

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet  
Fakultet for miljøvitenskap og teknologi  
Institutt for matematiske realfag og teknologi

Masteroppgave 2015  
30 stp

# Analyse av dynamisk kontrastforsterket MRI av livmorhalssvulster

Analysis of Dynamic Contrast Enhanced MRI of  
Cervical Cancers

Aurora Rosvoll Grøndahl

## Forord

Denne masteroppgaven er gjennomført ved Institutt for matematiske realfag og teknologi (IMT) ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet våren 2015. Oppgaven utgjør 30 studiepoeng og markerer avslutningen på en femårig mastergrad i Miljøfysikk og fornybar energi.

En stor takk rettes til mine veiledere Cecilia Marie Futsæther og Knut Kvaal ved IMT, samt Eirik Malinen ved Fysisk institutt (UiO). Cecilia Marie Futsæther har vært min hovedveileder og har bidratt med inspirerende og grundige tilbakemeldinger. Jeg vil også rette en stor takk til stipendiat Turid Katrine Gjerstad Torheim, som alltid har vært behjelpelig og generøst delt av sin kunnskap (og Matlab-skript). Takk til Cecilia, Knut og Turid for våre ukentlige møter, som har vært av stor betydning for min og oppgavens progresjon. Jeg føler meg heldig som har fått muligheten til å samarbeide med dere.

Videre vil jeg takke Erlend Kristoffer Frivold Andersen som har bearbeidet datasettene og vært med på å legge grunnlaget for denne oppgaven med sine tidligere analyser. Jeg vil også takke Heidi Lyng for informasjon om datagrunnlaget som oppgaven bygger på.

Sist men ikke minst vil jeg takke familie, venner og spesielt Endre for all støtte, forståelse og tålmodighet under arbeidet med denne oppgaven.

Ås, 15.05.2015

---

Aurora Rosvoll Grøndahl

## Sammendrag

Dynamisk kontrastforsterket MR-avbildning (DCE-MRI) beskriver karnettverkets egenskaper i vevet som avbildes. Avbildningen består av en serie MR-bilder tatt i etterkant av en intravenøs injeksjon med kontrastmiddel. Ut ifra denne bildeserien kan den relative signaløkningen  $RSI(t)$  som oppstår på grunn av kontrastmiddelet beregnes for hvert volumelement (voksel) av vevet som avbildes. Ved å tilpasse farmakokinetiske modeller til den relative signaløkningen  $RSI(t)$  estimeres modellparametere som gir en kvantitativ beskrivelse av vevets egenskaper. DCE-MRI gjenspeiler variasjoner i karnettverket internt i kreftsvulster og gir således et mål på kreftsvulsters heterogenitet. Dette kan potensielt utnyttes i forbindelse med tilrettelagt kreftbehandling, for eksempel ved å gi økt stråledose til tumorområder som predikeres å respondere dårlig på behandling.

I denne oppgaven analyseres DCE-MRI av 81 pasienter med lokalavansert livmorhalskreft. Grunnlaget for analysen er en DCE-MRI-studie gjennomført ved Radiumhospitalet i perioden 2001-2004. Den dynamiske avbildningen ble utført i forkant av behandlingsoppstart. Samtlige pasienter mottok så kurativ behandling i form av kombinert kjemo- og stråleterapi. I etterkant av behandlingen er pasientene fulgt opp jevnlig med kliniske undersøkelser, slik at behandlingsutfallet i stor grad er kjent.

Hovedmålet med analysene som utføres i denne oppgaven er å undersøke om det er forskjellige områder i kreftsvulstene som har like egenskaper, og om de relative størrelsene til disse områdene kan kobles opp mot behandlingsutfall. Datagrunnlaget som analyseres er den relative signaløkningen  $RSI(t)$  og modellparametere fra to farmakokinetiske modeller, henholdsvis Tofts- og Brixmodellen. For å identifisere tumorområder med like egenskaper grupperes vokslene med *K-means* klyngeanalyse basert på henholdsvis Toftsparameterne, Brixparameterne og  $RSI(t)$ .

For å vurdere sammenhengen mellom tumorområdenes relative størrelser og behandlingsutfall beregnes hver pasients volumandel av den enkelte vokselgrupperingen, hvorpå pasientene deles inn i to grupper etter median volumandel. Dette gir to pasientgrupper med henholdsvis høy og lav volumandel av det aktuelle tumorområdet. Pasientgruppene testes

så for forskjell i risiko for tilbakefall av kreftsykdommen. Lokalt tilbakefall, tilbakefall i form av metastaser og tilbakefall total sett undersøkes separat.

Analysene viser at *K-means* klyngeanalyse basert på data fra DCE-MRI kan anvendes til å identifisere tumorområder som er knyttet til behandlingsutfall. For samtlige datasett identifiseres det tumorområder som er signifikant knyttet til tilbakefall av kreftsykdommen. Grupperingen av vokslene basert på Toftsparameterne identifiserer tre ulike tumorområder som er signifikant forbundet med hver sin form for tilbakefall, mens analysen av Brixparameterne resulterer i én vokselgruppering som er signifikant knyttet til både tilbakefall i form av metastaser og tilbakefall totalt. For  $RSI(t)$  identifiseres et tumorområde som er signifikant assosiert med lokalt tilbakefall.

## Abstract

Dynamic contrast enhanced MR imaging (DCE-MRI) reflects the vasculature of the imaged tissue. The image acquisition consists of a series of MR images taken after an intravenous injection of contrast agent. Based on this image series the relative signal increase  $RSI(t)$  which occurs due to the contrast agent can be calculated for each volume element (voxel) of the imaged tissue. Fitting pharmacokinetic models to the relative signal increase  $RSI(t)$  results in estimated model parameters that provide a quantitative description of the tissue properties. DCE-MRI reflects variations in the vasculature within tumours and thus provides a measure of tumour heterogeneity. This can potentially be utilized in optimized cancer treatment, for example by increasing the radiation dose to tumour regions that are expected to show poor treatment response.

In this Master's thesis DCE-MRI of 81 patients with locally advanced cervical cancer is analysed. The basis of the analysis is a study of cervical cancer patients performed at the Norwegian Radium Hospital from 2001 to 2004. The dynamic image acquisition was performed prior to treatment. Thereafter all patients received curative radiotherapy with adjuvant chemotherapy. After treatment the patients were followed up regularly with clinical examinations. Due to a long follow-up time the treatment outcome is largely known.

The main objective of this thesis is to investigate if there are different regions within the cervical cancers that exhibit homogeneous characteristics, and if the relative sizes of these regions could be associated with treatment outcome. The data analysed is the relative signal increase  $RSI(t)$  and the parameters from two different pharmacokinetic models called the Tofts model and the Brix model. To identify tumour regions with similar characteristics, the voxels are grouped by performing K-means clustering based on the Tofts parameters, the Brix parameters and the relative signal increase  $RSI(t)$ , respectively.

To evaluate the association between the relative sizes of the tumour regions and treatment outcome, the volume fraction of the identified tumour regions are calculated for each patient. The patients are divided into two groups according to the median volume fraction, resulting in two groups of patients with low and high volume fraction of the specific tumour region. The

patient groups are then tested for the difference in risk of relapse of the disease. Local relapse, metastatic relapse and progression free survival are investigated separately.

The analyses show that K-means clustering based on data from DCE-MRI can be used to identify tumour regions that are related to treatment outcome. For all the investigated datasets tumour regions that are significantly related to recurrence of cancer are identified. Classification of the voxels based on the Tofts parameters identify three different tumour regions that are significantly associated with each form of relapse, while the analysis of the Brix parameters results in a group of voxels which are significantly related to both metastatic relapse and progression free survival. The analysis of  $RSI(t)$  identifies a tumour region that is significantly associated with local relapse.



# Innholdsfortegnelse

Forord .....	2
Sammendrag .....	3
Abstract .....	5
<b>1. Innledning</b> .....	<b>10</b>
<b>2. Teori</b> .....	<b>13</b>
2.1 Kreft .....	13
2.1.1 Livmorhalskreft .....	14
2.2 Magnetisk resonansavbildning .....	14
2.2.1 Grunnleggende prinsipper innen MRI .....	15
2.2.2 Resonans .....	18
2.2.3 Relaksasjon .....	20
2.2.4 Avbildning og feltgradienter .....	23
2.2.5 Vekting, kontrast og pulssekvenser .....	25
2.2.6 Dynamisk kontrastforsterket MRI .....	26
2.3 Farmakokinetiske modeller .....	30
2.3.1 Toftsmodellen .....	33
2.3.2 Brixmodellen .....	35
<b>3. Materialer og metoder</b> .....	<b>39</b>
3.1 Programvare .....	39
3.2 Pasientgruppe og bildemateriale .....	39
3.3 Datasett .....	40
3.3.1 Data for $RSI(t)$ .....	41
3.3.2 Data for Tofts- og Brixmodellen .....	41
3.3.3 Overlevelsesdata .....	42
3.4 Statistiske metoder .....	43
3.4.1 Prinsippkomponentanalyse .....	43
3.4.2 Klyngeanalyse .....	47
3.4.3 Gjennomføring av $K$ -means klyngeanalyse .....	49
3.4.4 Overlevelsesanalyse .....	53
3.4.5 Pearsons korrelasjonskoeffisient .....	58
3.5 Romlig fordeling .....	59
<b>4. Resultater</b> .....	<b>60</b>
4.1 Analyse av Toftsparameterne .....	60
4.1.1 $K$ -means klyngeanalyse .....	60
4.1.2 Overlevelsesanalyse .....	62
4.1.3 Korrelasjon med totalt tumorvolum .....	65
4.1.4 Romlig fordeling .....	66
4.2 Analyse av Brixparameterne .....	68
4.2.1 Innledende forsøk .....	68
4.2.2 $K$ -means klyngeanalyse .....	68
4.2.3 Overlevelsesanalyse .....	71
4.2.4 Korrelasjon med totalt tumorvolum .....	74
4.2.5 Romlig fordeling .....	74
4.3 Analyse av $RSI(t)$ .....	75
4.3.1 Prinsippkomponentanalyse med $RSI(t)$ .....	75
4.3.2 $K$ -means klyngeanalyse .....	76
4.3.3 Overlevelsesanalyse .....	80
4.3.4 Korrelasjon med totalt tumorvolum .....	83



4.3.5 Romlig fordeling.....	84
4.4 Prinsipalkomponentanalyse med Tofts- og Brixparameterne.....	86
<b>5. Diskusjon.....</b>	<b>90</b>
5.1 Metoder og datagrunnlag.....	90
5.1.1 Bildemateriale og datagrunnlag.....	90
5.1.2 <i>K-means</i> klyngeanalyse.....	90
5.1.3 Overlevelsesanalyse.....	92
5.1.4 Romlig fordeling.....	93
5.2 Analyse av Toftsparameterne.....	93
5.3 Analyse av Brixparameterne.....	96
5.4 Analyse av <i>RSI</i> <i>t</i> .....	99
5.5 Sammenligning av grupperingene.....	101
5.6 Korrelasjon mellom Tofts- og Brixparameterne.....	102
5.7 Forslag til videre arbeid.....	103
<b>6. Konklusjon.....</b>	<b>105</b>
Referanser.....	106
<b>7. Vedlegg.....</b>	<b>112</b>
7.1 Matlab-skript.....	112
7.2 Overlevelsesanalyse i R.....	123
7.3 Figurer fra analysen basert på Toftsparameterne.....	124
7.4 Figurer fra analysen basert på Brixparameterne.....	126
7.5 Figurer fra analysen basert på <i>RSI</i> ( <i>t</i> ).....	128
7.6 Kaplan-Meier-estimatorer for totalt tumorvolum.....	130

# 1. Innledning

Årlig diagnostiseres om lag 300 norske kvinner med livmorhalskreft [1]. Sykdommen rammer både unge og eldre kvinner og er i de fleste tilfeller forårsaket av humant papillomavirus (HPV) [2]. 78 % av kvinnene som diagnostiseres med livmorhalskreft blir friske igjen, men prognosen vil være sterkt avhengig av hvilket stadium sykdommen er i ved behandlingsoppstart [3]. Mulige behandlingsformer ved livmorhalskreft er kirurgi, kjemoterapi og stråleterapi, avhengig av sykdommens stadium [4].

Magnetisk resonansavbildning (MRI) er spesielt godt egnet til å gi god bildekontrast mellom ulike typer bløtvev og er i utstrakt bruk i forbindelse med diagnostisering og undersøkelser av en rekke kreftformer [2, 5, 6]. Ved livmorhalskreft er MRI standard prosedyre, og avbildningsmetoden anvendes i forbindelse med diagnostisering og behandlingsplanlegging [2].

Dynamisk kontrastforsterket MRI (DCE-MRI) er en funksjonell avbildningsteknikk. Funksjonelle avbildningsteknikker generelt søker å beskrive fysiologiske prosesser i området som undersøkes, og DCE-MRI spesielt gjenspeiler karnettverkets egenskaper i vevet som avbildes [7]. DCE-MRI skiller seg fra standard MRI ved at flere MR-bilder registreres over et gitt tidsintervall, samtidig som et kontrastmiddel injiseres i pasienten [8]. Kontrastmiddelet gis intravenøst og spres med karnettverket til området som avbildes, før det etter en viss tid vaskes ut igjen [6]. Bildeserien som tas beskriver således hvordan konsentrasjonen av kontrastmiddel i vevet utvikler seg over tid [8]. Karnettverket i tumor er karakterisert ved at det er ufullstendig og har en høy grad av permeabilitet [9]. Dette fører til at tumor i de fleste tilfeller får en høyere konsentrasjon av kontrastmiddel enn normalt vev og dermed skiller seg ut på MR-bildene [8, 10]. DCE-MRI vil også gjenspeile variasjoner i karnettverket til den enkelte tumor og kan således anvendes til å undersøke tumorens heterogenitet [7, 8]. Ved å sammenligne hver avbildning med et MR-bilde tatt i forkant av injeksjonen med kontrastmiddel, kan den relative signaløkningen  $RSI(t)$  som forårsakes av kontrastmiddelet beregnes for bildene i den dynamiske bildeserien [11].

Farmakokinetisk analyse basert på DCE-MRI anvendes for å gi en mer kvantitativ beskrivelse av egenskapene til vevet som avbildes [10]. Innen farmakokinetikken benyttes matematisk

modellering til å beskrive hvordan kontrastmidler eller andre legemidler beveger seg gjennom kroppen [12]. Ved å tilpasse farmakokinetiske modeller til den relative signaløkningen  $RSI(t)$  som registreres ved DCE-MRI, kan datamengden i den dynamiske bildeserien reduseres til noen få modellparametere som beskriver de fysiologiske egenskapene til hvert volumelement (voksel) som avbildes [10]. I denne oppgaven analyseres slike modellparametere fra tilpasningen av henholdsvis Tofts- og Brixmodellen, som er to ulike farmakokinetiske modeller [13, 14].

Flere studier indikerer at DCE-MRI utført i forkant av behandlingsoppstart kan anvendes til å forutsi pasientenes behandlingsutfall [8]. Tidligere studier viser også at målinger fra DCE-MRI kan knyttes til andelen oksygen i livmorhalssvulster [15, 16]. Oksygenfattige (hypoksiske) områder i tumor er nært forbundet med redusert effekt av både stråle- og kjemoterapi [10, 17]. Disse funnene tyder på at DCE-MRI potensielt kan anvendes til å tilpasse kreftbehandlingen til hver enkelt pasient og dermed øke overlevelsesprognosen for pasienter med livmorhalskreft [8]. Tilrettelagt behandling kan bestå i å gi økt stråledose til tumorer, eller spesifikke områder innad i tumor, som predikeres å respondere dårlig på behandling. På den andre siden kan pasienter med mindre aggressive tumorer motta en mildere behandling og slik unngå behandlingsrelaterte skader [8]. Bruken av DCE-MRI i forbindelse med tilrettelagt behandling har også fordeler ved at metoden ikke krever kirurgiske inngrep, samtidig som MRI allerede er en integrert del av diagnostiseringen og behandlingsplanleggingen [8, 18].

Grunnlaget for datasettene som analyseres i denne oppgaven er DCE-MRI av 81 pasienter med lokalavansert livmorhalskreft. Pasientene ble rekruttert til studien ved Radiumhospitalet i perioden 2001 til 2004. Data basert på DCE-MRI av disse pasientene har tidligere vært undersøkt i to ulike masteroppgaver [19, 20] og en rekke ulike studier [21-25]. Flere av disse tidligere studiene har vist at farmakokinetiske modellparametere basert på DCE-MRI kan knyttes til behandlingsutfall [21, 22, 25].

Formålet med denne analysen er å undersøke om det finnes forskjellige områder i tumor som har innbyrdes like egenskaper, slik at vokslene som beskriver kreftsvulstene lar seg gruppere i få og homogene grupper. Den videre målsetningen er å undersøke om (i) de relative størrelsene til de grupperte tumorområdene er koblet opp mot behandlingsutfall og (ii) om grupperingene som oppnås er uavhengige av de to farmakokinetiske modellene som benyttes.

Analysen bygger på tidligere arbeid av Andersen et al. [21], som utførte *K-means* klyngeanalyse basert på det samme datagrunnlaget som undersøkes i denne oppgaven. Andersen et al. [21] fant at det var mulig å gruppere tumorvokslene i tre ulike klynger, der den relative størrelsen til én av klyngene var signifikant knyttet til risikoen for lokalt tilbakefall av kreftsykdommen. Grupperingen ble hos Andersen et al. [21] basert på vokslenes verdier av Toftsparameterne. De innledende analysene som utføres i denne oppgaven søker å reprodusere resultatene fra Andersen et al. [21] for Toftsmodellen. Videre utføres *K-means* klyngeanalyse for å gruppere tumorvokslene etter deres verdier av Brixparameterne. Avslutningsvis utføres tilsvarende analyser basert på den relative signaløkningen  $RSI(t)$  som registreres i tumorvokslene ved den dynamisk kontrastforsterkede MR-avbildningen. For å undersøke om den relative størrelsen til de identifiserte tumorområdene kan kobles opp mot behandlingsutfall anvendes statistisk overlevelsesanalyse.

Det teoretiske grunnlaget for standard MRI og dynamisk kontrastforsterket MRI er beskrevet i kapittel 2, som også tar for seg den farmakokinetiske teorien knyttet til henholdsvis Tofts- og Brixmodellen. Dette kapittelet gir også en kort beskrivelse av hovedtrekkene ved kreft og livmorhalskreft. Kapittel 3 beskriver datagrunnlaget og metodene som anvendes i forbindelse med de ulike analysene. Analyseresultatene er presentert i oppgavens kapittel 4, mens diskusjonsdelen i kapittel 5 tar for seg aspekter ved datagrunnlaget, metodene og resultatene. I kapittel 5 drøftes også analyseresultatene og deres sammenheng med tidligere studier. Konklusjon og vedlegg er gitt i henholdsvis kapittel 6 og 7.

## 2. Teori

### 2.1 Kreft

Utviklingen fra en enkelt kreftcelle til en ondartet kreftsvulst styres av ulike stadier i kreftsykdommens progresjon, som alle involverer både normal og uregulert interaksjon mellom gener [5]. Ondartede kreftsvulster defineres ved at de har evnen til å infiltrere omkringliggende vev og potensielt spre seg til andre deler av kroppen via karnettverket eller lymfesystemet. Blant de første stadiene i sykdomsforløpet er ukontrollert cellevekst som fører til at det dannes en primærtumor [5]. For at celleveksten i tumor skal opprettholdes må det dannes nye blodkar, som forsyner kreftcellene med oksygen og næringsstoffer. Folkmann et al. [26] har vist at tumorstørrelsen er begrenset til om lag 1 mm i diameter dersom det ikke dannes et eget karnettverk i tumor.

Dannelsen av nye blodkar skjer gjennom en prosess kalt angiogenese, der nye blodkar vokser ut fra eksisterende karnettverk. Hos voksne opptrer angiogenese normalt i forbindelse med sårtilheling, menstruasjonssyklus eller graviditet [27]. I kreftsvulster vil imidlertid kjemiske prosesser føre til at veksten av nye blodårer aktiveres, også kalt *the angiogenetic switch* [28]. Karnettverket som dannes i tumor skiller seg markant fra det velorganiserte karnettverket i normalt vev og karakteriseres ved at det er kaotisk og ufullstendig. Disse defektene fører blant annet til blodkar med stor grad av lekkhet og dårlig blodgjennomstrømning. Til tross for utstrakt angiogenese er det derfor ikke gitt at karnettverket klarer å forsyne alle deler av tumor med tilstrekkelig oksygen og næring [9]. Ubalanse mellom forbruk og tilførsel av oksygen antas å være den vanligste årsaken til at det oppstår oksygenfattige, såkalte hypoksiske områder i tumor [17]. Det er også vist at utilstrekkelig blodtilførsel til områder av tumor fører til lokal celle- og vevsdød (nekrose) [28].

Hypoksi kan knyttes til progresjonen av ondartet kreft og er også assosiert med effekten av behandling. En tilstrekkelig høy andel av hypoksiske områder i tumor vil typisk redusere effekten av både stråleterapi og kjemoterapi [10, 17]. Hypoksiske områder i tumor stimulerer til ytterligere angiogenese og muliggjør slik ny cellevekst og infiltrasjon av omkringliggende vev [17, 28]. Veksten av nye blodkar i tumor kan også bidra til at kreftceller spres til andre deler av kroppen og danner fjerne metastaser [5].

### 2.1.1 Livmorhalskreft

Årlig diagnostiseres om lag 300 norske kvinner med livmorhalskreft [1]. Kreftformen opptrer hyppigst hos kvinner ved henholdsvis 30- og 60-års alder, og de fleste tilfellene (> 90 %) skyldes humant papillomavirus (HPV). Sykdommen har en lang preinvasiv fase, noe som gir gode muligheter for kartlegging og effektiv behandling [2]. FIGO (*The International Federation of Gynecology and Obstetrics*) klassifiserer ulike stadier i livmorhalskreft basert på kliniske funn [29]. En forenklet oversikt som viser de overordnede FIGO-stadiene er vist i tabell 1. Prognosen for overlevelse vil være sterkt avhengig av hvilket stadium sykdommen er i når behandling iverksettes [3].

**Tabell 1:** Tabellen gir en oversikt over hovedstadiene i livmorhalskreft i henhold til FIGO-inndelingen (*The International Federation of Gynecology and Obstetrics*) [29].

FIGO-stadium	Kliniske funn
I	Tumor begrenset til livmorhalsen.
II	Tumor når området utenfor livmorhalsen, men ikke bekkenveggen eller ytre tredjedel av skjeden.
III	Tumorutbredelse til bekkenveggen og/eller ytre tredjedel av skjeden og/eller forårsaker redusert nyrefunksjon.
IV	Tumorutbredelse utenfor det lille bekkenet eller tumorinfiltrasjon av endetarm og blære eller fjermetastaser.

### 2.2 Magnetisk resonansavbildning

Magnetisk resonansavbildning, også kalt MR-avbildning eller MRI (*Magnetic Resonance Imaging*), utnytter de naturlige egenskapene til hydrogen. Hydrogen utgjør 75-80 % av menneskekroppen, som bestanddel i vann og lipider (fett). Andelen og fordelingen av vann og dermed hydrogen i vevet kan endre seg betydelig i forbindelse med sykdom og skader [6]. MRI er spesielt godt egnet til å gi god bildekontrast mellom ulike typer bløtvev og vil være følsom for slike endringer i vevet som avbildes [2, 6]. Avbildningsmetoden er i utstrakt bruk i forbindelse med diagnostisering og undersøkelser av en rekke kreftformer [5]. Ved livmorhalskreft er MRI standard prosedyre, og avbildningen gir god bildekontrast mellom det normale vevet og tumor [2]. Grunnet at nuklider med spinn også er i besittelse av sitt eget magnetiske felt og derfor vil oppføre seg som små magneter [30, 31].

### 2.2.1 Grunnleggende prinsipper innen MRI

Prinsippene som anvendes innen MRI baserer seg på at enkelte atomkjerner har netto spinn. Hvorvidt en nuklide har netto spinn eller ikke avhenger av kjernens eksakte sammensetning av protoner og nøytroner [32]. Både protoner og nøytroner har halvtallig spinn lik  $\frac{1}{2}\hbar^1$  og tilhører fermionene, som er underlagt Paulis eksklusjonsprinsipp [33]. Dette innebærer at to eller flere *identiske* fermioner ikke kan oppta den eksakt samme tilstanden [33, 34]. Dermed vil to identiske kjernepartikler som er i samme romlige tilstand være orientert slik at de har spinn i motsatt retning [33]. Atomkjerner med et odd antall protoner eller nøytroner vil derfor ha netto spinn. Det samme er tilfellet for nuklider med et odd antall av både protoner og nøytroner [33, 34].

Atomkjerner med netto spinn betegnes ifølge Westbrook et al. [32] som MR-aktive kjerner. Fordi slike kjerner er i besittelse av både ladning og spinn vil de indusere et eget elektromagnetisk felt [32]. Alle nuklider med netto spinn vil derfor ha et netto magnetisk dipolmoment og kan potensielt anvendes til MR-avbildning [30]. Innen klinisk MRI benyttes nukliden  $^1\text{H}$ , som er den vanligste naturlige forekommende hydrogenisotopen [32, 35]. Den høye forekomsten av hydrogen i kroppen kombinert med  $^1\text{H}$ -nuklidens kraftige respons på eksterne magnetfelt gjør nukliden spesielt godt egnet til MR-avbildning [35]. Den videre beskrivelsen av MRI omhandler derfor avbildning basert på *protonet*  $^1\text{H}$ .

Når protonene ikke er under påvirkning av et eksternt magnetisk felt vil deres magnetiske dipolmomenter være tilfeldig orientert i rommet [32]. Under påvirkning av et eksternt magnetfeltet  $\mathbf{B}_0$  vil imidlertid hvert enkelt protonets magnetiske dipolmoment rette seg etter det eksterne feltet på én av to mulige måter [6]. Protonets magnetiske dipolmoment kan rette seg enten *med* eller *mot* det eksterne feltet  $\mathbf{B}_0$ . Disse to tilstandene betegnes som henholdsvis parallell («spinn opp») og antiparallell («spinn ned»). Energien til de to mulige tilstandene er gitt ved:

$$E = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}_0 = \gamma \hbar I B_0 \quad (1)$$

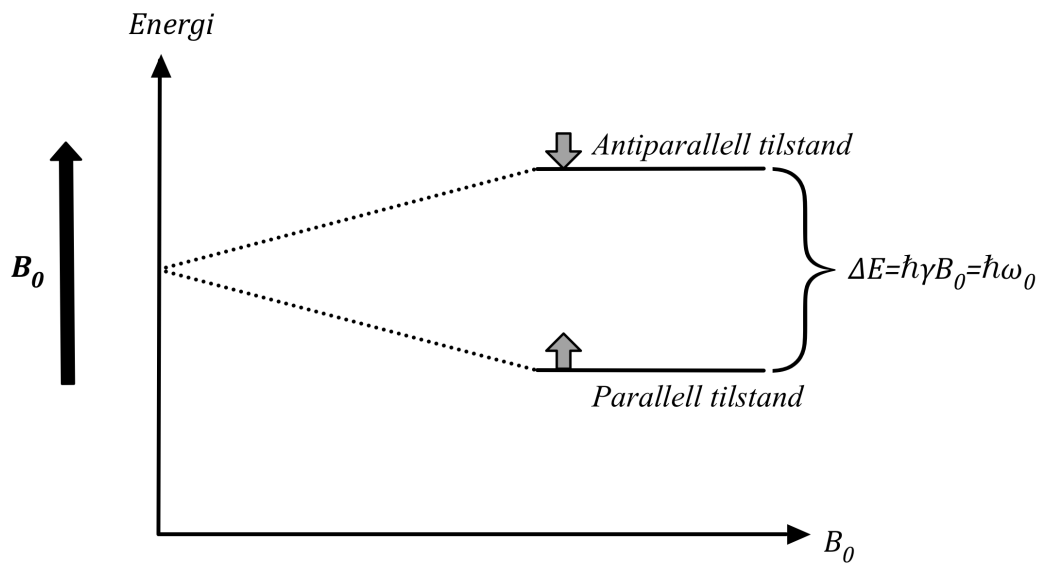
der  $\boldsymbol{\mu}$  er protonets magnetiske dipolmomentet,  $\mathbf{B}_0$  er den magnetiske flukstettheten til det eksterne feltet,  $\gamma$  er det gyromagnetiske forholdet,  $\hbar = h/2\pi$  der  $h$  er Plancks konstant og

---

<sup>1</sup>  $\hbar = h/2\pi$  der  $h$  er Plancks konstant ( $h = 6,626 \times 10^{-34}$  Js) [37].

$I = \pm 1/2$  er spinnkvantetallet for protonet [6]. Det gyromagnetiske forholdet  $\gamma$  er en konstant som er spesifikk for den enkelte typen MR-aktive nuklide [32].

De to energitilstandene er vist i figur 1. Protoner med lav energi klarer ikke å «overvinne» det eksterne magnetiske feltet og deres magnetiske dipolmoment retter seg derfor parallelt med  $\mathbf{B}_0$ . Det motsatte er tilfellet for protonene med høy energi, som befinner seg i den antiparallele tilstanden. Hvilken tilstand det enkelte protonet befinner seg i avhenger av protonets termiske energi samt styrken til det eksterne magnetfeltet [32].



**Figur 1:** Figuren viser de to mulige energitilstandene protoner kan være i under påvirkning av et eksternt magnetfelt  $\mathbf{B}_0$ . For protoner i parallell og antiparallell tilstand vil det magnetiske dipolmoment være rettet henholdsvis med og mot det eksterne feltet  $\mathbf{B}_0$ .  $\Delta E$  er energiforskjellen mellom de to energitilstandene. Som det fremgår fra figuren vil  $\Delta E$  øke med størrelsen til det eksterne magnetfeltet  $\mathbf{B}_0$  [36]. Laget etter en figur av Smith [36].

I vevet som avbildes er det et stort antall protoner, og antallet partikler i de to energitilstandene kan dermed beskrives statistisk. Ved termisk likevekt vil forholdet mellom antall protoner i de to tilstandene være gitt ved Boltzmann-fordelingen [6, 37]:

$$\frac{N_{\text{parallell}}}{N_{\text{antiparallell}}} = e^{\frac{\Delta E}{k_B T}} = e^{\frac{\gamma \hbar B_0}{k_B T}} \quad (2)$$

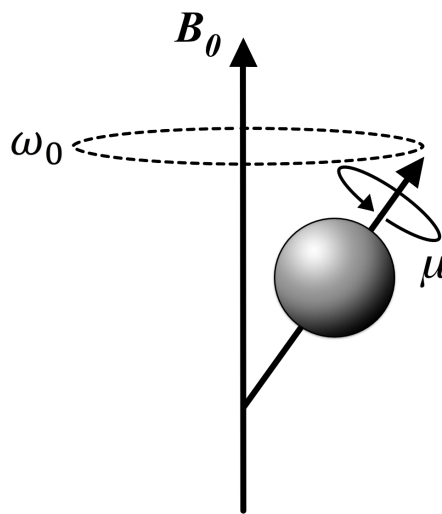
der  $N_{\text{parallell}}$  og  $N_{\text{antiparallell}}$  er antall protoner i henholdsvis parallell og antiparallell tilstand,  $\Delta E$  er energidifferansen mellom de to tilstandene,  $T$  er den absolutte temperaturen i vevet og  $k_B = 1,38 \times 10^{-23}$  J/K er Boltzmann-konstanten.



Protonenes magnetiske dipolmomenter vil ikke rette seg eksakt parallelt *med* eller *mot* det eksterne feltet  $\mathbf{B}_0$  [6]. Dipolmomentene følger i stedet en sirkulær bane om  $\mathbf{B}_0$  med en presesjonsfrekvens  $\omega_0$  gitt ved Larmorlikningen [32]:

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (3)$$

Presesjonsbevegelsen og det magnetiske dipolmomentet  $\boldsymbol{\mu}$  til et proton i parallell tilstand er vist i figur 2.

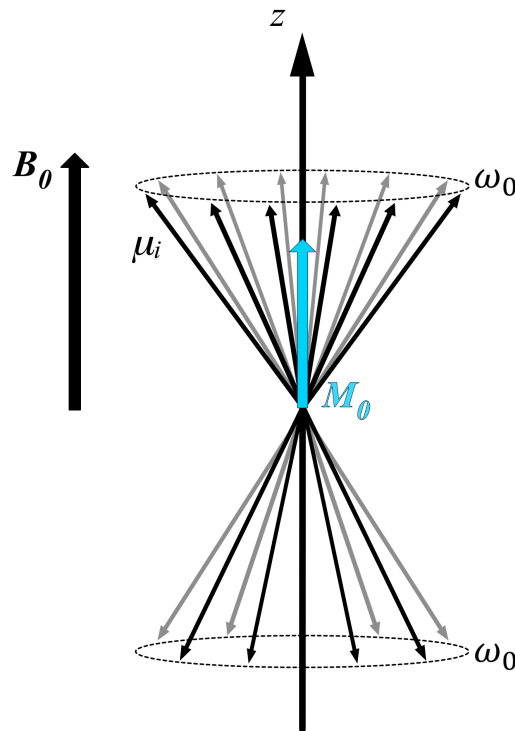


**Figur 2:** Når et proton er under påvirkning av et eksternt magnetfelt  $\mathbf{B}_0$  vil protonets magnetiske dipolmoment  $\boldsymbol{\mu}$  rette seg etter det eksterne feltet og pressesere om  $\mathbf{B}_0$  med presesjonsfrekvensen  $\omega_0$ . Protonets magnetiske dipolmoment kan rette seg enten med eller mot  $\mathbf{B}_0$  [6]. Figuren viser protonet i den såkalte parallell tilstanden der  $\boldsymbol{\mu}$  er rettet med  $\mathbf{B}_0$ .

Ved kroppstemperatur og kliniske feltstyrker (typisk 1,5 eller 3 tesla) vil det innstille seg en termisk likevekt der det er et lite, konstant overskudd av protoner i den laveste energitilstanden [5, 6, 32]. I denne likevektstilstanden vil protonenes magnetiske dipolmomenter være ute av fase med hverandre samtidig som presesjonsfrekvensen til hvert proton er den samme, slik at retningene til dipolmomentene er jevnt fordelt i rommet. Dermed vil det være en netto magnetisering  $\mathbf{M}_0$  som er parallell med det eksterne feltet  $\mathbf{B}_0$  [6]. Fordelingen av protonenes magnetiske dipolmomenter og den resulterende magnetiseringen er vist i figur 3. Magnetiseringsvektoren  $\mathbf{M}_0$  er gitt som vektorsummen av enkeltprotonenes magnetiske dipolmomenter [31]:

$$\mathbf{M}_0 = \sum \boldsymbol{\mu}_i \quad (4)$$

der  $\boldsymbol{\mu}_i$  er det magnetiske dipolmomentet til proton nummer  $i$ .



**Figur 3:** Ved termisk likevekt og kliniske feltstyrker vil det være et lite overskudd av protoner i den laveste energitilstanden, der de magnetiske dipolmomentene er rettet med det eksterne magnetfeltet  $\mathbf{B}_0$ . Dette gir opphav til en netto likevektmagnetisering  $\mathbf{M}_0$  i vevet som avbildes. Fordi de magnetiske dipolmomentene  $\mu_i$  er jevnt fordelt i rommet samtidig som de presseserer med den samme Larmorfrequensen  $\omega_0$ , vil likevektmagnetiseringen  $\mathbf{M}_0$  være parallell med det eksterne feltet  $\mathbf{B}_0$  [6]. Fordelingen av de magnetiske dipolmomentene  $\mu_i$  og den resulterende likevektmagnetiseringen  $\mathbf{M}_0$  er i figuren skissert relativt til en vertikal z-akse.

Likevektmagnetiseringen  $\mathbf{M}_0$  er kilden til selve signalet som benyttes innen all MR-avbildning [35]. Ved termisk likevekt er det kun styrken på det eksterne magnetfeltet  $\mathbf{B}_0$  som påvirker størrelsen til  $\mathbf{M}_0$ . Ved å øke  $\mathbf{B}_0$  avtar mengden protoner som har nok energi til å motsette seg det eksterne feltet og være i antiparallell tilstand. Dette svarer til en økning i netto magnetisering, hvilket gir opphav til et kraftigere MR-signal [32].

### 2.2.2 Resonans

I tråd med konvensjonen innen MR-teori defineres et 3-dimensjonalt kartesisk koordinatsystem der z-aksen legges parallellt med det statiske eksterne magnetfeltet  $\mathbf{B}_0$  og likevektmagnetiseringen  $\mathbf{M}_0$ . Koordinatsystemet er vist i figur 4. Fordi størrelsen til  $\mathbf{M}_0$  er ubetydelig sammenliknet med det eksterne feltet  $\mathbf{B}_0$ , er det ikke praktisk gjennomførbart å måle magnetiseringsvektoren når den er i likevekt og befinner seg parallellt med  $\mathbf{B}_0$ . For at magnetiseringsvektoren skal kunne måles må den bringes ut av likevekt slik at den har en

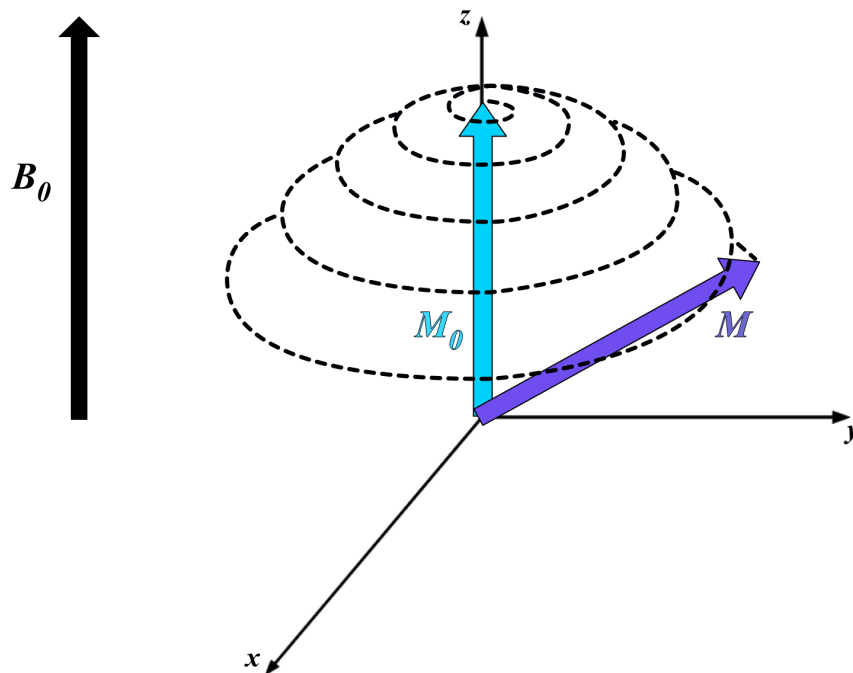
komponent  $M_{xy}$  i det transversale  $xy$ -planet [31]. Den totale magnetiseringsvektoren betegnes da som  $\mathbf{M}$ .

Ved å utsette protonene i vevet for elektromagnetisk stråling med frekvens lik Larmorfrekvensen  $\omega_0$  vil det oppstå resonans. For samtlige kliniske feltstyrker ligger Larmorfrekvensen til protonene innenfor det radiofrekvente (RF) området av elektromagnetisk stråling [32]. Å påføre radiofrekvent stråling som forårsaker resonans betegnes som eksitasjon, fordi enkelte av protonene under disse forholdene eksiteres fra den lave energitilstanden parallelt med  $\mathbf{B}_0$  til den høye energitilstanden antiparallelt med  $\mathbf{B}_0$  [32]. Denne omfordelingen mellom energinivåene gjenspeiles i magnetiseringsvektoren, som får en transversal  $xy$ -komponent og dermed vippes bort fra  $z$ -aksen [32]. Ved å tilpasse varigheten og amplituden til den påførte RF-pulsen kan magnetiseringsvektoren  $\mathbf{M}$  roteres til enhver såkalt flippvinkel [32].

I tillegg til eksitasjonen av enkelte protoner vil resonansfenomenet føre til at protonenes magnetiske dipolmomenter blir fasekoherente [32]. Dermed vil selve magnetiseringsvektoren  $\mathbf{M}$  pressesere om  $\mathbf{B}_0$  med Larmorfrekvensen  $\omega_0$ . Figur 4 viser hvordan magnetiseringsvektoren  $\mathbf{M}$  presseserer ned i det transversale  $xy$ -planet under påvirkning av en RF-puls [38]. Presesjonsbevegelsen representerer en form for tidsvariant magnetisk felt som induserer en strøm i mottakerspolene i det transversale planet, slik at MR-signalet kan registreres [31]. Denne sammenhengen er gitt ved Faradays lov for elektromagnetisk induksjon, som sier at en strøm vil induseres i en spole som opplever en endring i den magnetiske fluksen  $d\Phi_B$  med hensyn på tiden  $t$  [36]:

$$\varepsilon = -\frac{d\Phi_B}{dt} \quad (5)$$

der  $\varepsilon$  er den induserte elektromotoriske spenningen i spolen.



**Figur 4:** Figuren viser hvordan en RF-puls vil påvirke magnetiseringen i vevet som avbildes. Før RF-pulsen sendes inn vil vevet kun være under påvirkning av det statiske eksterne magnetfeltet  $\mathbf{B}_0$ , og magnetiseringen er gitt ved likevektmagnetiseringen  $\mathbf{M}_0$ . Ved å påføre en RF-puls vil magnetiseringen i vevet være gitt ved magnetiseringsvektoren  $\mathbf{M}$ , som beveger seg i en spiral (precesserer) ned mot det transversale  $xy$ -planet. Den transversale komponenten til magnetiseringsvektoren  $\mathbf{M}$  gjør det mulig å måle magnetiseringen i vevet [38]. Laget etter en figur av de Lange og Mugler III [38].

Frekvensen til MR-signalet vil være lik Larmorfrekvensen, mens størrelsen på signalet vil avhenge av størrelsen til den transversale komponenten av magnetiseringen  $M_{xy}$  [32]. På grunn av magnetiseringens presesjonsbevegelse er det vanlig å innføre en roterende referanseramme når man studerer den transversale komponenten av magnetiseringsvektoren [31].

### 2.2.3 Relaksasjon

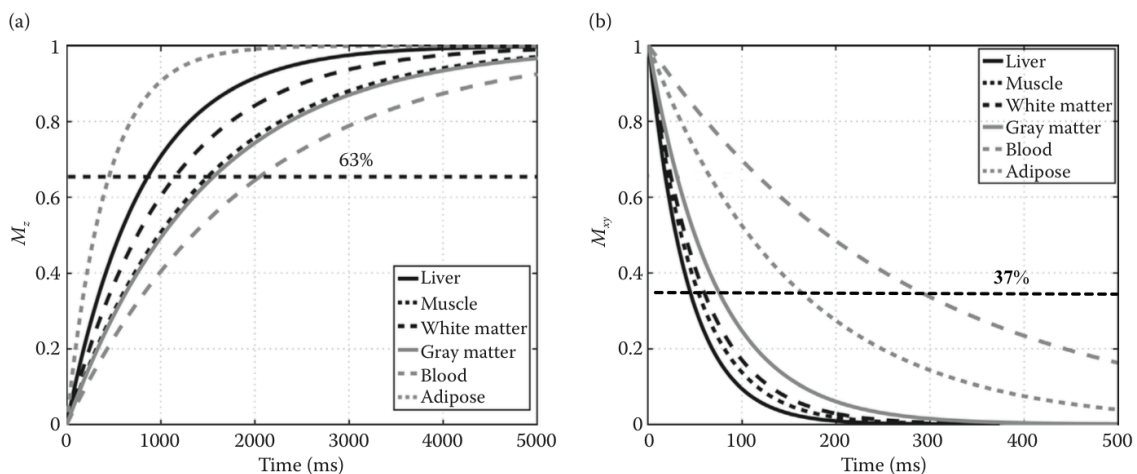
Relaksasjon betegner den tidsavhengige endringen i MR-signalet [36]. Når RF-pulsen opphører er det ikke lenger noen kilde til eksitasjon og magnetiseringsvektoren vil søke tilbake til likevekt parallelt med det eksterne feltet  $\mathbf{B}_0$ . Magnetiseringen i det longitudinale planet vil derfor øke, mens magnetiseringen i det transversale planet avtar. Disse to prosessene beskrives separat som henholdsvis longitudinal- og transversal relaksasjon [32].

## Longitudinal relaksasjon

Longitudinal relaksasjon, også kalt  $T_1$ -relaksasjon, innebærer at de eksiterte protonene faller tilbake til sitt opprinnelige energinivå ved å overføre energi til omgivelsene [31]. Slik gjenopprettes magnetiseringen i det longitudinale planet [32]. Energioverføringen finner sted gjennom interaksjon mellom eksiterte protoner og omkringliggende atomer eller molekyler. Den longitudinale relaksasjonen kalles derfor gjerne spinn-gitter-relaksasjon [31]. Gjenvinningen av den longitudinale magnetiseringen  $M_z$  er eksponentiell og gitt ved [36]:

$$M_z = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}\right) \quad (6)$$

der  $M_0$  er størrelsen til den opprinnelige likevektmagnetiseringen,  $t$  er tiden fra RF-pulsen opphører og  $T_1$  er tidskonstanten for den longitudinale relaksasjon.  $T_1$  defineres som tiden det tar før den longitudinale magnetiseringen har gjenvunnet 63 % av sin opprinnelige likevektmagnetisering  $M_0$  i vevet [32].  $T_1$  er avhengig av både vevstype og feltstyrken til magnetfeltet  $B_0$  [36]. Figur 5 (a) viser gjenvinningen av den longitudinale magnetiseringen  $M_z$  for ulike typer vev.



**Figur 5:** Relaksasjon for ulike typer vev ved en feltstyrke på 3 tesla. Figuren viser at tapet i den transversale magnetiseringen  $M_{xy}$  (b) skjer raskere enn gjenvinningen av den longitudinale magnetiseringen  $M_z$  (a) for alle vevstypene (merk at tidsaksene er forskjellige) [36]. (a)  $T_1$  er tiden det tar å gjenvinne 63 % av den opprinnelige longitudinale magnetiseringen  $M_z$ . Skjæringspunktene mellom  $M_z$  og 63 %-linjen gir  $T_1$ -tidene for de ulike vevstypene på x-aksen. (b)  $T_2$ -tiden er tiden det tar å tape 63 % av den opprinnelige transversale magnetiseringen, slik at 37 % av  $M_{xy}$  gjenstår. Skjæringspunktene mellom  $M_{xy}$  og 37 %-linjen gir  $T_2$ -tidene for de ulike vevstypene på x-aksen. Figuren er hentet fra Smith [36] og korrigert.

## Transversal relaksasjon

Den transversale  $T_2$ -relaksasjonen beskriver protonenes tap av fasekoherens som inntreffer i etterkant av eksitasjon. Tap av fasekoherens er ensbetydende med at den transversale

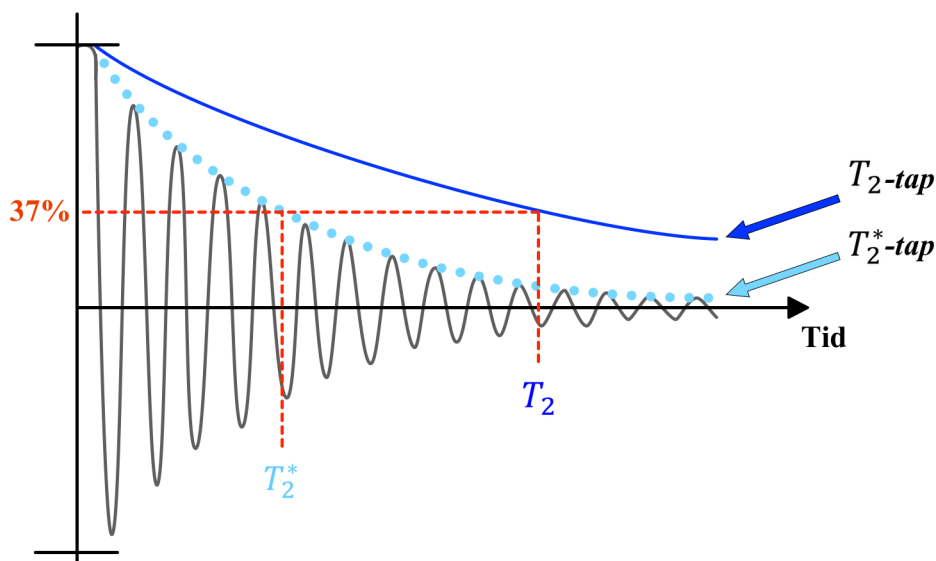
magnetiseringen avtar.  $T_2$ -relaksasjon skyldes lokal interaksjon mellom protonenes magnetfelter, som fører til at protonene får en ulik og tidsvariant opplevelse av det magnetiske feltet og derfor ikke lenger er fasekoherente.  $T_2$ -relaksasjon kalles derfor også for spinn-spinn-relaksasjon [31]. Den transversale magnetiseringen vil avta eksponentielt med en tidskonstant lik  $T_2$ , definert som tiden det tar den transversale magnetiseringen å tape 63 % av sin opprinnelige verdi [32]. Tapet i transversal magnetisering  $M_{xy}$  er dermed gitt ved [36]:

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (7)$$

der  $M_0$  er størrelsen til den opprinnelige likevektmagnetisering og  $t$  er tiden fra RF-pulsen opphører.  $T_2$  avhenger av vevstype, men vil i mindre grad enn  $T_1$  være påvirket av styrken til det eksterne magnetfeltet [36]. For alle typer vev vil  $T_2 \leq T_1$  og i de fleste tilfeller er  $T_2$  betydelig mindre enn  $T_1$  [38]. Figur 5 (b) viser tapet i transversal magnetisering  $M_{xy}$  for ulike typer vev.

I tillegg til  $T_2$ -relaksasjonen, som skyldes tidsvariant vekselvirkning mellom protoner, kan også inhomogeniteter i det statiske magnetfeltet gi tap av fasekoherens. Såkalt  $T_2^*$ -relaksasjon inkluderer effekten av både transversal  $T_2$ -relaksasjon og inhomogeniteter i det statiske feltet [38]. Slike inhomogeniteter fører til en raskere relaksasjon og kan ha to ulike kilder. For det første kan inhomogeniteter forekomme fordi magnettomografen ikke setter opp et fullstendig homogent felt. For det andre oppstår det inhomogeniteter på grunn av lokale feltgradienter i vevet som avbildes. Disse gradientene dannes i overgangen mellom vev med ulik magnetisk susceptibilitet. Dersom det ikke er noen inhomogeniteter i det statiske feltet vil tidskonstanten for  $T_2^*$ -relaksasjonen være lik tidskonstanten  $T_2$ . I alle andre tilfeller vil  $T_2^*$  være mindre enn  $T_2$ . Effekten av inhomogeniteter i det statiske feltet kan reverseres ved å benytte en såkalt spinn-ekko-sekvens (SE) under avbildningen [38].

MR-signalet som genereres umiddelbart etter at en RF-puls har opphørt kalles *free induction decay* (FID). Signalet detekteres som kjent i det transversale planet og vil dermed avhenge av den transversale relaksasjonen representert ved tidskonstantene  $T_2$  og  $T_2^*$ . FID-signalet oscillerer med resonansfrekvensen samtidig som det avtar eksponentielt avhengig av  $T_2$  eller  $T_2^*$ , som vist i figur 6 [38].



**Figur 6:** MR-signalet som genereres etter at en RF-puls har opphørt kalles FID (free induction decay) og er representert ved den oscillerende kurven i figuren over. FID-signalet vil oscillere med resonansfrekvensen  $\omega_0$  samtidig som det avtar eksponentielt. Ved feltinhomogeniteter vil FID avta med tidskonstanten  $T_2^*$ , som er påvirket av inhomogenitetene i det statiske magnetfeltet i tillegg til vevets iboende  $T_2$ -relaksasjon. Feltinhomogenitetene vil gi et hurtigere tap i den transversale magnetiseringen, noe som fremgår fra de to kurvene for henholdsvis  $T_2^*$  og  $T_2$ -tapet i figuren. De to tidskonstantene  $T_2^*$  og  $T_2$  opptrer begge når magnetiseringen har falt med 63 % av sin opprinnelige verdi, slik at 37 % av magnetiseringen gjenstår. Laget etter en figur av de Lange og Mugler III [38].

## 2.2.4 Avbildning og feltgradienter

Under påvirkning av et homogent eksternt magnetfelt vil resonansfrekvensen til protonene i vevet være den samme uavhengig av romlig posisjon. Signalet som induseres i mottakerspolen etter påføring av en RF-puls vil derfor ikke inneholde noen romlig informasjon om vevet som avbildes [30]. Ved å anvende magnetiske feltgradienter skapes systematisk romlig variasjon i resonansfrekvensen, slik at det er mulig å lokalisere hvor i vevet et signal kommer fra. Feltgradientene kan endres etter behov underveis i MR-undersøkelsen ved å påføre ulike gradientpulser [38]. Gradienter klassifiseres etter anvendelse som henholdsvis snittvalgs-, frekvensinnkodings- og faseinnkodingsgradient [30].

I klinisk MR-avbildning anvendes tre ortogonale gradienter som varierer lineært langs henholdsvis  $x$ ,  $y$  og  $z$ -aksen [38]. Under påvirkning av en lineær feltgradient vil de enkelte protonenes resonansfrekvens  $\omega_i$  være gitt ved det som Brown og Semelka [35] beskriver som en utvidet versjon av Larmorlikningen:

$$\omega_i = \gamma(B_0 + \mathbf{G} \cdot \mathbf{r}_i) \quad (8)$$

der  $\gamma$  er det gyromagnetiske forholdet,  $\omega_i$  er frekvensen til proton nummer  $i$  som befinner seg i posisjon  $\mathbf{r}_i$  og  $\mathbf{G}$  er vektorrepresentasjonen av den totale gradientens amplitude.

Likning (8) viser at under påvirkning av et gradientfelt vil hvert enkelt proton ha en unik resonansfrekvens som avhenger av protonets eksakte posisjon. En MR-avbildning kan derfor betraktes som et fase- og frekvenskart som avhenger av de unike magnetfeltene i hvert enkelt punkt i bildet. Det resulterende bildet består av digitale bildeelementer (pikslar) som representerer volumelementer eller *vokslar* av vevet som avbildes. Intensiteten i bildet er naturlig nok knyttet til e.g. protontettheten i den gitte vokselen [35].

Det første steget i avbildningsprosessen består i å foreta en snittutvelgelse av vevet som skal undersøkes. Gradientretningen ( $x, y, z$  eller en kombinasjon av disse) bestemmer snittets orientering i rommet, som vil være ortogonal med gradienten [35]. Et gradientfelt i  $z$ -retning vil derfor gi et aksialt snitt, mens gradientfelt i  $x$  eller  $y$ -retning resulterer i henholdsvis sagittale eller koronale snitt [38].

Både varigheten og bølgeformen til RF-pulsen påvirker frekvensområdet, eller båndbredden, som pulsen kan eksitere. Ved å endre disse størrelsene kan RF-pulsen styres. Når vevet, som er under påvirkning av et gradientfelt, utsettes for en RF-puls vil kun den delen av vevet som har resonansfrekvenser innenfor båndbredden la seg påvirke. Slik eksiteres kun det utvalgte snittet. Tykkelsen til dette snittet bestemmes av forholdet mellom RF-pulsens båndbredde og størrelsen til gradientfeltet [38]. For et vilkårlig gradientfelt i  $z$ -retning  $G_z$  vil snittets tykkelse  $\Delta z$  være gitt ved [39]:

$$\Delta z = \frac{\Delta\omega}{\gamma G_z} \quad (9)$$

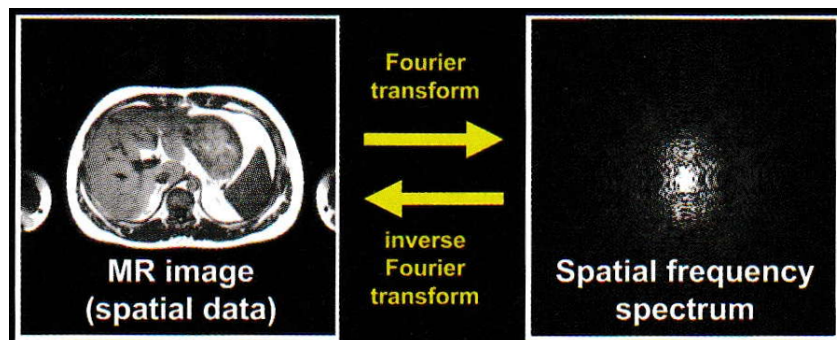
der  $\gamma$  er det gyromagnetiske forholdet og  $\Delta\omega$  er RF-pulsens frekvensområde eller båndbredde.

Den vanligste typen MR-avbildning består i å utføre en serie snittvise avbildninger av vevet som ønskes undersøkt. I denne typen avbildning holdes snittvalgsgradienten konstant, mens RF-pulsen er unik for hver avbildning. For hvert snitt har RF-pulsen identisk båndbredde  $\Delta\omega$ , men den sentrale frekvensen i  $\Delta\omega$  endres. Slik eksiteres ett og ett snitt av identisk tykkelse [35]. I praksis vil RF-pulsen også kunne påvirke deler av vevet som er utenfor det ønskede snittet. Dette kan føre til endring i bildekontrasten og andre bildeartefakter, spesielt dersom



snittene ligger svært nærme hverandre. Det er derfor vanlig å legge inn et lite gap mellom tilstøtende snitt [38].

De neste stegene i avbildningen består i å anvende frekvensinnkodings- og faseinnkodingsgradienter. Frekvensen og fasen til grupper av protoner (*isochromates*) inneholder tilstrekkelig informasjon til å plassere signalene fra disse gruppene relativt til hverandre i et  $x, y, z$ -koordinatsystem. Dette koordinatsystemet betegnes som tid- eller signaldomenet, også kalt *k-space*. Signaldomenet er matematisk sett den konjugerte av billedomenet. Overgangen fra signaldomenet til billedomenet oppnås ved å anvende invers Fouriertransformasjon [36]. Slik transformeres informasjonen i FID-signalet indusert i mottakerspolene til romlig informasjon som rekonstrueres til et gråskalabilde [39]. Overgangen mellom signal- og billedomenet er illustrert i figur 7 [38].



**Figur 7:** Til høyre vises rådata fra en MR-avbildning, slik de registrerte signalene fremstår i tid- eller signaldomenet (også kalt *k-space*). Til venstre vises billedomenet med det resulterende gråskalabildet. Overgangen mellom signal- og billedomenet oppnås ved å anvende Fouriertransformasjon [38]. Figuren er hentet fra de Lange og Mugler III [38].

### 2.2.5 Vekting, kontrast og pulsskvenser

For å danne en tilfredsstillende avbildning av vevet som undersøkes er det ikke tilstrekkelig med kun én RF-puls. Innen MR-avbildning benyttes serier av såkalte pulsskvenser, der hver pulsskvens består av én eller flere RF-pulser [31]. Pulsskvensene karakteriseres blant annet ved repetisjonstiden (TR) og ekkotiden (TE). Repetisjonstiden TR er tiden mellom to suksessive RF-pulser, mens ekkotiden er tiden det tar fra RF-pulsen påføres til MR-signalet avleses. TR og TE vil styre mengden av henholdsvis longitudinal- og transversal relaksasjon som har funnet sted når MR-signalet registreres [32]. Pulsskvensene deles normalt inn i de to hovedkategorier spinn-ekko-sekvens (SE) og gradient-ekko-sekvens (GE) [6].

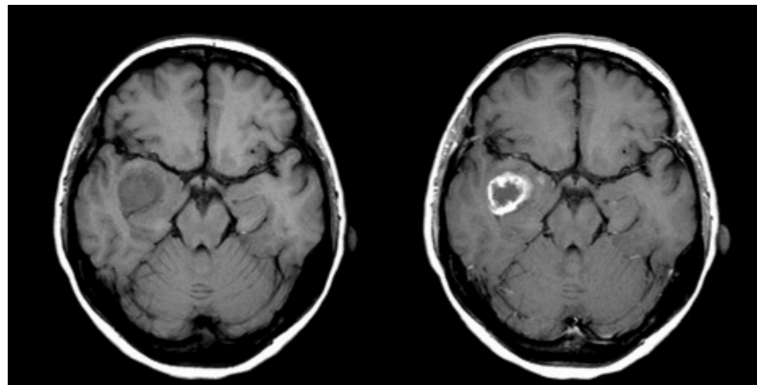
Kontrasten i et MR-bilde dannes primært på grunnlag av forskjeller i relaksasjonstider og proton tetthet, i kombinasjon med andre vevsspesifikke parametere. Generelt er kontrasten størst mellom fett og vann. Områder med stor transversal magnetisering svarer til et kraftig signal og en høy intensitetsverdi på bildet. Ved avbildning vil imidlertid bidragene fra alle vevsparametere påvirke signalet samtidig slik at det er vanskelig å tolke bildet. For å kontrollere kontrasten i bildet benyttes derfor såkalt vekting, der det legges mest vekt på én av vevsparametere [32]. Vektingen oppnås ved å endre de justerbare parametere, som blant annet repetisjonstiden TR og ekkotiden TE, i passende pulssekvenser [6, 32]. De enkleste formene for vekting er henholdsvis  $T_1$  og  $T_2$ -vekting [38]. Westbrook et al. [32] gir en innføring i både pulssekvenser og vekting.

Fett og vann har henholdsvis korte og lange relaksasjonstider for både  $T_1$ -relaksasjon og  $T_2$ -relaksasjon [32]. I et  $T_1$ -vektet bilde vil fettholdig vev vises som lyse partier, mens væsker og vannholdig vev opptrer som mørkere partier. Det motsatte er tilfellet for  $T_2$ -vektede bilder der væsker og vannbasert vev har høyest intensitet.  $T_1$ -vektede bilder karakteriseres vanligvis ved at de har svært god kontrast mellom ulike vevstyper, mens  $T_2$ -vektede bilder generelt er egnet til å fremheve unormale patologiske væskeansamlinger [6].

### 2.2.6 Dynamisk kontrastforsterket MRI

I tillegg til å endre kontrasten i bildet via vekting av vevsparametere kan relaksasjonstiden til vevet endres fysisk ved injeksjon av kontrastmiddel [31]. Majoriteten av kontrastmidler til bruk innen MR-avbildning inneholder paramagnetiske stoffer. Felles for de paramagnetiske stoffene er at de har uparede elektroner som er asymmetrisk fordelt og dermed genererer kraftige lokale magnetiske felt. Protoner i vevet som befinner seg i nærheten av et paramagnetisk stoff vil derfor oppleve en endring i relaksasjonstid. De vanligste kontrastmidlene baserer seg på gadolinium ( $Gd^{3+}$ ), som har 7 uparede elektroner og er sterkt paramagnetisk. Fordi gadoliniumionet er giftig bindes det til et ligand for å hindre at det løser seg og tas opp i kroppen. Et eksempel på et slikt kompleks er Gd-DTPA, som distribueres under navnet Magnevist® [40]. Gadoliniumbaserte kontrastmidler senker relaksasjonstidene til nærliggende protoner. Ved kliniske doser vil effekten være kraftigst på  $T_1$ -relaksasjonen og vevsområder med høy konsentrasjon av kontrastmiddel vil få en forsterket signalintensitet på  $T_1$ -vektede bilder [6].

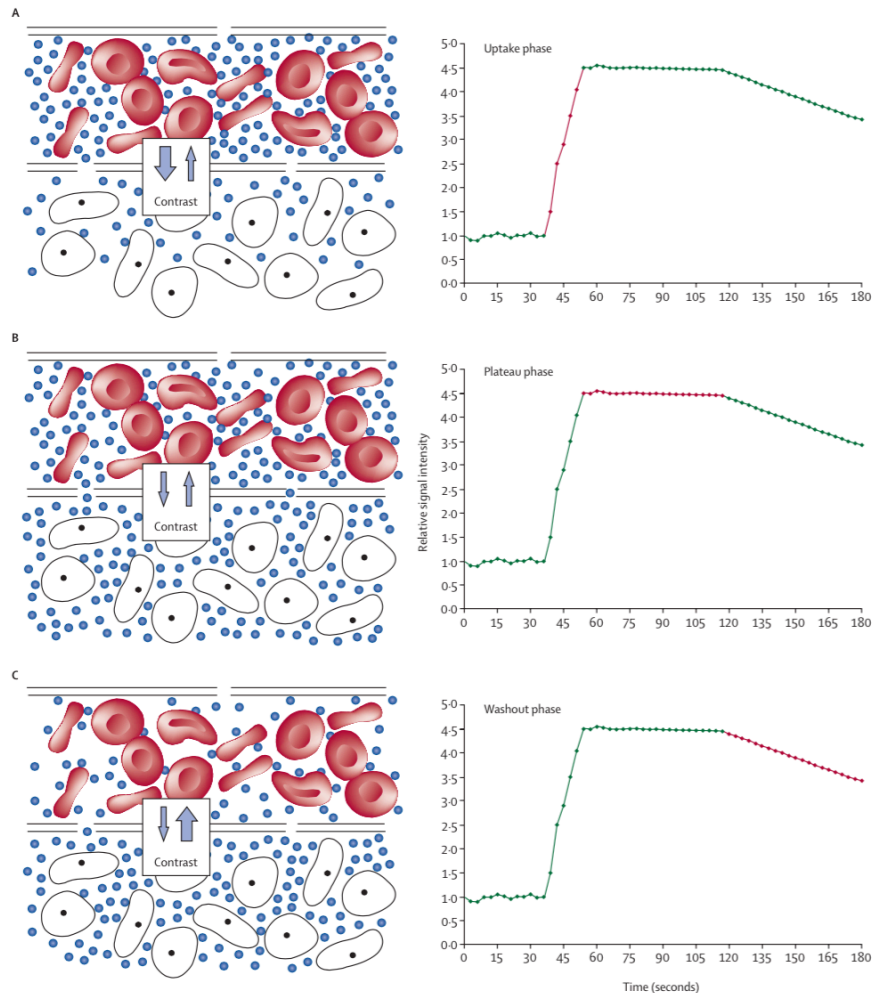
I dynamisk kontrastforsterket MR-avbildning (*Dynamic Contrast Enhanced MRI*, DCE-MRI) følges konsentrasjonen av kontrastmiddel i vevet over tid [8]. Kontrastmiddelet gis som en intravenøs bolusinjeksjon og spres med karnettverket til organet eller vevet som avbildes, også kalt ROI (*Region of Interest*) eller TOI (*Tissue of Interest*) [6, 10, 41]. Generelt utføres DCE-MRI med  $T_1$ -vektning og et kontrastmiddel med lav molekylær vekt, som Gd-DTPA [8, 42]. Slike kontrastmidler kan diffundere gjennom kapillærveggene og ut i den delen av vevet som ikke er celler, kalt det ekstravaskulære ekstracellulære rommet (EES), før de etter en viss tid skilles ut via nyrene [6, 43]. Patologisk vev generelt har andre egenskaper enn normalt vev [10]. Fordi karnettverket i tumor er ufullstendig med en høy grad av permeabilitet, vil tumor i de fleste tilfeller få en høyere konsentrasjon av kontrastmiddel og en kraftigere økning i signalintensiteten enn normalt vev [8, 10]. Effekten av et gadoliniumbasert kontrastmiddel på et  $T_1$ -vektet bilde av en hjernetumor er vist i figur 8 [41].



**Figur 8:** Effekten av et gadoliniumbasert kontrastmiddel på et  $T_1$ -vektet bilde av en hjernetumor. Figuren til venstre er tatt før injeksjon av kontrastmiddelet, mens figuren til høyre er tatt etter injeksjonen av kontrastmiddel. På grunn av patologien knyttet til tumoren samles kontrastmiddelet i dette området, noe som gir en økt signalintensitet i det  $T_1$ -vektede MR-bildet [41]. Figuren er hentet fra Bjørnerud [41].

Kontrastforsterkningen som oppstår i området som undersøkes (ROI) vil avhenge av konsentrasjonen til kontrastmiddelet, karnettverkets tetthet, blodgjennomstrømning og permeabilitet samt andelen av EES i området. Dermed vil *endringen* i signalintensiteten som observeres i DCE-MRI gi en indikasjon på de vaskulære forholdene i ROI [8]. Kontrastforsterkningen i området som avbildes kan deles inn i tre faser, som vist i figur 9 [8]. I opptaksfasen vil det være netto transport av kontrastmiddel fra kapillærene til EES og en økt signalintensitet i området som avbildes. Deretter innstiller det seg en likevekt uten netto transport av kontrastmiddel, i denne platåfasen er kontrastforsterkningen maksimal. Under

den avsluttende utvaskingsfasen er det netto transport av kontrastmiddel fra EES tilbake til blodplasma, dermed avtar signalintensiteten i området [8].



**Figur 9:** Fordelingen av kontrastmiddel i vevet som avbildes kan deles inn i de tre faser (A, B og C). Til venstre: Kontrastmiddelet Gd-DTPA (blå sirkler) kan ikke trenge inn i blodcellene (vist i rødt) eller øvrige celler (vist i hvitt og sort), men kun oppholde seg i blodplasma eller det ekstracellulære ekstravaskulære rommet (EES). Transport av kontrastmiddel mellom blodplasma og EES skjer ved diffusjon gjennom kapillærveggene. Til høyre: Den relative signaløkningen RSI som funksjon av tiden. (A): I opptaksfasen er det netto transport av Gd-DTPA fra blodplasma til EES og RSI øker. (B): Platåfasen uten netto transport av kontrastmiddel. (C): Utvaskingsfase med netto transport av kontrastmiddel fra EES til blodplasma fører til at RSI avtar [8]. Figuren er hentet fra Zahra et al. [8].

Selve avbildningen i DCE-MRI består av ett referansebilde som tas før injeksjon av kontrastmiddel samt en dynamisk bildeserie tatt med bestemte tidsintervaller etter at kontrastmiddelet er gitt [10]. Den dynamiske bildeserien viser hvordan signalintensiteten i vevet endrer seg som følge av opptak og utvasking av kontrastmiddel [8]. Ved å sammenlikne hvert enkelt postkontrastbilde med referansebildet, kan signaløkningen i postkontrastbildene

beregnes. Den relative signaløkningen  $RSI$  i et postkontrastbilde tatt ved tiden  $t$  er for hver enkelt vokal gitt ved [11]:

$$RSI(t) = \frac{S(t) - S(0)}{S(0)} \quad (10)$$

der  $S(t)$  er signalintensiteten i postkontrastbildet tatt ved tiden  $t$  og  $S(0)$  er signalintensiteten i referansebildet tatt ved tiden  $t = 0$ .

Forholdet mellom konsentrasjonen av kontrastmiddel i vevet og den målte signalintensiteten  $S(t)$  er ikke-lineær og konsentrasjonen lar seg ikke måle direkte [10]. Det er imidlertid vanlig å anta såkalt *fast-exchange*, hvilket innebærer at utvekslingen av vannmolekyler i vevet skjer så raskt at samtlige protoner som bidrar til MR-signalet har lik tilgang på kontrastmiddel, på en tidsskala lik  $T_1$ -tiden til vevet [10, 41]. Konsentrasjonen av kontrastmiddel  $C$  er under denne forutsetningen gitt ved følgende sammenheng [10]:

$$\frac{1}{T_1} = r_1 C + \frac{1}{T_{10}} \quad (11)$$

der  $T_{10}$  og  $T_1$  er tidskonstantene for spinn-gitter-relaksasjonen til vevet henholdsvis *før* og *etter* injeksjon av kontrastmiddel, mens  $r_1$  er kontrastmiddelets relaksivitet ( $r_1 \equiv 1/\tau_1$  der  $\tau_1$  er tidskonstanten for kontrastmiddelets spinn-gitter-relaksasjon) [10].

I DCE-MRI anvendes normalt en SPGR-sekvens (*Spoiled Gradient Echo Recalled*) til avbildningen [8, 10]. Signalintensiteten  $S$  i vevet eller vokselen som undersøkes er for en SPGR-sekvens gitt ved [10]:

$$S = S_0 \frac{\left[ \left( 1 - e^{-\frac{TR}{T_1}} \right) \sin \alpha \right] e^{-\frac{TE}{T_2^*}}}{1 - e^{-\frac{TR}{T_1}} \cos \alpha} \quad (12)$$

der  $S_0$  er en konstant og beskriver protontettheten samt magnettomografens forsterkningsinnstillinger,  $TR$  og  $TE$  er henholdsvis repetisjons- og ekkotiden,  $T_2^*$  er tidskonstanten for  $T_2^*$ -relaksasjon og  $\alpha$  er flippvinkelen [10].

Forutsatt at SPGR-sekvensen gjennomføres med  $TR \ll T_1$  og  $TE \ll T_2^*$  samt en tilstrekkelig stor flippvinkel  $\alpha$  fremgår det fra likning (12) at signalintensiteten  $S$  i vevet eller vokselen vil

være tilnærmet proporsjonal med  $S_0TR/T_1$  [41].

Såfremt antagelsen om *fast exchange* gjelder har vi dermed en tilnærmet lineær respons på kontrastmiddelet og signalet  $S$  vil være proporsjonal med kontrastmiddelkonsentrasjonen  $C$  [41]:

$$S \propto r_1 C + \frac{1}{T_{10}} \quad (13)$$

der kontrastmiddelets relaksivitet  $r_1$  er en konstant og spinn-gitter-relaksasjonstiden til vevet  $T_{10}$  antas å være homogen i området som undersøkes.

Dette gjør det mulig å knytte den relative signaløkningen  $RSI(t)$  til konsentrasjonen av kontrastmiddel  $C(t)$  i hver voksel. Likning (13) innsatt i likning (10) gir følgende sammenheng, forutsatt at konsentrasjonen av kontrastmiddel i vevet er lik null ved tiden  $t = 0$ :

$$RSI(t) = r_1 C(t) T_{10} \quad (14)$$

Fordi kontrastmiddelkonsentrasjonen  $C(t)$  er knyttet til karnettverkets permeabilitet og blodgjennomstrømning, vil  $RSI(t)$  under de gitte forutsetningene gi en vokselvis beskrivelse av hvordan disse egenskapene varierer over tumor [8]. For å gi en mer kvantitativ beskrivelse av egenskapene til vevet som avbildes benyttes farmakokinetisk analyse basert på DCE-MRI [10].

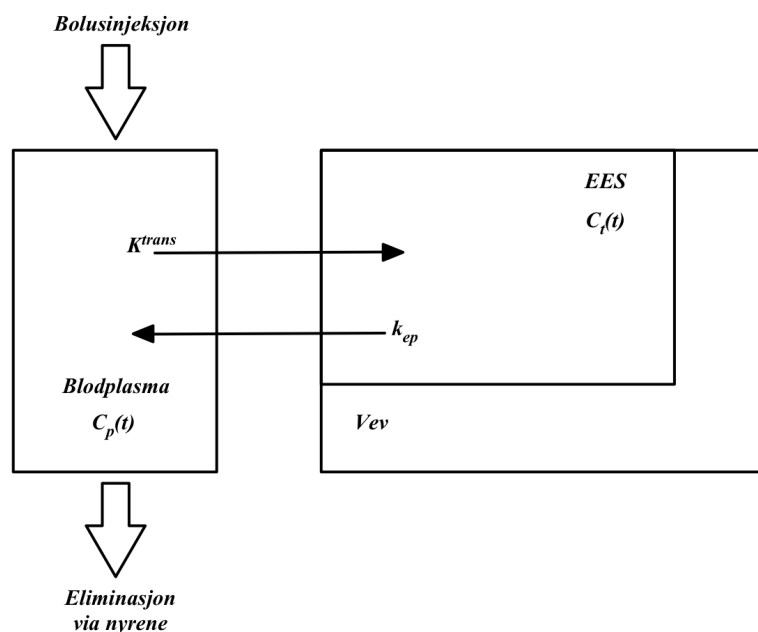
### 2.3 Farmakokinetiske modeller

Farmakokinetikk gir ved hjelp av matematiske modeller en kvantitativ beskrivelse av hvordan legemidler beveger seg gjennom kroppen ved absorpsjon, distribusjon og eliminasjon. Tradisjonell modelleringen bygger på en rominndeling av vev og organer der hvert enkelt rom har liknende kinetiske egenskaper. Transporten av et legemiddel mellom ulike rom antas å være gitt ved første ordens ratekonstanter [12].

I forbindelse med DCE-MRI benyttes farmakokinetiske modeller for å beregne modellparametere som kan gi en kvantitativ beskrivelse av vevets fysiologiske egenskaper,

som perfusjon og permeabilitet i karnettverket. Fordi den dynamiske bildeserien gir vokselvis informasjon om signalforsterkningen i vevet kan den enkelte voksel betraktes som en separat enhet med potensielt unike kinetiske egenskaper og modellparameterne kan estimeres for hver enkelt voksel [10]. Dette gjør det mulig å gi en kvantitativ beskrivelse av heterogeniteten i vevet som undersøkes [8]. Modellparameterne antas å være konstante i tidsrommet som modellen baserer seg på, det vil si under varigheten av DCE-MRI-undersøkelsen [11].

Det er utviklet flere farmakokinetiske modeller spesielt tilpasset kontrastmidelets fordeling i kroppen under DCE-MRI [13, 14, 44]. De mest brukte modellene baserer seg på Ketys toromsmodell [10, 45]. Kontrastmidler som Gd-DTPA kan diffundere gjennom kapillærveggene men ikke trenge inn i cellene. Dermed kan kontrastmidelet kun oppholde seg i to rom, nemlig blodplasma og den delen av vevet som ikke er celler (EES) [43]. Den totale konsentrasjonen av kontrastmiddel i vevet, eller vokslene, som avbildes vil altså avhenge av kontrastmiddel i blodplasma og EES. I mange typer vev vil karnettverket utgjøre en så liten andel av det totale volumet at kontrastmiddel i blodplasma har en ubetydelig effekt på signaløkningen i den dynamiske bildeserien. Kontrastmidelets konsentrasjon i vevet kan da tilnærmes konsentrasjonen av kontrastmiddel i EES [10]. Denne tilnærmingen gir toromsmodellen som er skissert i figur 10, der blodplasma er skilt ut fra vevet.



**Figur 10:** Toromsmodell for fordelingen av kontrastmiddel i kroppen ved en bolusinjeksjon. Kontrastmidler som Gd-DTPA kan kun oppholde seg i og utveksles mellom blodplasma og det ekstravaskulære ekstracellulære rommet EES. Overføring mellom blodplasma og EES er definert av ratekonstantene  $K^{trans}$  og  $k_{ep}$ , mens de tidsavhengige konsentrasjonene av kontrastmiddel i blodplasma og i vevet er beskrevet av henholdsvis  $C_p(t)$  og  $C_t(t)$  [43]. Laget etter en figur av Tofts [46].

Konsentrasjon av kontrastmiddel i henholdsvis blodplasma og vevet betegnes som  $C_p(t)$  og  $C_t(t)$ , mens transporten av kontrastmiddel mellom blodplasma og EES karakteriseres av de to konstantene  $K^{trans}$  og  $k_{ep}$ . Overføringskonstanten  $K^{trans}$  gjelder transport av kontrastmiddel fra blodplasma til EES, mens ratekonstanten  $k_{ep}$  gjelder transport fra EES tilbake til blodplasma [43]. Fluksen for overføring mellom blodplasma og EES antas å være proporsjonal med forskjellen i  $C_p(t)$  og  $C_t(t)$ . Videre antas det at fordelingen av kontrastmiddel er homogen i henholdsvis blodplasma og EES samt at all transport mellom blodplasma og EES skjer gjennom nærliggende kapillærer, slik at det ikke er diffusjon av kontrastmiddel gjennom EES. I tillegg antas det at *fast exchange*-betingelsen er oppfylt [11].

En oversikt over ulike størrelser som inngår i de farmakokinetiske modellene som beskrives i dette avsnittet er gitt i tabell 2 [14, 43]. Tofts et al. [43] definerer  $K^{trans}$ ,  $k_{ep}$  og  $v_e$  som de grunnleggende modellparameterne. Overføringskonstanten  $K^{trans}$  og volumandelen av EES  $v_e$  er knyttet til den grunnleggende fysiologien og kan beregnes ut i fra kontrastmiddelets konsentrasjon, mens  $k_{ep}$  er gitt ved forholdet [43]:

$$k_{ep} = \frac{K^{trans}}{v_e} \quad (15)$$

Når bidraget fra kontrastmiddel som befinner seg i blodplasma neglisjeres vil konsentrasjonen av kontrastmiddel i vevet  $C_t(t)$  kun avhenge av kontrastmiddelkonsentrasjonen i EES  $C_e(t)$  og volumfraksjonen av EES  $v_e$  [43]:

$$C_t(t) = C_e(t)v_e \quad (16)$$

Den tidsavhengige utviklingen i kontrastmiddelets konsentrasjon i vevet er da gitt ved en generalisert kinetisk toromsmodell beskrevet i Tofts et al. [43]:

$$\frac{dC_t}{dt} = K^{trans} \left( C_p(t) - \frac{C_t(t)}{v_e} \right) = K^{trans} C_p(t) - k_{ep} C_t(t) \quad (17)$$

der  $C_p(t)$  er konsentrasjonen av kontrastmiddel i blodplasma.

Som det fremgår fra likning (17) vil den tidsavhengige utviklingen i kontrastmiddelets konsentrasjon i vevet  $C_t(t)$  kun være styrt av blodplasmakonsentrasjonen  $C_p(t)$  og de to modellparameterne  $K^{trans}$  og  $v_e$ .



**Tabell 2:** Oversikt over ulike størrelser som inngår i farmakokinetisk modellering av kontrastmiddelets fordeling i kroppen ved dynamisk kontrastforsterket MR-avbildning [14, 43].

Symbol	Enhet	Definisjon
$C_t(t)$	mM	Konsentrasjon av kontrastmiddel i vevet ved tiden $t$ .
$C_p(t)$	mM	Konsentrasjon av kontrastmiddel i blodplasma ved tiden $t$ .
$C_e(t)$	mM	Konsentrasjon av kontrastmiddel i EES ved tiden $t$ .
$K^{trans}$	$\text{min}^{-1}$	Overføringskonstant for transport av kontrastmiddel fra blodplasma til EES.
$v_e$	-	Volumfraksjon av EES i vevet, ( $v_e \in [0, 1]$ ).
$v_p$	-	Volumfraksjon av blodplasma i vevet.
$k_{ep}$	$\text{min}^{-1}$	Ratekonstant for transport av kontrastmiddel fra EES til blodplasma.
$k_{el}$	$\text{min}^{-1}$	Ratekonstant for eliminering av kontrastmiddel fra blodplasma.
$K_{in}$	$\text{mol}(\text{min}^{-1})$	Infusjonsrate for kontrastmiddelet.
$t_{in}$	min	Infusjonstid for kontrastmiddelet.
$V_p$	ml	Totalt volum av blodplasma.
$V_e$	ml	Totalt volum av EES.

### 2.3.1 Toftsmodellen

Det som gjerne kalles den utvidede Toftsmodellen ble introdusert av Tofts og Kermodé i 1991 [10, 13]. Modellen er utviklet for en bolusinjeksjon med kontrastmiddelet Gd-DTPA [13]. Når standard symboler som definert av Tofts et al. [43] anvendes er den utvidede Toftsmodellen gitt ved:

$$\frac{dC_t}{dt} - v_p \frac{dC_p}{dt} = K^{trans} C_p(t) - \left( \frac{K^{trans}}{v_e} \right) (C_t(t) - v_p C_p(t)) \quad (18)$$

der  $t$  er tiden og  $v_p$  er volumfraksjonen av blodplasma i vevet.

Denne utvidede toromsmodellen tar hensyn til kontrastmiddel som befinner seg i blodplasmadelen av vevet. Når volumfraksjonen av blodplasma i vevet  $v_p$  neglisjeres og det antas konstant permeabilitet i kapillærene for transport både inn og ut av EES, reduseres modellen til den generaliserte kinetiske modellen beskrevet i likning (17) og figur 10. Denne første ordens differensiallikningen kalles også for Toftsmodellen og har med initialbetingelsene  $C_t(t) = C_p(t) = 0$  ved tiden  $t = 0$  den generelle løsningen [10, 43]:

$$C_t(t) = K^{trans} \int_0^t C_p(t') e^{-\frac{K^{trans}}{v_e}(t-t')} dt' \quad (19)$$

der  $t$  er tiden etter injeksjon av kontrastmiddel og  $t'$  kan defineres som den gjennomsnittlige oppholdstiden til kontrastmiddelet i EES etter en bolusinjeksjon [43].

Toftsmodellen benytter en arteriell inputfunksjon  $AIF(t)$  for å beskrive kontrastmiddelets konsentrasjon i blodplasma  $C_p(t)$  i tiden etter injeksjonen [10, 11]. Etter en bolusinjeksjon med kontrastmiddel vil den maksimale konsentrasjonen i blodplasma nås raskt og det kreves en høy tidsoppløsning dersom bildematerialet skal benyttes til å bestemme den arterielle inputfunksjonen. Det er utfordrende å måle  $AIF(t)$  og det er derfor ikke uvanlig å benytte en populasjonsbasert arteriell inputfunksjon der en gjennomsnittlig  $AIF(t)$  for en lignende pasientgruppe benyttes [10].

For en SPGR-sekvens med tilstrekkelig kort repetisjons- og ekkotid uttrykkes sammenhengen mellom den relative signaløkningen  $RSI(t)$  og Toftsmodellen da som følger [22]:

$$RSI(t) = K^{trans} AIF(t) \otimes e^{-\frac{K^{trans}}{v_e}t} \quad (20)$$

der  $AIF(t)$  er den arterielle inputfunksjonen.

Med ikke-lineær kurvetilpasning kan Toftsmodellen tilpasses  $RSI(t)$  i hver tumorvoksel slik at modellparameterne  $K^{trans}$  og  $v_e$  estimeres for hver voksel [11]. Volumfraksjonen av EES  $v_e$  er andelen av vevet som ikke er celler og gir dermed informasjon om celletettheten. Følgelig er andelen av vevet som består av celler gitt ved  $1 - v_e$  [47]. Den fysiologiske tolkningen av overføringskonstanten  $K^{trans}$  er vevsavhengig. For tumor er permeabiliteten i kapillærene normalt høy slik at  $K^{trans}$  beskriver en kombinasjon av kapillærenes

blodgjennomstrømning, permeabilitet og overflateareal i vevet som undersøkes. Dersom kapillærenes permeabilitet er svært høy defineres  $K^{trans}$  som blodgjennomstrømningen av blodplasma i kapillærene per enhetsvolum av vevet som undersøkes [43, 46].

### 2.3.2 Brixmodellen

Brix et al. [14] utviklet samtidig med Tofts og Kermode [13] en alternativ toromsmodell for fordelingen av kontrastmiddel i vevet etter en intravenøs injeksjon med Gd-DTPA. I Brixmodellen er det ett sentralt blodplasmareservoar og hver veksle betraktes som et perifert rom bestående av EES, som utveksler kontrastmiddel med det sentrale reservoaret [14]. Rominndelingen i Brixmodellen er i prinsippet den samme som vist i figur 10. Brixmodellen beskriver vevsresponsen ved en injeksjon gitt med konstant infusjonsrate, men modellen kan tilpasses slik at den også gjelder bolusinjeksjoner [11].

Dersom den opprinnelige notasjonen til Brix et al. [14] suppleres med standardiserte størrelser gitt i Tofts et al. [43] kan endringen i konsentrasjonen av kontrastmiddel i henholdsvis blodplasma og vevet uttrykkes med følgende differensiallikninger:

$$\frac{dC_p}{dt} = \frac{K_{in}}{V_p} - k_{el}C_p(t) \quad (21)$$

$$\frac{dC_t}{dt} = k_{ep}(v_e C_p(t) - C_t(t)) \quad (22)$$

der  $K_{in}$  er infusjonsraten for kontrastmiddelet,  $k_{el}$  er ratekonstanten for eliminasjon av kontrastmiddel fra blodplasma og  $V_p$  er det totale volumet av blodplasma.

Begge de ovenstående differensiallikningene er forenklet. De mer generelle differensiallikningene er gitt i Brix et al. [14]. Likning (21) forutsetter at det totale volumet av blodplasmareservoaret  $V_p$  er mye større enn volumet av EES  $V_e$  i vevet som undersøkes, slik at transport til og fra EES ikke har noen betydning for endringen i kontrastmiddelets konsentrasjon i blodplasma [14]. Likning (22) forutsetter at permeabiliteten til kapillærveggene er konstant for transport inn og ut av EES samt at kontrastmiddel i blodplasma ikke bidrar til konsentrasjonen av kontrastmiddel i vevet  $C_t(t)$  (jf. likning(16)). Under disse forutsetningene er likning (22) identisk med den generaliserte kinetiske modellen.

De to forenklede differensiallikningen har følgende løsninger gitt initialbetingelsene  $C_t(t) = C_p(t) = 0$  ved tiden  $t = 0$ :

$$C_p(t) = \frac{K_{in}}{V_p k_{el}} (e^{-k_{el} t_{in}}) e^{-k_{el} t} \quad (23)$$

$$C_t(t) = \frac{K_{in} v_e}{V_p} \frac{k_{ep}}{k_{ep} - k_{el}} \left( \frac{e^{k_{el} t_{in}} - 1}{k_{el}} e^{-k_{el} t} - \frac{e^{k_{ep} t_{in}} - 1}{k_{ep}} e^{-k_{ep} t} \right) \quad (24)$$

der  $t_{in}$  er infusjonstiden for kontrastmiddelet. Løsningene i likning (23) og (24) er gyldige etter at kontrastmiddelet er gitt, det vil si for  $t > t_{in}$  [14, 20].

Når kontrastmiddelet gis som en bolusinjeksjon vil infusjonstiden  $t_{in}$  være svært kort slik at  $k_{el} t_{in} \ll 1$  og  $k_{ep} t_{in} \ll 1$ . Dermed kan Brixmodellen tilpasses til bolusinjeksjoner ved å benytte tilnærmingene [11]:

$$e^{k_{el} t_{in}} \approx 1 + k_{el} t_{in} \quad (25)$$

$$e^{k_{ep} t_{in}} \approx 1 + k_{ep} t_{in} \quad (26)$$

Løsningene på differensiallikningene i likning (23) og (24) kan med disse tilnærmingene forenkles til:

$$C_p(t) = \frac{t_{in} K_{in}}{V_p} e^{-k_{el} t} \quad (27)$$

$$C_t(t) = \frac{t_{in} K_{in} v_e}{V_p} \frac{k_{ep}}{k_{ep} - k_{el}} (e^{-k_{el} t} - e^{-k_{ep} t}) \quad (28)$$

Brixmodellen benytter altså ikke noen arteriell inputfunksjon  $AIF(t)$  for å bestemme den tidsavhengige utviklingen i konsentrasjonen av kontrastmiddel i blodplasma  $C_p(t)$ , men innfører i stedet modellparameteren  $k_{el}$  som er en første ordens ratekonstant og beskriver eliminering av kontrastmiddel fra blodplasma (jf. likning (27)) [11, 14]. Heterogeniteten til karnettverket i tumor vil gjøre at det sentrale blodplasmareservoaret oppleves forskjellig for ulike deler av tumor og  $k_{el}$  kan estimeres vokselvis [14, 20].

Forutsatt at den dynamiske bildeserien tas med en SPGR-sekvens med tilstrekkelig kort repetisjons- og ekkotid, vil sammenhengen mellom den relative signaløkningen  $RSI(t)$  og kontrastmiddelets konsentrasjon  $C_t(t)$  være gitt ved likning (14). Dette gir følgende uttrykk for  $RSI(t)$ :

$$RSI(t) = \frac{Ak_{ep}}{k_{el} - k_{ep}} (e^{-k_{ep}t} - e^{-k_{el}t}) \quad (29)$$

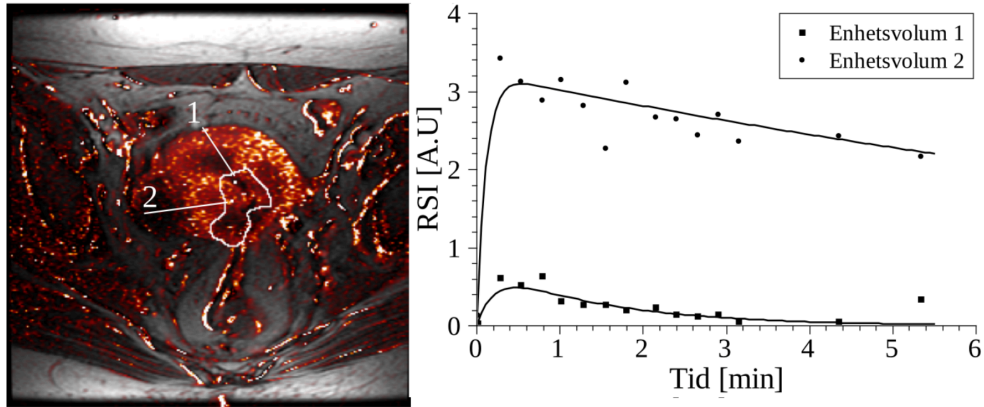
$A$  kalles amplituden og er gitt ved:

$$A = \frac{T_{10} K_{in} t_{in} v_e}{\tau_1 V_p} \quad (30)$$

der  $T_{10}$  er tidskonstanten for vevets spinn-gitter-relaksasjon før injeksjon av kontrastmiddel og  $\tau_1$  er tidskonstanten for spinn-gitter-relaksasjonen til kontrastmiddelet.

På tilsvarende måte som for Toftsmodellen kan Brixmodellen nå tilpasses den relative signaløkningen  $RSI(t)$  i hver tumorvoksel med ikke-lineær kurvetilpassning. Slik kan de tre Brixparameterne  $A$ ,  $k_{el}$  og  $k_{ep}$  estimeres vokselvis [14, 22]. Ratekonstanten for eliminasjon av kontrastmiddel fra blodplasma  $k_{el}$  vil avhenge av blodgjennomstrømningen i den enkelte vokselen [20], mens  $k_{ep}$  er gitt ved forholdet  $K^{trans}/v_e$  og er et uttrykk for en kombinasjon av karnettverkets egenskaper og andelen celler i vokselen [14, 43]. Amplituden  $A$  vil gjenspeile graden av kontrastforsterkning og er styrt av vevsspesifikke størrelser, som den iboende relaksasjonstiden til vevet  $T_{10}$  og andelen av EES i vokselen  $v_e$  [14].

Et eksempel på en ikke-lineær kurvetilpassning der Brixmodellen er tilpasset  $RSI(t)$  er vist i figur 11. I dette tilfellet er den relative signaløkningen  $RSI(t)$  i hver voksel beregnet ut ifra den gjennomsnittlige signalintensiteten i et 4-naboskap av vokslar. Slik reduseres støy i den dynamiske bildeserien [19].



**Figur 11:** Bildet til venstre viser den relative signaløkningen RSI i et postkontrastbilde tatt to minutter ut i en dynamisk MRI-serie. De lyse fargede områdene angir den kraftigste kontrastforsterkning. Tumorkonturen og to enhetsvolum er markert i hvitt. Til høyre vises tidsutviklingen i RSI for de to enhetsvolumene, som opplever ulik grad av kontrastforsterkning. De heltrukne linjene viser Brixmodellen tilpasset RSI(t) i hvert av enhetsvolumene. Figuren er hentet fra Andersen [20].

### 3. Materialer og metoder

#### 3.1 Programvare

MATLAB<sup>®</sup> versjon R2014b med tilleggspakken *Statistics and Machine Learning Toolbox* versjon 9.1 benyttes til klyngeanalyse og annen databehandling [48]. I tillegg anvendes PLS\_Toolbox versjon 7.9.3 sammen med MATLAB<sup>®</sup> til å utføre multivariat analyse [49]. Programvaren R versjon 3.1.2 med pakken *survival* benyttes til all overlevelsesanalyse [50].

#### 3.2 Pasientgruppe og bildemateriale

Grunnlaget for datasettene som analyseres i denne oppgaven er DCE-MRI av 81 pasienter med lokalavansert livmorhalskreft. Pasientene ble rekruttert til studien ved Radiumhospitalet i perioden 2001 til 2004. Tabell 3 gir en oversikt over pasientenes FIGO-stadium samt de kliniske parameterne alder og tumorvolum ved diagnostidspunktet. Den dynamiske bildeserien ble tatt i forkant av behandlingsoppstart. Samtlige pasienter mottok så kurativ behandling i form av kombinert stråleterapi og kjemoterapi. I etterkant av behandlingen er pasientene fulgt opp jevnlig med kliniske undersøkelser [23].

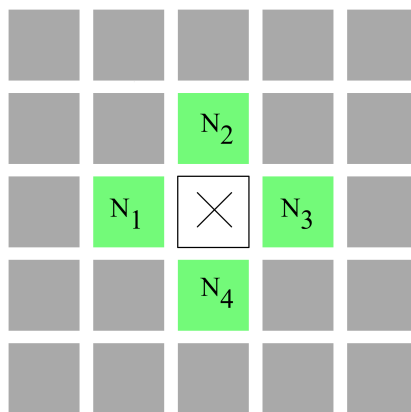
**Tabell 3:** Tabellen viser en oversikt over pasientenes FIGO-stadium, samt de kliniske parameterne alder og tumorvolum, ved diagnostidspunktet. Dataene er hentet fra [23].

FIGO-stadium		Antall pasienter	
I		2	
II		44	
III		29	
IV		6	
Kliniske parametere			
Alder		Tumorvolum	
Median	57 år	Median	32 cm <sup>3</sup>
Område	32-85 år	Område	1-160 cm <sup>3</sup>

Pasientene gjennomgikk standard MR-avbildning, i tillegg til aksial DCE-MRI. En aksial  $T_2$ -vektet bildeserie (*fast* spinn-ekko sekvens) ble benyttet til inntegning av tumorkonturene. Inntegningen ble utført manuelt av en erfaren radiolog. Tumorvolumet ble så overført til de dynamisk kontrastforsterkede bildene. DCE-MRI ble utført med en  $T_1$ -vektet FSPGR-sekvens (*Fast Spoiled Gradient Recalled*) bestående av totalt 14 avbildninger. Den første av de 14

avbildningene ble utført før injeksjon av kontrastmiddel, mens de øvrige 13 ble utført i etterkant av en rask bolusinjeksjon med kontrastmiddelet Gd-DTPA (Magnevist<sup>®</sup>) [23].

Varigheten av den dynamisk kontrastforsterkede avbildningen var for hver pasient totalt 5 minutter. De 11 første postkontrastavbildningene ble utført med en tidsoppløsning på 15 sekunder, mens de 2 siste avbildningene ble gjort med 1 minutt mellomrom [22]. Hvert bilde i bildeseriene svarer til ett snitt av vevet som undersøkes, totalt er 9 snitt avbildet per pasient [25]. Tykkelsen til disse snittene er 5 mm, mens det er lagt inn et gap på 1 mm mellom hvert snitt [23]. Bildematrixene består av  $256 \times 256$  bildeelementer, der hvert bildeelement tilsvarer en voksel med størrelsen  $0,78 \text{ mm} \times 0,78 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$  [23, 25]. For å redusere støy i bildematerialet ble hvert bilde i den dynamisk kontrastforsterkede bildeserien glattet ved å tilegne hver voksel en verdi lik gjennomsnittet av intensitetsverdiene til vokselen og dens 4-naboskap [21]. Figur 12 illustrerer en sentral voksel og dens 4-naboskap i bildematrixen.



**Figur 12:** Illustrasjon av en sentral voksel i bildematrixen og denne vokselens 4-naboskap (vist i grønt). Bildene i den dynamiske bildeserien ble forbehandlet ved at hver voksel ble tilegnet en intensitetsverdi lik gjennomsnittsverdien til vokselen og dens 4-naboskap. Slik reduseres støy i den dynamiske bildeserien.

### 3.3 Datasett

Tre ulike datasett basert på den dynamisk kontrastforsterkede MR-avbildningen analyseres. Disse tre datasettene inneholder data for henholdsvis den relative signaløkningen  $RSI(t)$ , Toftsmodellen og Brixmodellen. Alle de tre datasettene foreligger som MATLAB *cell arrays* med dimensjonene  $81 \times 1$ , slik at data for hver enkelt pasient er lagret i en separat celle. Cellenes radnummer svarer til pasientnummer og er konsistent for de tre datasettene. Datasettene inneholder kun data for selve tumorvolumet, noe som varierer fra pasient til pasient. Derfor vil cellene inneholde data for et ulikt antall bildesnitt og vokslar.



I tillegg til de tre datasettene som er basert på DCE-MRI-undersøkelsene foreligger det data for behandlingsutfallet til pasientene. Disse dataene er beskrevet i avsnitt 3.3.3 og anvendes i forbindelse med overlevelsesanalysen.

### 3.3.1 Data for $RSI(t)$

Dette datasettet inneholder den relative signaløkningen  $RSI(t)$  i hver tumorvoksel, beregnet for avbildning i den dynamiske avbildningen (jf. likning (10)) [22]. Hver avbildning svarer som kjent til et tidspunkt  $t$ , slik at datasettet gir den tidsavhengige utviklingen i  $RSI(t)$  etter injeksjonen med kontrastmiddel. For enkelte av de 81 pasientene er antallet avbildninger, eller tidssteg, lavere enn forventet. Det laveste antallet er 10 tidssteg. Datasettet inneholder også vokslenes  $x$ ,  $y$  og  $z$ -koordinater, der  $z$ -koordinaten svarer til det aktuelle bildesnittet. Dataene for  $RSI(t)$  gjelder et noe lavere antall vokslar enn dataene for Tofts- og Brixmodellen ( $\sim 4\%$  færre vokslar totalt sett). Årsaken til dette er at data for  $RSI(t)$  ikke ble hentet ut samtidig med tilpasningen av de farmakokinetiske modellene. I mellomtiden ble det gjort mindre endringer i skriptet som ble anvendt, slik at tumorkonturene ble tolket noe annerledes enn ved tilpasningen av Tofts- og Brixmodellen [51]. Det antas at forskjellen i antall vokslar ikke har noen betydning for analysen eller eventuell sammenligning av analyseresultatene for de tre datasettene.

### 3.3.2 Data for Tofts- og Brixmodellen

De farmakokinetiske modellene Tofts- og Brixmodellen er tilpasset den relative signaløkningen  $RSI(t)$  i hver tumorvoksel og deres respektive modellparametere er estimert vokselvis som beskrevet i avsnitt 2.3.1 og 2.3.2 [22]. Datasettene for henholdsvis Tofts- og Brixmodellen inneholder det samme antallet tumorvokslar og vokslenes  $x$ ,  $y$  og  $z$ -koordinater er identisk ordnet.

Datasettet for tilpasningen av Toftsmodellen inneholder estimatene for Toftsparameterne  $K^{trans}$  og  $v_e$ . I tillegg inneholder datasettet parameterens standardavvik i modelltilpasningen samt størrelsene  $stat$  og  $R^2$ , som gir informasjon om kvaliteten på kurvetilpasningen for hver voksel. På grunn av bildeartefakter og lav tidsoppløsning i den dynamiske bildeserien ble det benyttet en populasjonsbasert arteriell inputfunksjon  $AIF(t)$  i tilpasningen [21]. De to

Toftsparameterne ble begrenset til henholdsvis  $0 \leq v_e \leq 1$  og  $0 \leq K^{trans}$ , men fikk utover dette variere fritt i tilpasningen [22].

Datasettet for tilpasningen av Brixmodellen inneholder de estimerte Brixparameterne  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  sammen med parameterenes standardavvik i modelltilpasningen. Kvikvadratverdien for modelltilpasningen og størrelsen  $fit\_status$  er også gitt for hver tumorvoksel. Disse to størrelsene angir kvaliteten på modelltilpasningen [19]. Videre inneholder datasettet  $x$ ,  $y$  og  $z$ -koordinatene til hver tumorvoksel. Brixparameterne er i tilpasningen til  $RSI(t)$  begrenset til positive verdier slik at  $A, k_{ep}, k_{el} \geq 0$ , men har fått variere fritt utover dette [22].

### 3.3.3 Overlevelsesdata

I datasettet *PasientInfo* er de to behandlingsutfallene lokaltumorkontroll (*Locoregional Control, LRC*) og progresjonsfri overlevelse (*Progression Free Survival, PFS*) angitt som binære data. Progresjonsfri overlevelse betyr at pasienten ikke har hatt tilbakefall av kreftsykdommen etter behandling, hverken lokalt eller i form av metastaser (spredning). I dette tilfellet er  $PFS = 0$ . Dersom pasienten har opplevd noen form for tilbakefall er derimot  $PFS = 1$ . Lokal tumorkontroll (*LRC*) angir om et eventuelt tilbakefall er lokalt eller ikke. Dersom pasienten har lokalt tilbakefall av kreftsykdommen er  $LRC = 1$ , i alle andre tilfeller er  $LRC = 0$ .

De binære dataene for progresjonsfri overlevelse og lokaltumorkontroll gir implisitt informasjon om tilbakefall i form av metastaser. Behandlingsutfallene for pasientgruppen er oppsummert i tabell 4. I tillegg til de binære dataene er tidspunktene for tilbakefall, eller siste registrerte oppfølging uten tilbakefall, gitt i datasettet. For 6 av pasientene er ikke disse tidspunktene kjent, og dermed er tiden satt lik *NaN (Not a Number)*. Disse 6 pasientene er ekskludert i overlevelsesanalysen. For de øvrige pasientene er median oppfølgingstid lik 62 måneder.

**Tabell 4:** Tabellen viser behandlingsutfallet for de 81 pasientene i pasientgruppen, etter en median oppfølgingstid på 62 måneder. Forkortelsene *PFS* og *LRC* står for henholdsvis progresjonsfri overlevelse og lokaltumorkontroll. *PFS* og *LRC* er gitt som binære data, som vist i tabellen.

Behandlingsutfall	Progresjonsfri overlevelse	Lokalt tilbakefall	Metastaser
	$PFS = 0$	$PFS = 1$ og $LRC = 1$	$PFS = 1$ og $LRC = 0$
Antall pasienter	49	9	23

## 3.4 Statistiske metoder

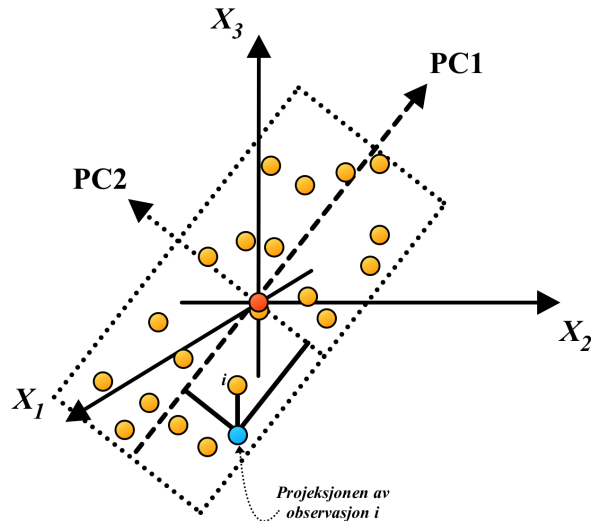
### 3.4.1 Prinsipalkomponentanalyse

Prinsipalkomponentanalyse (PCA) er en mye anvendt metode for å redusere antall dimensjoner i multivariate datasett, der observasjonene er beskrevet av et stort antall variabler [52]. En slik reduksjon i antallet dimensjoner kan gi bedre oversikt over strukturen i data og potensielt avdekke grupperinger av observasjoner, ekstremverdier (*outliers*) eller andre mønstre [53, 54]. Samtidig vil prinsipalkomponentanalysen synliggjøre sammenhenger mellom observasjoner og variabler, samt mellom de ulike variablene [53]. Reduksjonen i dimensjoner oppnås ved å erstatte de opprinnelige variablene med et lavere antall uavhengige (ortogonale) prinsipalkomponenter [52]. Prinsipalkomponentene er lineærkombinasjoner av de opprinnelige variablene med størst mulig varians [54]. Den første prinsipalkomponenten svarer til retningen med maksimal varians i data, mens de påfølgende prinsipalkomponentene defineres i retning av størst mulig varians underlagt kravet om ortogonalitet [53]. Figur 13 viser de to første prinsipalkomponentene for et tilfeldig datasett.

Forbehandling av de opprinnelige variablene kan ha stor innvirkning på resultatet av PCA. Den vanligste typen forbehandling er å standardisere variablene slik at de får standardavvik lik 1 og gjennomsnittsverdi lik 0 (autoskalering) [53]:

$$\mathbf{Z}_k = \frac{\mathbf{X}_k - \bar{X}_k}{\sigma_k} \quad (31)$$

der  $\mathbf{X}_k$  og  $\mathbf{Z}_k$  er vektorene med henholdsvis den opprinnelige og standardiserte variabelen, mens  $\bar{X}_k$  og  $\sigma_k$  er henholdsvis gjennomsnittet og standardavviket til den opprinnelige variabelen  $\mathbf{X}_k$ .



**Figur 13:** Figuren viser de to første prinsipalkomponentene PC1 og PC2 for en mengde observasjoner beskrevet av de tre variablene  $X_1$ ,  $X_2$  og  $X_3$ . Variablene er i figuren sentrert slik at origo faller sammen med variablenes gjennomsnittsverdier (vist i rødt). Den første prinsipalkomponenten svarer til retningen med maksimal varians i data. Projeksjonen av hver observasjon på planet som defineres av de to prinsipalkomponentene svarer til skårverdier på henholdsvis PC1 og PC2, som vist for observasjon nummer  $i$ . Laget etter en figur av Eriksson et al. [53].

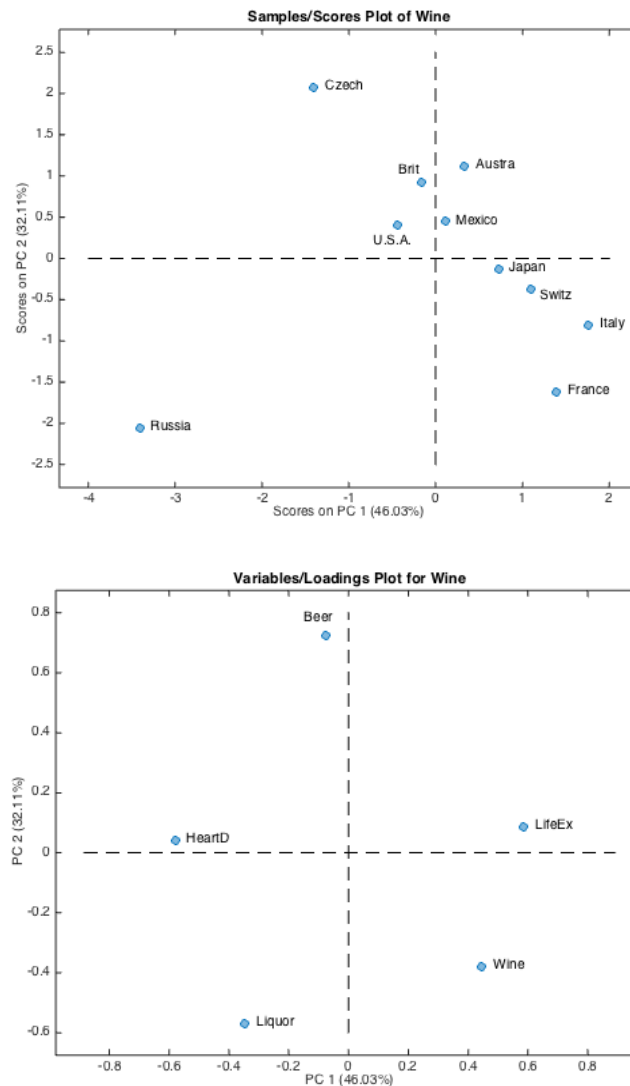
Sentreringen til gjennomsnitt lik 0 svarer til å forskyve koordinatsystemet slik at origo faller sammen med variablenes gjennomsnittsverdier. Skaleringen til standardavvik lik 1 innebærer at variabler med ulik enhet og rekkevidde gis den samme vekten i analysen. Slik unngås det at kun de variablene med stor rekkevidde og varians styrer den lineære transformasjonen [53].

Projeksjonen av hver observasjon ned på de ulike prinsipalkomponentene svarer til en koordinatverdi langs hver prinsipalkomponentakse, som vist i figur 13. Disse nye koordinatverdiene kalles skårer (*scores*). Den lineære transformasjonen resulterer også i et sett med ladninger (*loadings*), som viser hvordan de opprinnelige variablene bidrar til de nye prinsipalkomponentene. Sammenhengen mellom den opprinnelige datamatriksen  $X$  og de nye skår- og ladningsmatriksene kan uttrykkes som følger [53]:

$$X = TP^T + E \quad (32)$$

der  $T$  er skårmatrisen,  $P$  er ladningsmatrisen og  $E$  er residualmatrisen. Matriseproduktet  $TP^T$  modellerer strukturen i data for det valgte antallet prinsipalkomponenter, mens residualmatrisen  $E$  inneholder variasjonen i  $X$  som ikke inkluderes i modellen og antas å romme støyen i data [53].

PCA består ofte i grafisk tolkning av skår- og ladningsplott. Eksempler på slike plott er vist i figur 14. Skårplottet viser hvordan observasjonene plasserer seg i det transformerte koordinatsystemet, mens ladningsplottet viser de opprinnelige variabelenes posisjon.



**Figur 14:** Eksempel på skårplott (øverst) og ladningsplott (nederst) for et tilfeldig valgt datasett der variablene svarer til forbruk av vin, øl, brennevin samt forventet levealder og andel hjertesyrke for de ti ulike landene (observasjonene) vist i skårplottet [55]. Variablene er i ulike enheter og er derfor autoskalert i forbindelse med analysen. Laget med PLS\_Toolbox [49].

Observasjonenes innbyrdes avstand i skårplottet vil gi informasjon om hvor like objektene er. Skårplottet kan derfor vise grupperinger av like observasjoner eller objekter som skiller seg ut. Ladningsplottet viser forholdet mellom de ulike variablene og hvordan disse variablene påvirker PCA-modellen. Variabler som bidrar med lik informasjon vil være positivt korrelerte og ligger nærme hverandre i plottet. Dersom variablene derimot er negativt korrelerte vil de

plassere seg langt fra hverandre og i diagonalt motsatte kvadranter. Variablenes avstand til origo angir i hvilken grad de påvirker modellen, og innflytelsen på modellen øker med denne avstanden. Ved å undersøke skår- og ladningsplottene samtidig er det mulig å identifisere hvilke variabler som skiller enkeltobjekter eller grupper av objekter fra hverandre. Dersom observasjoner har høye verdier av en variabel vil deres plassering i skårplottet falle sammen med variabelens plassering i ladningsplottet. Det motsatte vil være tilfellet dersom et objekt har en lav verdi av en variabel [53].

### **Anvendelse av PCA i analysen av Toftsparameterne, Brixparameterne og $RSI(t)$**

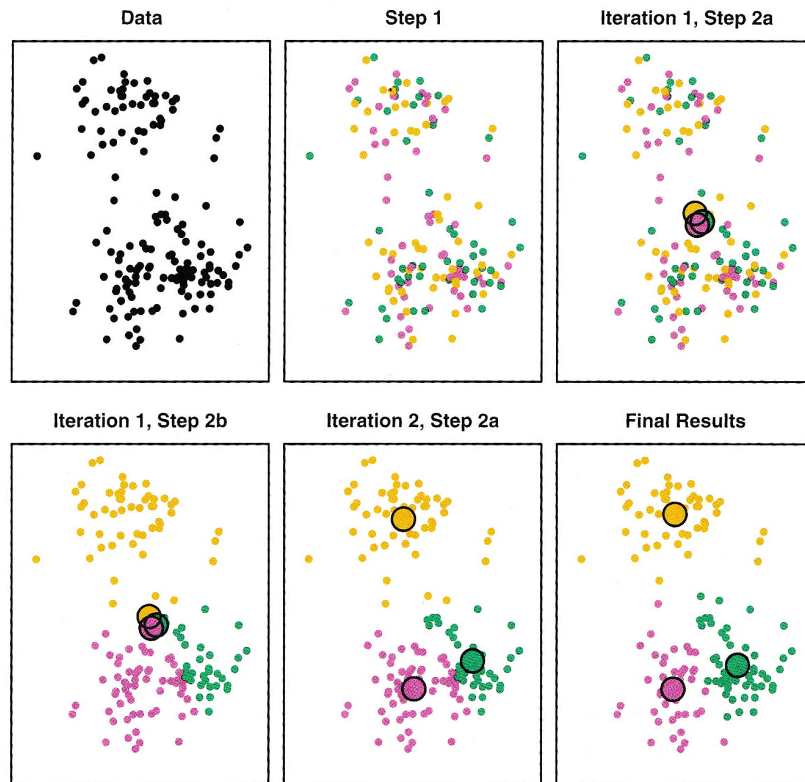
Datasettene for Toftsmodellen og Brixmodellen består av få variabler (modellparametere) for et stort antall observasjoner, mens data for  $RSI(t)$  består av flere variabler for omtrent det samme antallet observasjoner. Skårplott fra PCA av disse datasettene lar seg vanskelig tolke grafisk med hensyn på e.g. grupperinger i data, men kan benyttes til å se etter ekstremverdier. I analysen anvendes PCA primært for å (i) redusere antallet dimensjoner i data for  $RSI(t)$  og benytte skårene fra denne analysen i påfølgende klyngeanalyse, samt (ii) undersøke observasjonenes Tofts- og Brixparametere for å avdekke eventuell korrelasjon mellom de fem ulike modellparameterne (variablene)  $K^{trans}$ ,  $v_e$ ,  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$ . Dataene autoskaleres i forkant av analysen. Videre bestemmes antallet prinsipalkomponenter basert på et såkalt *scree*-plott, der egenverdiene til de ulike prinsipalkomponentene er fremstilt grafisk. Grensen for antallet prinsipalkomponenter settes lik komponenten som samsvarer med punktet i kurven der egenverdiene begynner å flate ut [54]. Dette tilsvarer å velge ut de prinsipalkomponentene som forklarer størst andel av variansen i den opprinnelige datamatriksen  $\mathbf{X}$ . I tillegg gjøres en kvalitativ vurdering av hvor stor andel av den totale variansen i  $\mathbf{X}$  som da er forklart av modellen.

### 3.4.2 Klyngeanalyse

Klyngeanalyse (*clustering*) viser til en rekke metoder som søker å dele observasjonene i et datasett inn i undergrupper, også kalt klynger. Disse undergruppene er ikke kjent på forhånd, og klyngeanalysen er derfor en såkalt uovervåket (*unsupervised*) statistisk metode [52]. Målet med inndelingen er å gruppere observasjonene slik at hver klynge inneholder objekter med like egenskaper, mens objektene som tilhører ulike klynger har relativt ulike egenskaper. En slik inndeling krever et kvantitativt mål på hvor like objektene som undersøkes er. Det eksakte målet som anvendes vil avhenge av dataene som undersøkes og den valgte metoden for klyngeanalysen [52, 56].

#### ***K-means* klyngeanalyse**

*K-means* klynging (*clustering*) er en av de mest kjente metodene for å utføre klyngeanalyse [52, 57]. På grunn av sin enkle form og raske konvergens er metoden mye brukt til klynging av store datasett [56, 57]. I *K-means* klynging deles observasjonene inn i  $K$  klynger, der antallet  $K$  må spesifiseres før algoritmen kjøres. Algoritmen gir innledningsvis hvert objekt et tilfeldig nummer fra 1 til  $K$  og beregner ut ifra dette sentrum til de ulike klyngene. Klyngesentrum er gitt som vektoren med gjennomsnittsverdiene til de ulike variablene som beskriver objektene i klyngen. Neste steg er å omfordele observasjonene slik at de får tilhørighet til klyngen med det nærmeste klyngesenteret [52]. Som mål på denne nærheten anvendes kvadratet av den euklidske avstanden mellom hver observasjon og klyngenes sentrum [57]. På grunnlag av denne omfordelingen av observasjoner beregnes nye klyngesentrum. Denne prosessen gjentas helt til klyngenes sentrum ikke endrer seg, det vil si til algoritmen konvergerer. *K-means* klynging innebærer at hver observasjon har en unik klyngetilhørighet, det vil si at hver observasjon har tilhørighet til én av de  $K$  klyngene [52]. De ulike stegene i *K-means*-algoritmen er skissert i figur 15, mens inndelingen av det samme datasettet i et ulikt antall klynger  $K$  er vist i figur 16.



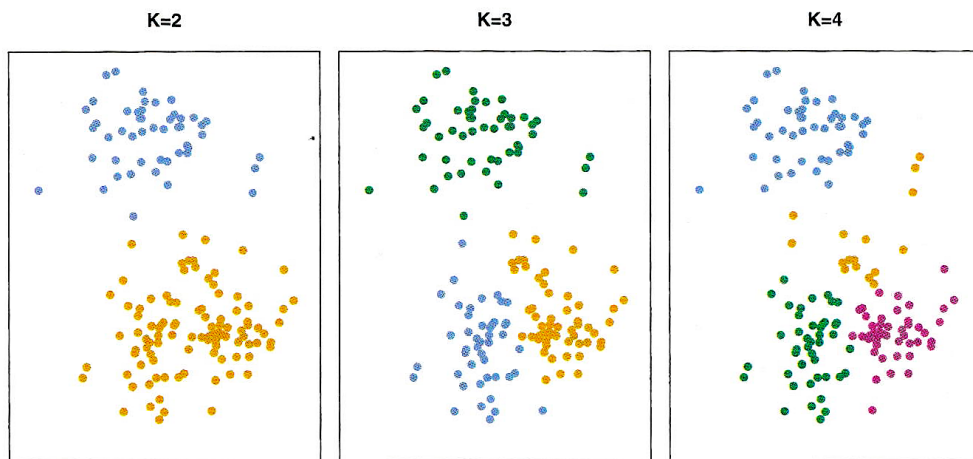
**Figur 15:** Figuren illustrerer de ulike stegene i *K-means* klynging. Øverst til venstre er datasettet som skal deles inn i  $K=3$  klynger. Steg 1 viser til den innledende tilfeldige fordelingen av observasjonene, mens klyngesentrene for denne fordelingen er beregnet i steg 2a og vist som tre store fargede sirkler. De påfølgende stegene består i at algoritmen itererer seg frem til den endelige fordelingen, ved å omfordele observasjonene etter nærheten til de ulike klyngenes gjennomsnittsverdi (sentrum). Den endelige løsningen er nådd når klyngenes sentrum ikke endrer seg fra en iterasjon til den neste. Figuren er hentet fra James et al. [52].

*K-means* klyngeanalyse baserer seg på at en god inndeling av observasjonene svarer til å gjøre variasjonen innad i klyngene så liten som mulig [52]. Når denne variasjonen defineres ved hjelp av kvadratet av euklidsk avstand vil *K-means*-algoritmen være en løsning på følgende optimaliseringsproblem [52, 56, 57]:

$$\text{minimer} \left\{ \frac{1}{2} \sum_{k=1}^K N_k \bar{S}_k \right\} = \text{minimer} \left\{ \sum_{k=1}^K \sum_{\forall x_i \in C_k} \|x_i - \mu_k\|^2 \right\} \quad (33)$$

der  $N_k$  og  $C_k$  viser til henholdsvis antallet og mengden av observasjoner i klynge  $k$ ,  $\bar{S}_k$  er den gjennomsnittlige variansen i klynge  $k$ ,  $x_i$  er observasjon nummer  $i$  som tilhører klynge  $k$  og  $\mu_k$  er klyngesentrum for klynge  $k$ .





**Figur 16:** Figuren illustrerer inndelingen av det samme datasettet i et ulikt antall klynger  $K=2,3,4$ . Klyngeinndelingen er utført med  $K$ -means klynging. Hentet fra James et al. [52].

$K$ -means garanterer ikke konvergens til globalt minimum og løsningen er derfor avhengig av den innledende fordelingen av observasjonene. Dette kan føre til at algoritmen konvergerer til ulike lokale minimum for det samme klyngeantallet  $K$ , noe som svarer til ulike inndelinger av observasjonene [57]. Det anbefales derfor at algoritmen kjøres gjentatte ganger med ulike tilfeldig valgte innledende fordelinger, før den beste løsningen på minimeringsproblemet velges ut [52].

### 3.4.3 Gjennomføring av $K$ -means klyngeanalyse

I gjennomføringen av  $K$ -means klyngeanalyse er det noen praktiske hensyn og avgjørelser som må tas, som kan ha innvirkning på resultatet av analysen [52]. Antallet klynger  $K$  som observasjonene deles inn i må bestemmes, noe som kan være utfordrende når grupperingen er ukjent [56]. I tillegg kan forbehandling av data i form av for eksempel standardisering ha innvirkning på klyngingen [52].  $K$ -means vil også være følsom for støy og ekstremverdier (*outliers*) i data. Fordi algoritmen gir alle observasjonene en klyngetilhørighet vil ekstremverdier kunne påvirke klyngesentrum og således den endelige inndelingen av observasjonene. Videre kan det være slik at veldig små klynger kun består av *outliers* [57]. Generelt er metoder for klynging ikke spesielt robuste for «endringer» i datasettet som undersøkes, det vil si at dersom en klynging gjentas for en tilfeldig utvalgt delmengde av det opprinnelige datasettet kan klyngeinndelingen endre seg betydelig. For å si noe om hvor robust en klynging er anbefales det derfor å gjenta klyngeanalysen på et utvalg av observasjonene, for å se om den samme inndelingen oppnås [52].

Pasientenes tumorvoklser utgjør observasjonene i analysen og grupperingen av vokslene utføres med *K-means* klynging basert på henholdsvis Toftsparameterne, Brixparameterne,  $RSI(t)$  og skårene fra PCA med  $RSI(t)$ . For hvert datasett som undersøkes gjentas klyngeanalysen med en inndeling i 2 til 6 klynger  $K$ . Videre kjøres algoritmen 30 ganger for hver verdi av  $K$ , hvorpå programvaren velger ut den beste av de 30 løsningene. Det maksimale antallet iterasjoner som algoritmen går igjennom settes høyt nok til at det oppnås konvergens for hver av de 30 replikasjonene. Innstillingene for kjøringen av *K-means*-algoritmen er gitt i vedlegg 7.1 (Matlab-skript).

Andersen et al. [22] og Halle et al. [24] ekskluderte tre av de 81 pasientene fra andre typer analyse basert på Tofts- og Brixparameterne, da modelltilpasningene for disse pasientene ble vurdert som for lite tilfredsstillende. I utgangspunktet inkluderes alle de 81 pasientene i denne analysen, men klyngingene basert på Toftsparameterne, Brixparameterne og  $RSI(t)$  gjentas på data der disse tre pasientene er ekskludert, for å undersøke hvilken effekt dette har på klyngingen. I tillegg vurderes robustheten til klyngingene basert på Toftsparameterne, Brixparameterne og  $RSI(t)$  der alle de 81 pasientene er inkludert, ved å gjenta analysen med tumorvokslene tilhørende pasientenes median bildesnitt, noe som utgjør  $\sim 20\%$  av den totale mengden observasjoner for samtlige datasett.

### Estimering av optimalt antall klynger

For å estimere det optimale antallet klynger som tumorvokslene deles inn i anvendes en metode som tar hensyn til den gjennomsnittlige avstanden mellom observasjonene og klyngesentrum i hver enkelt klynge  $MD_k$  samt den minimale avstanden mellom klyngesentrene  $d_{min}$  [56]. Metoden baserer seg på hvordan disse to størrelsene endrer seg med antall klynger  $K$  og anvender henholdsvis en funksjon for overpartisjon  $v_o$  og en funksjon for underpartisjon  $v_u$  gitt som følger [56]:

$$v_o(K, \boldsymbol{\mu}) = \frac{K}{d_{min}} = \frac{K}{\min_{i \neq j} \|\mu_i - \mu_j\|} \quad (34)$$

og

$$v_u(K, \boldsymbol{\mu}; \mathbf{X}) = \frac{\sum_{k=1}^K MD_k}{K} = \frac{\sum_{k=1}^K \sum_{x_i \in C_k} \frac{\|x_i - \mu_k\|}{N_k}}{K} \quad (35)$$

der  $\boldsymbol{\mu} = [\mu_{k=1}, \dots, \mu_{k=K}]^T$  er vektoren bestående av de ulike klyngenes klyngesentrum  $\mu_k$ ,  $\mathbf{X}$  er matrisen med alle observasjonene og  $K \in [2, K_{max}]$  er klyngeinndelingene som undersøkes.

Den gjennomsnittlige avstanden mellom observasjonene og klyngesentrum  $MD_k$  vil falle raskt når inndelingen av data går fra for få til for mange klynger. Samtidig vil den minste avstanden mellom klyngesentrum  $d_{min}$  være stor for data inndelt optimalt eller i for få klynger, mens  $d_{min}$  blir veldig liten når data er inndelt i for mange klynger. Dette innebærer at begge partisjonsfunksjonene  $v_u$  og  $v_o$  har lave verdier kun for den antatt optimale inndelingen av observasjonene. Dermed vil den estimerte optimale inndelingen opptre for antallet klynger  $K$  som gir den minste summen  $V_{sv}$  av de to normaliserte partisjonsvektorene  $\mathbf{V}_o^*$  og  $\mathbf{V}_u^*$ . Elementene i  $\mathbf{V}_o^*$  og  $\mathbf{V}_u^*$  er lik de normaliserte verdiene av henholdsvis over- og underpartisjonsfunksjonene  $v_o$  og  $v_u$  gitt ved [56]:

$$v_o^*(K, \boldsymbol{\mu}) = \frac{v_o(K, \boldsymbol{\mu}) - \min\{v_o(K, \boldsymbol{\mu})\}}{\max\{v_o(K, \boldsymbol{\mu})\} - \min\{v_o(K, \boldsymbol{\mu})\}} \quad (36)$$

og

$$v_u^*(K, \boldsymbol{\mu}; \mathbf{X}) = \frac{v_u(K, \boldsymbol{\mu}; \mathbf{X}) - \min\{v_u(K, \boldsymbol{\mu}; \mathbf{X})\}}{\max\{v_u(K, \boldsymbol{\mu}; \mathbf{X})\} - \min\{v_u(K, \boldsymbol{\mu}; \mathbf{X})\}} \quad (37)$$

der  $K \in [2, K_{max}]$  og hvert element  $v_u^*(K, \boldsymbol{\mu}; \mathbf{X})$  og  $v_o^*(K, \boldsymbol{\mu})$  er normalisert til en verdi i intervallet  $[0, 1]$ . Fremgangsmåten er vist i vedlegg 7.1 (Matlab-skript).

Metoden som er beskrevet her er én av en rekke metoder som er foreslått for å estimere den optimale klyngeinndelingen av observasjoner med en ukjent undergruppering [56, 57]. Det er ikke gitt at det estimerte optimale antallet klynger faller sammen med den grupperingen som gir den mest relevante informasjonen om data og James et al. [52] vektlegger at det er hensiktsmessig å undersøke grupperingene av data for flere verdier av  $K$ .

### Klynging basert på Toftsparameterne

Gjennomføringen av  $K$ -means klynging basert på Toftsparameterne består hovedsakelig i å reproducere resultatene fra Andersen et al. [21], som utførte  $K$ -means klyngeanalyse basert på det samme datasettet og fant signifikant sammenheng mellom én av klyngene og lokalt

tilbakefall. Andersen et al. [21] skrev *K-means*-algoritmen i IDL<sup>®</sup> og inkluderte samtlige 81 pasienter i sin analyse [58]. I utgangspunktet ble alle datapunktene inkludert i deres analyse, men på grunn av problemer med ekstremverdier av  $K^{trans}$  ble vokslers med  $K^{trans} > 1,5$  ekskludert [58]. Denne grenseverdien var et mer eller mindre vilkårlig valg, da en verdi av  $K^{trans}$  lik 1,5 vil være svært høyt fysiologisk sett [59]. Datasettet inneholder kun 253 vokslers med  $K^{trans} > 1,5$ . Disse vokslene har lave  $R^2$ -verdier for modelltilpasningen. Den andre Toftsparameteren  $v_e$  er som beskrevet tidligere begrenset til intervallet  $[0, 1]$  i tilpasningen av Toftsmodellen. Klyngingen gjennomføres i denne analysen både for data der (i) alle vokslers er inkludert og (ii) vokslers med  $K^{trans} > 1,5$  er ekskludert. Andersen et al. [21] fokuserte i overlevelsesanalysen på klyngingen med det antatt optimale antallet klynger, estimert som beskrevet i forrige avsnitt.

### **Klynging basert på Brixparameterne**

Innledende forsøk med klynging basert på Brixparameterne viser at tumorvokslene ikke danner reelle grupperinger når alle observasjonene inkluderes i analysen. I stedet dannes én dominerende klynge, mens de øvrige klyngene består av en ubetydelig mengde observasjoner. Dette skyldes ekstremverdier i datasettet. Som i Torheim [19] fjernes derfor unormalt høye verdier av Brixparameterne  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  i forkant av den videre analysen, ved å sette øvre grenser for parameterne slik at:

$$0 \leq A \leq 10, \quad 0 \leq k_{ep} \leq 12, \quad 0 \leq k_{el} \leq 0,5$$

Parameterverdier over disse grensene vil ikke gi mening fysiologisk sett og skyldes at modelltilpasningen ikke har konvergert innen det maksimale antallet iterasjoner [59].

Fordi det tillatte intervallet av  $k_{el}$  er mye lavere enn intervallene av de to øvrige Brixparameterne undersøkes også en standardisert versjon av datasettet. Standardiseringen gjøres ved å skalere de estimerte parameterne slik at de får standardavvik lik 1, og sentrere dem slik at de får gjennomsnittsverdi lik 0. Dette gir totalt to datasett basert på Brixparameterne som undersøkes i den videre klyngeanalysen.

### **Klynging basert på $RSI(t)$ og skårer fra PCA med $RSI(t)$**

I klyngeanalysen basert på den relative signaløkningen  $RSI(t)$  analyseres først og fremst data for de 10 første tidsstegene i den dynamiske avbildningen. Ved å velge ut dette minste antallet tidssteg inkluderes alle de 81 pasientene i analysen.  $RSI(t)$  for de 10 første tidsstegene utgjør også datagrunnlaget for PCA med  $RSI(t)$ , og det er skårene fra denne analysen som deretter grupperes med *K-means* klynging. Avslutningsvis undersøkes det om *K-means* klynging med et høyere antall tidssteg gir en annen gruppering av vokslene enn det som oppnås med de 10 første tidsstegene. Ved å ekskludere to pasienter fra analysen kan  $RSI(t)$  for totalt 13 tidssteg analyseres for de øvrige pasientene.

### **3.4.4 Overlevelsesanalyse**

Innen overlevelsesanalyse fokuseres det på tiden det tar før enkeltindividene som studeres opplever en bestemt hendelse. Denne tiden kalles individets overlevelsestid og måles fra et spesifisert startpunkt til et forhåndsdefinert endepunkt, som er felles for gruppen individer som undersøkes. Overlevelsesanalyse anvendes i mange ulike sammenhenger, slik at betegnelsen overlevelsestid ikke nødvendigvis viser til endepunktet død [60]. For pasientgruppen med livmorhalskreft er overlevelsestiden definert som tiden det tar fra diagnosen stilles til et bestemt behandlingsutfall opptrer.

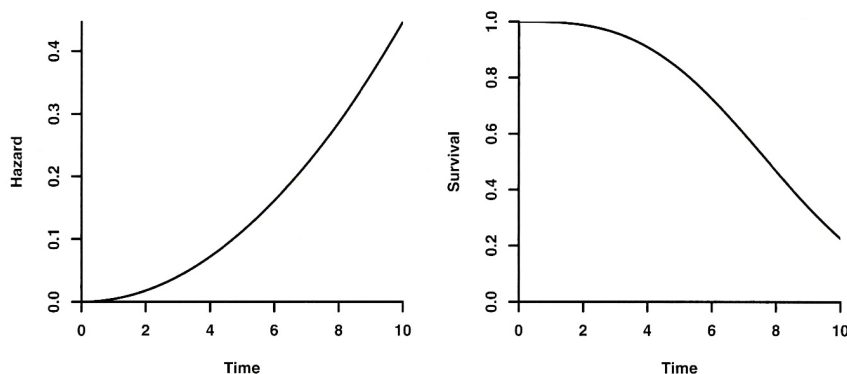
Som beskrevet i avsnitt 3.3.3 er det registrert overlevelsestider for lokalt tilbakefall og tilbakefall i form av metastaser (spredning) for de 81 pasientene i studien. Dette gir tre ulike endepunkter i overlevelsesanalysen, definert som henholdsvis lokalt tilbakefall, spredning og de to typene tilbakefall sett under ett. Disse tre endepunktene analyseres separat. For å undersøke om det er noen sammenheng mellom den relative størrelsen til tumorområdene som fremkommer i klyngeanalysen og behandlingsutfall, deles pasientene inn i to ulike grupper for hver klynge. Inndelingen gjøres etter median volumandel og gir to like store pasientgrupper med henholdsvis høy og lav volumandel av den enkelte klyngen. Disse pasientgruppene og deres overlevelsesdata utgjør datagrunnlaget i overlevelsesanalysen. Metoden for inndelingen av pasientene er gitt i vedlegg 7.1 (Matlab-skript), mens et eksempel på overlevelsesanalysen utført i R er vist i vedlegg 7.2.

Det som skiller overlevelsesanalyse fra de fleste andre typer statistisk analyse er at det definerte endepunktet ikke nødvendigvis opptrer for alle individene i løpet av tidsrommet undersøkelsen pågår. Det vil si at variabelen overlevelsestid ikke alltid er kjent. I medisinske studier skyldes slike ufullstendige observasjoner typisk at studien ikke har pågått lenge nok til å fange opp overlevelsestiden eller at individet trekker seg fra studien før et eventuelt endepunkt opptrer. I disse tilfellene sensureres overlevelsestiden ved tidspunktet der studien avsluttes eller ved tidspunktet for den siste kjente undersøkelsen av pasienten. Denne typen sensurering betegnes som høyresensurering, siden sensureringen innebærer å kutte tidsaksen på høyre side av startpunktet for oppfølgingen ( $t = 0$ ) [60].

De to fundamentale størrelsene innen overlevelsesanalyse er overlevelsesfunksjonen  $S(t)$  og risikofunksjonen  $h(t)$  [54, 60]. Disse to funksjonene er illustrert i figur 17. Risikofunksjonen  $h(t)$  gir den betingede sannsynligheten for at individet opplever endepunktet ved tiden  $t$ , gitt at det ikke har nådd endepunktet tidligere. Overlevelsesfunksjonen  $S(t)$  gir på sin side sannsynligheten for at et tilfeldig utvalgt individ ikke har opplevd det definerte endepunktet ved tiden  $t$  [60]. Overlevelsesfunksjonen  $S(t)$  kan uttrykkes som følger [60]:

$$S(t) = P(T > t) \quad (38)$$

der  $P$  viser til den ubetingede sannsynligheten for at overlevelsestiden  $T$  er større enn tiden  $t$ . For en pasientgruppe med sensurerte overlevelsesdata kan overlevelsesfunksjonen estimeres med Kaplan-Meier-estimatoren [60].



**Figur 17:** Illustrasjon av en risikofunksjon  $h(t)$  (til venstre) og den korresponderende overlevelsesfunksjonen  $S(t)$  (til høyre), for en gruppe individer som står i fare for å oppleve et forhåndsdefinert endepunkt [60]. Endepunktet kan for eksempel være definert som tilbakefall av kreftsykdom. Ved tiden  $t$  lik null vil ingen av individene ha opplevd endepunktet slik at risikofunksjonen er lik null, mens andelen overlevende er 100 % og overlevelsesfunksjonen  $S(t) = 1$ . Figuren er hentet fra Aalen et al. [60].

## Kaplan-Meier-estimatoren

Kaplan-Meier (KM) estimatoren, også kalt produkt-grense-estimatoren, gir et ikke-parametrisk estimat for overlevelsesfunksjonen til et utvalg individer med sensurerte overlevelsesdata [54]. At estimatet er ikke-parametrisk innebærer at det ikke baserer seg på antagelser om populasjonens sannsynlighetsfordeling [61]. Pasientgruppene som undersøkes er et utvalg på  $n$  individer fra populasjonen av kvinner med livmorhalskreft. Antallet endepunkter som observeres for disse  $n$  pasientene i tidsintervallet  $[0, t]$  vil være lik  $N(t)$ , mens  $Y(t)$  gir antallet pasienter som ennå ikke har opplevd endepunktet like før tiden  $t$ . Opptellingen av de  $N(t)$  endepunktene svarer til et sett ordnede overlevelsestider  $T_1 < T_2 < \dots < T_k$  [60].

Ved å dele tidsintervallet  $[0, t]$  inn i  $k$  små delintervaller  $0 = t_0 < t_1 < \dots < t_k = t$  og anvende multiplikasjonsregelen for betingede sannsynligheter kan overlevelsesfunksjonen  $S(t)$  uttrykkes som følger [60]:

$$S(t) = \prod_{i=1}^k S(t_i|t_{i-1}) \quad (39)$$

der  $S(t_i|t_{i-1}) = S(t_i)/S(t_{i-1})$  er den betingede sannsynligheten for at endepunktet vil opptre senere enn  $t_i$  gitt at det ikke har inntruffet ved tiden  $t_{i-1}$ .

Forutsatt at ingen individer har den eksakt samme overlevelsestiden og at overlevelsesdataene er høyresensurerte, kan hvert tidsintervall gjøres så lite at det maksimalt rommer ett endepunkt samtidig som eventuell sensurering legges til tidsintervallets øvre grense [60]. Dersom det ikke observeres noe endepunkt i intervallet  $\langle t_{i-1}, t_i \rangle$  vil estimatet for den betingede sannsynligheten  $S(t_i|t_{i-1})$  være lik 1. For et observert endepunkt ved overlevelsestiden  $T_j \in \langle t_{i-1}, t_i \rangle$  vil derimot estimatet for  $S(t_i|t_{i-1})$  være gitt som følger [60]:

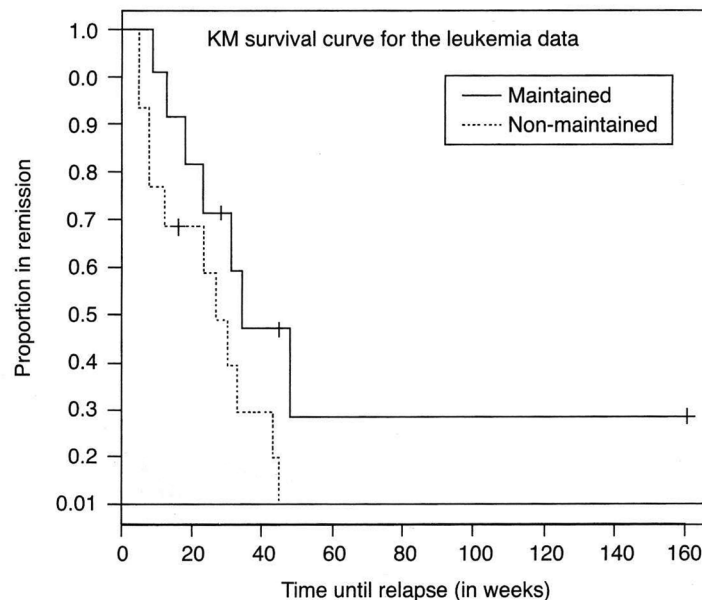
$$\hat{S}(t_i|t_{i-1}) = 1 - \frac{1}{Y(t_{i-1})} = 1 - \frac{1}{Y(T_j)} \quad (40)$$

der  $Y(T_j)$  er antallet pasienter som ikke har opplevd endepunktet ved tiden  $t_{i-1}$ .

Disse estimatene kombinert med uttrykket for overlevelsesfunksjonen  $S(t)$  i likning (39) gir følgende uttrykk for Kaplan-Meier overlevelsesestimatoren  $\hat{S}(t)$  [60]:

$$\hat{S}(t) = \prod_{T_j \leq t} \left\{ 1 - \frac{1}{Y(T_j)} \right\} \quad (41)$$

KM-estimatoren brukes til å gi en grafisk fremstilling av hvordan andelen overlevende i en pasientgruppe utvikler seg som en funksjon av oppfølgingstiden. Slike overlevelseskurver er også nyttige for å visualisere forskjellen i andelen overlevende for to eller flere ulike pasientgrupper [62]. KM-estimatorene for to forskjellige pasientgrupper er vist i figur 18. Som det fremgår fra figuren vil forskjellen mellom pasientgruppene overlevelseskurver variere med tiden. KM-estimatorene sammenlikner således ikke den totale forskjellen i andelen overlevende for de to gruppene [63]. For å avgjøre om forskjellen mellom overlevelseskurvene, eller andelen overlevende, er statistisk signifikant må statistiske hypotesetester benyttes [62].



**Figur 18:** Eksempel på Kaplan-Meier-estimatorer for to ulike pasientgrupper. Sensurerte pasienter i de to gruppene er indikert med kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Hentet fra Mills [62].



### **Log-rank-test for to pasientgrupper**

Den mest brukte hypotesetesten for å sammenlikne andelen overlevende i ulike pasientgrupper er *log-rank*-testen, også kalt Mantel-Haenszels test [62]. For å sammenlikne andelen overlevende i pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av de enkelte klyngene anvendes *log-rank*-testen for to grupper.

Generelt kan en hypotesetest for å sammenlikne to uavhengige grupper med overlevelsedata formuleres ved hjelp av de to pasientgruppens risikofunksjoner  $h_1(t)$  og  $h_2(t)$  [54]. Risikoforholdet mellom de to gruppene  $\psi = h_1(t)/h_2(t)$  gir følgende nullhypotese  $H_0$  og alternative hypotese  $H_1$  [54]:

$H_0: \psi = 1$  (risikoen i de to pasientgruppene er den samme).

$H_1: \psi \neq 1$  (risikoen er forskjellig for de to pasientgruppene).

Under nullhypotesen  $H_0$  vil de to pasientgruppene tilhøre den samme populasjonen og dermed ha den samme risikofunksjonen  $h(t)$  [63]. *Log-rank*-testen baserer seg på henholdsvis det observerte og forventede antallet endepunkter som opptrer i pasientgruppene som sammenliknes. For to pasientgrupper er testobservatoren  $\chi^{*2}$  under nullhypotesen  $H_0$  tilnærmet kjikvadratfordelt med  $2 - 1$  frihetsgrader og kan uttrykkes som følger [64]:

$$\chi^{*2} = \frac{(O_i - E_i)^2}{\text{Var}(O_i - E_i)} \sim \chi_1^2 \quad (42)$$

der  $i = 1, 2$  viser til enten pasientgruppe 1 eller 2 og  $\chi_1^2$  er kjikvadratfordelingen med 1 frihetsgrad. Videre er  $O_i - E_i$  gitt som summen av antallet observerte endepunkt  $m_{ij}$  minus antallet forventede endepunkt  $e_{ij}$  ved hvert tidspunkt  $T_{j=1}, \dots, T_{j=k}$  der et endepunkt opptrer [64]:

$$O_i - E_i = \sum_{j=1}^k (m_{ij} - e_{ij}) \quad (43)$$

Den estimerte variansen  $\text{Var}(O_i - E_i)$  beregnes ut ifra begge pasientgruppene og er ved sammenligning av to grupper gitt ved følgende uttrykk [64]:

$$\text{Var}(O_i - E_i) = \sum_{j=1}^k \frac{n_{1j}n_{2j}(m_{1j} + m_{2j})(n_{1j} + n_{2j} - m_{1j} - m_{2j})}{(n_{1j} + n_{2j})^2 (n_{ij} + n_{2j} - 1)} \quad (44)$$

der  $n_{ij}$  er antallet pasienter som står i fare for å oppleve endepunktet og  $m_{ij}$  er antallet pasienter som har opplevd endepunktet ved tiden  $T_j$  for pasientgruppene  $i = 1$  og  $i = 2$ . Summasjonen gjelder alle de  $k$  overlevelsestidene som registreres i løpet av oppfølgingstiden [64].

Ut ifra testobservatoren  $\chi^{*2}$  bestemmes *log-rank*-testens signifikanssannsynlighet (p-verdi). Nullhypotesen  $H_0$  kan forkastes dersom testobservatoren  $\chi^{*2}$  er større enn kjikvadratfordelingens kritiske verdi  $\chi_{1,\alpha}^2$  for det valgte signifikansnivået  $\alpha = 0,05$ . Dette svarer til å hevde at det er forskjellig risiko i de to pasientgruppene som sammenliknes, gitt at *log-rank*-testen gir en p-verdi som er mindre enn  $\alpha = 0,05$  [54].

### 3.4.5 Pearsons korrelasjonskoeffisient

For å undersøke om det er noen sammenheng mellom pasientenes totale tumorvolum og volumandelen av de ulike klyngene som identifiseres i klyngeanalysen anvendes Pearsons korrelasjonskoeffisient. For data bestående av de to variablene  $\mathbf{X}$  og  $\mathbf{Y}$  er Pearsons korrelasjonskoeffisient  $r$  definert som [54]:

$$r \equiv r_{XY} = \frac{s_{XY}}{s_X s_Y} \quad (45)$$

der  $s_X$  og  $s_Y$  er standardavvikene til henholdsvis  $\mathbf{X}$  og  $\mathbf{Y}$ , mens  $s_{XY}$  er kovariansen mellom  $\mathbf{X}$  og  $\mathbf{Y}$ . Koeffisienten  $r_{XY} \in [-1, 1]$  der ytterpunktene  $-1$  og  $1$  viser til henholdsvis total negativ og positiv lineær sammenheng mellom variablene [54].

Pasientenes totale tumorvolum og volumandelen av den enkelte klyngen svarer i analysen til variablene  $\mathbf{X}$  og  $\mathbf{Y}$ . Pearsons korrelasjonskoeffisient vil kun være et mål på den lineære sammenhengen mellom disse to størrelsene, og gir ingen informasjon om eventuelle ikke-lineære sammenhenger mellom tumorvolum og volumandelen av klyngene [54]. Den lineære sammenhengen mellom variablene  $\mathbf{X}$  og  $\mathbf{Y}$  kan vurderes med en hypotesetest. Nullhypotesen

$H_0$  sier da at det ikke er noen korrelasjon mellom variablene ( $r_{XY} = 0$ ), mens den alternative hypotesen  $H_1$  hevder at det er lineær sammenheng mellom variablene.

### 3.5 Romlig fordeling

Den romlige fordelingen til tumorvokslene i de ulike klyngene kan bidra til å gi informasjon om vokselgrupperingenes egenskaper. For de klyngene som viser sammenheng med behandlingsutfall i overlevelsesanalysen gjøres derfor en vurdering av vokslenes romlige fordeling over tumor. Fordi de fleste pasientene har størst andel av tumor i det midterste bildesnittet undersøkes mediansnittet for samtlige pasienter. Ved å beregne klyngenes gjennomsnittlige avstanden til  $xy$ -sentrum av dette bildesnittet, kan de mest opplagte trendene for klyngenes fordeling over mediansnittene undersøkes. Metoden for disse beregningene er gitt i vedlegg 7.1 (Matlab-skript). I tillegg kan klyngetilhørigheten til tumorvokslene avbildes for hvert bildesnitt, slik at klyngenes fordeling over tumor kan inspiseres visuelt. Dette utføres for et utvalg av mediansnittene. Til denne avbildningen anvendes et lånt Matlab-skript vist i vedlegg 7.1 (skriptet er brukt og gjengitt med tillatelse av Turid Torheim).

## 4. Resultater

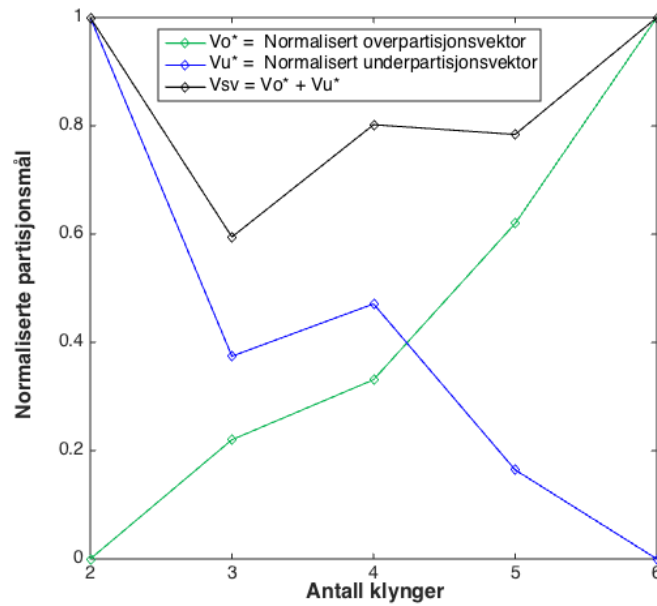
### 4.1 Analyse av Toftsparameterne

#### 4.1.1 *K-means* klyngeanalyse

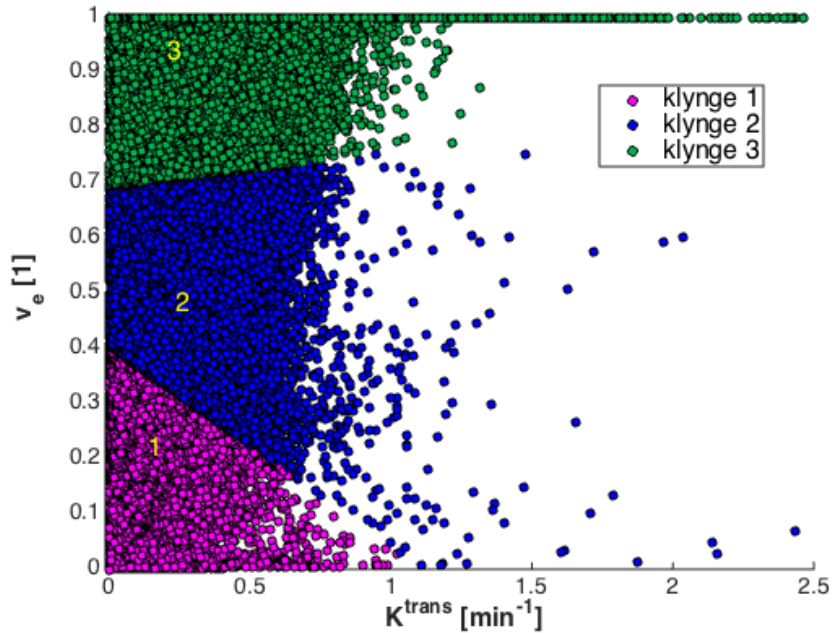
Grupperingen av tumorvokslene basert på Toftsparameterne ble innledningsvis testet med *K-means* klynging av data der (i) alle voksler er inkludert og (ii) alle voksler med  $K^{trans} > 1,5$  er fjernet. For *K-means* klynging med 2-6 klynger var grupperingene for de to datasettene tilnærmet identiske, det vil si at *K-means*-algoritmen ikke ble påvirket av de 253 datapunktene som hadde  $K^{trans} > 1,5$ . Den videre analysen av Toftsparameterne ble derfor basert på data der det ikke er satt noen øvre grense for  $K^{trans}$ .

Klyngeanalysen med observasjoner kun tilhørende pasientenes median bildesnitt bekreftet klyngingen med voksler fra samtlige bildesnitt, ved at klyngesentrum og klyngenes relative størrelser ble tilnærmet identiske for de to klyngingene. Det samme var tilfellet for klyngeanalysen basert på data der vokslene tilhørende de tre pasientene med lite tilfredsstillende tilpasning av Toftsmodellen var ekskludert. Klyngenes relative størrelser endret seg typisk 0-2 % for begge disse endringene i datagrunnlaget, mens den største observerte endringen i parameterverdiene for klyngenes sentrum var på 4 %. De fleste av klyngesentrene endret seg imidlertid ikke mellom klyngingene basert på ulike andeler av vokslene.

Klyngingen basert på samtlige observasjoner ble analysert mer inngående. Den optimale inndelingen av tumorvokslene ble estimert til å være lik tre klynger. De normaliserte over- og underpartisjonsvektorene for estimatet er fremstilt grafisk i figur 19. Det antatt optimale antallet klynger opptrer når summen av de to partisjonsvektorene  $V_o^*$  og  $V_u^*$  er minimal. Inndelingen av alle pasientenes tumorvoksler i tre klynger er gitt i figur 20. De tre klyngenes sentrum er i figuren markert med det korresponderende klyngenummeret. Tilsvarende figurer for tumorvokslene tilhørende tre ulike pasienter med ulikt behandlingsutfall er vist i vedlegg 7.3.



**Figur 19:** De normaliserte over- og underpartisjonsvektorene, henholdsvis  $V_o^*$  og  $V_u^*$ , for K-means klynging basert på Toftsparameterne. Klyngingen ble utført med 2-6 klynger. Den antatt optimale inndelingen av tumorvokslene opptrer når summen av de to partisjonsvektorene er minimal, det vil si for 3 klynger i dette tilfellet.



**Figur 20:** Figuren viser tumorvokslenes klyngetilhørighet oppnådd med K-means klynging basert på Toftsparameterne  $K^{trans}$  og  $v_e$ . K-means algoritmen er kjørt med  $K=3$  klynger, som er den estimerte optimale inndelingen av vokslene. De tre klyngenes sentrum er markert i figuren med det korresponderende klyngennummeret. Klyngesentrum tilsvarer vokselgruppens gjennomsnittsverdier av Toftsparameterne.

De tre klyngenes sentrum svarer til  $K^{trans}$  [ $\text{min}^{-1}$ ] lik henholdsvis 0,12, 0,21 og 0,19 og  $v_e$  lik henholdsvis 0,22, 0,48 og 0,94. Klyngenes sentrum viser en større spredning i  $v_e$  enn hva som er tilfellet for  $K^{trans}$ . Fra figur 20 kommer det tydelig frem at de tre klyngene inneholder voksler for hele rekkevidden av  $K^{trans}$ , mens parameteren  $v_e$  skiller klyngene fra hverandre. For hver pasient ble kreftsvulstens volumandel av de tre klyngene beregnet. Klyngenes sentrum og median volumandel i pasientgruppen er oppsummert i tabell 5.

**Tabell 5:** Tabellen viser klyngenes sentrum og median volumandel for K-means klynging med Toftsparameterne  $K^{trans}$  og  $v_e$ . For hver pasient ble kreftsvulstens volumandel av de tre klyngene beregnet. Median volumandel viser til pasientgruppens medianverdi for volumandelene av henholdsvis klynge 1, klynge 2 og klynge 3.

Klyngenummer	Klyngesentrum		Median volumandel i pasientgruppen
	$K^{trans}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	$v_e$ [1]	
1	0,12	0,22	37 %
2	0,21	0,48	46 %
3	0,19	0,94	10 %

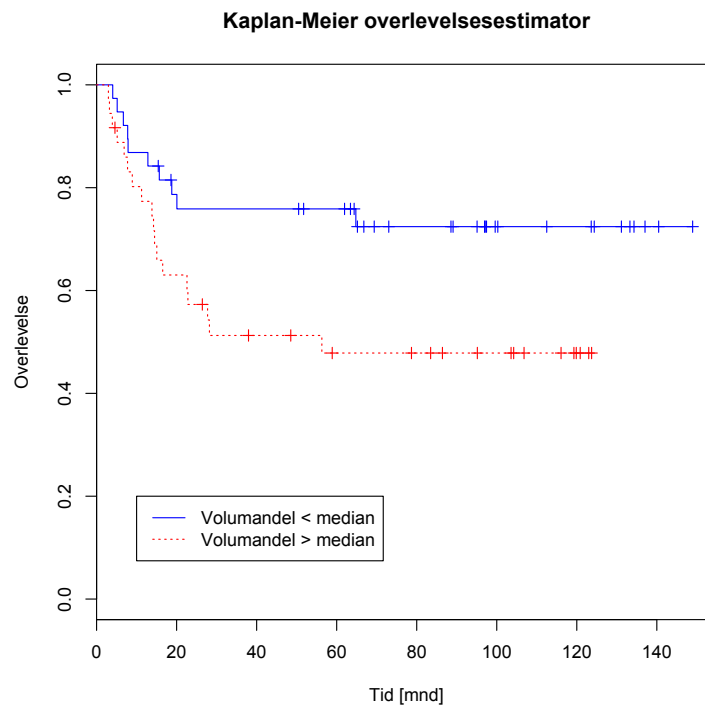
#### 4.1.2 Overlevelsesanalyse

Den estimerte optimale inndelingen av alle tumorvokslene i tre klynger ble undersøkt videre i overlevelsesanalysen. Pasientgruppen ble delt inn etter median volumandel av hver enkelt klynge, som beskrevet i avsnitt 3.4.4. Forskjellen i andelen pasienter med (i) alle typer tilbakefall av kreftsykdommen, (ii) lokalt tilbakefall og (iii) metastaser ble undersøkt med *log-rank*-tester for pasientgruppene med henholdsvis lav og høy volumandel av den enkelte klyngen. Signifikansnivå  $\alpha = 0,05$  ble benyttet for samtlige hypotesetester.

#### Progresjonsfri overlevelse

*Log-rank*-tester med alle typer tilbakefall som endepunkt ( $PFS = 1$ ) resulterte i p-verdier lik henholdsvis 0,035, 0,311 og 0,052 for klynge 1, klynge 2 og klynge 3. Dermed var klynge 1 (p-verdi: 0,035) signifikant assosiert med progresjonsfri overlevelse ( $PFS$ ). Kaplan-Meier-estimatorene for de to pasientgruppene med lav og høy volumandel av klyngen er gitt i figur 21. KM-estimatorene viser at pasientgruppen med høy volumandel av klynge 1 hadde høyere risiko for tilbakefall, sammenliknet med pasientgruppen med lav volumandel av klyngen. Tumorvokslene tilhørende klynge 1 hadde de laveste gjennomsnittsverdiene av begge

Toftsparameterne, med et klyngesentrum gitt ved  $K^{trans}$  og  $v_e$  lik henholdsvis 0,12 min<sup>-1</sup> og 0,22 (se for øvrig tabell 5).



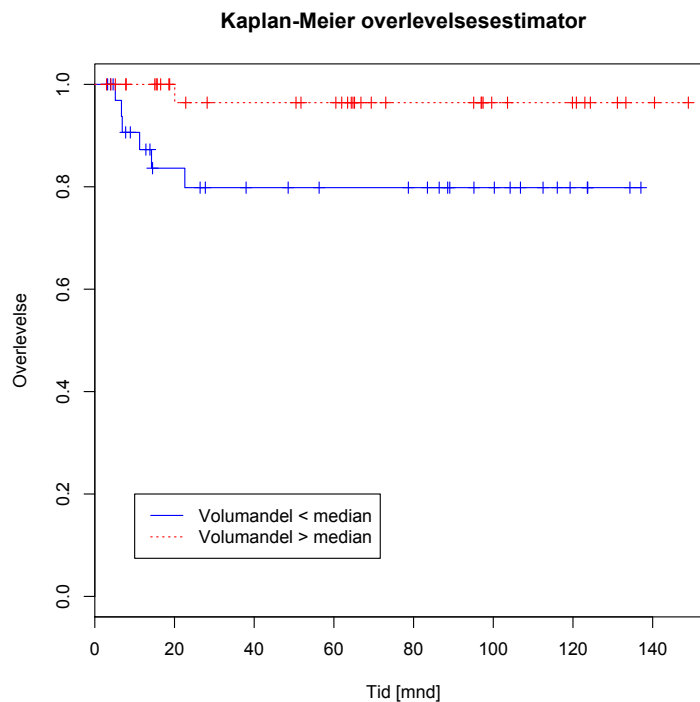
**Figur 21:** Kaplan-Meier-estimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 1. Endepunktet er definert som alle typer tilbakefall (lokalt og i form av spredning). Sensurerte pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Overlevelsesestimatorene illustrerer at pasientgruppen med en lav volumandel av klynge 1 hadde en lavere risiko for tilbakefall av kreftsykdommen. Log-rank hypotesetest av forskjellen i risiko mellom de to pasientgruppene resulterte i en p-verdi lik 0,035.

Log-rank-testen for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 2 resulterte i en lav p-verdi lik 0,052. Forskjellen i risiko mellom de to gruppene var imidlertid ikke signifikant. Kaplan-Meier-estimatorene for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 2 er gitt i vedlegg 7.3.

### Lokaltumorkontroll

Log-rank-tester med lokalt tilbakefall som endepunkt ( $LRC = 1$ ) viste at klynge 2 var signifikant assosiert med lokaltumorkontroll ( $LRC$ ), med en p-verdi lik 0,029. For klynge 1 og klynge 3 resulterte hypotesetestene i p-verdier lik henholdsvis 0,644 og 0,955. Kaplan-Meier-estimatorene for klynge 2 er vist i figur 22. Fra KM-estimatorene fremgår det at pasientene med høy volumandel av klynge 2 hadde lavere risiko for lokalt tilbakefall, sammenliknet med

pasientene med høy volumandel av klyngen. Klyngesentrum for klynge 2 opptrer for parameterverdiene  $K^{trans}$  lik  $0,21 \text{ min}^{-1}$  og  $v_e$  lik  $0,48$ .

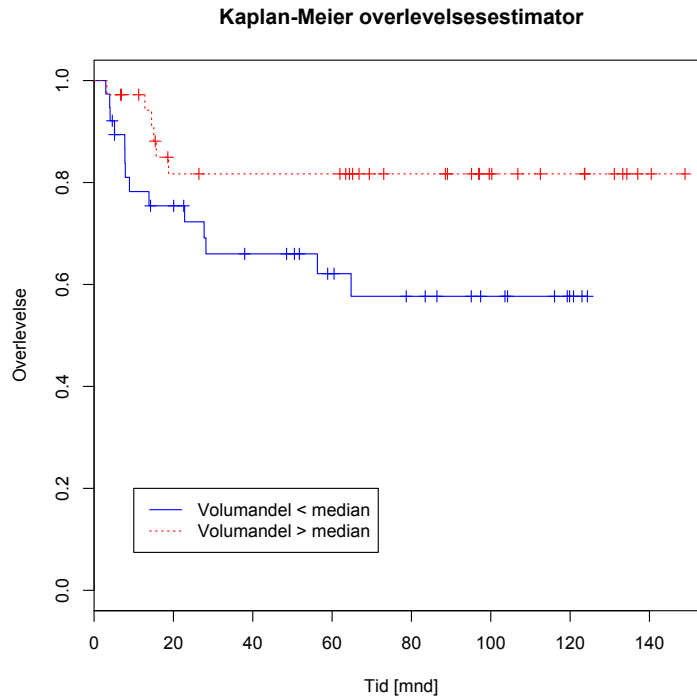


**Figur 22:** Kaplan-Meier-estimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 2. Endepunktet er her definert som lokalt tilbakefall. Sensurerte pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. KM-estimatorene illustrerer at pasientgruppen med høy volumandel av klynge 2 hadde lavere risiko for lokalt tilbakefall enn pasientgruppen med lav volumandel av klyngen. Log-rank hypotesetest av forskjellen i risiko mellom de to pasientgruppene resulterte i en p-verdi lik  $0,029$ .

## Spredning

Log-rank-tester med endepunktet definert som spredning (tilbakefall i form av metastaser) viste at klynge 3 var signifikant assosiert med denne typen tilbakefall, med en p-verdi lik  $0,047$ . For klynge 1 og klynge 2 ga log-rank-testene p-verdier lik henholdsvis  $0,101$  og  $0,924$ . Det var dermed ingen signifikante funn for klynge 1 og klynge 2 med det gitte endepunktet. Kaplan-Meier-estimatorene for klynge 3 er vist i figur 23. Overlevelseskurvene viser at pasientgruppen med lav volumandel av klynge 3 hadde en høyere risiko for tilbakefall i form av spredning, enn hva som var tilfellet for pasientgruppen med høy volumandel av klyngen. Tumorvokslene tilhørende klynge 3 hadde den høyest observerte gjennomsnittsverdien av  $v_e$ , med et klyngesentrum gitt ved  $v_e$  lik  $0,94$  og  $K^{trans}$  lik  $0,19 \text{ min}^{-1}$ .





**Figur 23:** Kaplan-Meier overlevelsesestimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 3. Endepunktet er her definert som spredning (metastaser). Sensurerte pasienter er vist som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. KM-estimatorene illustrerer at pasientgruppen med høy volumandel av klynge 3 hadde lavere risiko for spredning av kreftsykdommen enn det som var tilfellet for pasientgruppen med lav volumandel av klyngen. Log-rank hypotesetest av forskjellen i risiko mellom de to pasientgruppene ga en p-verdi lik 0,047.

### 4.1.3 Korrelasjon med totalt tumorvolum

De tre klyngene som ga signifikante funn i overlevelsesanalysen ble undersøkt for korrelasjon med totalt tumorvolum, ved å beregne Pearsons korrelasjonskoeffisient for den lineære sammenhengen mellom pasientenes tumorvolum og volumandelene av de respektive klyngene. Korrelasjonskoeffisientene for de tre klyngene er oppsummert i tabell 6, sammen med p-verdiene for korrelasjonen (*Student's t-test* med signifikansnivå  $\alpha = 0,05$ ).

**Tabell 6:** Pearsons korrelasjonskoeffisient  $r_{XY}$  for den lineære korrelasjonen mellom pasientenes tumorvolum og volumandelen av de respektive klyngene fra K-means klynging basert på Toftsparameterne. P-verdiene for korrelasjonen er også oppgitt (*Student's t-test*).

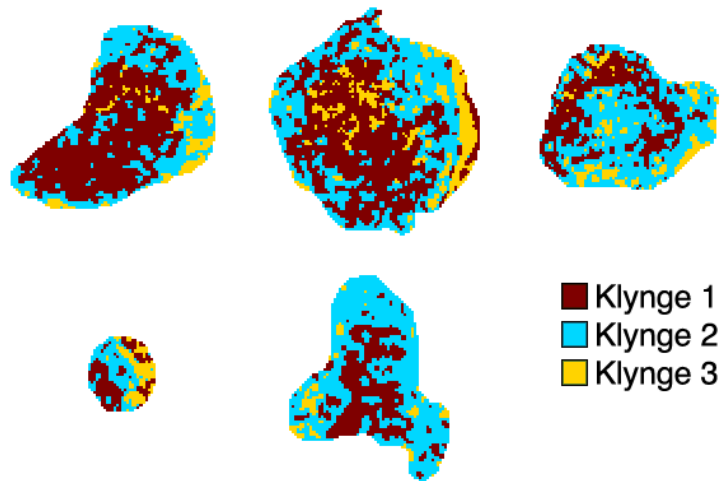
Klyngenummer	Korrelasjonskoeffisient $r_{XY}$	p-verdi ( <i>Student's t-test</i> )
1	0,203	0,069
2	-0,310	0,005
3	0,079	0,488

Beregningene viste at det var en signifikant negativ lineær sammenheng mellom pasientenes volumandel av klynge 2 og deres totale tumorvolum, med Pearsons korrelasjonskoeffisient lik  $-0,310$  (p-verdi:  $0,005$ ).

På bakgrunn av den signifikante korrelasjonen mellom klynge 2 og det totale tumorvolumet, ble det undersøkt om også pasientenes totale tumorvolum kunne knyttes til lokalt tilbakefall. Analysen ble utført ved å dele pasientene inn i to grupper etter median tumorvolum og utføre *log-rank*-test for forskjellen i risiko mellom gruppene. *Log-rank*-testen resulterte i en p-verdi lik  $0,461$ . Det var altså ikke signifikant sammenheng mellom totalt tumorvolum og risiko for lokalt tilbakefall av sykdommen.

#### **4.1.4 Romlig fordeling**

Ved å beregne den gjennomsnittlige avstanden til tumorsentrum for vokslene tilhørende den enkelte klyngen, ble det foretatt en vurdering av den romlige fordelingen til de tre klyngene i median bildesnippet til hver pasient. Klyngene opptrådte relativt spredt over tumor, som det fremgår fra de tilfeldig utvalgte mediansnittene avbildet i figur 24. Den tydeligste tendensen for de 81 pasientene var at vokslene tilhørende klynge 1 i stor grad befant seg sentralt i tumorsnittet. Videre var det en tendens til at klynge 3 var plassert mer i ytterkantene av mediansnittet, mens klynge 2 var mer jevnt fordelt over tumorsnittene og befant seg hovedsakelig i mellomstjiktet av de tre klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum.



**Figur 24:** Klyngenes fordeling over et tilfeldig utvalg median bildesnitt for  $K$ -means med Toftsparameterne ( $K=3$ ). Avbildningene viser at de ulike klyngene opptrer relativt spredt. Klynge 1 viste en tendens til å være sentralt plassert, mens klynge 2 hovedsakelig befant seg i mellomstaket av de tre klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum av mediansnittene. Klynge 3 viste en tendens til å befinne seg i ytterkantene av pasientgruppens mediansnitt. Figuren er laget i Matlab ved hjelp av et skript av Turid Torheim (vedlegg 7.1).

## 4.2 Analyse av Brixparameterne

### 4.2.1 Innledende forsøk

Innledningsvis ble *K-means* klynging basert på Brixparameterne forsøkt uten å sette noen øvre grenser for parameterverdiene. Dette ga ingen reell klyngeinndeling av vokslene, da det ble dannet én dominerende klynge bestående av en overveiende majoritet av observasjonene for alle inndelinger  $K$ . Videre forsøk besto i å gjenta *K-means* etter at (i) de mest ekstreme observasjonene var fjernet basert på grafisk fremstilling av data, (ii) data fra (i) var standardisert og (iii) data tilhørende de små klyngene fra den første *K-means* klyngingen var fjernet. Ingen av disse metodene ga en reell klyngeinndeling. På bakgrunn av dette ble algoritmen *K-medoids*, som er mindre følsom for *outliers*, testet ut [57]. *K-medoids* resulterte imidlertid ikke i noen annen klyngeinndeling enn *K-means* i dette tilfellet, og ble ikke benyttet videre.

### 4.2.2 *K-means* klyngeanalyse

På bakgrunn av de innledende forsøkene ble unormalt høye parameterverdier fjernet. Fire ulike datasett basert på vokslenes verdier av Brixparameterne  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  ble så analysert med *K-means* klynging. Forbehandlingen av datasettene er beskrevet i avsnitt 3.4.3. Henholdsvis ubehandlede og standardiserte parameterverdier for (i) alle vokslar og (ii) vokslar tilhørende pasientenes mediansnitt ble undersøkt.

Analysen av vokslar kun tilhørende pasientenes mediansnitt bekreftet klyngeinndelingene for alle vokslene, med henholdsvis ubehandlede og standardiserte parameterverdier. Dette fremkom ved at klyngenes relative størrelser og klyngesentrum ble tilnærmet identiske som for de korresponderende klyngingene der alle tumorvokslene var inkludert. Klyngenes relative størrelser endret seg 0-2 % mellom klyngingene. Endringene i parameterverdiene for klyngenes sentrum var typisk lik 1 %. Effekten av å fjerne de tre pasientene med lite tilfredsstillende tilpasning av Brixmodellen ble undersøkt for data der alle bildesnitt var inkludert. De observerte endringene i klyngenes relative størrelser var også her på 0-2%, mens parameterverdiene for klyngesentrene typisk endret seg med 1-3 %.

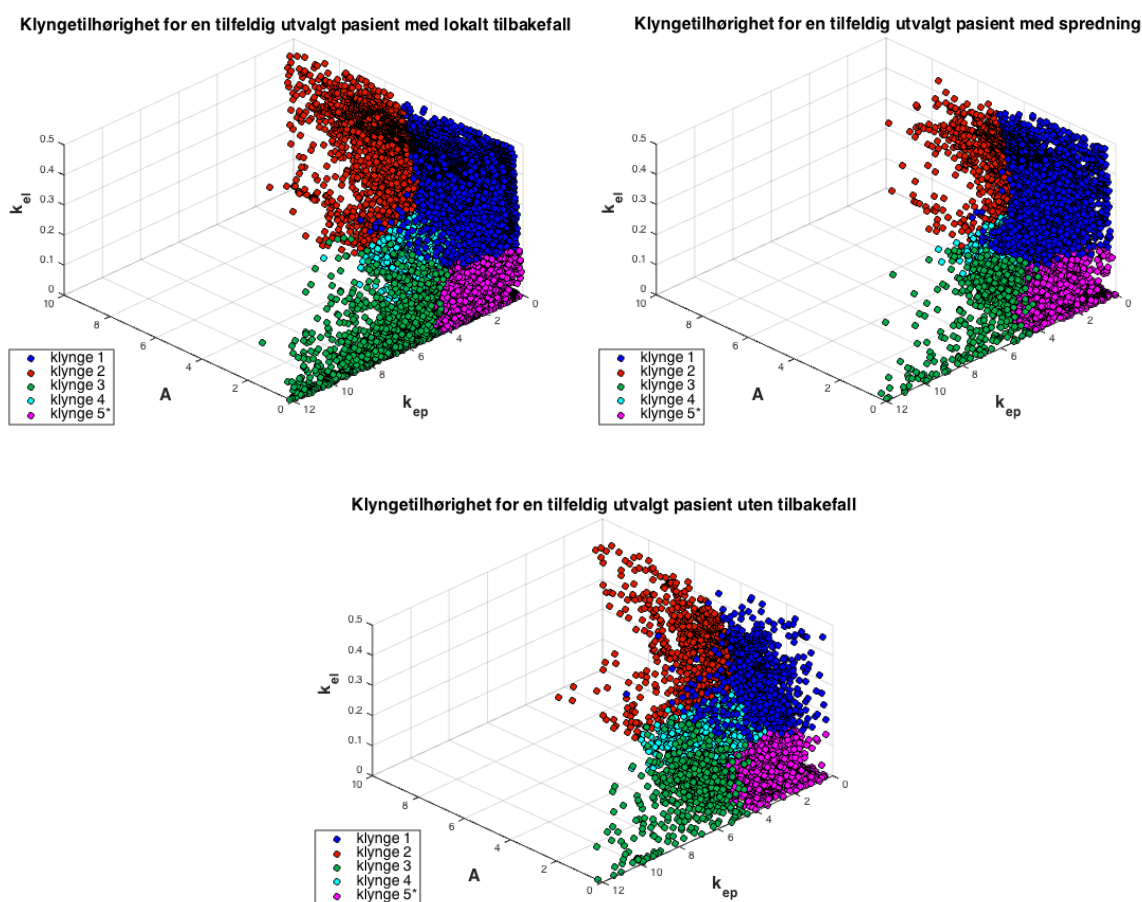
De to klyngingene basert på samtlige tumorvokslere ble analysert videre og det optimale antallet klynger ble estimert ved hjelp av partisjonsvektorene  $V_o^*$  og  $V_u^*$ . Både for ubehandlede- og standardiserte data ble den estimerte optimale inndelingen av vokslene lik fire klynger. Partisjonsvektorene for klyngingen med de standardiserte Brixparametrene er gitt i vedlegg 7.4.

Utgangspunktet i den påfølgende overlevelsesanalysen var den estimert optimale inndeling av alle tumorvokslene i fire klynger  $K$ . Klyngingene basert på henholdsvis ubehandlede- og standardiserte Brixparametre ble undersøkt med hensyn på overlevelse. Denne analysen ga ingen signifikante funn. Dermed ble klyngingene for alle  $K \in [2, 6]$  undersøkt med hensyn på overlevelse. Inndelingen basert på vokslenes standardiserte parameterverdier, med  $K$  lik 5 klynger, var den eneste inndelingen som ga signifikante funn i overlevelsesanalysen. Overlevelsesanalysen er beskrevet i avsnitt 4.2.3. De fem klyngenes sentrum og median volumandel i pasientgruppen er gitt i tabell 7. I tabellen er klyngenes sentrum gitt som ustandardiserte verdier, beregnet ut ifra klyngeinndelingen med de standardiserte parameterverdiene.

**Tabell 7:** Tabellen viser klyngenes sentrum og median volumandel for en inndeling av tumorvokslene i  $K=5$  klynger, basert på  $K$ -means klynging med standardiserte verdier av Brixparametrene  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$ . Klyngenes sentrum er i tabellen gitt i ustandardiserte verdier. For hver pasient ble kreftsvulstens volumandel av de fem klyngene beregnet. Median volumandel viser til pasientgruppens medianverdi for volumandelene av de ulike klyngene.

Klyngenummer	Klyngesentrum			Median volumandel i pasientgruppen
	$A$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	$k_{ep}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	$k_{el}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	
1	2,05	0,91	0,26	7 %
2	6,01	0,74	0,20	1 %
3	1,55	6,11	0,061	7 %
4	2,68	2,27	0,071	31 %
5	1,34	1,93	0,028	34 %

Inndelingen av tumorvokslene i 5 klynger basert på de standardiserte Brixparametrene er vist i figur 25, der klyngetilhørigheten til tumorvokslene tilhørende tre ulike pasienter er gitt. Disse tre pasientene opplevde forskjellige behandlingsutfall, som angitt i figuren. Tilsvarende figurer som viser samtlige vokslers klyngetilhørighet er gitt i vedlegg 7.4. I disse figurene er alle parameterverdiene gitt i ustandardiserte tallverdier.



**Figur 25:** Tumorvokslenes klyngetilhørighet vist for tre tilfeldig utvalgte pasienter, som opplevde ulike typer behandlingsutfall. Klyngeinndelingen ble basert på standardiserte verdier av Brixparameterne  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  for samtlige tumorvokslser tilhørende de 81 pasientene. Brixparameterne er i figuren gitt i ustandardiserte verdier med enhet [ $\text{min}^{-1}$ ]. Klynge 5 viste seg å være signifikant knyttet til behandlingsutfall (se avsnitt 4.2.3), og er i figuren vist i lilla. Denne klyngen skilte seg ut ved at den hadde lave verdier av samtlige Brixparametere. Koordinatsystemene er i figuren rotert for å vise beliggenheten til klynge 5, og origo befinner seg derfor til høyre i de tre plottene.

Klyngingene med de standardiserte Brixparameterne skilte ut klynger med større variasjon i rekkevidden av  $k_{el}$ , sammenliknet med klyngingene basert på de ustandardiserte parameterne der samtlige klynger inneholdt hele intervallet av  $k_{el}$ . Videre skilte klyngingen med de standardiserte parameterne ut klyngesentrum med lavere verdier av  $k_{el}$  enn det som er tilfellet for de ubehandlede parameterne. Standardiseringen gjør som beskrevet i avsnitt 3.4.1 at  $k_{el} \in [0, 0,5]$  vektet likt som de øvrige parameterne  $A \in [0, 10]$  og  $k_{ep} \in [0, 12]$ , slik at de tre parameterne i like stor grad spenner ut det tredimensjonale rommet med observasjoner.

### 4.2.3 Overlevelsesanalyse

Samtlige grupperinger fra *K-means* klyngeanalyse av henholdsvis ubehandlede og standardiserte parameterverdier ble analysert mot de tre ulike endepunktene. Ved inndeling av pasientene etter median volumandel viste det seg at enkelte pasienter ikke hadde tumorvokslar tilhørende alle de identifiserte klyngene. Dette gjaldt i størst grad de minste klyngene, men også for større klynger var dette tilfellet. I overlevelsesanalysen ble disse pasientene inkludert i pasientgruppen med lav volumandel av den aktuelle klyngen. Fire pasienter var det høyeste pasientantallet som ble inkludert i analysen på denne måten. Ingen av klyngene med slike «nullpasienter» kunne knyttes til behandlingsutfall. Overlevelsesanalysen med lokalt tilbakefall som endepunkt ga ingen interessante funn og drøftes derfor ikke videre.

#### Progresjonsfri overlevelse og spredning

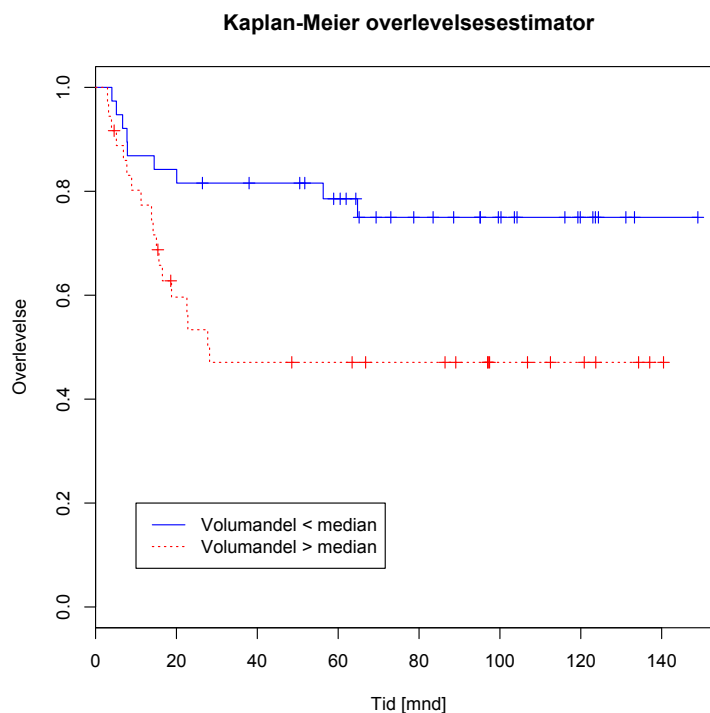
Inndelingen av alle tumorvokslenes standardiserte parameterverdier i  $K = 5$  klynger skilte ut én klynge, som var signifikant knyttet til både progresjonsfri overlevelse og spredning av kreftsykdommen. Klyngen som kunne knyttes til disse typene tilbakefall var klynge 5. Vokselgrupperingene fra denne klyngingen er vist i figur 25 i forrige avsnitt. Dette var de eneste signifikante funnene i overlevelsesanalysen.

Med alle typer tilbakefall som endepunkt ( $PFS = 1$ ) resulterte *log-rank*-testen i en p-verdi lik 0,012 for klynge 5. Kaplan-Meier-estimatorene for dette endepunktet er gitt i figur 26. Estimatorene viser at pasientgruppen med høy volumandel av klynge 5 hadde en høyere risiko for tilbakefall, enn det som var tilfellet for pasientgruppen med lav volumandel av klyngen. Videre ga *log-rank*-testen med endepunktet tilbakefall i form av spredning en p-verdi lik 0,042 for klyngen. KM-estimatorene med spredning som endepunkt er gitt i figur 27, og viser at pasientgruppen med høy volumandel av klynge 5 hadde en høyere risiko for tilbakefall i form av spredning, sammenliknet med gruppen med lav volumandel av klyngen.

Klyngesentrum for klynge 5 var gitt ved parameterverdiene  $A = 1,34$ ,  $k_{ep} = 1,93$  og  $k_{el} = 0,028$  (enhet:  $[\text{min}^{-1}]$ ). Det som skilte klynge 5 fra de øvrige fire klyngene i denne inndelingen var de lave gjennomsnittsverdiene av samtlige Brixparametere (se for øvrig tabell 7), og spesielt de lave verdiene av  $A$  og  $k_{el}$ . Sammenliknet med de øvrige klyngingene basert

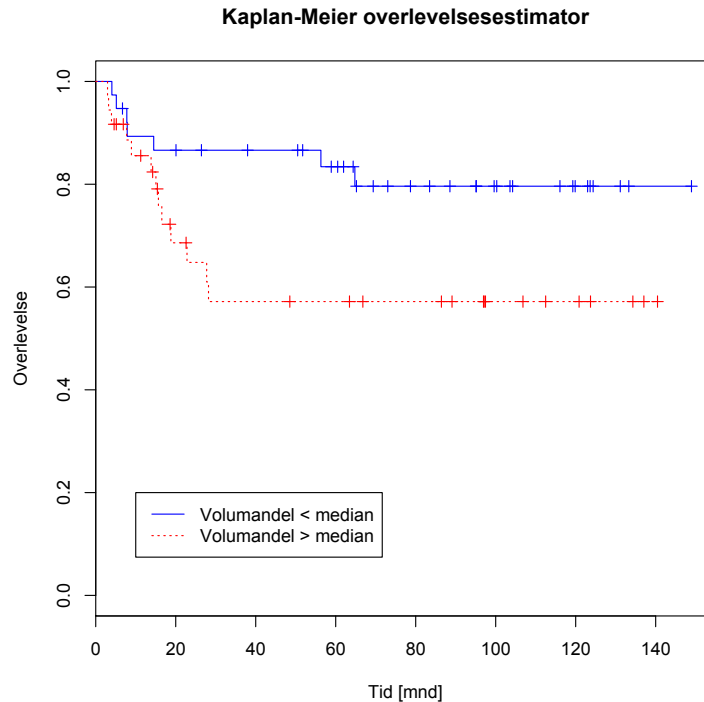
på de standardiserte parameterne ( $K = 2, 3, 4, 6$ ), skilte denne klyngen seg ut ved at den hadde de lavest observerte gjennomsnittsverdiene av både  $A$  og  $k_{el}$ .

Lignende klyngesentrum som for klynge 5 fra  $K = 5$  ble observert for en inndeling av vokslene i henholdsvis 4 og 6 klynger. Disse to klyngenes sentrum var gitt ved (i)  $A = 1,83$ ,  $k_{ep} = 2,05$ ,  $k_{el} = 0,042$  og (ii)  $A = 1,37$ ,  $k_{ep} = 1,58$ ,  $k_{el} = 0,028$ , mens klyngenes median volumandel var på (i) 66 % og (ii) 29 %. Ingen av disse klyngene ga signifikante funn i overlevelsesanalysen. Klyngen med median volumandel lik 29 % ga de laveste p-verdiene i *log-rank*-testene, med p-verdier lik henholdsvis 0,098 og 0,086 for endepunktene tilbakefall totalt sett og tilbakefall i form av spredning. For den største av de to klyngene var de korresponderende p-verdiene lik henholdsvis 0,397 og 0,189.



**Figur 26:** Kaplan-Meier overlevelsesestimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 5. Endepunktet er her definert som alle typer tilbakefall (lokalt og i form av spredning). Sensurerte pasienter er vist som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Estimatorene illustrerer at pasientgruppen med lav volumandel av klynge 5 hadde en lavere risiko for tilbakefall av kreftsykdommen. Log-rank hypotesetest av forskjellen i risiko mellom de to pasientgruppene resulterte i en p-verdi lik 0,012.





**Figur 27:** Kaplan-Meier-estimatorer med endepunktet tilbakefall i form av spredning (metastaser), for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 5. Sensurerte pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Overlevelsesestimatorene illustrerer at pasientgruppen med en lav volumandel av klynge 5 hadde en lavere risiko for tilbakefall i form av spredning. Log-rank hypotesetest av forskjellen i risiko mellom de to pasientgruppene resulterte i en p-verdi lik 0,042.

### Overlevelsesanalyse basert på klynging med mediansnitt

For å undersøke om klyngeinndelingen av tumorvokslene fra mediansnittene ville gi tilsvarende informasjon om sammenheng med behandlingsutfall som klyngingen med alle tumorvokslene, ble overlevelsesanalysen testet ut på én av klyngingene med mediansnittene. Klyngeinndelingen i  $K = 5$  klynger med de standardiserte Brixparameterne ble undersøkt, da denne klyngingen ga signifikante funn i overlevelsesanalysen for inndelingen basert på samtlige bildesnitt. Overlevelsesanalysen ble utført på tilsvarende måte som tidligere. Denne analysen ga ingen signifikante eller nært signifikante funn. Det vil si at selv om klyngenes sentrum og median volumandeler ble svært like for klyngingen basert på henholdsvis mediansnittene og samtlige bildesnitt, ble ikke pasientinndelingene til overlevelsesanalysen de samme.

#### 4.2.4 Korrelasjon med totalt tumorvolum

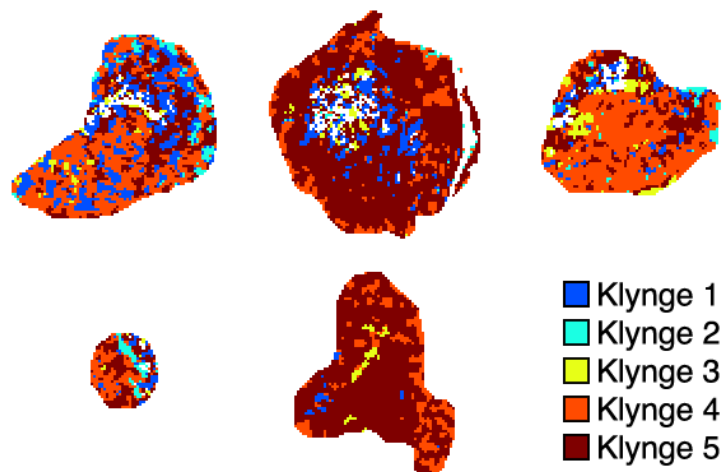
Klyngen som ga signifikante funn i overlevelsesanalysen ble undersøkt for korrelasjon med totalt tumorvolum. Pearsons korrelasjonskoeffisient for pasientenes totale tumorvolum og volumandelen av klynge 5 ble beregnet til å være lik 0,356 (p-verdi lik 0,001 i *Student's t-test*). Det vil si at det var en positiv lineær sammenheng mellom pasientenes volumandel av klynge 5 og det totale tumorvolumet.

På bakgrunn av den signifikante korrelasjonen mellom klynge 5 og det totale tumorvolumet, ble det undersøkt om også det totale tumorvolumet kunne knyttes til risikoen for de to endepunktene (i) tilbakefall totalt sett og (ii) tilbakefall i form av spredning. Inndelingen i to pasientgrupper ble gjort etter median tumorvolum. For begge endepunktene resulterte *log-rank*-testen i en p-verdi lik 0,006. Kaplan-Meier-estimatorene for de to ulike endepunktene er gitt i vedlegg 7.6, og viser at pasientgruppen med høyt tumorvolum hadde en høyere risiko for (i) tilbakefall totalt sett og (ii) tilbakefall i form av spredning.

#### 4.2.5 Romlig fordeling

Som beskrevet i avsnitt 3.5 ble det også her foretatt en vurdering av den romlige fordelingen til klyngen som ga signifikante funn i overlevelsesanalysen. Pasientenes median bildesnitt ble undersøkt. Det var her en tendens til at klynge 5 var spredt fordelt over tumorsnittene og hovedsakelig befant seg i mellomsjiktet av de fem klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum. De fem klyngenes fordeling over et tilfeldig utvalg mediansnitt er vist i figur 28. Figuren viser de samme mediansnittene som ble vist i figur 24 i forbindelse med analysen av Toftsparameterne.

Videre ble klynge 5 sammenliknet med klynge 1 fra *K-means* basert på Toftsparameterne. Både klynge 5 og klynge 1 var signifikant assosiert med endepunktet tilbakefall totalt sett ( $PFS = 1$ ), og for begge disse klyngene var det en høyere risiko for tilbakefall i pasientgruppen med høy volumandel av klyngen. Sammenligningen ble utført voksel for voksel for samtlige bildesnitt. Det viste seg at 56 % av det totale antallet vokslar tilhørende klynge 5 også inngikk i Tofts klynge 1. At de to klyngene hadde felles vokslar vises også fra klyngenes fordeling over mediansnittene i henholdsvis figur 24 og figur 28.

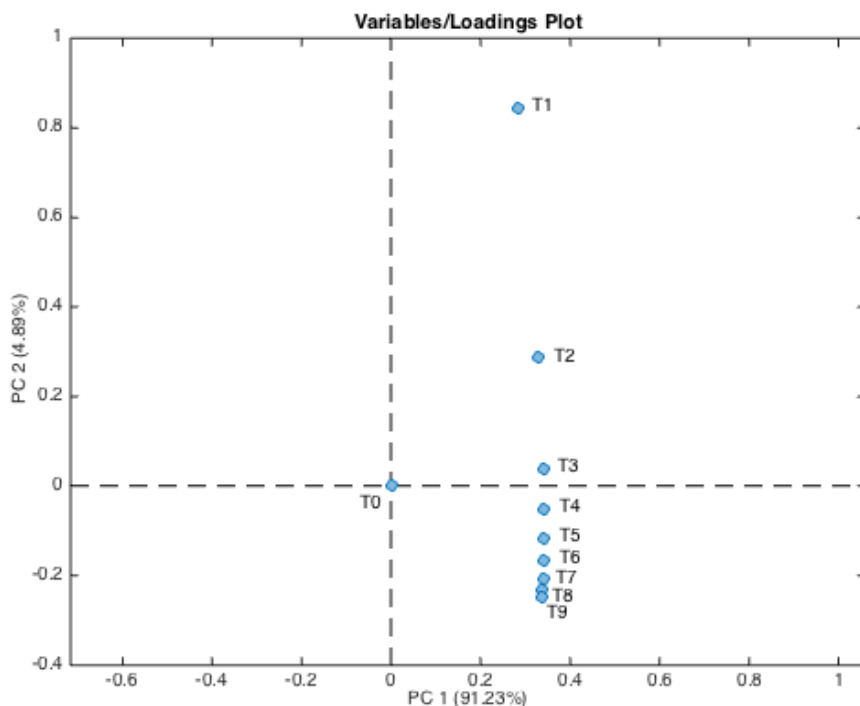


**Figur 28:** Klyngenes fordeling over et tilfeldig utvalg median bildesnitt for  $K$ -means med Brixparameterne ( $K=5$ ). Avbildningene viser at de ulike klyngene opptrer relativt spredt. En høy volumandel av klynge 5 var assosiert med høyere risiko for tilbakefall (totalt sett og i form av spredning). Klynge 5 viste en tendens til å befinne seg i mellomsjiktet av klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum av mediansnittene. De hvite partiene i tumorene skyldes at ekstremverdier av Brixparameterne er erstattet med NaN (NaN = Not a Number). Figuren er laget i Matlab ved hjelp av et skript av Turid Torheim (vedlegg 7.1).

## 4.3 Analyse av $RSI(t)$

### 4.3.1 Prinsippkomponentanalyse med $RSI(t)$

Prinsippkomponentanalysen med  $RSI(t)$  viste at de to første prinsippkomponentene forklarte 96 % av variansen i data. Variablene svarte i analysen til den relative signaløkningen  $RSI(t)$  for de ti første tidsstegene  $T_0, T_1, \dots, T_9$  i den dynamiske bildeserien. Ladningsplottet for de to første prinsippkomponentene er vist i figur 29. For det første tidssteget  $T_0$  er  $RSI(t)$  lik null for samtlige vokslar.  $T_0$  har dermed ingen betydning for modellen og befinner seg i skjæringspunktet mellom prinsippkomponentene (origo). Videre viser ladningsplottet at især de tre siste tidsstegene ( $T_7$  til  $T_9$ ) i den dynamiske bildeserien er positivt korrelerte. Tidsstegene  $T_3$  til  $T_7$  ser ut til å ha størst innflytelse på den første prinsippkomponenten (PC1), som forklarer hele 91,2 % av variansen i data. Den andre prinsippkomponenten (PC2) forklarer på sin side 4,9 % av variansen, og er især påvirket av  $T_1$ . To prinsippkomponenter ble anvendt i modellen og skårene fra PC1 og PC2 ble plukket ut til videre analyse med  $K$ -means klynging.



**Figur 29:** Ladningsplott for de to første prinsipalkomponentene fra PCA med den relative signaløkningen  $RSI(t)$  i hver tumorvoksel. Variablene  $T_0, T_1, \dots, T_9$  svarer til  $RSI(t)$  for de ulike tidsstegene i den dynamiske MR-avbildningen.  $PC_1$  og  $PC_2$  forklarte 96 % av den totale variansen i data. Ladningsplottet viser at især de tre siste tidsstegene  $T_7 - T_9$  i den dynamiske bildeserien var positivt korrelerte. Tidsstegene  $T_3 - T_7$  ser ut til å ha størst innvirkning på  $PC_1$ , som forklarer hele 91,2 % av variansen.  $PC_2$  forklarte 4,9 % av variansen og er hovedsakelig påvirket av variabelen  $T_1$ .

#### 4.3.2 K-means klyngeanalyse

Klyngeanalysen basert på (i) de 10 første tidsstegene i  $RSI(t)$ , (ii) skårene fra  $PC_1$  og  $PC_2$ , og (iii) skårene kun fra  $PC_1$  resulterte i tilnærmet identiske klyngeinndelinger for samtlige klynginger  $K \in [2, 6]$ . Klyngeinndelingene basert på de 10 første tidsstegene i  $RSI(t)$  ble sammenliknet med de to øvrige klyngingene voksel for voksel. Denne sammenlikningen viste at klyngeinndelingene basert på de ulike datasettene typisk hadde 99 % felles vokslar.

De påfølgende analysene ble basert på data for de ti første tidsstegene av  $RSI(t)$ . Klyngeanalysen av pasientenes mediansnitt bekreftet også her klyngingen basert på samtlige vokslar. Klyngenes relative størrelser endret seg med 0-3 % sammenliknet med klyngingene basert på alle vokslene. Klyngesentrene for vokslene tilhørende mediansnittene ga jevnt over lavere verdier av  $RSI(t)$  for tidsstegene  $T_1, T_2, \dots, T_9$ , med en nedgang i  $RSI(t)$  på rundt 2 %. Å ekskludere de tre pasientene med lite tilfredsstillende tilpasninger av Tofts- og

Brixmodellen hadde også beskjedne innvirkning på klyngeinndelingen. Klyngenes relative størrelser endret seg i dette tilfellet med 0-2 % mellom de to inndelingene. Det var her en klar tendens til at klyngesentrene for tidsstegene  $T_1, T_2, \dots, T_9$  jevnt over fikk noe høyere verdier av  $RSI(t)$ . Økningen i klyngenes gjennomsnittlige verdier av  $RSI(t)$  var på om lag 3 % sammenliknet med klyngesentrene i den opprinnelige klyngingen med alle tumorvokslene.

Den optimale inndelingen av alle tumorvokslene basert på  $RSI(t)$  for  $T_0, T_1, \dots, T_9$  ble estimert til å være lik to klynger. Underpartisjonsvektoren  $V_u^*$  viste i dette tilfellet en noe uventet utvikling ved at den var minimal for  $K = 2$  klynger og maksimal for  $K = 3$  klynger, før den igjen avtok. Den grafiske fremstillingen av de to partisjonsvektorene  $V_o^*$  og  $V_u^*$  er gitt i vedlegg 7.5. Overlevelsesanalysen ga ingen signifikante funn for inndelingen av tumorvokslene i  $K = 2$  klynger. Samtlige klyngeinndelinger  $K \in [2, 6]$  ble så undersøkt med hensyn på overlevelse. Overlevelsesanalysen resulterte i signifikante funn for henholdsvis  $K = 3$  og  $K = 5$  klynger, og er beskrevet i avsnitt 4.3.3.

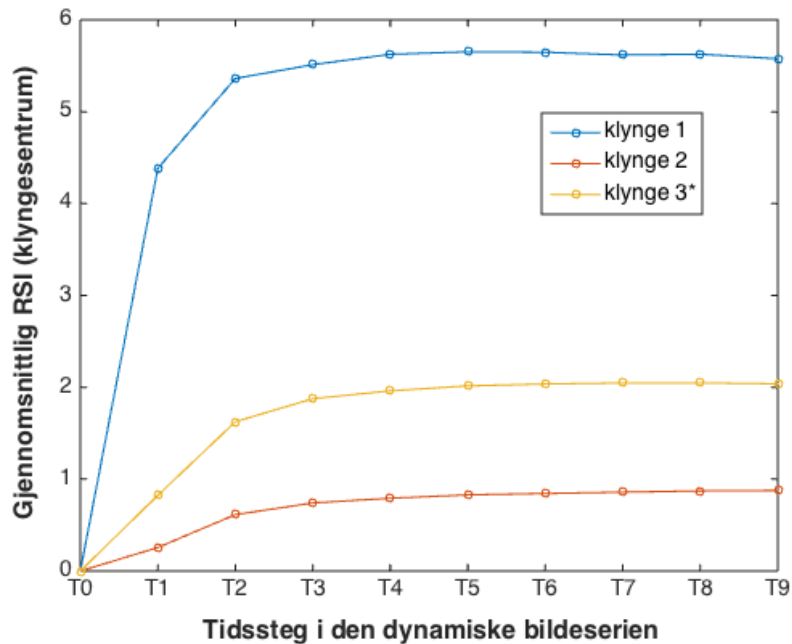
Resultatet av klyngingen med  $K = 3$  klynger er oppsummert i tabell 8 og 9, som angir henholdsvis median volumandel i pasientgruppen og sentrum for de tre klyngene. Klyngesentrene er fremstilt grafisk i figur 30. Som det fremgår fra tabell 8 resulterte klyngeinndelingen med  $K = 3$  i en svært liten klynge, som hadde median volumandel lik null og kun utgjorde 2 % av det totale antallet tumorvoksler.

**Tabell 8:** Klyngenes median volumandel for en inndeling av tumorvokslene i tre klynger, basert på  $K$ -means klynging med  $RSI(t)$  for de ti første tidsstegene i den dynamiske MR-avbildningen. For hver pasient ble kreftsvulstens volumandel av de tre klyngene beregnet. Median volumandel viser til pasientgruppens medianverdi for disse volumandelene. For den minste klyngen var median volumandel lik null.

Klyngenummer ( $K = 3$ klynger)	Median volumandel i pasientgruppen
1	0 %
2	46 %
3	53 %

Den grafiske fremstillingen av klyngesentrene i figur 30 viser at klynge 1, som var den minste klyngen i inndelingen, skilte seg klart fra de to øvrige klyngene med sine høye verdier for den gjennomsnittlige relative signaløkningen  $RSI(t)$ . Klynge 2 viste lavest gjennomsnittlig relativ

signaløkning  $RSI(t)$  for de ulike tidsstegene i den dynamiske bildeserien, mens klynge 3 viste noe høyere verdier av  $RSI(t)$  for sitt klyngesentrum.



**Figur 30:** Figuren viser klyngesentrene for en inndeling av tumorvoksle i tre klynger, basert på den relative signaløkningen  $RSI(t)$  for de ti første tidsstegene i den dynamiske MR-avbildningen. Klyngesentrum svarer til de respektive klyngenes gjennomsnittlige verdi av  $RSI(t)$  for tidsstegene  $T_0, T_1, \dots, T_9$ . Klynge 3 viste seg å være signifikant knyttet til behandlingsutfall (se avsnitt 4.3.3), og er i figuren vist i gult.

**Tabell 9:** Klyngenes sentrum for en inndeling av tumorvoksle i tre klynger. Klyngesentrum svarer til de tre klyngenes gjennomsnittlige verdier av  $RSI(t)$  for tidsstegene  $T_0, T_1, \dots, T_9$ . Klynge 1 skilte seg fra de øvrige klyngene ved at den hadde høye gjennomsnittsverdier av  $RSI(t)$ . Denne klyngen utgjorde kun 2 % av det totale antallet tumorvoksler.

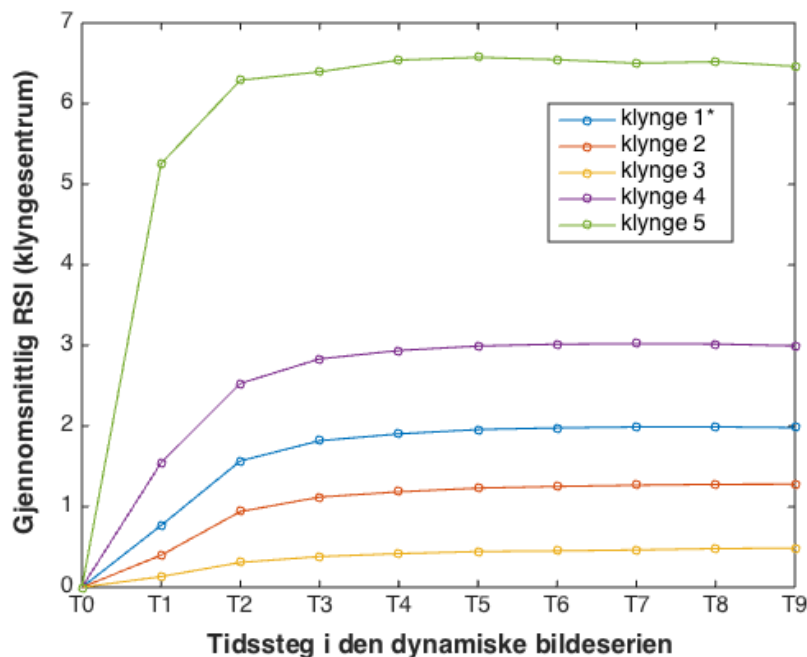
Klyngennummer	Klyngesentrum									
	$T_0$	$T_1$	$T_2$	$T_3$	$T_4$	$T_5$	$T_6$	$T_7$	$T_8$	$T_9$
1	0	4,38	5,36	5,51	5,62	5,65	5,66	5,65	5,62	5,58
2	0	0,26	0,61	0,74	0,79	0,83	0,84	0,85	0,87	0,88
3	0	0,82	1,62	1,88	1,96	2,02	2,04	2,05	2,05	2,04

Resultatene fra klyngingen med  $K = 5$  klynger er gitt i tabell 10 og 11, som angir henholdsvis klyngenes median volumandel i pasientgruppen og klyngesentrene for de fem klyngene. Klyngenes gjennomsnittlige  $RSI(t)$  for de ulike tidsstegene er fremstilt grafisk i figur 31. Klyngingen med  $K = 5$  klynger resulterte ikke uventet i en noe større spredning i klyngesentrene, sammenliknet med inndelingen i  $K = 3$  klynger. Også for denne klyngeinndelingen ble det dannet en klynge med median volumandel lik null. Denne klyngen utgjorde kun 1 % av det totale antallet tumorvoksler.

**Tabell 10:** Klyngenes median volumandel for en inndeling av tumorvokslene i fem klynger, fra K-means klynging basert på  $RSI(t)$  for de ti første tidsstegene i den dynamiske MR-avbildningen. For hver pasient ble kreftsvulstens volumandel av klyngene beregnet. Median volumandel viser til pasientgruppens medianverdi for disse volumandelene. For den minste klyngen var median volumandel lik null.

Klyngenummer ( $K = 5$ klynger)	Median volumandel i pasientgruppen
1	35 %
2	38 %
3	12 %
4	4 %
5	0 %

De to minste klyngene hadde de høyeste verdiene for klyngesentrene. Spesielt klynge 5 skilte seg fra de øvrige klyngene ved å ha høye gjennomsnittsverdier av  $RSI(t)$  for de ulike tidsstegene, som vist i figur 31 og tabell 11. Denne klyngen viste lignende egenskaper som klynge 1 fra klyngingen med  $K = 3$  klynger vist i figur 30. Majoriteten av tumorvokslene viste en mer moderat gjennomsnittlig relativ signaløkning  $RSI(t)$  for de ulike tidsstegene. Klynge 2 hadde den høyeste median volumandelen lik 38 % og er vist i rødt i figur 31, mens klynge 1 hadde median volumandel på 35 % og er vist i blått i figuren. Klynge 1 viste lignende klyngesentrum som klynge 3 fra  $K = 3$  klynger (se for øvrig tabell 9 og 11).



**Figur 31:** Klyngesentrum for de ulike klyngene fra klyngingen med  $K = 5$  klynger basert på den relative signaløkningen  $RSI(t)$  for de ti første tidsstegene i den dynamiske MR-avbildningen. Klynge 5 skiller seg fra de øvrige klyngene ved at den har høye verdier gjennomsnittlige verdier for tidsstegene  $T_0, T_1, \dots, T_9$  i den dynamiske bildeserien. Klynge 1 var signifikant assosiert med behandlingsutfall (se avsnitt 4.3.3).

Klyngingene med  $K = 3$  og  $K = 5$  klynger viste at gjennomsnittet av vokslene ikke nådde utvaskingsfasen av kontrastmiddel i løpet av de ti første tidsstegene. Dette fremgår fra verdiene til klyngesentrene, som i de fleste tilfellene ikke begynte å avta før det siste tidssteget  $T_9$  og da i beskjeden grad. Fremstillingen av klyngesentrene i figur 30 og 31 synliggjør dette. Kurvene som viser klyngesentrene kan tolkes som opptakskurver for kontrastmiddelet og viser den gjennomsnittlige effekten kontrastmiddelet hadde på den relative signaløkningen  $RSI(t)$  i vokslene tilhørende den enkelte klyngen.

**Tabell 11:** Klyngesentrene for en inndeling av tumorvokslene i fem klynger. Klyngesentrum er gitt som klyngenes gjennomsnittlige verdier av  $RSI(t)$  for tidsstegene  $T_0, T_1, \dots, T_9$ . Klynge 5 skiller seg fra de øvrige klyngene ved at den har høye gjennomsnittsverdier av  $RSI(t)$ . Klynge 5 utgjorde kun 1 % av det totale antallet vokslar.

Klyngenummer	Klyngesentrum									
	$T_0$	$T_1$	$T_2$	$T_3$	$T_4$	$T_5$	$T_6$	$T_7$	$T_8$	$T_9$
1	0	0,78	1,57	1,81	1,90	1,96	1,98	1,99	1,99	1,98
2	0	0,40	0,94	1,12	1,18	1,23	1,25	1,27	1,28	1,28
3	0	0,13	0,31	0,38	0,42	0,44	0,45	0,46	0,48	0,49
4	0	1,55	2,53	2,83	2,94	2,99	3,02	3,02	3,02	2,99
5	0	5,25	6,29	6,39	6,55	6,57	6,55	6,50	6,52	6,46

Avslutningsvis ble  $K$ -means klynging gjentatt på data med  $RSI(t)$  for totalt 13 tidssteg  $T_0, T_1, \dots, T_{12}$ . Effekten av å inkludere ytterligere tre tidssteg i analysen viste seg å være minimal. Analysen resulterte i klynger med relative størrelser og klyngesentrum for  $T_0 - T_9$  som var tilnærmet identiske med den opprinnelige klyngingen basert på de ti første tidsstegene. Typisk endret klyngesentrene for de felles tidsstegene seg med mindre enn 1 %, mens klyngenes relative størrelser endret seg med 0-1 %. Klyngesentrene for  $T_{10} - T_{12}$  viste heller ikke betydelig nedgang i den gjennomsnittlige verdien av  $RSI(t)$ , med unntak av de svært små klyngene som også viste den kraftigste gjennomsnittlige relative signaløkningen  $RSI(t)$ . Det vil si at gjennomsnittet av vokslene heller ikke nådde utvaskingsfasen av kontrastmiddel i løpet av de 13 første tidsstegene. Plottene av klyngesentrene for  $K = 3$  og  $K = 5$  klynger fra klyngeanalysen med 13 tidssteg er gitt i vedlegg 7.5.

### 4.3.3 Overlevelsesanalyse

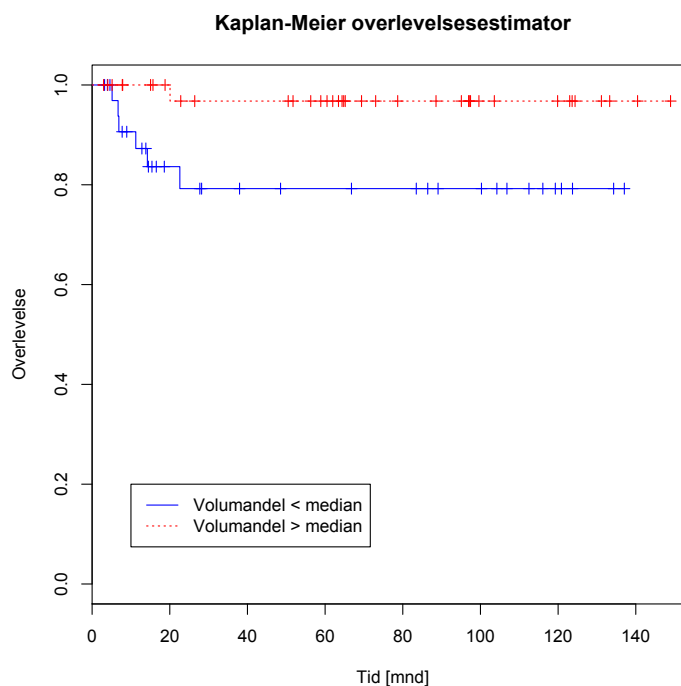
Alle  $K \in [2, 6]$  grupperinger fra  $K$ -means klyngeanalyse av  $RSI(t)$  for de ti første tidsstegene ble analysert mot de tre ulike endepunktene. For klyngene med median volumandel lik null



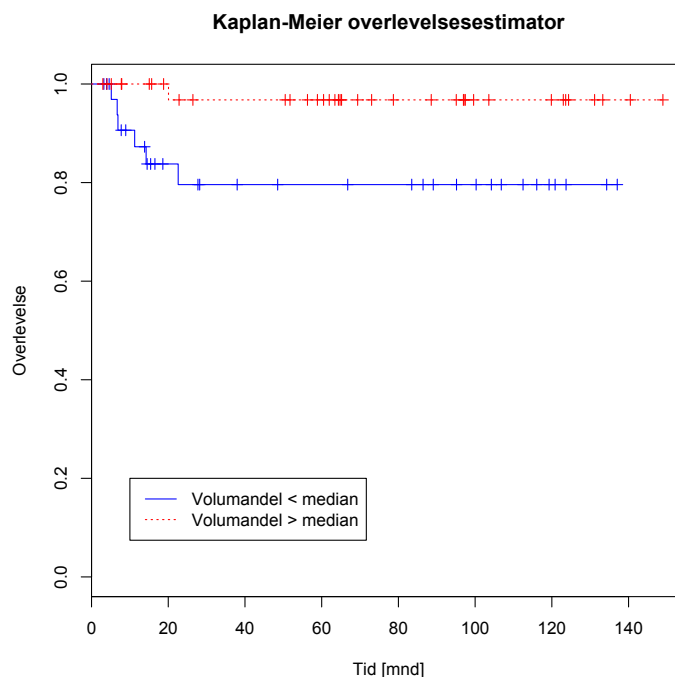
ble pasientene gruppert etter om de hadde vokslar tilhørende klyngen eller ikke. For noen av de mellomstore klyngene var det 1 til 2 pasienter som ikke hadde vokslar tilhørende klyngene. Disse pasientene ble inkludert i pasientgruppen med lav volumandel av den aktuelle klyngen. Overlevelsesanalysen ga ingen interessante funn for tilbakefall i form av spredning.

### Lokaltumorkontroll

Overlevelsesanalysen med lokalt tilbakefall som endepunkt ga de to signifikante funnene for *K-means* basert på  $RSI(t)$ . *Log-rank*-tester med lokalt tilbakefall som endepunkt ( $LRC = 1$ ) viste at klynge 3 fra  $K = 3$  klynger og klynge 1 fra  $K = 5$  klynger begge var signifikant assosiert med lokaltumorkontroll ( $LRC$ ), med  $p$ -verdier lik henholdsvis 0,022 og 0,024. Kaplan-Meier-estimatorene for de to ulike klyngene er gitt i figur 32 og 33. Estimatorene viser at det for begge klyngene var en høyere risiko for lokalt tilbakefall i pasientgruppen med lav volumandel av den aktuelle klyngen. Klyngenes sentrum og volumandeler er beskrevet i avsnitt 4.3.2. De to klyngene hadde relativt like klyngesentrum, med moderate gjennomsnittlige verdier av  $RSI(t)$ .



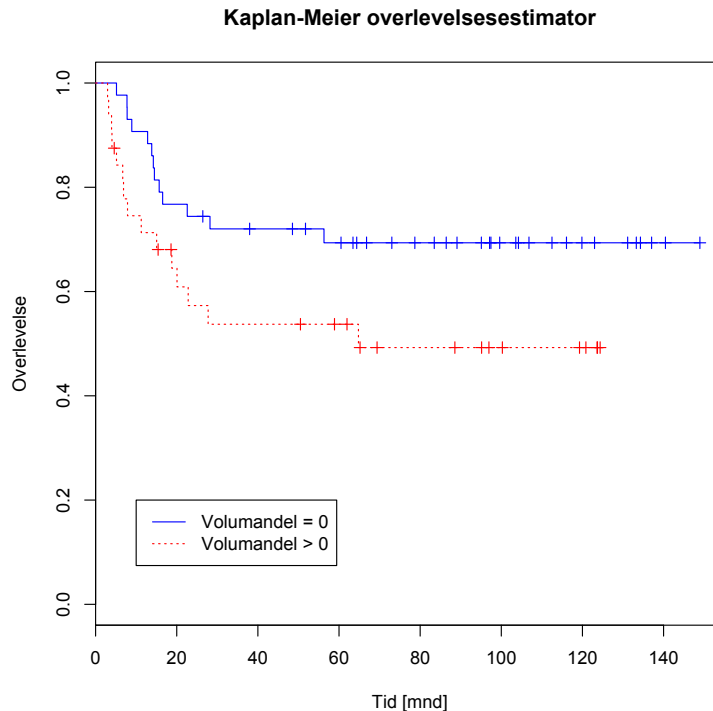
**Figur 32:** Kaplan-Meier-estimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 3 fra klynging med  $K=3$  klynger. Endepunktet er her lokalt tilbakefall av sykdommen. Sensurerte pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Estimatorene illustrerer at pasientgruppen med høy volumandel av klynge 3 hadde en lavere risiko for lokalt tilbakefall. *Log-rank* hypotesetest viste en signifikant forskjell i risiko mellom de to pasientgruppene ( $p$ -verdi: 0,022).



**Figur 33:** Kaplan-Meier-estimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av klynge 1 fra klynging med  $K=5$  klynger. Endepunktet er lokalt tilbakefall av sykdommen. Sensurerte pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Estimatorene illustrerer at pasientgruppen med høy volumandel av klynge 1 hadde lavere risiko for lokalt tilbakefall. Log-rank hypotesetest viste en signifikant forskjell i risiko mellom de to pasientgruppene ( $p$ -verdi: 0,024).

### Progresjonsfri overlevelse

Overlevelsesanalysen med alle typer tilbakefall som endepunkt ( $PFS = 1$ ) ga ingen signifikante funn. Klyngen som ga den laveste  $p$ -verdien i *log-rank*-testen var klynge 5 fra klyngingen med  $K = 5$  klynger, der hypotesetesten ga en  $p$ -verdi lik 0,071. Denne klyngen utgjorde kun 1 % av det totale antallet vokslers, og hadde median volumandel i pasientgruppen lik null. Dermed ble pasientinndelingen utført som beskrevet innledningsvis i avsnitt 4.3.3. Etter at pasientene med ukjente overlevelsestider var ekskludert fra analysen ga denne inndelingen to pasientgrupper bestående av 32 pasienter med vokslers tilhørende klyngen og 43 pasienter uten vokslers tilhørende klyngen. Kaplan-Meier-estimatorene for klynge 5 er gitt i figur 34 og illustrerer at pasientgruppen uten vokslers tilhørende klynge 5 hadde en høyere andel overlevende, enn hva pasientgruppen med vokslers tilhørende klyngen hadde. Forskjellen mellom gruppene var *ikke* statistisk signifikant.



**Figur 34:** Kaplan-Meier-estimatorer for pasientgruppene henholdsvis med og uten vokslar tilhørende klynge 5 fra klynging med  $K=5$  klynger. Endepunktet er her tilbakefall totalt sett ( $PFS = 1$ ). Sensurete pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Estimatorene illustrerer at andelen overlevende i pasientgruppen som ikke hadde vokslar tilhørende klynge 5 var høyere enn i pasientgruppen med vokslar tilhørende klyngen. Forskjellen i risiko mellom de to pasientgruppene var imidlertid ikke signifikant (log-rank-test med  $p$ -verdi lik 0,071).

Klynge 5 skilte seg som beskrevet i avsnitt 4.3.2 ut fra de øvrig klyngeinndelingene for  $K = 5$  ved at den hadde de høyeste gjennomsnittlige verdiene av  $RSI(t)$  for alle tidsstegene  $T_1, T_2, \dots, T_9$ . Sammenliknet med samtlige klynginger hadde klynge 5 de nest høyeste verdiene for klyngesentrum. Klyngen med de høyeste gjennomsnittlige verdiene for  $RSI(t)$  var ennå mindre enn klynge 5 og hele 58 pasienter hadde *ikke* vokslar tilhørende klyngen. Denne klyngen opptrådte for en inndeling i  $K = 6$  klynger og ga ingen interessante funn i overlevelsesanalysen.

#### 4.3.4 Korrelasjon med totalt tumorvolum

De to klyngene som ga signifikante funn i overlevelsesanalysen viste begge signifikant negativ lineær korrelasjon med det totale tumorvolumet. Pearsons korrelasjonskoeffisient for sammenhengen mellom pasientenes tumorvolum og volumandelene av de respektive klyngene er gitt i tabell 12, sammen med  $p$ -verdiene for korrelasjonen (*Student's t-test*).

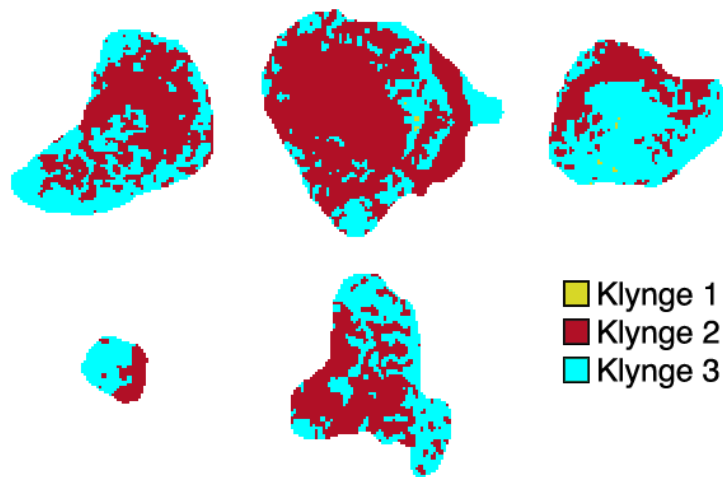
**Tabell 12:** Pearsons korrelasjonskoeffisient  $r_{XY}$  for den lineære korrelasjonen mellom pasientenes totale tumorvolum og volumandelen av de klyngene som var signifikant assosiert med lokaltumorkontroll i overlevelsesanalysen. P-verdiene for korrelasjonen er også oppgitt (Student's t-test).

Antall klynger $K$	Klyngenummer	Korrelasjonskoeffisient $r_{XY}$	p-verdi (Student's t-test)
3	3	-0,356	0,001
5	1	-0,378	0,0005

#### 4.3.5 Romlig fordeling

De to klyngene som begge var signifikant assosiert med lokalt tilbakefall ble først sammenliknet voksel for voksel for samtlige bildesnitt. Sammenligningen viste at hele klynge 1 fra  $K = 5$  var en delmengde av klynge 3 fra  $K = 3$ . Videre ble plasseringen til både klynge 1 og klynge 3 vurdert ved å se på klyngenes gjennomsnittlige  $xy$ -avstand til sentrum av mediansnittet for hver pasient, som beskrevet i avsnitt 3.5. Det var her en tendens til at klynge 3 hovedsakelig befant seg i mellomsjiktet og det ytre sjiktet av den gjennomsnittlige avstanden til sentrum for de tre klyngene fra  $K = 3$ . Klynge 1 fra  $K = 5$  befant seg hovedsakelig i mellomsjiktet av de fem klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum av mediansnittene. Figur 35 viser fordelingen av tumorvokslene for  $K = 3$  klynger over det samme tilfeldige utvalget av mediansnitt som er vist i tidligere figurer (jf. figur 24 og figur 28).

Klynge 1 og klynge 3 ble deretter sammenliknet med klynge 2 fra  $K$ -means basert på Toftsparameterne, da alle disse klyngene var signifikant assosiert med lokaltumorkontroll. På grunn av endringene i skriptet som ble anvendt til å lage datasettene for henholdsvis Toftsparameterne og  $RSI(t)$  lot det seg ikke gjøre å sammenlikne de tre klyngene vokselvis, fordi de ikke hadde korresponderende  $xy$ -koordinater. Klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum av mediansnittene ble imidlertid sammenliknet. Spesielt klynge 3 og Tofts klynge 2 viste lave avvik for de respektive klyngenes avstand til  $xy$ -sentrum for dette bildesnittet. At disse to klyngene hadde felles vokslers vises også fra klyngenes fordeling over de utvalgte mediansnittene i henholdsvis figur 24 og figur 35.

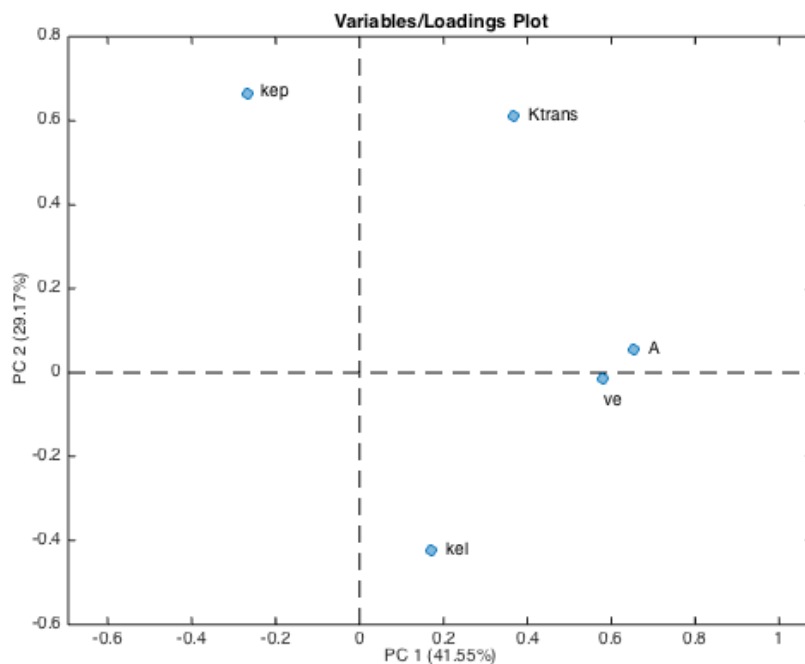


**Figur 35:** Klyngenes fordeling over et tilfeldig utvalg median bildesnitt for klyngingen med  $RSI(t)$  ( $K=3$ ). En høy volumandel av klynge 3 var forbundet med lavere risiko for lokalt tilbakefall. Klynge 3 viste en tendens til å befinne seg i mellomsjiktet og det ytre sjiktet av klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum. Avbildningene er i figuren rotert i  $xy$ -planet for å være likt orientert som avbildningene basert på Tofts- og Brixdatasettene i figur 24 og 28. Figuren er laget i Matlab ved hjelp av et skript av Turid Torheim (vedlegg 7.1).

Klynge 5 fra klyngingen med  $K = 5$  klynger viste interessante egenskaper i form av sine høye gjennomsnittlige verdier av  $RSI(t)$  og en nært signifikant sammenheng med tilbakefall totalt sett (p-verdi: 0,071). Klyngens gjennomsnittlige  $xy$ -avstand til sentrum av mediansnittet for hver pasient ble derfor undersøkt. Det viste seg at 17 av de 32 pasientene som hadde vokslar tilhørende klynge 5 også hadde den i mediansnittet. For disse pasientene viste klyngen en tydelig tendens til å være plassert enten sentralt eller i ytterkant av mediansnittet.

#### 4.4 Prinsipalkomponentanalyse med Tofts- og Brixparameterne

De estimerte Tofts- og Brixparameterne ble analysert med prinsipalkomponentanalyse for å undersøke korrelasjonen mellom modellparameterne  $K^{trans}$ ,  $v_e$ ,  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$ . Analysen ble basert på de tre første prinsipalkomponentene, som forklarte til sammen 91 % av den totale variansen i data. Ladningsplottene for de ulike kombinasjonene av de tre prinsipalkomponentene er vist i figur 36 – figur 38.

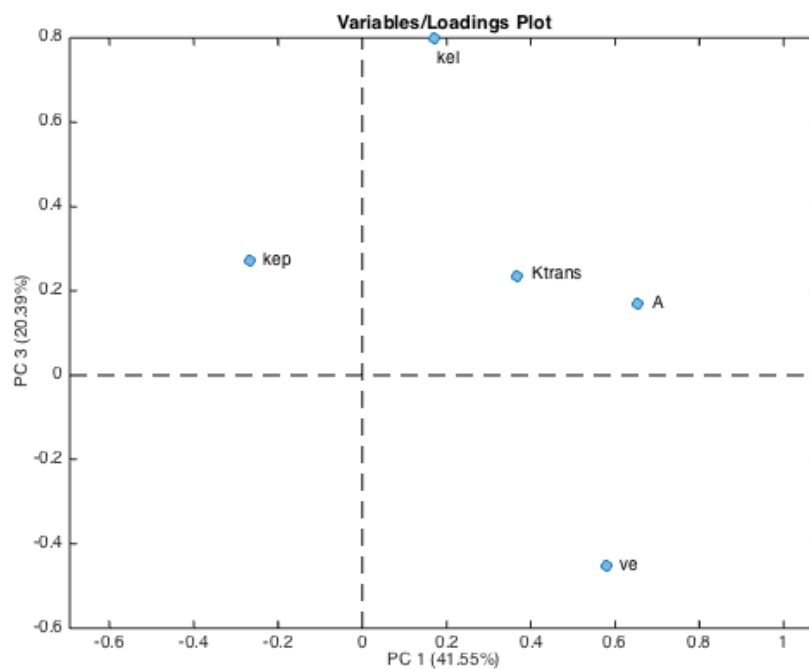


**Figur 36:** Ladningsplott for 1. og 2. prinsipalkomponent. PC1 og PC2 forklarte henholdsvis 41,6 % og 29,2 % av variansen i data. De fem variablene er modellparameterne fra Tofts- og Brixmodellen.

Ladningsplottet for første og andre prinsipalkomponent (figur 36) viser at de to modellparameterne  $A$  og  $v_e$  fra henholdsvis Tofts- og Brixmodellen plasserer seg nært hverandre i ladningsplottet, og er positivt korrelerte med hensyn på begge prinsipalkomponentene. Disse to modellparameterne har også størst innflytelse på den første prinsipalkomponenten, som forklarer 41,6 % av variansen i data. De to Brixparameterne  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  plasserer seg langt fra hverandre i ladningsplottet, spesielt med hensyn på den andre prinsipalkomponenten.  $K^{trans}$  og  $k_{el}$  plasserer seg langt fra hverandre med hensyn på PC2, mens  $K^{trans}$  og  $k_{ep}$  ligger nært hverandre med hensyn på den samme komponenten. Disse tre variablene har dermed størst innflytelse på den andre prinsipalkomponenten. Videre plasserer  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  seg i diagonalt motsatte kvadranter, slik at  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  er negativt korrelert med

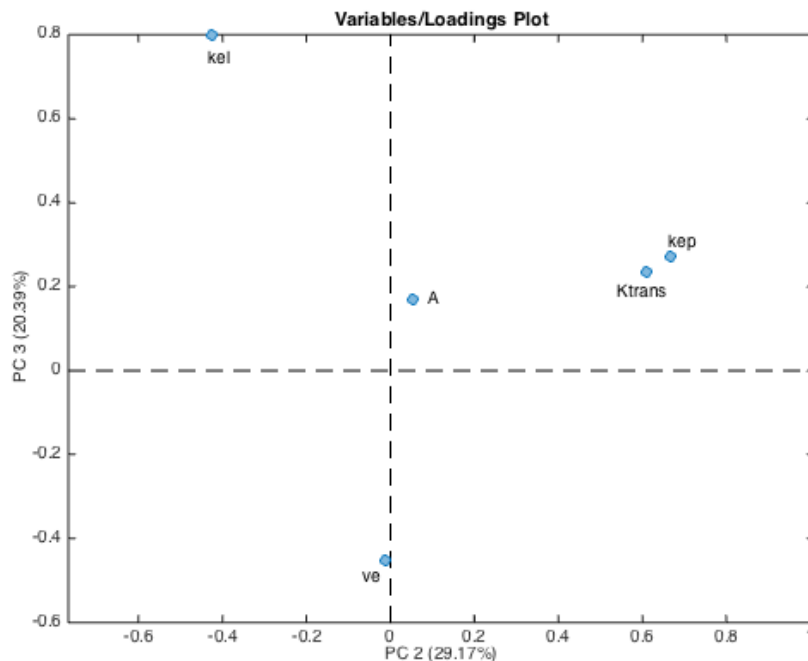
hensyn på begge prinsipalkomponentene. De to første prinsipalkomponentene forklarer til sammen 70,7 % av variansen i data.

Figur 37 viser ladningsplottet for første og tredje prinsipalkomponent, som til sammen forklarer 61,9 % av variansen. Plottet viser at Brixparameteren  $k_{el}$  har størst innflytelse på den tredje prinsipalkomponenten, etterfulgt av Toftsparameteren  $v_e$ . Disse to parameterne spenner ut den tredje prinsipalkomponenten i hver sin retning, og er dermed negativt korrelerte med hensyn på PC3. Denne komponenten forklarer 20,4 % av variansen i data. Videre viser plottet at det er en negativ korrelasjon mellom parameterne  $k_{ep}$  og  $v_e$  med hensyn på begge komponentene, da disse variablene plasserer seg i diagonalt motsatte kvadranter. De to parameterne  $K^{trans}$  og  $A$  er de parameterne som plasserer seg nærmest hverandre i ladningsplottet, spesielt med hensyn på PC3.



**Figur 37:** Ladningsplott for 1. og 3. prinsipalkomponent. PC1 og PC3 forklarte henholdsvis 41,6 % og 20,3 % av variansen i data. De fem variablene som vises er modellparameterne fra Tofts- og Brixmodellen

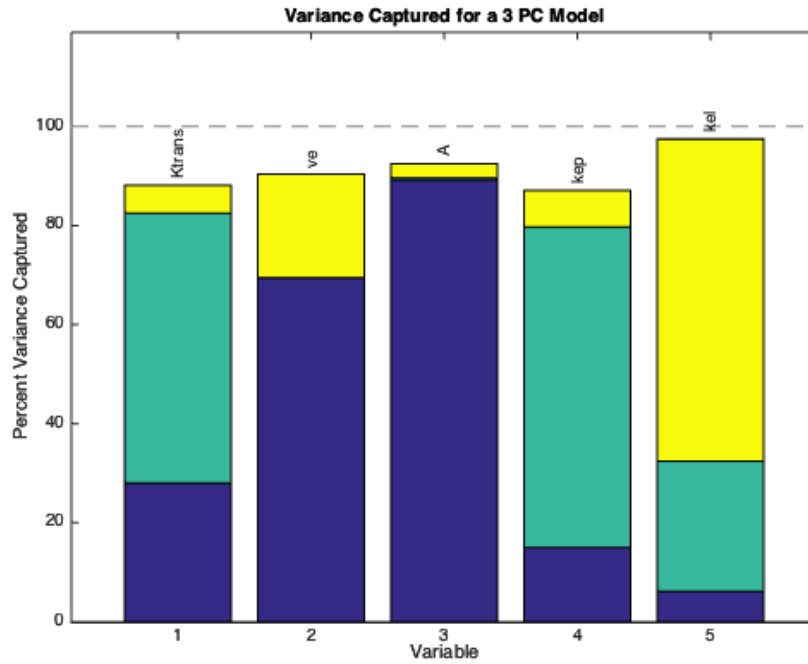
Ladningsplottet for den andre og tredje prinsipalkomponent er gitt i figur 38. De to høyeste prinsipalkomponentene forklarer til sammen 49,6 % av variansen i data. Dette ladningsplottet viser at de to parameterne  $K^{trans}$  og  $k_{ep}$  er positivt korrelerte, da disse variablene plasserer seg nært hverandre med hensyn på både PC2 og PC3.



**Figur 38:** Ladningsplott for 2. og 3. prinsipalkomponent fra PCA med de fem Tofts- og Brixparameterne. PC2 og PC3 forklarte henholdsvis 29,2 % og 20,3 % av variansen i data. De fem variablene som vises er modellparameterne fra Tofts- og Brixmodellen.

Figur 39 viser andelen forklart varians i modellen for hver enkelt modellparameter (variabel) og hvilke prinsipalkomponenter som forklarer mest av variasjonen i de ulike variablene. For samtlige modellparametere er andelen forklart varians i modellen over 80 %. Parameteren  $k_{el}$  har den høyeste andelen forklart varians av de fem variablene, og skiller seg ut fra de øvrige parameterne ved at den største andelen av variasjonen i parameteren er forklart av PC3 (vist i gult). De positivt korrelerte modellparameterne (i)  $v_e$  og  $A$  og (ii)  $k_{ep}$  og  $K^{trans}$  viser parvis like fordelinger av andelen varians som er forklart av de ulike prinsipalkomponentene.





**Figur 39:** Andelen forklart varians i PCA-modellen med tre prinsipalkomponenter. PC1, PC2 og PC3 er vist i henholdsvis blått, grønt og gult. Figuren viser hvor stor andel av variasjonen i hver enkelt variabel som forklares av de ulike prinsipalkomponentene. De fem variablene er modellparameterne fra Tofts- og Brixmodellen:  $K^{trans}$ ,  $v_e$ ,  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$ .

## 5. Diskusjon

### 5.1 Metoder og datagrunnlag

#### 5.1.1 Bildemateriale og datagrunnlag

Bildematerialet som analysene baserer seg på er fra tidsperioden 2001-2004. Både tidsoppløsningen og den romlige oppløsningen er dermed lav, sammenliknet med det som er mulig å oppnå med mer moderne utstyr [22]. Bildekvaliteten vil naturligvis ha betydning for  $RSI(t)$  og parameterestimaterne fra tilpasningen av de farmakokinetiske modellene. På den andre siden har studien sin styrke i at den omfatter en relativt stor pasientgruppe med lang oppfølgingstid. Den regelmessige og langvarige oppfølgingen av pasientene i etterkant av behandlingen gjør at behandlingsutfallet i stor grad er kjent [22].

Brix- og Toftsmodellen er forenklinger av virkeligheten, og bygger på en rekke antagelser som er beskrevet i avsnitt 2.3. Det er derfor ikke gitt at modellene gir en korrekt gjengivelse av den underliggende biologien [65].  $RSI(t)$  og parameterestimaterne kan for eksempel bli påvirket av ikke-lineære forhold mellom kontrastmiddelkonsentrasjonen og signalintensiteten samt inhomogeniteter i det statiske magnetfeltet [21]. Videre anvender Toftsmodellen en populasjonsbasert arteriell inputfunksjon  $AIF(t)$  hentet fra dynamisk CT av pasienter med prostatakreft. Bruken av en populasjonsbasert  $AIF(t)$  vil sannsynligvis føre til systematiske feil i parameterestimaterne for  $K^{trans}$  og  $v_e$ , siden den samme funksjonen anvendes for alle pasientene. Systematiske feil i parameterestimaterne kan være av betydning dersom resultatene skal sammenliknes med funn i andre studier [21].

#### 5.1.2 *K-means* klyngeanalyse

De viktigste aspektene ved *K-means* klyngeanalyse er beskrevet i avsnitt 3.4.2 og 3.4.3. En av de største utfordringene med metoden er at antallet klynger som data skal grupperes i må velges [52, 56]. For å bestemme antall klynger  $K$  ble det anvendt et estimat som tok hensyn til den gjennomsnittlige avstanden mellom observasjonene og klyngesentrum  $MD_k$  og den minste observerte avstanden mellom klyngesentrene  $d_{min}$ . Resultatene fra overlevelsesanalysen viste at det kun var for Toftsmodellen at den estimerte optimale inndelingen av observasjonene samsvarte med signifikante funn for sammenhengen mellom

klyngenes relative størrelser og overlevelse. Spesielt underpartisjonsfunksjonen vil la seg påvirke av små grupperinger med spredte observasjoner, slik det ble observert for klyngingen med  $RSI(t)$  (se vedlegg 7.5, figur 44). Slike små klynger kan bestå av *outliers* og støy [57]. Funnene for klyngeinndelingene basert på Brixparameterne og  $RSI(t)$  viser at en estimert optimal inndeling ikke nødvendigvis gir den grupperingen av data som man leter etter.

*K-means*-algoritmen garanterer ikke konvergens til globalt minimum og løsningen avhenger av den innledende fordelingen av observasjonene [52]. For å oppnå en best mulig løsning på algoritmen ble den beste av 30 replikasjoner valgt ut. For samtlige klynginger viste det seg at forskjellene mellom de 30 løsningene var minimal, og de fleste replikasjonene resulterte i den samme totale summen av avstander (jf. likning 33). I klyngingene ble Matlabs *k-means++*-algoritme anvendt til den innledende fordelingen av observasjonene, noe som angivelig skal forbedre både tidsforbruket og kvaliteten til den endelige løsningen [66].

For alle de tre datasettene bestående av henholdsvis Toftsparameterne, Brixparameterne og  $RSI(t)$  bekreftet *K-means* klynging med mediansnittene i høy grad de opprinnelige klyngeinndelingene. Å ekskludere de tre pasientene som hadde lavest kvalitet på tilpasningen av de farmakokinetiske modellene hadde tilsvarende beskjeden effekt på klyngeinndelingene. Begge disse endringene i datagrunnlaget resulterte i typiske endringer i klyngenes relative størrelser på 0-2 %, mens klyngesentrene endret seg i størrelsesorden 1-3 %. Disse resultatene tyder på at klyngingene er robuste, og klyngeinndelingene ser ikke ut til å være spesielt avhengige av enkeltpasienter. For  $RSI(t)$  førte forandringene i datamengden til systematiske endringer i klyngenes sentrum. Klyngingen med mediansnittene resulterte for  $RSI(t)$  i en nedgang i klyngesentrene på ca. 2 %, mens det å ekskludere de tre pasientene ga om lag 3 % økning i klyngesentrene. Systematiske variasjoner i klyngesentrene ble ikke observert for noen av Tofts- eller Brixparameterne for de tilsvarende reduksjonene i datamengden. En mulig forklaring på dette kan være at tilpasningen av de farmakokinetiske modellene reduserer informasjonen i  $RSI(t)$  [67]. De systematiske endringene i klyngesentrum for  $RSI(t)$  kan i tilfellet ha sammenheng med karakteristiske egenskaper ved (i) mediansnittene som rommer de sentrale områdene av tumor og (ii) de tre pasientene med dårligst tilpasning av de farmakokinetiske modellene (lav bildeklaritet). Et fornuftig alternativ til klynging med mediansnittene kunne vært å undersøke robustheten i klyngingene ved å se på en helt tilfeldig undergruppe av data.

### 5.1.3 Overlevelsesanalyse

Overlevelsesanalysen ble utført med den ikke-parametriske *log-rank*-testen, og forskjellen i overlevelse mellom pasientgrupper ble visualisert med Kaplan-Meier overlevelseskurver. Både *log-rank*-testen og KM-estimatoren baserer seg på antagelsene om at (i) sensureringen ikke er relatert til prognosen for overlevelse, (ii) sannsynligheten for overlevelse er den samme for pasienter som rekrutteres tidlig og sent i studien og (iii) endepunktene opptrer ved de observerte overlevelsestidene [63]. For pasientene med livmorhalskreft er ikke nødvendigvis blandingen av pasienter lik under hele den lange oppfølgingstiden, slik at sannsynligheten for overlevelse kan variere med endringer i pasientgruppen [68]. Videre er det ikke gitt at tilbakefall av sykdommen opptrer på den eksakte overlevelsestiden. For denne typen kreftstudie vil gjerne tilbakefall av sykdommen opptre noen tid i forkant av den siste regelmessige undersøkelsen der endepunktet observeres. Dette vil i tilfellet medføre at overlevelseskurven viser en kunstig høy andel overlevende [68]. Avvik fra de nevnte antagelsene vil imidlertid ha størst betydning dersom de er veldig ulikt tilfredsstilt i de to pasientgruppene som undersøkes [63]. For eksempel ved at en overveiende andel av de sensurerte pasientene befinner seg i den ene av pasientgruppene. En slik trend er ikke tilstede for noen av pasientgrupperingene som ble undersøkt i våre analyser.

I overlevelsesanalysen ble klyngenes relative størrelser undersøkt for sammenheng med risiko for lokalt tilbakefall, tilbakefall i form av metastaser og tilbakefall totalt sett. Andersen et al. [21] undersøkte i sin analyse med *K-means* på Toftsparameterne kun sammenhengen mellom klyngenes relative størrelser og lokalt tilbakefall, da deres hovedfokus var å avdekke radioresistente områder for målrettet stråleterapi [69]. Tumorer med høye andeler av slike radioresistente områder vil typisk vise lavere sannsynlighet for lokaltumorkontroll [21]. Ifølge Lindegaard et al. [70] er andelen pasienter med lokaltumorkontroll generelt høy for livmorhalskreft. Dette er også tilfellet for pasientgruppen som analyseres i denne oppgaven, der kun 9 av pasientene opplevde lokalt tilbakefall, mens 23 av pasientene hadde tilbakefall i form av metastaser. Kallehauge et al. [65] fremhever at funksjonell avbildning som DCE-MRI kan bidra til en ytterligere forbedring av lokaltumorkontroll for pasientgruppen, spesielt for tumorer som responderer dårlig på kombinert kjemo- og stråleterapi.

### 5.1.4 Romlig fordeling

Klyngenes gjennomsnittlige  $xy$ -avstand til sentrum av mediansnittet gir sannsynligvis mangelfull informasjon om klyngenes romlige fordeling over tumor som helhet. Dette fremgår fra funnene i overlevelsesanalysen basert på klynging med mediansnittene, som resulterte i en annen pasientinndeling enn overlevelsesanalysen basert på samtlige bildesnitt. Det vil si at mediansnittene ikke var representative for pasientenes totale volumandel av klyngene. Overlevelsesanalyse basert på mediansnittene ble kun utført for de standardiserte Brixparameterne. Videre viser undersøkelsene av den romlige fordelingen til klyngene fra  $K$ -means basert på  $RSI(t)$  at ikke alle klyngene nødvendigvis er representert i mediansnittene. Avbildningene av klyngenes fordeling over et utvalg mediansnitt viser også at klyngene i varierende grad opptrer spredt (jf. figur 24, 28 og 35). Mulige metoder for å danne et mer helhetlig bilde av klyngenes romlige fordeling er beskrevet i avsnitt 5.7.

## 5.2 Analyse av Toftsparameterne

$K$ -means klynging basert på Toftsparameterne bekrefter funnene i Andersen et al. [21], som i sin studie grupperte tumorvokslene i en estimert optimal inndeling på tre klynger. Resultatene fra Andersen et al. [21] er oppsummert i tabell 13, sammen med resultatene fra reproduksjonen utført i denne oppgaven (gitt i parentes). Tabellen viser at klyngenes median volumandel i pasientgruppen ble tilnærmet identiske for de to klyngeanalysene.

**Tabell 13:** Resultater fra klyngeanalysen basert på Toftsparameterne utført av Andersen et al. [21] er vist i fet skrift, mens resultater for den tilsvarende analysen utført i denne oppgaven er gitt i parentes. I begge analysene ble det optimale antallet klynger estimert til å være  $K=3$ . De tre klyngene viste tilnærmet identiske median volumandeler i pasientgruppen og lignende verdier for klyngenes sentrum.

Klyngenummer	Klyngesentrum		Median volumandel i pasientgruppen [%]
	$K^{trans}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	$v_e$ [1]	
1	<b>0,10</b> (0,12)	<b>0,20</b> (0,22)	<b>38</b> (37)
2	<b>0,20</b> (0,21)	<b>0,45</b> (0,48)	<b>46</b> (46)
3	<b>0,15</b> (0,19)	<b>0,80</b> (0,94)	<b>10</b> (10)

Klyngesentrene fra analysen utført i denne oppgaven viste noe høyere parameterverdier enn det som ble funnet i Andersen et al. [21], men omtrent de samme klyngeinndelingene ble oppnådd. Forskjellen i klyngesentrum var størst for klynge 3, som især hadde en høy

gjennomsnittlig verdi av parameteren  $v_e$  (klynge 3:  $K^{trans} = 0,19$  og  $v_e = 0,94$ ). I begge analysene er det  $v_e$  som i størst grad «styrer» grupperingen av tumorvokslene, ved at klyngesentrene viser størst variasjon i  $v_e$  samtidig som alle de tre klyngene inneholder hele intervallet av  $K^{trans}$ -verdier (jf. figur 20). Funnene for de tre klyngenes romlige fordeling tilsvarer også funn gjort i Andersen et al. [21].

Andersen et al. [21] fant i sin overlevelsesanalyse signifikant sammenheng mellom den relative størrelsen til klynge 2 og endepunktet lokalt tilbakefall (p-verdi: 0,042 i *log-rank*-test). Dette tilsvarer våre funn for den samme klyngen (p-verdi: 0,029). En høy volumandel av klynge 2 var forbundet med en lavere risiko for lokalt tilbakefall. Klyngen utgjorde en betydelig del av tumorvolumet, med en median volumandel lik 46 %, noe som kan tyde på at klyngen består av tumorområder som er mer mottakelige for stråleterapi enn de øvrige delene av tumor [21]. Pasientgruppen mottok kombinert kjemoterapi og stråleterapi. Klynge 2 kan derfor bestå av områder av tumor som er spesielt mottagelige for kombinert kjemo- og radioterapi.

Klynge 2 viste en moderat negativ lineær korrelasjon med det totale tumorvolumet ( $r_{XY}: -0,310$ ), noe som indikerer at mindre tumorer hadde større volumandel av klynge 2 enn store tumorer. Det totale tumorvolumet kunne imidlertid ikke knyttes til lokaltumorkontroll (p-verdi: 0,461). Også dette tilsvarer funn gjort i Andersen et al. [21] og bekrefter at klyngeinndelingen er den samme for de to ulike analysene med *K-means* klynging.

Videre overlevelsesanalyse med endepunktene tilbakefall totalt sett og tilbakefall i form av metastaser resulterte i signifikante funn for henholdsvis klynge 1 og klynge 3. En høy volumandel av klynge 1 var forbundet med høyere risiko for tilbakefall totalt sett (p-verdi: 0,035). Videre var en høy volumandel av klynge 3 assosiert med en lavere risiko for tilbakefall i form av spredning (p-verdi: 0,047). Klynge 1 var den eneste av de tre klyngene som viste en sammenheng mellom høy volumandel og økt risiko for tilbakefall. Endepunktet inkluderte her alle typer tilbakefall, samtidig som klyngen utgjorde en betydelig andel av tumorvolumet med en median volumandel lik 37 %. Disse faktorene kan tyde på at klynge 1 består av tumorområder som responderer dårlig på kombinert kjemo- og stråleterapi.

De tre klyngenes sentrum er oppsummert i tabell 13. Klyngesentrene gir klyngenes gjennomsnittlige egenskaper uttrykt ved Toftsparameterne  $v_e$  og  $K^{trans}$ . Som beskrevet i

avsnitt 2.3.1 er volumfraksjonen av EES  $v_e$  andelen av vevet som ikke er celler, mens overføringskonstanten  $K^{trans}$  er vevsavhengig. Kallehaug et al. [65] fant i sin studie av ti pasienter med lokalavansert livmorhalskreft at  $K^{trans}$  primært beskrev blodgjennomstrømningen i tumor. Klynge 1 viste de laveste gjennomsnittlige verdiene av både  $K^{trans}$  og  $v_e$ . Dette indikerer at klyngen består av tumorområder med høy celletetthet og lav blodgjennomstrømning. Undersøkelsene av den romlige fordelingen viste at klynge 1 hadde en tendens til å befinne seg sentralt i mediansnittene. Klynge 3 viste en svært lav gjennomsnittlig andel celler, med sentrum for  $v_e$  lik 0,94. Fordi denne klyngen hadde en tendens til å befinne seg i ytterkant av tumor kan det som Andersen et al. [21] påpeker være mulig at klyngen inneholder normalt vev. Klynge 3 utgjorde i tillegg en relativt liten andel av tumor med en median volumandel lik 10 %. Klynge 2 viste seg å være relativt jevnt fordelt over mediansnittene av tumor, med en gjennomsnittlig avstand til  $xy$ -sentrum i mellomsjiktet av de tre klyngene.

Tidligere studier har vist at  $K^{trans}$  er positivt korrelert med tumorregresjon i forbindelse med kombinert kjemo- og stråleterapi [71, 72]. Tumorregresjonen er videre korrelert med lokaltumorkontroll og behandlingsutfall for øvrig [72]. Forsøk med xenografter har vist at  $K^{trans}$  var betydelig høyere for tumorer som ikke var hypoksiske og således kan være positivt korrelert med deltrykket til oksygen [73]. Andersen et al. [22] undersøkte hvilke intervaller av Toftsparameterne som i størst grad kunne predikere lokaltumorkontroll og progresjonsfri overlevelse. Analysen baserte seg på det samme datasettet som er analysert i denne oppgaven, men inkluderte 78 av 81 pasienter. Studien viste at høye verdier av  $K^{trans}$  var positivt korrelert med lokaltumorkontroll og progresjonsfri overlevelse. Våre funn er i tråd med disse funnene, men forskjellene i  $K^{trans}$  er beskjedne for de ulike klyngene og variasjonene i  $v_e$  ser ut til å være viktigst i klyngeinndelingen. Den samme studien viste at det var en negativ korrelasjon mellom lave verdier av  $v_e$  og progresjonsfri overlevelse [21]. Dette er konsistent med funnene i denne oppgaven og den tidligere utførte klyngeanalysen basert på Toftsparameterne [21]. Funnene kan indikere at pasienter som har en betydelig volumandel av områder med høy celletetthet er mer aggressivt angrepet av kreftsykdommen [22]. Forsøk med xenografter har knyttet henholdsvis lave og høye verdier av  $v_e$  til nekrotisk vev [74]. Ifølge Andersen et al. [21] kan den sentrale plasseringen til klynge 1 tyde på at klyngen består av nekrotiske områder. Slike nekrotiske områder i tumor kan forårsakes av utilstrekkelig blodtilførsel [28]. Pollheimer et al. [75] fant at andelen tumornekrose var negativt korrelert med progresjonsfri overlevelse for pasienter med tarmkreft, og oppga rask tumorvekst med

påfølgende hypoksi og celledød som en mulig forklaring på deres funn.

Fra den grafiske fremstillingen av klyngingen i figur 20 fremgår det at det er en betydelig andel observasjoner med  $v_e$  lik 1 for alle verdier av  $K^{trans}$ . Disse observasjonene danner et «bånd» øverst i figuren, og skiller seg ut ved at de ligger tett også for høye verdier av  $K^{trans}$ . Spesielt de vokslene med  $v_e = 1$  og moderate til høye verdier av  $K^{trans}$  viste lave verdier av  $R^2$  og dermed en lite tilfredsstillende tilpasning av Toftsmodellen. Videre kan det diskuteres om  $v_e = 1$  gir mening fysiologisk sett, siden parameteren gir fraksjonen av det ekstravaskulære ekstracellulære rommet (EES) i vevet og  $v_e = 1$  dermed innebærer at det ikke er noen celler i vokselen. Kallehauge et al. [65] ekskluderte i sine analyser basert på Toftsmodellen alle observasjoner med  $v_e = 1$ , da dette ble vurdert som støy fra tilpasningen av modellen. For vår analyse av Toftsparameterne hadde 11 % av observasjonene  $v_e$ -verdier lik 1. Andersen et al. [21] ekskluderte som beskrevet i avsnitt 3.4.3 observasjonene med  $K^{trans} > 1,5$  av praktiske årsaker [58]. Denne grensen for  $K^{trans}$  viste seg å ikke ha noen betydning for klyngeinndelingen i vår analyse. Disse forskjellene skyldes trolig at ulike programvare ble anvendt. Majoriteten av vokslenes  $K^{trans}$ -verdier ligger under  $0,5 \text{ min}^{-1}$ . En alternativ øvre grense for  $K^{trans}$  satt ut ifra fysiologiske kriterier kunne ha vært prøvd ut. Dette i kombinasjon med å ekskludere vokslene med  $v_e$ -verdier lik 1 kunne potensielt ha gitt klyngeinndelinger der parameterverdiene for klyngenes sentrum og rekkevidder var mer korrekte fysiologisk sett.

### 5.3 Analyse av Brixparameterne

De innledende forsøkene med *K-means* basert på Brixparameterne viste at det var en betydelig andel *outliers* i data, som beskrevet i avsnitt 3.4.3. Å sette øvre grenser for parameterne gjorde at *K-means*-algoritmen kunne gi en reell klyngeinndeling. Dette førte til en reduksjon i datasettet på 4,6 %. Figur 43 i vedlegg 7.4 viser at det for de resterende observasjonene var mange voksler med svært lave estimerte verdier av ratekonstanten  $k_{ep}$ . Disse verdiene ligger som et plan i rommet spent ut av Brixparameterne A,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$ . Som Andersen [20] og Torheim [19] påpeker var det også en betydelig andel av observasjonene som hadde estimerer for eliminasjonen av kontrastmiddel fra blodplasma  $k_{el}$  lik null. Tilpasningen av Brixmodellen er diskutert mer inngående i Andersen [20]. Estimater av



ratekonstanten  $k_{ep}$  er hovedsakelig avhengig av den innledende stigningen i  $RSI(t)$ , slik at kvaliteten på estimatet vil påvirkes av tidsoppløsningen i den dynamiske avbildningen [20]. De svært lave verdiene av  $k_{ep}$  kan være en konsekvens av at tidsoppløsningen i den dynamiske avbildningen ikke var høy nok. Nullestimatene av ratekonstanten for eliminasjon av kontrastmiddel fra blodplasma  $k_{el}$  skyldes at varigheten av den dynamiske avbildningen ikke var lang nok til at utvaskingsfasen ble nådd for alle vokslene [20]. Disse observasjonene er ikke ekskludert fra analysen, og påvirker således klyngingen og klyngenes gjennomsnittlige parameterestimer.

Kun de standardiserte parameterestimaterne resulterte i en klyngeinndeling som ga signifikante funn i overlevelsesanalysen. Standardiseringen innebar at ratekonstanten for eliminasjon av kontrastmiddel fra blodplasma  $k_{el}$  ble vektet likt med de øvrige Brixparameterne  $A$  og  $k_{ep}$ . Dette viser hvordan forbehandlingen av data kan ha innvirkning på resultatet av grupperingen med *K-means*. Overlevelsesanalysen viste at en av de identifiserte klyngene (klynge 5 fra  $K = 5$ ) var signifikant assosiert med (i) tilbakefall totalt sett (p-verdi: 0,012) og (ii) tilbakefall i form av spredning (p-verdi: 0,042). En høy volumandel av klynge 5 var forbundet med økt risiko for begge disse endepunktene. Klyngen utgjorde også en betydelig andel av tumorvolumet, med en median volumandel i pasientgruppen lik 34 %. Disse funnene indikerer at klyngen inneholder områder av tumor som responderer dårlig på kombinert kjemo- og stråleterapi.

Klynge 5 viste en positiv lineær korrelasjon med det totale tumorvolumet ( $r_{XY}$  lik 0,356, p-verdi: 0,001). Dette tyder på at størrelsen til klyngen økte med totalt tumorvolum. Det totale tumorvolumet var signifikant assosiert med både tilbakefall i form av spredning og tilbakefall totalt sett i *log-rank*-tester (p-verdier lik 0,006). For begge endepunktene var det en høyere risiko i pasientgruppen med høyt tumorvolum. Klynge 5 utgjorde som nevnt en betydelig andel av tumorvolumet. Imidlertid ble det identifisert klynger med høyere median volumandel i enkelte av de andre klyngeinndelingene, som ikke ga noen funn i overlevelsesanalysen. Dette indikerer at det er egenskapene til tumorområdene i klynge 5 som er av betydning for sammenhengen med behandlingsutfall.

Egenskapene til klynge 5 er karakterisert ved de gjennomsnittlige estimerte parameterverdiene  $A = 1,34$ ,  $k_{ep} = 1,93$  og  $k_{el} = 0,028$ . Klyngen skilte seg ut med de

laveste observerte gjennomsnittsverdiene av  $A$  og  $k_{el}$ , og hadde i tillegg et lavt gjennomsnitt for  $k_{ep}$ . I de øvrige klyngingene ble det identifisert to klynger med *lignende* klyngesentrum og henholdsvis høyere og lavere median volumandel enn klynge 5. Disse klyngene kunne ikke knyttes til overlevelse, noe som også kan tyde på at det er de spesifikke egenskapene til klynge 5 som er av betydning. Amplituden  $A$  er etter definisjonen i likning (30) en sammensatt størrelse, men kan knyttes direkte til mengden av kontrastmiddel i vokselen [20]. Ratekonstanten for eliminasjon av kontrastmiddel fra blodplasma  $k_{el}$  avhenger av blodgjennomstrømningen i vokselen, mens  $k_{ep}$  uttrykker en kombinasjon av karnettverkets egenskaper og andelen celler i vokselen. Både  $A$  og  $k_{el}$  vil sannsynligvis også avhenge av egenskapene til karnettverket utenfor den aktuelle vokselen de beskriver [20]. De lave gjennomsnittlige parameterverdiene kan tyde på at klynge 5 består av områder av tumor med lav blodgjennomstrømning. Det var her en tendens til at klynge 5 var spredt fordelt over mediansnittene og hovedsakelig befant seg i mellomsjiktet av de fem klyngenes gjennomsnittlige avstand til sentrum av dette bildesnittet.

Amplituden  $A$  er vist å være positivt korrelert med deltrykket til oksygen [15]. Lave verdier av  $A$  kan derfor indikere hypoksiske områder av tumor og amplituden fremholdes som en egnet parameter til å predikere behandlingsutfall [15, 22]. Andersen et al. [22] fant at lave verdier av amplituden  $A$  var signifikant assosiert med økt risiko for tilbakefall totalt sett. Dette er i tråd med funnene for klynge 5 i denne oppgaven. Parameteren  $k_{ep}$  har på sin side vist positiv korrelasjon med tumorregresjon i forbindelse med kombinert kjemo- og stråleterapi i en tidligere studie [72]. Andersen [20] fant i sin masteroppgave at ratekonstanten for eliminasjon av kontrastmiddel fra blodplasma  $k_{el}$  var positivt korrelert med både progresjonsfri overlevelse og lokaltumorkontroll, men sammenhengen var ikke signifikant når det ble korrigert for korrelasjon med henholdsvis tumorvolum og stadium.

## 5.4 Analyse av $RSI(t)$

Prinsipalkomponentanalysen med  $RSI(t)$  viste at en stor andel av variansen i de ti første tidsstegene kunne forklares ved hjelp av 1-2 prinsipalkomponenter. De to første prinsipalkomponentene forklarte henholdsvis 91,2 % og 4,9 % av variansen. *K-means* klynging basert på (i) skårene fra PC1 og PC2 og (ii) skårene fra PC1 resulterte i den samme inndelingen av tumorvokslene som klyngingen basert på de ti første tidsstegene i  $RSI(t)$ . Fra ladningsplottet i figur 29 fremgår det at de senere tidsstegene i  $RSI(t)$  er sterkt positivt korrelerte. Årsaken til dette er trolig at gjennomsnittet av vokslene ikke nådde utvaskingsfasen av kontrastmiddel i løpet av de ti første tidsstegene, slik at  $RSI(t)$  for de senere tidsstegene er tilnærmet konstant (jf. figur 30 og 31). Klyngingen basert på 13 tidssteg av  $RSI(t)$  ga ingen betydelig endring i disse resultatene, og gjennomsnittet av vokslene tilhørende de enkelte klyngene befant seg i overveiende grad fortsatt i platåfasen av kontrastmiddelopptaket (jf. figur 45 og 46, vedlegg 7.5). Effekten av utvaskingsfasen på analyseresultatet er derfor usikker. Et datagrunnlag som i større grad skildret utvaskingen av kontrastmiddel kunne potensielt ha vist andre sammenhenger i PCA og gitt en annen klyngeinndeling for  $RSI(t)$ .

Klyngeinndelingene basert på  $RSI(t)$  førte for  $K \geq 3$  til at det ble dannet én klynge per klynging som bestod av et lavt antall observasjoner med en total volumandel lik 1-2 %. Disse små klyngene viste de høyeste verdiene for den gjennomsnittlige relative signaløkningen  $RSI(t)$ . Som beskrevet tidligere kan slike små klynger bestå av støy og *outliers* [57], men funnene i overlevelsesanalysen *antyder* at de små inndelingene med høy  $RSI(t)$  er av mulig betydning i analysen. I og med at klyngingene med  $RSI(t)$  resulterte i reelle klyngeinndelinger ble ikke data forbehandlet på noen måte, og alle datapunkter ble inkludert.

Bildegrunlaget som  $RSI(t)$  er beregnet ut ifra ble som beskrevet i avsnitt 3.2 glattet med et støyreducerende filter [21]. I datasettet for  $RSI(t)$  ble det imidlertid observert enkelte negative verdier. De negative verdiene var spesielt fremtredende for det første postkontrast-tidssteget i bildeserien  $T1$ , som gjenspeiler den innledende kontrastforsterkningen. For  $T1$  var 13,5 % av observasjonene mindre enn null, mens de resterende tidsstegene hadde  $\sim 2$  % negative observasjoner. De negative verdiene som observeres må tilskrives støy i bildegrunlaget, da det ikke gir mening med en nedgang i signalintensiteten som følge av injeksjon med kontrastmiddel.

Overlevelsesanalysen viste at to overlappende klynger (referert til som klynge 3 og klynge 1) var signifikant assosiert med endepunktet lokalt tilbakefall (p-verdi: 0,022 og 0,024). De to klyngene ble identifisert ved en inndeling av observasjonene i henholdsvis 3 og 5 klynger. For begge disse klyngene var det en lavere risiko for lokalt tilbakefall i pasientgruppene med høy volumandel av klyngene. Klynge 1 og klynge 3 utgjorde en betydelig andel av tumorvolumet med median volumandel lik henholdsvis 29 % og 53 %. Dette indikerer at klyngene består av tumorområder som er mer mottakelige for radioterapi eller kombinert kjemo- og radioterapi enn de øvrige delene av tumor. Begge klyngene viste en negativ lineær korrelasjon med det totale tumorvolumet (klynge 1:  $r_{XY} = -0,378$ , klynge 3:  $r_{XY} = -0,356$ ), noe som indikerer at mindre tumorer hadde en større volumandel av klyngene enn store tumorer.

Klynge 1 og klynge 3 viste like gjennomsnittsverdier for  $RSI(t)$ . For klynge 1 varierte gjennomsnittlig  $RSI(t)$  for de ulike tidsstegene mellom 0,78 og 1,99. Tilsvarende verdier for klynge 3 varierte fra 0,82 til 2,05. Dette plasserte klyngene i mellomstjiktet av de observerte gjennomsnittlige verdiene av  $RSI(t)$ . Klyngesentrene og klyngenes sammenheng med lokaltumorkontroll kan tyde på at dette er områder av tumor hvor blodtilførselen er tilstrekkelig høy til å unngå hypoksi [8]. Klyngene med lavere klyngesentrum ga imidlertid ingen interessante funn i overlevelsesanalysen. I klyngingen med  $K=5$  klynger ble det også identifisert en liten klynge med svært høye gjennomsnittlige verdier av  $RSI(t)$ , som var nært signifikant assosiert med tilbakefall totalt sett (p-verdi: 0,071). KM-estimatorene illustrerte i dette tilfellet at det var en lavere andel overlevende i pasientgruppen som hadde vokslar tilhørende klyngen (jf. figur 34). Denne klyngen kan potensielt bestå av områder av tumor der karnettverket er svært ufullstendig og permeabelt, slik at konsentrasjonen av kontrastmiddel er høy [8].

Tre ulike studier oppsummert i Zahra et al. [8] har vist at livmorhalssvulster med moderat til høy  $RSI(t)$  i forkant av behandlingsoppstart var assosiert med bedret behandlingsrespons og økt lokaltumorkontroll sammenliknet med tumorer med lavere  $RSI(t)$ . Disse funnene forklares med at tumorer som viser relativt høy  $RSI(t)$  er mindre utsatt for hypoksirelatert radioresistans, da de har bedre blodtilførsel enn tumorer med lavere signaløkning [8, 72]. Blant annet Lancaster et al. [15] har vist at det er en positiv korrelasjon mellom deltrykket til oksygen og den relative signaløkningen  $RSI(t)$ , noe som bekrefter disse funnene [8]. I ytterligere en studie av livmorhalssvulster fant man at tumorer med homogen og høy

kontrastforsterkning responderte bedre på radioterapi enn det tumorer med lav eller perifer kontrastforsterkning gjorde [8]. Histologiske undersøkelser av livmorhalssvulster har imidlertid vist at tumorer med kraftig kontrastforsterkning i DCE-MRI også hadde utstrakt angiogenese og var forbundet med en dårligere overlevelsesprognose [15]. De noe motstridende funnene kan imidlertid skyldes at studiene anvender forskjellige definisjoner av ROI og ulike analysemetoder [15]. I den sistnevnte studien mottok i tillegg majoriteten av pasientene kirurgisk behandling, noe som ikke var tilfellet for pasientene i de øvrige pasientgruppene [8].

## 5.5 Sammenligning av grupperingene

For alle de tre datasettene som analyseres identifiseres det klynger som er signifikant assosiert med behandlingsutfall. Det oppnås ikke identiske klyngeinndelinger av tumorvokslene for det samme antallet klynger  $K$  når  $K$ -means baseres på henholdsvis  $RSI(t)$ , Toftsparameterne og Brixparameterne, men enkelte klynger med lignende egenskaper identifiseres til dels uavhengig av datagrunnlaget. Datasettet for Brixparameterne skiller seg fra de to øvrige datasettene ved at støy og outliers må fjernes for å oppnå en reell gruppering av tumorvokslene.

For  $K$ -means klynging med henholdsvis Toftsparameterne og de standardiserte Brixparameterne ble det identifisert to lignende klynger som hadde ~50 % felles vokslar. Median volumandel av de to klyngene var lik 37 % og 34 % for henholdsvis Tofts klynge 1 og Brix klynge 5. Klyngene viste også relativt like verdier for positiv korrelasjon med det totale tumorvolumet, men korrelasjonen var ikke statistisk signifikant for Tofts klynge 1 (Tofts:  $r_{XY} = 0,203$  og Brix:  $r_{XY} = 0,356$ ). En høy volumandel av hver av disse klyngene var signifikant forbundet med økt risiko for tilbakefall totalt sett. Kaplan-Meier overlevelsesestimatorer for pasientgrupperingene med henholdsvis høy og lav volumandel av de to klyngene viser imidlertid at de to klyngene ikke ga en identisk pasientinndeling etter median volumandel (jf. figur 21 og 26).

Klyngingene basert på henholdsvis Toftsparameterne og den relative signaløkningen  $RSI(t)$  identifiserte totalt tre lignende klynger, som alle var signifikant assosiert med lokaltumorkontroll. Den største av  $RSI(t)$ -klyngene viste størst grad av likhet med klynge 2

fra analysen av Toftsparameterne, og derfor drøftes kun denne  $RSI(t)$ -klyngen videre. Tofts klynge 2 og  $RSI(t)$  klynge 3 ble begge identifisert for en inndeling av tumorvokslene i  $K = 3$  klynger. Median volumandel av de to klyngene var lik 46 % og 53 % for henholdsvis Tofts klynge 2 og  $RSI(t)$  klynge 3. Videre viste begge de to klyngene en signifikant negativ korrelasjon med det totale tumorvolumet (Tofts:  $r_{XY} = -0,310$  og  $RSI(t)$ :  $r_{XY} = -0,356$ ). De to klyngene viste også en lignende romlig fordeling over mediansnittene, men det lot seg imidlertid ikke gjøre å sammenlikne de to klyngene vokselvis på nåværende tidspunkt. En høy volumandel av henholdsvis Tofts klynge 2 og  $RSI(t)$  klynge 3 var signifikant assosiert med en lavere risiko for lokalt tilbakefall av kreftsykdommen. Kaplan-Meier-estimatorene for pasientgrupperingene med henholdsvis høy og lav volumandel av de to klyngene viser at pasientinndelingene etter median volumandel blir svært like (jf. figur 22 og 32). Alle disse faktorene peker i retning av at Tofts klynge 2 og  $RSI(t)$  klynge 3 er tilnærmet like hverandre og rommer omtrent de samme tumorområdene.

## 5.6 Korrelasjon mellom Tofts- og Brixparameterne

Den tydeligste sammenhengen som fremkom fra PCA med de fem Tofts og Brix-modellparameterne var korrelasjonen mellom  $v_e$  og  $A$ , som var positiv korrelert med hensyn på de to første prinsipalkomponentene. Amplituden  $A$  er som beskrevet tidligere en sammensatt parameter koblet til mengden kontrastmiddel i vokselen, og er delvis uttrykt ved volumfraksjonen  $v_e$ . Den positive korrelasjonen mellom de to modellparameterne er konsistent med definisjonen av amplituden  $A$  gitt i likning (30). Korrelasjonen gir også mening fysiologisk sett i og med at kontrastmiddelet kun kan oppholde seg i EES. Når volumfraksjonen av EES  $v_e$  er høy vil det være mulig for kontrastmiddelet å oppta en stor andel av vokselen, ergo blir amplituden  $A$  potensielt også høy.

Parameterne  $k_{ep}$  og  $v_e$  viste negativ korrelasjon med hensyn på 1. og 3. prinsipalkomponent, mens  $k_{ep}$  og  $K^{trans}$  var positivt korrelert med hensyn på 2. og 3. prinsipalkomponent. Disse funnene er også konsistente med definisjonen av ratekonstanten for transport av kontrastmiddel fra EES til blodplasma  $k_{ep}$ , gitt ved forholdet  $k_{ep} = K^{trans}/v_e$  (jf. likning (15)). Videre var overføringskonstanten for transport av kontrastmiddel fra blodplasma til EES  $K^{trans}$  og amplituden  $A$  positivt korrelert med hensyn på den 3. prinsipalkomponenten, som forklarte 20,4 % av den totale variansen i data. PCA med modellparameterne viste også

at ratekonstanten for eliminasjon av kontrastmiddel fra blodplasma  $k_{el}$  skilte seg fra de øvrige parameterne, ved å ha en stor andel av variansen forklart av den tredje prinsipalkomponenten.

Datagrunnlaget i prinsipalkomponentanalysen var parameterverdiene til observasjonene som ikke ble ekskludert ved å sette øvre grenser for Brixparameterne. Det vil si at støy og *outliers* i noen grad var fjernet i forkant av analysen. Resterende støy og manglende skildring av utvaskingsfasen av kontrastmiddelet kan ha påvirket resultatene også i denne analysen.

## 5.7 Forslag til videre arbeid

Den romlige informasjonene om klyngenes fordeling er ikke utnyttet optimalt i arbeidet med denne oppgaven. Analyseresultatene tyder på at det er av betydning å se på klyngenes fordeling over mer enn ett sentralt bildesnitt. En mulig metode for å undersøke klyngenes fordeling over tumor ble vurdert, men ikke gjennomført gitt den begrensede tidsrammen til prosjektet. Ved å lage separate histogrammer over vokslenes avstand til tumorsentrum for hver enkelt klynge, kan forskjeller i histogramfordelingene og således klyngenes romlige fordeling avdekkes. Ved å benytte et relativt avstandsmål kan samtlige bildesnitt, eller et passende utvalg av bildesnittene undersøkes samtidig. Et annet alternativ er å se på klyngenes avstand til sentrum av tumor i tre dimensjoner, slik at også z-koordinaten anvendes i avstandsberegningen. Histogramfordelingene kan så analyseres med for eksempel første ordens statistikk. For å vurdere heterogeniteten i klyngenes fordeling over tumor kan også andre teksturmål vurderes.

Korrelasjonen mellom Brix- og Toftsparemetene ble undersøkt med PCA. En naturlig forlengelse av denne analysen vil være å utføre PCA med tidsstegene i  $RSI(t)$  i tillegg til Brix- og Toftsparemetene. En slik analyse vil potensielt kunne synliggjøre sammenhenger mellom de ulike tidsstegene i den dynamiske avbildningen og de ulike modellparameterne. Analysen krever imidlertid at datasettet for  $RSI(t)$  bearbeides slik at vokslenes koordinater korresponderer med Brix og Tofts-datasettene.

PCA med  $RSI(t)$  viste at 96 % av variasjonen i de ti første tidsstegene i  $RSI(t)$  lot seg forklare ved hjelp av to prinsipalkomponenter. Videre identifiserte *K-means* basert på henholdsvis Toftsparemetene og  $RSI(t)$  en klynge med svært like egenskaper. I videre

analyser ville det derfor være interessant å undersøke korrelasjonen mellom de to Toftsparameterne og skårene på de to første prinsipalkomponentene fra PCA av  $RSI(t)$ .



## 6. Konklusjon

Analysene utført i denne oppgaven viser at det er mulig å gruppere tumorvokslene i få og homogene grupper ved å anvende *K-means* klyngeanalyse basert på data fra DCE-MRI. Overlevelsesanalysen viser at den relative størrelsen til flere av de identifiserte tumorområdene kan kobles opp mot behandlingsutfall. De samlede funnene fra klyngeanalysen og overlevelsesanalysen indikerer at flere av disse tumorområdene har innbyrdes like egenskaper. Funnene av tumorområder som er knyttet til behandlingsutfall kan potensielt anvendes innen tilrettelagt behandling av livmorhalskreft.

Det oppnås ikke en identisk inndeling av tumorvokslene i klyngeanalysene basert på henholdsvis Toftsparameterne, Brixparameterne og den relative signaløkningen  $RSI(t)$ . Grupperingen av tumorvokslene er derfor ikke uavhengig av de farmakokinetiske modellene for datagrunnlaget som er analysert i denne oppgaven. Det ble imidlertid identifisert enkelte klynger med lignende egenskaper uavhengig av datagrunnlaget.

Analysen av Toftsparameterne resulterte i en reproduksjon av resultatene fra Andersen et al. [21] med en tilnærmet identisk inndeling av tumorvokslene i tre klynger, der den relative størrelsen til én av klyngene var positivt korrelert med lokaltumorkontroll. De to øvrige klyngene var signifikant assosiert med hvert sitt endepunkt, definert som henholdsvis tilbakefall i form av metastaser og tilbakefall totalt sett. Kun analysen basert på Toftsmodellen identifiserte tumorområder som kunne knyttes til alle de tre ulike formene for tilbakefall, og spesielt modellparameteren  $v_e$  ser ut til å ha betydning for grupperingen. I analysen basert på Brixparameterne ble det identifisert én klynge som var signifikant assosiert både med tilbakefall i form av metastaser og tilbakefall totalt sett. Analysen av  $RSI(t)$  identifiserte et tumorområde med moderate gjennomsnittsverdier av  $RSI(t)$ , som var positivt korrelert med lokaltumorkontroll i overlevelsesanalysen.

Prinsippkomponentanalyse av Tofts- og Brixparameterne viste at især de estimerte modellparameterne  $v_e$  og  $A$ , fra henholdsvis Tofts- og Brixmodellen, var positivt korrelerte. Videre viste prinsippkomponentanalyse av  $RSI(t)$  at det var mulig å redusere de ti første tidsstegene i  $RSI(t)$  til to prinsippkomponenter som forklarte hele 96 % av variansen.

## Referanser

- [1] *Livmorhalskreft*. Krefregisteret, Institutt for populasjonsbasert kreftforskning, 09.03.2015. Web. 20.03.2015.  
<<http://www.krefregisteret.no/no/Generelt/Fakta-om-kreft-test/Livmorhalskreft/>>
- [2] DeAngelis, G.A. 2012. *Gynecological MR Imaging*, in *Essentials of Body MRI*, W.E. Brant and E.E. de Lange, Editors. Oxford University Press, New York.
- [3] *Prognose for livmorhalskreft*. Oncolex, Onkologisk oppslagsverk, 18.04.2013. Web. 20.03.2015.  
<<http://www.oncolex.no/GYN/Diagnoser/Livmorhals/Bakgrunn/Prognose>>
- [4] *Behandling av livmorhalskreft*. Oncolex, Onkologisk oppslagsverk, 18.04.2013. Web. 08.05.2015.  
<<http://www.oncolex.no/GYN/Diagnoser/Livmorhals/Prosedyrekatalog/BEHANDLING?lg=procedureGroup>>
- [5] Martin, M.D. and J.O. McIntyre. 2012. *The Biology and Imaging of Cancer*, in *Quantitative MRI in Cancer*, T.E. Yankeelov, D.R. Pickens, and R.R. Price, Editors. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [6] McRobbie, D.W., E.A. Moore, M.J. Graves, and M.R. Prince. 2006. *MRI from Picture to Proton*, second edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- [7] Lambin, P., E. Rios-Velazquez, R. Leijenaar, S. Carvalho, R.G. van Stiphout, P. Granton, C.M. Zegers, R. Gillies, R. Boellard, and A. Dekker. Radiomics: extracting more information from medical images using advanced feature analysis. *European Journal of Cancer* 2012; 48(4): 441-446.
- [8] Zahra, M.A., K.G. Hollingsworth, E. Sala, D.J. Lomas, and L.T. Tan. Dynamic contrast-enhanced MRI as a predictor of tumour response to radiotherapy. *Lancet Oncology* 2007; 8(1): 63-74.
- [9] McDonald, D.M. 2008. *Angiogenesis and Vascular Remodeling in Inflammation and Cancer: Biology and Architecture of the Vasculature*, in *Angiogenesis - An Integrative Approach from Science to Medicine*, W. Figg and J. Folkman, Editors. Springer Science+Business Media, New York.
- [10] Loveless, M.E. and T.E. Yankeelov. 2012. *Dynamic Contrast-Enhanced MRI: Data Acquisition and Analysis*, in *Quantitative MRI in Cancer*, T.E. Yankeelov, D.R. Pickens, and R.R. Price, Editors. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [11] Tofts, P.S. Modeling tracer kinetics in dynamic Gd-DTPA MR imaging. *JMRI - Journal of Magnetic Resonance Imaging* 1997; 7(1): 91-101.
- [12] Schoenwald, R.D. 2002. *Pharmacokinetics in drug discovery and development*. CRC Press, Boca Raton, FL.

- [13] Tofts, P.S. and A.G. Kermode. Measurement of the blood-brain barrier permeability and leakage space using dynamic MR imaging. 1. Fundamental concepts. *Magnetic Resonance in Medicine* 1991; 17(2): 357-367.
- [14] Brix, G., W. Semmler, R. Port, L.R. Schad, G. Layer, and W.J. Lorenz. Pharmacokinetic Parameters in CNS GD-DTPA Enhanced MR Imaging. *Journal of Computer Assisted Tomography* 1991; 15(4): 621-628.
- [15] Loncaster, J.A., B.M. Carrington, J.R. Sykes, A.P. Jones, S.M. Todd, R. Cooper, D.L. Buckley, S.E. Davidson, J.P. Logue, and R.D. Hunter. Prediction of radiotherapy outcome using dynamic contrast enhanced MRI of carcinoma of the cervix. *International Journal of Radiation Oncology\*Biolog\*Physics* 2002; 54(3): 759-767.
- [16] Cooper, R.A., B.M. Carrington, J.A. Loncaster, S.M. Todd, S.E. Davidson, J.P. Logue, A.D. Luthra, A.P. Jones, I. Stratford, and R.D. Hunter. Tumour oxygenation levels correlate with dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging parameters in carcinoma of the cervix. *Radiotherapy and Oncology* 2000; 57(1): 53-59.
- [17] Mistry, N. and C.C. Quarles. 2012. *Imaging Tissue Oxygenation Status with MRI*, in *Quantitative MRI in Cancer*, T.E. Yankeelov, D.R. Pickens, and R.R. Price, Editors. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [18] Aerts, H.J., E.R. Velazquez, R.T. Leijenaar, C. Parmar, P. Grossmann, S. Carvalho, J. Bussink, R. Monshouwer, B. Haibe-Kains, and D. Rietveld. Decoding tumour phenotype by noninvasive imaging using a quantitative radiomics approach. *Nature Communications* 2014; 5.
- [19] Torheim, T.K.G. *Multivariat analyse av DCE-MRI-bilete av kreftsvulstar*. Masteroppgave, 2011. Universitetet for miljø- og biovitenskap, Institutt for matematiske realfag og teknologi.
- [20] Andersen, E.K.F. *Dynamisk kontrastforsterket MRI av pasienter med livmorhalskreft. Korrelasjonsanalyse av bildeparametre mot langtidsoverlevelse etter stråleterapi*. Masteroppgave, 2009. Universitetet i Oslo, Fysisk Institutt.
- [21] Andersen, E.K., G.B. Kristensen, H. Lyng, and E. Malinen. Pharmacokinetic analysis and k-means clustering of DCEMR images for radiotherapy outcome prediction of advanced cervical cancers. *Acta Oncologica* 2011; 50(6): 859-865.
- [22] Andersen, E.K.F., K.H. Hole, K.V. Lund, K. Sundfor, G.B. Kristensen, H. Lyng, and E. Malinen. Pharmacokinetic parameters derived from dynamic contrast enhanced MRI of cervical cancers predict chemoradiotherapy outcome. *Radiotherapy and Oncology* 2013; 107(1): 117-122.
- [23] Andersen, E.K.F., K.H. Hole, K.V. Lund, K. Sundfor, G.B. Kristensen, H. Lyng, and E. Malinen. Dynamic Contrast-Enhanced MRI of Cervical Cancers: Temporal Percentile Screening of Contrast Enhancement Identifies Parameters for Prediction of Chemoradioresistance. *International Journal of Radiation Oncology\*Biolog\*Physics*, 2012; 82(3): E485-E492.

- [24] Halle, C., E. Andersen, M. Lando, E.-K. Aarnes, G. Hasvold, M. Holden, R.G. Syljuasen, K. Sundfor, G.B. Kristensen, R. Holm, E. Malinen, and H. Lyng. Hypoxia-Induced Gene Expression in Chemoradioresistant Cervical Cancer Revealed by Dynamic Contrast-Enhanced MRI. *Cancer Research*, 2012; 72(20): 5285-5295.
- [25] Torheim, T., E. Malinen, K. Kvaal, H. Lyng, U.G. Indahl, E.K.F. Andersen, and C.M. Futsaether. Classification of Dynamic Contrast Enhanced MR Images of Cervical Cancers Using Texture Analysis and Support Vector Machines. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 2014; 33(8): 1648-1656.
- [26] Folkman, J., M.A.G. Jr., S.B. Leapman, and R.S. Cotran. Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *The Journal of Experimental Medicine* 1972. 136(2): 261-276.
- [27] Hoff, P.M. and K.K. Machado. Role of angiogenesis in the pathogenesis of cancer. *Cancer Treatment Reviews* 2012; 38(7): 825-833.
- [28] Liao, D. and R.S. Johnson. Hypoxia: A key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer and Metastasis Reviews* 2007; 26(2): 281-290.
- [29] *Stadier ved livmorhalskreft*. Oncolex, Onkologisk oppslagsverk, 18.04.2013. Web. 20.03.2015.  
<<http://www.oncolex.no/GYN/Diagnoser/Livmorhals/Bakgrunn/Stadier>>
- [30] Hashemi, R.H., C.J. Lisanti, and W.G. Bradley. 2010. *MRI: the basics*, second edition. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- [31] Bushong, S.C. and G. Clarke. 2015. *Magnetic resonance imaging: physical and biological principles*, fourth edition. Elsevier Mosby, St. Louis.
- [32] Westbrook, C., J. Talbot, and C.K. Roth. 2011. *MRI in practice*, fourth edition. Wiley-Blackwell, Oxford.
- [33] Lilley, J. 2013. *Nuclear physics: principles and applications*. John Wiley & Sons, West Sussex.
- [34] Yang, F. and J.H. Hamilton. 2010. *Modern atomic and nuclear physics*, revised edition. World Scientific, Hackensack, N.J.
- [35] Brown, M.A. and R.C. Semelka. 2010. *MRI: basic principles and applications*, fourth edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, N.J.
- [36] Smith, S.A. 2012. *Physics of MRI*, in *Quantitative MRI in Cancer*, T.E. Yankeelov, D.R. Pickens, and R.R. Price, Editors. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [37] Townsend, J.S. 2010. *Quantum physics, A Fundamental Approach to Modern Physics*. University Science Books, California.
- [38] Lange, E.E.d. and J.P.M. III. 2012. *Basic MR Physics*, in *Essentials of Body MRI*, W.E. Brant and E.E.d. Lange, Editors. Oxford University Press, New York.

- [39] Pickens, D.R. 2012. *Image Formation*, in *Quantitative MRI in Cancer*. T.E. Yankeelov, D.R. Pickens, and R.R. Price, Editors. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [40] Buck, J.R., M.R. Hight, D. Tang, and H.C. Manning. 2012. *Contrast Agents for T1-Weighted MRI*, in *Quantitative MRI in Cancer*. T.E. Yankeelov, D.R. Pickens, and R.R. Price, Editors. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [41] Bjørnerud, A. 2008. *The Physics of Magnetic Resonance Imaging*. Kompendium i faget FYS-KJM 4740, Fysisk Institutt, Universitetet i Oslo. Web. 02.02.2015. <<http://www.uio.no/studier/emner/matnat/fys/FYSKJM4740/v14/kompendium/compendium-mri-feb-2009.pdf>>
- [42] Yang, C., W.M. Stadler, G.S. Karczmar, M. Milosevic, I. Yeung, and M.A. Haider, Comparison of Quantitative Parameters in Cervix Cancer Measured by Dynamic Contrast-Enhanced MRI and CT. *Magnetic Resonance in Medicine* 2010; 63(6): 1601-1609.
- [43] Tofts, P.S., G. Brix, D.L. Buckley, J.L. Evelhoch, E. Henderson, M. Knopp, H.B.W. Larsson, T.Y. Lee, N.A. Mayr, G.J.M. Parker, R.E. Port, J. Taylor, and R.M. Weisskoff. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI of a diffusable tracer: Standardized quantities and symbols. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 1999; 10(3): 223-232.
- [44] Yankeelov, T.E., J.J. Luci, M. Lepage, R. Li, L. Debusk, P.C. Lin, R.R. Price, and J.C. Gore. Quantitative pharmacokinetic analysis of DCE-MRI data without an arterial input function: a reference region model. *Magnetic Resonance Imaging* 2005; 23(4): 519-529.
- [45] Kety, S.S. The theory and applications of the exchange of inert gas at the lungs and tissue. *Pharmacological Reviews* 1951; 3(1): 1-41.
- [46] Tofts, P.S. T1-weighted DCE imaging concepts: modelling, acquisition and analysis. *MAGNETOM Flash* 2010; 500(450): 400.
- [47] Personlig kommunikasjon (06.03.2015). Professor Eirik Malinen, Fysisk Institutt, Universitetet i Oslo, Oslo.
- [48] MATLAB<sup>®</sup>. The Mathworks, Inc., Natick, Massachusetts, United States. <<http://se.mathworks.com/>>
- [49] PLS\_Toolbox. Eigenvector Research Incorporated, Manson, WA. <[http://www.eigenvector.com/software/pls\\_toolbox.htm](http://www.eigenvector.com/software/pls_toolbox.htm)>
- [50] R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<http://www.r-project.org/>>
- [51] Personlig kommunikasjon (15.04.2015). Stipendiat Turid K. Gjerstad Torheim, Institutt for matematiske realfag og teknologi, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Ås.

- [52] James, G., D. Witten, T.J. Hastie, and R.J. Tibshirani. 2013. *An Introduction to Statistical Learning: with Applications in R*, first edition. Springer-Verlag, New York.
- [53] Eriksson, L., E. Johansson, and N. Kettaneh-Wold. 2006. *Multi- and megavariate data analysis, Part I: basic principles and applications*, second edition. Umetrics AB, Umeå.
- [54] De Sá, J.P.M. 2007. *Applied Statistics Using SPSS, STATISTICA, MATLAB and R*, second edition. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- [55] Wise, M., N.B. Gallagher, R. Bro, J.M. Shaver, W. Windig and R.S. Koch. 2006. *Chemometrics Tutorial for PLS\_Toolbox and Solo*. Eigenvector Research Incorporated, Manson, WA.
- [56] Maimon, O.Z. and L. Rokach. 2010. *Data mining and knowledge discovery handbook*, second edition. Springer, New York.
- [57] Theodoridis, S. and K. Koutroumbas. 2009. *Pattern recognition*, fourth edition. Elsevier, Amsterdam.
- [58] Personlig kommunikasjon (15.01.2015). Erlend Kristoffer Frivold Andersen.
- [59] Personlig kommunikasjon (08.04.2015). Professor Eirik Malinen, Fysisk Institutt, Universitetet i Oslo, Oslo.
- [60] Aalen, O.O., Ø. Borgan, and H.K. Gjessing. 2008. *Survival and event history analysis: a process point of view*, first edition. Springer, New York.
- [61] Altman, D.G. and J.M. Bland. Parametric v. non-parametric methods for data analysis. *BMJ* 2009; 338(3167).
- [62] Mills, M. 2011. *Introducing survival analysis and event history analysis*, first edition. SAGE Publications, London.
- [63] Bland, J.M. and D.G. Altman. The logrank test. *BMJ* 2004; 328(7447): 1073.
- [64] Kleinbaum, D.G. and M. Klein. 2012. *Survival analysis: a self-learning text*, third edition. Springer, New York.
- [65] Kallehauge, J.F., K. Tanderup, C. Duan, S. Haack, E.M. Pedersen, J.C. Lindegaard, L.U. Fokdal, S.M.I. Mohamed, and T. Nielsen. Tracer kinetic model selection for dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging of locally advanced cervical cancer. *Acta Oncologica* 2014; 53(8): 1064-1072.
- [66] *K-means clustering*. Documentation, Mathworks, Inc. Web. 20.04.2015. <<http://se.mathworks.com/help/stats/kmeans.html?refresh=true> - bueft14-1>
- [67] Bruwer, M.-J., J.F. MacGregor, and M.D. Noseworthy, Dynamic contrast-enhanced MRI diagnostics in oncology via principal component analysis. *Journal of Chemometrics* 2008; 22(11-12): 708-716.

- [68] Bland, J.M. and D.G. Altman. Survival probabilities (the Kaplan-Meier method). *BMJ* 1998; 317(7172): 1572-1580.
- [69] Personlig kommunikasjon (22.03.2015). Erlend Kristoffer Frivold Andersen.
- [70] Lindegaard, J.C., L.U. Fokdal, S.K. Nielsen, J. Juul-Christensen, and K. Tanderup. MRI-guided adaptive radiotherapy in locally advanced cervical cancer from a Nordic perspective. *Acta Oncologica* 2013; 52(7): 1510-1519.
- [71] Semple, S.I., V.N. Harry, D.E. Parkin, and F.J. Gilbert. A combined pharmacokinetic and radiologic assessment of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging predicts response to chemoradiation in locally advanced cervical cancer. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics* 2009; 75(2): 611-617.
- [72] Zahra, M.A., L.T. Tan, A.N. Priest, M.J. Graves, M. Arends, R.A.F. Crawford, J.D. Brenton, D.J. Lomas, and E. Sala. Semiquantitative and quantitative dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging measurements predict radiation response in cervix cancer. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics* 2009; 74(3): 766-773.
- [73] Gulliksrud, K., K.M. Øvrebø, B. Mathiesen, and E.K. Rofstad. Differentiation between hypoxic and non-hypoxic experimental tumors by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Radiotherapy and Oncology* 2011; 98(3): 360-364.
- [74] Egeland, T.A., J.-V. Gaustad, I.C. Benjaminsen, K. Hedalen, B. Mathiesen, and E.K. Rofstad. Assessment of fraction of hypoxic cells in human tumor xenografts with necrotic regions by dynamic contrast-enhanced MRI. *Radiation research* 2008; 169(6): 689-699.
- [75] Pollheimer, M.J., P. Kornprat, R.A. Lindtner, L. Harbaum, A. Schlemmer, P. Rehak, and C. Langner. Tumor necrosis is a new promising prognostic factor in colorectal cancer. *Human pathology* 2010; 41(12): 1749-1757.

## 7. Vedlegg

### 7.1 Matlab-skript

I skriptene som er vedlagt utføres analysen på datasettet for den relative signaløkningen  $RSI(t)$  for de ti første tidsstegene  $T_0, T_1, \dots, T_9$ . Utover forbehandlingen av datasettet til *K-means* klynging er prosedyrene de samme for samtlige datasett som er analysert.

#### ***K-means* klyngeanalyse og beregning av normaliserte partisjonsvektorer**

```
% 17.03.15
% Aurora R. Grøndahl
%
% Kjører k-means på RSI.
%-----

% Laster inn RSI-data som ligger i et 81x1 cell array:
load('RSI.mat')

% 1.Trekker ut data som skal anvendes i k-means.

% Henter ut dimensjonene til hver celle i RSI.mat:
dimensjonerRSI = cell2mat(cellfun(@size, RSI, 'UniformOutput', 0));

% Finner det minste antallet bilder i den dynamiske bildeserien:
minserieRSI = min(dimensjonerRSI(:,2)-3);
% Trekker fra 3 fordi de 3 første kolonnene er x,y,z-koordinater.

% Ønsker å analysere minserieRSI, som er lik 10, for hver pasient.
% Trekker derfor ut kolonne 4-13 fra RSI.mat for hver pasient:

N = 81; % Antall pasienter
data = cell(N,1); % Lager tomt cell array til RSI-data.

% Overfører de 10 første snittene for hver pasient fra RSI.mat til data:
for I = 1:N
    data{I}(:,1:10) = RSI{I}(:,4:13);
end

% Slår sammen alle celler til ett array som skal benyttes som input til
% k-means:
data = cell2mat(data);

% 2. Kjører k-means og utfører partisjonsberegninger.
% K-means++ er default algoritme for innledende klyngeinndeling.
% Kvadratet av euklidisk avstand er default avstandsmål.

% Lagrer output til kommandovinduet i en tekstfil:
diary('KmeansResultatRSI');

% Kjører k-means med k=2 klynger:
rng(1); % Benytter rng for at resultatene skal være reproduserbare.
[idx2, C2, sumd2, D2] = kmeans(data, 2, 'MaxIter', 500, 'Display', 'final',
'Replicates', 30);
```



```

% Teller antall datapunkter tilhørende henholdsvis klynge 1 og 2:
N21 = sum(idx2(:) == 1);
N22 = sum(idx2(:) == 2);

% Beregner MD21 og MD22 (gjennomsnittlig avstand mellom observasjoner og
% sentrum):
MD21 = (sumd2(1, 1))/N21;
MD22 = (sumd2(2, 1))/N22;

% Beregner målet på underpartisjon Vu2 for k=2 klynger:
Vu2 = (MD21 + MD22)/2;

% Finner dmin2 (for k=2 klynger er det bare en mulighet):
dmin2 = pdist(C2);

% Beregner målet på overpartisjon Vo2 for k=2 klynger:
Vo2 = 2/dmin2;

% Kjører k-means med k=3 klynger:
rng(1);
[idx3, C3, sumd3, D3] = kmeans(data, 3, 'MaxIter', 500, 'Display',
'final', 'Replicates', 30);

% Teller antall datapunkter tilhørende klynge 1, 2 og 3:
N31 = sum(idx3(:) == 1);
N32 = sum(idx3(:) == 2);
N33 = sum(idx3(:) == 3);

% Beregner MD31, MD32 og MD33:
MD31 = (sumd3(1, 1))/N31;
MD32 = (sumd3(2, 1))/N32;
MD33 = (sumd3(3, 1))/N33;

% Beregner målet på underpartisjon Vu3 for k=3 klynger:
Vu3 = (MD31 + MD32 + MD33)/3;

% Finner dmin3 for k=3 klynger:
dmin3 = min(pdist(C3));

% Beregner målet på overpartisjon Vo3 for k=3 klynger:
Vo3 = 3/dmin3;

% Kjører k-means med k=4 klynger:
rng(1);
[idx4, C4, sumd4, D4] = kmeans(data, 4, 'MaxIter', 500, 'Display', 'final',
'Replicates', 30);

% Teller antall datapunkter tilhørende klynge 1, 2, 3 og 4:
N41 = sum(idx4(:) == 1);
N42 = sum(idx4(:) == 2);
N43 = sum(idx4(:) == 3);
N44 = sum(idx4(:) == 4);

% Beregner MD41, MD42, MD43 og MD44:
MD41 = (sumd4(1, 1))/N41;
MD42 = (sumd4(2, 1))/N42;
MD43 = (sumd4(3, 1))/N43;
MD44 = (sumd4(4, 1))/N44;

% Beregner målet på underpartisjon Vu4 for k=4 klynger:
Vu4 = (MD41 + MD42 + MD43 + MD44)/4;

```

```

% Finner dmin4 for k=4 klynger:
dmin4 = min(pdist(C4));

% Beregner målet på overpartisjon Vo4 for k=4 klynger:
Vo4 = 4/dmin4;

% Kjører k-means med k=5 klynger:
rng(1);
[idx5, C5, sumd5, D5] = kmeans(data, 5, 'MaxIter', 500, 'Display',
'final','Replicates', 30);

% Teller antall datapunkter tilhørende klynge 1, 2, 3, 4 og 5:
N51 = sum(idx5(:) == 1);
N52 = sum(idx5(:) == 2);
N53 = sum(idx5(:) == 3);
N54 = sum(idx5(:) == 4);
N55 = sum(idx5(:) == 5);

% Beregner MD51, MD52, MD53, MD54 og MD55:
MD51 = (sumd5(1, 1))/N51;
MD52 = (sumd5(2, 1))/N52;
MD53 = (sumd5(3, 1))/N53;
MD54 = (sumd5(4, 1))/N54;
MD55 = (sumd5(5, 1))/N55;

% Beregner målet på underpartisjon Vu5 for k=5 klynger:
Vu5 = (MD51 + MD52 + MD53 + MD54 + MD55)/5;

% Finner dmin5 for k=5 klynger:
dmin5 = min(pdist(C5));

% Beregner målet på overpartisjon Vo5 for k=5 klynger:
Vo5 = 5/dmin5;

% Kjører k-means med k=6 klynger:
rng(1);
[idx6, C6, sumd6, D6] = kmeans(data, 6, 'MaxIter', 500, 'Display', 'final',
'Replicates', 30);

% Teller antall datapunkter tilhørende gruppe 1, 2, 3, 4, 5 og 6:
N61 = sum(idx6(:) == 1);
N62 = sum(idx6(:) == 2);
N63 = sum(idx6(:) == 3);
N64 = sum(idx6(:) == 4);
N65 = sum(idx6(:) == 5);
N66 = sum(idx6(:) == 6);

% Beregner MD61, MD62, MD63, MD64, MD65 og MD66:
MD61 = (sumd6(1, 1))/N61;
MD62 = (sumd6(2, 1))/N62;
MD63 = (sumd6(3, 1))/N63;
MD64 = (sumd6(4, 1))/N64;
MD65 = (sumd6(5, 1))/N65;
MD66 = (sumd6(6, 1))/N66;

% Beregner målet på underpartisjon Vu6 for k=6 klynger:
Vu6 = (MD61 + MD62 + MD63 + MD64 + MD65 + MD66)/6;

% Finner dmin6 for k=6 klynger:
dmin6 = min(pdist(C6));

% Beregner målet på overpartisjon Vo6 for k=6 klynger:

```

```

Vo6 = 6/dmin6;

% Lager vektorer med henholdsvis under- og overpartisjonsfunksjonene for
% k=2,3,4,5,6:
Vuvektor = [Vu2; Vu3; Vu4; Vu5; Vu6];
Vovektor = [Vo2; Vo3; Vo4; Vo5; Vo6];

% Finner maks og min for Vu:
maksVu = max(Vuvektor);
minVu = min(Vuvektor);

% Normaliserer Vuvektor for å angi verdiene i range [0, 1]:
Vunorm = (Vuvektor - minVu)/(maksVu - minVu);

% Finner maks og min for Vo:
maksVo = max(Vovektor);
minVo = min(Vovektor);

% Normaliserer Vovektor for å angi verdiene i range [0, 1]:
Vonorm = (Vovektor - minVo)/(maksVo - minVo);

% Legger sammen Vunorm og Vonorm:
Vsv = Vunorm + Vonorm;

% Finner minimal Vsv:
minVsv = min(Vsv);

% Lagrer alle variabler:
save('Resultat K-means med RSI')

```

## Inndeling av pasientgrupper til overlevelsesanalysen

```
% 19.03.15
% Aurora R. Grøndahl
%
% Lager pasientgrupper etter median volumandel av hver klynge for k=3.
%-----

% Input er idx3 som er lagret i «Resultat K-means med RSI»:
load('Resultat K-means med RSI.mat')
% idx3 inneholder klyngenummeret til hver voksel.

% Laster også inn opprinnelig cell array RSI:
load('RSI.mat')

% Lager 81x1 cell array kalt resultat, med klyngetilhørigheten til hver
pasient:
N = 81; % Antall pasienter/tumorer.
resultat = cell(N,1); % Lager tomt cell array til kommende output.
k = 1;
for I = 1:N
    resultat{I} = idx3(k:(k+length(RSI{I}))-1));
    k = k + length(RSI{I});
end

% Teller antall vokslar med verdi henholdsvis 1,2 og 3 for hver pasient:
klynge1 = cellfun( @(x) sum( x == 1, 1 ), resultat, 'UniformOutput', 0);
klynge2 = cellfun( @(x) sum( x == 2, 1 ), resultat, 'UniformOutput', 0);
klynge3 = cellfun( @(x) sum( x == 3, 1 ), resultat, 'UniformOutput', 0);

% Slår sammen klynge 1,2 og 3 til en matrise (81x4 double):
klynging = cell2mat(horzcat(klynge1, klynge2, klynge3));

% Summerer totalt antall vokslar for hver tumor:
klynging(:,4) = sum(klynging, 2);
% Summerer radvis (langs dimensjon 2).

% Lager matriser til kommende resultater:
CVF1 = nan(N,1);
CVF2 = nan(N,1);
CVF3 = nan(N,1);
% Bruker forkortelsen CVF for Cluster Volume Fraction (volumandel).

% Beregner volumandelen av klynge 1,2 og 3 for hver pasient:
for i = 1:N
    CVF1(i, 1) = klynging(i, 1)/klynging(i, 4);
    CVF2(i, 1) = klynging(i, 2)/klynging(i, 4);
    CVF3(i, 1) = klynging(i, 3)/klynging(i, 4);
end

% Finner medianverdien for hver klynge:
MedianCVF = [median(CVF1); median(CVF2); median(CVF3)];
```

```

% Grupperer pasientene i 2 grupper etter median volumandel for hver klynge.

% For klynge 1:
for i = 1:N
    if CVF1(i,1) > median(CVF1(:,1));
        CVF1(i,2) = CVF1(i,1);
    elseif CVF1(i,1) < median(CVF1(:,1));
        CVF1(i,3) = CVF1(i,1);
    end
end

% For klynge 2:
for i = 1:N
    if CVF2(i,1) > median(CVF2(:,1));
        CVF2(i,2) = CVF2(i,1);
    elseif CVF2(i,1) < median(CVF2(:,1));
        CVF2(i,3) = CVF2(i,1);
    end
end

% For klynge 3:
for i = 1:N
    if CVF3(i,1) > median(CVF3(:,1));
        CVF3(i,2) = CVF3(i,1);
    elseif CVF3(i,1) < median(CVF3(:,1));
        CVF3(i,3) = CVF3(i,1);
    end
end

% Volumandel > median ligger i kolonne 2.
% Volumandel < median ligger i kolonne 3.

% Lager to variabler for hver klynge med henholdsvis høy og lav volumandel.
% Hver matrise inneholder pasientnummer og volumandel (kolonne 1 og 2).

% For klynge 1:
[row11, ~, v11] = find(CVF1(:,2)); %Finner radnr og verdi for CVF1>median
[row12, ~, v12] = find(CVF1(:,3)); %Finner radnr og verdi for CVF1<median
GHCVF1 = [row11, v11]; %Lager nytt array med data for CVF1>median (H=High)
GLCVF1 = [row12, v12]; %Lager nytt array med data for CVF1<median (L=Low)

% For klynge 2:
[row21, ~, v21] = find(CVF2(:,2)); %Finner radnr og verdi for CVF2>median
[row22, ~, v22] = find(CVF2(:,3)); %Finner radnr og verdi for CVF2<median
GHCVF2 = [row21, v21]; %Lager nytt array med data for CVF2>median (H=High)
GLCVF2= [row22, v22]; %Lager nytt array med data for CVF2<median (L=Low)

% For klynge 3:
[row31, ~, v31] = find(CVF3(:,2)); %Finner radnr og verdi for CVF3>median
[row32, ~, v32] = find(CVF3(:,3)); %Finner radnr og verdi for CVF3<median
GHCVF3 = [row31, v31]; %Lager nytt array med data for CVF3>median (H=High)
GLCVF3 = [row32, v32]; %Lager nytt array med data for CVF3<median (L=Low)

% Lagrer data som skal brukes i videre analyse:
save('CVF-data for K-means med RSI for k=3', 'GHCVF1',
'GLCVF1','GHCVF2','GLCVF2','GHCVF3','GLCVF3');

% Resultatet er 6 datasett á 40 pasienter, forutsatt at alle pasientene har
% vokslar tilhørende klyngen. Pasienter som ikke har vokslar fanges opp ved
% at datasettene da har et annet antall pasienter, som ligger som
% «nullpasienter» i CVF-variablene. Disse kan så evt. inkluderes manuelt.

```

```

% 19.03.2015
% Aurora R. Grøndahl
%
% Lager datasett til overlevelsesanalyse i R.
% (R bruker event=1, sensur=0)
%-----

% Laster inn Volumandel-data og overlevelsesdata:
load('CVF-data for K-means med RSI for k=3.mat')
load('PasientData.mat')

% PasientInfo ligger i PasientData og inneholder tid, PFS og LRC i kolonne
% 1, 2 og 3.
data = PasientInfo;
m = length(data);
% Legger inn spredning (som isolert hendelse) i kolonne 4 av data:
for i = 1:m
    if (data(i,2) == 1 && data(i,3) == 0)
        data(i,4) = 1;
    else data(i,4) = 0;
    end
end
% Hvis PFS=1 og LRC=0 har vi spredning.
% Ellers har vi ikke spredning og hendelsen spredning er lik 0.

% Legger tids- og eventdata til de 6 pasientgruppene: 5
GLCVF1(:,3:6) = data((GLCVF1(:,1))',:);
GHCVF1(:,3:6) = data((GHCVF1(:,1))',:);
GLCVF2(:,3:6) = data((GLCVF2(:,1))',:);
GHCVF2(:,3:6) = data((GHCVF2(:,1))',:);
GLCVF3(:,3:6) = data((GLCVF3(:,1))',:);
GHCVF3(:,3:6) = data((GHCVF3(:,1))',:);
% Transponerer kolonne 1 (pasientnummer) slik at korrekte rader hentes ut
% fra data.

% Gir gruppenummer for lav CVF (1) og høy CVF (2) slik at data passer
% overlevelsesanalysen i R:
GLCVF1(:,7) = 1; GLCVF2(:,7) = 1; GLCVF3(:,7) = 1;
GHCVF1(:,7) = 2; GHCVF2(:,7) = 2; GHCVF3(:,7) = 2;

% Angir kolonner for oversikt:
Kolonner = {'Pasientnummer', 'CVF', 'Tid', 'PFS', 'LRC', 'Spredning', 'Gruppe i
R'};

% Lager datasett for PFS, LRC og spredning for hver klynge.

% Klynge 1:
PFS_klynge1 = vertcat(GLCVF1(:,[3,4,7]),GHCVF1(:,[3,4,7]));
LRC_klynge1 = vertcat(GLCVF1(:,[3,5,7]),GHCVF1(:,[3,5,7]));
Spredning_klynge1 = vertcat(GLCVF1(:,[3,6,7]),GHCVF1(:,[3,6,7]));

% Klynge 2:
PFS_klynge2 = vertcat(GLCVF2(:,[3,4,7]),GHCVF2(:,[3,4,7]));
LRC_klynge2 = vertcat(GLCVF2(:,[3,5,7]),GHCVF2(:,[3,5,7]));
Spredning_klynge2 = vertcat(GLCVF2(:,[3,6,7]),GHCVF2(:,[3,6,7]));

% Klynge 3:
PFS_klynge3 = vertcat(GLCVF3(:,[3,4,7]),GHCVF3(:,[3,4,7]));
LRC_klynge3 = vertcat(GLCVF3(:,[3,5,7]),GHCVF3(:,[3,5,7]));
Spredning_klynge3 = vertcat(GLCVF3(:,[3,6,7]),GHCVF3(:,[3,6,7]));

```

```

% Fjerner til slutt rader med nans fra datasettene (de pasientene med
% ukjent overlevelsestid).

% Klynge 1:
PFS1 = PFS_klynge1(~any(isnan(PFS_klynge1),2),:);
LRC1 = LRC_klynge1(~any(isnan(LRC_klynge1),2),:);
Spredning1 = Spredning_klynge1(~any(isnan(Spredning_klynge1),2),:);
% 2 viser til dimensjonen, altså radene fjernes radene.

% Klynge 2:
PFS2 = PFS_klynge2(~any(isnan(PFS_klynge2),2),:);
LRC2 = LRC_klynge2(~any(isnan(LRC_klynge2),2),:);
Spredning2 = Spredning_klynge2(~any(isnan(Spredning_klynge2),2),:);

% Klynge 3:
PFS3 = PFS_klynge3(~any(isnan(PFS_klynge3),2),:);
LRC3 = LRC_klynge3(~any(isnan(LRC_klynge3),2),:);
Spredning3 = Spredning_klynge3(~any(isnan(Spredning_klynge3),2),:);

% Lagrer datasettene som skal brukes videre:
save('Overlevelsesdata til R for K-means med RSI
(k=3)', 'PFS1', 'PFS2', 'PFS3', 'LRC1', 'LRC2', 'LRC3', 'Spredning1', 'Spredning2',
'Spredning3')

```

## Klyngenes fordeling over mediansnittet av tumor

```
% 20.03.15
% Aurora R. Grøndahl
%
% Klyngenes fordeling over mediansnittet av tumor.
% Ser på klyngenes gjennomsnittlige avstand til xy-sentrum.
%-----

% Laster inn data:
load('RSI.mat')
load('Resultat K-means med RSI.mat')

% Lager 81x1 cell array med x,y,z-koordinater og klyngetilhørighet.

N = 81; % Antall pasienter/celler i cell array RSI.mat
RSIxyzkdata = cell(N,1); % Lager tomt cell array til å legge data i.

% Legger til x,y,z-koordinater:
for I = 1:N
    RSIxyzkdata{I}(:,1:3) = RSI{I}(:,1:3);
end

% Legger til klyngetilhørigheten til hver voksel:
k = 1;
for I = 1:N
    RSIxyzkdata{I}(:,4) = idx3(k:(k+length(RSI{I}))-1));
    k = k + length(RSI{I});
end
% idx3 inneholder vokslenes klyngenummer for k=3 klynger.

% Henter ut data for median snitt for hver pasient.

N = 81; % Antall pasienter.
k = 3; % Antall klynger.
data = RSIxyzkdata; % Dupliserer cell array før for-løkken.

% Legger data for median snitt av hver tumor i cell arrayet data:
for I = 1:N
    for i = 1:length(RSIxyzkdata{I})
        if RSIxyzkdata{I}(i,3) == median(RSIxyzkdata{I,1}(:,3));
            data{I}(i,:) = RSIxyzkdata{I}(i,:);
        else data{I}(i,:) = nan;
        end
    end
end
end
% Alt annet enn mediansnitt er nå satt lik nan i data.
```



```

% Finner xy-koordinatene til sentrum av median snitt for hver tumor:
sentrum = cellfun(@nanmean, data, 'UniformOutput', 0);

% Beregner avstand til massesentrum forutsatt at vokselen tilhører median
% snitt:
for I = 1:N
    for i = 1:length(data{I});
        if ~isnan(data{I}(i,1))

                data{I}(i,5) = sqrt(((data{I}(i,1) - sentrum{I}(1,1))^2) +
((data{I,1}(i,2) - sentrum{I}(1,2))^2));

            end
        end
    end

% Sorterer avstandberegningene etter klyngetilhørighet:
avstand = cell(N,1); % Lager tomt cell array før for-løkken.
for I = 1:N
    for i = 1:length(data{I});
        if data{I}(i,4) == 1
            avstand{I}(i,1) = data{I}(i,5);
        else avstand{I}(i,1) = 0;
        end

        if data{I}(i,4) == 2
            avstand{I}(i,2) = data{I}(i,5);
        else avstand{I}(i,2) = 0;
        end

        if data{I}(i,4) == 3
            avstand{I}(i,3) = data{I}(i,5);
        else avstand{I}(i,3) = 0;
        end
    end
end
end
% Kolonne 1 inneholder nå avstanden til sentrum for klynge 1.
% Kolonne 2 inneholder nå avstanden til sentrum for klynge 2.
% Kolonne 3 inneholder nå avstanden til sentrum for klynge 3.

% Setter alle rader unntatt median snitt lik nan i cell arrayet avstand:
for I = 1:N
    for i = 1:length(avstand{I});
        for j = 1:k
            if avstand{I}(i,j) == 0
                avstand{I}(i,j) = nan;
            end
        end
    end
end
end

% Beregner gjennomsnittlig avstand til sentrum av mediansnittet for hver
% pasient for klynge 1,2,3:
gjsnittperpas = cell2mat(cellfun(@nanmean, avstand, 'UniformOutput', 0));

```

## Avbildning av klyngenes fordeling – skript laget av Turid Torheim

```
% Lagar bilete frå datasetta eller klyngene.
% Turid Torheim
% 05.01.15
%-----
% Laster inn data:
load('RSIxyzkdata.mat')
% Inneholder x,y,z-koordinater samt klyngetilhørighet i 81x1 cell array.

N = 81; % Antal pasientar.

% Vel å lage kvadratiske bilete av storleik 256x256, fordi dette er
% originalstorleiken til DCE-MR-bileta.
s = 256;

% Sidan kvar pasient har maksimalt 10 snitt, vel eg å setja av plass til 10
% snitt per pasient. IM{i,j} vil etter kvart innehalde biletet av snitt j
% for pasient i.
Ns = 10; % Antal snitt.
IM = cell(N,Ns);

% Går gjennom alle pasientane.
for I = 1:N

    % Deler inn etter snitt, dvs z-koordinat.
    z = RSIxyzkdata{I,1}(:,3); % z-koordinatane ligg her som søyle nr 3.
    [zz,~,iz] = unique(z); % Finn ut kor mange snitt vi har.

    % Går gjennom snitta.
    for k = 1:Ns

        % Lagar eit tomt bilete.
        im = nan(s,s);
        % Vel ut snittet med z-koordinat k (mellom 1 og 10).
        snitt = RSIxyzkdata{I,1}(iz==k,:);

        if ~isempty(snitt) % Dersom det er svulst i dette snittet.

            m = length(snitt); % Antal svulstvokslar i dette snittet.
            for i = 1:m
                % X-koordinaten ligg som snitt(i,1), dvs. første søyle.
                % Y-koordinaten ligg som snitt(i,2), dvs. andre søyle.
                % Lager bilde av klyngetilhørigheten.
                % Denne ligg som snitt(i,4), dvs. fjerde søyle.
                im(snitt(i,1),snitt(i,2)) = snitt(i,4);
            end

        end

        % Set dette biletet inn i IM, som til slutt skal innehalde alle
        % bileta.
        IM{I,k} = im;
        clear im % Gjer klart til neste snitt

    end

end

end
```

## 7.2 Overlevelsesanalyse i R

Prosedyren i R er vist for ett datasett bestående av de to pasientgruppene med henholdsvis høy og lav volumandel av én klynge. Den samme prosedyren er anvendt for samtlige pasientgrupperinger. Prosedyren ble utført i R *Console*. Kommentarer er merket med %-tegn.

```
R version 3.1.2 (2014-10-31) -- "Pumpkin Helmet"
Copyright (C) 2014 The R Foundation for Statistical Computing
Platform: x86_64-apple-darwin13.4.0 (64-bit)
-----

% Laster inn den nødvendige pakken «survival»:
> library(survival)

% Gir filen navn «LRC1», angir at filen har «headers» og åpner vindu for å
% laste inn filen i R:
> LRC1 <- read.table(file=file.choose(), header=T)

% Kommentar: filen som lastes inn har headers «surv_t», «event» og
% «group», som viser til henholdsvis overlevelsestid, endepunkt/sensurering
% og gruppenummer (1 eller 2 for lav eller høy volumandel).
% LRC1 er en tabulator delt tekstfil.

% Lager et såkalt overlevelsesobjekt:
> LRC1surv <- Surv(LRC1$urv_t, LRC1$event)

% Lager et såkalt Kaplan-Meier-objekt bestående av de to pasientgruppene:
> LRC1survkmest <- survfit (LRC1surv~LRC1$group, conf.int=FALSE)

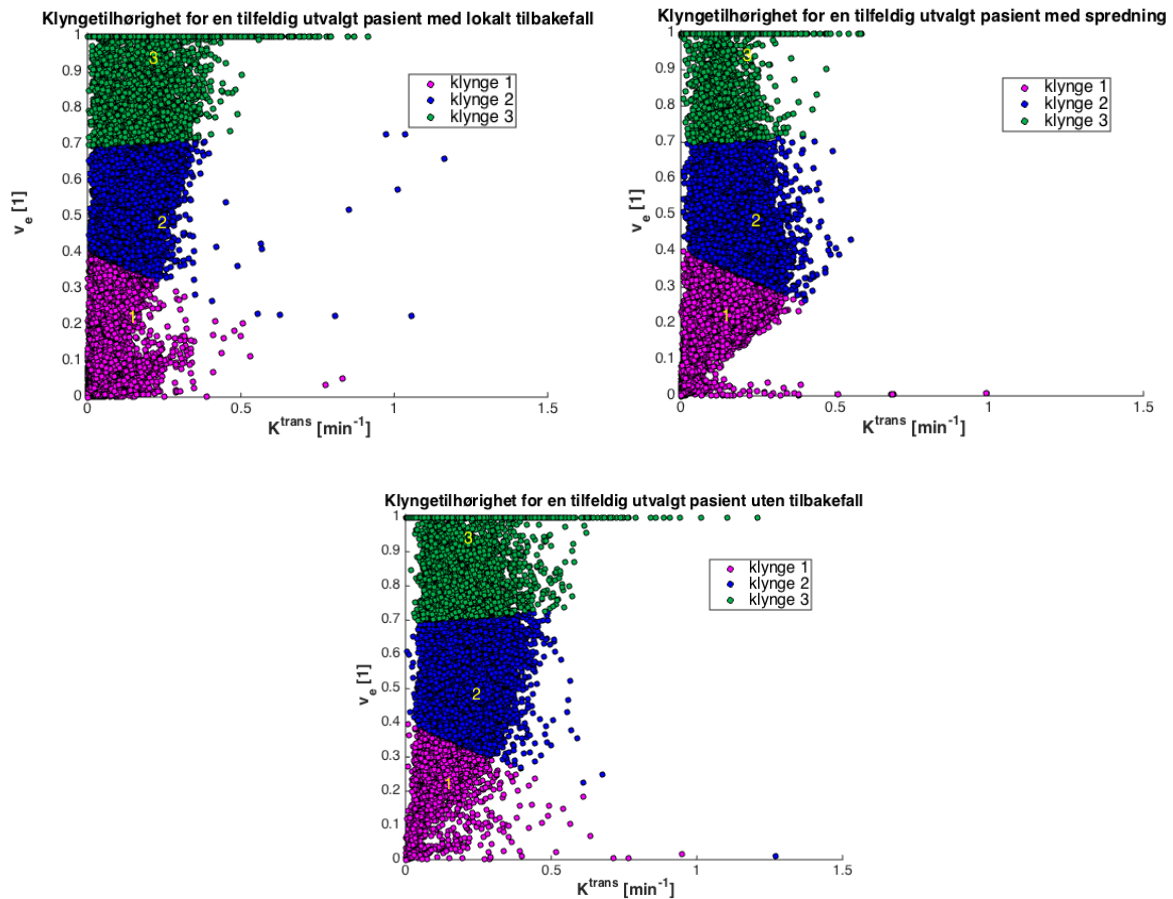
% Viser en oppsummering av dette Kaplan-Meier-objektet:
> summary(LRC1survkmest)

% Lager Kaplan-Meier-kurver for de to pasientgruppene i samme plott:
> plot (LRC1survkmest,
+ lty = c(1,3),
+ col = c("blue", "red"),
+ xlab = "Tid [mnd]",
+ ylab = "Overlevelse",
+ main =«Kaplan-Meier-overlevelsesestimator»)
> legend (x=10, y=0.2, legend = c("Volumandel < median", "Volumandel >
median»), col = c("blue", "red"), lty = c(1,3))

% Utfører log-rank-test for forskjellen i risiko mellom de to gruppene:
> survdiff(LRC1surv~LRC1$group, rho=0)
```

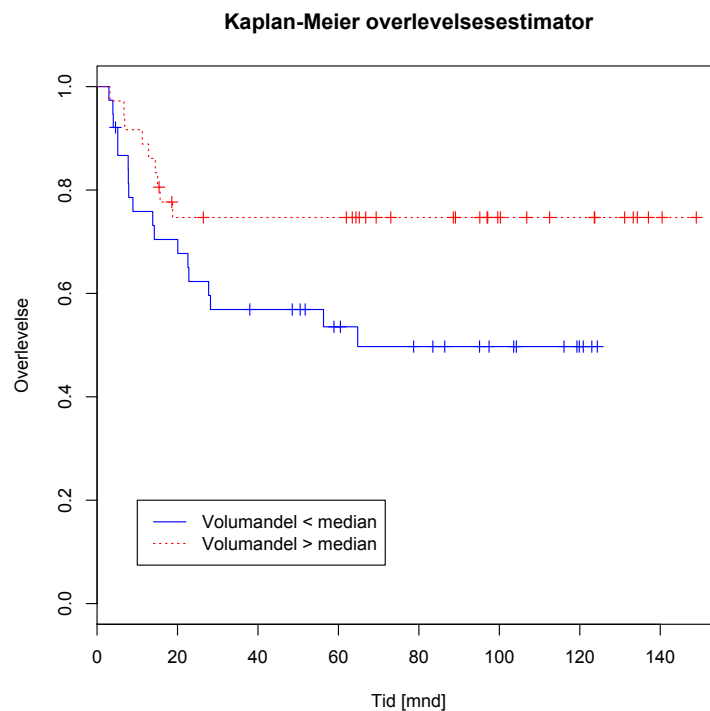
## 7.3 Figurer fra analysen basert på Toftsparameterne

### Klyngeinndeling basert på Toftsparameterne for 3 ulike pasienter



**Figur 40:** Tumorvokslenes klyngetilhørighet basert på  $K$ -means klynging av Toftsparameterne  $K^{trans}$  og  $v_e$  med  $K=3$  klynger. Figuren viser vokslene tilhørende tre ulike pasienter som opplevde henholdsvis lokalt tilbakefall, tilbakefall i form av spredning (metastaser) og progresjonsfri overlevelse (ikke tilbakefall). Klyngeinndelingen er basert på samtlige pasienters vokslar. Klyngecentrene er markert med det korresponderende klynge nummeret. Overlevelsesanalysen viste at de tre klyngene var assosiert med hvert sitt behandlingsutfall. Pasientgruppen med en høy volumandel av klynge 1 hadde høyere risiko for tilbakefall totalt sett ( $p$ -verdi: 0,035 i log-rank-test), mens pasientgruppen med høy volumandel av klynge 2 hadde lavere risiko for lokalt tilbakefall ( $p$ -verdi: 0,029 i log-rank-test). Pasientgruppen med en høy volumandel av klynge 3 hadde lavere risiko for tilbakefall i form av spredning ( $p$ -verdi: 0,047 i log-rank-test).

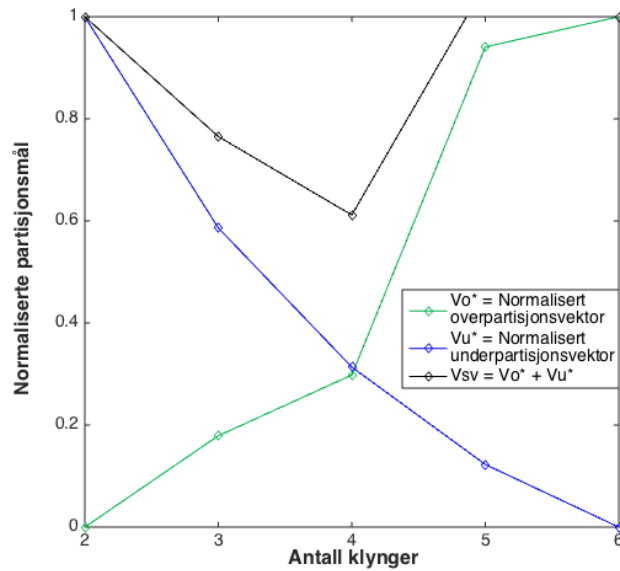
## Kaplan-Meier-estimatorer for Tofts klynge 2 med endepunktet tilbakefall



**Figur 41:** Kaplan-Meier overlevelsesestimatorer for de to pasientgruppene med henholdsvis lav og høy volumandel av klynge 2 fra K-means klynging basert på Toftsparameterne. Endepunktet som undersøkes er tilbakefall totalt sett (inkluderer både lokalt tilbakefall og tilbakefall i form av spredning). Sensurering av pasienter er indikert som røde og blå kryss, og viser til pasienter som har forlatt studien uten at endepunktet var nådd. Overlevelse angir her andelen pasienter med progresjonsfri overlevelse (ingen form for tilbakefall). Log-rank-test av forskjellen i risiko for tilbakefall mellom de to pasientgruppene resulterte i en p-verdi på 0,052 (ikke signifikant på valgt signifikansnivå  $\alpha=0,05$ ). Den samme klyngen var signifikant assosiert med endepunktet lokalt tilbakefall, og pasientgruppen med en høy volumandel av klyngen viste lavere risiko for lokalt tilbakefall (log-rank-test med p-verdi lik 0,029).

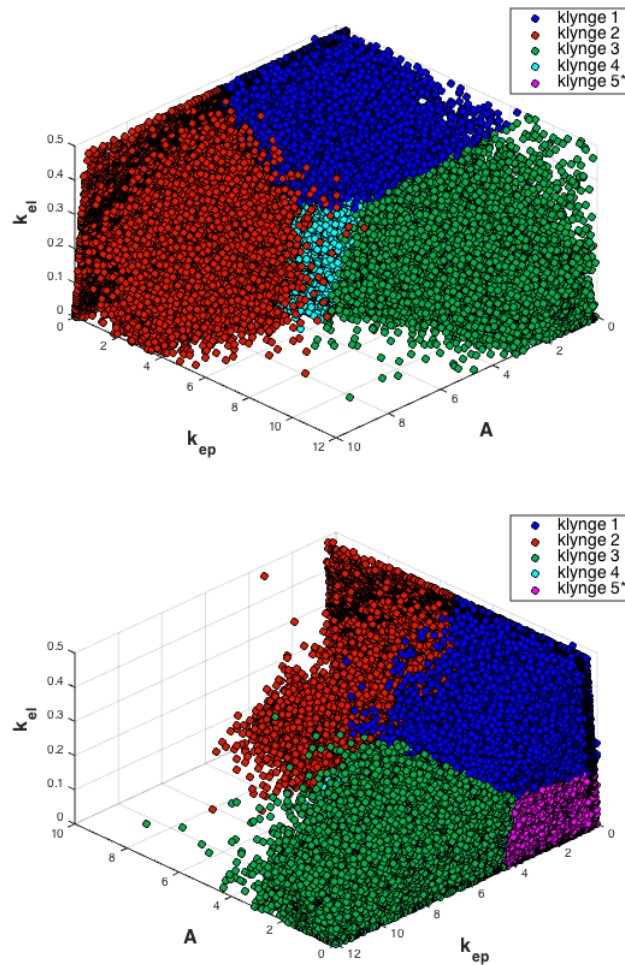
## 7.4 Figurer fra analysen basert på Brixparameterne

### Estimert optimalt antall klynger



**Figur 42:** De normaliserte over- og underpartisjonsvektorene, henholdsvis  $V_o^*$  og  $V_u^*$ , for K-means klynging med standardiserte Brixparametere. Klyngingen ble utført med 2-6 klynger. Figuren viser at den estimerte optimale inndelingen av vokslene var lik 4 klynger, da dette svarer til den minimale summen av partisjonsvektorene  $V_o^*$  og  $V_u^*$ . Også for de øvrige klyngingene basert på Brixparameterne ble den optimale inndelingen estimert til å være lik 4 klynger, og partisjonsvektorene var tilnærmet like vektorene som er vist i figuren.

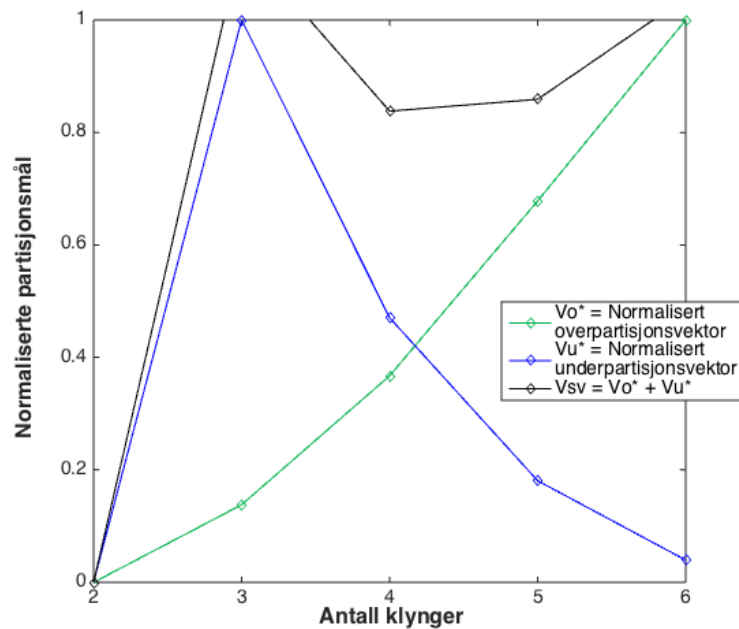
## Klyngeinndeling basert på Brixparameterne



**Figur 43:** Resultatet av K-means klynging med de standardiserte Brixparameterne for en inndeling av vokslene i 5 klynger. I figuren er klyngene ført tilbake til sine ikke-standardiserte verdier av  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$ . Klyngingen identifiserte én gruppe tumorkvokslser som var signifikant assosiert med både tilbakefall totalt sett og tilbakefall i form av spredning. Denne klyngen svarer til klynge 5 vist i lilla i figuren. Klyngingen er vist fra to ulike vinkler. I det øverste plottet er klynge 5 skjult bak de resterende klyngene, mens det nederste plottet viser at klynge 5 er plassert nær origo og har lave verdier av samtlige Brixparametere. Klyngesentrum for klynge 5 korresponderer til  $A$ ,  $k_{ep}$  og  $k_{el}$  lik henholdsvis 1,34, 1,93 og 0,028. Enheten til de tre Brixparameterne er [ $\text{min}^{-1}$ ].

## 7.5 Figurer fra analysen basert på $RSI(t)$

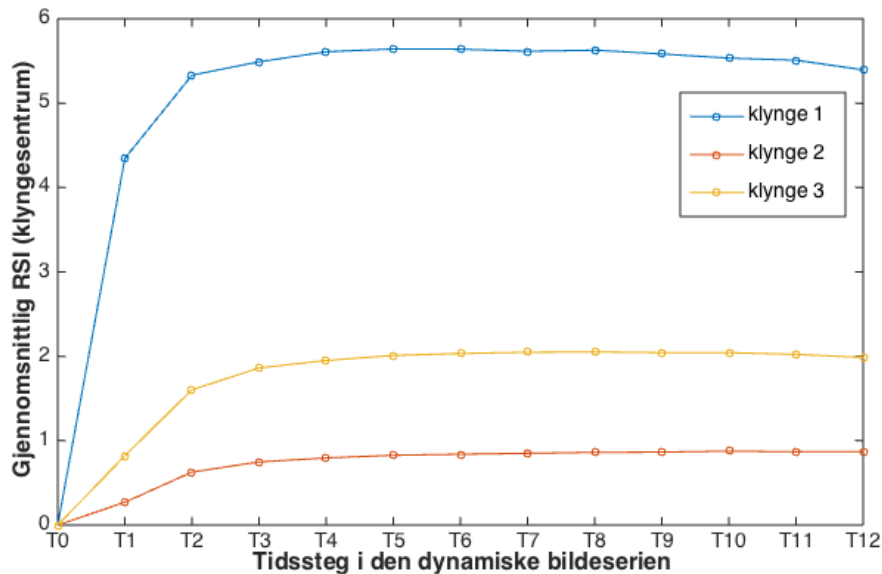
### Estimert optimalt antall klynger



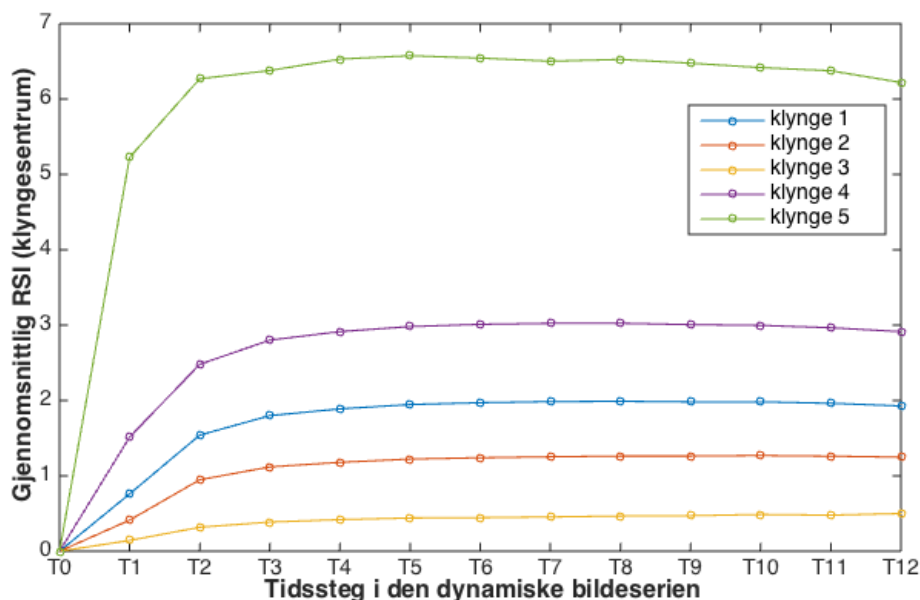
**Figur 44:** De normaliserte over- og underpartisjonsvektorene, henholdsvis  $V_o^*$  og  $V_u^*$ , for K-means klynging med den relative signaløkningen  $RSI(t)$  for de ti første stegene i den dynamiske bildeserien. Klyngingen ble utført med 2-6 klynger. Figuren viser at den estimerte optimale inndelingen av vokslene var lik 2 klynger, da dette svarer til den minimale summen av partisjonsvektorene  $V_o^*$  og  $V_u^*$ . Utviklingen i den normaliserte underpartisjonsvektoren  $V_u^*$  viser imidlertid en uvanlig utvikling ved at den er minimal før den igjen vokser. Den maksimale verdien for  $V_u^*$  ved  $K=3$  klynger skyldes at det for denne inndelingen ble dannet en klynge med få og svært spredte observasjoner.



### Klyngesentrum for $K$ -means klynging basert på $RSI(t)$ for 13 tidssteg



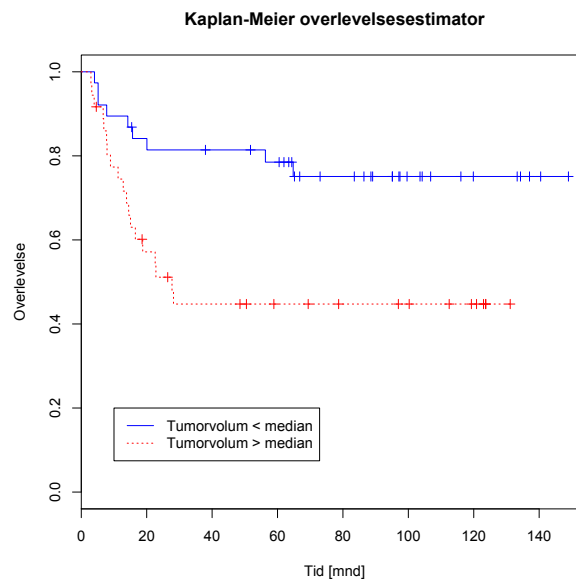
**Figur 45:** Klyngesentrum for en inndeling av tumorvokslene i tre klynger basert på den relative signaløkningen  $RSI(t)$  for de 13 første avbildningene i DCE-MRI. Klyngesentrum svarer til de respektive klyngenes gjennomsnittlige verdi av  $RSI(t)$  for tidsstegene  $T_0, T_1, \dots, T_{12}$ . Kurvene viser at utvaskingsfasen av kontrastmiddel ikke nås for gjennomsnittet av vokslene, da det ikke observeres noen betydelig nedgang i gjennomsnittlig  $RSI(t)$ . Kun klyngen med høyest gjennomsnittlig  $RSI(t)$  viser noe tydelig tegn til nedgang. Denne klyngen utgjorde kun 2 % av vokslene.



**Figur 46:** Tilsvarende innhold som i figur 45, men her for en inndeling av vokslene i  $K=5$  klynger. Heller ikke for denne inndelingen viser klyngene noen betydelig gjennomsnittlig nedgang i  $RSI(t)$  for de siste tidsstegene i DCE-MRI. Også her er det klyngen med det høyeste klyngesenteret som viser det tydeligste tegnet til nedgang i  $RSI(t)$ . Denne klyngen utgjorde 1 % av vokslene.

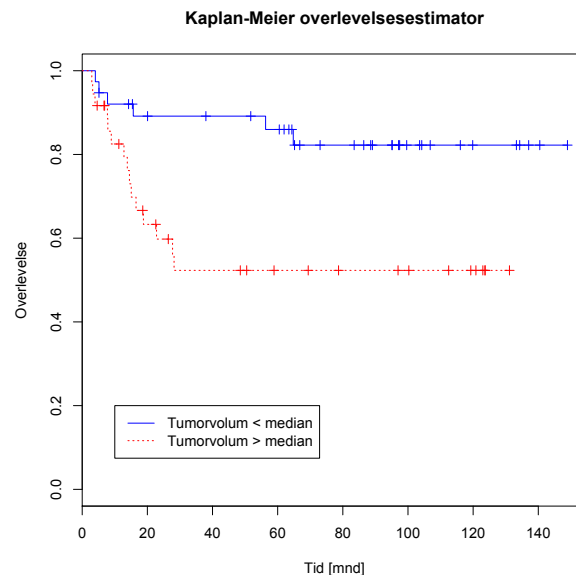
## 7.6 Kaplan-Meier-estimatorer for totalt tumorvolum

### Kaplan-Meier-estimatorer for totalt tumorvolum med endepunktet tilbakefall



**Figur 47:** KM-estimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høyt og lavt tumorvolum, inndelt etter median tumorvolum for de 81 pasientene. Endepunktet er her definert som tilbakefall totalt sett (både lokalt og i form av spredning). Sensurerte pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Estimatorene illustrerer at pasientgruppen med høyt tumorvolum hadde høyere risiko for tilbakefall. Log-rank hypotesetest viste en signifikant forskjell i risiko mellom de to pasientgruppene, med en  $p$ -verdi lik 0,006.

### Kaplan-Meier-estimatorer for totalt tumorvolum med endepunktet spredning



**Figur 48:** KM-estimatorer for pasientgruppene med henholdsvis høyt og lavt tumorvolum, inndelt etter median tumorvolum for de 81 pasientene. Endepunktet er her definert som tilbakefall i form av spredning. Sensurerte pasienter er angitt som blå og røde kryss langs de respektive overlevelseskurvene. Estimatorene illustrerer at pasientgruppen med høyt tumorvolum hadde høyere risiko for tilbakefall i form av spredning. Også her resulterte log-rank-hypotesetest i en  $p$ -verdi lik 0,006 for forskjellen i risiko mellom de to gruppene.



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)