N_2(s)} \Rightarrow -D_f = \frac{\log(N_1(s)-N_2(s))}{\log(s_1-s_2)} \Rightarrow$$

$$D_f = -\frac{\log(N_1(s)-N_2(s))}{\log(s_1-s_2)} = -\frac{\log(N_2(s)-N_3(s))}{\log(s_2-s_3)} = \dots \quad (5.4.2)$$

Εναλλακτικά, ο υπολογισμός της D_f είναι δυνατός από τη γραφική παράσταση $N(s)$ σε συνάρτηση με το s , ώστε να γίνει προσαρμογή σε νόμο δύναμης μέσω λογισμικού όπως το Grace [70], όπου υπολογίζει τον εκθέτη της συνάρτησης, D_f :

$$D_f = -\frac{\log(N(s))}{\log(s)} \quad (5.4.3)$$

5.4.2 Αλγόριθμος Υλοποίησης Καταμέτρησης Υπερκύβων

Η υλοποίηση του αλγορίθμου καταμέτρησης υπερκύβων πραγματοποιήθηκε στο περιβάλλον των Linux με τη χρήση κώδικα στη προγραμματιστική γλώσσα C++.

Όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 5.2.2, η διαδικασία περιλαμβάνει την ανάγνωση των εικόνων του εκάστοτε ασθενούς από τη θέση που βρίσκεται ο φάκελος με το σύνολο των εικόνων του, οι οποίες ακολουθούν το πρότυπο DICOM. Το κατάλληλο λογισμικό έχει τη δυνατότητα να διαβάζει τις εικόνες αυτές και να αποθηκεύει σε έναν τρισδιάστατο πίνακα τα δεδομένα της απεικόνισης του από τη μύτη έως και τα πέλματα. Δημιουργείται επομένως ένας πίνακας τριών διαστάσεων που τα στοιχεία του περιέχουν τις τιμές των εικονοστοιχείων της τρισδιάστατης αναπαράστασης του σώματος του ασθενούς. Η απεικόνιση είναι σε ασπρόμαυρη κλίμακα με διαβαθμίσεις στην ένταση από 0 που είναι το απόλυτα μαύρο χρώμα, έως το 255 που είναι το πιο λευκό.

Δοκιμή διαφορετικών κατωφλίων

Οι περιοχές που εμφανίζουν αυξημένη πρόσληψη ραδιοφαρμάκου $^{18}\text{F-FDG}$ είναι περιοχές με λευκότερο χρώμα. Αυτές οι περιοχές αντιστοιχούν κυρίως σε μεταστάσεις ή σε συγκεκριμένα όργανα. Συνεπώς πραγματοποιήθηκαν δοκιμές κατωφλίων φωτεινότητας που θα απομόνωναν τις μεταστάσεις από τις υγιείς περιοχές. Η προσπάθεια εκτίμησης του βέλτιστου κατωφλίου (w) φωτεινότητας ως προς την εύρεση της μορφοκλασματικής διάστασης έγινε με τρεις τρόπους.

1. Αρχικά ο αλγόριθμος υλοποιήθηκε με κατώφλι $w=0$, αποκλείοντας μόνο τα pixel που είχαν μηδενική τιμή και υπολόγιζε ως «γεμάτους» κύβους εκείνους με θετικές τιμές.
2. Στη συνέχεια δοκιμάστηκε το όριο $w=40$ για τις τιμές των εικονοστοιχείων, επομένως τέθηκε ένα κατώφλι πάνω από το οποίο γινόντουσαν οι εκτιμήσεις.
3. Τελικά, χρησιμοποιήθηκε και το ανώτερο κατώφλι της τιμής $w=120$ όπου προσμετρήθηκαν μόνο τα pixel που είχαν τιμή πάνω από 120, αποκλείοντας αρκετές διαβαθμίσεις του μαύρου και του γκρι χρώματος.

Οι τρεις αυτές δοκιμές είχαν κοινό τρόπο υλοποίησης και σε κάθε περίπτωση άλλαζε μόνο η τιμή του κατωφλίου w , (threshold).

Υλοποίηση αλγορίθμου καταμέτρησης υπερκύβων

Όπως αναφέρθηκε η μέθοδος καταμέτρησης υπερκύβων μετράει τους «γεμάτους» κύβους σε ένα σύνολο κύβων, για διάφορα μεγέθη κύβου s . Η εφαρμογή της στο σύνολο των απεικονίσεων ενός ασθενούς πραγματοποιήθηκε με το διαχωρισμό του τρισδιάστατου πίνακα που αντιπροσωπεύει τον ασθενή σε κύβους και την καταμέτρηση των «γεμάτων» κύβων. Ένα κουτί θεωρείται γεμάτο εάν περιέχει έστω και ένα pixel που έχει ένταση μεγαλύτερη από το κατώφλι που έχει οριστεί.

Τόσο για την μέθοδο με χρήση της ΙΤΚ βιβλιοθήκης, όσο και για την μέθοδο με αρχεία κειμένου μέσω ImageJ, ο αλγόριθμος καταμέτρησης υπερκύβων ήταν κοινός και υλοποιήθηκε για τις τρεις τιμές κατωφλίου: $w=0$, 40 και 120. Ο αλγόριθμος τρέχει στον τρισδιάστατο πίνακα επαναληπτικά για μεγέθη κύβου μικρότερα από την τιμή 50, δηλαδή από $box_size=1$ έως και $box_size=49$ σύμφωνα με την παρακάτω μεθοδολογία:

- Ξεκινάει για μέγεθος κύβου = 1 ($box_size=1$), μετράει τον αριθμό των γεμάτων κύβων και τον αποθηκεύει. Συνεχίζει επαναληπτικά για όλες τις τιμές μεγέθους κύβου μέχρι 50 (από 1 έως και 49) αποθηκεύοντας κάθε φορά το πλήθος των κύβων που θεωρήθηκαν γεμάτοι.
- Σε ένα αρχείο κειμένου γράφει τις τιμές αυτές για κάθε box size, δηλαδή για $s=1$ το $N(1)$, για $s=2$ το $N(2)$ έως και $s=49$ το $N(49)$.
- Τα δεδομένα αυτά κανονικοποιούνται στη συνέχεια, όπου κάθε πλήθος γεμάτων κύβων διαιρείται με το συνολικό πλήθος κύβων που χρησιμοποιήθηκαν στη διαμέριση του συνόλου για το αντίστοιχο box size.
- Οι κανονικοποιημένες τιμές αποθηκεύονται επίσης σε αρχείο κειμένου από το οποίο προκύπτει η γραφική παράσταση «πλήθος κύβων - μέγεθος κύβου».
- Από τις γραφικές παραστάσεις σε διπλή λογαριθμική κλίμακα προκύπτει η εύρεση της μορφοκλασματικής διάστασης από την κλίση της ευθείας, όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 4.2.

Όσο αυξάνεται το μέγεθος του κύβου, από $box_size=1$ έως και $box_size=49$ αλλάζει ο αριθμός των κύβων που διαχωρίζουν το σύνολο. Σε ορισμένα μεγέθη κύβου το σύνολο δεν διαιρείται τέλεια, συνεπώς ορισμένα εικονοστοιχεία δεν περιλαμβάνονται στην ανάλυση. Προκειμένου τα αποτελέσματα να είναι ενιαία, το πλήθος «γεμάτων» κύβων που προσμετράται, $N(s)$, κανονικοποιείται ως προς το ολικό πλήθος των κύβων που διαχωρίζουν τη τρισδιάστατη απεικόνιση (N), για το εκάστοτε μέγεθος κύβου.

Η υλοποίηση του αλγορίθμου καταμέτρησης υπερκύβων αναλύεται στο Παράρτημα μέσω της συνάρτησης *boxCountingItk*. Η υλοποίηση της συνάρτησης *boxCountingTxt* είναι ίδια με την διαφορά ότι δέχεται ως όρισμα το πλήθος των εικόνων στον κάθετο άξονα (z).

5.5 Πολυμορφοκλασματική Ανάλυση

5.5.1 Αλγόριθμος γενικευμένων διαστάσεων

Για την πολυμορφοκλασματική ανάλυση υλοποιήθηκε αλγόριθμος υπολογισμού γενικευμένων διαστάσεων με τιμή κατωφλίου w , ίση με μηδέν, στην ένταση των εικονοστοιχείων. Ο αλγόριθμος υπολογίζει το άθροισμα των εντάσεων των ρixel με τιμή μεγαλύτερη του μηδενός που περικλείονται στο εκάστοτε κύβο i και διαιρεί τον αριθμό αυτό με το συνολικό άθροισμα των εντάσεων των θετικών ρixel του τρισδιάστατου πίνακα. Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζονται οι παράμετροι p_i που ορίζονται ως:

$$p_i = \frac{\text{συνολική ένταση των ρixel στον κύβο } i}{\text{άθροισμα των εντάσεων όλων των ρixels}} \quad (5.5.1.1)$$

Η μεταβλητή p_i δίνει στοιχεία για την πυκνότητα (density) των δομών και εκφράζει τις τοπικές συγκεντρώσεις της $^{18}\text{F-FDG}$ σε όλο το σώμα.

Οι γενικευμένες διαστάσεις υπολογίζονται μέσω του αλγορίθμου για φάσμα του δείκτη q από $q = -20$ έως $q = 20$ και για πολύ μικρό μέγεθος κύβου s , $s \rightarrow 0$, σύμφωνα με τον τύπο (4.4.1 & 4.4.2) και τη θεωρία που αναπτύχθηκε στην ενότητα 4.3:

$$D_q = \lim_{s \rightarrow 0} \left[\frac{1}{q-1} \frac{\ln \sum_{i=1}^q p_i^q}{\ln s} \right], \quad -20 < q < 20 \text{ και } q \neq 1 \quad (5.5.1.2)$$

$$D_1 = \lim_{s \rightarrow 0} \left[\frac{\sum_{i=1} p_i \ln p_i}{\ln s} \right], \quad q = 1 \quad (5.5.1.3)$$

Το μέγεθος του κύβου προκύπτει πολύ μικρό, $s \rightarrow 0$, και ορίζεται από τη σχέση 5.5.1.4, όπου size of x , size of y , size of z αποτελούν τις διαστάσεις του τρισδιάστατου πίνακα της ολόσωμης αναπαράστασης στους άξονες x , y , και z :

$$S = \frac{\frac{1}{\text{size of } x} + \frac{1}{\text{size of } y} + \frac{1}{\text{size of } z}}{3} \quad (5.5.1.4)$$

Οι άξονες x και y αναφέρονται στις διαστάσεις κάθε εικόνας και έχουν μέγεθος 400, αφού οι εικόνες έχουν 400x400 pixels και ο άξονας z αναφέρεται στα επίπεδα των απεικονίσεων του ασθενούς στον κάθετο άξονα (περίπου 370-430). Οι τιμές D_q αποθηκεύονται σε αρχείο κειμένου αντιστοιχισμένες με την τιμή q, ώστε να είναι εύκολη η απεικόνιση τους γραφικά.

Η υλοποίηση της συνάρτησης υπολογισμού γενικευμένων διαστάσεων *multifractal* παρατίθεται στο Παράρτημα.

Η καμπύλη που προκύπτει με οριζόντιο άξονα τις τιμές του q και κάθετο άξονα τις γενικευμένες διαστάσεις D_q δίνει το πολυμορφοκλασματικό φάσμα της δομής. Η μελέτη και σύγκριση των καμπυλών του πολυμορφοκλασματικού φάσματος δίνει την εκτίμηση για την καλυτέρευση ή μη του ασθενούς και τη σύγκριση του με άτομα αναφοράς.

5.5.2 Πολυμορφοκλασματικός Δείκτης Βελτίωσης/Επιδείνωσης

Η εκτίμηση της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης πέρα από την μελέτη της καμπύλης απαιτεί και μία ποσοτικοποιημένη μεταβλητή. Για την καλύτερη σύγκριση των πολυμορφοκλασματικών αποτελεσμάτων υπολογίστηκε ένας δείκτης, ο οποίος προκύπτει από το μέσο άθροισμα των γενικευμένων διαστάσεων. Στη συγκεκριμένη μελέτη υπολογίστηκε το μέσο άθροισμα από $q = -10$ έως $q = 10$.

Για την αρχική εξέταση, baseline, των ασθενών σύμφωνα με τον τύπο:

$$\overline{D}_A = \frac{D_{-10} + D_{-9} + D_{-8} + \dots + D_0 + \dots + D_9 + D_{10}}{21} = \frac{1}{21} \sum_{q=-10}^{q=10} D_q \quad (5.7.3.1)$$

Ομοίως για την δεύτερη εξέταση (interim) και για την τρίτη εξέταση (late) υπολογίστηκαν τα \overline{D}_B και \overline{D}_C αντίστοιχα.

Ως δείκτης εκτίμησης (βελτίωσης/επιδείνωσης) της θεραπευτικής αγωγής υπολογίστηκε **η διαφορά του μέσου αθροίσματος** από τη δεύτερη εξέταση (interim) στην αρχική (baseline): $\Delta D_{BA} = \overline{D}_B - \overline{D}_A$ και από την τρίτη εξέταση (late) στην αρχική (baseline): $\Delta D_{CA} = \overline{D}_C - \overline{D}_A$.

Αυτός ο δείκτης χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση της βελτίωσης ή επιδείνωσης του ασθενούς (θετικός ή αρνητικός αντίστοιχα) και κατ' επέκταση την εκτίμηση της απόδοσης της ανοσοθεραπείας.

5.6 Διάσταση Συσχέτισης

Αφού προηγήθηκε η μορφοκλασματική και η πολυμορφοκλασματική ανάλυση, υπολογίστηκε και κατά πόσο η διάσταση συσχέτισης (correlation dimension) αποτελεί έναν χρήσιμο δείκτη. Ο υπολογισμός της προέκυψε από τα αρχεία που δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης. Όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 4.5 η διάσταση συσχέτισης ταυτίζεται με την δεύτερη γενικευμένη διάσταση, για $q=2$, D_2 . Επομένως από τα αρχεία που κατασκευάστηκαν με τις τιμές των $q - D_q$, απομονώθηκαν οι τιμές D_2 για $q=2$ για κάθε ασθενή και στα τρία στάδια. Οι τιμές αυτές αναλύθηκαν ως προς την ταύτιση τους με την κλινική εικόνα των ασθενών, όπως και οι υπόλοιποι μορφοκλασματικοί βιοδείκτες.

5.7 Στατιστική Ανάλυση

Η υλοποίηση των αλγορίθμων έφερε αποτελέσματα για τις μορφοκλασματικές διαστάσεις που χαρακτηρίζουν τη διασπορά της $^{18}\text{F-FDG}$ και κατ' επέκταση τη διασπορά των μεταστάσεων στους ασθενείς πριν και μετά την ανοσοθεραπεία. Όλες οι τιμές που προέκυψαν για την μορφοκλασματική διάσταση με τρία διαφορετικά κατώφλια, για τις γενικευμένες διαστάσεις μέσω της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης και για την διάσταση συσχέτισης αναλύθηκαν στατιστικά. Κάθε παράμετρος αξιολογήθηκε ως προς την αποδοτικότητα της μέσω της ταύτισης ή μη με τα κλινικά αποτελέσματα. Από το σύνολο των 19 ασθενών υπολογίστηκαν οι περιπτώσεις στις οποίες οι τιμές των μορφοκλασματικών δεικτών αντιπροσωπεύουν την κλινική τους εικόνα, και προέκυψαν τα ποσοστά επιτυχίας για όλες τις μεθοδολογίες. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που αναλύονται στο κεφάλαιο 6, δίνουν μία εικόνα ως προς την απόδοση της χρήσης του κάθε μορφοκλασματικού δείκτη.

Πολλοί από τους ασθενείς εμφάνισαν παρενέργειες από την ανοσοθεραπεία. Παρουσιάστηκαν λοιπόν ευρήματα που δεν σχετίζονται με το μεταστατικό μελάνωμα. Αυτά τα ευρήματα επηρεάζουν τα αποτελέσματα, καθώς αλλοιώνουν τη διασπορά της $^{18}\text{F-FDG}$, συνεπώς πραγματοποιήθηκε μία δεύτερη στατιστική ανάλυση κατά την οποία εξαιρέθηκαν ορισμένες περιπτώσεις ασθενών με παρενέργειες και χαρακτηρίστηκαν ως ειδικές περιπτώσεις. Όπως αναλύεται και στην ενότητα 6.5 των αποτελεσμάτων, η εξαίρεση των ειδικών περιπτώσεων οδηγεί σε καλύτερα ποσοστά απόδοσης των μεθόδων, γεγονός που δείχνει πως επιδρούν αρνητικά στο στατιστικό αποτέλεσμα.

6. Αποτελέσματα

6.1 Κριτήρια Αξιολόγησης Αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα των μεθόδων που εφαρμόστηκαν, συγκρίθηκαν με τα κλινικά συμπεράσματα από το ιατρικό προσωπικό του German Cancer Research Center και αξιολογήθηκαν ως προς την εγκυρότητα τους. Οι μορφοκλασματικοί βιοδείκτες αξιολογήθηκαν στα τρία στάδια επίβλεψης των ασθενών ως εξής:

- Η μεταβολή των τιμών των μορφοκλασματικών διαστάσεων αποτέλεσε τον έναν από τους αριθμητικούς δείκτες και αφορούσε την μορφοκλασματική ανάλυση.
- Στην πολυμορφοκλασματική ανάλυση παρατηρήθηκαν οι γραφικές παραστάσεις των γενικευμένων διαστάσεων και μελετήθηκε η μορφή και η σχετική θέση των καμπυλών μεταξύ των τριών σταδίων.
- Έγινε ποσοτική αξιολόγηση της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης μέσω των δεικτών $\Delta D_{BA} = \overline{D}_B - \overline{D}_A$, $\Delta D_{CA} = \overline{D}_C - \overline{D}_A$ (ενότητα 5.5.2).
- Η διάσταση συσχέτισης αξιολογήθηκε με τον ίδιο τρόπο με την φράκταλ διάσταση, μέσω των αριθμητικών αποκλίσεων στις τρεις λήψεις.

Κλινικά συμπεράσματα

Κάθε ασθενής εμφάνισε διαφορετική αντίδραση στην ανοσοθεραπεία στην οποία υπεβλήθη. Ανάλογα με την κατάσταση που βρισκόταν η υγεία του στα επαναληπτικά στάδια κατά την παρακολούθηση της θεραπείας, κατατάσσόταν στην αντίστοιχη κατηγορία.

Οι κατηγορίες στις οποίες τοποθετήθηκαν οι ασθενείς ως προς την απόδοση της ανοσοθεραπείας ακολούθησαν τα κριτήρια PERCIMT [13].

PERCIMT Criteria

Τα PET Response Evaluation Criteria for IMmunoTherapy (PERCIMT) αποτελούν κριτήρια με τα οποία εκτιμάται η απόδοση της ανοσοθεραπείας στους ασθενείς. Τα τελευταία χρόνια, τα κριτήρια PERCIMT έχουν προταθεί για την αξιολόγηση ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα και φαίνεται να καλύπτουν επιτυχώς την ανάγκη της έγκυρης εκτίμησης της κατάστασης των ασθενών. Σε αντίθεση με παλαιότερα κριτήρια που εφαρμόζονταν, όπως τα κριτήρια European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) 1999 [71], τα PERCIMT κριτήρια δεν χρησιμοποιούν μόνο τις μεταβολές του δείκτη SUV σαν παράμετρο αξιολόγησης, ενώ στα EORTC οι διαφοροποιήσεις του SUV αποτελούν τον κύριο παράγοντα αξιολόγησης. Επιπλέον στα EORTC κριτήρια η ανίχνευση ακόμη και μιας μόνο καινούργιας μεταστατικής βλάβης ισοδυναμεί με progressive disease.

Τα κριτήρια PERCIMT βασίζονται στην αριθμητική ανακάλυψη νέων μεταστάσεων, που σχετίζονται με αυξημένη πρόσληψη της ^{18}F -FDG και κατηγοριοποιούν τους ασθενείς σύμφωνα με την ύπαρξη ή την εξάλειψη αυτών. Τα νέα αυτά κριτήρια έχουν αποδείξει ότι η απαρίθμηση

των νέων μεταστάσεων δίνει ακριβέστερη πρόβλεψη από αυτή που παρέχουν οι αλλαγές του SUV. Επιπρόσθετα, σε πολλές περιπτώσεις τα EORTC κριτήρια αξιολόγησης μπορεί να αναγνωρίσουν ψευδή πρόοδο (pseudoprogression) της ασθένειας, ενώ δεν υπάρχει επιδείνωση. Η εφαρμογή των PERCIMT έχει ελαττώσει τέτοιου είδους παρατηρήσεις, γεγονός που αναδεικνύει την ικανότητα αποφυγής λανθασμένων προβλέψεων [14].

Τα PERCIMT κριτήρια διαχωρίζουν τους ασθενείς σύμφωνα με την κλινική τους αξιολόγηση σε τέσσερις κατηγορίες.

1. Ασθενείς που παρουσιάζουν εμφανή βελτίωση, **CMR (Complete Metabolic Response)**

Οι ασθενείς στους οποίους φαίνεται να αποδίδει η ανοσοθεραπεία κατηγοριοποιούνται στην κατάσταση της θεραπείας με «Πλήρη Ανταπόκριση», CMR (Complete Metabolic Response). Ο χαρακτηρισμός αυτός δίνεται στην περίπτωση που οι σχετιζόμενες με πρόσληψη ¹⁸F-FDG μεταστάσεις που προϋπήρχαν έχουν εξουδετερωθεί και δεν έχουν εμφανιστεί νέες.

2. Ασθενείς που εμφανίζουν μερική βελτίωση, **PMR (Partial Metabolic Response)**

Οι ασθενείς στους οποίους η θεραπεία βελτιώνει την κατάσταση της υγείας τους σε ένα ποσοστό, χαρακτηρίζονται με «Μερική Ανταπόκριση», PMR (Partial Metabolic Response). Ο χαρακτηρισμός αυτός δίνεται στην περίπτωση που μερικές από τις μεταστάσεις που προϋπήρχαν έχουν εξουδετερωθεί και δεν έχουν εμφανιστεί νέες.

3. Ασθενείς με σταθερή πορεία, **SMD (Stable Metabolic Disease)**

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οι ασθενείς οι οποίοι κατά τη διάρκεια της θεραπείας δεν έδειξαν σημάδια επιδείνωσης αλλά ούτε και βελτίωσης. Η κατάσταση τους χαρακτηρίζεται ως «Σταθερή Ασθένεια» SMD (Stable Metabolic Disease). Ο χαρακτηρισμός αυτός δείχνει ότι οι ασθενείς αυτοί δεν ανήκουν σε καμία από τις άλλες κατηγορίες PMR, SMD, PMD.

4. Ασθενείς που παρουσιάζουν επιδείνωση, **PMD (Progressive Metabolic Disease)**

Όταν η κατάσταση της υγείας των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα επιδεινώνεται, παρά την χορήγηση ανοσοθεραπείας, τότε χαρακτηρίζεται ως «Προοδευτική Ασθένεια», PMD (Progressive Metabolic Disease). Η ασθένεια φαίνεται να εξαπλώνεται όλο και περισσότερο στο σώμα δημιουργώντας νέες μεταστάσεις και η θεραπεία δεν είναι ικανή να αναχαιτίσει αυτή την εξάπλωση. Για τον χαρακτηρισμό αυτό, προσμετρώνται οι νέες καρκινικές βλάβες και μελετώνται ως προς το μέγεθος τους. Οι περιπτώσεις στις οποίες ένας ασθενής ανήκει στην κατηγορία PMD είναι όταν εμφανίζει:

- Περισσότερες από 4 καινούργιες καρκινικές βλάβες με λειτουργική διάμετρο μικρότερη του 1cm.
- Περισσότερες από 3 καινούργιες καρκινικές βλάβες με λειτουργική διάμετρο μεγαλύτερη του 1cm.
- Περισσότερες από 2 καινούργιες καρκινικές βλάβες με λειτουργική διάμετρο μεγαλύτερη του 1.5cm [14].

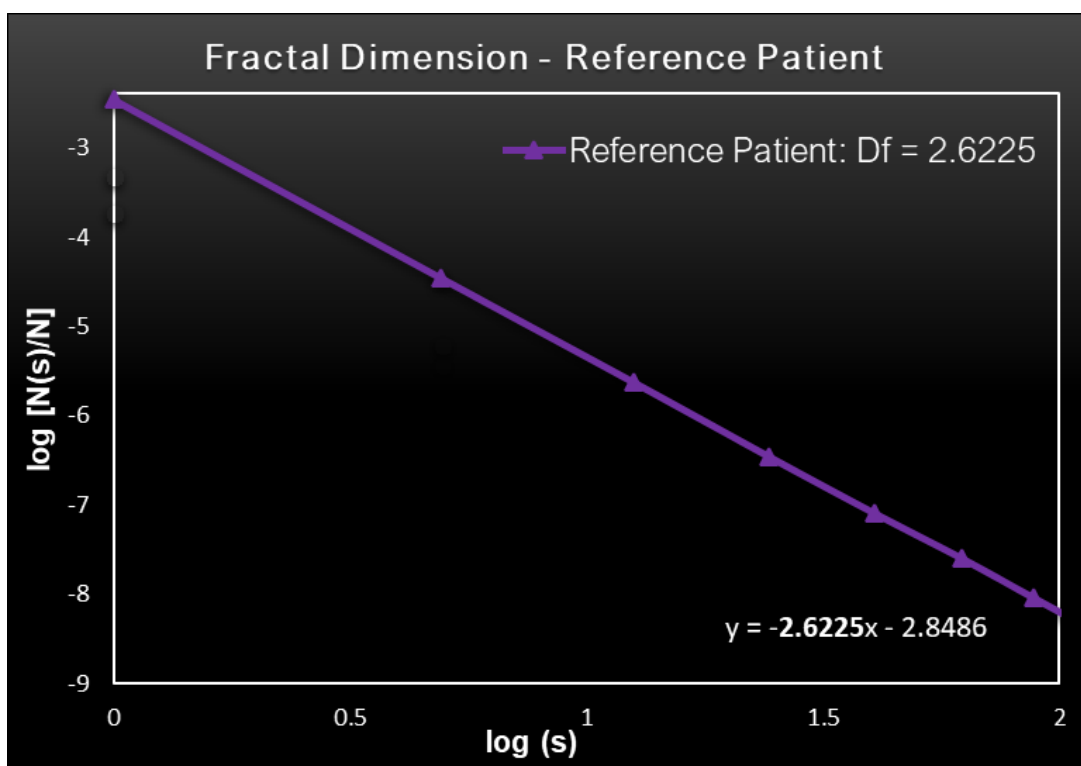
6.2 Αποτελέσματα Μορφοκλασματικής και Πολυμορφοκλασματικής Ανάλυσης Ατόμων Αναφοράς

Η παρουσίαση των αποτελεσμάτων ξεκινά με την έκθεση των ατόμων αναφοράς, καθώς οι δείκτες αυτών θα χρησιμοποιηθούν για σύγκριση με εκείνους των ασθενών.

6.2.1 Μορφοκλασματική Διάσταση Ατόμου Αναφοράς

Στην μορφοκλασματική ανάλυση εφαρμόστηκε ο αλγόριθμος καταμέτρησης υπερκύβων και τα τυπικά αποτελέσματα για το άτομο αναφοράς 4 δίνονται στο Σχήμα 6.1.

Η μορφοκλασματική διάσταση προκύπτει, όπως αναλύθηκε στην ενότητα 5.4.1, από την κλίση της ευθείας της γραφικής παράστασης «πλήθος γεμάτων κύβων - μέγεθος κύβου» σε διπλή λογαριθμική κλίμακα. Τα δεδομένα κανονικοποιήθηκαν, με τη διαίρεση του πλήθους των γεμάτων κύβων, $N(s)$, με το συνολικό αριθμό κύβων, N , που καλύπτουν το τρισδιάστατο σύνολο δεδομένων (pixels). Τελικά προέκυψε η γραφική παράσταση « $\log[N(s)/N] - \log(s)$ », όπου s το μέγεθος του κύβου (box size). Στο παρακάτω παράδειγμα, η τιμή της μορφοκλασματικής διάστασης που χαρακτηρίζει την διασπορά του ραδιοφαρμάκου $^{18}\text{F-FDG}$ στο σώμα του ατόμου αναφοράς 4 είναι $D_f = 2.6225$, και προκύπτει από την κλίση της ευθείας $\log[N(s)/N]$ ως προς $\log(s)$, που εμφανίζεται στο σχήμα.

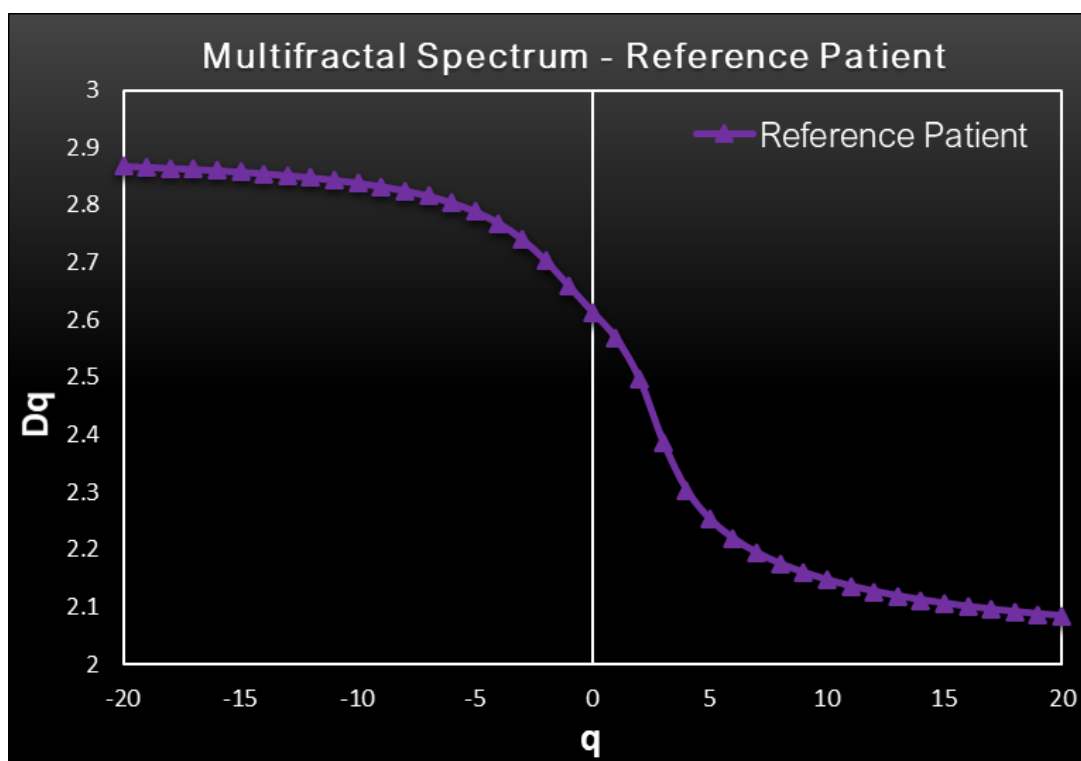


Σχήμα 6.1: Διάγραμμα υπολογισμού της μορφοκλασματικής διάστασης της κατανομής της $^{18}\text{F-FDG}$ στο σώμα του ατόμου αναφοράς 4.

Το συγκεκριμένο άτομο χρησιμοποιήθηκε ως μέτρο στα διαγράμματα που αφορούν τις μορφοκλασματικές διαστάσεις των ασθενών, τα οποία θα παρουσιαστούν στις επόμενες υποενότητες.

6.2.2 Πολυμορφοκλασματικό Φάσμα Ατόμου αναφοράς

Στην πολυμορφοκλασματική ανάλυση που υλοποιήθηκε στα άτομα, υπολογίστηκαν οι γενικευμένες διαστάσεις (D_q) από $q = -20$ έως $q = 20$. Ένα τυπικό πολυμορφοκλασματικό φάσμα του υγιούς ατόμου αναφοράς 6 δίνεται στο Σχήμα 6.2.



Σχήμα 6.2: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα, D_q ως προς την τάξη q , για το άτομο αναφοράς 6.

Η καμπύλη του πολυμορφοκλασματικού φάσματος του ατόμου αναφοράς 6 (Σχήμα 6.2) χρησιμοποιήθηκε ως μέτρο σύγκρισης με τα αποτελέσματα των ασθενών. Συνεπώς, στη πολυμορφοκλασματική ανάλυση των ασθενών δημιουργήθηκαν οι καμπύλες των τριών σταδίων του κάθε ασθενούς και συγκρίθηκαν με την καμπύλη του ατόμου αναφοράς που δεν πάσχει από μεταστατικό μελάνωμα (Ενότητα 6.4).

6.2.3 Συνολικά Αποτελέσματα Ατόμων Αναφοράς

Στην υποενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μορφοκλασματικής ανάλυσης στα 9 άτομα αναφοράς (υγιή), τα οποία δεν πάσχουν από μεταστατικό μελάνωμα. Τα αποτελέσματα αυτά χρησιμοποιούνται για να συγκριθούν με τα αποτελέσματα των ασθενών και να προκύψουν συμπεράσματα, για το πως επηρεάζει το μεταστατικό μελάνωμα τις τιμές της μορφοκλασματικής διάστασης ενός ατόμου.

Στον Πίνακα 6.1 παρατίθενται οι τιμές των μορφοκλασματικών διαστάσεων που υπολογίστηκαν με τις δύο μεθόδους ανάγνωσης των εικόνων, για τρία κατώφλια, w , της φωτεινότητας των εικονοστοιχείων. Στην τελευταία γραμμή αναφέρεται ο μέσος όρος της fractal διάστασης κάθε στήλης. Για την σύγκριση των λήψεων των υγιών ατόμων με εκείνα που πάσχουν από μελάνωμα, χρησιμοποιήθηκαν ολόσωμες λήψεις, εξαιρώντας τον εγκέφαλο, όπως πραγματοποιήθηκε και στις λήψεις των ασθενών. Όπως έχει βρεθεί από προηγούμενη μελέτη τα υγιή άτομα έχουν υψηλότερες τιμές μορφοκλασματικής διάστασης από εκείνα που ασθενούν από κακόηθες μελάνωμα [3]. Επομένως οι μορφοκλασματικές διαστάσεις των ασθενών αναμένεται να είναι μικρότερες από αυτές των ατόμων αναφοράς. Τέλος, στη στήλη «Side effects» αναφέρονται «παρενέργειες», δηλαδή περιπτώσεις στις οποίες τα άτομα εμφάνισαν μη φυσιολογική πρόσληψη $^{18}\text{F-FDG}$, η οποία όμως δεν σχετίζεται με καρκινικούς όγκους.

Πίνακας 6.1: Μορφοκλασματικές διαστάσεις ατόμων αναφοράς (υγιών)

Reference Patient No.	Side Effects	ITK Library Results			Text Images Results		
		w = 0	w = 40	w = 120	w = 0	w = 40	w = 120
		Fractal Dimension	Fractal Dimension	Fractal Dimension	Fractal Dimension	Fractal Dimension	Fractal Dimension
1	muscle uptake	2.5441	1.7406	1.5409	2.4211	1.7621	1.5774
2	radiopharmaceutical uptake in the injection site	2.6142	1.3179	1.4579	2.6257	1.3176	1.4586
3	colitis, muscle uptake	2.6221	1.1570	1.4075	2.6180	1.2080	1.6274
4		2.6225	1.4249	1.3765	2.6136	1.5057	1.3803
5		2.4958	1.1483	0.8454	2.5840	1.2335	0.8617
6		2.6463	1.4081	1.7452	2.6228	1.3948	1.7444
7	muscle uptake	2.5179	1.3531	1.1969	2.5856	1.3568	1.1971
8		2.5808	1.3050	1.2886	2.5875	1.3111	1.2909
9		2.5889	1.4129	1.0634	2.6072	1.5334	1.2277
Average		2.5814	1.3631	1.3247	2.5851	1.4026	1.3739

muscle uptake => πρόσληψη από τους μυς, radiopharmaceutical uptake in the injection site => πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου στο σημείο της ένεσης, colitis=>κολίτιδα

Από τον πίνακα αποτελεσμάτων, προκύπτει για τους υγιείς ότι η μορφοκλασματική διάσταση λαμβάνει κυρίως υψηλότερες τιμές από αυτές των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα. Η πλειοψηφία των ασθενών, των οποίων τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην ενότητα 6.3, εμφανίζει μικρότερες μορφοκλασματικές διαστάσεις από το μέσο όρο της φράκταλ διάστασης των ατόμων αναφοράς. Όπως αναφέραμε και νωρίτερα, αυτό αποδίδεται στο ότι στους υγιείς το ραδιοφάρμακο δεν συγκεντρώνεται πάνω σε συγκεκριμένα σημεία του σώματος (όπως π.χ. σε όγκους στους ασθενείς), κι έτσι διαχέεται πιο ομοιόμορφα στις τρεις διαστάσεις. Εάν δε, δεν υπήρχε πρόσληψη από τα όργανα, τότε η μορφοκλασματική διάσταση των υγιών θα προσέγγιζε το 3. Ειδικά, στην περίπτωση της ΙΤΚ βιβλιοθήκης και για κατώφλι $w=0$, τα άτομα αναφοράς με μη ειδικά ευρήματα (π.χ. παρενέργειες στην ανοσοθεραπεία, αρθρίτιδες κλπ.), όπως για παράδειγμα αυτά με αριθμούς 1 και 7 φαίνεται να εμφανίζουν μειωμένες μορφοκλασματικές διαστάσεις. Συνεπώς, πιθανώς τα μη ειδικά ευρήματα επηρεάζουν την κατανομή της $^{18}\text{F-FDG}$ στο σώμα τους κι επομένως τη μορφοκλασματική διάσταση μιας εξέτασης.

Στην ενότητα 6.3 χρησιμοποιείται η μορφοκλασματική διάσταση του ατόμου αναφοράς 4 και στην ενότητα 6.4 το πολυμορφοκλασματικό φάσμα του ατόμου αναφοράς 6, (τα άτομα αυτά δεν εμφανίζουν μη ειδικά ευρήματα) για σύγκριση με τα αποτελέσματα των ασθενών.

6.3 Αποτελέσματα Μορφοκλασματικής Ανάλυσης Ασθενών

6.3.1. Αποτελέσματα Ασθενών

Τα αποτελέσματα των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν παρατίθενται σε πίνακες παρακάτω. Αρχικός στόχος της μελέτης είναι η εκτίμηση της βέλτιστης μεθόδου εκτίμησης των βιοδεικτών. Ως βέλτιστη θεωρείται η μέθοδος κατά την οποία οι μορφοκλασματικοί βιοδείκτες αποτελούν ένδειξη για την απόδοση της ανοσοθεραπείας και δίνουν τιμές που ανταποκρίνονται με την πραγματική κλινική εικόνα των ασθενών. Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι ανάγνωσης δεδομένων όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 5.3, μία με την χρήση της βιβλιοθήκης ΙΤΚ [87] και μία με την εξαγωγή αρχείων κειμένου των εικόνων μέσω ImageJ [88]. Όπως και στην περίπτωση των ατόμων αναφοράς (ενότητα 6.2), σε κάθε μέθοδο ο αλγόριθμος υλοποιήθηκε για τρία κατώφλια ($w=0,40,120$) προκειμένου να επιλεγεί το καταλληλότερο.

Όπως αναφέρθηκε, οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε εξέταση PET/CT σε τρία στάδια, αρχικά πριν την έναρξη της θεραπείας και δύο φορές κατά τη χρονική διάρκεια της θεραπείας.

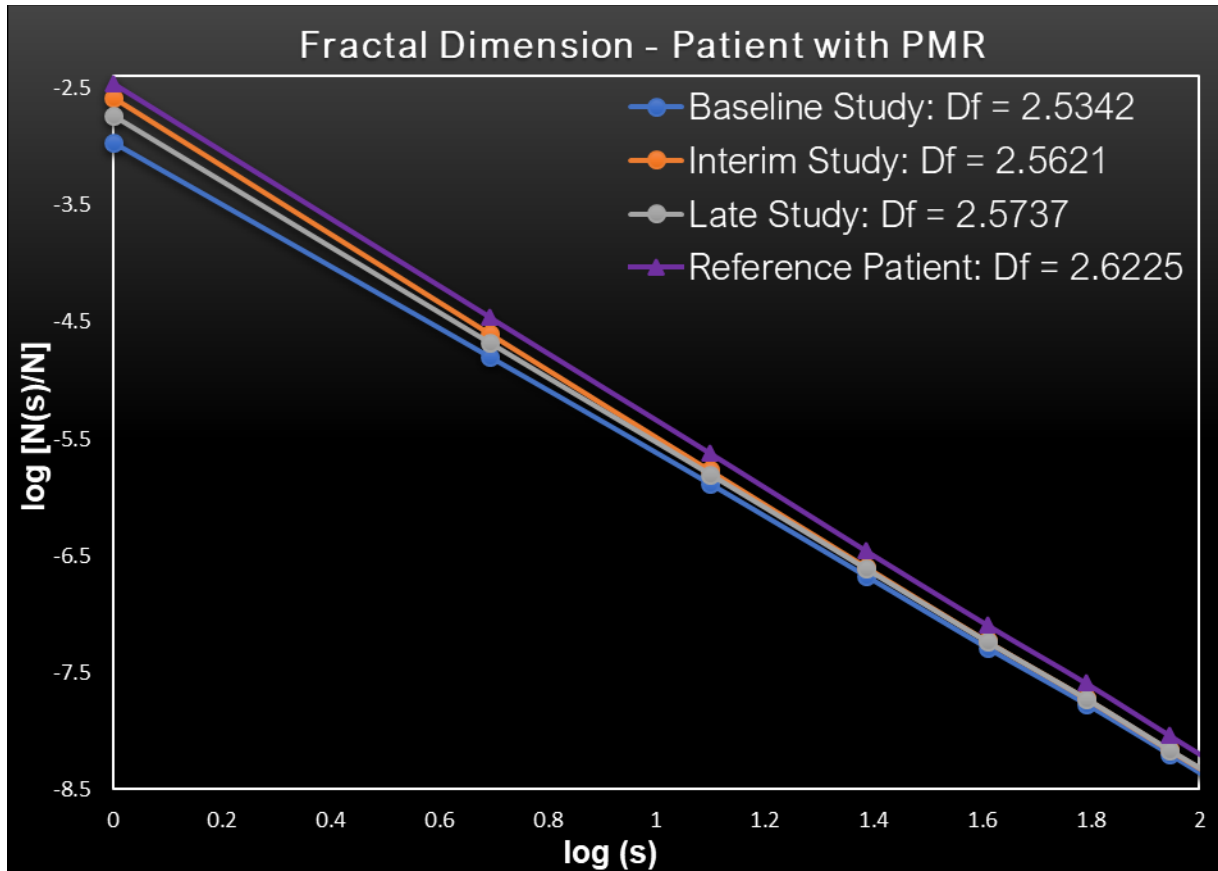
Η κατηγοριοποίηση των ασθενών σύμφωνα με τη μορφοκλασματική διάσταση γίνεται σε δύο φάσεις. Αρχικά, με σύγκριση των αποτελεσμάτων της 2^{ης} εξέτασης που αποτελεί την ενδιάμεση (interim) και πραγματοποιήθηκε μετά από δύο κύκλους ανοσοθεραπείας, σε σχέση με την 1^η εξέταση που αποτελεί την βασική εξέταση (baseline). Στη συνέχεια συγκρίνονται τα ευρήματα για την 3^η και τελική εξέταση (late) σε σχέση με τη 1^η εξέταση (baseline). Ο τρόπος με τον οποίο χαρακτηρίζεται η κατάσταση του ασθενούς αναφορικά με την μορφοκλασματική διάσταση είναι ο εξής:

- Εάν η μορφοκλασματική διάσταση του ασθενούς εμφανίσει **αύξηση** στις εξετάσεις interim (2^η) ή late (3^η) σε σχέση με την baseline (1^η) τότε θεωρείται πως η κατάσταση του βελτιώθηκε και συμφωνεί με τις περιπτώσεις: CMR (Complete Metabolic Response) ή PMR (Partial Metabolic Response).
- Εάν η τιμή της μορφοκλασματικής διάστασης παραμένει **σταθερή** τότε ταυτίζεται με την περίπτωση SMD (Stable Metabolic Disease).
- Εάν παρουσιαστεί **μείωση** στην τιμή της φράκταλ διάστασης τότε θεωρείται πως ο ασθενείς έχει επιδεινωθεί και συμφωνεί με την περίπτωση PMD (Progressive Metabolic Disease).

Στις υποενότητες 6.3.2, 6.3.3 και 6.3.4 που ακολουθούν παρουσιάζονται οι τυπικές μορφοκλασματικές αναλύσεις ασθενών για κάθε μία από τις τρεις κατηγορίες PMR (Partial Metabolic Response), SMD (Stable Metabolic Disease), PMD (Progressive Metabolic Disease). Στις αναλύσεις αυτές, έχει χρησιμοποιηθεί κατώφλι $w=0$ και η ανάγνωση των εικόνων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της βιβλιοθήκης ΙΤΚ. Η ίδια λογική ακολουθείται και για την ανάλυση με τα υπόλοιπα 2 κατώφλια, $w=40$ και $w=120$, αλλά και για την χρήση των συγκεντρώσεων ¹⁸F-FDG που έχουν εξαχθεί με το λογισμικό ImageJ, των οποίων τα αποτελέσματα παρατίθενται συνολικά στην ενότητα 6.3.5.

6.3.2 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMR

Στο σχήμα 6.3 παρουσιάζεται η καμπύλη της μορφοκλασματικής διάστασης του τυπικού ασθενούς *Patient_10*, ο οποίος χαρακτηρίζεται από «Μερική Ανταπόκριση», PMR (Partial Metabolic Response) στην ανοσοθεραπεία:



Σχήμα 6.3: Μορφοκλασματικές διαστάσεις (D_f) ασθενούς *Patient_10* με PMR σε σύγκριση με άτομο αναφοράς

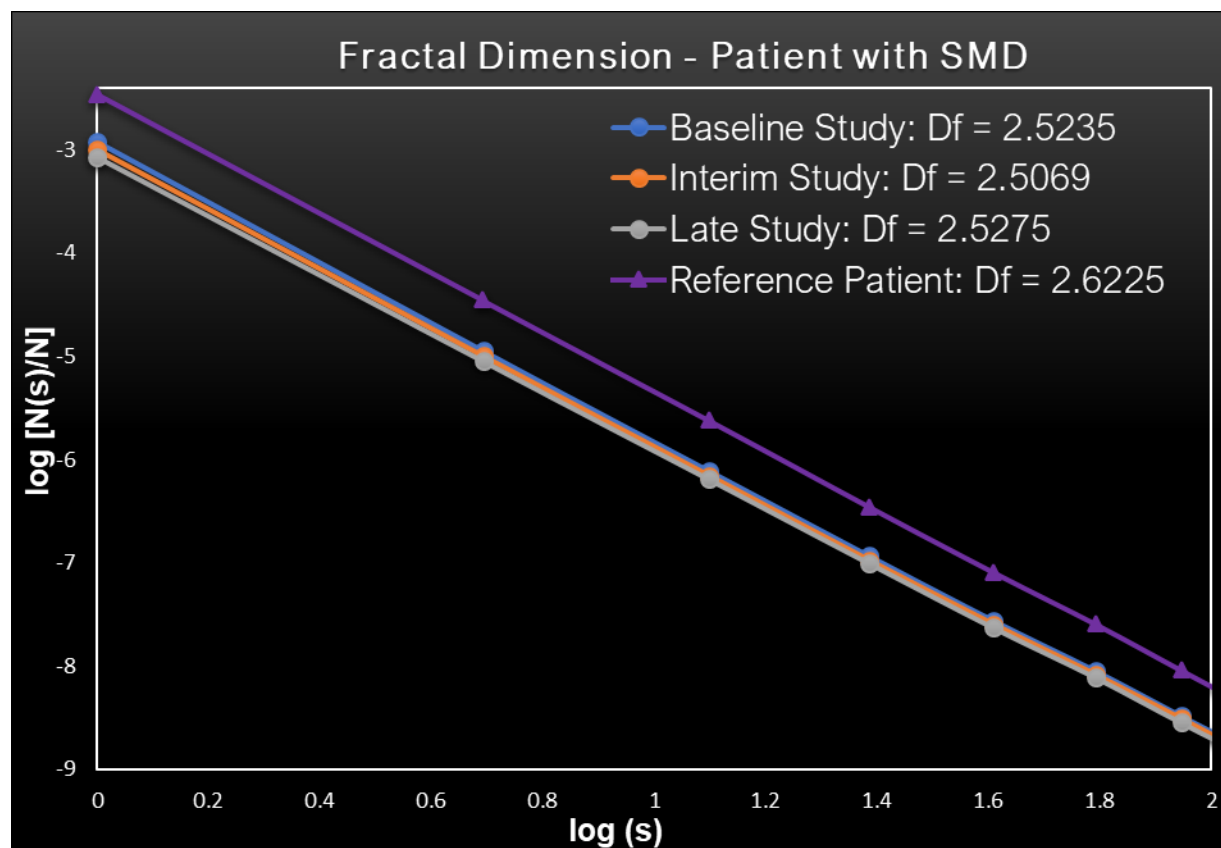
Ο άξονας x εκφράζει το μέγεθος υπερκύβου s (box size) σε λογαριθμική κλίμακα και ο άξονας y το κανονικοποιημένο πλήθος των «γεμάτων» κύβων ($N(s)/N$), όπου N το σύνολο των κύβων, επίσης σε λογαριθμική κλίμακα. Η κλίση της ευθείας σε διπλή λογαριθμική κλίμακα δίνει τη μορφοκλασματική διάσταση της κατανομής της $^{18}\text{F-FDG}$ στο σώμα του ασθενούς από τη μύτη ως τα πέλματα. Κάθε ευθεία αντιπροσωπεύει μία εξέταση του ασθενούς και οι τρεις αυτές εξετάσεις του συγκρίνονται με την κλίση της ευθείας του ατόμου αναφοράς 4.

Ο ασθενής *Patient_10*, σύμφωνα με τα κλινικά συμπεράσματα έχει εμφανίσει βελτίωση από τη baseline εξέταση (1^η) στην interim (2^η) και από τη baseline εξέταση (1^η) στην late (3^η). Στη μορφοκλασματική διάσταση αυτό μεταφράζεται ως αύξηση της τιμής της και όπως προκύπτει και από το σχήμα, η φράκταλ διάσταση D_f στις εξετάσεις interim και late έχει μεγαλύτερη τιμή από την baseline. Στην αρχική εξέταση, baseline, η τιμή είναι $D_f(\text{baseline}) = 2.5342$ και στην interim εξέταση $D_f(\text{interim}) = 2.5621$, άρα $D_f(\text{interim}) > D_f(\text{baseline})$. Αντίστοιχα στη late

εξέταση η τιμή της είναι $D_f(\text{late}) = 2.5737$ επομένως $D_f(\text{late}) > D_f(\text{baseline})$. Τέλος, η μορφοκλασματική διάσταση του ατόμου αναφοράς είναι μεγαλύτερη από εκείνες του ασθενούς με τιμή: $D_f(\text{reference}) = 2.6225$.

6.3.3 Αποτελέσματα Ασθενούς με SMD

Στο Σχήμα 6.4 παρουσιάζεται η καμπύλη της μορφοκλασματικής διάστασης του τυπικού ασθενούς *Patient_9*, ο οποίος χαρακτηρίζεται από «Σταθερή Ασθένεια», SMD (Stable Metabolic Disease) στην ανοσοθεραπεία.



Σχήμα 6.4: Μορφοκλασματικές διαστάσεις (D_f) ασθενούς *Patient_9* με SMD σε σύγκριση με άτομο αναφοράς.

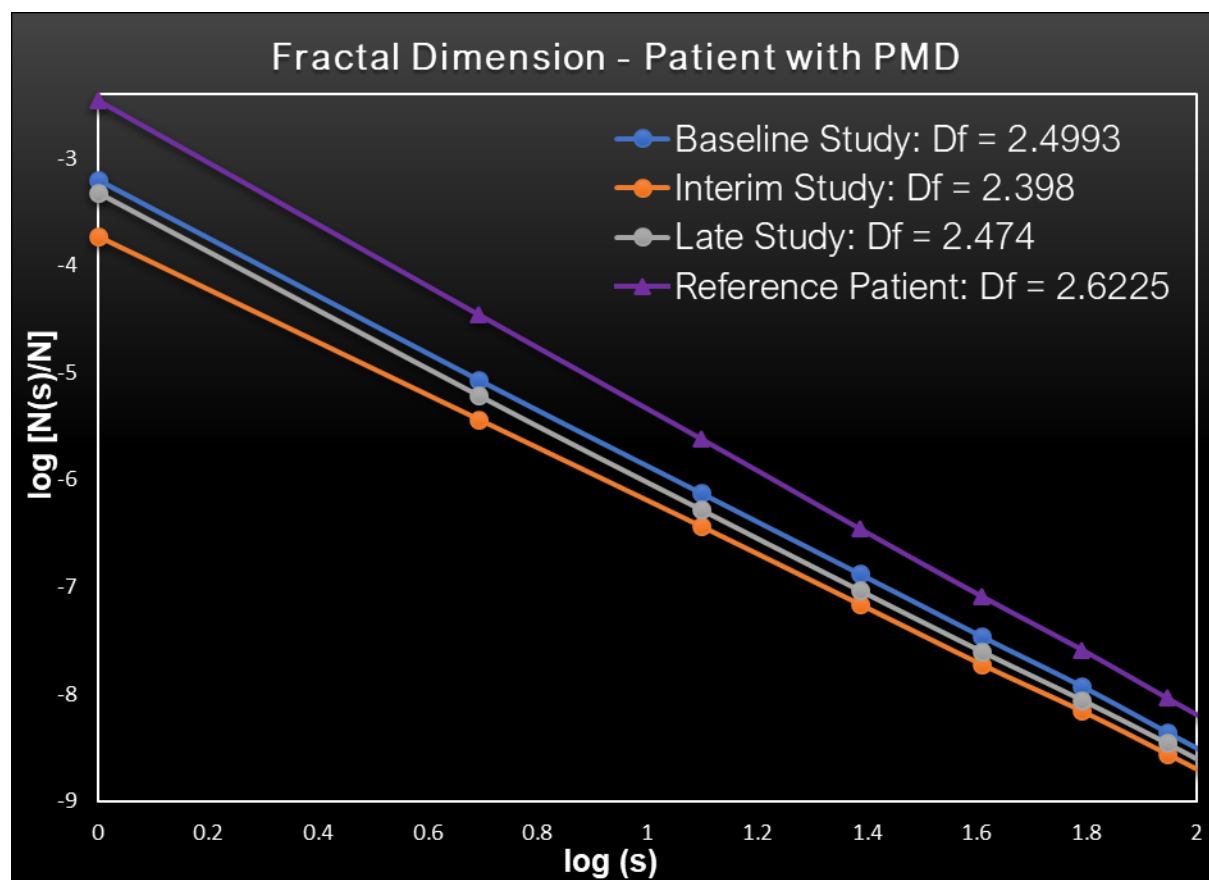
Παρόμοια με το προηγούμενο σχήμα, στο Σχήμα 6.4, ο άξονας x εκφράζει το μέγεθος υπερκύβου s (box size) σε λογαριθμική κλίμακα και ο άξονας y το κανονικοποιημένο πλήθος των «γεμάτων» κύβων ($N(s)/N$), όπου N το σύνολο των κύβων, επίσης σε λογαριθμική κλίμακα. Η κλίση της ευθείας σε λογαριθμική κλίμακα δίνει τη μορφοκλασματική διάσταση. Κάθε ευθεία αντιπροσωπεύει μία εξέταση του ασθενούς και οι τρεις αυτές εξετάσεις του συγκρίνονται με την κλίση της ευθείας του ατόμου αναφοράς 4.

Ο ασθενής *Patient_9* δεν έχει εμφανίσει αλλαγές στην κατάσταση του από τη baseline

εξέταση (1^η) στην interim (2^η) και από τη baseline εξέταση (1^η) στην late (3^η), ούτε επιδείνωση ούτε καλυτέρευση. Στη μορφοκλασματική διάσταση η *σταθερότητα* της ασθένειας σχετίζεται με την *σταθερή* τιμή της D_f . Στην αρχική εξέταση, baseline, η τιμή είναι $D_f(\text{baseline}) = 2.5235$ και στην interim εξέταση $D_f(\text{interim}) = 2.5069$, άρα $D_f(\text{interim}) \approx D_f(\text{baseline})$. Αντίστοιχα στη τελική εξέταση, late, η τιμή της είναι $D_f(\text{late}) = 2.5275$, πολύ κοντά στο 2.5235 ($D_f(\text{late}) \approx D_f(\text{baseline})$). Τέλος, η μορφοκλασματική διάσταση του ατόμου αναφοράς είναι μεγαλύτερη από εκείνες του ασθενούς με τιμή: $D_f(\text{reference}) = 2.6225$.

6.3.4 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMD

Στο Σχήμα 6.5 παρουσιάζεται η καμπύλη της μορφοκλασματικής διάστασης του τυπικού ασθενούς *Patient_11*, ο οποίος χαρακτηρίζεται από «Προοδευτική Ασθένεια», PMD (Progressive Metabolic Disease) στην ανοσοθεραπεία.



Σχήμα 6.5: Μορφοκλασματικές διαστάσεις (D_f) ασθενούς *Patient_11* με PMD σε σύγκριση με άτομο αναφοράς.

Παρόμοια με τα προηγούμενα σχήματα, στο Σχήμα 6.5, ο άξονας x εκφράζει το μέγεθος υπερκύβου s (box size) σε λογαριθμική κλίμακα και ο άξονας y το κανονικοποιημένο πλήθος των «γεμάτων» κύβων ($N(s)/N$), όπου N το σύνολο των κύβων, επίσης σε λογαριθμική κλίμακα. Η κλίση της ευθείας σε λογαριθμική κλίμακα δίνει τη μορφοκλασματική διάσταση. Κάθε ευθεία αντιπροσωπεύει μία εξέταση του ασθενούς και οι τρεις αυτές εξετάσεις του συγκρίνονται με την κλίση της ευθείας του ατόμου αναφοράς 4.

Ο ασθενής *Patient_11* έχει θεωρηθεί κλινικά ότι παρουσιάζει *επιδείνωση* από τη baseline εξέταση (1^η) στην interim (2^η) και από τη baseline εξέταση (1^η) στην late (3^η). Στη μορφοκλασματική διάσταση η επιδείνωση της ασθένειας σχετίζεται με μείωση στη φράκταλ διάσταση D_f . Στην αρχική εξέταση, baseline, η τιμή είναι $D_f(\text{baseline}) = 2.4993$ και στην interim εξέταση $D_f(\text{interim}) = 2.398$, άρα **$D_f(\text{interim}) < D_f(\text{baseline})$** . Αντίστοιχα στη late εξέταση η τιμή της είναι $D_f(\text{late}) = 2.474$ επομένως **$D_f(\text{late}) < D_f(\text{baseline})$** . Τέλος, η μορφοκλασματική διάσταση του ατόμου αναφοράς είναι μεγαλύτερη από εκείνες του ασθενούς με τιμή: $D_f(\text{reference}) = 2.6225$. Όπως αναφέρθηκε, στα τρία προηγούμενα σχήματα έχει χρησιμοποιηθεί κατώφλι $w=0$ και η ανάγνωση των εικόνων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της βιβλιοθήκης ΙΤΚ. Η ίδια λογική ακολουθείται και για την ανάλυση με τα υπόλοιπα 2 κατώφλια, $w=40$ και $w=120$, αλλά και για την χρήση των συγκεντρώσεων $^{18}\text{F-FDG}$ που έχουν εξαχθεί με το λογισμικό ImageJ των οποίων τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην επόμενη ενότητα (6.3.5).

Το γεγονός ότι η μορφοκλασματική διάσταση της διασποράς της $^{18}\text{F-FDG}$ μειώνεται με την εμφάνιση μεταστάσεων συμφωνεί με προηγούμενα αποτελέσματα σε ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε ipilimumab [3]. Θα πρέπει να σημειωθεί εδώ, ότι όταν δεν υπάρχουν καρκινικοί όγκοι οι οποίοι να προκαλούν τοπικές συγκεντρώσεις της $^{18}\text{F-FDG}$, τότε αυτή διασπείρεται σχετικά ομοιόμορφα στον τρισδιάστατο χώρο που καταλαμβάνει το ανθρώπινο σώμα κι έτσι η φράκταλ διάσταση, απουσία καρκινικών όγκων, θα πρέπει να τείνει προς το 3. Βεβαίως δεν θα είναι ακριβώς 3, καθώς η $^{18}\text{F-FDG}$ συγκεντρώνεται και σε αρκετά όργανα. Όταν όμως υπάρχει παρουσία όγκων και μεταστάσεων, τότε η $^{18}\text{F-FDG}$ παύει να διασπείρεται ομοιόμορφα σε όλο το σώμα, αλλά συγκεντρώνεται κατά μείζονα λόγο σε ένα υποχώρο, ο οποίος αποτελείται από τις μεταστάσεις (και τα όργανα που συσσωρεύουν $^{18}\text{F-FDG}$). Έτσι, έχουμε την ένδειξη της συρρίκνωσης της μορφοκλασματικής διάστασης του χώρου εξάπλωσης της $^{18}\text{F-FDG}$, πράγμα που συμφωνεί με τα αποτελέσματά μας. Μάλιστα, μια λογική υπόθεση είναι ότι το όριο της φράκταλ διάστασης της κατανομής $^{18}\text{F-FDG}$ θα είναι παρόμοιο με την φράκταλ διάσταση των αιμοφόρων αγγείων ή/και του λεμφικού συστήματος, καθώς αυτά τα δύο διευκολύνουν την κίνηση και την εγκατάσταση των καρκινικών κυττάρων για τη δημιουργία μεταστάσεων.

6.3.5 Συνολικά Αποτελέσματα Ασθενών

Η μελέτη των μεταβολών στην μορφοκλασματική διάσταση (fractal dimension) οδηγεί σε συμπεράσματα για το κατά πόσο οι αλλαγές αυτού του βιοδείκτη ταυτίζονται με την ιατρική εικόνα των ασθενών. Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τους 19 ασθενείς σε τρία στάδια τους. Σε κάθε μέθοδο, ΙΤΚ Library (Πίνακας 6.2) και Text Images μέσω ImageJ (Πίνακας 6.3) υπάρχουν οι μορφοκλασματικές τιμές για τα τρία κατώφλι έντασης των pixel ($w=0,40,120$). Στη στήλη *Matching Results* αναγράφεται η ταύτιση ή διαφοροποίηση (Yes or No) μεταξύ των τιμών της φράκταλ διάστασης και της πραγματικής κλινικής κατάστασης στις εξετάσεις των ασθενών. Τα κλινικά συμπεράσματα παρατίθενται στη στήλη που αφορά την απόκριση των ασθενών στη θεραπεία (*Treatment Response*), και προκύπτουν από τη σύγκριση της κατάστασης του ασθενούς στη 2^η εξέταση (*interim*) και στη 3^η (*late*), σε σχέση με την 1^η εξέταση (*baseline*). Στους πίνακες αναγράφονται επίσης το φύλο και η ηλικία του εκάστοτε ασθενούς.

➤ Μέθοδος με χρήση βιβλιοθήκης ΙΤΚ

Η παρουσίαση των αποτελεσμάτων της μορφοκλασματικής ανάλυσης στον Πίνακα 6.2 δίνει την στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της βιβλιοθήκης ΙΤΚ για τα τρία κατώφλια, $w=0, 40, 120$.

Πίνακας 6.2: Μορφοκλασματικές διαστάσεις για τρία κατώφλια με ΙΤΚ βιβλιοθήκη.

Patient No.	Study	Treatment Response	ITK Library Results					
			w = 0		w = 40		w = 120	
Age / Gender			Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results
1 56 / F	Baseline		2.5464		1.3843		1.0087	
	Interim	PMD	2.4585	Yes	1.2348	Yes	1.3805	No
	Late	PMD	2.5580	No	1.5123	No	0.7906	Yes
2 48 / F	Baseline		2.5233		1.3897		1.4196	
	Interim	SMD	2.5152	Yes	1.2997	No	1.2764	No
	Late	CMR	2.4759	No	1.6284	Yes	1.1962	No
3 60 / F	Baseline		2.5368		1.3044		0.6564	
	Interim	PMR	2.5567	Yes	1.6387	Yes	1.8831	Yes
	Late	PMR	2.5266	No	1.6609	Yes	1.7236	Yes
4 52 / M	Baseline		2.5659		1.5580		1.5208	
	Interim	SMD	2.5427	Yes	1.4965	No	1.7646	No
	Late	SMD	2.5432	Yes	1.6090	No	1.4588	No
5 46 / F	Baseline		2.4866		1.1636		0.9795	
	Interim	SMD	2.4967	Yes	1.6079	No	1.4564	No
	Late	PMD	2.4482	Yes	1.0360	Yes	0.5882	Yes

Patient No.	Study	Treatment Response	ITK Library Results					
			w = 0		w = 40		w = 120	
Age / Gender			Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results
6 68 / M	Baseline		2.5192		1.4578		1.4795	
	Interim	SMD	2.5297	Yes	1.2363	No	1.3730	No
	Late	PMR	2.5031	No	1.3078	No	1.2063	No
7 44 / M	Baseline		2.5421		1.3255		1.1622	
	Interim	PMR	2.5437	Yes	1.5108	Yes	1.2491	Yes
	Late	PMR	2.5624	Yes	1.7040	Yes	1.5059	Yes
8 50 / F	Baseline		2.5438		1.2718		1.3885	
	Interim	SMD	2.3993	No	1.0814	No	1.1271	No
	Late	CMR	2.4759	No	1.1888	No	1.2653	No
9 55 / F	Baseline		2.5235		1.5732		1.2546	
	Interim	SMD	2.5069	Yes	1.3983	No	1.0642	No
	Late	SMD	2.5275	Yes	1.2649	No	1.1322	No
10 54 / M	Baseline		2.5342		1.2522		1.1956	
	Interim	PMR	2.5621	Yes	1.5697	Yes	1.4148	Yes
	Late	PMR	2.5737	Yes	1.2976	Yes	0.8513	No
11 20 / F	Baseline		2.4993		1.1809		1.3996	
	Interim	PMD	2.3980	Yes	1.1045	Yes	1.1224	Yes
	Late	PMD	2.4740	Yes	1.0350	Yes	1.2408	Yes
12 84 / F	Baseline		2.5130		1.0704		0.7927	
	Interim	SMD	2.4795	No	0.9535	No	0.5750	No
	Late	SMD	2.5373	Yes	1.0633	Yes	0.8119	Yes
13 53 / F	Baseline		2.6027		1.3915		1.2156	
	Interim	SMD	2.5963	Yes	1.4847	No	1.3190	No
	Late	SMD	2.5897	Yes	1.3774	Yes	1.3081	No
14 52 / M	Baseline		2.5543		1.2091		1.3746	
	Interim	PMR	2.5178	No	1.6266	Yes	1.4512	Yes
	Late	PMR	2.5565	Yes	1.3232	Yes	1.2486	No
15 52 / M	Baseline		2.5555		1.1241		1.0368	
	Interim	SMD	2.6042	No	1.1802	No	1.1422	No
	Late	SMD	2.5666	Yes	1.4497	No	1.6102	No
16 71 / F	Baseline		2.3979		1.1321		0.9613	
	Interim	PMD	2.5114	No	1.1681	No	1.0455	No
	Late	PMD	2.5742	No	1.5089	No	1.3749	No
17 34 / F	Baseline		2.4727		0.9943		1.0564	
	Interim	CMR	2.5179	Yes	1.6734	Yes	1.5871	Yes
	Late	CMR	2.5154	Yes	1.6405	Yes	1.3092	Yes
18 78 / M	Baseline		2.5411		1.3254		1.1948	
	Interim	PMD	2.5234	Yes	1.1498	Yes	1.0627	Yes
	Late	PMD	2.5385	Yes	1.4915	No	1.1866	Yes
19 59 / M	Baseline		2.5488		1.1078		1.0931	
	Interim	PMR	2.5720	Yes	1.3218	Yes	1.5887	Yes
	Late	PMR	2.5802	Yes	1.4320	Yes	1.3940	Yes
			All	Matching	Matching		Matching	
Follow ups			38	27		20		17
Percentage				71.05%		52.63%		44.74%

Παρατηρείται πως στο δείγμα η καλύτερη μέθοδος προκύπτει από το μεγαλύτερο ποσοστό ταύτισης των αποτελεσμάτων στα στάδια παρακολούθησης των ασθενών (follow up's), το οποίο δίνεται για κατώφλι $w=0$. Επομένως το καταλληλότερο κατώφλι στην ένταση των εικονοστοιχείων είναι το $w=0$ με ποσοστό **71.05%** έναντι του $w=40$ και του $w=120$ που έδωσαν ποσοστά **52.63%** και **44.74%**, αντίστοιχα.

➤ **Μέθοδος με αρχεία κειμένου μέσω ImageJ**

Στον Πίνακα 6.3 που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των μορφοκλασματικών διαστάσεων με χρήση της μεθόδου με αρχεία κειμένου των εικόνων μέσω λογισμικού ImageJ, για τρία κατώφλια και τελικά η στατιστική ανάλυση τους.

Πίνακας 6.3: Μορφοκλασματικές διαστάσεις για τρία κατώφλια με αρχεία κειμένου από ImageJ.

Patient No.	Study	Treatment Response	Text Images Results					
			w = 0		w = 40		w = 120	
Age / Gender			Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results
1 56 / F	Baseline		2.5226		1.3720		1.0059	
	Interim	PMD	2.5393	No	1.2332	Yes	1.3717	No
	Late	PMD	2.4515	Yes	1.4870	No	0.7892	Yes
2 48 / F	Baseline		2.5170		1.2975		1.3952	
	Interim	SMD	2.5270	Yes	1.2972	Yes	1.2829	No
	Late	CMR	2.3201	No	1.6209	Yes	1.2095	No
3 60 / F	Baseline		2.5299		1.2681		0.6772	
	Interim	PMR	2.5156	No	1.6044	Yes	1.9222	Yes
	Late	PMR	2.5394	Yes	1.5921	Yes	1.6789	Yes
4 52 / M	Baseline		2.4864		1.5437		1.5225	
	Interim	SMD	2.4481	No	1.4660	No	1.7803	No
	Late	SMD	2.4365	No	1.6360	No	1.4851	No
5 46 / F	Baseline		2.5281		1.1638		0.9758	
	Interim	SMD	2.3337	No	1.5884	No	1.4572	No
	Late	PMD	2.4904	Yes	0.9872	Yes	0.6009	Yes
6 68 / M	Baseline		2.3939		1.4219		1.5223	
	Interim	SMD	2.4547	No	1.2289	No	1.3716	No
	Late	PMR	2.5183	Yes	1.3064	No	1.1954	No
7 44 / M	Baseline		2.5648		1.3389		1.1675	
	Interim	PMR	2.4025	No	1.4904	Yes	1.2443	Yes
	Late	PMR	2.4185	No	1.6696	Yes	1.5122	Yes

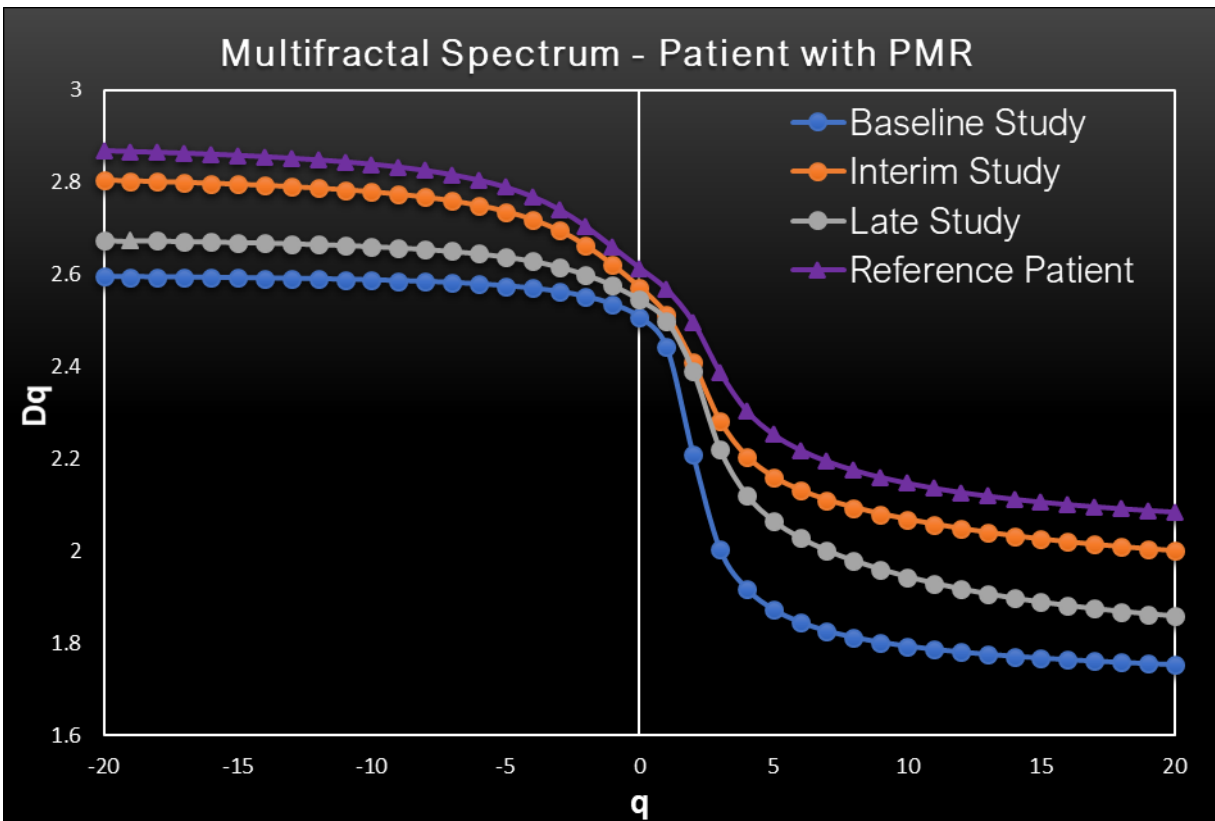
Patient No.	Study	Treatment Response	Text Images Results					
			w = 0		w = 40		w = 120	
Age / Gender			Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results	Fractal Dimension	Matching Results
8 50 / F	Baseline		2.5805		1.2495		1.4160	
	Interim	SMD	2.5444	No	1.1337	No	1.1138	No
	Late	CMR	2.5540	No	1.1801	No	1.2900	No
9 55 / F	Baseline		2.4697		1.5433		1.2408	
	Interim	SMD	2.4920	No	1.3963	No	1.0695	No
	Late	SMD	2.5265	No	1.2683	No	1.1031	No
10 54 / M	Baseline		2.5591		1.2747		1.2087	
	Interim	PMR	2.4596	No	1.5209	Yes	1.4437	Yes
	Late	PMR	2.5704	Yes	1.3039	Yes	0.8747	No
11 20 / F	Baseline		2.5417		1.1916		1.3749	
	Interim	PMD	2.5117	Yes	1.1246	Yes	1.1413	Yes
	Late	PMD	2.5343	Yes	0.9986	Yes	1.2800	Yes
12 84 / F	Baseline		2.5882		1.0317		0.8035	
	Interim	SMD	2.5653	Yes	0.9653	No	0.5623	No
	Late	SMD	2.5941	Yes	1.0654	Yes	0.8240	Yes
13 53 / F	Baseline		2.5776		1.3127		1.1995	
	Interim	SMD	2.5477	No	1.5149	No	1.3669	No
	Late	SMD	2.5411	No	1.4325	No	1.3435	No
14 52 / M	Baseline		2.5586		1.0586		1.3755	
	Interim	PMR	2.3638	No	1.6371	Yes	1.4854	Yes
	Late	PMR	2.5851	Yes	1.3305	Yes	1.2381	No
15 52 / M	Baseline		2.5946		1.1393		1.0397	
	Interim	SMD	2.5995	Yes	1.1507	Yes	1.1411	No
	Late	SMD	2.6036	Yes	1.5004	No	1.6179	No
16 71 / F	Baseline		2.5384		1.1149		0.9331	
	Interim	PMD	2.5620	No	1.1731	No	1.0849	No
	Late	PMD	2.5402	No	1.5135	No	1.3733	No
17 34 / F	Baseline		2.5123		0.9798		1.0355	
	Interim	CMR	2.3709	No	1.6519	Yes	1.3594	Yes
	Late	CMR	2.4086	No	1.5797	Yes	1.2260	Yes
18 78 / M	Baseline		2.5192		1.3505		1.2022	
	Interim	PMD	2.5350	No	1.1271	Yes	1.0782	Yes
	Late	PMD	2.5234	No	1.4708	No	1.1544	Yes
19 59 / M	Baseline		2.5900		1.0915		1.0713	
	Interim	PMR	2.4814	No	1.3109	Yes	1.6054	Yes
	Late	PMR	2.5965	Yes	1.4395	Yes	1.2464	Yes
			All	Matching		Matching		Matching
Follow ups			38	14		21		17
Percentage				36.84%		55.26%		44.74%

Παρατηρείται πως στο δείγμα η καλύτερη μέθοδος προκύπτει από το μεγαλύτερο ποσοστό ταύτισης των αποτελεσμάτων στα στάδια παρακολούθησης των ασθενών (follow ups), το οποίο δίνεται για κατώφλι $w=40$. Το ποσοστό αυτό είναι **55.26%** έναντι των 36.84% για κατώφλι $w=0$ και 44.74% για κατώφλι $w=120$.

Συνολικά, από τις δύο μεθόδους ανάγνωσης και τα τρία κατώφλια, η βέλτιστη εκδοχή υλοποίησης του αλγορίθμου μορφοκλασματικής ανάλυσης φαίνεται να είναι αυτή με την χρήση της βιβλιοθήκης ΙΤΚ και το κατώφλι $w=0$ για την ένταση των pixels, με ποσοστό ταύτισης **71.05%**. Συνεπώς, στις επόμενες ενότητες που γίνεται η μελέτη της πολυμορφοκλασματικής διάστασης θα χρησιμοποιηθούν τα δεδομένα που διαβάστηκαν με χρήση της βιβλιοθήκης ΙΤΚ και με κατώφλι έντασης εικονοστοιχείων $w=0$.

6.4 Αποτελέσματα Πολυμορφοκλασματικής Ανάλυσης Ασθενών

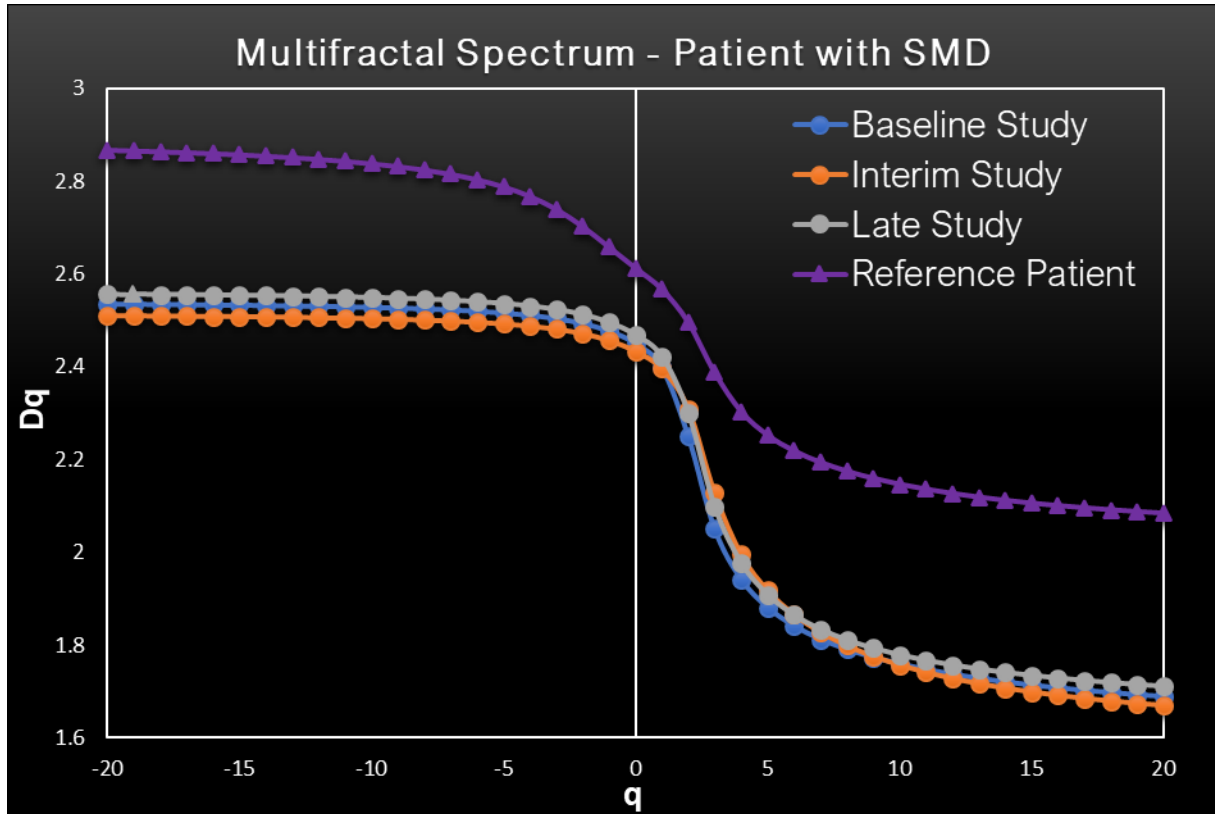
6.4.1 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMR



Σχήμα 6.6: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα ασθενούς Patient_10 με PMR σε σύγκριση με το αντίστοιχο φάσμα τυπικού ατόμου αναφοράς.

Στο Σχήμα 6.6 απεικονίζονται τα πολυμορφοκλασματικά φάσματα των τριών σταδίων του ασθενούς Patient_10 και του ατόμου αναφοράς 6. Ο ασθενής εμφανίζει βελτίωση κλινικά και θεωρείται πως η ασθένεια εμφανίζει «Μερική Ανταπόκριση», PMR (Partial Metabolic Response) στην ανοσοθεραπεία. Ο άξονας x εκφράζει το δείκτη q και ο άξονας y τις γενικευμένες διαστάσεις D_q . Ο ασθενής Patient_10, σύμφωνα με τα κλινικά συμπεράσματα έχει εμφανίσει βελτίωση από τη baseline εξέταση (1^η) στην interim (2^η) και από τη baseline εξέταση (1^η) στην late (3^η). Παρατηρείται πως οι καμπύλες των γενικευμένων διαστάσεων στην interim και στη late εξέταση είναι πιο πάνω από την καμπύλη της baseline εξέτασης, και προσεγγίζουν αυτήν του ατόμου αναφοράς (υγιούς). Επομένως στη συγκεκριμένη περίπτωση το πολυμορφοκλασματικό φάσμα αντιπροσωπεύει την ιατρική εκτίμηση που έχει δοθεί για την κατάσταση του ασθενούς.

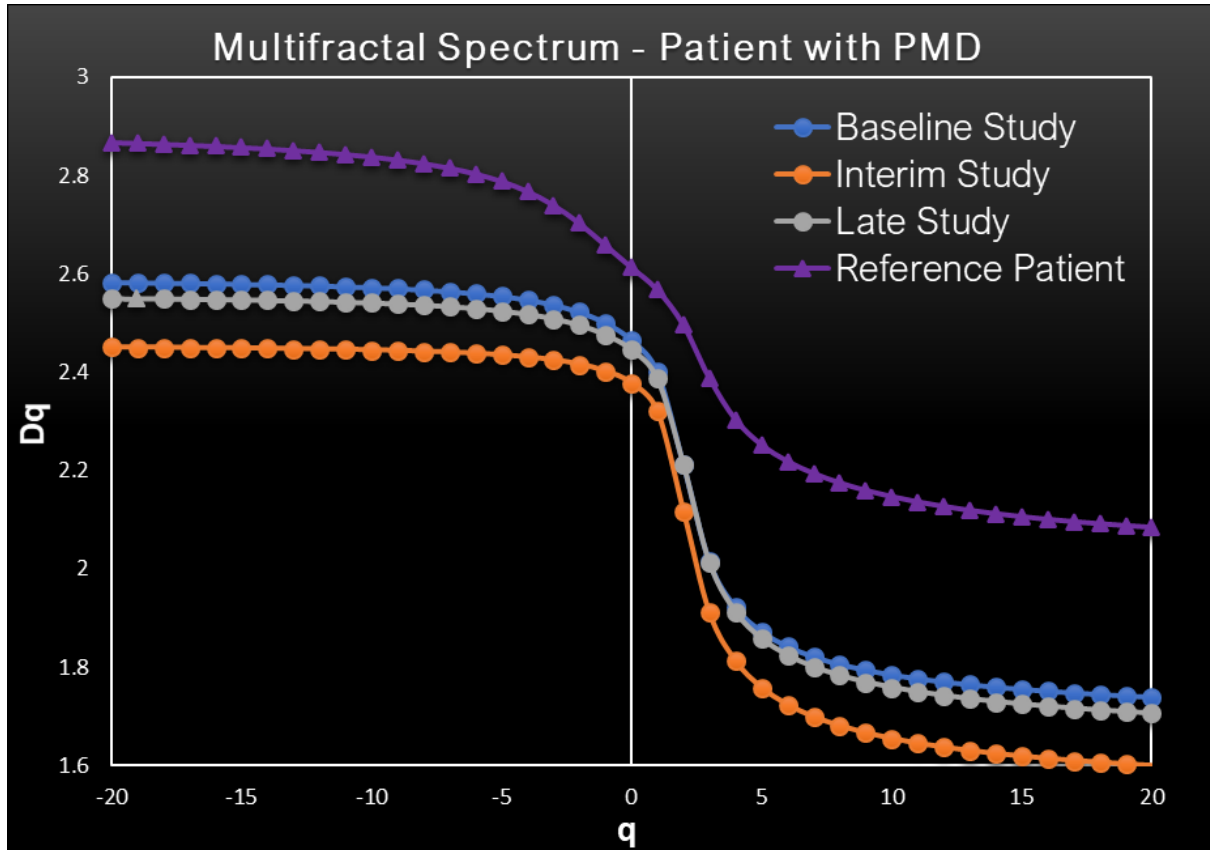
6.4.2 Αποτελέσματα Ασθενούς με SMD



Σχήμα 6.7: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα ασθενούς Patient_12 με SMD σε σύγκριση με το αντίστοιχο φάσμα τυπικού ατόμου αναφοράς.

Στο Σχήμα 6.7 απεικονίζονται τα πολυμορφοκλασματικά φάσματα των τριών σταδίων του ασθενούς Patient_12 και του ατόμου αναφοράς 6. Ο ασθενής χαρακτηρίζεται με «Σταθερή Ασθένεια», SMD (Stable Metabolic Disease) στην ανοσοθεραπεία. Ο άξονας x εκφράζει το δείκτη q και ο άξονας y τις γενικευμένες διαστάσεις D_q . Ο ασθενής Patient_12 σύμφωνα με τα ιατρικά δεδομένα, δεν έχει εμφανίσει αλλαγές στην κατάσταση του από τη baseline εξέταση (1^η) στην interim (2^η) και από τη baseline εξέταση (1^η) στην late (3^η), ούτε επιδείνωση ούτε καλύτερευση. Παρατηρείται πως οι καμπύλες των γενικευμένων διαστάσεων στην interim και στη late εξέταση οριακά ταυτίζονται με την καμπύλη της baseline εξέτασης, και δεν προσεγγίζουν αυτήν του ατόμου αναφοράς (υγιούς). Επομένως στη συγκεκριμένη περίπτωση το πολυμορφοκλασματικό φάσμα αντιπροσωπεύει την ιατρική εκτίμηση που έχει δοθεί για την κατάσταση του ασθενούς.

6.4.3 Αποτελέσματα Ασθενούς με PMD



Σχήμα 6.8: Πολυμορφοκλασματικό φάσμα ασθενούς Patient_11 με PMD σε σύγκριση με με το αντίστοιχο φάσμα τυπικού ατόμου αναφοράς.

Στο Σχήμα 6.8 απεικονίζονται τα πολυμορφοκλασματικά φάσμα των τριών σταδίων του ασθενούς και του ατόμου αναφοράς 6. Ο ασθενής κατηγοριοποιείται σε αυτούς με «Προοδευτική Ασθένεια», PMD (Progressive Metabolic Disease) στην ανοσοθεραπεία. Ο άξονας x εκφράζει το δείκτη q και ο άξονας y τις γενικευμένες διαστάσεις D_q . Ο ασθενής Patient_11, σύμφωνα με τα κλινικά συμπεράσματα έχει εμφανίσει *επιδείνωση* από τη baseline εξέταση (1^η) στην interim (2^η) και από τη baseline εξέταση (1^η) στην late (3^η). Παρατηρείται πως οι καμπύλες των γενικευμένων διαστάσεων στην interim και στη late εξέταση είναι πιο κάτω από την καμπύλη της baseline εξέτασης, και δεν προσεγγίζουν αυτήν του ατόμου αναφοράς (υγιούς). Επομένως στη συγκεκριμένη περίπτωση το πολυμορφοκλασματικό φάσμα αντιπροσωπεύει την ιατρική εκτίμηση που έχει δοθεί για την κατάσταση του ασθενούς.

6.4.4 Συνολικά Αποτελέσματα Ασθενών

Ο αλγόριθμος υλοποίησης της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης με σκοπό την εύρεση των γενικευμένων διαστάσεων εφαρμόστηκε με τη βέλτιστη μέθοδο που προέκυψε από τα αποτελέσματα της μορφοκλασματικής ανάλυσης (6.2). Άρα η ανάγνωση των δεδομένων έγινε με την χρήση της βιβλιοθήκης ΙΤΚ και με κατώφλι στην ένταση των εικονοστοιχείων ίσο με $w=0$.

Σε κάθε ασθενή πραγματοποιήθηκαν οι γραφικές αναπαραστάσεις του πολυμορφοκλασματικού φάσματος κάθε σταδίου. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων μελετήθηκε το συνολικό φάσμα των 3 εξετάσεων του κάθε ασθενούς. Συγκριτικά με την καμπύλη της baseline (1^{ης}) εξέτασης, εάν οι καμπύλες της interim ή της late εξέτασης ήταν πάνω ή κάτω από της baseline τότε η εκτίμηση ήταν βελτίωση (πάνω) και επιδείνωση (κάτω). Φυσικά στην περίπτωση που οι ευθείες αλληλοκαλύπτονταν ή ταυτιζόντουσαν η κατάσταση του ασθενούς χαρακτηριζόταν σταθερή.

Στον Πίνακα 6.4, όσον αφορά το πολυμορφοκλασματικό φάσμα (multifractal spectrum) εκτός από την εξαγωγή συμπερασμάτων ποιοτικά σε σχέση με την θέση των καμπυλών, χρησιμοποιήθηκε και ένας μαθηματικός δείκτης που προκύπτει από την μεταβολή του μέσου όρου των γενικευμένων διαστάσεων ΔD (από $q = -10$ έως $q = 10$).

Αρχικά υπολογίστηκε το μέσο άθροισμα από $q = -10$ έως $q = 10$ για κάθε εξέταση ($\overline{D}_A, \overline{D}_B, \overline{D}_C$) και τα αποτελέσματα παρατίθενται στη στήλη *Average Multifractal Spectrum*.

Η διαφορά των μέσων όρων αποτελεί ένα δείκτη εκτίμησης της βελτίωσης ή επιδείνωσης μεταξύ των εξετάσεων και αναφέρθηκε εκτενέστερα στην ενότητα 5.7.3. Στην στήλη *Multifractal Index Difference* αναφέρονται οι τιμές αυτού του δείκτη για την εκτίμηση της κατάστασης των ασθενών, στην interim εξέταση (2^η) σε σχέση με τη baseline (1^η): $\Delta D_{BA} = \overline{D}_B - \overline{D}_A$ και στη late εξέταση (3^η) σε σχέση με τη baseline (1^η) $\Delta D_{CA} = \overline{D}_C - \overline{D}_A$.

Σε κάθε περίπτωση υπάρχει η στήλη *Matching Results* στην οποία αναγράφεται η ταύτιση ή διαφοροποίηση (Yes or No) μεταξύ της πολυμορφοκλασματικής ανάλυσης και της πραγματικής κλινικής κατάστασης.

Στον Πίνακα αναγράφονται επίσης το φύλο και η ηλικία του εκάστοτε ασθενούς.

Πίνακας 6.4: Αποτελέσματα Πολυμορφοκλασματικής Ανάλυσης Ασθενών.

Patient No. Age / Gender	Study	Treatment Response	Average Multifractal Spectrum ($\overline{D}_A, \overline{D}_B, \overline{D}_C$)	Multifractal Index Difference ($\overline{D}_B - \overline{D}_A$), ($\overline{D}_C - \overline{D}_A$)	Matching Results
1 56 / F	Baseline		2.38896		
	Interim	PMD	2.17793	-0.21103	Yes
	Late	PMD	2.45958	0.07062	No
2 48 / F	Baseline		2.31390		
	Interim	SMD	2.28085	-0.03305	Yes
	Late	CMR	2.52334	0.20945	Yes
3 60 / F	Baseline		2.34109		
	Interim	PMR	2.35766	0.01657	Yes
	Late	PMR	2.29507	-0.04602	No
4 52 / M	Baseline		2.47186		
	Interim	SMD	2.46268	-0.00919	Yes
	Late	SMD	2.42758	-0.04428	Yes
5 46 / F	Baseline		2.24843		
	Interim	SMD	2.48504	0.2366	No
	Late	PMD	2.20193	-0.0465	Yes
6 68 / M	Baseline		2.44954		
	Interim	SMD	2.39900	-0.05054	Yes
	Late	PMR	2.25193	-0.19761	No
7 44 / M	Baseline		2.30876		
	Interim	PMR	2.46004	0.15127	Yes
	Late	PMR	2.48444	0.17567	Yes
8 50 / F	Baseline		2.30620		
	Interim	SMD	2.15435	-0.15186	No
	Late	CMR	2.24214	-0.06407	No
9 55 / F	Baseline		2.42499		
	Interim	SMD	2.35279	-0.07221	Yes
	Late	SMD	2.30508	-0.11992	Yes
10 54 / M	Baseline		2.27331		
	Interim	PMR	2.47038	0.19707	Yes
	Late	PMR	2.38443	0.11112	Yes
11 20 / F	Baseline		2.25902		
	Interim	PMD	2.14455	-0.11446	Yes
	Late	PMD	2.23651	-0.02251	Yes
12 84 / F	Baseline		2.24225		
	Interim	SMD	2.24287	0.00063	Yes
	Late	SMD	2.26592	0.02367	Yes

Patient No. Age / Gender	Study	Treatment Response	Average Multifractal Spectrum ($\overline{D_A}, \overline{D_B}, \overline{D_C}$)	Multifractal Index Difference ($\overline{D_B} - \overline{D_A}$), ($\overline{D_C} - \overline{D_A}$)	Matching Results
13 53 / F	Baseline		2.39398		
	Interim	SMD	2.46552	0.07154	Yes
	Late	SMD	2.46049	0.06651	Yes
14 52 / M	Baseline		2.30240		
	Interim	PMR	2.51136	0.20896	Yes
	Late	PMR	2.31036	0.00796	Yes
15 52 / M	Baseline		2.23292		
	Interim	SMD	2.37551	0.14259	No
	Late	SMD	2.25307	0.02015	Yes
16 71 / F	Baseline		2.15512		
	Interim	PMD	2.26096	0.10584	No
	Late	PMD	2.37831	0.22319	No
17 34 / F	Baseline		2.19226		
	Interim	CMR	2.49555	0.30329	Yes
	Late	CMR	2.39041	0.19815	Yes
18 78 / M	Baseline		2.34632		
	Interim	PMD	2.26925	-0.07707	Yes
	Late	PMD	2.41245	0.06614	No
19 59 / M	Baseline		2.26557		
	Interim	PMR	2.48700	0.22143	Yes
	Late	PMR	2.34559	0.08002	Yes
				All	Matching
Follow ups				38	28
Percentage					73.68%

Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 6.4 προκύπτει πως οι γενικευμένες διαστάσεις δίνουν μία καλύτερη εκτίμηση της απόδοσης της ανοσοθεραπείας με ένα ποσοστό ταύτισης **73.68%**. Το ποσοστό αυτό είναι μεγαλύτερο από αυτό που παρείχε η μορφοκλασματική ανάλυση, **71.05%**. Η πολυμορφοκλασματική ανάλυση λαμβάνει ως μέτρηση και την ένταση του χρώματος του pixel (άρα πρόσληψη $^{18}\text{F-FDG}$), σε αντίθεση με την μορφοκλασματική ανάλυση στην οποία προσμετράται αποκλειστικά η ύπαρξη θετικού εικονοστοιχείου και όχι η ένταση του. Αυτός ίσως είναι ένας παράγοντας που οδηγεί σε καλύτερα αποτελέσματα για την πολυμορφοκλασματική ανάλυση σε σχέση με την απλή μορφοκλασματική.

Ακόμη, έγινε και προσπάθεια δημιουργίας ενός δείκτη ο οποίος βασίζεται στις αρνητικές τιμές του δείκτη q , που σχετίζονται με τις πολύ μικρές τιμές συγκέντρωσης (ρ) του ραδιοφαρμάκου που χορηγήθηκε. Στην περίπτωση αυτή υπήρχε μία βελτίωση του ποσοστού από 73.68% σε 76.32%.

6.4 Αποτελέσματα Διάστασης Συσχέτισης – Correlation Dimension

Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται τα αποτελέσματα από την σύγκριση των τιμών της διάστασης συσχέτισης (correlation dimension) στις τρεις εξετάσεις του ασθενούς. Η μείωση της τιμής της θεωρείται πως συμβολίζει επιδείνωση και η αύξηση καλυτέρευση, όπως και στην μορφοκλασματική διάσταση. Σε κάθε εξέταση υπάρχει η στήλη *Matching Results* στην οποία αναγράφεται η ταύτιση ή διαφοροποίηση (Yes or No) μεταξύ της διάστασης συσχέτισης και της πραγματικής κλινικής κατάστασης.

Πίνακας 6.5: Διάσταση συσχέτισης των ασθενών.

Patient No. Age / Gender	Study	Treatment Response	Correlation Dimension	Matching Results
1 56 / F	Baseline		2.31691	
	Interim	PMD	1.99824	Yes
	Late	PMD	2.37802	No
2 48 / F	Baseline		2.29477	
	Interim	SMD	2.27972	Yes
	Late	CMR	2.43972	Yes
3 60 / F	Baseline		2.29908	
	Interim	PMR	2.14794	No
	Late	PMR	2.08117	No
4 52 / M	Baseline		2.4043	
	Interim	SMD	2.38743	Yes
	Late	SMD	2.35212	No
5 46 / F	Baseline		2.22917	
	Interim	SMD	2.3775	No
	Late	PMD	2.2164	Yes
6 68 / M	Baseline		2.39128	
	Interim	SMD	2.36949	Yes
	Late	PMR	2.19975	No
7 44 / M	Baseline		2.256	
	Interim	PMR	2.38732	Yes
	Late	PMR	2.37601	Yes
8 50 / F	Baseline		2.25904	
	Interim	SMD	2.06253	No
	Late	CMR	2.22363	No
9 55 / F	Baseline		2.34307	
	Interim	SMD	2.30921	Yes
	Late	SMD	2.27067	No

Patient No. Age / Gender	Study	Treatment Response	Correlation Dimension	Matching Results
10 54 / M	Baseline		2.20827	
	Interim	PMR	2.40802	Yes
	Late	PMR	2.38984	Yes
11 20 / F	Baseline		2.21365	
	Interim	PMD	2.11782	Yes
	Late	PMD	2.21281	Yes
12 84 / F	Baseline		2.25117	
	Interim	SMD	2.30989	No
	Late	SMD	2.3009	No
13 53 / F	Baseline		2.34755	
	Interim	SMD	2.37916	Yes
	Late	SMD	2.39393	No
14 52 / M	Baseline		2.27294	
	Interim	PMR	2.42272	Yes
	Late	PMR	2.24009	No
15 52 / M	Baseline		2.2241	
	Interim	SMD	2.35636	No
	Late	SMD	2.02599	No
16 71 / F	Baseline		2.12155	
	Interim	PMD	2.23378	No
	Late	PMD	2.22567	No
17 34 / F	Baseline		2.14575	
	Interim	CMR	2.40694	Yes
	Late	CMR	2.29149	Yes
18 78 / M	Baseline		2.28729	
	Interim	PMD	2.22437	Yes
	Late	PMD	2.33844	No
19 59 / M	Baseline		2.24122	
	Interim	PMR	2.29303	Yes
	Late	PMR	2.28293	Yes
			All	Matching
Follow ups			38	20
Percentage				52.63%

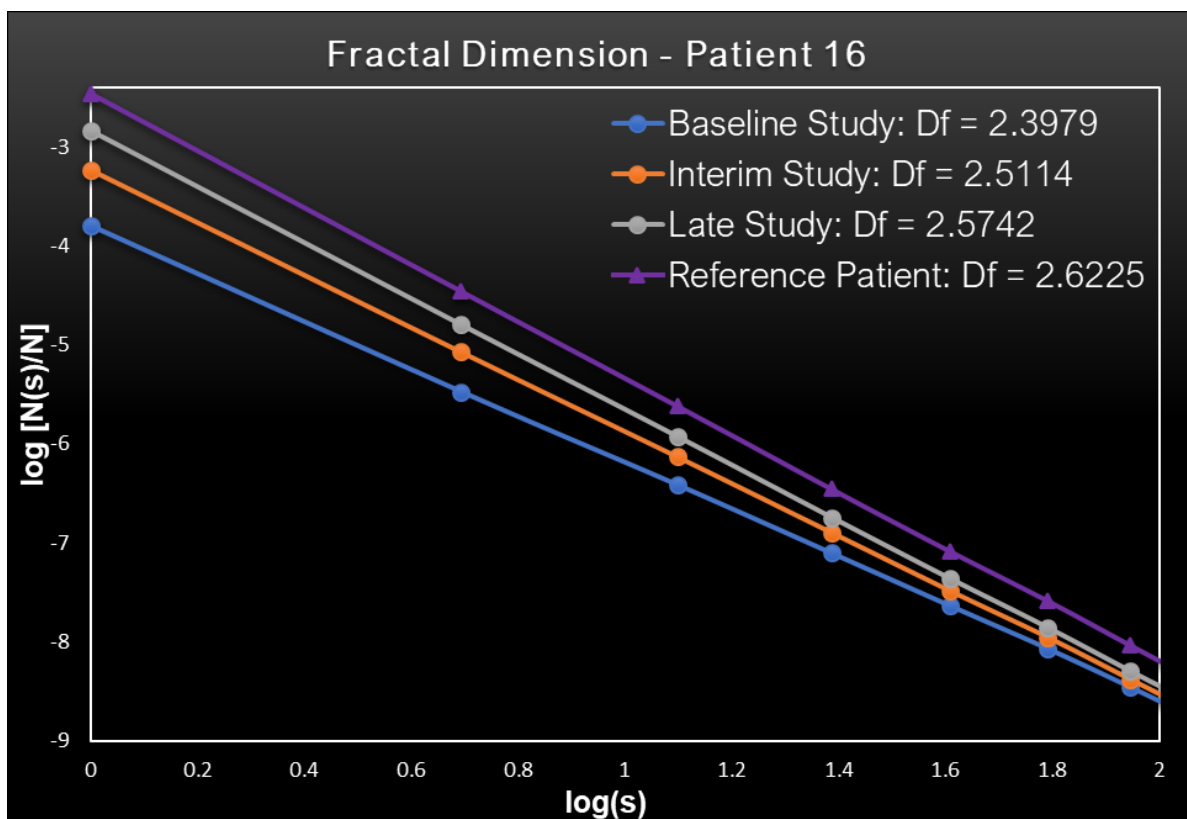
Από τα αποτελέσματα εύρεσης της διάστασης συσχέτισης (correlation dimension) το ποσοστό ταύτισης των τιμών των βιοδεικτών με την κλινική εικόνα δεν ήταν αρκετά υψηλό. Μάλιστα το ποσοστό ταύτισης ήταν χαμηλότερο και από τη χρήση της μορφοκλασματικής διάστασης και των πολυμορφοκλασματικών βιοδεικτών.

6.5 Ειδικές Περιπτώσεις (immune related Adverse Events, irAEs)

6.5.1 Ειδική περίπτωση Patient No.16 με εμφάνιση κολίτιδας (colitis).

Οι ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα κατά τη διάρκεια της ανοσοθεραπείας, μπορεί να εμφανίσουν κάποιες παρενέργειες που είναι αποτέλεσμα της ανοσοθεραπείας, όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 2.2. Μία από τις ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με την ανοσοθεραπεία είναι η κολίτιδα. Εξετάστηκε κατά πόσο η κολίτιδα, δηλαδή η φλεγμονή του παχέος εντέρου, η οποία επηρεάζει την πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου στο σώμα χωρίς να οφείλεται σε μετάσταση, οδηγεί σε λάθος αποτελέσματα ως προς τις τιμές των μορφοκλασματικών δεικτών. Σαν παραδειγματική περίπτωση θα συζητηθεί ο ασθενής Patient_16.

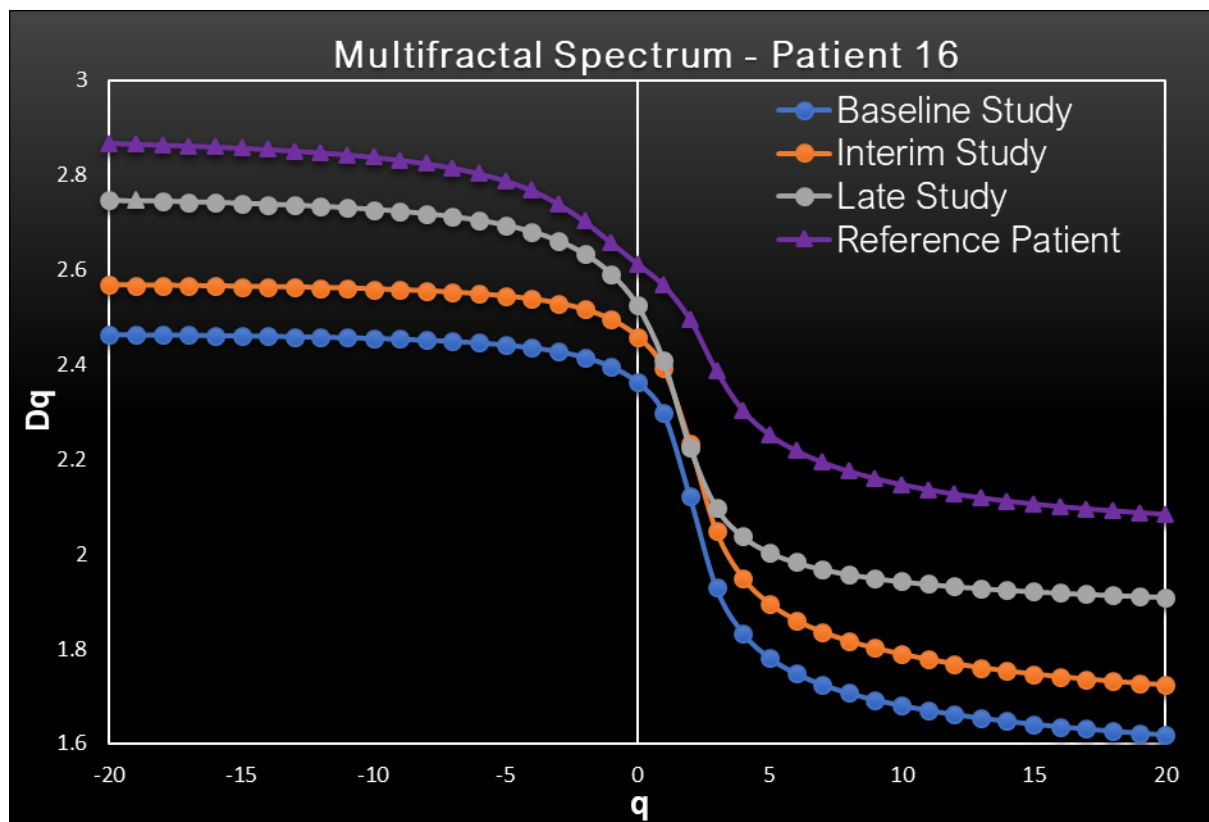
➤ Αποτελέσματα Μορφοκλασματικής Ανάλυσης του Patient_16



Σχήμα 6.9: Ειδική περίπτωση ασθενούς Patient_16 – Μορφοκλασματικές διαστάσεις και σύγκριση με άτομο αναφοράς.

Ο ασθενής με αριθμό 16, εμφανίζει υψηλή συγκέντρωση ^{18}F -FDG στο έντερο και στα τρία στάδια παρακολούθησης του. Η κλινική εικόνα του ασθενούς έχει εκτιμηθεί από τους θεράποντες και έχει χαρακτηριστεί ως PMD (Progressive Metabolic Disease) που σημαίνει ότι η κατάσταση του χειροτερεύει. Αντιθέτως, τα αποτελέσματα της μορφοκλασματικής του ανάλυσης δείχνουν πως ο ασθενής καλυτερεύει αν υπολογιστεί ότι η μορφοκλασματική του διάσταση αυξάνεται από τη baseline εξέταση στην interim αλλά και από το baseline εξέταση στη late ακόμη παραπάνω. Η πρόσληψη ^{18}F -FDG από το έντερο του ασθενούς φαίνεται να δημιουργεί περαιτέρω διασπορά της ^{18}F -FDG κι άρα οδηγούμαστε στο λάθος συμπέρασμα ότι ο ασθενής καλυτερεύει. Έτσι, η παρενέργεια αυτή φαίνεται να επηρεάζει την εκτίμηση της κατανομής του ραδιοφαρμάκου σε όλο το σώμα, δίνοντας λανθασμένα αποτελέσματα της μορφοκλασματικής διάστασης.

➤ **Αποτελέσματα Πολυμορφοκλασματικής Ανάλυσης του Patient_16**



Σχήμα 6.10: Ειδική περίπτωση ασθενούς Patient_16 – Πολυμορφοκλασματικό φάσμα και σύγκριση με άτομο αναφοράς.

Σε αντιστοιχία με τα προηγούμενα αποτελέσματα του ασθενούς 16 για την μορφοκλασματική διάσταση και τα αποτελέσματα της πολυμορφοκλασματικής του ανάλυσης δείχνουν λανθασμένα. Από την υπόθεση ότι αν η καμπύλη του πολυμορφοκλασματικού φάσματος ανεβαίνει μεταξύ των σταδίων τότε ο ασθενής καλυτερεύει, το Σχήμα 6.9 παρουσιάζει τη βελτίωση του ασθενούς, καθώς οι καμπύλες της interim και της late εξέτασης είναι πάνω από την καμπύλη της αρχικής εξέτασης baseline. Συνεπώς, τα συμπεράσματα της ανάλυσης δεν συνάδουν με την πραγματική κλινική εικόνα όπως και στη μορφοκλασματική ανάλυση.

6.5.2 Εξαίρεση όλων των ειδικών περιπτώσεων εμφάνισης κολίτιδας (colitis).

Οι ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα κατά τη διάρκεια της ανοσοθεραπείας, μπορεί να εμφανίσουν άλλες παθήσεις σχετιζόμενες με την ανοσοθεραπεία. Το γεγονός αυτό επηρεάζει σημαντικά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Στις περιπτώσεις που ο ασθενής παρουσιάζει παρενέργειες η ^{18}F -FDG, εκτός από τα σημεία των μεταστάσεων, συγκεντρώνεται επιπλέον και σε σημεία που σχετίζονται και με τις άλλες παθήσεις/παρενέργειες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να προσμετρώνται στους υπολογισμούς λανθασμένα περιοχές μη καρκινικές. Το σφάλμα που προκύπτει στις μετρήσεις θα πρέπει να συνυπολογιστεί και να μελετηθούν οι παθήσεις οι οποίες επιδρούν σημαντικά στην κατανομή της ^{18}F -FDG. Οι ασθενείς στο χρονικό διάστημα της θεραπείας τους ανέπτυξαν παθήσεις όπως η θυροειδίτιδα, η κολίτιδα, η αρθρίτιδα και η δωδεκαδακτυλίτιδα. Σε ορισμένους παρατηρήθηκε υψηλή πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου στο χέρι στο σημείο έγχυσης του ραδιοφαρμάκου ή στο λάρυγγα.

Από όλες τις ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με την ανοσοθεραπεία, φαίνεται ότι κυρίως η κολίτιδα, δηλαδή η φλεγμονή του παχέος εντέρου, επηρεάζει συστηματικά τις τιμές των μορφοκλασματικών δεικτών που αφορούν την κατανομή της ^{18}F -FDG στο σώμα, καθώς παρατηρείται υψηλή συγκέντρωση της ^{18}F -FDG στο έντερο.

Προκειμένου να αξιολογηθεί ο βαθμός με τον οποίο επηρεάζει η πάθηση της κολίτιδας τα αποτελέσματα, εξαιρέθηκαν από αυτά οι εξετάσεις των ασθενών στις οποίες εμφανίστηκε κολίτιδα. Τα ποσοστά επιτυχίας των μεθόδων αυξήθηκαν όταν απομονώθηκαν τα follow up's με κολίτιδα, συνεπώς είναι λογική η υπόθεση πως η πάθηση αυτή προκαλεί σφάλμα στις μετρήσεις.

Πίνακας 6.6: Εξαίρεση των ασθενών με κολίτιδα – Μορφοκλασματικά και Πολυμορφοκλασματικά αποτελέσματα.

Patient No. Age / Gender	Study	Treatment Response	irAEs & false-positives	All		Exceptions		All		Exceptions	
				Df	Matching Results	Df	Matching Results	$(\overline{D}_B - \overline{D}_A)$ $(\overline{D}_C - \overline{D}_A)$	Matching Results	$(\overline{D}_B - \overline{D}_A)$ $(\overline{D}_C - \overline{D}_A)$	Matching Results
1 56 / F	Baseline			2.5464		2.5464					
	Interim	PMD	thyroiditis	2.4585	Yes	2.4585	Yes	-0.21103	Yes	-0.21103	Yes
	Late	PMD	colitis	2.5580	No	2.5580	No	0.07062	No	0.07062	No
2 48 / F	Baseline			2.5233		2.5233					
	Interim	SMD	radiopharmaceutical uptake in right hand	2.5152	Yes	2.5152	Yes	-0.03305	Yes	-0.03305	Yes
	Late	CMR	radiopharmaceutical uptake in the injection site	2.4759	No	2.4759	No	0.20945	Yes	0.20945	Yes
3 60 / F	Baseline			2.5368		2.5368					
	Interim	PMR	radiopharmaceutical uptake in the injection site	2.5567	Yes	2.5567	Yes	0.01657	Yes	0.01657	Yes
	Late	PMR	thyroiditis, colitis, bone marrow activation	2.5266	No	2.5266	No	-0.04602	No	-0.04602	No
4 52 / M	Baseline		muscle uptake	2.5659		2.5659					
	Interim	SMD	arthritis, muscle uptake	2.5427	Yes	2.5427	Yes	-0.00919	Yes	-0.00919	Yes
	Late	SMD	arthritis	2.5432	Yes	2.5432	Yes	-0.04428	Yes	-0.04428	Yes
5 46 / F	Baseline		radiopharmaceutical uptake in the injection site	2.4866		2.4866					
	Interim	SMD	duodenitis, muscle uptake	2.4967	Yes	2.4967	Yes	0.23660	No	0.2366	No
	Late	PMD	duodenitis, colitis	2.4482	Yes	2.4482	Yes	-0.04650	Yes	-0.0465	Yes
6 68 / M	Baseline			2.5192		2.5192					
	Interim	SMD		2.5297	Yes	2.5297	Yes	-0.05054	Yes	-0.05054	Yes
	Late	PMR		2.5031	No	2.5031	No	-0.19761	No	-0.19761	No
7 44 / M	Baseline			2.5421		2.5421					
	Interim	PMR	colitis, bone marrow activation	2.5437	Yes	2.5437	Yes	0.15127	Yes	0.15127	Yes
	Late	PMR	bone marrow activation	2.5624	Yes	2.5624	Yes	0.17567	Yes	0.17567	Yes

Patient No. Age / Gender	Study	Treatment Response	irAEs & false-positives	All		Exceptions		All		Exceptions	
				D _r	Matching Results	D _r	Matching Results	$(\overline{D}_B - \overline{D}_A)$ $(\overline{D}_C - \overline{D}_A)$	Matching Results	$(\overline{D}_B - \overline{D}_A)$ $(\overline{D}_C - \overline{D}_A)$	Matching Results
8 <hr/> 50 / F	Baseline		laryngeal uptake	2.5438		2.5438					
	Interim	SMD	bone marrow activation	2.3993	No	2.3993	No	-0.15186	No	-0.15186	No
	Late	CMR	arthritis, bone marrow activation, radiopharmaceutical uptake in the injection site, muscle uptake	2.4759	No	2.4759	No	-0.06407	No	-0.06407	No
9 <hr/> 55 / F	Baseline		bone marrow activation	2.5235		2.5235					
	Interim	SMD	bone marrow activation	2.5069	Yes	2.5069	Yes	-0.07221	Yes	-0.07221	Yes
	Late	SMD	bone marrow activation	2.5275	Yes	2.5275	Yes	-0.11992	Yes	-0.11992	Yes
10 <hr/> 54 / M	Baseline			2.5342		2.5342					
	Interim	PMR		2.5621	Yes	2.5621	Yes	0.19707	Yes	0.19707	Yes
	Late	PMR		2.5737	Yes	2.5737	Yes	0.11112	Yes	0.11112	Yes
11 <hr/> 20 / F	Baseline		bone marrow activation	2.4993		2.4993					
	Interim	PMD		2.3980	Yes	2.3980	Yes	-0.11446	Yes	-0.11446	Yes
	Late	PMD		2.4740	Yes	2.4740	Yes	-0.02251	Yes	-0.02251	Yes
12 <hr/> 84 / F	Baseline			2.5130		2.5130					
	Interim	SMD		2.4795	No	2.4795	No	0.00063	Yes	0.00063	Yes
	Late	SMD	unspecific muscle uptake in right foot	2.5373	Yes	2.5373	Yes	0.02367	Yes	0.02367	Yes
13 <hr/> 53 / F	Baseline		bone marrow activation	2.6027		2.6027					
	Interim	SMD		2.5963	Yes	2.5963	Yes	0.07154	Yes	0.07154	Yes
	Late	SMD		2.5897	Yes	2.5897	Yes	0.06651	Yes	0.06651	Yes
14 <hr/> 52 / M	Baseline		laryngeal uptake	2.5543		2.5543					
	Interim	PMR	laryngeal uptake	2.5178	No	2.5178	No	0.20896	Yes	0.20896	Yes
	Late	PMR	laryngeal uptake, radiopharmaceutical uptake in the injection site	2.5565	Yes	2.5565	Yes	0.00796	Yes	0.00796	Yes
15 <hr/> 52 / M	Baseline			2.5555		2.5555					
	Interim	SMD		2.6042	No	2.6042	No	0.14259	No	0.14259	No
	Late	SMD	signs of colitis in descending colon	2.5666	Yes	2.5666	Yes	0.02015	Yes	0.02015	Yes

Patient No. Age / Gender	Study	Treatment Response	irAEs & false-positives	All		Exceptions		All		Exceptions	
				Df	Matching Results	Df	Matching Results	$(\overline{D}_B - \overline{D}_A)$ $(\overline{D}_C - \overline{D}_A)$	Matching Results	$(\overline{D}_B - \overline{D}_A)$ $(\overline{D}_C - \overline{D}_A)$	Matching Results
16 71 / F	Baseline		colon uptake	2.3979		2.3979					
	Interim	PMD	colitis, sarcoid-like mediastinal lymphadenopathy	2.5114	No	2.5114	No	0.10584	No	0.10584	No
	Late	PMD	colitis	2.5742	No	2.5742	No	0.22319	No	0.22319	No
17 34 / F	Baseline			2.4727		2.4727					
	Interim	CMR	bone marrow activation, colitis, muscle uptake	2.5179	Yes	2.5179	Yes	0.30329	Yes	0.30329	Yes
	Late	CMR	brown fat activation	2.5154	Yes	2.5154	Yes	0.19815	Yes	0.19815	Yes
18 78 / M	Baseline		radiopharmaceutical uptake in the injection site	2.5411		2.5411					
	Interim	PMD	arthritis hip	2.5234	Yes	2.5234	Yes	-0.07707	Yes	-0.07707	Yes
	Late	PMD		2.5385	Yes	2.5385	Yes	0.06614	No	0.06614	No
19 59 / M	Baseline			2.5488		2.5488					
	Interim	PMR	sarcoid-like mediastinal lymphadenopathy, muscle uptake	2.5720	Yes	2.5720	Yes	0.22143	Yes	0.22143	Yes
	Late	PMR	sarcoid-like mediastinal lymphadenopathy	2.5802	Yes	2.5802	Yes	0.08002	Yes	0.08002	Yes
Follow ups				38	27	31	24	38	28	31	25
Percentage					71.05%		77.42%		73.68%		80.65%

Στον Πίνακα 6.6 έχουν χρωματιστεί με πορτοκαλί χρώμα όλα τα περιστατικά κολίτιδας και οι αντίστοιχες εξετάσεις/στάδια έχουν αφαιρεθεί από τη στατιστική ανάλυση.

Από τα δεδομένα του Πίνακα 6.6 εύκολα προκύπτει το συμπέρασμα πως ο αποκλεισμός των σταδίων στα οποία οι ασθενείς εμφάνισαν κολίτιδα, οδηγεί σε καλύτερα ποσοστά επαλήθευσης των μεθόδων από τα ιατρικά δεδομένα. Ιδιαίτερα, στην μορφοκλασματική ανάλυση το ποσοστό ταύτισης αυξάνεται από 71.05% σε **77.42%** ενώ στην πολυμορφοκλασματική ανάλυση από 73.68% σε **80.65%**.

Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα η κολίτιδα δημιουργεί παθολογική συγκέντρωση ¹⁸F-FDG στο έντερο με αποτέλεσμα να επηρεάζεται το φάσμα των τοπικών συγκεντρώσεων και να λαμβάνουμε λανθασμένα αποτελέσματα στη μορφοκλασματική και πολυμορφοκλασματική ανάλυση. Γενικότερα, και μετά την εξαίρεση της κολίτιδας προκύπτει ακόμη το συμπέρασμα πως το πολυμορφοκλασματικό φάσμα παρέχει καλύτερη εκτίμηση της κατάστασης του ασθενούς μετά την ανοσοθεραπεία σε σχέση με την τιμή της μορφοκλασματικής διάστασης.

7. Συμπεράσματα

Στη μελέτη αυτή αναλύθηκε η αξιοποίηση μορφοκλασματικών παραμέτρων, για την εκτίμηση της πορείας της ανοσοθεραπείας με αναστολείς σημείων ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα. Από την επεξεργασία των ολόσωμων απεικονίσεων PET/CT των ασθενών, από τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές της θεραπείας, μία πριν την έναρξη και δύο κατά τη διάρκεια της, προέκυψαν ορισμένοι μορφοκλασματικοί βιοδείκτες. Οι τιμές των βιοδεικτών τέθηκαν σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές ατόμων αναφοράς, δηλαδή ατόμων που δεν πάσχουν από μεταστατικό μελάνωμα. Ακόμη, τα αποτελέσματα των μετρήσεων αξιολογήθηκαν με κριτήρια τα ιατρικά δεδομένα για την κλινική ανταπόκριση των ασθενών στην πορεία της νόσου και την αξιοπιστία τους ως προς την πρόβλεψη αυτής. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα των μεθόδων επεξεργασίας, προκύπτουν ορισμένα συμπεράσματα για τις μορφοκλασματικές παραμέτρους των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα.

Αρχικά, η μορφοκλασματική διάσταση των ασθενών ήταν στα αναμενόμενα πλαίσια, δηλαδή στο εύρος $2 < D_i < 3$, όπως έχει επισημανθεί και σε προηγούμενη μελέτη [3], και οι τιμές των υγιών ατόμων ήταν επί το πλείστον υψηλότερες από των ασθενών. Η μορφοκλασματική ανάλυση και η πολυμορφοκλασματική ανάλυση εκτιμήθηκαν για τα άτομα αναφοράς (υγείς) και τους ασθενείς και φάνηκε πως η πολυμορφοκλασματική ανάλυση δίνει δείκτες που προβλέπουν καλύτερα τη συμπεριφορά της ανοσοθεραπείας και την κλινική ανταπόκριση των ασθενών. Λογικά, το γεγονός αυτό οφείλεται στον τρόπο υλοποίησης της μεθόδου, καθώς χρησιμοποιούνται οι εντάσεις των εικονοστοιχείων και υπολογίζεται η *συγκέντρωση* της ^{18}F -FDG, σε αντίθεση με την μορφοκλασματική ανάλυση που προσμετρά μόνο την *ύπαρξη ή μη* της ^{18}F -FDG.

Περιορισμοί

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν επίσης τους περιορισμούς που έχει μία μελέτη που περιλαμβάνει τον ανθρώπινο παράγοντα. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα αποτελέσματα δεν ήταν τα αναμενόμενα λόγω ύπαρξης άλλων ασθενειών που σχετίζονται κάποιες παρενέργειες μετά τη χορήγηση της ανοσοθεραπείας (irAE) χωρίς να είναι μεταστάσεις του μελανώματος. Οι παρενέργειες αυτές επηρεάζουν την συνολική κατανομή της ^{18}F -FDG στο σώμα, γεγονός που δυσκολεύει την ακριβή εκτίμηση της ύπαρξης μεταστάσεων σε σημεία υψηλής συγκέντρωσης της. Φυσικά, εκτός από τις παρενέργειες που εμφανίζονται, παρατηρείται φυσιολογική συγκέντρωση ^{18}F -FDG και σε υγιή όργανα του σώματος που τυχάνει να την προσλαμβάνουν σε υψηλά επίπεδα, λόγω των μεταβολικών διαδικασιών που επιτελούν. Είναι κατανοητό λοιπόν πως η κατανομή της σεσημασμένης γλυκόζης δεν οφείλεται μόνο στις κακοήθεις μεταστάσεις του μελανώματος κι άρα αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων και στους υπολογισμούς της μορφοκλασματικής και των γενικευμένων διαστάσεων.

Σε προηγούμενη μελέτη που πραγματοποιήθηκε μορφοκλασματική και πολυμορφοκλασματική ανάλυση σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα προέκυψε πως υπάρχει η δυνατότητα εφαρμογής μορφοκλασματικών βιοδεικτών για την παρακολούθηση της θεραπείας τους [3].

Στην προηγούμενη αυτή μελέτη [3], χρησιμοποιήθηκαν 31 ασθενείς, επομένως το δείγμα ήταν μεγαλύτερο από το δείγμα της παρούσας μελέτης των 19 ασθενών. Οι 31 ασθενείς έλαβαν ανοσοθεραπεία αποκλειστικά με τον αναστολέα της κυτταροτοξικής πρωτεΐνης 4 που σχετίζεται με τα T-λεμφοκύτταρα, CLTA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4), ipilimumab, το οποίο ήταν το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που χορηγήθηκε σαν ανοσοθεραπεία σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα [3]. Οι αναστολείς της πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1, PD-1 (programmed cell death protein 1), που εφαρμόστηκαν αργότερα σαν ανοσοθεραπεία, φαίνεται να δίνουν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τα πρώτα μονοκλωνικά αντισώματα και οι ασθενείς επιβιώνουν για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα [13]. Οι 19 ασθενείς οι οποίοι συμμετέχουν στην παρούσα μελέτη έχουν λάβει ανοσοθεραπεία, είτε μονοθεραπεία με PD-1 (nivolumab ή pembrolizumab) είτε συνδυασμό ipilimumab και nivolumab.

Στην έρευνα των 31 ασθενών που δημοσιεύθηκε το 2016, η μορφοκλασματική και πολυμορφοκλασματική ανάλυση έδιναν σωστή πρόβλεψη της κατάστασης των ασθενών για ένα ποσοστό 83.3%, δηλαδή για 20 στους 24 ασθενείς τα αποτελέσματα συμφωνούσαν με το ιατρικό πόρισμα της κλινικής ανταπόκρισης στην ανοσοθεραπεία. Οι υπόλοιποι 7 από τους 31 ασθενείς δεν εμφάνισαν συμβατά αποτελέσματα με την κλινική εκτίμηση, καθώς παρουσίαζαν παρενέργειες και ασθένειες που δεν σχετίζονταν με το μεταστατικό μελάνωμα. Οι παρενέργειες αυτές επηρέαζαν την κατανομή της ^{18}F -FDG και αλλοίωναν τα αποτελέσματα. Μία από αυτές ήταν η εμφάνιση κολίτιδας η οποία προκαλούσε σφάλμα στους υπολογισμούς [3].

Αντίστοιχα, στην παρούσα μελέτη των 19 ασθενών, η μορφοκλασματική και πολυμορφοκλασματική ανάλυση παρέχει αποτελέσματα που ταυτίζονται κατά ένα μεγάλο ποσοστό με την κλινική ανταπόκριση των ασθενών. Στο σύνολο των ασθενών, χωρίς την εξαίρεση των παρενεργειών, η μορφοκλασματική και πολυμορφοκλασματική ανάλυση δίνουν συμβατά αποτελέσματα για το 71.05% των εξετάσεων των ασθενών. Βέβαια, στο δείγμα των 19 ασθενών υπήρχε συχνή εμφάνιση παθήσεων που δεν σχετίζονταν με το μεταστατικό μελάνωμα (15 στους 19 ασθενείς), γεγονός που πιθανώς επηρέασε την κατανομή της ^{18}F -FDG και άρα τις τιμές των μορφοκλασματικών παραμέτρων. Για αυτό το σκοπό, όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 6.5, αφαιρέθηκαν οι εξετάσεις των ασθενών στις οποίες εμφανίστηκε κολίτιδα, μία εκ των παρενεργειών, προκειμένου να εξακριβωθεί αν όντως αυτή η πάθηση επηρεάζει τα αποτελέσματα, όπως είχε φανεί στην έρευνα του 2016. Πράγματι, με την εξαίρεση αυτών των ειδικών περιπτώσεων το ποσοστό ταύτισης των μεθόδων με την κλινική εικόνα, ανέβηκε από το 71.05% στο **77.42%** για την μορφοκλασματική ανάλυση και από το 73.68% στο **80.65%** για την πολυμορφοκλασματική ανάλυση.

Τα ποσοστά συμβατότητας των μεθόδων με την ιατρική εικόνα για τις δύο έρευνες είναι πολύ κοντινά: 83.3% στην έρευνα του 2016 και 80.65% για την πολυμορφοκλασματική ανάλυση στην παρούσα έρευνα. Φυσικά πρέπει να ληφθεί υπόψιν πως τα δείγματα των ασθενών που μελετήθηκαν στις δύο έρευνες ήταν διαφορετικά ως προς: τη χορηγούμενη θεραπεία, το πλήθος των ασθενών και την ύπαρξη παρενεργειών στους ασθενείς.

Τα κοινά συμπεράσματα των δύο ερευνών είναι:

- Οι μορφοκλασματικοί βιοδείκτες φαίνεται να φέρνουν θετικά αποτελέσματα για την εκτίμηση της κατάστασης του μεταστατικού μελανώματος ασθενών που λαμβάνουν ανοσοθεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου της ανοσοεπιτήρησης.
- Από τα αποτελέσματα των τιμών των μορφοκλασματικών βιοδεικτών προκύπτει πως: η αύξηση της μορφοκλασματικής διάστασης σχετίζεται με βελτίωση της πορείας των ασθενών, η σταθερή τιμή της συμφωνεί με σταθερότητα της ασθένειας και αντίστοιχα η μείωση της με επιδείνωση.
- Η ύπαρξη παρενεργειών σχετιζόμενων με την ανοσοθεραπεία φαίνεται να επηρεάζουν την κατανομή της ^{18}F -FDG και άρα τις τιμές των μορφοκλασματικών διαστάσεων.
- Τα άτομα που δεν πάσχουν από μεταστατικό μελάνωμα εμφανίζουν συνήθως υψηλότερες τιμές μορφοκλασματικών παραμέτρων από τους ασθενείς με μελάνωμα.

Μελλοντικές Προεκτάσεις

Μελλοντικές προεκτάσεις των ερευνών αυτών, μπορούν να αποτελέσουν οι εξελίξεις των αλγορίθμων επεξεργασίας και η ανάπτυξη μίας μεθόδου η οποία θα αναγνωρίζει τα φυσιολογικά όργανα με αυξημένη πρόσληψη της ^{18}F -FDG, καθώς και των παρενεργειών, και θα τα αποκλείει. Με αυτόν τον τρόπο θα προσμετρώνται αποκλειστικά οι καρκινικές περιοχές και θα είναι ακριβέστερος ο εντοπισμός τους.

Η εφαρμογή μεθόδων μορφοκλασματικής ανάλυσης για την εκτίμηση της κατανομής της ^{18}F -FDG σε ένα μεγάλο πλήθος ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα, ίσως οδηγήσει στην ανάπτυξη χρησιμων εργαλείων που θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ευρέως για την διάγνωση, πρόγνωση και παρακολούθηση της ασθένειας. Ενδιαφέρον θα έχει ακόμη, μια ολιστική προσέγγιση της ανάλυσης και σύγκρισης εικόνων με διάφορες μεθόδους, όπως texture analysis και φαρμακοκινητικές αναλύσεις που με τη βοήθεια της τεχνητής νοημοσύνης θα μπορούσαν να αυξήσουν την ακρίβεια της πρόγνωσης του θεραπευτικού αποτελέσματος.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στο παράρτημα αυτό παρατίθενται οι αλγόριθμοι υλοποίησης των αναλύσεων σε γλώσσα C++.

Datatypes.h

```
typedef int InputPixelType;
typedef unsigned char OutputPixelType;
typedef itk::Image<InputPixelType,3> InputImageType;
typedef itk::Image<OutputPixelType,3> OutputImageType;
```

Loader.h

```
class Loader
{
public:
    Loader(char* path);
    OutputImageType::Pointer GetImage();
private:
    char* _path;
    OutputImageType::Pointer image_3d;
    void load();
};
```

Loader.cpp

```
Loader::Loader(char* path)
{
    _path = path;
    load();
}

OutputImageType::Pointer Loader::GetImage()
{
    return image_3d;
}

void Loader::load()
{
    std::cout << "Loading \"" << _path << "\"... ";

    typedef itk::ImageSeriesReader< InputImageType > ReaderType;
    itk::GDCMImageIO::Pointer dicomIO = itk::GDCMImageIO::New();

    // Get the DICOM filenames from the directory
    itk::GDCMSeriesFileNames::Pointer nameGenerator =
itk::GDCMSeriesFileNames::New();
    nameGenerator->SetDirectory( _path );
```

```

try
{
    typedef std::vector<std::string> seriesIdContainer;
    const seriesIdContainer & seriesUID = nameGenerator->GetSeriesUIDs();
    seriesIdContainer::const_iterator seriesItr = seriesUID.begin();
    seriesIdContainer::const_iterator seriesEnd = seriesUID.end();

    while( seriesItr != seriesEnd )
    {
        ++seriesItr;
    }
    std::cout << std::endl << std::endl;
    std::cout << "Now reading series: " << std::endl << std::endl;

    typedef std::vector<std::string> fileNamesContainer;
    fileNamesContainer fileNames;

    fileNames = nameGenerator->GetInputFileNames();

    ReaderType::Pointer reader = ReaderType::New();
    reader->SetFileNames( fileNames );
    reader->SetImageIO( dicomIO );
    //Reads all DICOM files of the series.

    using RescaleType = itk::RescaleIntensityImageFilter<InputImageType,
InputImageType>;
    RescaleType::Pointer rescale = RescaleType::New();
    using FilterType = itk::CastImageFilter<InputImageType, OutputImageType>;
    FilterType::Pointer filter = FilterType::New();

    try
    {
        reader->Update();
        rescale->SetInput(reader->GetOutput());
        rescale->SetOutputMinimum(0);
        rescale->SetOutputMaximum(itk::NumericTraits<OutputPixelType>::max());
        rescale->Update();

        filter->SetInput(rescale->GetOutput());
        filter->Update();
        //Rescaling and filtering pixel type to 8-bit type (unsigned char).
    }

    catch (itk::ExceptionObject &ex)
    {
        std::cout << ex << std::endl;
    }

    // Itk image final 3D object
    image_3d = filter->GetOutput();

    std::cout << "Done!" << std::endl;
}

catch (itk::ExceptionObject &ex)

```

```

    {
        std::cout << ex;
    }
}

```

Box.h

```

class Box
{
public:
    OutputImageType::Pointer ref;
    OutputImageType::IndexType ind;
    int xsize;
    int ysize;
    int zsize;
    int*** pixels;

    // Member functions declaration
    void setArrayItk(OutputImageType::Pointer out_image, OutputImageType::IndexType
xyzindex);
    void multifractal();
    void boxCountingItk();
    void allocate3d(int volume);
    void setArrayTxt(std::string file,int position);
    void boxCountingTxt(int var);
};

```

Box.cpp

1) Itk method

```

using namespace std;

#define LOOPS 50
#define XSIZE 400
#define YSIZE 400

void Box::setArrayItk( OutputImageType::Pointer out_image,
OutputImageType::IndexType xyzindex)
{
    ref=out_image;
    ind=xyzindex;

    xsize = ref->GetLargestPossibleRegion().GetSize()[0];
    ysize = ref->GetLargestPossibleRegion().GetSize()[1];
    zsize = ref->GetLargestPossibleRegion().GetSize()[2];

    int count=0;

    pixels = new int**[xsize]; //CREATING 3D ARRAY

    for (int i = 0; i < xsize; i++)
    {

```

```

pixels[i] = new int*[ysize];
for (int j = 0; j < ysize; j++)
{
    pixels[i][j] = new int[zsize];
}
}

//Get the 3D array of the pixels' value 0-255.
for (int z=0; z<zsize; z++)
{
    ind[2] = z;

    for (int y=0; y<ysize; y++)
    {
        ind[1] = y;

        for (int x=0; x<xsize; x++)
        {
            ind[0] = x;
            pixels[x][y][z] = ref->GetPixel(ind);
            ++count;
        }
    }
}

std::cout << count << endl;

std::cout << endl;
}

void Box::boxCountingItk()
{
    ofstream outfile1,outfile2,outfile3;
    outfile1.open("p1.txt");
    outfile2.open("norm-p1.txt");
    outfile3.open("log-p1.txt");

    int box_size;
    int *ncount = new int[LOOPS];
    int x_box,y_box,z_box;
    int number=0;
    int allboxes=0;
    int full=0;
    int boxes=0;
    int summary=0;
    int factor=0;

    int threshold=0;
    cout << "Thres: " << threshold << endl;
    double norm[LOOPS];

    for(box_size=1; box_size < LOOPS; ++box_size)
    {
        x_box = xsize / box_size;

```

```

y_box = ysize/ box_size;
z_box = zsize / box_size;
allboxes=x_box*y_box*z_box;

std::cout<< "AllBoxes: "<< allboxes << endl;
cout << x_box << "|" << y_box << "|" << z_box <<endl;
ncount[box_size]=0;
boxes=0;
summary=0;
for(int k = 0; k < z_box; ++k)
{
    for (int j = 0; j < y_box ; ++j)
    {
        for (int i = 0; i < x_box; ++i)
        {
            //For each box the fuction checks how many pixel values are greater
than the threshold.
            number=0;
            full=0;
            ++boxes;

            for (int k1 = k*box_size; k1 < (k+1)*box_size; ++k1)
            {
                for (int j1 = j*box_size; j1 < (j+1)*box_size; ++j1)
                {
                    for (int i1 = i*box_size; i1 < (i+1)*box_size; ++i1)
                    {
                        number=pixels[i1][j1][k1];
                        if (number>threshold)
                        {
                            ++full;
                            //If at least one pixel is above the threshold in this box, the
box is considered full.
                        }
                    }
                }
            }

            if (full>0)
            {
                ++ncount[box_size];
                //Counts how many boxes are considered full.
            }
            summary=summary+full;
        }
    }
}

cout << "Summary: "<< summary << endl;

factor=allboxes*box_size*box_size*box_size;
norm[box_size]=ncount[box_size]/(double)factor;

cout << endl;
cout << box_size << " Boxes: " << ncount[box_size]<<" | Normalized: " <<

```



```
norm[box_size] << endl << endl;

    outfile1 << box_size << " " << ncount[box_size] << endl;
    outfile2 << box_size << " " << norm[box_size] << endl;
    outfile3 << log(box_size) << " " << log(norm[box_size]) << endl;
}

outfile1.close();
outfile2.close();
outfile3.close();

for (int i = 0; i < xsize; i++)
{
    for (int j = 0; j < ysize; j++)
    {
        delete[] pixels[i][j];
    }

    delete[] pixels[i];
}

delete[] pixels;

std::cout << std::endl;
}
```

2) Txt method (text images)

```
void Box::allocate3d(int volume)
{
    int vol;
    vol=volume;

    pixels= new int**[XSIZE]; //CREATING 3D ARRAY

    for (int i = 0; i < XSIZE; i++)
    {
        pixels[i] = new int*[YSIZE];
        for (int j = 0; j < YSIZE; j++)
        {
            pixels[i][j] = new int[vol];
        }
    }
}

void Box::setArrayTxt(std::string file,int position)
{
    ifstream infile;
    infile.open(file);
    int z;
    int count=0;
    int pix[XSIZE][YSIZE];
    //Get the 3D array of the pixels' value 0-255.
    z=position;
    for (int i = 0; i < XSIZE; ++i)
    {
        for (int j = 0; j < YSIZE ; ++j)
        {
            if(infile.good())
            {
                infile >> pix[i][j];
            }
            if (!(infile))
            {
                cerr << "Unexpected end of file\n" << endl;
                exit(1); // call system to stop
            }
            pixels[i][j][z]=pix[i][j];
        }

        ++count;
    }
}

void Box::boxCountingTxt(int var)
```

3) Multifractal Method

```
void Box::multifractal()
{
    ofstream outfile1,outfile2,outfile3,outfile4;
    outfile1.open("counter.txt");
    outfile2.open("norm.txt");
    outfile3.open("summary.txt");
    outfile4.open("multifractal-p1.txt");

    int box_size;
    int *ncount = new int[LOOPS];
    int x_box,y_box,z_box;
    int number=0;
    int allboxes=0;
    int boxes=0;
    long long int summary=0;
    int a=0;
    long double cube_size=0;
    long double *pi;
    long double sum_pi=0;
    long double Dq=0;
    double q;

    int threshold=0;
    cout << "Thres: " << threshold << endl;
    double norm[LOOPS];

    box_size=1;

    cube_size=((1/(double) (xsize))+1/(double) (ysize))+1/(double) zsize)/3;

    x_box = xsize / box_size;
    y_box = ysize / box_size;
    z_box = zsize / box_size;
    allboxes=x_box*y_box*z_box;

    pi= new long double[allboxes];

    for (int b=1 ; b <= allboxes ; b++)
    {
        pi[b]=0;
    }
    a=1;

    std::cout<< "AllBoxes: "<< allboxes << endl;
    cout << x_box << "|" << y_box << "|" << z_box << " M.O="<< cube_size <<
endl;

    ncount[box_size]=0;
    boxes=0;
    summary=0;
    for(int k = 0; k < z_box; ++k)
```

```

{
  for (int j = 0; j < y_box ; ++j)
  {
    for (int i = 0; i < x_box; ++i)
    {
      number=0;
      ++boxes;

      for (int k1 = k*box_size; k1 < (k+1)*box_size; ++k1)
      {
        for (int j1 = j*box_size; j1 < (j+1)*box_size; ++j1)
        {
          for (int i1 = i*box_size; i1 < (i+1)*box_size; ++i1)
          {
            number=pixels[i1][j1][k1];
            if (number>threshold)
            {
              pi[a]=(long double)number; //1.save pixel_density to pi
              summary=summary+number; //2.save total density
              a++;
            }
          }
        }
      }
    }
  }

  norm[box_size]=ncount[box_size]/(double)allboxes;
  norm[box_size]=norm[box_size]/(double) (box_size*box_size*box_size);

  for (int k=1 ; k<a; k++)
  {
    pi[k]=(long double)pi[k]/(double)summary; //3.calculate pi
  }

  cout << "Summary: " << summary << endl;
  for (q=-20; q <=20; q++)
  {
    sum_pi=0;
    Dq=0;

    if(q!=1)
    {
      for(int count = 1; count <a; count++)
      {
        sum_pi=sum_pi+pow(pi[count],q);
      }

      Dq = (1/(double) (q-1))*(1/(double)log(cube_size))*(log(sum_pi));
      cout << "for q= " << q << " Dq= " << Dq << endl;
      outfile4 << q << " " << Dq << endl;
    }
    else
    {

```

```

sum_pi=0;
for( int count =1; count < a; count ++)
{
    sum_pi=sum_pi+(pi[count]*log(pi[count]));
}
Dq = (1/(double)log(cube_size))*sum_pi;
cout << "for q= " << q << " Dq= " << Dq << endl;
outfile4 << q << " " << Dq << endl;
}
}

cout << endl;

outfile1 << box_size << " " << ncount[box_size] << endl;
outfile2 << box_size << " " << norm[box_size] << endl;
outfile3 << box_size << " " << summary << endl;

delete [] pi;

outfile1.close();
outfile2.close();
outfile3.close();
outfile4.close();

for (int i = 0; i < xsize; i++)
{
    for (int j = 0; j < ysize; j++)
    {
        delete[] pixels[i][j];
    }

    delete[] pixels[i];
}

delete[] pixels;

std::cout << std::endl;
}

```

Main.cpp

```
using namespace std;

int main(int argc, char* argv[])
{
    // Too few arguments!
    if (argc < 3)
    {
        std::cerr << "Usage: " << argv[0] << " DicomDirectory " << "1-3 for method"
<< std::endl;
        return EXIT_FAILURE;
    }

    int method = stoi(argv[2]);
    Box boxObj;

    // ITK method
    if (method == 1)
    {
        Loader* image_loader = new Loader(argv[1]);

        OutputImageType::Pointer out_image = image_loader->GetImage();
        //Gets the size of the image.
        OutputImageType::IndexType index;

        boxObj.setArrayItk(out_image,index);
        //Sets 3D array which contains all the pixel values.
        boxObj.boxCountingItk();
        //Applies box counting on the 3D array.
    }
    // TXT method
    else if (method == 2)
    {
        std::vector<string> v;
        DIR *dp;
        struct dirent *dirp;
        int size=0;
        string dir = argv[1];
        dp = opendir( dir.c_str() ); //opens directory
        if (dp == NULL)
        {
            cout << "Error(" << errno << ") opening " << dir << endl;
            return errno;
        }
        while ((dirp = readdir( dp )) != NULL)
        {
            if ( !strcmp(dirp->d_name, ".") || !strcmp(dirp->d_name, "..") )
            {
                ;// do nothing
            }
            else
            {
                v.push_back(dirp->d_name);
            }
            // If the file is a directory (or is in some way invalid) we'll skip it
        }
    }
}
```

```

closedir( dp );
sort( v.begin(), v.end() );
size=v.size();
boxObj.allocate3d(size);

for (int z = 0; z < size; z++)
{
    boxObj.setArrayTxt(v[z],z);
    //Sets 3D array by saving the pixel values of every file v[z].
}

boxObj.boxCountingTxt(size);
//Applies box counting on the 3D array.
}
// Multifractal
else if (method == 3)
{
    Loader* image_loader = new Loader(argv[1]);

    OutputImageType::Pointer out_image = image_loader->GetImage();

    OutputImageType::IndexType index;

    boxObj.setArrayItk(out_image,index);
    boxObj.multifractal();
    //Applies multifractal analysis on the 3D array.
}
else
{
    std::cerr << "Values must be between 1 and 3!" << endl;
}
return 0;
}

```

Βιβλιογραφία

- [1] C. Sachpekidis, J. C. Hassel, A. Kopp-Schneider, U. Haberkorn and A. Dimitrakopoulou-Strauss, "Quantitative Dynamic 18F-FDG PET/CT in Survival Prediction of Metastatic Melanoma under PD-1 Inhibitors," *Cancers*, vol. 13, no. 5, p. 1019, 2021.
- [2] B. J. West, *Fractal physiology and chaos in medicine (Studies of Nonlinear Phenomena in Life Science-Vol.1)*, Singapore: World Scientific Publishing, 1990.
- [3] C.-M. Breki, A. Dimitrakopoulou-Strauss, J. Hassel, T. Theoharis, C. Sachpekidis, L. Pan and A. Provata, "Fractal and multifractal analysis of PET/CT images of metastatic melanoma before and after treatment with ipilimumab," *ENJMMI Research*, vol. 6, p. 61, 2016.
- [4] C. Sachpekidis and A. Dimitrakopoulou-Strauss, "Melanoma: 18F-FDG PET/CT for Response Assessment of Melanoma Following Immunotherapy," in *Atlas of Response to Immunotherapy*, F. S. Lopci E., Ed., Cham, Springer International Publishing, 2020, p. 55–65.
- [5] O. Michielin, A. van Akkooi, P. Ascierto and R. Dummer, "Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up," *Annals of Oncology*, vol. 30, no. 12, pp. 1884-1901, 2019.
- [6] J. E. Gershenwald, D. L. Morton, J. F. Thompson, J. M. Kirkwood, S. Soong, C. M. Balch, A. M. Eggermont, V. K. Sondak, M. Johnson and C. Warneke, "Staging and prognostic factors for stage IV melanoma: Initial results of an American Joint Committee on Cancer (AJCC) international evidence-based assessment of 4,895 melanoma patients," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 26, no. 15_suppl, pp. 9035-9035, 2008.
- [7] C. Sachpekidis, L. Larribere, L. Pan, U. Haberkorn, A. Dimitrakopoulou-Strauss and J. C. Hassel, "Predictive value of early 18F-FDG PET/CT studies for treatment response evaluation to ipilimumab in metastatic melanoma: preliminary results of an ongoing study," *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, vol. 42, no. 3, pp. 386-396, 2015.
- [8] H. C. Steinert, "PET and PET/CT of Malignant Melanoma," in *Skin Cancer - A World-Wide Perspective*, R. Dummer, M. R. Pittelkow, K. Iwatsuki, A. Green and N. M. Elwan, Eds., Springer Berlin Heidelberg, 2011, pp. 379-390.
- [9] J. Steininger, F. F. Gellrich, A. Schulz, D. Westphal, S. Beissert and F. Meier, "Systemic Therapy of Metastatic Melanoma: On the Road to Cure," *Cancers*, vol. 13, no. 6, p. 1430, 2021.
- [10] B. W. Stewart and P. Kleihues, Eds., *World Cancer Report*, Lyon: IARC Press, 2003.
- [11] "Reprinted from "Melanoma Staging", by BioRender, December 2020, retrieved from <https://app.biorender.com/biorender-templates/t-5fc92f4c030bd3328427084a-melanoma-staging>, Copyright 2021 by BioRender," [Online].
- [12] A. Irvani and R. J. Hicks, "Imaging the Cancer Immune Environment and Its Response to Pharmacologic Intervention, Part 1: The Role of 18F-FDG PET/CT," *J Nucl Med*, vol. 61, no. 7, pp. 943-950, 2020.
- [13] A. Dimitrakopoulou-Strauss, "Monitoring of patients with metastatic melanoma treated with immune checkpoint inhibitors using PET–CT," *Cancer Immunol Immunother*, vol. 68, no. 5, pp. 813-822, 2019.
- [14] C. Sachpekidis, A. Kopp-Schneider, L. Pan, D. Papamichail, U. Haberkorn, J. C. Hassel and A. Dimitrakopoulou-Strauss, "Interim [18F]FDG PET/CT can predict response to anti-PD-1 treatment in metastatic melanoma," *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, vol. 48, no. 6, pp. 1932-1943, 2021.
- [15] K. Ito, R. Teng, H. Schöder, J. L. Humm, A. Ni, L. Michaud, R. Nakajima, R. Yamashita, J. D. Wolchok and W. A. Weber, "18F-FDG PET/CT for Monitoring of Ipilimumab Therapy in Patients with Metastatic Melanoma," *J Nucl Med*, vol. 60, no. 3, pp. 335-341, 2019.
- [16] H. Lee, S. Lee and Y.-S. Heo, "Molecular Interactions of Antibody Drugs Targeting PD-1, PD-L1, and CTLA-4 in Immuno-Oncology," *Molecules*, vol. 24, no. 6, p. 1190, 2019.

- [17] P. Guermonprez, J. Valladeau, L. Zitvogel, C. Théry and A. S., "Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells," *Annu Rev Immunol*, vol. 20, pp. 621-67, 2002.
- [18] H. Lee, S. Lee and Y.-S. Heo, "Molecular Interactions of Antibody Drugs Targeting PD-1, PD-L1, and CTLA-4 in Immuno-Oncology," *Molecules*, vol. 24, no. 6, p. 1190, 2019.
- [19] Cancer Biology, "How PD-1 abrogates the anti-tumor immune response," [Online]. Available: <http://blogs.shu.edu/cancer/2016/11/09/how-pd-1-abrogates-the-anti-tumor-immune-response/>. [Accessed June 2021].
- [20] P. G. Kluetz, C. C. Meltzer, V. L. Villemagne, P. E. Kinahan, S. Chander, M. A. Martinelli and D. W. Townsend, "Combined PET/CT Imaging in Oncology: Impact on Patient Management," *Clinical Positron Imaging*, vol. 3, no. 6, pp. 223-230, 2000.
- [21] A. Dimitrakopoulou-Strauss, "PET-based molecular imaging in personalized oncology: potential of the assessment of therapeutic outcome," *Future Oncology*, vol. 11, no. 7, pp. 1083-1091, 2015.
- [22] D. Koutsouris, K. Nikita and S. Pavlopoulos, Medical Imaging Systems, (in Greek), Tziolas Scientific Editions, 2004.
- [23] J. W. Clark, M. R. Neuman, W. H. Olson, R. A. Peura, F. P. Primiano, M. P. Sideband, J. G. Webster and L. A. Wheeler, Medical instrumentation: Application and design (Translated In Greek from 3rd Edition), J. G. Webster, Ed., ELLIN Publications, 2004.
- [24] S. S. Gambhir, "Molecular imaging of cancer with positron emission tomography," *Nat Rev Cancer*, vol. 2, no. 9, pp. 683-693, 2002.
- [25] L. Mansi, S. Kitson, V. Cuccurullo and A. Ciarmiello, "Basic Premises to Molecular Imaging and Radionuclide Therapy – Part 1," *J Diagn Imaging Ther*, vol. 1, no. 1, pp. 137-156, 2014.
- [26] M. E. Phelps, "Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 97, no. 16, pp. 9226-9233, 2000.
- [27] C. Sachpekidis, "Dynamic 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/CT in hibernoma: Enhanced tracer uptake mimicking liposarcoma," *WJR*, vol. 5, no. 12, pp. 498-502, 2013.
- [28] K. Facey, I. Bradbury, G. Laking and E. Payne, "Overview of the clinical effectiveness of positron emission tomography imaging in selected cancers," *Health Technol Assess*, vol. 11, no. 44, 2007.
- [29] W. D. Holder, R. L. White, J. H. Zuger, E. J. Easton and F. L. Greene, "Effectiveness of Positron Emission Tomography for the Detection of Melanoma Metastases:," *Annals of Surgery*, vol. 227, no. 5, pp. 764-771, 1998.
- [30] "PETCT Scan," [Online]. Available: <https://www.parksidehospital.co.uk/services/diagnostic-imaging/pet-ct-scan/>. [Accessed June 2021].
- [31] T. Beyer, D. W. Townsend, T. Brun, P. E. Kinahan, M. Charron, R. Roddy, J. Jerin, J. Young, L. Byars and R. Nutt, "A Combined PET/CT Scanner for Clinical Oncology," *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 41, no. 8, pp. 1369-1379, 2000.
- [32] A. Iravani, M. M. Osman, A. M. Weppeler, R. Wallace, A. Galligan, A. Lasocki, M. O. Hunter, T. Akhurst, M. S. Hofman, P. K. H. Lau, D. Kee, G. Au-Yeung, S. Sandhu and R. J. Hicks, "FDG PET/CT for tumoral and systemic immune response monitoring of advanced melanoma during first-line combination ipilimumab and nivolumab treatment," *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, vol. 47, no. 12, pp. 2776-2786, 2020.
- [33] A. Dimitrakopoulou-Strauss, L. Pan and L. G. Strauss, "Quantitative approaches of dynamic FDG-PET and PET/CT studies (dPET/CT) for the evaluation of oncological patients," *Cancer Imaging*, vol. 12, no. 1, pp. 283-289, 2012.
- [34] NEMA PS3 / ISO 12052,, "Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM)," National Electrical Manufacturers Association, Rosslyn, VA, USA, [Online]. Available: <https://www.dicomstandard.org/>. [Accessed June 2021].

- [35] O. S. Pianykh, "Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM): A Practical Introduction and Survival Guide," Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- [36] A. Provata, "Complex Systems- Fractals: Lecture notes," NCSR Demokritos, 2021.
- [37] A. Bountis, in *The Wonderful World of Fractals (in Greek)*, Leader Books, 1st edition, 2004.
- [38] Wikipedia Contributors, "Fractal," [Online]. Available: <https://en.wikipedia.org/wiki/Fractal>. [Accessed June 2021].
- [39] Wolfgang Beyer with program Ultra Fractal 3. - Own work, CC BY-SA 3.0, "Partial view of the Mandelbrot set," [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=322028>. [Accessed June 2021].
- [40] Wolfgang Beyer with program Ultra Fractal 3. - Own work, CC BY-SA 3.0, "The Mandelbrot set," [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=321973>. [Accessed June 2021].
- [41] C.-M. Breki, "Thesis: Fractal and Multifractal Analysis of PET images of patients with metastatic melanoma," *National and Kapodistrian University of Athens, Department of Informatics & Telecommunications*, 2015.
- [42] H. Roumelioti, "Master's thesis: Introducton to Julia and Mandelbrot Sets.," *University of Athens, Department of Physics*, 2004.
- [43] Chris 73 / Wikimedia Commons, CC BY-SA 3.0, "Nautilus shell cut in half," [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=19711>. [Accessed June 2021].
- [44] Charles Schmitt - Own work, CC BY-SA 4.0, "Snowflake," [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=44338386>. [Accessed June 2021].
- [45] Just chaos CC BY 2.0, "Aloe Plant," [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4208730>. [Accessed June 2021].
- [46] Ivar Leidus - Own work, CC BY-SA 4.0, "Romanesco broccoli," [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=100133434>. [Accessed June 2021].
- [47] P. Katsaloulis, A. Ghosh, A. C. Philippe, A. Provata and R. Deriche, "Fractality in the neuron axonal topography of the human brain based on 3-D diffusion MRI," *Eur. Phys. J. B*, vol. 85, no. 5, p. 150, 2012.
- [48] "Fractals in Physiology," [Online]. Available: https://users.math.yale.edu/public_html/People/frame/Fractals/Panorama/Biology/Physiology/Physiology.html. [Accessed June 2021].
- [49] lternal Technologies, Inc., "What is a Fractal?," [Online]. Available: <https://lternal.us/what-is-a-fractal/>. [Accessed June 2021].
- [50] P. Asvestas, G. K. Matsopoulos and K. S. Nikita, "Estimation of fractal dimension of images using a fixed mass approach," *Pattern Recognition Letters* 20, pp. 347-354, 1999.
- [51] M. Helmberger, M. Pienn, M. Urschler, P. Kullnig, R. Stollberger, G. Kovacs, A. Olschewski, H. Olschewski and Z. Bálint, "Quantification of Tortuosity and Fractal Dimension of the Lung Vessels in Pulmonary Hypertension Patients," *PLoS ONE*, vol. 9, no. 1, p. e87515, 2014.
- [52] R. V. Bubnov and I. M. Melnyk, "Hepatic oncology diagnosis based on imaging fractal analysis: preliminary results," *EPMA Journal*, vol. 5, no. S1, pp. A43, 1878-5085-5-S1-A43, 2014.
- [53] A. D. Ieva, "Fractal analysis of microvascular networks in malignant brain tumors," *NP*, vol. 31, no. 09, pp. 342-351, 2012.
- [54] P. Asvestas, S. Golemati, G. K. Matsopoulos, K. S. Nikita and A. N. Nicolaidis, "Fractal dimension estimation of carotid atherosclerotic plaques from B-mode ultrasound: a pilot study," *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 28, no. 9, pp. 1129-1136, 2002.
- [55] P. Asvestas, G. Matsopoulos and K. Nikita, "A Power Differentiation Method of Fractal Dimension Estimation

for 2-D Signals," *Journal of Visual Communication and Image Representation*, vol. 9, no. 4, pp. 392-400, 1998.

- [56] J. W. Baish and R. K. Jain, "Fractals and Cancer," *CANCER RESEARCH*, vol. 60, p. 3683–3688, 2000.
- [57] Wikipedia Contributors, "Fractal Dimension," [Online]. Available: https://en.wikipedia.org/wiki/Fractal_dimension. [Accessed June 2021].
- [58] C. Hui, C. Cheng, L. Ning and J. Yang, "Multifractal Characteristics of Seismogenic Systems and b Values in the Taiwan Seismic Region," *ISPRS Int. J. Geo-Inf*, vol. 9, no. 6, p. 384, 2020.
- [59] C. Atupelage, H. Nagahashi, M. Yamaguchi, M. Sakamoto and A. Hashiguchi, "Multifractal Feature Descriptor for Histopathology," *Analytical Cellular Pathology*, vol. 35, no. 2, pp. 123-126, 2012.
- [60] P. C. Ivanov, L. A. N. Amaral, A. L. Goldberger, S. Havlin, M. G. Rosenblum, Z. R. Struzik and H. E. Stanley, "Multifractality in human heartbeat dynamics," *Nature*, vol. 399, no. 6735, pp. 461-465, 1999.
- [61] L. G. S. França, J. G. V. Miranda, M. Leite, N. K. Sharma, M. C. Walker, L. Lemieux and Y. Wang, "Fractal and Multifractal Properties of Electrographic Recordings of Human Brain Activity: Toward Its Use as a Signal Feature for Machine Learning in Clinical Applications," *Front. Physiol.*, vol. 9, p. 1767, 2018.
- [62] "What are Multifractals?," [Online]. Available: <https://imagej.nih.gov/ij/plugins/fraclac/FLHelp/Multifractals.htm>. [Accessed June 2021].
- [63] Wikipedia Contributors, "Correlation Dimension," [Online]. Available: https://en.wikipedia.org/wiki/Correlation_dimension. [Accessed June 2021].
- [64] German Cancer Research Center - DKFZ, "<https://www.dkfz.de/en/index.html>," [Online]. [Accessed September 2020].
- [65] RadiAnt - Dicom Viewer, "<https://www.radiantviewer.com/>," [Online]. [Accessed September 2020].
- [66] MicroDicom - Dicom Viewer, "<https://www.microdicom.com/>," [Online]. [Accessed September 2020].
- [67] ImageJ - Image Processing and Analysis in Java, "<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>," [Online]. [Accessed September 2020].
- [68] Insight Toolkit (ITK) Library, "<https://itk.org/>," [Online]. [Accessed September 2020].
- [69] Jonathan Bowen , "Hypercubes (or N-dimensional cubes) - <https://web.archive.org/web/20080630081518/http://www.jpbowen.com/publications/ndcubes.html>," October 1981. [Online]. [Accessed June 2021].
- [70] Grace - User's Guide, "<https://plasma-gate.weizmann.ac.il/Grace/doc/UsersGuide.html#ss1.1>," [Online]. [Accessed September 2020].
- [71] "European Organisation for Research and Treatment of Cancer," [Online]. Available: <https://www.eortc.org/>. [Accessed June 2021].