

T E S I D I D O T T O R A T O

Dipartimento di Scienze Economiche, Aziendali e Statistiche

**I modelli statistici HGLM per la valutazione
diagnostica: il caso della fibrosi epatica HCV
correlata**

Fabio TUZZOLINO

Tutor: *Prof. Massimo Attanasio*

Coordinatore Dottorato: *Prof. Marcello Chiodi*

**Dottorato di Ricerca in “Statistica, Statistica Applicata e
Finanza Quantitativa, XXIV Ciclo - 2013
Settore Scientifico Disciplinare: SECS/S01 - Statistica**

Università degli Studi di Palermo

Indice

1	Introduzione	1
1.1	Il problema dell'accuratezza diagnostica nelle malattie epatiche .	2
1.2	Alternative alla biopsia	3
1.3	La fibrosi epatica	4
1.4	Acoustic Radiation Force Impulse	5
1.5	L'anisotropia di un solido	7
1.6	Obiettivi della ricerca	9
2	Modellazione congiunta di media e dispersione	15
2.1	La quasi-verosimiglianza estesa	16
2.2	Modellazione congiunta GLM della media e della dispersione . .	17
2.3	Estensione a più fonti di errore: gli effetti casuali	19
2.3.1	La verosimiglianza estesa	19
2.3.2	Inferenza sui parametri fissi	20
2.3.3	Inferenza sui parametri casuali	20
2.3.4	Scala canonica, h-likelihood e inferenza congiunta	21
2.3.5	I modelli lineari misti	23
2.4	I modelli GLM Gerarchici HGLM	27
2.4.1	Modelli HGLM con dispersione strutturata	28
2.4.2	I modelli HGLM doppi	28
3	Il piano della ricerca	33
3.1	Oggetto della ricerca	33
3.2	Ipotesi di partenza	34
3.3	Piano di campionamento delle misurazioni	35

4	Analisi preliminare dei dati	37
4.1	Statistiche descrittive	37
4.2	Associazione tra media e dispersione	38
4.3	Statistiche descrittive per segmento e decubito	39
4.4	Esplorazione del 75° percentile	41
5	Analisi congiunta della media e della dispersione	45
5.1	Applicazione dei modelli HGLM, HGLMSD e DHGLM	45
5.1.1	Analisi grafica dei residui	49
5.2	Applicazione dei modelli sul 75° percentile	49
5.2.1	Analisi grafica dei residui	56
5.3	Confronto tra le due applicazioni	56
6	Conclusioni	61
6.1	Limiti attuali dello studio	62
6.2	Possibili sviluppi	62
6.3	Ringraziamenti	63
	Bibliografia	65

Capitolo 1

Introduzione

L'infezione da virus dell'epatite C (HCV) è una delle principali cause di malattia cronica del fegato in tutto mondo. Questa infezione è stimata come asintomatica dal 50% al 90% dei casi e la cronicizzazione avviene tra il 50% e il 90% dei casi. L'impatto epatico a lungo termine dell'infezione da HCV è assai variabile: epatiti croniche, fibrosi estesa, cirrosi epatica con e senza carcinoma epatocellulare (HCC) [9].

Si stima che il numero delle persone cronicamente infette da HCV a livello mondiale, nel 2011, oscilla tra 130 e 210 milioni (3% della popolazione mondiale), ma la maggior parte di loro non è a conoscenza della propria condizione di salute. In Europa Occidentale la prevalenza oscilla tra lo 0.4% ed il 3% [9] mentre, In Italia, si stima che il numero di soggetti con infezione da HCV cronicamente viremici supera il milione e mezzo (3% della popolazione). Tuttavia il numero preciso di persone infettate da HCV è difficile da calcolare: esiste un enorme sommerso, derivato dalla latenza clinica del virus, che impedisce una diagnosi in tempo utile, a meno che essa avvenga quasi per caso (donazioni di sangue, interventi chirurgici, screening per la prevenzione delle malattie) [26]. La degenerazione più comune dell'infezione da HCV è l'infiammazione cronica da HCV, che produce a sua volta tessuto di tipo cicatriziale. Tale accumulo di tessuto viene denominato fibrosi epatica. Il 70-80% di questi casi va incontro all'epatocarcinoma. [27].

Uno degli obiettivi della medicina è diagnosticare accuratamente questa malattia il più precocemente possibile. Inoltre la fibrosi epatica non coinvolge fin da subito l'organo in modo uniforme, ma lo aggredisce in modo eterogeneo. Ad oggi non vi sono indicazioni chiare sul come effettuare una diagnosi accurata, visto

che l'evidenza clinica della malattia - e della sua progressione - è estremamente variabile.

Se da un lato la malattia risulta "insidiosa" perché asintomatica, da un altro lato, non sono ancora disponibili - e anche se lo fossero non sono certamente facilmente accessibili da tutti per ragioni di costi - degli strumenti diagnostici efficaci e adeguati. Nella pratica clinica esistono due metodiche per effettuare la diagnosi sul grado di fibrosi: la biopsia epatica e l'ecografia. La biopsia è ancora considerata la procedura di riferimento, mentre le tecniche ecografiche hanno avuto un largo sviluppo negli ultimi anni in seguito ai miglioramenti tecnologici. La biopsia rimane quindi lo strumento tradizionale, il cui output è un valore unico basato su un solo campione epatico, mentre le tecniche ecografiche danno la possibilità di diagnosticare il livello di fibrosi basandosi su misurazioni in diverse parti del fegato.

Un aspetto innovativo ancora oggi da approfondire, è proprio il valore aggiunto della variabilità - offerto dalle tecniche ecografiche - in termini di diagnosi. Ciò è possibile operando più misurazioni su uno stesso individuo e probabilmente nelle fasi iniziali della malattia. La variabilità riscontrata su diverse misurazioni casuali effettuate sul fegato di uno stesso paziente fornisce di fatto un'informazione cruciale per una migliore diagnosi [30].

L'obiettivo di questa tesi di dottorato è modellare congiuntamente sia la media che la dispersione di diverse misurazioni effettuate su alcuni segmenti epatici dei pazienti attraverso i modelli statistici Double Hierarchical Generalized Linear Models (DHGLM) (Lee, Nelder e Pawitan, 2006) [17]. Questi modelli effettuano delle stime congiunte della media e della dispersione permettendo anche l'inserimento di parametri casuali sia nel modello della media che nel modello della dispersione.

I risultati emersi da tale studio sembrano apportare un nuovo contributo allo sviluppo della diagnosi della fibrosi epatica HCV correlata, attribuendo alla variabilità un ruolo informativo adeguato.

1.1 Il problema dell'accuratezza diagnostica nelle malattie epatiche

Nell'ambito dei test diagnostici il gold standard rappresenta il test di riferimento per la determinazione del vero stato della malattia. Tuttavia per molte malattie è difficile o impossibile stabilire una diagnosi con un alto livello di accuratezza: si parla allora di imperfect gold standard. Nell'ambito delle ma-

lattie epatiche la biopsia viene considerata lo standard di riferimento anche se, a parere nostro, non può essere un gold standard. Infatti diversi elementi come l'errore di campionamento [29], la lunghezza e la larghezza del campione del tessuto prelevato [32], l'inconsistenza nella definizione delle caratteristiche patologiche e l'inter-observer agreement [31], solo per citarne alcuni, fanno sì che in questo caso siamo in presenza di un imperfect gold standard. Questi fattori arrivano a determinare circa il 20% di errori nella corretta stadiazione della malattia [1] pertanto la ricerca clinica si sta indirizzando nell'individuazione di valide alternative meno invasive e rischiose.

1.2 Alternative alla biopsia

I costi e le possibili complicanze generati dalla biopsia ha spinto la medicina alla ricerca di metodi alternativi non invasivi [6] [30] [2] come ad esempio l'Ultrasound, la CT (Computed Tomography) scan, la Risonanza Magnetica, il Fibroscan, la risonanza magnetica elastografica, la risonanza magnetica spettrale, la Transient Elastograph e la Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI).

Il punto in comune dell'utilizzo di tutti questi test diagnostici, o comunque dell'interpretazione delle misurazioni osservate con le varie metodiche, è quello di valutare la fibrosi in più punti del fegato. Alcune metodiche gestiscono la variabilità per validare le misurazioni [6], infatti se la variabilità è elevata la misurazione media viene annullata. Con questo tipo di approccio, come nel caso del Fibroscan, stabilisce un protocollo di acquisizione delle misure. Si osserva che nei metodi citati la variabilità osservata viene considerata come un fattore di disturbo e non come ulteriore fonte di informazione.

La variabilità del grado di fibrosi epatica HCV correlata è in ogni caso un processo clinico già noto e ben riscontrabile come, ad esempio, in alcuni esami radiologici quali la risonanza magnetica. In vari pazienti tale fenomeno è fortemente evidente come nel caso della figura 1.1. Tale immagine è stata prodotta attraverso la Risonanza Magnetica Elastografica e tale tecnica utilizza delle onde elettromagnetiche per determinare la compattezza dei tessuti. Attraverso questo tipo di immagini si può esplorare il fegato nel suo insieme. Il rosso indica la presenza di tessuto malato mentre il blu indica il tessuto sano. Tuttavia per per condurre questo esame in modo accurato il paziente deve essere esposto ad un elevata intensità di campo magnetico generando dei rischi. Inoltre, a parità di paziente, esiste una variabilità data dal tipo di macchinario e dalle sue impostazioni come ad esempio la piastra, l'intensità del campo magnetico stesso, etc.

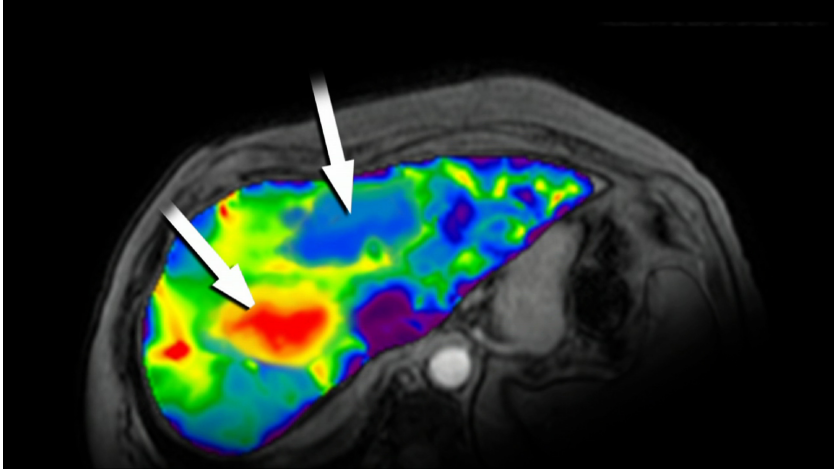


Figura 1.1: Risonanza magnetica elastografica epatica, fonte National Institute of Biomedical Imaging

1.3 La fibrosi epatica

Ma cosa è esattamente la fibrosi epatica? Con il termine fibrosi epatica si intende l'accumulo di tessuto di tipo cicatriziale, che si può osservare in quasi tutte le condizioni di danno cronico. Il fegato, come altri tessuti, è composto da cellule nobili, dette anche parenchimali, che svolgono la maggior parte delle funzioni alle quali è deputato il tessuto. Oltre a queste cellule ne sono presenti altre, definite non parenchimali, che sono responsabili dell'afflusso di sangue e svolgono funzioni di sostegno. Il tessuto epatico, come altri tessuti, è infatti tenuto insieme da una sorta di "impalcatura" prodotta da cellule non parenchimali, definita matrice extracellulare [21].

La matrice si trova tra le varie cellule e ne permette in maniera ottimale gli scambi di informazioni (filtrazione) ed è critica per le funzioni dell'organo. Nel fegato normale la matrice è rappresentata per lo più da una trama delicata che circonda gli epatociti e li separa dai vasi sanguigni permettendo gli scambi. In corso di fibrosi la matrice del fegato cambia le sue caratteristiche in maniera qualitativa e quantitativa. Infatti, aumentano le componenti cosiddette fibrillari, ovvero simili alla struttura dei tendini, che formano dei tralci attraverso la struttura del tessuto. Inoltre la quantità totale di matrice aumenta

notevolmente a scapito di altre componenti cellulari del tessuto. [21]

Attraverso diversi meccanismi, quale ad esempio l'epatite, si determina la morte di un certo numero di cellule nobili, innescando una reazione da parte dell'organismo. A questo punto si sviluppa una modificazione della matrice extracellulare da parte dei miofibroblasti, cellule non parenchimali che colmano i vuoti lasciati dalle cellule distrutte con nuova matrice. Questo evento è necessario non solo per impedire il collasso meccanico del tessuto, ma anche per stabilire l'ambiente più idoneo alla rigenerazione delle cellule nobili. Una volta che l'agente che ha causato il danno viene neutralizzato o che la sua azione tossica viene interrotta, i passi successivi sono rappresentati dalla rigenerazione delle cellule parenchimali, gli epatociti, che ripopolano il tessuto riportandolo alla sua struttura e funzione originarie, e dal ritorno della matrice alle sue caratteristiche normali. In un contesto di cronicità invece la matrice extracellulare non viene riassorbita, ma continua ad accumularsi nel tempo determinando il presupposto per lo sviluppo di fibrosi ovvero un eccesso di cicatrizzazione che può condurre nel tempo allo sviluppo di cirrosi e all'aumento di rischio di tumore. Gli studiosi mirano così ad individuare gli stadi più precoci di fibrosi, per tentare di arrestare la malattia in una fase nella quale il danno dell'organo è ancora limitato. Tuttavia, ad oggi, non esiste ancora un esame diagnostico capace di assolvere tale compito [21].

La progressione della fibrosi è identificata secondo varie classificazioni riconosciute a livello internazionale [8]. La più diffusa è il grading *Metavir* la quale prevede 5 classi da F0 fino ad F4. Il grado di assenza è indicato da F0 mentre il grado di cirrosi è indicato da F4. Questa classificazione si basa sulla valutazione della biopsia epatica [23].

1.4 Acoustic Radiation Force Impulse

Una recente tecnica ecografica introdotta nel mercato dalla casa produttrice SIEMENS è *Acoustic Radiation Force Impulse* - ARFI. Tale tecnica consiste nel generare un fascio ultrasonoro ad alta frequenza attraverso un trasduttore. Il fascio così generato produce una deformazione del tessuto epatico ed un istante dopo la generazione del fascio ultrasonoro la macchina fornisce a video la misura elastometrica rilevata in m/s, ovvero la velocità di propagazione dell'onda di taglio nel tessuto. Maggiore è la velocità delle onde di taglio maggiore è la presenza di fibrosi (figura 1.2).

Nel corso del normale esame ecografico l'operatore colloca a schermo in qualsivoglia punto sino a 5.5 cm di profondità un box piccolo cm 0.5x1 che rappresen-

ta la Region of Interest (ROI). A comando dell'operatore il trasduttore genera il fascio ultrasonoro ad alta frequenza per la deformazione dei tessuti (figura 1.2). La velocità è il rapporto tra spazio e tempo ed è relativa ad uno spazio planare: il piano ortogonale alla retta lungo la quale il sistema emette energia deformante. (figura 1.2). La velocità di propagazione restituita da ARFI varia tra un valore minimo di 0 metro/secondo, assenza di fibrosi, ed un valore massimo di 5 metri/secondo, ovvero cirrosi epatica.

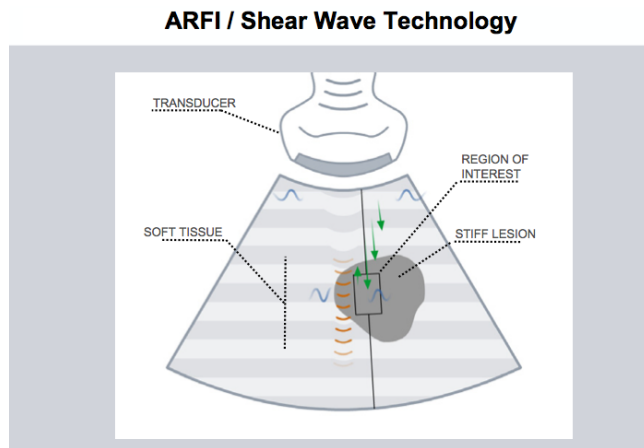


Figura 1.2: ARFI - Acoustic Radiation Force Impulse

Un importante aspetto da tenere presente durante la fase di raccolta ed elaborazione dei dati è un elemento fisico/chimico definito come *anisotropia*. L'anisotropia, di fatto, potrebbe influenzare la velocità delle onde di taglio e questa caratteristica dipende dalla direzione della sonda ecografica. A seconda della posizione, a parità di volume esplorato, si possono ottenere risultati differenti in termini di metri al secondo.

ARFI permette di operare più misure in diversi punti del fegato mentre altri strumenti, quale il Fibroscan, forniscono solamente un valore medio relativo ad un solo punto. Questa peculiarità di ARFI permette di osservare potenzialmente l'intero fegato in modo esteso e non invasivo ottenendo un quadro clinico più ampio.

1.5 L'anisotropia di un solido

L'anisotropia è definita come la proprietà di taluni solidi di rispondere ad una sollecitazione meccanica standard con una deformazione elastica differente a seconda del piano spaziale su cui agisce il tensore. (*Anisotropy, in physics, the quality of exhibiting properties with different values when measured along axes in different directions. Anisotropy is most easily observed in single crystals of solid elements or compounds, in which atoms, ions, or molecules are arranged in regular lattices. In contrast, the random distribution of particles in liquids, and especially in gases, causes them rarely, if ever, to be anisotropic*) [11].

Per come introdotto nel paragrafo 1.3 quando si ha fibrosi nel fegato di fatto avviene un progressivo indurimento epatico determinato dal progredire dei depositi di connettivo cicatriziale post-flogistico e dalla modifica della struttura medesima del collagene depositato [20]. Si immagini dunque il fegato come un albero con la sua chioma, il tronco tutti i rami ed i rametti. Tale struttura presenta di per sé una rigidità ma con il processo di fibrosi i rami di quest'albero si vanno inspessendo secondo un orientamento spaziale ben definito, lo stesso dell'impianto vascolare (figura 1.3). Il lobulo epatico, l'unità morfologica più semplice del fegato, è un volume di forma grossolanamente poligonale delimitata esternamente dalle triadi portali (venula terminale portale, arteriola da arteria epatica, dotto biliare, vaso linfatico) ed in mezzo dalla vena centrolobulare, che drena poi nelle vene epatiche, (figura 1.4). Quando il fegato è in normali condizioni il comportamento elastico delle strutture anatomiche è abbastanza prossimo all'isotropia e le misurazioni ARFI sono molto basse. Quando nel corso della malattia, negli stadi Metavir F2 e Metavir F3 avviene invece il processo di fibrosi, compaiono spesse lamine fibrotiche ai margini del lobulo (figura 1.5, 1.6, 1.7) e queste conferiscono un orientamento spaziale con proprietà anisotropiche (figura 1.4), con misurazioni ARFI via via crescenti.

Se le parti del fegato con fibrosi vengono stimulate secondo differenti direzioni la risposta è differente, ovvero anisotropica. Per meglio comprendere riportiamo due esempi. Il primo si riferisce ad un tessuto isotropico omogeneo (figura 1.8) mentre il secondo ad un tendine canino dunque con delle fibre presenti nel tessuto (figura 1.9). La fibrosi epatica è comparabile in questo contesto con la struttura delle fibre di un muscolo. Le misurazioni (velocità di propagazione di onde acustiche di taglio emesse da una sonda), come si osserva da entrambe le figure, sono registrate su tre piani ortogonali differenti. Nel caso del tessuto isotropico omogeneo l'onda di taglio viaggia con la stessa velocità in tutte le direzioni. Nel caso del muscolo tendineo del cane la velocità delle onde di taglio è più veloce lungo le fibre muscolari (piano verde) che attraverso le fibre (piano

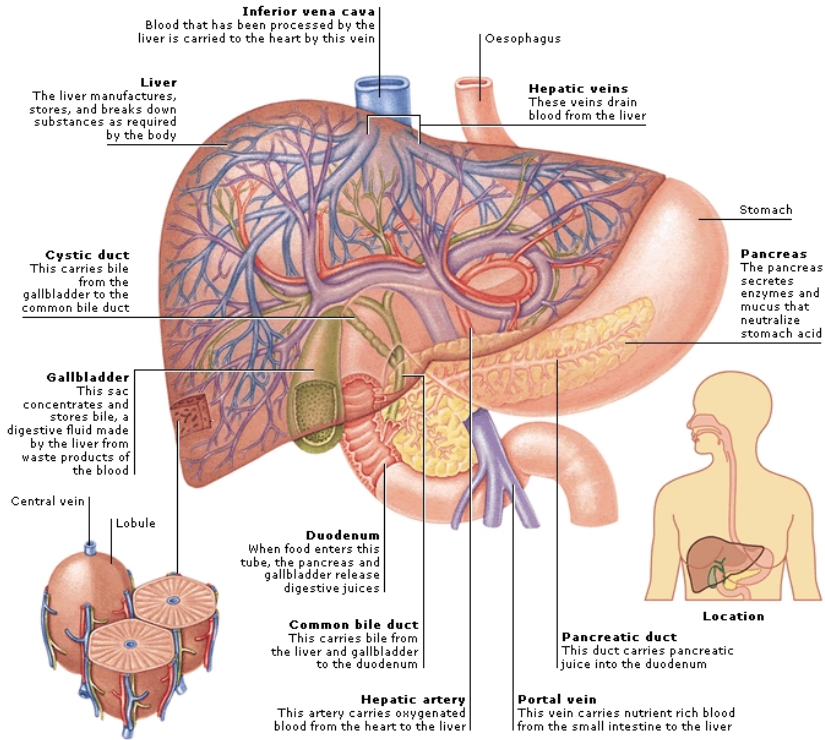


Figura 1.3: struttura epatica vascolare, fonte Medical Encyclopedia

giallo). E' importante sottolineare, infine, che sono stati avviati degli studi sul modello animale e i risultati suggeriscono che il tessuto epatico presenta caratteristiche anisotropiche [7].

Allo stato attuale una delle maggiori difficoltà di tipo tecnico è la verifica che le misurazioni avvengano in modo realmente ortogonale e che esse coprano uno spazio di osservazione adeguato per ogni singolo segmento epatico. Si osservi che il segmento epatico (figura 1.10) presenta confini topografici noti e quindi riproducibili. Il decubito del paziente (prono, laterale e supino, figura 3.1) non è sufficiente a garantire l'ortogonalità delle misurazioni in tutti i segmenti ma solo su alcuni e molto dipende dalla conformazione anatomica del paziente. Ci sono sufficienti evidenze empiriche pre ipotizzare che i segmenti potenzialmente

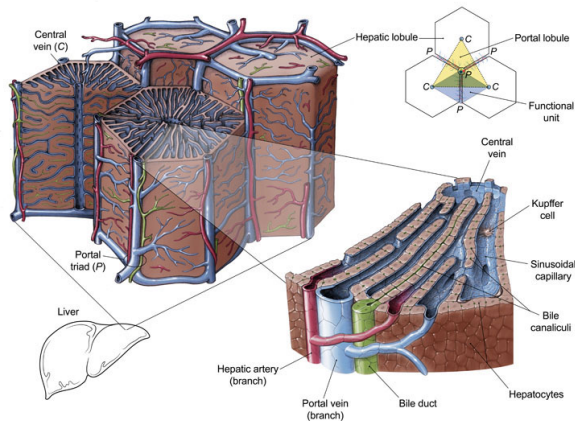


Figura 1.4: lobulo epatico, fonte Medical Encyclopedia

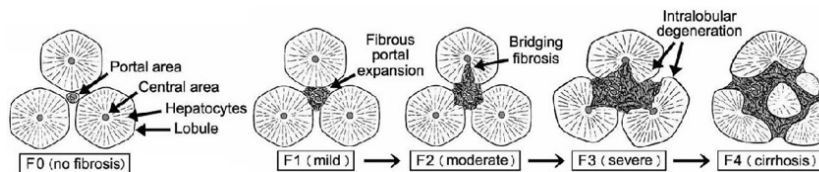


Figura 1.5: sezione di lobuli epatici con differenti livelli di fibrosi

esplorabili in modo ortogonale sono l'S5, l'S6 e l'S7 (figura 1.10).

1.6 Obiettivi della ricerca

Alla luce di quanto fin qui esposto risulta evidente che il processo di fibrosi HCV correlata non avviene in modo omogeneo nel fegato. Questa “scoperta” ha rappresentato un punto di svolta nelle indagini della fibrosi (come sottolineato nel lavoro di Lai [12], infatti si sostiene che la variabilità, oltre che la media/mediana, è estremamente informativa per la stadiazione della fibrosi.

Due elementi importanti sono emersi: il primo è che al crescere del livello di medio di fibrosi cresce la variabilità. Ciò significa che il fegato diventa sempre più eterogeneo man mano che il livello di fibrosi aumenta. D'altronde questo tipo

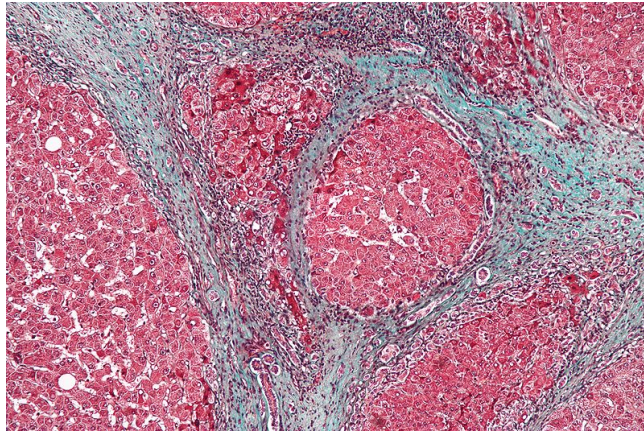


Figura 1.6: sezione di lobuli epatici

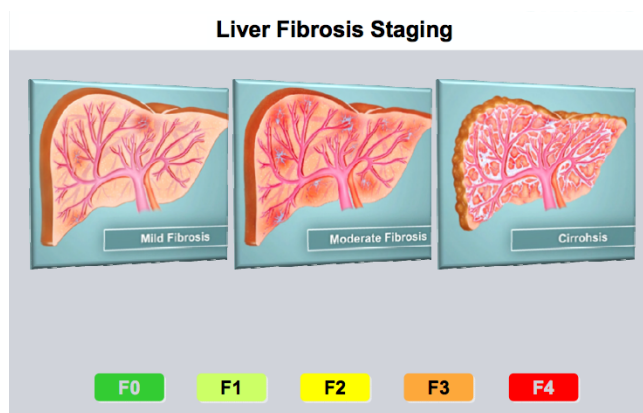


Figura 1.7: scoring Metavir F0-F4

di relazione tra la media e la variabilità è noto in statistica perché si riscontra in molti fenomeni fisici e biologici. Questa relazione ha delle implicazioni in termini diagnostici molto importanti, infatti occorre tenere presente che:

1. a parità di media/mediana, variabilità elevate indicano che il fegato ha delle parti "più malate" rispetto ai pazienti con variabilità più basse. In

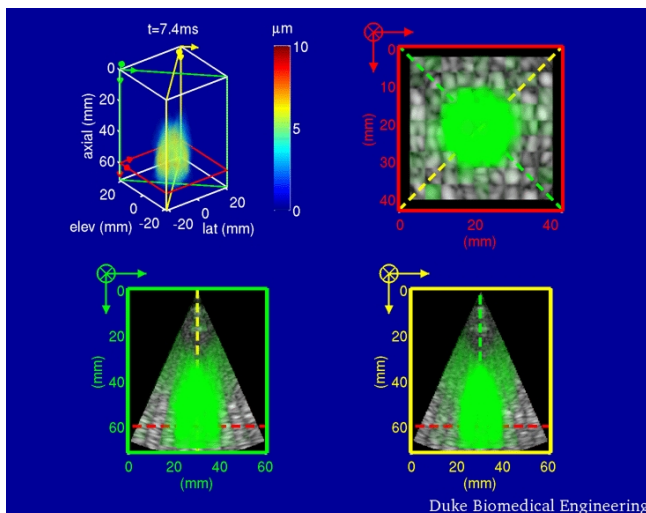


Figura 1.8: tessuto isotropico omogeneo, fonte Nightingale Laboratory, Duke University Biomedical Engineering.

questi casi risulta utile analizzare la parte più fibrotica: per questo motivo applicheremo un modello media/varianza considerando i dati dal 50-esimo percentile al massimo;

2. quando la variabilità cresce al crescere della media/mediana, significa che fibrosità medie più elevate sono associate a fegati maggiormente eterogenei, ovvero fegati con parti molto fibrotiche e parti poco fibrotiche. Ciò “dimostra” come il processo di infiammazione del fegato proceda a macchia di leopardo.

Un secondo aspetto di nostro interesse, per indagare sulla accuratezza delle misurazioni ARFI, è dato dal piano di osservazione della sonda ecografica. Infatti, evidenze empiriche riscontrate in altri ambiti clinici dimostrano che le velocità di risposta degli impulsi ARFI variano al variare del piano di osservazione. Essi sono individuati attraverso tre decubiti: prono, supino e laterale.

Per provare a dare delle risposte ai quesiti appena posti applichiamo un modello statistico che studia congiuntamente la media e la dispersione delle osservazioni ripetute sullo stesso paziente secondo diversi decubiti. Ciò è affrontato con i modelli Double Hierarchical Generalized Linear Models (DHGLM)

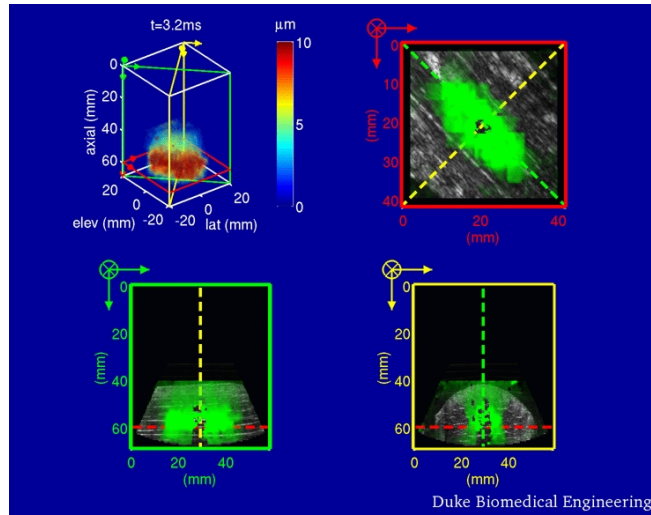


Figura 1.9: muscolo semitendineo canino, fonte Nightingale Laboratory, Duke University Biomedical Engineering.

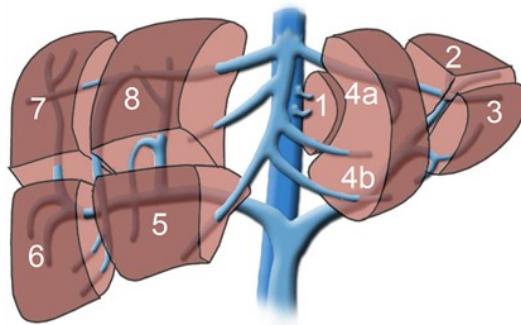


Figura 1.10: segmenti epatici - fonte Royal College of Surgeons of Ireland (RCSI) <http://www.healcentral.org/>

proposti da Lee, Nelder e Pawitan (2006) [17]. Tali modelli effettuano delle stime congiunte della media e della dispersione anche con effetti casuali sia nel modello della media che nel modello della dispersione.

Infine per porre una “lente di ingrandimento” in termini qualitativi (il segmento e/o il decubito) ed in termini quantitativi, è stato formulato un secondo modello DHGLM in cui l’analisi un sott’insieme delle misure di ogni paziente: ovvero solo le misure più elevate scartando il 50% delle misure più basse per ogni decubito. Adattando un modello HGLM così strutturato, di fatto la media è approssimabile al 75° percentile. La nostra assunzione è, ovviamente, rivolta al al 75° percentile delle misurazioni e ha un’importanza clinica determinante poiché espressivo della “spinta” della malattia. Infatti un paziente con un 75° percentile elevato ha una prognosi peggiore rispetto ad un paziente che presenta lo stesso valore mediano ma un 75° percentile inferiore.

Capitolo 2

Modellazione congiunta di media e dispersione

L'obiettivo è quello di studiare congiuntamente la media e la dispersione di misurazioni ripetute su alcuni segmenti e secondo diversi decubiti. Per tale scopo abbiamo ritenuto l'approccio HGLM (Hierarchical Generalized Linear Models) di Lee, Nelder e Pawitan [17] uno dei più adeguati. Una valida alternativa sono i modelli GAMLSS (Generalised Additive Models for Location Scale and Shape) dove, oltre alla media ed alla dispersione, è possibile modellare anche l'asimmetria e la curtosi. E' stata scartata l'ipotesi della regressione quantile per misure ripetute poiché non fornisce indicazioni sul comportamento della dispersione in funzione di predittori così come fanno i modelli HGLM.

Lee, Nelder e Pawitan [17] hanno proposto una classe di modelli lineari generalizzati gerarchici (HGLM) in cui gli effetti casuali possono essere specificati sia per la media che per la dispersione. L'eterogeneità tra cluster può essere modellata quindi introducendo degli effetti casuali nel modello della dispersione, come l'eterogeneità tra cluster nel modello della media. Questa classe di modelli, in particolare, fornisce stime robuste in presenza di valori outlier e l'introduzione della verosimiglianza gerarchica (*h-likelihood*) costituisce un contesto unificato dove, con un'unica funzione obiettivo, vengono adattate tutte le componenti costituenti la classe stessa degli HGLM.

La struttura dei modelli HGLM è costituita quindi da due componenti. La prima è l'estensione della classe dei modelli lineari generalizzati (GLM) con in aggiunta la modellazione congiunta della media e dispersione ed uno o più effetti

casuali nei predittori lineari. La seconda è l'uso della h-likelihood che, giocando un ruolo chiave, permette di fare inferenza con questi modelli. L'algoritmo è numericamente efficiente e fornisce inferenze statisticamente valide [17].

2.1 La quasi-verosimiglianza estesa

Nella teoria originale della quasi-verosimiglianza di Wedderburn [33] si assume che il parametro di dispersione ϕ sia noto, di modo che la sua quasi-distribuzione appartenga ad una famiglia esponenziale ad un parametro. Se si pone ϕ uguale ad uno la quasi-verosimiglianza diviene una vera verosimiglianza se e solo se la risposta y_i proviene da una famiglia esponenziale ad un parametro (famiglia GLM con $\phi = 1$) con log-densità:

$$q(\mu; y) = \theta y - b(\theta) + c(y) \quad (2.1)$$

In pratica tuttavia il parametro di dispersione è raramente noto, eccetto che per i modelli quali il binomiale o il Poisson per i quali si assume $\phi = 1$. Quindi, l'approccio classico della quasi-verosimiglianza non permette la stima di ϕ dalla quasi-verosimiglianza. Ciò perché, in generale, la quasi distribuzione implicita nella quasi-verosimiglianza ha log-densità:

$$\log f(y_i; \mu_i, \phi) = \frac{y_i \theta_i - b(\theta_i)}{\phi} + c(y_i, \phi) \quad (2.2)$$

e contiene una funzione $c(y_i, \phi)$ che è esplicitabile solo in casi speciali quali la distribuzione normale, inversa-normale e la gamma. Jorgensen [28] chiamò questa famiglia di GLM la famiglia di dispersione esponenziale. Quando $c(y_i, \phi)$ non è disponibile esplicitamente si ricorre a delle approssimazioni per pervenire a stime di ϕ basate sulla verosimiglianza.

Tuttavia se si vuole utilizzare direttamente la famiglia GLM (2.2) la stima di ϕ richiede una $c(y_i, \phi)$ esplicita. Nelder e Pregibon [24] definiscono così la quasi-verosimiglianza estesa (*EQL - extended quasi-likelihood*) che supera questo problema. Il contributo di y_i alla EQL è:

$$Q_i(\mu_i, \phi; y_i) = -\frac{1}{2} \log(\phi V(y_i)) - \frac{1}{2\phi} d(y_i, \mu_i)$$

ed il totale è $q^+ = \sum_i Q_i$ dove $d(y_i, \mu_i)$ è la funzione di devianza definita da:

$$d_i \equiv d(y_i, \mu_i) = 2 \int_{\mu_i}^{y_i} \frac{y_i - u}{V(u)} du.$$

In effetti, l'EQL tratta la statistica della devianza come una variabile con distribuzione $\phi\chi_1^2$, ovvero un errore gamma con media ϕ e varianza $2\phi^2$. Questo è equivalente ad assumere che i residui di devianza:

$$r_{d_i} \equiv \text{sign}(y_i - \mu_i) \sqrt{d_i}$$

siano distribuiti normalmente. Per la famiglia esponenziale ad un parametro (2.1) è stato dimostrato che i residui di devianza sono la migliore trasformazione normale [25]. Così ci aspettiamo che l'EQL funzioni la famiglia dei GLM. L'approccio EQL permette quindi un GLM per il parametro di dispersione usando la devianza come *dati*. Si osservi che l'EQL è funzione sia del parametro della media che del parametro della varianza. Più genericamente l'EQL forma le basi per la modellazione congiunta dei parametri strutturati della media e della dispersione, entrambi dentro l'ambiente GLM. Ovvero le equazioni per le stime del parametro di dispersione ottenute dalla EQL sono le stesse di quelle che si ottengono assumendo che i d_i hanno una distribuzione $\phi\chi_1^2$ [22].

2.2 Modellazione congiunta GLM della media e della dispersione

Supponiamo dunque di avere due modelli interconnessi, uno per la media ed uno per la dispersione basati rispettivamente sulle osservazioni y e sulle devianze d :

$$\begin{aligned} E(y_i) &= \mu_i, & \eta_i &= g(\mu_i) = x_i^t \beta, & \text{var}(y_i) &= \phi_i V(\mu_i) \\ E(d_i) &= \phi_i, & \xi_i &= h(\phi_i) = g_i^t \gamma, & \text{var}(d_i) &= 2\phi_i^2 \end{aligned} \quad (2.3)$$

dove g_i è la matrice del modello della dispersione, il quale è un GLM con una funzione di varianza gamma. Adesso i parametri di dispersione non sono più costanti, ma possono variare con i parametri della media. Un'implicazione chiave, adesso, è che per stimare i parametri di regressione i valori di dispersione sono necessari nell'algoritmo di stima IWLS e hanno un effetto diretto sulle stime dei parametri di regressione.

La quasi verosimiglianza estesa EQL q^+ porta così ad un algoritmo di adattamento che può essere calcolato iterativamente usando due IWLS interconnessi:

1. Date le stime $\hat{\gamma}$ e le stime delle dispersioni $\hat{\phi}_i$ si usa l'IWLS per aggiornare le stime $\hat{\beta}$ del modello della media;
2. Date le stime $\hat{\beta}$ e le stime $\hat{\mu}_i$ si usa l'IWLS per aggiornare le stime $\hat{\gamma}$ con le devianze come *dati*;
3. Si iterano i punti 1-2 fino alla convergenza.

Componenti	β (fisso)	γ (fisso)
Risposta	y	d^*
Media	μ	ϕ
Varianza	$\phi V(\mu)$	$2 \phi^2$
Link	$\eta = g(\mu)$	$\xi = h(\phi)$
Pred. Lin.	$X\beta$	$G\gamma$
Comp. Dev.	d	gamma(d^*, ϕ)
Peso a priori	$1/\phi$	$(1 - q)/2$

Tabella 2.1: attributi GLM per GLM congiunti

$$d_i = 2 \int_{\hat{\mu}_i}^y (y - s)/V(s) ds,$$

$$d^* = d/(1 - q),$$

$$\text{gamma}(d^*, \phi) = 2\{-\log(d^*/\phi) + (d^* - \phi)/\phi\},$$

Le componenti di devianza d^* del modello GLM della media diventano le risposte per il modello GLM della dispersione. Quindi i reciproci dei valori stimati dal modello GLM della dispersione forniscono i pesi a priori per la successiva iterazione per il GLM della media. Il modello GLM della media è specificato così da una variabile risposta y , una funzione di varianza $V()$, una funzione legame $g()$, un predittore lineare $X\beta$ ed un peso a priori ϕ . Come punto di partenza possiamo usare i $\phi_i \equiv \phi$, in modo tale che non si necessita di nessun valore di ϕ . Una volta calcolate le devianze osservate $d_i = d(y_i, \hat{\mu}_i)$ usando le medie stimate, si passa al modello della dispersione. Il modello GLM della dispersione è caratterizzato da una risposta d , da un errore gamma, una funzione link $h()$, un predittore lineare $G\gamma$ e da un peso a priori $(1 - q)/2$. Ottenuta la convergenza possiamo calcolare gli errori standard di $\hat{\beta}$ e $\hat{\gamma}$. Le componenti di devianza d^* divengono le risposte per il GLM della dispersione. Allora il reciproco dei valori stimati dal modello GLM della dispersione fornisce

dei pesi a priori per la successiva iterazione per il GLM della media (Tabella 2.1). Se in tale schema $q = 0$ questo schema fornisce la procedura EQL, mentre se q sono le leve GLM lo schema fornisce la procedura REML [14].

2.3 Estensione a più fonti di errore: gli effetti casuali

La teoria discussa fino ad ora è stata definita per dei parametri fissi. Di seguito introduciamo la classe dei modelli lineari generalizzati gerarchici HGLM. Tali modelli estendono i GLM a dei modelli con più di una fonte di errore. Si osservi che i modelli lineari generalizzati misti GLMM sono un caso particolare di tali modelli. Per i modelli HGLM l'aggiunta di fattori casuali non implica più il vincolo della loro distribuzione normale. Inoltre permettono la modellazione della dispersione del termine di errore. L'algoritmo è efficiente e non richiede integrazioni numeriche [17].

2.3.1 La verosimiglianza estesa

Introduciamo così il concetto di verosimiglianza estesa e di un suo caso particolare, la *h-likelihood*, per inferire su variabili casuali in modelli più generali rispetto a quelli fin qui illustrati. Bjørnstad [5] introdusse il principio di verosimiglianza estesa, dimostrando che una particolare definizione di verosimiglianza generale contiene in se tutte le evidenze sia sui parametri fissi che casuali. Lee e Nelder [13] usarono questa particolare forma di verosimiglianza come base per definire la *h-likelihood* e fare inferenza nei modelli GLM gerarchici.

Questa verosimiglianza deve trattare con tre tipi di oggetti: i parametri incogniti θ , delle quantità casuali non osservabili v ed i dati osservati y . Intendendo con $f_\theta(\cdot)$ la funzione di densità di probabilità di una variabile casuale con parametri fissi θ é:

$$f_\theta(y, v) = f_\theta(v)f_\theta(y|v)$$

Per fare inferenza sui parametri, date le osservazioni y , possiamo utilizzare la verosimiglianza marginale $L(\theta; y)$ e successivamente, dato θ possiamo fare inferenza su v usando la verosimiglianza condizionata della forma:

$$L(\theta, v; v|y) \equiv f_\theta(v|y)$$

La verosimiglianza estesa dei parametri incogniti (θ, v) è definita quindi come:

$$L(\theta, v; y, v) \equiv L(\theta; y)L(\theta, v; v|y)$$

2.3.2 Inferenza sui parametri fissi

Indicando con $l_e()$ la log verosimiglianza estesa, per quanto visto precedentemente possiamo scrivere:

$$l_e(\theta, v) = l(\theta) + \log f_\theta(v|y).$$

L'uso della verosimiglianza $l(\theta)$ per il parametro fisso è l'approccio della verosimiglianza classica. La distribuzione marginale è ottenuta integrando per v , ovvero:

$$L(\theta; y) \equiv f_\theta(y) = \int f_\theta(v, y)dv = \int L(\theta, v; v|y)dv.$$

per modelli non normali tuttavia si ricorre alla approssimazione di Laplace ottenendo:

$$l(\theta) \approx p_v(l_e) = [l_e - \frac{1}{2} \log \det\{D(l_e, v)/(2\pi)\}]|_{v=\hat{v}_\theta} \quad (2.4)$$

dove $D(l_e, v)/(2\pi) = -\partial^2 l_e / \partial v^2$ e $\hat{v}_\theta = \hat{v}(\theta)$ risolvono $\partial l_e / \partial v = 0$ per θ fissato. Questa approssimazione è una log-verosimiglianza profilo aggiustata, che può essere usata per inferenza statistica.

2.3.3 Inferenza sui parametri casuali

Quando θ è incognito la verosimiglianza estesa non dà indicazioni su come fare inferenza su v . Un modo ovvio di procedere è, una volta stimato θ tramite $L(\theta; y)$, di procedere con la massimizzazione di:

$$L(\hat{\theta}, v; v|y) = f_{\hat{\theta}}(v|y) \quad (2.5)$$

Poiché $f_\theta(v|y)$ sembra una densità a posteriori bayesiana è possibile allora fare inferenza su v proprio attraverso la (2.5) usando il metodo empirico Bayesiano (EB). Siccome v ha una distribuzione oggettiva (ad esempio valutabile dai dati), la similarità con l'approccio bayesiano è matematico e non filosofico. La stima così ottenuta di v può chiamarsi stima di massima verosimiglianza di v a posteriori (MAP). Tale metodo è anche denominata verosimiglianza penalizzata [19].

In alternativa per avere una statistica sufficiente per v , rimuovendo il parametro di disturbo θ , possiamo derivare un'approssimazione della verosimiglianza condizionata usando un'appropriata verosimiglianza profilo aggiustata [5]:

$$p_\theta(l_e|v) = l_e(\hat{\theta}_v, v) - \frac{1}{2} \log |I(\hat{\theta}_v)|$$

dove $\hat{\theta}_v$ e $I(\hat{\theta}_v)$ sono le stime di massima verosimiglianza MLE e la informazione osservata di Fisher di θ per v fissato. Uno dei vantaggi significativi dell'approccio della massima verosimiglianza di v attraverso la verosimiglianza $L(\theta, v; v|y)$ per θ fissato è che tale approccio è equivalente a massimizzare la verosimiglianza estesa $L(\theta, v; y, v)$. Inoltre la densità di $v|y$ è disponibile in forma esplicita solo per le distribuzioni definite *coniugate* per y .

In sintesi, un'opzione sicura per l'uso della verosimiglianza estesa è procedere nel seguente modo:

- Per l'inferenza circa i parametri fissi si usa l'approccio della verosimiglianza classica basata sulla verosimiglianza marginale $L(\theta; y)$
- Dati i parametri fissi (le stime), si procede con l'uso della verosimiglianza estesa per la stima dei parametri casuali.

Inoltre la stima dei parametri casuali dipende dalla scala usata nella definizione della verosimiglianza estesa.

2.3.4 Scala canonica, h-likelihood e inferenza congiunta

Per certe classi generali di modelli possiamo sfruttare la verosimiglianza estesa per effettuare inferenza congiuntamente sui parametri fissi ed i parametri casuali. La condizione essenziale per cui tale inferenza può essere fatta congiuntamente è il principio di invarianza. Data una coppia arbitraria di parametri fissi θ_1 e θ_2 , si ha il rapporto di verosimiglianza:

$$\frac{L(\theta_1; y)}{L(\theta_2; y)}$$

Supponiamo che esista una scala v tale che il rapporto di verosimiglianza sia preservato nel seguente modo:

$$\frac{L(\theta_1, \hat{v}_{\theta_1}; y, v)}{L(\theta_2, \hat{v}_{\theta_2}; y, v)} = \frac{L(\theta_1; y)}{L(\theta_2; y)}$$

dove \hat{v}_{θ_1} e \hat{v}_{θ_2} sono le stime di massima verosimiglianza di v per θ in θ_1 e θ_2 , così che \hat{v}_{θ_i} è non influente in merito all'informazione di θ , ovvero non aggiunge informazione circa θ . Possiamo chiamare questa scala v la *scala canonica* del parametro casuale. Per tanto se il parametro v in $L(\theta, v; y, v)$ è canonico chiamiamo questa verosimiglianza estesa una *h-likelihood* $H(\theta, v)$ ed indichiamo con $h(\theta, v)$ la relativa log verosimiglianza *h-loglikelihood*.

Tale verosimiglianza può essere trattata come una verosimiglianza ordinaria dove, per esempio, possiamo derivare e calcolare l'informazione di Fisher per entrambi i parametri (θ, v) . Solo nel caso della h-likelihood è possibile effettuare stime congiunte di (θ, v) utilizzando l'approccio ordinario della verosimiglianza. Dalla (2.4) la log verosimiglianza marginale $L(\theta, \phi; y)$ è data approssimativamente dalla verosimiglianza profilo aggiustata:

$$p_v(h) = [h - \frac{1}{2} \log \det \{D(h, v)/(2\pi)\}]|_{v=\hat{v}}$$

In questo caso $D(h, v)$ è funzione di ϕ ma non di θ .

Come estensione, supponiamo di avere due sotto insiemi di parametri fissi (θ, ϕ) . In questo caso la scala v è informativamente neutra per θ ma non per ϕ così che l'inferenza congiunta usando la h-likelihood è possibile solo per (θ, v) e ϕ richiede una verosimiglianza marginale. Tale verosimiglianze, attraverso l'approssimazione di Laplace è data dalla verosimiglianza profilo aggiustata:

$$p_{\theta, v}(h) = [h - \frac{1}{2} \log \det \{D[h, (\theta, v)]/(2\pi)\}]|_{\theta=\hat{\theta}, v=\hat{v}}$$

Esistono diversi modelli che non hanno una scala canonica. Mantenere dunque l'invarianza della inferenze dalla massimizzazione congiunta della verosimiglianza estesa porta così alla definizione della scala dei parametri casuali per la h-likelihood. Tale definizione, definita scala *weak* e presentata successivamente, copre un'ampia classe di modelli GLM.

2.3.5 I modelli lineari misti

Vediamo adesso come la verosimiglianza estesa possa essere utilizzata nel caso del modello lineare misto, un caso particolare di glm con componente mista. I modelli lineari normali misti sono un'estensione dei modelli lineari normali con l'aggiunta di componenti casuali:

$$y = X\beta + Zv + e \quad (2.6)$$

con $y \sim MVN(X\beta, V)$ dove $e \sim MNV(0, \Sigma)$ e l'effetto casuale del modello $v \sim MNV(0, D)$, dove e e v sono indipendenti. Qui consideriamo le matrici di varianza $\Sigma = \sigma_e^2 I$ e $D = \sigma_v^2 I$, parametrizzate da un parametro a componenti di varianza $\tau = (\sigma_e^2, \sigma_v^2)$, quindi $V = \sigma_e^2 I + \sigma_v^2 I$.

L'equazione (2.6) può essere scritta equivalentemente condizionando y a v con media:

$$E(y|v) = X\beta + Zv$$

e varianza Σ , con v normale con media zero e varianza D . Consideriamo adesso la verosimiglianza estesa di tutti i parametri incogniti:

$$\begin{aligned} l_e(\beta, \tau, v) &= \log f(y, v) = \log f(y|v) + \log f(v) \\ &= -\frac{1}{2} \log |2\pi\Sigma| - \frac{1}{2} (y - X\beta - Zv)^t \Sigma^{-1} (y - X\beta - Zv) \\ &\quad - \frac{1}{2} \log |2\pi D| - \frac{1}{2} v^t D^{-1} v \end{aligned} \quad (2.7)$$

dove il parametro di dispersione τ entra attraverso le matrici Σ e D . Per usare la h-likelihood dobbiamo come prima cosa stabilire la scala canonica per gli effetti casuali. Dati i parametri fissi, massimizzando la verosimiglianza estesa rispetto a v otteniamo:

$$\hat{v} = (Z^t \Sigma^{-1} Z + D^{-1})^{-1} Z^t \Sigma^{-1} (y - X\beta)$$

e dalla derivata seconda di l_e rispetto a v otteniamo l'informazione di Fisher:

$$I(\hat{v}) = (Z^t \Sigma^{-1} Z + D^{-1})$$

Poichè l'informazione di Fisher dipende dal parametro di dispersione τ e non da β , la scala v non è canonica per τ ma lo può essere per β . Questo significa che la verosimiglianza estesa è una h-likelihood e permette di fare inferenze congiunte circa β e v ma la stima di τ richiede una verosimiglianza marginale. In particolare le stime di β e v sono date:

$$\frac{\partial h}{\partial \beta} = 0, \quad \frac{\partial h}{\partial v} = 0$$

mentre le componenti di dispersione sono date dalla verosimiglianza profilo aggiustata:

$$h_p = (h + \frac{1}{2} \log |2\pi H^{-1}|)_{\beta=\hat{\beta}, v=\hat{v}}$$

dove H è la matrice Hessiana della h-likelihood. In sintesi le stime dei parametri possono essere così riassunte:

- tutte le inferenze, incluse quelle per gli effetti causali, sono generate dentro la verosimiglianza estesa,
- è possibile effettuare la stima congiunta di β e v poiché v è canonica per β ,
- la stima del parametro di dispersione richiede una verosimiglianza profilo aggiustata.

E' interessante notare come la stima congiunta di β e v può essere derivata anche attraverso un modello lineare classico dove β e v appaiono come parametri fissi [17]. Consideriamo pertanto il modello lineare *augmented* definito nel modo seguente:

$$y_a = T\delta + e_a$$

con

$$y_a \equiv \begin{pmatrix} y \\ \psi_M \end{pmatrix}, T \equiv \begin{pmatrix} X & Z \\ 0 & I \end{pmatrix}, \delta \equiv \begin{pmatrix} \beta \\ v \end{pmatrix}$$

dove il termine d'errore e_a :

$$e_a = \begin{pmatrix} e \\ e_M \end{pmatrix}, \Sigma_a \equiv \begin{pmatrix} \Sigma & 0 \\ 0 & D \end{pmatrix}$$

I quasi dati augmented $\psi_M = 0$ sono assunti normali con media $E\psi = 0$, varianza D ed indipendenti da y . Il pedice M indica il modello per la media. Qui le componenti di devianza corrispondenti ad e sono il quadrato dei residui:

$$d_i = (y_i - X_i\hat{\beta} - Z_i\hat{v})^2$$

e quelli corrispondenti a e_M sono:

$$d_{Mi} = (\psi_M - \hat{v}_i)^2 = \hat{v}_i^2$$

L'approccio della h-likelihood fornisce un algoritmo intuitivo di adattamento, particolarmente per la stima dei parametri di dispersione. Il caso normale è qui esposto come prototipo generale dei casi trattati successivamente ed in questo caso le verosimiglianze $p_v(h)$ e $p_{\beta,v}(h)$ sono esatte e non delle approssimazioni:

$$p_v(h) = -\frac{1}{2}\log|2\pi V| - \frac{1}{2}(y - X\hat{\beta}_\tau)^t V^{-1}(y - X\hat{\beta}_\tau)$$

$$p_{\beta,v}(h) = l_M|_{\beta=\hat{\beta}_\tau} - \frac{1}{2}\log\left|\frac{X^t V^{-1} X}{2\pi}\right|$$

La stima dei parametri (β, τ, v) nel modello lineare misto può essere fatto attraverso l'IWLS per il modello lineare augmented come segue. Consideriamo un modello lineare classico augmented come precedentemente esposto:

$$y_a = T\delta + e_a$$

1. Si parte con una stima del parametro di varianza τ .
2. Data la stima corrente di τ aggiornare $\hat{\delta}$ risolvendo le equazioni generalizzate dei minimi quadrati

$$T^t \Sigma_a^{-1} T \hat{\delta} = T^t \Sigma_a^{-1} y_a$$

Componenti	β (fisso)	σ^2 (fisso)
Risposta	y	d^*
Media	μ	σ^2
Varianza	σ^2	$2(\sigma^2)^2$
Link	$\eta = \mu$	$\xi = h(\sigma^2)$
Pred. Lin.	$X\beta + Zv$	γ
Comp. Dev.	d	gamma(d^*, σ^2)
Peso a priori	$1/\sigma^2$	$(1 - q)/2$
Componenti	v (casuale)	σ_v^2 (fisso)
Risposta	ψ_M	d_M^*
Media	u	σ_v^2
Varianza	σ_v^2	$2(\sigma_v^2)^2$
Link	$\eta_M = g_M(u)$	$\xi_M = h_M(\sigma_v^2)$
Pred. Lin.	v	γ_m
Comp. Dev.	d_M	gamma(d_M^*, σ_v^2)
Peso a priori	$1/\sigma_v^2$	$(1 - q_M)/2$

Tabella 2.2: GLM interconnessi per la stima dei parametri nei modelli lineari misti

$$d_i = (y_i - X_i\hat{\beta} - Z_i\hat{v})^2,$$

$$d_{Mi} = \hat{v}_i^2,$$

$$\text{gamma}(d^*, \phi) = 2\{-\log(d^*/\phi) + (d^* - \phi)/\phi\},$$

(q, q_M) sono le leve date dagli elementi della diagonale di

$$T(T^t\Sigma_a^{-1}T)^{-1}T^t\Sigma_a^{-1}$$

3. Data la stima corrente di $\hat{\delta}$ si procede ad un aggiornamento di τ . Lo stimatore di σ^2 è ottenuto dal GLM, caratterizzato da una risposta $d^* = d/(1 - q)$, un errore gamma, una funzione link $h()$, un predittore lineare γ , modello a sola intercetta, e pesi a priori $(1 - q)/2$. Lo stimatore di σ_v^2 è ottenuto dal GLM, caratterizzato da una risposta $d_M^* = d_M/(1 - q_M)$, un errore gamma, una funzione link $h_M()$, un predittore lineare γ_M modello a sola intercetta e pesi a priori $(1 - q_M)/2$. Si noti che

$$E(d_i^*) = \sigma^2, \quad \text{var}(d_i^*) = 2\sigma^2/(1 - q_i)$$

$$E(d_{Mi}^*) = \sigma_v^2, \quad \text{var}(d_{Mi}^*) = 2\sigma_v^2/(1 - q_{Mi})$$

4. Iterare i punti 2 e 3 finché converge. A convergenza gli errori standard di $\hat{\beta}$ e $\hat{v} - v$ possono essere calcolati dall'inversa della matrice di informazione H^{-1} dalla h-likelihood e gli errori standard di $\hat{\tau}$ sono calcolati dalla Hessiana di $p_{\beta,v}(h|\tau)$ per $\hat{\tau}$.

2.4 I modelli GLM Gerarchici HGLM

Un'estensione interessante dei GLM è quella presentata da Lee e Nelder [13] in cui le distribuzioni delle componenti casuali dei modelli GLMM sono estesi a coniugate di distribuzioni arbitrarie dalla famiglia GLM. Lee e Nelder definiscono dunque i modelli HGLM come segue.

Condizionatamente ad un effetto casuale u , la variabile risposta y segue una famiglia GLM soddisfacendo:

$$E(y|u) = \mu, \quad var(y|u) = \phi V(\mu)$$

per le quali il nucleo della verosimiglianza è data:

$$\sum \{y\theta - b(\theta)\} / \phi$$

dove $\theta = \theta(\mu)$ è il parametro canonico. Il predittore lineare prende la forma:

$$\eta = g(\mu) = X\beta + Zv$$

dove $v = v(u)$, per qualche funzione $v(\cdot)$, sono gli effetti casuali e β sono gli effetti fissi.

La componente casuale u segue una distribuzione coniugata ad una famiglia GLM di distribuzioni con parametro λ . Per effettuare inferenza da un modello HGLM possiamo sfruttare la h-likelihood dove in questo caso la condizione di invarianza viene rispettata attraverso la condizione di scala canonica dell'effetto casuale, ovvero quando su una particolare scala $v(u)$ gli effetti casuali si combinano additivamente con gli effetti fissi β nel predittore lineare. In questo caso si parla di scala canonica debole *weak*.

Un aspetto chiave degli HGLM è la specificazione flessibile della distribuzione degli effetti casuali u poiché la scelta è simile a scegliere un modello GLM [19] e la famiglia così definita è indicizzata da un singolo parametro. Questo poiché si ha il vincolo $E(u) = 0$. Anche in questo caso Lee e Nelder [15] [17] propongono l'uso di $p_v(h)$ come approssimazione di l e $p_{\beta,v}(h)$ come approssimazione

di $\log f_{\phi, \lambda}(y|\beta)$. $p_{\beta, v}(h)$ fornisce degli stimatori approssimati di massima verosimiglianza per i parametri di posizione mentre $p_v(h)$ fornisce degli stimatori approssimati di massima verosimiglianza per i parametri di dispersione.

2.4.1 Modelli HGLM con dispersione strutturata

La letteratura statistica è stata spesso trascurata in merito alla modellazione della varianza, se comparata con quella incentrata sulla media. Inoltre, in alcuni contesti la varianza può essere importante tanto quanto la media. Per trovare un modo di descrivere i fattori che influenzano la varianza abbiamo bisogno di un modello di regressione proprio per la varianza.

Con questi modelli si introduce un elemento innovativo, ovvero la modellazione della variabilità in modo da individuare le “fonti della variabilità” della variabilità. Nel nostro caso tale modello è estremamente importante perchè individuare e misurare i predittori della variabilità della variabilità può essere utile per fare diagnosi.

Per descrivere il modello nella sua generalità consideriamo un HGLM formato da due componenti. Condizionatamente all'effetto casuale u la risposta y segue una famiglia GLM caratterizzata da $E(y|u) = \mu$ e $var(y|u) = \phi V(\mu)$ con predittore lineare $\eta = g(\mu) = X\beta + Zv$, dove $v = v(u)$ per qualche funzione strettamente monotona $v(\cdot)$. La componente casuale u segue la distribuzione coniugata di qualche famiglia GLM, la cui verosimiglianza è caratterizzata dalle quasi relazioni $E(\psi_M) = u$ e $var(\psi_M) = \lambda V_M(u)$, dove λ è il parametro di dispersione del parametro casuale u e ψ_M i quasi dati per come descritto in precedenza. Si consente quindi di strutturare la dispersione tale che (ϕ, λ) seguano i modelli:

$$\begin{aligned}\xi &= h(\phi) = G\gamma \\ \xi_M &= h_M(\lambda) = G_M\gamma_M\end{aligned}$$

dove $h(\cdot)$ e $h_M(\cdot)$ sono le funzioni link e γ e γ_M sono gli effetti fissi per ϕ e λ rispettivamente (Tabella 2.3).

2.4.2 I modelli HGLM doppi

I modelli HGLM possono essere ulteriormente estesi considerando parametri casuali addizionali nelle varie sue componenti. Lee e Nelder [17] introducono una classe di HGLM doppi (DHGLM) in cui i parametri casuali possono essere specificati sia nelle componenti della media che della varianza. L'eteroschedasticità

Componenti	β (fisso)	γ (fisso)
Risposta	y	d^*
Media	μ	ϕ
Varianza	$\phi V(\mu)$	$2\phi^2$
Link	$\eta = g(\mu)$	$\xi = h(\phi)$
Pred. Lin.	$X\beta + Zv$	$G\gamma$
Comp. Dev.	d	$\text{gamma}(d^*, \phi)$
Peso a priori	$1/\phi$	$(1 - q)/2$
Componenti	u (casuale)	γ (fisso)
Risposta	ψ_M	d_M^*
Media	u	λ
Varianza	$\lambda V_M(u)$	$2\lambda^2$
Link	$\eta_M = g_M(u)$	$\xi_M = h_M(\lambda)$
Pred. Lin.	v	$G_M\gamma_M$
Comp. Dev.	d_M	$\text{gamma}(d_M^*, \lambda)$
Peso a priori	$1/\lambda$	$(1 - q_M)/2$

Tabella 2.3: attributi GLM per i HGLMSD

tra i cluster può essere modellata introducendo degli effetti casuali nel modello della dispersione come per la media. Supponiamo così che condizionatamente alla coppia dei parametri casuali (a, u) la risposta y soddisfi:

$$E(y|a, u) = \mu \quad e \quad \text{var}(y|a, u) = \phi V(\mu)$$

con ϕ il parametro di dispersione e $V(\cdot)$ è la funzione di varianza. L'estensione chiave è introdurre degli effetti casuali dentro la componente ϕ .

(i) Dato u , il predittore lineare per μ prende la forma HGML:

$$\eta = g(\mu) = X\beta + Zv$$

dove $g(\cdot)$ è la funzione link, X e Z sono le matrici del modello, $v = g_M(u)$, per qualche funzione monotona $g_M(\cdot)$, sono gli effetti casuali e β sono gli effetti fissi. I parametri di dispersione λ per u hanno la forma GLM:

$$\xi_M = h_M(\lambda) = G_M\gamma_M$$

con $h_M()$ la funzione link, G_M la matrice del modello e γ_M gli effetti fissi.

(ii) Dato a , il predittore lineare per ϕ prende la forma HGML:

$$\xi = h(\phi) = G\gamma + Fb$$

dove $h()$ è la funzione link, G e F sono le matrici del modello, $b = g_D(a)$, per qualche funzione monotona $g_D()$, sono gli effetti casuali e γ sono gli effetti fissi. I parametri di dispersione α per a hanno la forma GLM:

$$\xi_D = h_D(\alpha) = G_D\gamma_D$$

con $h_D()$ la funzione link, G_D la matrice del modello e γ_D gli effetti fissi. Il numero dei GLM gamma eguaglia il numero delle componenti casuali dei modelli HGLM (tabella 2.4). Per fare inferenza dai modelli DHGLM Lee e Nelder [17] [19] propongono l'uso della h-likelihood nella forma:

$$h = \log f(y|v, b; \beta, \phi) + \log f(v; \lambda) + \log f(b; \alpha)$$

dove $f(y|v, b; \beta\phi)$, $f(v; \lambda)$ e $f(b; \alpha)$ denotano rispettivamente le funzioni di densità condizionate di y dato (v, b) e quelle per v e b . Nel formare tale h-likelihood si usano le scale di (v, b) tali per cui gli effetti casuali si aggiungano linearmente nella scala del predittore lineare, per come già visto nei modelli HGLM. La verosimiglianza marginale $L_{v,\beta}$ può essere ottenuta dalla h attraverso l'integrazione:

$$L_{v,\beta} = \log \int \exp(h) dv db = \log \int \exp L_v db = \log \int \exp L_b dv$$

dove $L_v = \log \int \exp(h) dv$ e $L_b = \log \int \exp(h) db$. La verosimiglianza marginale $L_{v,b}$ fornisce inferenze legittime dei parametri fissi ma per inferenze generali non è sufficiente perché è non informativa circa i parametri casuali inosservati (v, b) .

Come criteri per le stime dei DHGLM Lee e Nelder [17] propongono di usare h per (β, v) , $p_\beta(L_v)$ per (b, γ, γ_M) e $p_{\beta,\gamma}(L_{b,v})$ per γ_D . Tuttavia, poiché L_v e $L_{b,v}$ richiedono spesso integrazioni intrattabili, vengono usate delle approssimazioni come proposto da Lee e Nelder [17] (tabella 2.5). Il procedimento di stima di un modello DHGML si basa sempre sull'IWLS dei dati augmented seguendo la logica illustrata già per i modelli HGLM. Per ulteriori dettagli si veda Lee e Nelder [17] e Lee, Nelder e Pawitan [19].

Per saggiare la significatività delle varie componenti di un HGLM Lee e Nelder [17] propongono tre devianze basate su $f_\theta(y, v)$, $f_\theta(y)$ e $f_\theta(y|\hat{\beta})$. Per saggiare

gli effetti casuali essi proposero l'uso della devianza $-2h$, per gli effetti fissi $-2l$ e per i parametri di dispersione $-2\log f_{\theta}(y|\hat{\beta})$. Quando l è numericamente difficile da ottenere essi suggeriscono l'uso di $p_v(h)$ e $p_{\beta,v}(h)$ come approssimazioni di l e $\log f_{\theta}(y|\hat{\beta})$. Per la bontà di adattamento essi propongono l'uso della devianza scalata mentre per la selezione del modello propongono la DIC, ovvero il criterio di informazione basato sulla devianza, poiché il criterio di informazione non può essere basato su modelli che contengono parametri casuali.

	Aug. GLM	GLM	Aug. GLM	GLM
Componenti	β (fisso)		γ (fisso)	
Risposta	y		d^*	
Media	μ		ϕ	
Varianza	$\phi V(\mu)$		$2\phi^2$	
Link	$\eta = g(\mu)$		$\xi = h(\phi)$	
Pred. Lin.	$X\beta + Zv$		$G\gamma + Fb$	
Comp. Dev.	d		$\text{gamma}(d^*, \phi)$	
Peso a priori	$1/\phi$		$(1 - q)/2$	
Componenti	u (casuale)	γ (fisso)	a (casuale)	α (fisso)
Risposta	ψ_M	d_M^*	ψ_D	d_D^*
Media	u	λ	a	α
Varianza	$\lambda V_M(u)$	$2\lambda^2$	$\alpha V_D(a)$	$2\alpha^2$
Link	$\eta_M = g_M(u)$	$\xi_M = h_M(\lambda)$	$\eta_D = g_D(a)$	$\xi_D = h_D(\alpha)$
Pred. Lin.	v	$G_M\gamma_M$	b	$G_D\gamma_D$
Comp. Dev.	d_M	$\text{gamma}(d_M^*, \lambda)$	d_D	$\text{gamma}(d_D^*, \alpha)$
Peso a priori	$1/\lambda$	$(1 - q_M)/2$	$1/\alpha$	$(1 - q_D)/2$

Tabella 2.4: attributi GLM per i DHGLM

$$d_i = 2 \int_{\mu_i}^y (y - s)/V(s) ds,$$

$$d_{Mi} = 2 \int_{u_i}^{\psi_M} (\psi_M - s)/V_M(s) ds,$$

$$d_{Di} = 2 \int_{a_i}^{\psi_D} (\psi_D - s)/V_D(s) ds,$$

$$d^* = d/(1 - q_0),$$

$$d_M^* = d_M/(1 - q_M),$$

$$d_D^* = d_D/(1 - q_D),$$

$$\text{gamma}(d^*, \phi) = 2\{-\log(d^*/\phi) + (d^* - \phi)/\phi\},$$

(q, q_m, q_D) sono le leve per come descritto nei modelli HGLM.

Critero	Argomenti	Stimati	Eliminati	Approssimazione
h	$v, \beta, b, \gamma, \gamma_M, \gamma_D$	v, β	nessuno	h
$p_\beta(L_v)$	$b, \gamma, \gamma_M, \gamma_D$	b, γ, γ_M	v, β	$p_{v,\beta}(h)$
$p_{\beta,\gamma}(L_{b,v})$	γ_D	γ_D	v, β, b, γ	$p_{v,\beta,b,\gamma}(h)$

Tabella 2.5: Schema delle stime nei DHGLM

Capitolo 3

Il piano della ricerca

3.1 Oggetto della ricerca

I 116 pazienti oggetto di studio del presente lavoro sono soggetti affetti da fibrosi di diverso grado Metavir F1-F4 con HCV correlata. In questi pazienti la fonte che determina il processo infiammatorio del fegato (e quindi la fibrosi) è la presenza del virus dell'epatite C.

Questi soggetti sono stati arruolati in modo consecutivo e non randomizzato presso il centro Ultrasuoni di Catania da luglio 2012 a luglio 2013 e sono stati studiati attraverso ecografia epatica ARFI nell'ambito di una rivalutazione nel corso di malattia epatica HCV correlata con processo di fibrosi già nota.

Tutti i pazienti avevano eseguito nel corso dell'ultima precedente settimana i dosaggi di ALT, AST, Bilirubina Totale, Protidogramma, confermando di fatto un processo di infiammazione epatica. Tuttavia non è stato possibile reperire queste preziose informazioni per la gran parte di essi.

Per ogni paziente è stato osservato un singolo segmento epatico. Al fine di studiare la velocità elastometrica a secondo del piano di osservazione le misurazioni ripetute sono state effettuate su tre posizioni differenti: decubito laterale, decubito prono e decubito supino. L'esame ecografico è stato condotto esclusi-



Figura 3.1: decubiti

vamente da Rizzo, quindi i nostri dati non sono stati sottoposti da una verifica della concordanza delle misurazioni tra diversi rater.

3.2 Ipotesi di partenza

Dallo studio di Rizzo [30] e Attanasio [3] emerge già il carattere asimmetrico delle misurazioni ARFI, indipendentemente dal piano di osservazione. In tale studio, inoltre, sono stati identificati dei cut-off associati al grading Metavir, rispetto agli esami istologici della biopsia (F0-F1 < 1.3 m/s, F2 [1.3-1.7) m/s, F3[1.7-2.0) m/s, F4 ≥ 2.0 m/s). Nel presente studio non abbiamo a disposizione le biopsie dei pazienti, nè una recente classificazione Metavir, per cui non è stato possibile fare alcun tipo di associazione con lo stadio di fibrosi bioptico.

Ad oggi sono presenti in letteratura lavori che considerano il differente uso della sonda ARFI in termini di piano di osservazione. Eventuali differenze nelle misurazioni sono giustificabili come già detto dalla presenza di anisotropia e la stessa determinazione dei cut-off da loro ottenuti potrebbe subire delle variazioni se si considerasse tale aspetto. In particolare differenti piani di osservazione, in presenza di fibrosi e quindi possibile anisotropia, possono restituire differenti valori medi e di dispersione. Per tanto non sono stati presi in considerazione i cut-off da loro identificati per selezionare la classe Metavir F0-F4 nei pazienti oggetto in questo studio, se non solamente nella descrizione della composizione dei 119 soggetti.

L'ipotesi di partenza è che quando il fegato è in normali condizioni il comportamento elastico delle strutture anatomiche è abbastanza prossimo all'isotropia, ovvero il segmento epatico, stimolato nei tre piani ortogonali con impulsi elastografici dovrebbe rispondere, in termini di metri al secondo, in modo analogo. L'ipotesi di base di tipo biologico è che quando nel corso della malattia le medie delle misurazioni nei tre decubiti dovrebbero/potrebbero essere differenti, specialmente in F2 e F3.

Congiuntamente, anche la dispersione dovrebbe comportarsi in modo analogo. In particolare, quanto più è elevata la presenza di fibrosi, tanto più la dispersione della velocità media delle misurazioni sarà in generale elevata ma in modo differente in almeno uno dei tre piani osservati.

3.3 Piano di campionamento delle misurazioni

Le linee guida attuali della Siemens non forniscono univoche indicazioni su come e quante misurazioni effettuare sul fegato di un soggetto. Per la modalità di campionamento è stato seguito parte dello schema del campionamento stratificato proposto da Attanasio et. al. [3]. Per ottenere una “buona rappresentazione” del fegato gli autori considerano un campionamento casuale stratificato secondo quattro variabili: regione anatomica, spazio intercostale, respiro del paziente (inspirazione, espirazione), e profondità.

Nel nostro lavoro, inoltre, l’oggetto di studio non è l’intero fegato ma il singolo segmento. Questo perché, come già introdotto nel primo capitolo, il fine è di esplorare anche la possibile anisotropia dovuto alla fibrosi. I segmenti esplorabili in modo ortogonale attraverso i tre decubiti sono l’S5, l’S6 e l’S7. Nei 116 pazienti, in 79 pazienti è stato esplorato il segmento S5 mentre negli altri 37 pazienti è stato esplorato il segmento S6. La scelta è stata effettuata secondo la certezza che le misure siano state registrate realmente secondo i tre piani realmente ortogonali.

Per quanto riguarda invece il numero delle misurazioni da effettuare su ogni paziente è stata seguita l’esperienza, ovvero 10 misurazioni per decubito per un complessivo di 30 misurazioni per segmento epatico per paziente. Sono state empiricamente valutate 30 misurazioni come adeguate anche in casi di eterogeneità.

Capitolo 4

Analisi preliminare dei dati

4.1 Statistiche descrittive

Secondo i cut-off identificati da Rizzo [30] i pazienti osservati in tale studio, circa il 70%, sono principalmente pazienti in classe Metavir F1 e F2 (tabella 4.1), ovvero dove è maggiormente difficile, con gli strumenti odierni, effettuare una diagnosi precisa dello stadio iniziale della malattia.

Metavir	Frequenza	Percentuale	Perc. Cumulata
F1	62	53.45	53.45
F2	20	17.24	70.69
F3	11	9.48	80.17
F4	23	19.83	100.00
Totale	116	100.00	

Tabella 4.1: pazienti per gravità di malattia - cut-off applicati alla mediana di tutte le misurazione di ogni paziente

La distribuzione delle mediane, ottenute dalle 30 misurazioni ARFI di ogni paziente, marginalmente al decubito, evidenzia attraverso il valore minimo, il 25° percentile, il 75° percentile ed il valore massimo che il gruppo di pazienti è eterogeneo in termini di gravità di malattia (tabella 4.2). Il grafico lisciato delle mediane (figura 4.1) mostra il carattere asimmetrico delle mediane dei pazienti, fornendo indicazione sulla distribuzione da scegliere successivamente nei modelli

Statistiche	Tutte	Laterale	Prono	Supino
media	1.54	1.65	1.51	1.46
deviazione standard	0.70	0.74	0.67	0.69
minimo	0.65	0.65	0.69	0.66
25° percentile	1.00	1.08	1.01	0.98
mediana	1.26	1.43	1.25	1.20
75° percentile	1.94	2.15	1.94	1.77
massimo	3.96	3.96	3.37	3.75

Tabella 4.2: statistiche descrittive delle mediane elastometrica (m/s) per decubito

HGLM.

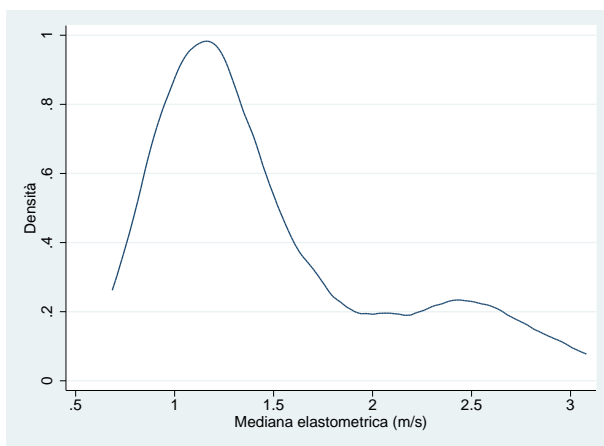


Figura 4.1: densità delle mediane

4.2 Associazione tra media e dispersione

Se rappresentiamo i range interquartili delle osservazioni in relazione alle stesse mediane di ogni paziente (figura 4.2) si osserva un'altra interessante caratteristi-

ca delle misurazioni. A parità di mediana delle trenta misurazione la variabilità riscontrata nelle stesse osservazioni è molto diversa da paziente a paziente.

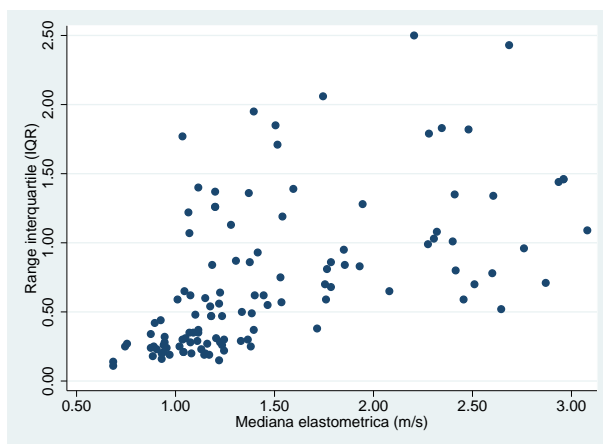


Figura 4.2: range interquartile per la mediana

Questa caratteristica è determinata da un aspetto introdotto precedentemente: il processo di fibrosi non avviene in modo omogeneo nel segmento del fegato osservato ed un range interquartile maggiore indica che vi sono punti osservati del fegato maggiormente danneggiati, ovvero in alcuni punti la “spinta” della malattia è maggiore. Ciò indica una prognosi peggiore per quel paziente.

4.3 Statistiche descrittive per segmento e decubito

Esploriamo adesso l’aspetto dell’anisotropia. Riportiamo in tabella 4.3 le misurazioni ARFI per segmento e decubito. Si osserva un comportamento differente delle misurazioni in almeno un dei tre decubiti.

Mentre nel segmento S5 le mediane delle misurazioni effettuate sulle posizioni prono e supino hanno un comportamento simile, di contro, la posizione laterale presenta dei valori maggiori (figura 4.5). Nel segmento S6 si osserva un comportamento esattamente opposto. La posizione laterale presenta dei valori mediani inferiori rispetto ai valori mediani delle posizioni prono e supino (figura 4.6). Tale comportamento, come già accennato nella sezione dedicata alla

Segmento	Statistiche	Complessivo	Laterale	Prono	Supino
S5	media	1.57	1.78	1.49	1.42
	deviazione standard	0.67	0.74	0.61	0.60
	minimo	0.75	0.75	0.81	0.77
	25° percentile	1.09	1.21	1.08	1.00
	mediana	1.34	1.59	1.25	1.19
	75° percentile	1.90	2.20	1.81	1.62
	massimo	3.96	3.96	3.34	3.24
	range interquartile	0.81	0.99	0.73	0.61
S6	media	1.49	1.37	1.56	1.54
	deviazione standard	0.77	0.68	0.78	0.85
	minimo	0.65	0.65	0.69	0.66
	25° percentile	0.90	0.94	0.94	0.85
	mediana	1.10	1.00	1.27	1.21
	75° percentile	2.17	1.60	2.18	2.19
	massimo	3.75	2.83	3.37	3.75
	range interquartile	1.27	0.67	1.24	1.34

Tabella 4.3: statistiche descrittive delle mediane elastometrica (m/s) per decubito e segmento

struttura epatica (sezione 1.3), dipenderebbe dalla direzione imposta dall'impalcatura prodotta dalle cellule non parenchimali. Ovvero le vene e le arterie epatiche hanno generalmente delle direzioni nello spazio differenti, per cui, in presenza di fibrosi si manifesta l'anisotropia del tessuto e le risposte nei tre decubiti presentano comportamenti differenti.

Rappresentiamo tridimensionalmente tali distribuzioni (figure 4.5 e 4.6). Ogni punto rappresenta il singolo paziente, esso ha come coordinate le mediane dei tre decubiti laterale, prono e supino. Si osserva nel segmento S5 che le mediane delle posizioni laterali hanno, sui tre piani, valori più elevati rispetto alle altre due posizioni. Nel segmento S6, di contro, si osserva che nei tre piani i valori più elevati si hanno in corrispondenza della posizione prono rispetto alle altre due.

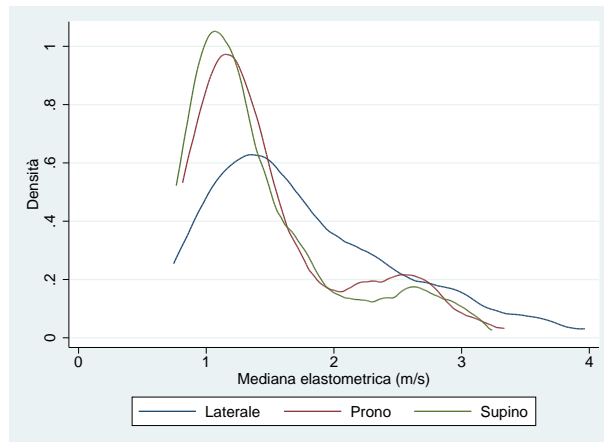


Figura 4.3: segmento S5 - densità delle mediana per decubito

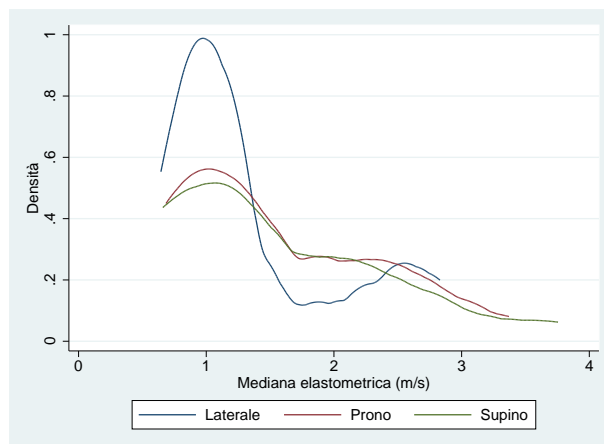


Figura 4.4: segmento S6 - densità delle mediana per decubito

4.4 Esplorazione del 75° percentile

In questa sezione esploriamo come si comporta la dispersione per valori medi più elevati. In particolare, quanto più è elevata la presenza di fibrosi, tanto più

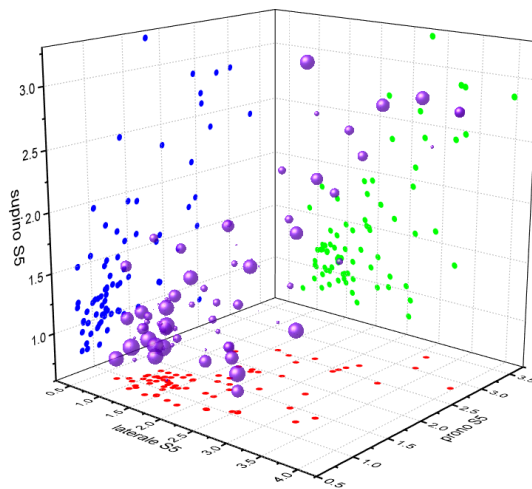


Figura 4.5: segmento S5 - mediane per decubito dei pazienti

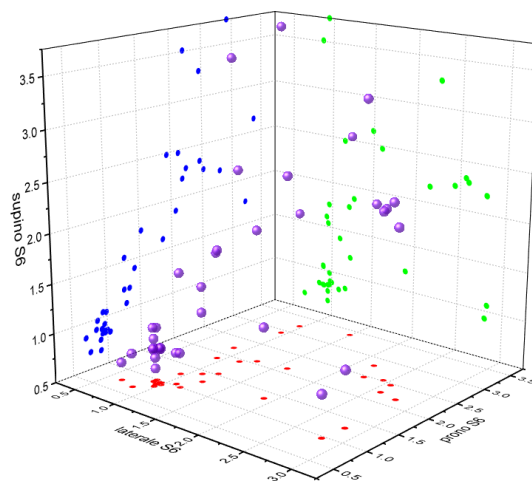


Figura 4.6: segmento S6 - mediane per decubito dei paziente

la velocità media delle misurazioni sarà elevata, e tale velocità dovrebbe essere differente in almeno uno dei tre decubiti. La dispersione, congiuntamente alla media, dovrebbe avere lo stesso comportamento.

Come già detto nella parte degli obiettivi si è focalizzata l'attenzione sulle misurazioni più elevate, che misurano le parti "più fibrotiche" del fegato.

In questo modo, calcolando la media delle osservazioni approssima il 75° percentile. Riportiamo in questa sezione le statistiche descrittive dei due dataset (tabella 4.4). Si osserva che, per entrambi i segmenti, per ogni decubito, il data-

Seg.	Decubito	media	media [§]	st.dev.	st.dev. [§]	$\frac{st.dev.^{\S}}{st.dev.}(\dagger)$
S5	laterale	1.83	2.24	0.57	0.44	0.75
	prono	1.54	1.87	0.45	0.34	0.74
	supino	1.49	1.76	0.39	0.33	0.74
S6	laterale	1.43	1.77	0.46	0.35	0.72
	prono	1.58	1.95	0.47	0.29	0.63
	supino	1.60	1.97	0.51	0.36	0.71

Tabella 4.4: comparazione delle medie elastometrica (m/s) per decubito e segmento tra il dataset completo ed dataset ridotto del 50% (indicato con §) - (†) media dei rapporti $\frac{st.dev.^{\S}}{st.dev.}$

set ridotto presenta delle medie e delle mediane naturalmente maggiori rispetto alle rispettive medie e mediane del dataset completo. Si osserva anche che la media dei rapporti delle deviazioni standard tra il dataset ridotto ed il dataset completo è maggiore di 0.5, e oscilla tra 0.63 e 0.75. Questo significa che in presenza di valori medi più elevati della velocità delle onde di taglio si ha una maggiore dispersione ed in generale le deviazioni standard del dataset dimezzato sono circa 3/4 delle deviazioni standard del dataset completo.

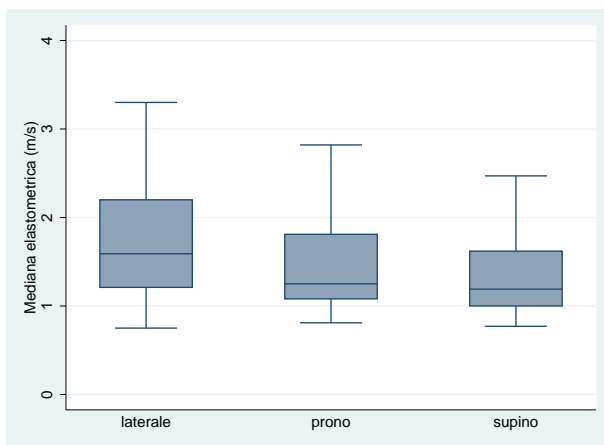


Figura 4.7: boxplot per decubito del segmento S5

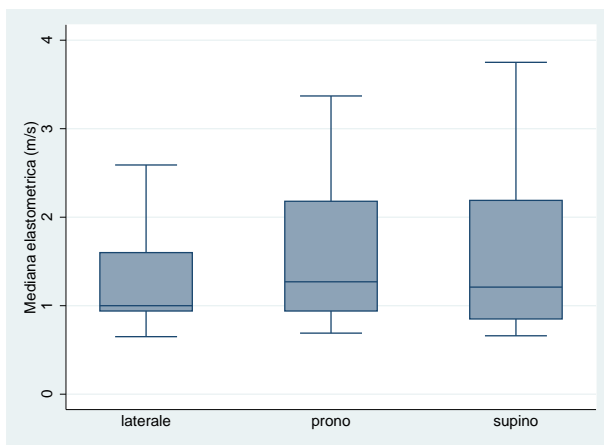


Figura 4.8: boxplot per decubito del segmento S6

Capitolo 5

Analisi congiunta della media e della dispersione

5.1 Applicazione dei modelli HGLM, HGLMSD e DHGLM

I dati ARFI dei pazienti oggetto di studio presentano un'evidente distribuzione asimmetrica. Questa caratteristica fornisce una chiara indicazione sulla famiglia esponenziale per la variabile risposta per i modelli congiunti media varianza, ovvero la distribuzione gamma. Sono state esplorate anche altre ipotesi come confronto, quali la distribuzione gaussiana con funzione legame logaritmo.

In merito alle scelte dei modelli abbiamo esplorato i modelli HGLM, HGLMSD e DHGLM. Per la presenza di osservazioni ripetute sullo stesso paziente l'aspettativa di inserire il parametro casuale nel modello della dispersione, oltre che in quello della media, ha trovato conferma nei valori più bassi delle devianze e dei residui migliori.

Per quanto riguarda il predittore lineare, abbiamo a disposizione solo il segmento epatico, l'S5 o l'S6 per singolo paziente e 10 misure per ciascuno dei tre decubiti. Il modello pertanto contiene come esplicative il segmento, il decubito e l'interazione fra di essi. Indichiamo con v_i l'effetto dell' i -esimo paziente e con j la j -esima misurazione ripetuta sullo stesso paziente. Di seguito riportiamo

il modello DHGLM, per la media abbiamo:

$$\begin{aligned}
 g(\mu_{ij}) = & \beta_0 + \beta_1 \text{Prono}_{ij} + \beta_2 \text{Supino}_{ij} + \\
 & + \beta_3 \text{Segm}6_{ij} + \beta_4 \text{Prono}_{ij} \cdot \text{Segm}6_{ij} + \beta_5 \text{Supino}_{ij} \cdot \text{Segm}6_{ij} + \\
 & + v_i
 \end{aligned}
 \tag{5.1}$$

mentre per la dispersione abbiamo:

$$\begin{aligned}
 h(\phi_{ij}) = & \gamma_0 + \gamma_1 \text{Prono}_{ij} + \gamma_2 \text{Supino}_{ij} + \\
 & + \gamma_3 \text{Segm}6_{ij} + \gamma_4 \text{Prono}_{ij} \cdot \text{Segm}6_{ij} + \gamma_5 \text{Supino}_{ij} \cdot \text{Segm}6_{ij} + \\
 & + b_i
 \end{aligned}
 \tag{5.2}$$

Riportiamo di seguito una tabella dei primi migliori 5 modelli per tipologia dei tre DHGLM, HGLMSD, e HGLM (tabella 5.1). Come si può osservare i modelli DHGLM hanno delle devianze nettamente inferiori rispetto ai modelli HGLMSD con dispersione strutturata e ulteriormente inferiore rispetto ai modelli HGLM congiunti media dispersione. Questo conferma che l'inserimento dell'effetto casuale del paziente, sia nel modello della media che nel modello della dispersione, è risultato significativo.

Si nota altresì che i primi tre modelli DHGLM risultano identici per la distribuzione dei termini fissi e casuali del modello della media. La differenza, seppure di piccola entità dipende dalla distribuzione e dalla funzione link dell'effetto casuale del modello della dispersione.

In merito al modello selezionato (il primo della tabella) la stima del parametro di dispersione λ della componente casuale del modello della media è di -2.368, con s.e. di 0.133 e $t=-17.75$. Invece la stima del parametro di dispersione α della componente casuale del modello della dispersione è di -0.828, con s.e. di 0.136 e $t=-6.08$.

misure ARFI		term. casuale (media)		term. casuale (disp.)		statistiche di verosimiglianza					
modello	distrib.	link	distrib.	link	distrib.	link	$-2h(y v)$	$-2h$	$-2p_v(h)$	$-2p_{\beta,v}(h)$	$-2p_{\beta,v,b}(h)$
dhglm	gamma	log	inv.gamma	identity	gamma	log	4122.2	4174.9	4634.1	4668.7	5037.5
dhglm	gamma	log	inv.gamma	identity	normal	identity	4122.3	4175.0	4634.0	4668.7	5036.0
dhglm	gamma	log	inv.gamma	identity	normal	identity	4122.3	4175.0	4634.0	4668.7	5036.0
dhglm	gamma	identity	inv.gamma	identity	gamma	log	4123.1	4247.6	4619.4	4651.4	5019.2
dhglm	gamma	identity	inv.gamma	identity	normal	identity	4123.1	4247.7	4619.3	4651.3	5017.2
hglnsd	gamma	identity	inv.gamma	log	gamma	log	4967.2	5190.5	5532.1	5559.9	
hglnsd	gamma	log	inv.gamma	log	gamma	log	4999.4	5093.4	5523.1	5555.2	
hglnsd	gamma	identity	inv.gamma	identity	gamma	log	5009.4	5135.1	5477.3	5506.4	
hglnsd	gamma	identity	gamma	identity	gamma	identity	5011.4	5182.2	5524.3	5552.9	
hglnsd	gamma	log	gamma	reciprocal	gamma	reciprocal	5015.3	5066.8	5498.0	5530.7	
hglnsd	gamma	identity	inv.gamma	log	gamma	log	5089.5	5303.3	5635.1	5663.1	
hglnsd	gamma	log	inv.gamma	log	gamma	log	5103.2	5190.9	5613.9	5646.1	
hglnsd	gamma	log	normal	identity	gamma	identity	5118.7	5195.8	5619.1	5651.4	
hglnsd	gamma	log	inv.gamma	reciprocal	gamma	reciprocal	5118.9	5188.2	5612.4	5645.0	
hglnsd	gamma	log	inv.gamma	reciprocal	gamma	reciprocal	5118.9	5188.2	5612.4	5645.0	

Tabella 5.1: modelli HGLM, HGLMSD, DHGLM

$-2h(y|v)$, Deviance Information Criteria (DIC)

$-2h$, verosimiglianza h del modello della media dei parametri casuali (e dei parametri casuali del modello della dispers. nei DHGLM)

$-2p_v(h)$, verosimiglianza profilo aggiustata del modello della media dei parametri fissi

$-2p_{\beta,v}(h)$, verosimiglianza profilo aggiustata del modello della dispersione (nei HGLM)

$-2p_{\beta,v,b}(h)$, verosimiglianza profilo aggiustata del modello della dispersione dei parametri fissi (nei DHGLM)

Riportiamo le stime del modello finale in tabella 5.2. Tali stime sono calcolate rispetto ai livelli baseline che sono per il decubito la posizione laterale, per il segmento l'S5 e per l'effetto casuale il primo paziente. Quest'ultimo ha una stima di 1.0030 con un errore standard di 0.0694 ed un valore $t=14.45$.

Modello media: $y \sim \gamma$, link=log

Comp. casuale del modello media: $\text{paziente} \sim \gamma$ -inversa, link=identità

Comp. casuale del modello disp: $\text{paziente} \sim \gamma$, link=log

modello	parametro	stima	errore std.	t(3474)
media	costante	-0.618	0.0378	-16.33
	decb pro	-0.105	0.0157	-6.66
	decb sup	-0.171	0.0144	-11.81
	segm S6	-0.328	0.0677	-4.84
	decb pro.segm S6	0.124	0.0257	4.81
	decb sup.segm S6	0.160	0.0257	6.23
dispers.	costante	-1.905	0.0908	-20.98
	decb pro	-0.169	0.0713	-2.37
	decb sup	-0.594	0.0717	-8.28
	segm S6	0.096	0.1620	0.59
	decb pro .segm S6	-0.336	0.1270	-2.66
	decb sup .segm S6	0.313	0.1270	2.47

Tabella 5.2: Stime dei parametri del modello DHGLM selezionato

Per il segmento S5, come si può osservare dalla tabella, il valore medio atteso nel decubito laterale è maggiore rispetto ai decubiti prono e supino. Entrambe le posizioni prono e supino risultano significativamente inferiori in termini di valore atteso. Inoltre, le posizioni prono e supino si discostano di 0.0656 (*s.e.* 0.0137), $t=4.79$. Congiuntamente, dal modello della dispersione si osserva che la variabilità attesa nel decubito laterale è maggiore rispetto al valore atteso del decubito prono e supino. La minore dispersione attesa si osserva invece nel decubito supino. La differenza tra questi ultimi è di 0.4248 (*s.e.* 0.0719) con $t=5.91$.

Per il segmento S6, in modo opposto, la posizione laterale presenta un valore medio atteso inferiore rispetto ai decubiti prono e supino. Il decubito supino si discosta in media rispetto al prono di solo 0.0363 (*s.e.* 0.0231), in modo tuttavia

non significativo $t=1.57$. La dispersione attesa maggiore si ha nel decubito supino, mentre la variabilità minore si attende nel decubito prono.

5.1.1 Analisi grafica dei residui

L'analisi dei residui è stata svolta attraverso l'approccio di Lee e Nelder [14]. Come si può osservare il modello della media (figura 5.1) spiega bene le misurazioni effettuate sui pazienti.

Ovvero la scelta della distribuzione gamma, della funzione di varianza, della funzione legame e del predittore lineare sembrano essere appropriate. Si osserva, comunque, la presenza di outlier. Di contro l'analisi dei residui del modello della dispersione suggerisce dei margini di miglioramento (figura 5.2).

Si osserva innanzitutto che i residui non sono perfettamente simmetrici, inoltre presentano un leggero trend rispetto ai valori stimati. Questo potrebbe dipendere da qualche termine mancante nel predittore (non ancora osservato). Il trend leggermente negativo dei valori assoluti dei residui rispetto ai valori stimati indicano che la funzione di varianza diminuisce più rapidamente con la media. Tuttavia per definizione degli HGLM non è possibile modificarla, restringendo il problema della scelta dei termini nel predittore lineare.

Di seguito vengono rappresentate le distribuzioni dei residui delle componenti casuali dei modelli della media e della dispersione (figure 5.3 e 5.4). Né il primo termine né il secondo, in ogni caso presentano una distribuzione normale per come era auspicabile attendersi.

5.2 Applicazione dei modelli sul 75° percentile

Come abbiamo precedentemente esposto, un altro importante aspetto che abbiamo valutato in questo studio è il 75° percentile. Due pazienti a parità di valore medio delle misurazione ARFI possono presentare una differente variabilità. In questo contesto, quanto più elevato è il 75° percentile delle misurazioni quanto più la prognosi del paziente peggiora rispetto all'altro paziente. Ovvero in questo paziente la malattia "spinge" maggiormente, rendendo di fatto la diagnosi peggiore, sempre rispetto al primo paziente che ha stesso valore medio delle osservazioni.

Per esplorare il 75° percentile abbiamo ordinato le 10 misurazioni di ogni decubito di ogni pazienti ed abbiamo preso le prime 5 per ogni decubito. Ovvero abbiamo ridotto il campione della metà. Successivamente abbiamo riadattato

Mean Model

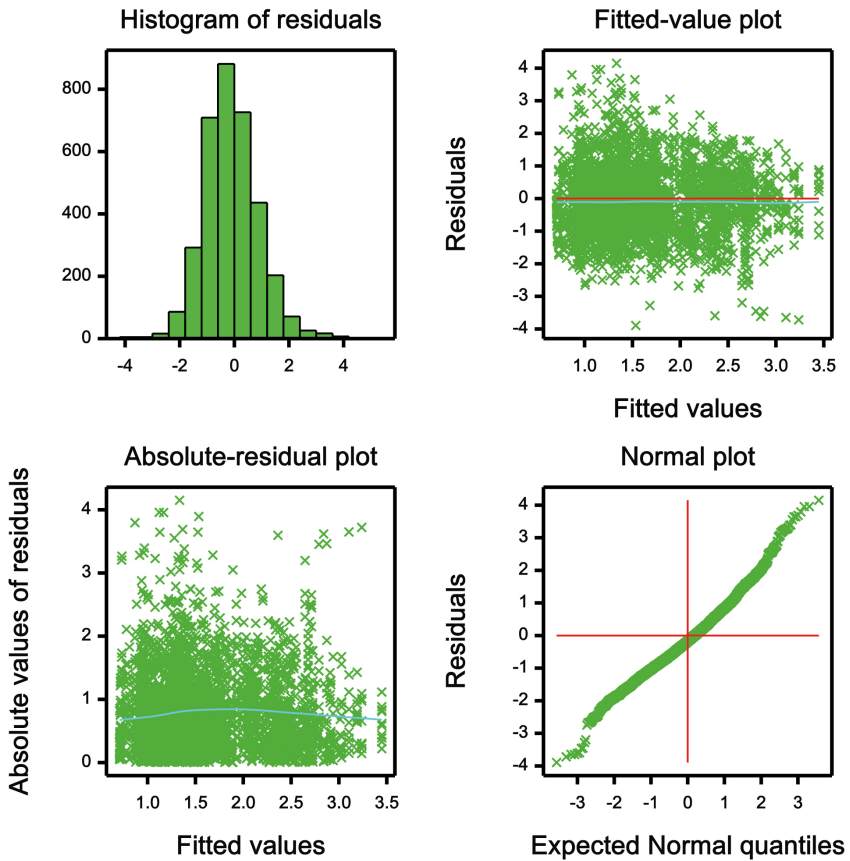


Figura 5.1: Residui del modello della media

i modelli HGLM, andando a modellare, per prossimità, il 75° percentile del campione di osservazioni completo di ogni paziente.

L'obiettivo è studiare come si comporta la dispersione per valori (in media) elastometrici più elevati, rispetto al modello congiunto media dispersione del

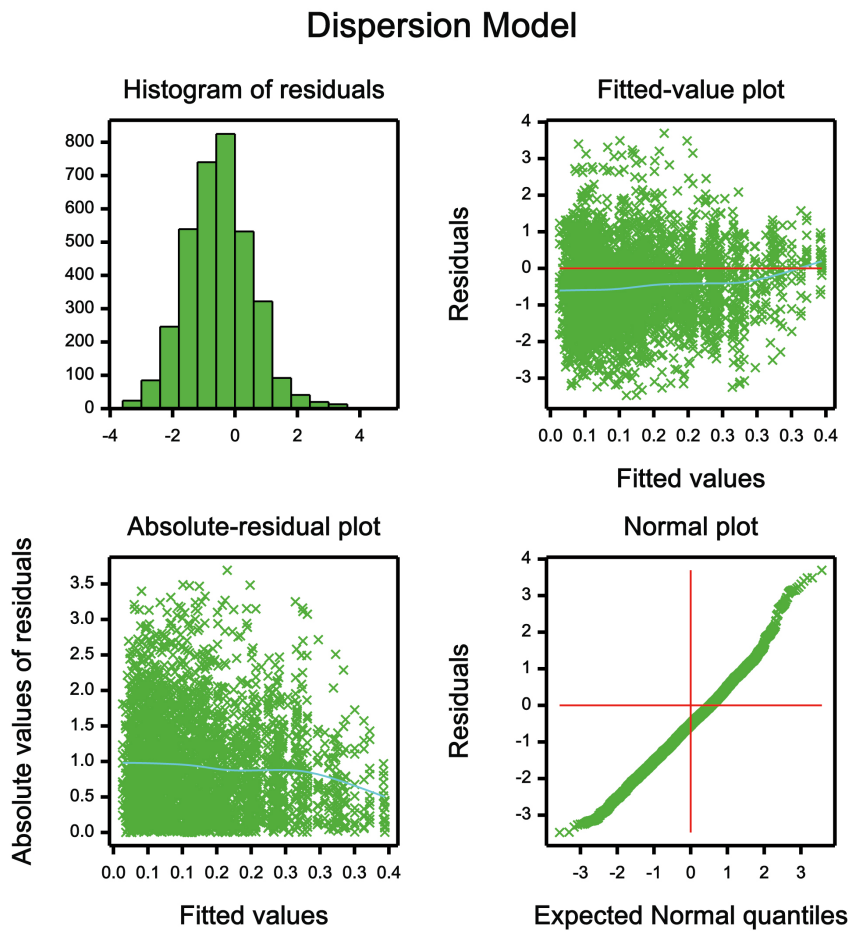


Figura 5.2: Residui del modello di dispersione

dataset completo, ovvero con dei valori in media più bassi. La riduzione del campione porta inevitabilmente a degli errori standard maggiori. Riportiamo di seguito una tabella dei primi migliori 5 modelli per tipologia le tre DHGLM, HGLMSD, e HGLM (tabella 5.3).

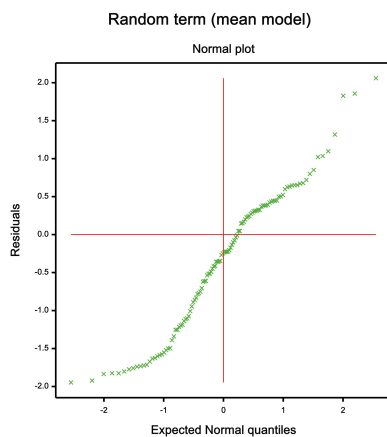


Figura 5.3: Distribuzione dei residui del parametro casuale del modello della media

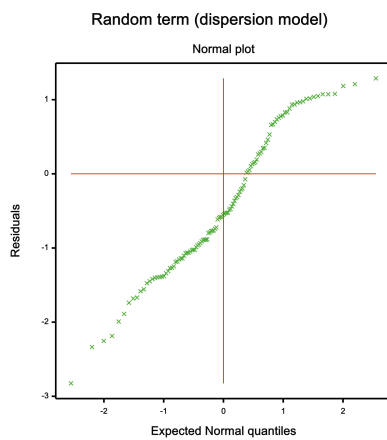


Figura 5.4: Distribuzione dei residui del del parametro casuale del modello della dispersione

misure ARFI		term. casuale (media)		term. casuale (disp.)		statistiche di verosimiglianza					
modello	distrib.	link	distrib.	link	distrib.	link	$-2h(y v)$	$-2h$	$-2p_v(h)$	$-2p_{\beta,v}(h)$	$-2p_{\beta,v,b}(h)$
dhglm	gamma	log	inv.gamma	identity	normal	identity	1701.5	1772.2	2221.6	2255.7	2590.1
dhglm	gamma	log	inv.gamma	identity	gamma	log	1702.6	1773.2	2222.2	2256.5	2591.7
dhglm	gamma	log	gamma	log	gamma	log	1703.3	1813.0	2260.7	2294.7	2630.4
dhglm	gamma	identity	inv.gamma	identity	normal	identity	1715.8	1887.1	2205.9	2235.1	2560.9
dhglm	gamma	identity	inv.gamma	identity	gamma	log	1716.4	1887.8	2206.3	2235.6	2565.2
hglm	gamma	identity	inv.gamma	log			2274.2	2600.0	2876.3	2900.2	
hglm	gamma	log	inv.gamma	log			2351.8	2470.9	2879.1	2909.8	
hglm	gamma	identity	inv.gamma	identity			2364.9	2535.9	2814.2	2840.2	
hglm	gamma	identity	gamma	identity			2367.0	2597.2	2875.0	2900.5	
hglm	gamma	log	gamma	reciprocal			2371.2	2440.4	2850.6	2882.0	
hglm	gamma	identity	inv.gamma	log			2442.6	2746.7	3001.3	3025.3	
hglm	gamma	log	inv.gamma	log			2498.6	2607.6	2996.0	3026.6	
hglm	gamma	log	normal	identity			2517.0	2611.8	3000.6	3031.3	
hglm	gamma	log	gamma	reciprocal			2517.2	2582.6	2972.7	3003.9	
hglm	gamma	log	gamma	reciprocal			2517.2	2582.6	2972.7	3003.9	

Tabella 5.3: modelli HGLM, HGLMSD, DHGLM per il 75° percentile

$-2h(y|v)$, Deviance Information Criteria (DIC)

$-2h$, verosimiglianza h del modello della media dei parametri casuali (e dei parametri casuali del modello della dispers. nei DHGLM)

$-2p_v(h)$, verosimiglianza profilo aggiustata del modello della media dei parametri fissi

$-2p_{\beta,v}(h)$, verosimiglianza profilo aggiustata del modello della dispersione (nei HGLM)

$-2p_{\beta,v,b}(h)$, verosimiglianza profilo aggiustata del modello della dispersione dei parametri fissi (nei DHGLM)

Riportiamo nella seguente tabella (tabella 5.4) il nuovo modello selezionato. Anche in questo caso le stime sono calcolate rispetto ai livelli di baseline che

Modello media: $y \sim \text{gamma}$, link=log
 Comp. casuale del modello media: $\text{Paziente} \sim \text{gamma-inversa}$, link=identità
 Comp. casuale del modello disp: $\text{Paziente} \sim \text{normale}$, link=identità

modello	parametro	stima	errore std.	t(1734)
media	costante	-0.446	0.0407	-10.95
	decb pro	-0.115	0.0153	-7.47
	decb sup	-0.187	0.0149	-12.57
	segm S6	-0.371	0.0738	-5.03
	decb pro .segm S6	0.130	0.0276	4.71
	decb sup .segm S6	0.201	0.0286	7.02
dispers.	costante	-2.648	0.1230	-21.52
	decb pro	-0.230	0.1030	-2.23
	decb sup	-0.380	0.1030	-3.67
	segm S6	0.433	0.2170	1.99
	decb pro.segm S6	-1.260	0.1830	-6.88
	decb sup.segm S6	-0.559	0.1820	-3.07

Tabella 5.4: Stime dei parametri del modello DHGLM selezionato per il 75° percentile

sono: per il decubito è la posizione laterale, per il segmento l'S5. Per l'effetto casuale si considera il primo paziente. Quest'ultimo ha una stima di 1.0660 con un errore standard di 0.0729 ed un valore $t=14.63$.

Dalla tabella si osserva che il valore medio atteso del segmento S5 in posizione laterale è maggiore rispetto alle posizioni prono e supino. Entrambe le posizioni prono e supino risultano significativamente inferiori in termini di media attesa. Inoltre, le posizioni prono e supino si discostano di 0.0723 (*s.e.* 0.0139), $t=5.19$. Congiuntamente, dal modello della dispersione si osserva che la variabilità attesa nel decubito laterale è maggiore rispetto al valore atteso del decubito prono e supino. La minore dispersione attesa si osserva invece nel decubito supino. La differenza non significativa tra questi ultimi è di 0.15 (*s.e.* 0.0104) con $t=1.45$.

Per il segmento S6, come visto precedentemente, la posizione laterale presenta un valore medio atteso inferiore rispetto ai decubiti prono e supino. Il decubito supino si discosta in media rispetto al prono di 0.0723 (*s.e.* 0.0139),

in modo significativo $t=5.19$. La dispersione attesa maggiore si ha nel decubito laterale, mentre la variabilità minore si attende nel decubito prono. In questo

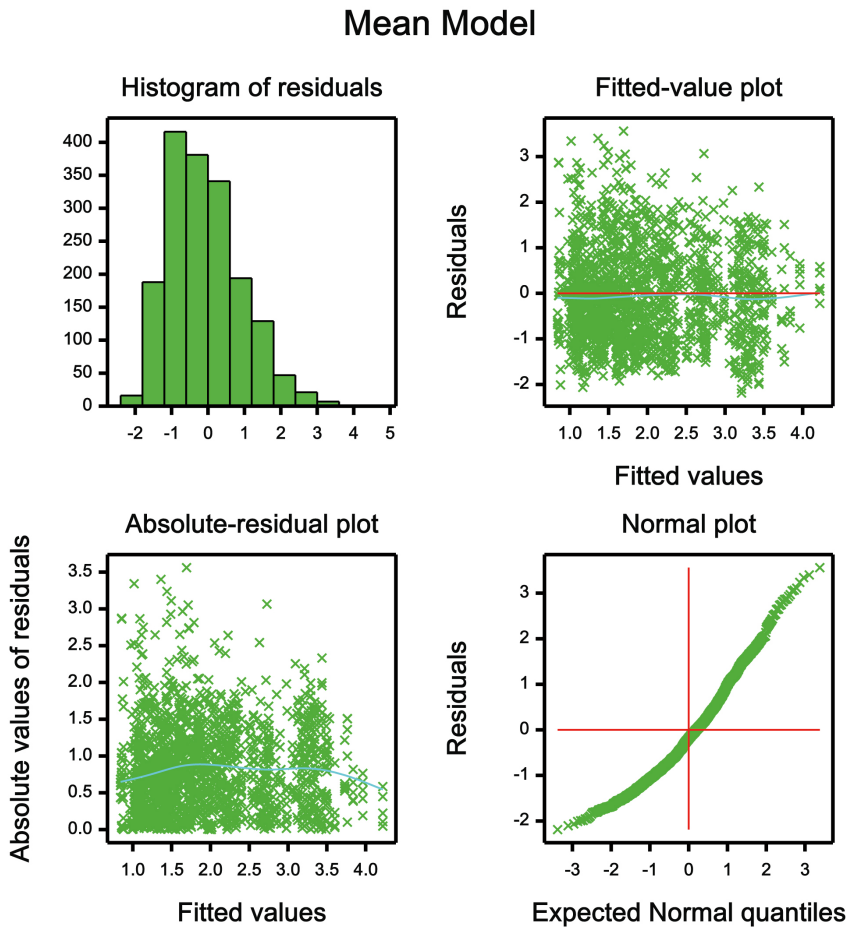


Figura 5.5: Residui del modello della media (75° percentile)

modello la stima del parametro di dispersione λ della componente casuale del modello della media è di -2.214 , con s.e. di 0.133 e $t=-16.60$. Invece la sti-

ma del parametro di dispersione α della componente casuale del modello della dispersione è di -0.247, con s.e. di 0.144 e $t=-1.720$.

5.2.1 Analisi grafica dei residui

In questo caso l'analisi dei residui mostra un peggiore adattamento del modello della media rispetto al modello della dispersione (figure 5.5, 5.6). Il modello della media mostra margini di miglioramento (figura 5.6). Si osservi che i residui sono fortemente asimmetrici, anche se non presentano un trend rispetto ai valori stimati. Tale asimmetria potrebbe dipendere dal fatto che non è ottimale adattare un modello HGLM con distribuzione gamma sulla coda della gamma. Di fatto, riducendo il dataset abbiamo dei dati ancora più asimmetrici. Complessivamente la funzione di varianza sembra adeguata. Di seguito vengono rappresentate le distribuzioni dei residui delle componenti casuali dei modelli della media e della dispersione (figure 5.7 e 5.8). Né il primo termine né il secondo, anche in questo caso, presentano una distribuzione perfettamente normale per come è auspicabile aspettarsi.

5.3 Confronto tra le due applicazioni

Confrontiamo adesso i coefficienti ottenuti dai modelli DHGLM di entrambi i dataset, quello completo e quello dimezzato per stimare il 75° percentile (tabella 5.5). In questo caso le stime riportate in tabella non sono riferite alle

modello disp.	completo	ridotto	
parametro	A	B	A/B
S5 laterale	-1.91	-2.65	0.72
S5 prono	-2.07	-2.88	0.72
S5 supino	-2.50	-3.03	0.83
S6 laterale	-1.81	-2.22	0.82
S6 prono	-2.31	-3.71	0.62
S6 supino	-2.09	-3.15	0.66

Tabella 5.5: stime dei parametri del modello di dispersione dei due dataset, completo e ridotto. Funzione legame logartimo

baseline. Come si può osservare, le stime del modello della dispersione del 75°

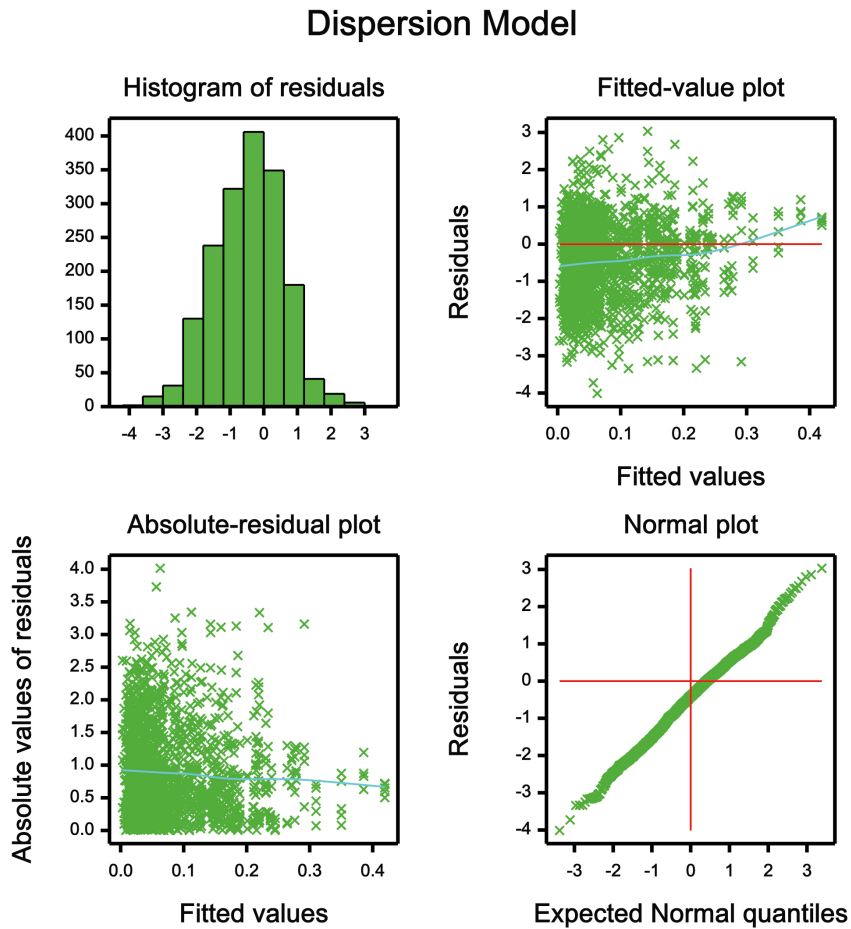


Figura 5.6: Residui del modello della dispersione

percentile sono naturalmente maggiori rispetto alle stesse stime del modello sul dataset completo. Si osserva, come emerso già nelle analisi preliminari, che i rapporti dei coefficienti del modello della dispersione tra il dataset ridotto ed il dataset completo è maggiore di 0.5, e oscilla tra 0.62 e 0.83. Questo significa

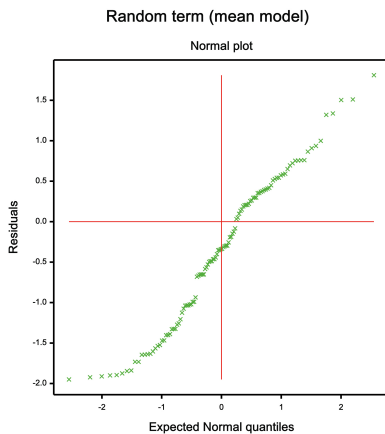


Figura 5.7: Distribuzione dei residui del del parametro casuale del modello della media (75° percentile)

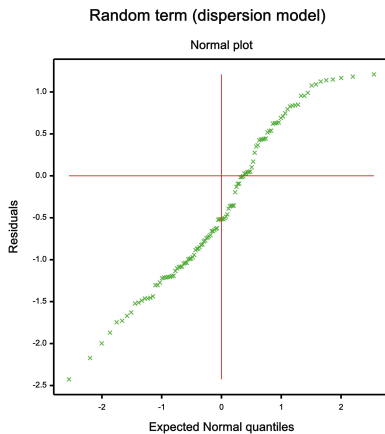


Figura 5.8: Distribuzione dei residui del del parametro casuale del modello della dispersione (75° percentile)

che in presenza di valori medi più elevati della velocità delle onde di taglio si

ha una maggiore dispersione ed i coefficienti del dataset dimezzato hanno mediamente un ordine di grandezza pari a $3/4$ dei corrispondenti coefficienti del dataset completo. La variabilità attesa per valori maggiori di velocità delle onde elastografiche è via via crescente.

Capitolo 6

Conclusioni

La modellazione della media e della dispersione seguendo proposto da da Lee, Nelder e Pawitan [17] ha permesso di ottenere dei risultati interessanti in termini informativi, valorizzando la “capacità” diagnostica presente nella variabilità delle misurazioni. Essa non viene più considerata come un fattore di disturbo nella formulazione della diagnosi finale ma diviene un aspetto essenziale per giungere ad una diagnosi più accurata. I risultati più interessanti, il cui valore è di tipo esplorativo, sono:

1. A livello epatico, la variabilità riscontrata su diverse misurazioni effettuate sul fegato di uno stesso paziente fornisce un'informazioni cruciale per una migliore diagnosi: due pazienti, a parità di valore medio delle misurazioni, con differente variabilità delle stesse, presentano un quadro diagnostico molto differente. Una maggiore dispersione, implica necessariamente uno status della malattia diverso. Il paziente che ha una variabilità maggiore presenta delle parti di fegato osservate maggiormente deteriorate e questo aspetto si evince da una maggiore variabilità;
2. considerato che la fibrosi determina una rigidità ai tessuti a cui corrisponde una maggiore velocità di propagazione sul piano parallelo alle fibre ed una maggiore dispersione, è emerso che un diverso piano di osservazione porta a delle misurazioni diverse. Questo avverrebbe per causa della rigidità del tessuto epatico imposto dalla struttura vascolare che si va inspessendo per la morte delle cellule parenchimali e la formazione di nuove cellule non parenchimali atte a mantenere la struttura epatica nella sua forma strutturale naturale.

Questa differenza nelle misurazioni date dai diversi piani di osservazione apre un “varco” nella ricerca, infatti questo nostro studio ha in qualche modo indicato come la differenza delle misurazioni dei diversi piani di osservazione sono cruciali per una diagnosi accurata.

6.1 Limiti attuali dello studio

I risultati ottenuti in questo studio sono di tipo introduttivo. I dati sono stati raccolti presso una struttura privata e in molti casi, per motivi di privacy dei pazienti, non è stato possibile raccogliere ulteriori informazioni sulle variabili socio-demografiche e di anamnesi. I limiti più grossi possono essere elencati nei seguenti punti:

- le variabili disponibili sono solo il decubito e uno dei due segmenti S5 o S6;
- non è stato possibile effettuare nessuno studio di associazione con la funzionalità epatica reale, non avendo a disposizione per molti pazienti gli esami classici della funzionalità epatica;
- non è stato possibile reperire sempre per motivi legati alla privacy i dati di una recente biopsia con l'esame del grading Metavir, questo ha impedito associare le classi F0-F4 rispetto ai valori medi ed al decubito;
- non è stato possibile effettuare uno studio longitudinale sugli stessi pazienti per valutare l'associazione con la rapidità di evoluzione delle malattia e variabilità riscontrata nelle osservazioni;
- i dati sono stati raccolti su gruppo di pazienti consecutivi, non randomizzati, e non è stato svolto nessun altro esame strumentale quali la risonanza magnetica elastografica o tecniche equivalenti;
- l'esame ecografico è stato condotto esclusivamente dal Dottore Rizzo, quindi se da un lato non abbiamo bias di misurazione date da differenti operatori, da un altro lato, non è possibile con questo disegno verificare l'agreement tra diversi rater.

6.2 Possibili sviluppi

I risultati ottenuti indirizzano verso:

- l'avvio di una sperimentazione clinica (cross sectional e longitudinale) su modello animale con generazione di fibrosi di diverso grado attraverso somministrazione di farmaco che induce il danno epatico. Analizzare la progressione epatica nel tempo su due gruppi, uno trattato secondo i protocolli classici ed un gruppo di controllo non trattato. Valutare all'interno dello studio altre possibili variabili che possano essere associate sia al modello della media che al modello della dispersione. Introdurre nella sperimentazione tutti gli esami ematochimici necessari, la biopsia epatica, la risonanza magnetica elastografica (o tecniche equivalenti) ed altro con il fine di studiare le associazioni tra funzionalità epatica, la fibrosi e l'aspetto dell'anisotropia nella formulazione di una migliore diagnosi;
- lo studio e sviluppo di una sonda adeguata che possa esplorare in modo affidabile ed ortogonale i vari segmenti epatici;
- l'avvia di una sperimentazione clinica sugli umani di tipo longitudinale in cui è possibile confrontare e vedere lo sviluppo della malattia nel tempo per valutare "realmente" l'accuratezza diagnostica dello strumento.
-

6.3 Ringraziamenti

Un ringraziamento particolare è rivolto a Leonardo Rizzo che, con il suo entusiasmo e la sua voglia di conoscenza, è stato un punto di riferimento per me in questo ultimo anno.

Bibliografia

- [1] Afdhal NH. (2003). Diagnosing fibrosis in hepatitis C: is the pendulum swinging from biopsy to blood tests? *Hepatology*, 37, 972-974.
- [2] Lai M., Afdhal N.H. (2011). Staging Liver Fibrosis in Hepatitis C: A Challenge for This Decade. *The American Journal of Gastroenterology*, 106, 2121-2122.
- [3] Attanasio M., Enea M., Rizzo L. (2010). Some issues concerning the statistical evaluation of a screening test: the ARFI ultrasound case. *Statistica*, 70(3), 311-322.
- [4] Bedossa P., Dargère D., Paradis V. (2003). Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 38, 1449-1457.
- [5] Bjornstad J. (1996). On the generalization of the likelihood function and likelihood principle. *Journal of the American Statistical Association*, 91, 791-806.
- [6] Castera L., Forns X., Alberti A. (2008). Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *Journal of Hepatology*, 48, 835-847.
- [7] Chui C., Kobayashi E., et.al. (2007). Transversely isotropic properties of porcine liver tissue: experiments and constitutive modelling. *Medical & Biological Engineering & Computing - Springer*, 45, 99-106.
- [8] Poynard T., Bedossa P., et.al. (1997) Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*, 349, 825-32.

-
- [9] European Association for the Study of Liver - EASL (2011). Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology*. 55, 245-264.
- [10] Guillaume P., et. al. (2000). Improving Realism of a Surgery Simulator: Linear Anisotropic Elasticity, Complex Interactions and Force Extrapolation. Rapport de recherche n° 4018.
- [11] Encyclopedia Britannica, Inc. (2013)
- [12] Lai M., Afdhal N.H. (2011) Editorial: Staging Liver Fibrosis in Hepatitis C: A Challenge for This Decade. *The American Journal of Gastroenterology* 106, 2121-2122, doi:10.1038/ajg.2011.343.
- [13] Lee Y., Nelder J.A. (1996). Hierarchical generalized linear models (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, 58, 619-678.
- [14] Lee Y., Nelder J.A. (1998). Generalized Linear Models for the Analysis of Quality-Improvement Experiments. *Canadian Journal of Statistics*, 26, 95-105.
- [15] Lee Y., Nelder J.A. (2001). Hierarchical generalized linear models: a synthesis of generalised linear models, random-effect models and structured dispersions. *Biometrika*, 88, pages 987-1006.
- [16] Lee Y., Nelder J.A. (2005). Likelihood for random-effect models (with discussion). *Statistical and Operational Research Transactions*, 29, pages 141-182.
- [17] Lee Y., Nelder J.A. (2006). Double hierarchical generalized linear models (with discussion). *Applied Statistics*, 55, pages 139-185.
- [18] Lee Y., Nelder J.A., Noh M. (2007). H-likelihood: problems and solutions. *Statistics and Computing*, 17, 49-55.
- [19] Lee Y., Nelder J.A., Pawitan Y. (2006). *Generalized Linear Models with Random Effects*. Chapman & Hall, Boca Raton.
- [20] Macarini L., Stoppino L.P. (2013) Radiologic Assessment of Liver Fibrosis, Present and Future. InTech, Peer-reviewed open access journals, dx.doi.org/10.5772/55164

- [21] Marra F. (2008). La fibrosi epatica. Dipartimento di Medicina Interna, Università di Firenze. www.averefeгато.it - sezione approfondimenti.
- [22] McCullagh P., Nelder J.A. (1989), *Generalized Linear Models* (2nd ed.). Chapman & Hall, London.
- [23] Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*, 1994; 20, 15-20.
- [24] Nelder J.A., Pregibon D. (1987), An extended quasi-likelihood function. *Biometrika*, 74, 221-231.
- [25] Pierce D.A., Schafer D.W. (1986). Residuals in Generalized Linear Models. *Journal of the American Statistical Association*, 81, 977-986.
- [26] L'epatite C in Italia: i dati epidemiologici e le politiche contro la patologia (2012). Quotidiano Sanità, <http://www.quotidianosanita.it/>
- [27] Fibrosi epatica. L'alternativa alla biopsia c'è. Ma si usa poco (2013). Quotidiano Sanità, <http://www.quotidianosanita.it/>
- [28] Jørgensen B. (1987). Exponential dispersion models (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society B*, 49, 127-162.
- [29] Regev A., Berho M., et. al. (2002). Sampling error an intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *The American Journal of Gastroenterology*, 97, 2614-2618.
- [30] Rizzo C.L. , Calvaruso V., Cacopardo B., et al. (2011). Comparison of Transient Elastography and Acoustic Radiation Force Impulse for Non-Invasive Staging of Liver Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 106, 2112-2120.
- [31] Rousselet M.C., Michalak S., et al. (2005). Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology*, 41, 257-264.
- [32] Schiano T.D., Azeem S., et. al. (2005). Importance of specimen size in accurate needle liver biopsy evaluation of patients with chronic hepatitis C. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 3(9), 930-935.
- [33] Wedderburn, R.W.M. (1974). Quasi-likelihood functions, generalized linear models and the Gauss-Newton method. *Biometrika*, 61, 439-447.