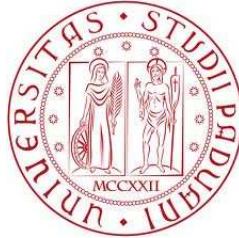


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA



Facoltà di Ingegneria
Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione
Corso di Laurea in Bioingegneria

TESI DI LAUREA

**STUDIO DA IMMAGINI fMRI DELLA
CONNETTIVITÀ EFFETTIVA DURANTE
COMPITO MOTORIO, TRAMITE
MODELLI DINAMICI**

Laureanda: **Elena Tormen**

Relatore: **Prof.ssa Alessandra Bertoldo**
Correlatori: **Dr.ssa Emanuela Formaggio**
Dr.ssa Silvia F. Storti
Prof. Paolo Manganotti

25 ottobre 2011

“Sa, è molto bella l’immagine di un proiettile in corsa: è la metafora esatta del destino. Il proiettile corre e non sa se ammazzerà qualcuno o finirà nel nulla, ma intanto corre e nella sua corsa è già scritto se finirà a spappolare il cuore di un uomo o a scheggiare un muro qualunque. Lo vede il destino? Tutto è già scritto eppure niente si può leggere.”

A.Baricco, Castelli di Rabbia

*Alla mia famiglia,
a nonna Celestina,
a Giorgio*

Indice

Sommario	V
Introduzione	VII
1 Funcional Magnetic Resonance Imaging: fMRI	1
1.1 Il segnale BOLD e la risposta emodinamica HDR	1
1.2 Il disegno sperimentale	8
2 Connettività	11
2.1 <i>Localizationism e Connectionism</i>	12
2.2 Functional specialization	13
2.3 Functional integration	15
2.3.1 Connettività anatomica-strutturale	17
2.3.2 Connettività funzionale	19
2.3.3 Connettività effettiva	20
3 DCM:Dynamic Causal Modelling	27
3.1 Introduzione	28
3.1.1 DCM e metodi convenzionali	29
3.1.2 DCM e disegno sperimentale	30
3.1.3 DCM ed <i>inference</i>	32
3.2 Dynamic Causal Model	33
3.2.1 Equazioni di Stato Neuronale	35
3.2.2 Equazioni di stato emodinamico	39
3.2.3 <i>Full Forward Model</i>	43
3.2.4 I <i>prior</i>	45
3.2.5 Stima dei parametri: algoritmo EM	50
3.2.6 <i>Inference</i>	52

3.3	<i>Bayesian Model Selection (BMS)</i>	53
3.4	Relazione con le analisi convenzionali	55
4	Materiali e Metodi	57
4.1	Soggetti	57
4.2	Acquisizione dei dati fMRI	57
4.3	Paradigma Sperimentale	58
4.4	Analisi dei dati	59
4.4.1	Pre-Processing	59
4.4.2	GLM: General Linear Model	61
4.4.3	Analisi di gruppo	65
4.4.4	Modelli	67
4.4.5	Selezione del modello ottimo	72
5	Risultati	75
5.1	Analisi sui singoli soggetti	75
5.1.1	Soggetti che presentano quattro aree di attivazione	75
5.1.2	Soggetti che presentano tre aree di attivazione	79
5.1.3	Modello ottimo	81
5.2	Analisi di gruppo	82
6	Conclusioni	95
A	Stima dei parametri e degli iperparametri con EM	99

Elenco delle figure

1.1	$T2^*$ in condizione di riposo e attivazione	3
1.2	Risposta BOLD ad uno stimolo	5
1.3	Risposta emodinamica: forme diverse	6
1.4	Risposta emodinamica: diverse fasi	7
1.5	Segnale BOLD, CBF e CBV	8
1.6	Disegno sperimentale di fMRI	9
2.1	Aree di Broadmann	14
2.2	Aree del linguaggio	16
2.3	Tipologie di connettività	17
2.4	Connettività anatomica: immagine DTI	18
2.5	Connettività anatomica: Fiber Tracking	18
2.6	Metodi d'indagine della connettività funzionale	20
2.7	Connettività effettiva: modello SEM	24
3.1	Schema del DCM sul sistema visivo	31
3.2	Struttura generale del DCM	34
3.3	Livello neuronale: parametri di connettività	36
3.4	Neuronal state equations sul sistema visivo	38
3.5	Parametri del DCM: costanti di velocità	39
3.6	Modello emodinamico	40
3.7	Schema completo del DCM	45
3.8	<i>Scaling parameter</i> σ	48
3.9	<i>Inference</i> sui parametri	52
4.1	Risposte emodinamiche diverse	63
4.2	Design matrix per diversi disegni sperimentali	64
4.3	Design matrix per singolo soggetto	65

4.4	Mappe di attivazione (SPM8) con e senza correzione FWE . . .	66
4.5	Aree motorie (singolo soggetto)	67
4.6	Conjunction analysis (SPM8)	68
4.7	Aree motorie (DCM)	69
4.8	Modelli senza la reciproca connessione SM1i-CER	71
4.9	Modelli con la reciproca connessione SM1i-CER	72
4.10	Modelli con tre aree di attivazione	73
4.11	Modelli validi, ma non studiati in questa tesi	74
5.1	Aree di attivazione sui nove soggetti	76
5.2	Soggetto con 4 aree di attivazione: modelli 1 e 2	77
5.3	Soggetto con 4 aree di attivazione: modelli 3 e 4	78
5.4	Soggetto con 4 aree di attivazione: modelli 5 e 6	79
5.5	Soggetto con 4 aree di attivazione: modelli 7 e 8	80
5.6	Soggetto con 3 aree di attivazione: modelli 1' e 2'	81
5.7	Soggetto con 3 aree di attivazione: modelli 3' e 4'	82
5.8	Valori di AIC per i singoli soggetti (4 aree di attivazione) . . .	85
5.9	Valori di AIC per i singoli soggetti (3 aree di attivazione) . . .	86
5.10	Valori di AIC per i singoli soggetti (3 aree di attivazione) . . .	86
5.11	Aree motorie (analisi di gruppo)	87
5.12	Analisi di gruppo: risultati dei modello 1 e 2	88
5.13	Analisi di gruppo: risultati dei modello 3 e 4	89
5.14	Analisi di gruppo: risultati dei modello 5 e 6	90
5.15	Analisi di gruppo: risultati dei modello 7 e 8	91
5.16	Analisi di gruppo: valori di AIC	92
5.17	Analisi di gruppo: predizione del modello migliore	93
5.18	Analisi di gruppo: predizione del modello peggiore	93

Sommario

Questa tesi tratta dello studio della connettività effettiva tra le aree cerebrali motorie, mediante il Dynamic Causal Model (DCM). I capitoli sono divisi come segue:

- il **Capitolo 1** fornisce una panoramica generale sulla risonanza magnetica funzionale, soffermandosi, in particolare, sui processi fisiologici alla base del segnale BOLD e sulla risposta emodinamica legata all'attività cerebrale, dovuta ad un determinato stimolo. Si descrivono, poi, le possibili tipologie di design sperimentale che si possono realizzare nella sessione di acquisizione;
- il **Capitolo 2** tratta la connettività. Nella prima parte si fornisce una distinzione tra le teorie del *localizationism* e del *connectionism*, soffermandosi poi sui concetti di *functional specialization* e *functional integration*. Quest'ultima viene discussa in modo più approfondito, descrivendo le tre possibili tipologie di connettività che la caratterizzano: la connettività anatomica-strutturale, la connettività funzionale e la connettività effettiva;
- il **Capitolo 3** descrive il Dynamic Causal Model (DCM). La parte introduttiva fornisce un confronto tra il DCM e le metodiche d'analisi convenzionale, e la relazione tra il DCM, il disegno sperimentale e l'*inference*. Nel secondo paragrafo si analizza in modo approfondito la struttura del DCM, trattando separatamente il livello neuronale ed il livello emodinamico. Si discutono, quindi, i prior neuronali ed emodinamici necessari per la stima Bayesiana e si fornisce una descrizione dello stimatore utilizzato (*Expectation Maximization*). Nella parte finale del capitolo si descrive l'*inference* sui parametri e il Bayesian Model Selection, ossia il criterio di selezione del modello ottimo;

- il **Capitolo 4** è relativo a materiali e metodi. Nella sezione ‘Analisi dei dati’ si descrivono i passaggi di *pre-processing* eseguiti sui segnali, la successiva applicazione del General Linear Model (GLM) per ottenere le aree di attivazione sui singoli soggetti e l’analisi di gruppo. Nei paragrafi seguenti si discutono le caratteristiche dei modelli testati e il criterio di selezione del modello ottimo;
- il **Capitolo 5** è dedicato ai risultati, suddivisi tra quelli relativi all’analisi sui singoli soggetti e quelli relativi all’analisi di gruppo. I primi sono ulteriormente ripartiti tra i soggetti che presentano 4 e 3 aree di attivazione;
- il **Capitolo 6** è riservato alle conclusioni.

Introduzione

Uno dei principali obiettivi delle neuroscienze è cercare di comprendere le relazioni che intercorrono tra la struttura e le funzioni delle diverse aree dell'encefalo. Le moderne tecniche di neuroimaging, come, ad esempio, la risonanza magnetica funzionale (fMRI), grazie ad un'elevata risoluzione spaziale, permettono di indagare in modo preciso e totalmente non invasivo i cambiamenti che avvengono nell'attività cerebrale in seguito all'esecuzione di uno specifico compito. Grazie a questo principio si è constatato, negli ultimi anni, un crescente interesse della ricerca nell'indagine dell'architettura funzionale del cervello e, in particolare, della connettività.

Questa tesi si pone come obiettivo quello di determinare la connettività effettiva tra le aree cerebrali motorie, mediante il Dynamic Causal Model (DCM). La connettività effettiva rappresenta l'influenza causale che un'area cerebrale esercita su un'altra area e si distingue dalla connettività funzionale, perchè permette di valutare il verso con cui avviene questa interazione. Esistono diverse metodologie per studiare la connettività effettiva, quali lo Structural Equation Modelling (SEM), il Multivariate Autoregressive Model (MAR) e il Psycho-Physiological Interactions (PPI), le quali presentano, però, delle limitazioni dovute, ad esempio, al ridotto numero di parametri e quindi di connessioni stimabili e al fatto che non vengono analizzate direttamente le serie temporali, bensì la covarianza dei dati (SEM).

Il DCM, metodo introdotto da Friston nel 2003, esula da queste limitazioni e risulta, di conseguenza, un modello molto complesso. Esso è caratterizzato da due differenti livelli: un livello neuronale ed uno emodinamico. Il primo è costituito dalle regioni cerebrali che si attivano durante un determinato task, le quali interagiscono tra loro mediante le connessioni intrinseche (connessione A). Il livello neuronale, inoltre, è interessato da un input esterno, che può entrare nel sistema in due diversi modi, ossia influenzando direttamente

la specifica area cerebrale (connessione C), oppure modulando le connessioni intrinseche (connessione B). L'obiettivo è quello di stimare i parametri A, B e C, al fine di caratterizzare la connettività relativa a un determinato sistema cerebrale. Tuttavia, il livello neuronale è un livello hidden, ossia non indagabile direttamente, mentre il dato rilevabile è costituito dalle immagini fMRI. Risulta, pertanto, necessario un livello emodinamico che permetta di legare le variabili elettriche del livello neuronale ai segnali emodinamici acquisiti. Il *full forward model*, che si ottiene considerando queste due componenti del DCM, è costituito dalla predizione del modello (funzione di tutti i parametri e dell'ingresso), da dei confound, ossia influenze di altro tipo che possono entrare in gioco, e da un termine d'errore gaussiano. La stima avviene mediante l'algoritmo iterativo Expectation Maximization (EM), che identifica i parametri minimizzando la discrepanza tra il *full forward model* e i dati acquisiti. Poichè lo stimatore EM lavora in ambito Bayesiano è necessario fornire dei prior sui parametri, sia per il livello neuronale, che per il livello emodinamico. Ciò che si ottiene è la distribuzione a posteriori dei parametri, data in termini di media e di probabilità che la distribuzione stessa superi una determinata soglia.

In questa tesi si è valutata la possibile configurazione della connettività effettiva esistente tra le aree cerebrali motorie, testando diverse realizzazioni del DCM sulle regioni di attivazione, determinate da immagini fMRI acquisite durante un movimento di adduzione del pollice della mano destra. I diversi modelli sono stati realizzati sulla base di informazioni fisiologiche edotte dalla letteratura e con la consulenza di un neurologo esperto.

Capitolo 1

Funcional Magnetic Resonance Imaging: fMRI

La risonanza magnetica funzionale è uno strumento d'indagine fondamentale in campo neurologico. È una tecnica completamente non invasiva e permette di localizzare l'attività cerebrale con una buona accuratezza temporale, ma soprattutto con una risoluzione spaziale millimetrica. L'fMRI misura la variazione dell'ossigenazione sanguigna nel tempo (segnale BOLD, Blood Oxygenation Level Dependent), legata all'attività neuronale che viene generata in uno specifico contesto sperimentale. Nel seguito si descriveranno brevemente le basi fisiologiche su cui si basa la risonanza magnetica funzionale e i design sperimentali maggiormente utilizzati (Jezzard et al., 2003; Huettel et al., 2004; Lazar, 2008; Buxton, 2009).

1.1 Il segnale BOLD e la risposta emodinamica HDR

Esistono essenzialmente due metodiche per ottenere delle immagine relative all'attività cerebrale: la prima consiste nel misurare le conseguenze dirette dell'attività neurale, come le variazioni dei potenziali elettrici o dei gradienti chimici, la seconda prevede, invece, di vagliare le variazioni metaboliche correlate all'attività neurale, che non rappresentano in modo diretto l'attività stessa. La risonanza magnetica funzionale appartiene a quest'ultima tipologia, in quanto misura il livello di ossigenazione sanguigna, che varia a seconda della richiesta metabolica dei neuroni attivi. Questa grandezza è definita se-

gnale BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent).

In particolare, nelle immagini di risonanza magnetica funzionale, il marcatore utilizzato, per vagliare l'attivazione delle aree cerebrali, è l'emoglobina. Essa, infatti, possiede proprietà magnetiche differenti a seconda che si trovi legata all'ossigeno o libera da tale molecola: l'emoglobina ossigenata (*Hb*) presenta caratteristiche diamagnetiche, ovvero non possiede elettroni spaiati ed ha momento magnetico nullo, mentre l'emoglobina deossigenata (*dHb*) è paramagnetica e possiede, quindi, elettroni spaiati e momento magnetico diverso da zero. Il sangue completamente deossigenato è caratterizzato da una suscettibilità magnetica, cioè da un'intensità della magnetizzazione del materiale, maggiore del 20% rispetto a quella del sangue completamente ossigenato. L'fMRI sfrutta questa proprietà magnetica dell'emoglobina, che viene, pertanto, utilizzata come mezzo di contrasto endogeno.

Tramite esperimenti su animali è stato dimostrato che, con campi magnetici B_0 maggiori di $1.5T$ e immagini $T2^*$ -pesate, è possibile misurare un segnale dipendente dal livello di emoglobina deossigenata, presente nelle diverse regioni cerebrali. Nello specifico, la presenza di *dHb* crea una disomogeneità di campo, che riduce i valori di $T2^*$ (tempo di rilassamento trasversale).

L'attività neuronale è riflessa dall'emodinamica cerebrale locale, in quanto il flusso sanguigno aumenta nelle regioni interessate dall'attività stessa. Questo avviene perchè l'attività cellulare coinvolge una serie di processi metabolici, richiedenti ATP (Adenosina Trifosfato). Tale molecola viene sintetizzata nei mitocondri a partire da glucosio e ossigeno, il quale viene fornito attraverso l'emoglobina contenuta all'interno dei globuli rossi. Per soddisfare questa maggior richiesta di ossigeno si riscontra un aumento locale del flusso di sangue, dovuto al reclutamento o alla dilatazione dei capillari e/o ad un aumento della velocità del sangue.

Potrebbe sembrare logico che un aumento dell'attività neurale determini un maggiore consumo di ossigeno e un conseguente incremento dell'*dHb*, che, a sua volta, comporterebbe una diminuzione del segnale BOLD, tuttavia, le osservazioni sperimentali dimostrano che queste relazioni risultano essere molto più complesse. Infatti, durante un aumento di attività nervosa, non solo non si riscontra un decremento del segnale acquisito, bensì si misura addirittura un aumento del segnale MR (Magnetic Resonance), indice del fatto che l'attivazione determina un incremento dell'ossigenazione del sangue

(Figura 1.1).

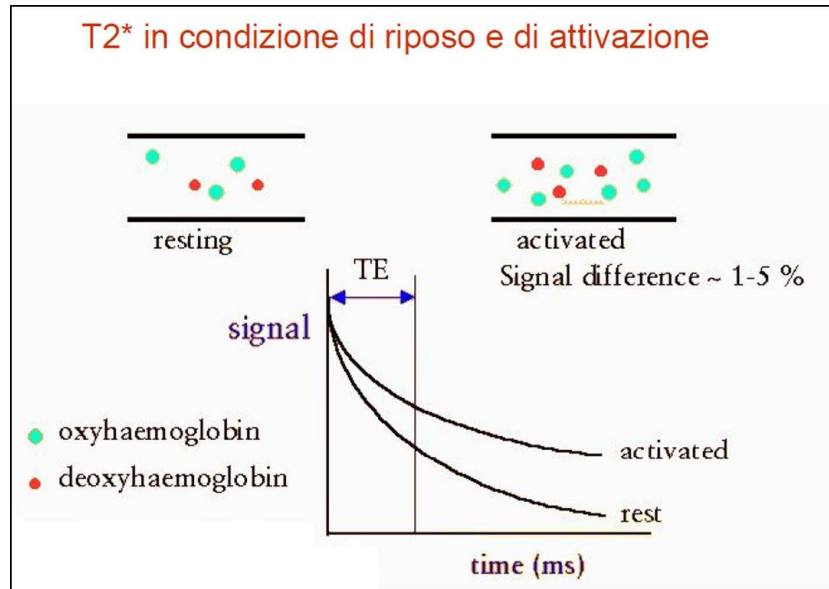


Figura 1.1: In figura si riporta graficamente l'effetto, sul segnale MR pesato in $T2^*$, della diminuzione locale di emoglobina deossigenata nelle aree attivate, rispetto a quelle in condizione di rest. Questa variazione della concentrazione di dHb comporta un aumento del segnale misurato nelle regioni caratterizzate da attività (Bertoldo, 2009).

Questo fenomeno si può giustificare analizzando più in profondità i rapporti esistenti tra il flusso sanguigno cerebrale, il livello di ossigenazione del sangue e il metabolismo. Tuttavia non esiste ancora un modello universalmente accettato del rapporto tra il segnale BOLD, il flusso sanguigno e l'apporto di ossigeno. È stato misurato sperimentalmente, che una piccola frazione del glucosio, portato dal flusso sanguigno ai neuroni, non è metabolizzata in modo ossidativo, ma tramite glicolisi anaerobica. Tale discrepanza tra metabolismo del glucosio e flusso ha implicanze, talvolta apprezzabili, nel segnale BOLD, anche se l'effetto non è ancora completamente chiaro. Questa evidenza permette di spiegare l'aumento del segnale MR durante l'attività neurale, nonostante la presenza dell'emoglobina deossigenata dovrebbe causarne la diminuzione, ovvero l'apporto di ossigeno è maggiore del suo consumo effettivo nell'area interessata. In tale regione, il flusso sanguigno apporta sangue ossigenato ed elimina la dHb . Il segnale BOLD rilevato a seguito di attività neurale, non è una conseguenza di un incremento di emoglobina ossigenata,

bensì è dovuto al fatto che questa sostituisce l'emoglobina deossigenata, che causa una soppressione del segnale MR.

Esistono molteplici studi, basati su differenti ipotesi, che cercano di spiegare la discrepanza tra il consumo di glucosio e l'utilizzazione di ossigeno. Uno di questi si basa sul fatto che la variazione di emoglobina ossigenata e deossigenata segue un andamento differente nel tempo. La concentrazione di *dHb*, infatti, aumenta rapidamente raggiungendo un picco circa 2 s dopo lo stimolo, quindi velocemente decresce fino a raggiungere (6 s dopo lo stimolo) un valore inferiore rispetto a quello basale pre-stimolo. Al contrario, la concentrazione di *Hb* risponde con un leggero ritardo alla stimolazione, ma, dopo circa 5-6 s, raggiunge un valore di picco nettamente maggiore rispetto alla deossiemoglobina. Inoltre, tale aumento della concentrazione dell'emoglobina ossigenata si rileva su un'area più estesa rispetto a quella interessata dall'attività nervosa. I risultati di questo studio portano a giustificare il disaccoppiamento tra metabolismo del glucosio e dell'ossigeno, non come determinato dall'incremento di glicolisi anaerobica, ma come effetto di una sovra-perfusione di sangue ossigenato, maggiore dell'effettiva richiesta metabolica e su un'area più estesa di quella attivata.

Un secondo studio sulla disparità tra consumo di glucosio e utilizzo di ossigeno si basa sulla formulazione del modello del tempo di transito. Tale modello si basa su quattro assunzioni:

- l'aumento del flusso sanguigno, in risposta all'attività neurale, è determinato dall'aumento della sua velocità, piuttosto che dall'incremento del numero di capillari tramite i quali il sangue fluisce;
- il trasporto di ossigeno dal sangue al tessuto cerebrale è limitato da diversi fattori e la quantità di ossigeno estratto è proporzionale al tempo di transito nel letto capillare. All'aumentare della velocità del sangue il tempo di transito diminuisce;
- virtualmente tutto l'ossigeno estratto dai capillari è metabolizzato, perciò non esiste ossigeno residuo nel tessuto cerebrale;
- non tutto il glucosio che entra nel tessuto cerebrale è metabolizzato.

L'aumento della velocità del flusso sanguigno, in seguito ad attività neurale, riduce il tempo di transito del sangue diminuendo la probabilità totale che

ciascuna molecola di ossigeno venga estratta. La velocità di trasferimento dell'ossigeno ai tessuti è, perciò, una funzione non lineare della velocità del flusso. Per questo, per determinare un piccolo incremento della quantità di ossigeno estratto è necessario un incremento non proporzionale e maggiore di flusso sanguigno.

Un terzo studio ha portato, invece, alla formulazione del *balloon model* (interpretazione più diffusamente utilizzata ora), che descrive i cambiamenti del volume sanguigno in funzione dell'aumento del flusso sanguigno, durante l'attività cerebrale. L'aumento del flusso genera un inflow nel sistema venoso maggiore dell'outflow, determinando un aumento del volume sanguigno e quindi un' 'espansione' del sistema stesso. Nei vasi di piccole dimensioni l'aumento di volume iniziale è caratterizzato dalla presenza dell'emoglobina deossigenata, che per prima viene eliminata dai capillari. Tale aumento di emoglobina deossigenata causa un'iniziale diminuzione del segnale MR (initial dip). L'aumento del segnale acquisito è dovuto ad un aumento sproporzionato del flusso sanguigno rispetto alle reali necessità, il che provoca un'incremento locale della concentrazione di Hb e una relativa diminuzione della concentrazione di dHb . Il successivo undershoot è causato, invece, da uno sbilanciamento tra le velocità con cui il flusso e il volume ematico ritornano a livello basale (Figura 1.2).

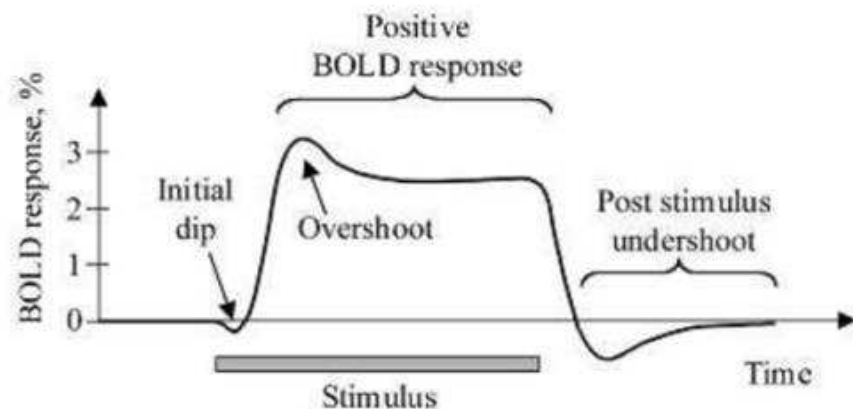


Figura 1.2: In figura è rappresentato l'andamento della risposta BOLD ad uno stimolo. Si evidenziano, in particolare, l'initial dip, il successivo aumento del segnale e l'undershoot finale (Pizzolato, 2008).

Si sottolinea che il segnale BOLD relativo ad un voxel rappresenta sì la

quantità totale di emoglobina deossigenata presente, ma è influenzato anche dal rumore proveniente da diverse fonti. Spesso tale rumore raggiunge ampiezze prossime a quelle del segnale e questo è uno dei principali problemi nell'analisi dei segnali BOLD fMRI.

La risposta emodinamica (HDR) è definita come la variazione del segnale di risonanza magnetica. La HDR non ha una forma costante, ma varia in funzione dello stimolo dal quale viene generata. Solitamente, un incremento della frequenza di stimolazione e, quindi, dell'attività nervosa, aumenta l'ampiezza del HDR, mentre un prolungamento della sua durata, comporta un aumento di durata della HDR stessa (Figura 1.3).

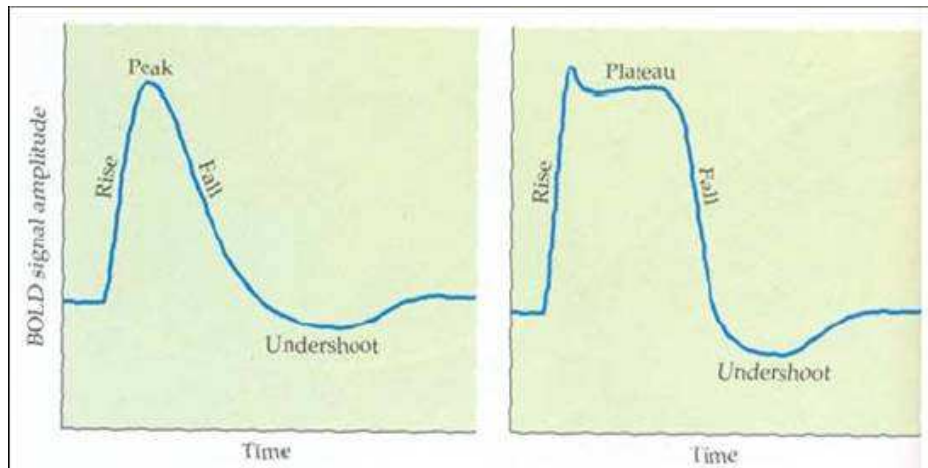


Figura 1.3: La forma della risposta emodinamica varia in funzione dello stimolo. Nell'immagine di sinistra è rappresentata la HDR per uno stimolo impulsivo, mentre nell'immagine di destra è riportata la HDR per uno stimolo di durata maggiore (Huettel et al., 2004).

È, comunque, difficile determinare l'esatta relazione tra gli eventi neurali e la forma della HDR, in quanto le dinamiche che li caratterizzano sono completamente differenti. Le risposte neurali, infatti, si esauriscono in poche decine di ms, mentre le prime variazioni della risposta emodinamica si osservano dopo 1 o 2 s. Questo si verifica poiché il segnale misurato è originato da una sequenza di eventi fisiologici, che portano alla generazione della HDR (Figura 1.4).

Dopo un'iniziale latenza, caratterizzata dall'eventuale presenza dell'initial dip, le richieste metaboliche dovute all'attività neuronale, aumentano sopra i livelli basali e determinano un aumento del flusso entrante di sangue

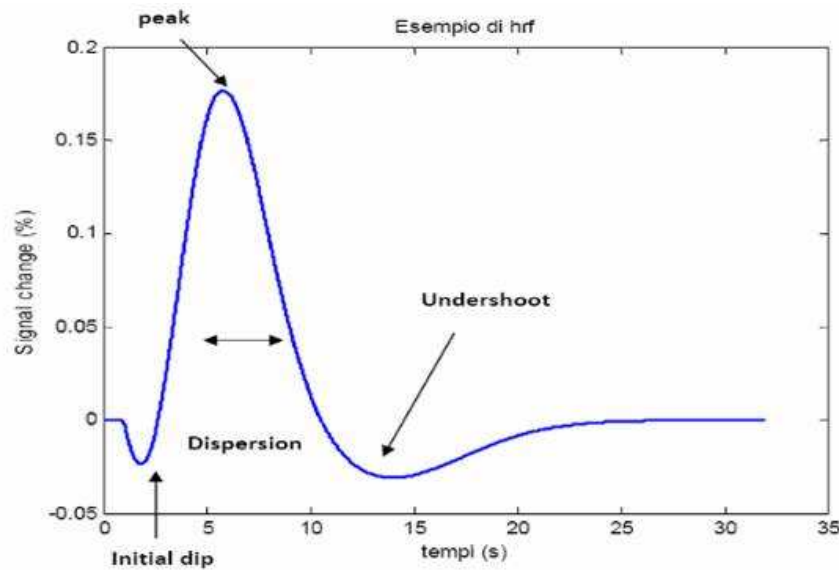


Figura 1.4: Durata temporale delle diverse fasi della risposta emodinamica (Candeo, 2009).

ossigenato. Se la quantità di sangue ossigenato trasportato nell'area supera la sua estrazione, si determina una diminuzione dell'emoglobina deossigenata all'interno del voxel. Di conseguenza, il segnale BOLD aumenta sopra il valore basale circa 2 s dopo l'inizio dell'attività nervosa, crescendo fino ad un valore di picco raggiunto circa dopo 5 s per stimoli di breve durata. Se l'attività neurale permane nel tempo, allora il valore di picco si mantiene e si determina quello che si definisce plateau. Dopo aver raggiunto il picco, il segnale BOLD diminuisce di ampiezza fino ad un valore inferiore a quello di baseline e tale effetto è denominato undershoot post-stimolo. La presenza di questo andamento è spiegata considerando le variazioni del flusso ematico (CBF) e del volume sanguigno (CBV) (Figura 1.5).

Quando l'attività neurale si esaurisce, il flusso sanguigno diminuisce più rapidamente del volume ematico. La situazione che si verifica è quella in cui il volume rimane sotto il livello basale, mentre il flusso torna a livello basale, quindi è come se fosse presente una più grande quantità di emoglobina deossigenata. Il segnale fMRI complessivo risulta, pertanto, inferiore al livello basale. Con il lento ritorno del volume ematico a livelli normali, il segnale fMRI torna a crescere fino al livello basale, ponendo fine all'undershoot.

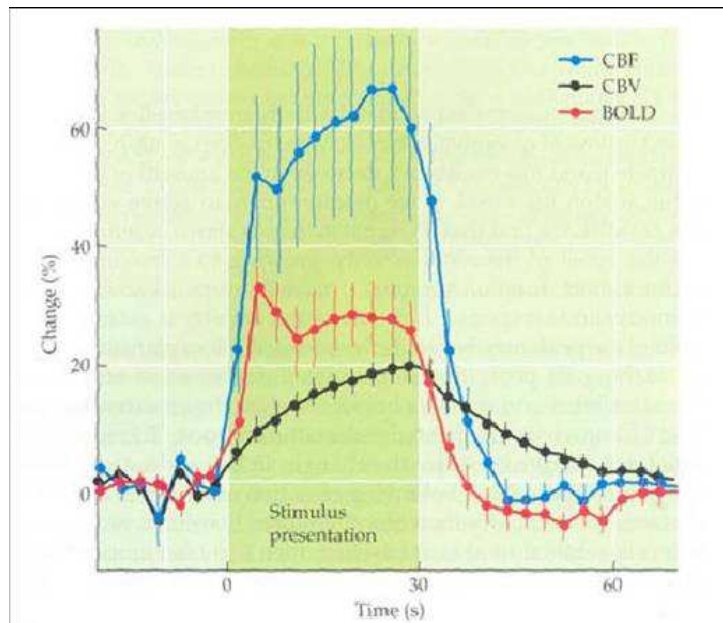


Figura 1.5: In figura si riportano gli andamenti nel tempo del flusso ematico (CBF), del volume sanguigno (CBV) e del segnale BOLD (Huettel et al., 2004).

1.2 Il disegno sperimentale

Il disegno sperimentale rappresenta l'organizzazione della sessione di acquisizione: in base alle caratteristiche dello specifico stimolo è possibile indurre delle precise variazioni nel segnale BOLD, le quali sottendono alle ipotesi testate. Esistono principalmente tre tipologie di disegno sperimentale: *blocked design*, *event-related design* e *mixed design* (Figura 1.6).

Nel disegno sperimentale *blocked design* vengono alternati nel tempo degli intervalli di task e degli intervalli di rest. Il blocco di task è composto da una serie di stimoli uguali e successivi, che possono essere motori, sensitivi o cognitivi, mentre durante il blocco di rest il soggetto rimane in condizioni di riposo. Queste due condizioni sono necessarie per poter ottenere delle informazioni sulle aree che si attivano, confrontando il BOLD acquisito tra la fase di attivazione con quello basale. Il disegno sperimentale a blocchi, grazie al fatto che le risposte ai singoli stimoli ripetuti numerosamente si sommano fra loro in modo lineare, permette di avere un elevato rapporto segnale-rumore (SNR) e, quindi, un alto potere di discriminazione dei voxel. Tuttavia, è un metodo poco sensibile alla forma della HDR ed il suo utilizzo è limitato so-

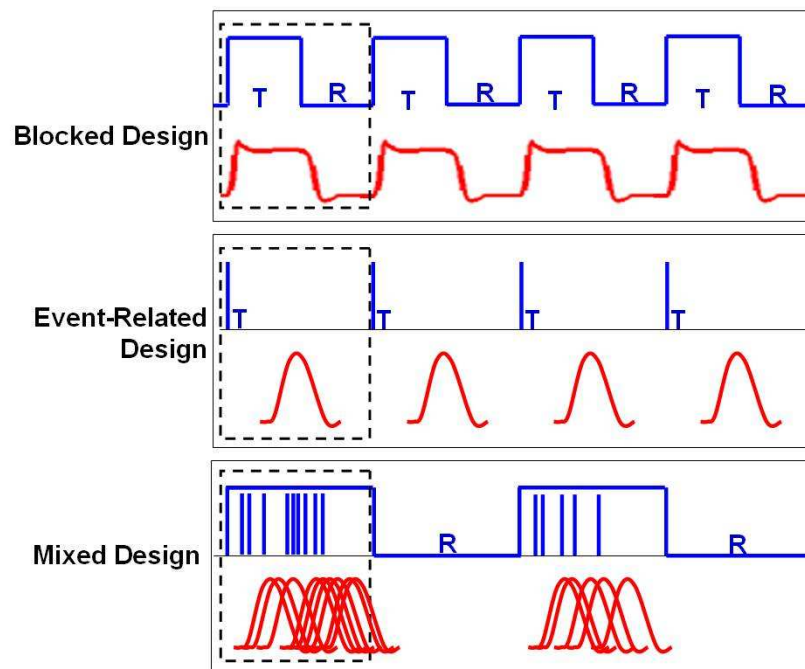


Figura 1.6: In figura si riporta una schematizzazione dei tre disegni sperimentali utilizzati nel fMRI. In blu viene rappresentato l'alternarsi di condizioni di *task* e di *rest*, mentre in rosso si riproduce la risposta emodinamica attesa. Nella finestra in alto si trova il *blocked design*, in quella centrale l'*event-related design* e in quella in basso il *mixed design*.

lamente ad alcune tipologie di task. Inoltre, vista la durata dell'intervallo di stimolazione, si rilevano frequentemente dei movimenti indesiderati del soggetto, che inficiano la qualità del segnale acquisito.

Il disegno sperimentale *event-related*, a differenza del *blocked design*, presenta gli stimoli singolarmente e in modo random. Il *task* ha, quindi, una durata limitata e si presenta in maniera casuale, sia nel tempo che nell'ordine di esecuzione (nel caso in cui stimoli diversi siano presenti nella stessa sessione). L'intervallo temporale che separa due eventi successivi è detto interstimulus interval (ISI) e assume, tipicamente, valori nel range 2 – 20 s. Il segnale BOLD che si acquisisce in questo caso è notevolmente più debole rispetto a quello relativo ad un blocco ed è maggiormente corrotto da rumore, dal momento che rappresenta la risposta ad un singolo evento. Per migliorare l'SNR è, quindi, necessario acquisire più scansioni cerebrali complete. Il fatto di presentare lo stimolo in maniera random, permette di evitare fenomeni di

abituazione o di apprendimento da parte del soggetto, il che potrebbe dar luogo a strategie neurali compensatorie, che andrebbero ad inficiare la determinazione delle aree di attivazione dello specifico stimolo.

L'*event-related design* permette di stimare efficacemente l'andamento temporale della risposta emodinamica, in quanto, tra uno stimolo e l'altro, il segnale BOLD ha il tempo di tornare al livello basale. Due eventi successivi devono, pertanto, essere separati da un intervallo di tempo minimo: se questa condizione non viene rispettata, la HDR misurata non è corretta. Il valore dell'ISI è, dunque, cruciale, ma spesso non è possibile stabilire a priori il suo valore ottimale.

Il terzo tipo di disegno sperimentale, ossia il *mixed design*, nel quale gli stimoli vengono presentati in modo casuale all'interno di blocchi temporali. Potenzialmente, questo metodo permette una maggior potenza sperimentale, ma il grosso limite alla sua applicabilità è costituito dalla complessa fase di analisi richiesta.

In conclusione, non esiste un disegno sperimentale ottimale, ma la scelta dello stesso dipende dallo scopo del singolo esperimento fMRI.

Capitolo 2

Connettività

Ad oggi è ben noto che, in ambito fisiologico, sono molteplici i meccanismi che concorrono a creare delle connessioni all'interno del cervello. La connettività è il risultato dell'interazione tra fattori genetici, epigenetici e meccanismi dipendenti dall'esperienza. In utero l'elemento predominante è quello genetico, mentre dopo la nascita le connessioni sono progressivamente rifinite e rimodellate grazie ai meccanismi di plasticità, modulati dagli stimoli e dall'esperienza. Questi cambiamenti perdurano fino all'età adulta e questa continua riorganizzazione delle connessioni va a definire le caratteristiche comportamentali e di apprendimento durante tutta la vita.

Fisiologicamente esistono, quindi, due fattori principali che determinano la connettività: la *plasticità cellulare*, che caratterizza la migrazione cellulare e la neurogenesi nell'encefalo in via di sviluppo, e la *plasticità sinaptica*, che fa riferimento alla modellazione 'attività-dipendente' del pattern e all'intensità delle connessioni sinaptiche. Quest'ultimo tipo di plasticità comprende cambiamenti nella forma, nell'espressione e nella funzione delle sinapsi. È un importante attributo funzionale delle connessioni e si presume che sia alla base dell'apprendimento percettivo e procedurale della memoria (Friston et al., 2007).

La distribuzione delle funzioni e delle connessioni nell'encefalo umano è, comunque, ancora sconosciuta per molti aspetti: differenti teorie interpretative e metodologie di analisi sono state sviluppate nel corso degli anni e rappresentano tuttora un ampio campo di studio.

2.1 *Localizationism e Connectionism*

Nel diciannovesimo secolo, i principi che hanno costituito i pilastri del modo di interpretare le funzioni corticali prendono il nome di teoria del ‘localizationism’ e teoria del ‘connectionism’.

Il *functional localizationism* è storicamente fatto risalire alla “frenologia”, teoria ideata dal medico tedesco Franz J. Gall, secondo la quale le singole funzioni psichiche dipenderebbero da particolari zone o regioni del cervello. Il *localizationism* prevede, più in generale, di associare ad ogni area corticale una sola e specifica funzione cognitiva, con una mappatura definita “one-to-one”. Nell’ambito del neuroimaging questo concetto si traduce nel fatto che le correlazioni voxel-wise significative tra le serie temporali del segnale BOLD e la funzione cognitiva d’interesse si dovrebbero riscontrare solo all’interno di un’unica area cerebrale e che tale regione non dovrebbe presentare analoghe correlazioni con altre funzioni cognitive. Situazione simili, tuttavia, non si sono mai osservate.

In termini neurofisiologici, non esistono unità neurali isolate, quindi, un’interpretazione meccanicistica delle funzioni cerebrali locali dovrebbe essere basata su un modello di sistema, che considera la presenza di interazioni tra le differenti aree (Stephan, 2004). Ciò che si riscontra generalmente è, infatti, l’esistenza di una molteplicità di “one-to-many” e “many-to-one” relazioni struttura-funzione su tutti i domini cognitivi (Price and Friston, 2002; Friston, 2003). Questa nozione è supportata da molte evidenze sperimentali. Si consideri, ad esempio, il sistema visivo, caratterizzato da aree altamente specializzate. È stato dimostrato che l’elaborazione dell’informazione locale è fortemente modulata da un’ampia gamma di altre informazioni contestuali, mediante processi che dipendono da connessioni backward provenienti da aree gerarchicamente superiori (Moore and Armstrong, 2003).

A livello dell’elaborazione visiva nell’area della corteccia visiva primaria (V1) si sono osservati importanti effetti contestuali in assenza di variazioni degli stimoli, quali, ad esempio, la modulazione delle risposte neuronali per effetto della memoria implicita (Olson et al., 2001), dell’attenzione spaziale (Motter, 1993) o dell’attenzione feature-based (Murray and Wojciulik, 2004; Mehta et al., 2000). Un’altra prova a discapito del *functional localizationism* è data dalle sindromi di disconnessione, nelle quali l’elaborazione dell’informazione locale in un’area anatomicamente intatta risulta alterata quando il

suo input, proveniente da aree remote, risulta modificato a causa di lesioni nella materia bianca o nella materia grigia (Absher et al., 1993).

La sola teoria del ‘localizationism’ non è, pertanto, adatta e sufficiente a spiegare l’architettura funzionale del cervello. Essa è stata sostituita dal principio del ‘connectionism’: le aree che costituiscono un dato sistema vengono sì considerate funzionalmente specializzate, ma l’esatta natura delle loro elaborazioni dipende dal particolare contesto in cui avvengono, risentendo, ad esempio, dell’influenza degli effetti temporali o della natura degli input provenienti da altre aree (Stephan, 2004).

Le funzioni cognitive sono esplicate, quindi, dal comportamento complessivo del sistema, in funzione dello specifico contesto neurale esaminato, ossia delle interazioni contesto-dipendenti tra le varie aree cerebrali interessate (McIntosh, 2000b). La teoria del ‘connectionism’ è meglio conosciuta in termini di *functional specialization* e *functional integration* (Friston, 1995, 2002b). Le strutture corticali che supportano una singola specifica funzione possono coinvolgere altre aree specializzate e la loro unione è mediata dall’integrazione funzionale. *Functional specialization* e *integration* non sono, quindi, due concetti esclusivi, bensì complementari: la specializzazione funzionale ha senso solo nel contesto dell’integrazione funzionale e viceversa (Friston et al., 2007).

2.2 Functional specialization

Il concetto di *functional specialization* presuppone che alcuni aspetti dell’elaborazione delle informazioni siano localizzati su specifiche regioni cerebrali, ma considera anche la possibilità che questa specializzazione possa essere anatomicamente segregata su aree corticali differenti. Le aree che risultano congiuntamente correlate a un determinato compito vengono considerate come gli elementi di un sistema distribuito, che rappresenta la base neurale del task cognitivo (Stephan, 2004). Il principio in base al quale vengono distinte e individuate le differenti regioni specializzate è quello della segregazione funzionale.

Questa si pone l’obiettivo di distinguere le diverse aree funzionali della corteccia cerebrale in base alle loro caratteristiche citoarchitettoniche, ossia sulla presenza, nelle diverse regioni, di cellule nervose caratterizzate da una speci-

fica struttura e disposizione spaziale. Sulla base di questi criteri, agli inizi del ventesimo secolo, Brodmann, neurologo tedesco, distinse 52 differenti aree sulla corteccia cerebrale umana e suggerì che ognuna di queste potesse avere una funzione distinta (Figura 2.1).

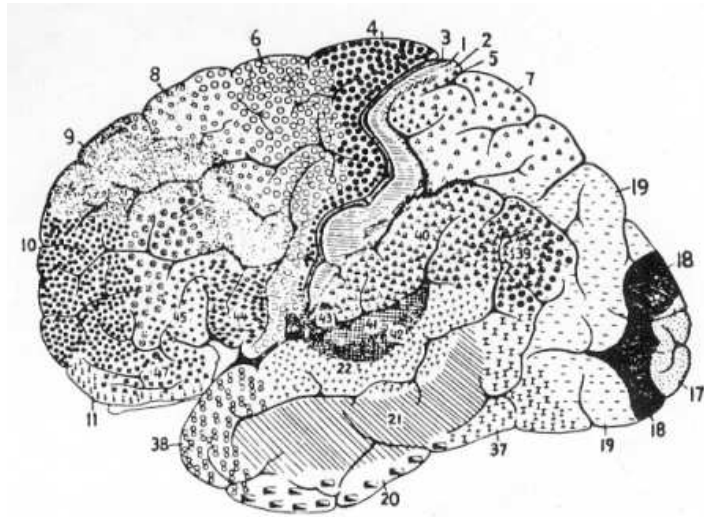


Figura 2.1: Veduta laterale dell'encefalo, sulla quale sono rappresentate alcune delle 52 aree funzionali definite da Brodmann (Kandel et al., 1994)

Molti studi hanno avvalorato la convinzione che sia effettivamente possibile definire in modo non equivoco le singole aree cerebrali sulla base di criteri indipendenti, quali la tipologia di cellule presenti, la loro disposizione in strati, le connessioni afferenti ed efferenti e, soprattutto, la loro funzione fisiologica.

Studi più recenti inducono a considerare la specializzazione funzionale come un principio cardine dell'organizzazione corticale e a ritenere che sia possibile suddividere il cervello in un numero di zone funzionali diverse ancora maggiore rispetto a quello identificato da Brodmann (Kandel et al., 1994). A livello pratico questo concetto si riflette nel fatto che, in un soggetto sottoposto a un determinato input sensorimotorio (attivo o passivo) o a un processo cognitivo, si verificano dei cambiamenti di attività nelle sole aree interessate dallo specifico task.

Da un punto di vista metodologico, invece, l'analisi della *functional specialization* richiede tests statistici voxel-wise per determinare la correlazione tra le serie temporali (ad esempio acquisite mediante la risonanza magnetica

funzionale) e le componenti del task (Stephan, 2004).

Si precisa, inoltre, che ciò che è localizzato nelle singole regioni cerebrali, non è un gruppo di facoltà mentali complesse ma un insieme di operazioni elementari. Le facoltà complesse derivano dalle connessioni reciproche di molteplici aree cerebrali: tutti i processi sono costituiti da una serie di meccanismi indipendenti di analisi e, anzi, anche il compito cognitivo più semplice richiede l'azione coordinata di diverse aree cerebrali distinte (Kandel et al., 1994), mediata dalla *functional integration*.

2.3 Functional integration

L'idea di *functional integration* fa riferimento alle interazioni esistenti tra le diverse popolazioni neuronali specializzate e a come queste interazioni siano condizionate dal contesto sensitivo-motorio o cognitivo (Friston et al., 2007).

Il primo a proporre l'idea di un'analisi distribuita delle informazioni all'interno del cervello fu Karl Wernicke, nel 1876. Egli, occupandosi di problemi del linguaggio, pubblicò un lavoro nel quale trattava di un particolare tipo di afasia, caratterizzato da disturbi nella comprensione del linguaggio, piuttosto che nell'espressione verbale. I pazienti di Wernicke erano in grado di parlare, ma non di capire; mentre i pazienti studiati fino ad allora, ad esempio dal neurologo francese Pierre P. Broca, riuscivano a capire ma non a parlare. Wernicke notò che questo nuovo tipo di afasia era dovuta a lesioni nella zona di connessione tra il lobo temporale con il lobo parietale e quello occipitale, piuttosto che dal danneggiamento di una specifica area del linguaggio, come nei pazienti di Broca. Da qui l'idea che soltanto le funzioni mentali più elementari, in rapporto con attività percettive e motrici semplici, fossero localizzate in aree corticali circoscritte e che fossero le interconnessioni fra queste aree funzionali a rendere possibile lo svolgimento delle funzioni intellettuali più complesse (Kandel et al., 1994).

Il ruolo di primaria importanza dato all'integrazione funzionale fra le diverse aree specializzate, coinvolte nello stesso task, si può evidenziare anche valutando la loro posizione reciproca. Si considerino, ad esempio, le regioni interessate nell'espressione del linguaggio. Wernicke ipotizzò che l'area di Broca fosse responsabile del programma motorio che coordina i movimenti

della bocca, necessari per sviluppare un discorso coerente. In Figura 2.2 si può notare come questa sia situata immediatamente davanti all'area motoria che controlla bocca, lingua, palato e corde vocali, ossia in una posizione ottimale per comunicare con le aree, la cui specifica funzione è strettamente connessa alla finalità della prima.

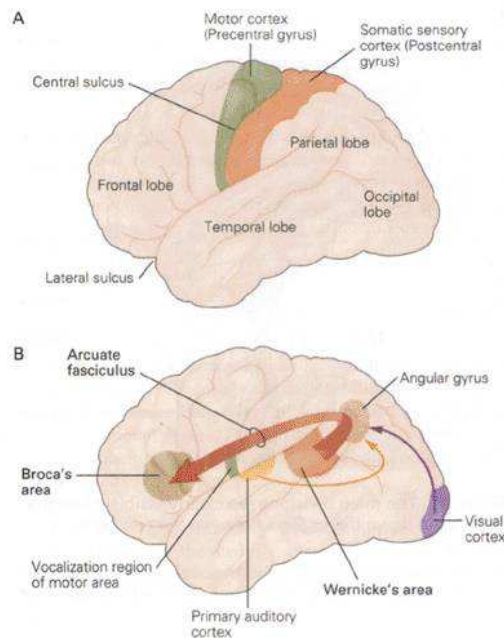


Figura 2.2: A) Profilo dell'emisfero sinistro. B) Alcune delle aree interessate nei processi del linguaggio. L'area di Wernicke elabora gli input uditivi ed è importante per la comprensione del discorso. Si trova vicino alla corteccia uditiva primaria e al giro angolare, che integra le informazioni acustiche con quelle provenienti da altre modalità sensoriali. L'area di Broca dà inizio al discorso organizzato in forma grammaticale. Essa è adiacente alla zona della corteccia motrice che controlla i meccanismi di vocalizzazione e che consente alla bocca e alla lingua di emettere parole (Kandel et al., 2000).

Un analogo esempio si ha considerando il lobo temporale, la cui funzione è legata alla percezione delle parole, cioè alla componente sensitiva del linguaggio. Anche quest'area è localizzata in modo adatto, in quanto è circondata dalla corteccia uditiva e da altre aree corticali (aree associative), che integrano informazioni acustiche, visive e somatiche in percezioni complesse (Kandel et al., 1994). Ad oggi è noto, inoltre, che anche regioni anatomicamente distanti cooperano tra loro al fine di realizzare uno specifico compito,

sia le aree coinvolte nel linguaggio, sia, come si vedrà nei capitoli successivi, quelle responsabili di un compito motorio.

Il concetto di analisi distribuita delle informazioni all'interno dell'encefalo è oggi uno dei cardini delle moderne concezioni di interpretare le funzioni cerebrali (Kandel et al., 1994). La *functional integration* è generalmente valutata esaminando le relazioni tra le attività in diverse aree cerebrali o cercando di spiegare l'attività in una determinata area in relazione ad attività localizzate altrove (Friston et al., 2007). Lo studio della *connettività* tra le diverse regioni cerebrali assume, quindi, un ruolo di primaria importanza nella comprensione dei meccanismi che sottostanno all'elaborazione delle informazioni nel cervello. Nell'analisi delle serie temporali di neuroimaging si possono distinguere tre differenti tipi di connettività: la *connettività anatomica-strutturale*, la *connettività funzionale* e la *connettività effettiva* (Figura 2.3).

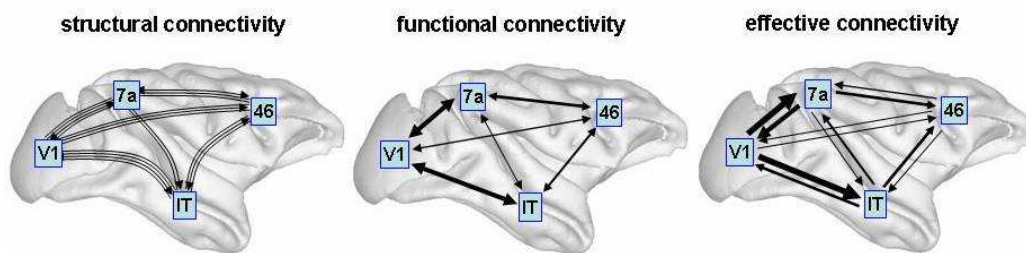


Figura 2.3: Rappresentazione schematica dei tre diversi tipi di connettività (Sporns, 2007)

2.3.1 Connettività anatomica-strutturale

La *connettività anatomica-strutturale* fa riferimento alla presenza di connessioni assoniche e la distribuzione dei fasci di fibre bianche viene stimata in Risonanza Magnetica mediante misurazione del diffusion tensor imaging (DTI). Questo è sensibile alla diffusione, dovuta all'attività termica, delle molecole d'acqua lungo una direzione pre-definita (Mori, 2007). Dal momento che la diffusione è vincolata dalle membrane delle cellule, alcune regioni del cervello, che presentano strutture cellulari altamente organizzate (come ad esempio i fasci di assoni nella materia bianca), mostrano una diffusione fortemente anisotropa rispetto ad altre aree cerebrali, caratterizzate, invece, da una pre-

dominanza di materia grigia (Beer et al., 2011). La direzione diffusiva delle molecole d'acqua permette di stimare l'orientamento delle fibre (Figura 2.4).

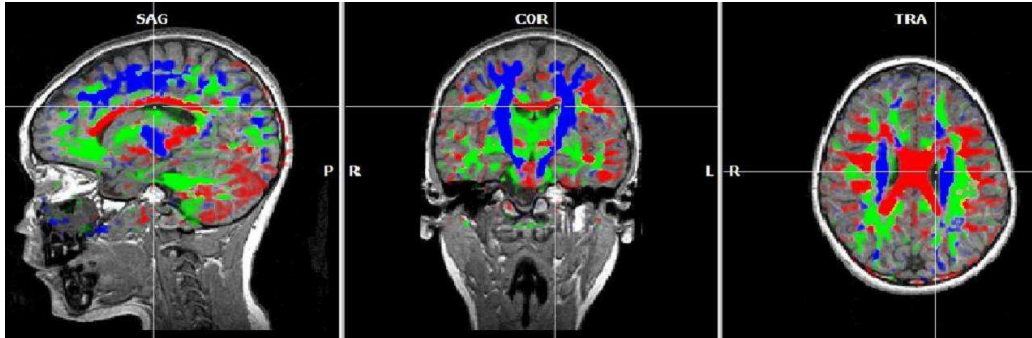


Figura 2.4: Immagini DTI nei tre piani anatomici (sagittale, coronale e trasversale). I tre differenti colori rappresentano la direzione dei tre assi x , y e z nello spazio. In questo caso le fibre caratterizzate da colore blu presentano uno sviluppo in direzione caudo-craniale, quelle rosse medio-laterale e quelle verdi antero-posteriore. In base al numero di gradienti, utilizzati per l'acquisizione delle immagini, si possono ottenere informazioni su un maggior numero di direzioni spaziali delle fibre.

Il problema di sintetizzare e visualizzare tali informazioni viene risolto mediante le tecniche di *fiber tracking*, che permettono di ricostruire l'andamento dei fasci di fibre (Figura 2.5).

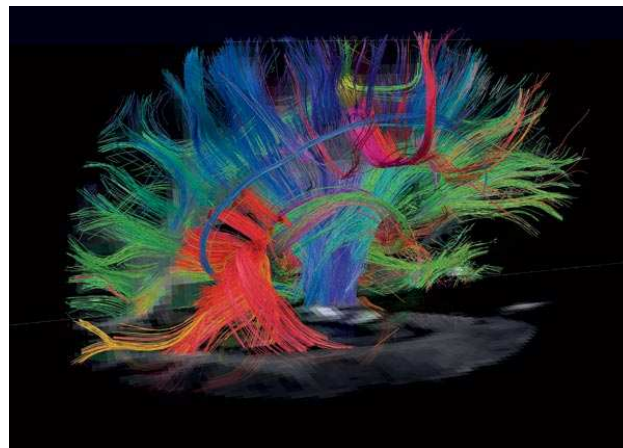


Figura 2.5: Risultato di ricostruzione dell'andamento dei fasci di fibre mediante le tecniche di *fiber tracking*, a partire dalle immagini di DTI (www.technologyreview.com, 2009).

Esistono differenti tipologie di *fiber tracking*, che possono essere divise essenzialmente in due gruppi: le tecniche basate su algoritmi di linee di propagazione e le tecniche basate sull'energia. Le prime usano l'informazione del tensore locale per ricostruire ogni step della propagazione, le altre considerano la minimizzazione dell'energia globale per determinare il *path* energeticamente più favorevole tra due specifici pixels (Mori and van Zijl, 2002).

2.3.2 Connettività funzionale

La *connettività funzionale* è definita come insieme di correlazioni temporali tra eventi neurofisiologici spazialmente remoti (Friston et al., 1993b). L'analisi di connettività funzionale si riferisce solamente alle dipendenze statistiche tra i dati misurati e non include conoscenze o assunzioni a riguardo della struttura e dei meccanismi del sistema neurale d'interesse. In questo senso lo studio della connettività funzionale è *model-free*. Questo tipo di indagine è appropriato se il sistema d'interesse è per gran parte sconosciuto, infatti i risultati dell'analisi di connettività funzionale possono essere utilizzati per generare delle ipotesi sul sistema stesso (Stephan, 2004).

È da sottolineare che, generalmente, non è di grande interesse la valutazione della connettività funzionale punto per punto, mentre informazioni importanti si possono dedurre dai patterns di attività correlate, sottese dall'insieme di valori indicanti le relazioni tra coppie di voxels (Friston, 1994).

Per studiare la connettività funzionale esistono numerose metodologie, come schematizzato in Figura 2.6.

Queste metodiche si dividono essenzialmente tra quelle *frequency-based* e quelle *time-series based*. Il primo raggruppamento si compone dell'analisi di coerenza e dello studio della funzione di trasferimento. Il secondo, invece, prevede l'ulteriore suddivisione tra misure lineari e non lineari, ossia tra ipotesi di gaussianità e non gaussianità dei dati. Nel primo caso si analizza la cross-correlazione tra le serie temporali, mentre nel secondo caso si valuta la mutual information (MI) o la sincronizzazione. Tra i metodi più applicati per studiare la connettività funzionale, nel caso di serie temporali non gaussiane, si possono citare la Principal Component Analysis (PCA) e l'Independent Component Analysis (ICA), in quanto utilizzano solo i dati e non ricorrono a ipotesi sulla biologia di base (Ramnani et al., 2004). Qualsiasi sia la metodologia adottata, comunque, la connettività funzionale non consente

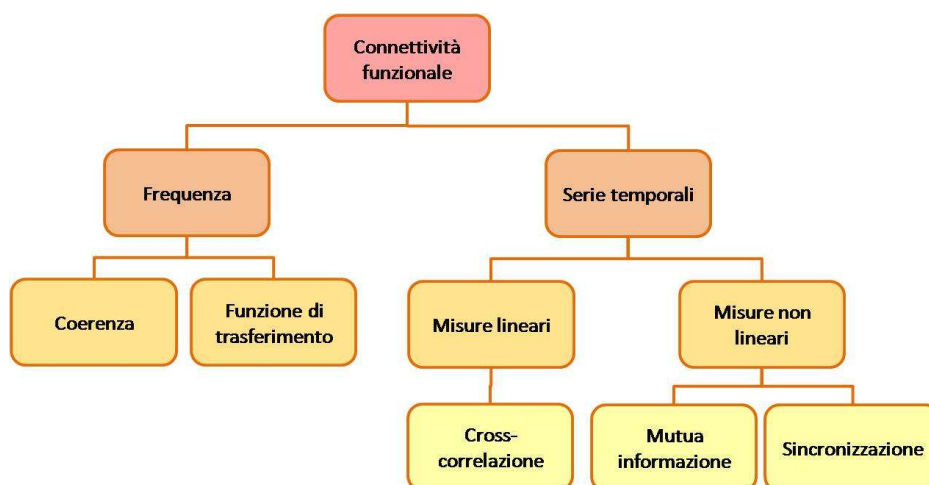


Figura 2.6: Schema riassuntivo dei principali gruppi di metodologie di indagine delle connettività funzionale.

di interpretare in modo univoco le correlazioni trovate tra le diverse aree. Considerando, infatti, le serie temporali x e y , provenienti da due differenti regioni cerebrali funzionalmente correlate, non è possibile stabilire se (1) è x a influenzare y , (2) se è y a influenzare x , (3) se le due aree si condizionano a vicenda o ancora (4) se entrambe sono modulate da una terza variabile. Per poter distinguere tali situazioni è necessario ricorrere a dei modelli che considerino anche la causalità (direzione) delle interazioni, come avviene per la connettività effettiva (Stephan and Friston, 2010b).

2.3.3 Connettività effettiva

La *connettività effettiva*, secondo la definizione più generale, descrive l'influenza causale che un sistema di neuroni esercita su un altro (Friston et al., 1993a). In termini più specifici, la connettività effettiva può essere interpretata come il modello più semplice possibile, dipendente sia dall'esperimento sia dal tempo, che riesce a riprodurre le relazioni temporali osservate tra le diverse aree neuronali (Aertsen and Preissl, 1991). Entrambe le definizioni enfatizzano la necessità di un modello causale per descrivere le interazioni tra le diverse parti del sistema d'interesse e tale modello può essere definito matematicamente nell'ambito della teoria dei sistemi dinamici (Stephan and Friston, 2010a).

Un modello dinamico rappresenta un sistema che evolve nel tempo, sia in termini di segnale d'ingresso che d'uscita, e può essere rappresentato mediante un sistema di equazioni differenziali con parametri tempo-varianti. In particolare, un sistema può essere descritto come un insieme di n elementi, che presentano proprietà dipendenti dal tempo e interagenti tra loro. Ogni proprietà tempo-variante x_i ($1 \leq i \leq n$) è chiamata *variabile di stato* e il vettore $x(t)$ comprendente tutte le variabili è definito *vettore di stato* (o semplicemente *stato*) del sistema al tempo t :

$$x = \begin{bmatrix} x_1(t) \\ \vdots \\ x_n(t) \end{bmatrix}. \quad (2.1)$$

Considerando, ad esempio, un insieme di neuroni interagenti, gli elementi del sistema sono rappresentati dai singoli neuroni, ognuno dei quali è caratterizzato da una o più variabili di stato, che si possono riferire a diverse grandezze neurofisiologiche. È necessario, quindi, avere un modello che rappresenta le informazioni note e le ipotesi fatte sulla struttura e sulla funzione del sistema stesso (Stephan, 2004). In questo senso, la connettività effettiva dipende dal modello di influenza che un sistema neuronale esercita su un altro e, pertanto, la sua validità si riduce alla validità del modello considerato (Friston, 1994).

Un aspetto essenziale del modello è che le variabili di stato interagiscono tra loro, così che il cambiamento di ogni variabile dipenda almeno dal valore di una delle altre. Questa mutua dipendenza viene espressa mediante un insieme di equazioni differenziali ordinarie, nel quale dei parametri θ caratterizzano la forma e l'intensità dell'influenza causale tra le proprietà del sistema, $u(t)$ rappresenta il vettore degli m inputs noti e F (relazione struttura-funzione) può avere una qualsiasi forma, arbitrariamente complessa e non lineare (Stephan, 2004; Stephan and Friston, 2010a):

$$\frac{dx}{dt} = \begin{bmatrix} f_1(x_1, \dots, x_n, u, \theta_1) \\ \vdots \\ f_n(x_1, \dots, x_n, u, \theta_n) \end{bmatrix} = F(x, u, \theta). \quad (2.2)$$

Un modello che segue la forma di questa equazione generale di stato fornisce una descrizione causale di come le dinamiche del sistema derivino dalla struttura dello stesso, poichè descrive (1) quando e dove gli inputs esterni

entrano nel sistema e (2) in che modo i cambiamenti di stato, indotti da tali inputs, si sviluppano nel tempo, in relazione alla struttura del sistema.

Data una particolare sequenza temporale di input $u(t)$ e uno stato iniziale $x(0)$, si ottiene una descrizione completa di come evolvono le dinamiche del sistema, integrando l'Eq. 2.2:

$$x(\tau) = x(0) + \int_0^\tau F(x, u, \theta) dx. \quad (2.3)$$

L'Eq. 2.3 fornisce, quindi, una formulazione generale per modelli di connettività effettiva nei sistemi neuronali.

È importante sottolineare che sono state fatte alcune assunzioni per semplificare l'esposizione:

- (1) Tutti i processi sono assunti essere deterministici, escludendo, quindi, elementi aleatori come il rumore.
- (2) Si ipotizza che gli inputs del sistema siano completamente noti. Tale presupposto è sensato nell'ambito del neuroimaging, poichè gli ingressi sono variabili sperimentalmente controllate.
- (3) Gli stessi inputs sono anche considerati indipendenti. Nel caso in cui questi siano interagenti, è necessario esprimere $u(t)$ stesso come un sistema di equazioni differenziali.
- (4) Si trascura la possibilità che i cambiamenti nello stato possano dipendere dalla storia recente del sistema ('transitori neuronali').
- (5) Si assume, infine, che sia la forma matematica delle relazioni f_i , che i parametri θ siano indipendenti dal tempo. Tale ipotesi è valida solo nel caso in cui la struttura non subisca modifiche durante il tempo di osservazione (Stephan, 2004).

Quanto descritto finora fa riferimento a sistemi a tempo continuo, rappresentati da equazioni differenziali, tuttavia la stessa idea di base può essere applicata anche a sistemi a tempo discreto, esplicitati mediante equazioni alle differenze, così come a sistemi 'statici', che presentano equilibrio in ogni istante di osservazione. Quest'ultima prospettiva è adottata nei modelli di sistema classici per i dati di neuroimaging, come ad esempio le Psycho-Physiological Interactions (*PPI*) (Friston et al., 1997), il Structural Equation Modeling (*SEM*) (McIntosh and Gonzalez-Lima, 1994) e i Modelli Autoregressivi Multivariati (*MAR*) (Harrison et al., 2003). Un modello più recente per descrivere

la connettività effettiva è il Dynamic Causal Modeling (*DCM*) (Friston et al., 2003), che verrà trattato in modo più approfondito nel capitolo 3.

Psycho-Physiological Interactions (PPI)

L'analisi PPI rappresenta uno dei modelli più semplici per studiare l'interazione funzionale dai dati di neuroimaging. Presa come riferimento una serie temporale x_0 (ottenuta da un voxel o da una regione di riferimento), PPI calcola le mappe di connettività tra tale area e tutti gli altri voxels x_i , in base al regressore:

$$x_i = ax_0 + b(x_0 \times u) + cu + X\beta + e. \quad (2.4)$$

Nell'Eq. 2.4, a rappresenta la forza della connettività 'interna' tra x_0 e x_i , indipendente dal contesto dell'esperimento. Il termine bilineare $x_0 \times u$ può essere interpretato come l'ingresso del sistema che va a modulare la connessione tra x_0 e x_i (\times è un prodotto elemento-per-elemento). Il terzo termine descrive la forza c con cui l'input u influisce direttamente su x_i , indipendentemente da x_0 . Infine, β rappresenta il vettore dei parametri per effetti di non interesse, contenuti nella matrice X , ed e è un errore gaussiano a media zero. L'aspetto più importante è dato dall'analisi della modulazione delle connessioni e questa ha carattere direzionale: calcolare PPI da x_0 a x_i non è equivalente al PPI da x_i a x_0 . Infatti la regressione $x_0 \times u$ su x_i è differente dalla regressione $x_i \times u$ su x_0 . Nonostante PPI sia un modello non dinamico, esso contiene tutte le componenti basilari della descrizione del sistema (Eq. 2.2) e, come si vedrà in seguito, presenta alcuni aspetti simili all'equazione di stato del DCM. Tuttavia, valutando solo le interazioni tra singole coppie di elementi, ha una capacità abbastanza limitata di rappresentare i sistemi neurali (Friston et al., 1997; Stephan and Friston, 2010b).

Structural Equation Modeling (SEM)

SEM è una tecnica multivariata, *hypothesis-driven*, basata su un modello strutturale che rappresenta le ipotesi riguardanti le relazioni causali tra diverse variabili (McIntosh and Gonzalez-Lima, 1994; Büchel and Friston, 1997). Nel contesto dell'fMRI le variabili sono le serie temporali BOLD x_1, \dots, x_n di n regioni cerebrali e le ipotesi sulle relazioni causali sono basate su plausibili connessioni anatomiche tra le diverse aree. La forza di ogni connessione

$x_i \rightarrow x_j$ è specificata dal ‘path coefficient’, che indica in che modo la varianza di x_i dipende dalla varianza di x_j , nel caso in cui tutte le altre influenze su x_i siano mantenute costanti.

Il modello statistico del SEM è lineare e può essere espresso come:

$$X = \beta X + E. \quad (2.5)$$

dove x è la matrice delle serie temporali delle n regioni, β è la matrice dei coefficienti del ‘path’ di connessioni e E è la matrice dei termini d’errore gaussiani con media zero (esempio in Figura 2.7).

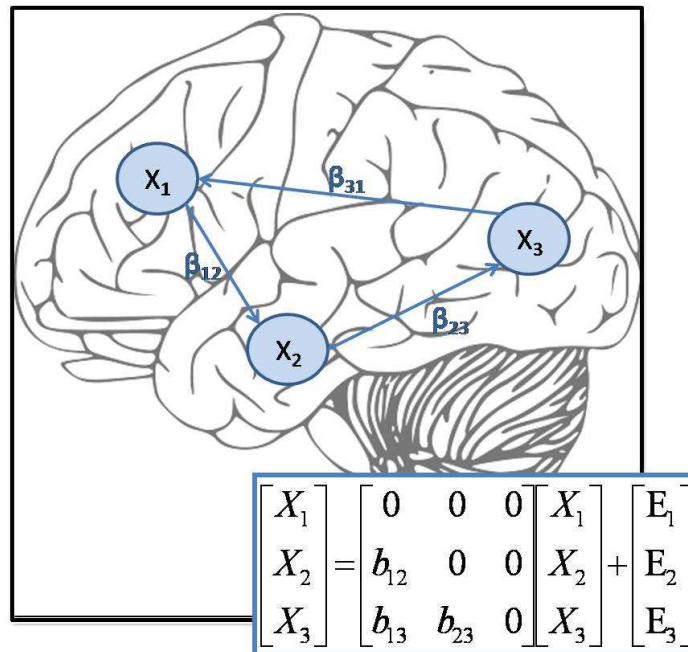


Figura 2.7: Esempio di rappresentazione grafica di un modello di connettività e relativa equazione del SEM (in forma matriciale). X_1, X_2, X_3 sono le serie temporali delle regioni considerate; β_{12}, β_{13} e β_{23} sono i coefficienti del path coefficient, che rappresentano la forza e la direzione delle connessioni.

La stima dei parametri viene eseguita mediante la tecnica di massima verosimiglianza, minimizzando la differenza tra la covarianza dei dati osservati e di quelli predetti dal modello (Bollen, 1989). Nel caso dell’fMRI, il ‘path coefficient’ del modello SEM descrive la connettività effettiva del sistema attraverso l’intera sessione sperimentale. Ciò che generalmente è interessante conoscere, tuttavia, è la variazione che avviene tra gli accoppiamenti di

determinate regioni in funzione del contesto sperimentale, ad esempio in corrispondenza di due differenti tasks. L'aspetto limitante del SEM è dovuto al fatto che esso può essere utilizzato solo per modelli di bassa complessità, in riferimento al numero di connessioni che possono essere valutate. Questo perchè lo Structural Equation Modelling è fittato per riprodurre la matrice di covarianza osservata, ma solo un insieme limitato di punti è accessibile, lasciando un numero di gradi di libertà non sufficiente per testare modelli con più parametri (Penny et al., 2004).

Multivariate Autoregressive Model (MAR)

Al contrario del SEM, i modelli autoregressivi esplicitano l'aspetto di causalità delle serie temporali. Considerano, infatti, la dipendenza del presente dal passato: ogni elemento delle serie temporali di una regione viene definito come combinazione lineare dei valori del passato nella stessa area. I modelli che estendono questo approccio a n regioni cerebrali prendono il nome di modelli autoregressivi multivariati (MAR). I modelli MAR rappresentano il segnale di ogni regione (vettore di dimensione n) al tempo t (x_t) come combinazione lineare di p -vettori passati, i cui contributi sono pesati dalla matrice dei parametri A_i (Eq. 2.6):

$$x_t = \sum_{i=1}^p x_{t-i} A_i + u_t \quad (2.6)$$

con

$$x_t = [x_t^1, \dots, x_t^n]. \quad (2.7)$$

Sebbene MAR sia una tecnica statistica consolidata da molti decenni nello studio delle serie temporali, solo in tempi relativamente recenti si sono sviluppate delle implementazioni specifiche per il neuroimaging. Harrison et al. (2003) considerano un modello MAR che include delle variabili bilineari, rappresentanti gli effetti modulatori di alcuni elementi del sistema sulle connessioni. La stima parametrica è di tipo Bayesiano e permette anche di determinare l'ordine p ottimo del modello.

Un approccio alternativo per il MAR è basato, invece, sull'idea della 'Granger causality' (Granger, 1969), proposto da Goebel (Goebel et al., 2003). In questo contesto, date due serie temporali X_1 e X_2 , si considera che X_1 sia

dipendente da X_2 solo se le sue dinamiche possono essere predette bene utilizzando i valori passati di X_1 e X_2 ; al contrario X_1 non è causato da X_2 se la descrizione migliore si ottiene considerando i valori passati della sola X_1 .

Capitolo 3

DCM: Dynamic Causal Modelling

In questo capitolo si fornisce un'approfondimento sul *Dynamic Causal Model* (DCM), soffermandosi sugli aspetti principali di questo tipo di modellazione. Nella prima parte del capitolo viene proposta una panoramica generale del DCM, confrontandolo con le metodiche tradizionali (SEM e MAR) ed esaminandone il disegno sperimentale e l'*inference*. Nella seconda sezione si provvede a una descrizione matematicamente più dettagliata del DCM.

In sintesi, esso è costituito da due livelli: neuronale ed emodinamico. Il primo è descritto mediante delle equazioni differenziali in forma bilineare, i cui coefficienti $\theta_c = \{A, B^j, C\}$ rappresentano i parametri di connessione che si vogliono stimare. Il livello neuronale, tuttavia, è *hidden* e ciò che si osserva dalle immagini di fMRI è il segnale BOLD. È necessario, pertanto, considerare un livello emodinamico (con parametri θ_h) per passare dalle componenti elettriche alle componenti emodinamiche. La combinazione di questi due livelli porta a definire il *full forward model*: $y = h(u, \theta) + X\beta + \epsilon$ (con $\theta = \{\theta_c, \theta_h\}$), che rappresenta il segnale osservato, utilizzato per identificare i parametri. In particolare, ciò che si vuole ottenere dal DCM è la distribuzione a posteriori dei parametri, definita mediante la media $\eta_{\theta|y}$ e la covarianza $C_{\theta|y}$ a posteriori. Per calcolare questi valori è necessario, secondo la regola di Bayes, fornire dei prior (η_θ e C_θ) sia sui parametri neuronali che su quelli emodinamici. L'algoritmo di stima utilizzato è l'*Expectation-Maximization* (EM). Inoltre, l'*inference* sui parametri permette di calcolare la probabilità che un parametro superi una determinata soglia γ_{th} .

3.1 Introduzione

Il Dynamic Causal Modelling (DCM) è un modello utilizzato per studiare la connettività effettiva e permette di ottenere delle informazioni sui processi neurali alla base delle serie temporali misurate mediante EEG, MEG o fMRI. In particolare, in questa trattazione si considererà l'applicazione del DCM nel solo ambito della risonanza magnetica funzionale.

Lo scopo del DCM è quello di stimare le connessioni tra le aree cerebrali e determinare in che modo tali collegamenti vengano influenzati da variazioni nel contesto sperimentale. La modellazione dinamica causale rappresenta un sostanziale distacco dagli altri approcci esistenti per studiare la connettività effettiva. Esso, infatti, si avvale di un più plausibile modello generativo delle risposte cerebrali, che tiene conto anche della loro natura dinamica e non lineare.

L'idea di base è quella di costruire un modello ragionevolmente realistico delle interazioni tra le regioni corticali d'interesse, al quale viene integrato un *forward model* per trasformare l'attività sinaptica o neuronale nella risposta BOLD. I parametri del modello neuronale, ossia la connettività effettiva, possono, quindi, essere stimati dai dati osservati, cercando di far coincidere il più possibile il segnale BOLD predetto dal modello alle serie temporali misurate. La configurazione generale del DCM è del tipo 'input-state-output', con input e output multipli. Gli ingressi corrispondono a funzioni note e deterministiche, che rappresentano i cambiamenti nella stimolazione o nel contesto sperimentale. Le variabili di stato descrivono sia le attività neuronali che le componenti neurofisiologiche e biofisiche necessarie a formare le uscite. Gli output vengono misurati come risposte emodinamiche sulle regioni d'interesse e dipendono dagli specifici inputs considerati. Intuitivamente, questo schema fa riferimento a un disegno sperimentale progettato come perturbazione delle dinamiche neuronali, che comporta la variazione dell'attività in una specifica regione. Tali alterazioni generano, attraverso il modello forward, delle risposte che vengono utilizzate per identificare l'architettura e le costanti di tempo del sistema a livello neuronale. Il DCM, quindi, assume che gli output dipendano da variazioni note degli ingressi e questo costituisce una grande differenza rispetto agli approcci convenzionali per la connettività effettiva (MAR, SEM, ...), nei quali si considera che le risposte osservate siano indotte da rumore intrinseco o endogeno.

Un importante aspetto concettuale dei Dynamic Causal Model, per il neuroimaging, riguarda la modalità con cui gli input entrano nel sistema e generano le risposte neuronali. Le variabili sperimentali, infatti, possono indurre delle risposte in due modi. Il primo tipo di ingressi va ad influenzare direttamente specifiche regioni anatomiche, mentre la seconda categoria di input esercita un effetto indiretto sulle risposte, modulando le connessioni tra le aree (Friston et al., 2003).

3.1.1 DCM e metodi convenzionali

Le metodologie convenzionali per l'analisi di connettività effettiva, come il SEM e il MAR, presentano alcune limitazioni. Uno svantaggio del SEM, per esempio, è quello di poter essere utilizzato solo su modelli strutturali relativamente semplici. Un secondo problema è dato dal fatto che esso non è propriamente un modello basato sulle serie temporali, bensì sulle covarianze, quindi permette di ottenere solo delle informazioni 'istantanee' sulle connessioni. Una terza complicanza, comune sia al SEM che al MAR, consiste nella difficoltà di descrivere i cambiamenti della connettività effettiva, se il design sperimentale è event-related (cioè se gli stimoli sono di diverso tipo e presentati in modo random), a causa della natura transitoria delle risposte evocate. E infine, sia il SEM che il MAR non utilizzano le conoscenze disponibili sugli stimoli esterni, bensì gli ingressi sono considerati come segnali non noti e stocastici.

Tali metodologie non sono ottimali nella situazione in cui gli input esterni risultino completamente conosciuti: per una descrizione causale dei sistemi dinamici è necessario descrivere quando e dove gli stimoli esterni entrano nel modello e in che modo l'attività indotta inizialmente si propaga per il resto del sistema, compatibilmente alla struttura delle sue connessioni. Il principale limite, comune a entrambi i metodi, è, comunque, di natura concettuale. L'architettura causale del sistema che si vuole identificare è, infatti, espressa a livello di dinamiche neuronali. Tuttavia, i parametri del SEM e del MAR sono fittati sulle serie BOLD, che risultano da una convoluzione dell'attività neuronale sottostante. Poiché questa trasformazione dall'attività neurale al BOLD ha delle componenti non lineari (Friston et al., 2000; Miller et al., 2001), ogni inferenza sulle connessioni tra le diverse regioni ottenute dal SEM o dal MAR è solo indiretta e non è trascurabile per valutare in che misura

la stima di tali legami viene influenzata nel passaggio dal livello neurale a quello del segnale BOLD.

Per rendere possibile l'inferenza sui parametri neurali nel contesto dell'fMRI, è necessario avere dei modelli che presentino due aspetti: un modello parsimonioso, ma neurobiologicamente plausibile, delle dinamiche neurali e un modello forward emodinamico biofisicamente plausibile, che descriva la trasformazione dall'attività neurale al segnale BOLD. Sistemi di questo tipo permettono di fittare i parametri emodinamici e neurali in modo tale da rendere le serie BOLD risultanti dal modello il più simili possibile alle serie BOLD osservate.

Nell'ambito dell'fMRI, il DCM è l'unico approccio che permette di unire modelli per le dinamiche neurali e modelli forward biofisici (Stephan, 2004).

Il DCM si distingue dalle altre metodologie d'analisi sia perchè considera gli aspetti non lineari e dinamici delle interazioni neuronali, sia perchè inquadra il problema di stima in termini di perturbazioni, che si adattano agli ingressi sperimentali. Infatti, per ottenere delle interazioni regione-specifiche, il DCM si basa sugli stessi principi con cui si progetta il disegno sperimentale utilizzato per indurre attivazioni in determinate aree. In particolare, nel DCM, gli input del sistema sono le variabili che compongono la design matrix convenzionale e i parametri del modello, ossia i collegamenti tra diverse regioni cerebrali attivate, corrispondono alle misure di connettività effettiva. L'obiettivo del DCM è di stimare questi parametri, perturbando il sistema e misurandone le risposte. Il cervello viene trattato, quindi, come un sistema deterministico, dinamico e non lineare, sottoposto a degli ingressi in corrispondenza dei quali produce delle uscite misurabili (Friston et al., 2003).

3.1.2 DCM e disegno sperimentale

Il DCM è utilizzato per testare le specifiche ipotesi che hanno motivato il disegno sperimentale. Non è una tecnica "esplorativa", bensì, come tutte le analisi di connettività effettiva, i risultati sono specifici a seconda dei task e degli stimoli dell'esperimento.

Nel DCM gli inputs possono indurre le risposte in due modi. Gli ingressi possono influenzare direttamente le variabili di stato, ossia l'attività neurale, oppure possono modulare le interazioni tra le aree, cioè la connettività effettiva. È utile, quindi, considerare i fattori sperimentali come ingressi

appartenenti o alla classe che genera le risposte o alla classe di elementi contestuali, che inducono cambiamenti nelle connessioni (sebbene, in linea di principio, tutti gli inputs dovrebbero appartenere ad entrambe). Il primo gruppo comprende le perturbazioni legate ai *trial* o agli stimoli (*stimulus-bound*), mentre il secondo delinea il contesto nel quale gli effetti della prima classe evocano le risposte (*stimulus-free*). In Figura 3.1 si riporta un esempio di questi concetti di base del DCM, con riferimento al sistema neuronale visivo.

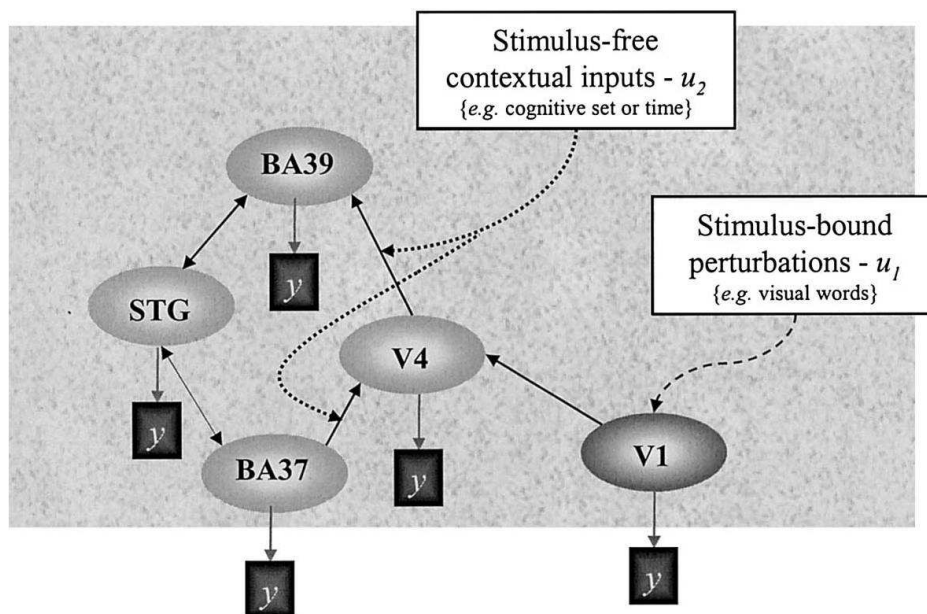


Figura 3.1: Illustrazione schematica dei concetti base del DCM. Si evidenziano, in particolare, le due differenti modalità mediante le quali gli input possono indurre delle risposte nel modello. In questo esempio sono presenti 5 aree: le aree visive (V1 e V4), le aree 37 e 39 (BA37 e BA39) e il gyrus temporale superiore (STG). Le perturbazioni *stimulus-bound* u_1 agiscono come ingressi esterni sull'area visiva primaria (V1). Gli input contestuali o *stimulus-free* u_2 entrano nel sistema modulando le connessioni tra V4 e BA39 e tra BA37 e V4. Così, ad esempio, le risposte di BA39 sono causate dagli inputs in V1, che vengono poi modulate mediante V4, la cui influenza sull'area 39 è, a sua volta, sensibile all'ingresso u_1 . I quadrati scuri rappresentano il modello emodinamico forward, che trasforma l'attività neuronale z nelle risposte emodinamiche y_i misurate (Friston et al., 2003).

L'implicazione importante per il disegno sperimentale del DCM è data dal fatto che esso dovrebbe essere multifattoriale, con almeno una perturbazione diretta dell'attività neuronale e un elemento di modulazione del contesto nel

quale si generano le risposte (Friston et al., 1997).

Per quanto riguarda la struttura matematica del DCM, in questa trattazione si adotterà per ogni modello un'approssimazione bilineare. I parametri sono così ridotti a tre set, che controllano tre aspetti diversi del sistema: (1) l'influenza diretta o estrinseca degli ingressi sugli stati cerebrali di ogni singola regione, (2) le connessioni intrinseche o latenti che collegano gli stati di aree differenti e, infine, (3) le variazioni nelle connessioni intrinseche, indotte dagli input. Nell'ambito del DCM, il primo set di parametri è, generalmente, di minor interesse, mentre rappresenta il tema centrale nelle analisi classiche di effetti specifici per ogni regione. L'intensità delle connessioni intrinseche risulta essere di maggiore rilevanza, anche se l'aspetto più significativo del DCM è dato dal terzo set di parametri. Questi vengono definiti 'parametri bilineari', poichè un cambiamento input-dipendente nella connettività può essere costruito come un'interazione del secondo ordine tra l'input e l'attività di una regione di origine, quando questa causa una risposta in un'altra regione di destinazione (Friston et al., 2003). La presenza dei termini bilineari sottolinea nuovamente sia l'importanza di un disegno multifattoriale, che consenta la misurazione di queste interazioni, sia il ruolo centrale del contesto nel quale le risposte vengono generate (McIntosh, 2000a).

3.1.3 DCM ed *inference*

Rispetto alle altre metodologie, il DCM è un modello biologicamente più plausibile. Non è circoscritto ai soli sistemi lineari o istantanei (non direttamente dipendenti dalle serie temporali, come il SEM) e risulta essere, inevitabilmente, molto complesso. Necessita di un elevato numero di parametri, la cui stima è strettamente legata alla presenza di vincoli o *constraint*. Un modo semplice per includere i *constraint* necessari è quello di lavorare in ambito Bayesiano. Di conseguenza, i Dynamic Causal Model, utilizzando stimatori Bayesiani o condizionali e le *inference* sulle connessioni, valutano la densità condizionale o a posteriori. In altre parole, la procedura di stima fornisce la distribuzione di probabilità di un parametro di connessione in termini di media e deviazione standard. Avendo stabilito questa densità a posteriori, la probabilità che la connessione superi una determinata soglia è facilmente quantificabile. La densità a posteriori viene calcolata valutando la verosimiglianza (*likelihood*) e le distribuzioni dei *prior*. Stabiliti alcuni parametri, la *likelihood* dei dati è

determinata dallo specifico DCM, infatti tutti i modelli sono semplicemente dei mezzi per specificare la verosimiglianza di un'osservazione. Le densità a priori dei parametri di connessione sono definite, invece, sfruttando alcuni *constraint* fisiologici sulle dinamiche dei sistemi e permettendo anche di specificare quali connessioni sono verosimilmente presenti e quali no. Queste informazioni a priori offrono dei vincoli adeguati per garantire una stima robusta ed efficiente. Un importante impiego di *constraint* di questo tipo è la limitazione dei siti dove gli input possono evocare risposte estrinseche, influenzando direttamente l'attività di una specifica area. È interessante notare come le analisi convenzionali di connettività effettiva assumano che tutti gli input abbiano libero accesso a ogni regione, questo perché nei modelli classici le attivazioni vengono causate direttamente dai fattori sperimentali, senza considerare la possibilità di mediazione da parte di altre aree cerebrali.

Per rendere più parsimonioso un modello, è possibile, ma non necessario, introdurre ulteriori vincoli sulle connessioni intrinseche e sulla loro modulazione da parte degli input contestuali. Infine si sottolinea che, diversamente dal SEM, non esiste un limite per il numero di connessioni che possono essere modellate, poiché le assunzioni e i metodi di stima del DCM sono completamente differenti e si basano su ingressi noti (Friston et al., 2003).

3.2 Dynamic Causal Model

Il DCM rappresenta la procedura di identificazione di un sistema non lineare, che utilizza uno stimatore Bayesiano per quantificare i parametri di sistemi dinamici e deterministici nella forma input-state-output.

I sistemi considerati nel seguito della trattazione sono costituiti da un insieme di regioni cerebrali interagenti, mentre per le dinamiche si valuta un'approssimazione di tipo bilineare, sebbene l'idea di fondo del DCM non sia ristretta a questa sola forma. Il DCM può essere visto come una collezione di modelli emodinamici (uno per ogni area), nei quali gli ingressi sperimentali sono integrati con l'attività neuronale delle altre regioni. I parametri d'interesse includono sia l'efficacia diretta degli input sperimentali, sia l'efficacia degli input neuronali provenienti dalle aree distali (connettività effettiva) (Figura 3.1).

Il DCM è un sistema a ingressi e uscite multiple, che comprende m in-

put e l output, uno per ogni area cerebrale. Gli m input corrispondono agli stimoli del disegno sperimentale e sono gli stessi che vengono utilizzati per costruire la *design matrix* nell'analisi convenzionale di fMRI. Teoricamente ogni ingresso potrebbe avere accesso diretto a tutte le regioni considerate, tuttavia, nella pratica, gli effetti estrinseci degli ingressi sono generalmente ristretti a un numero limitato di aree. Ognuna delle l regioni del modello genera un'uscita misurata, che corrisponde al segnale BOLD osservato (Figura 3.2). Queste l serie temporali vengono normalmente considerate in termini di media o dell'autovalore principale dei voxel costituenti le aree attivate, individuate mediante l'analisi convenzionale (General Linear Model).

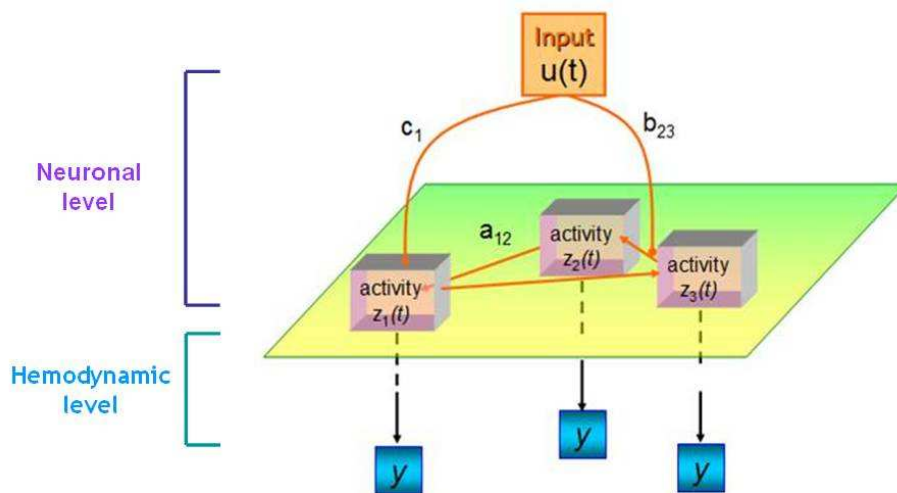


Figura 3.2: Rappresentazione schematica del DCM. Si evidenzia come il DCM sia caratterizzato da due livelli di lavoro. (1) il livello neuronale, costituito dalle attività neuronali z_i , tra loro interagenti (parametri a_{ij}), e nelle quali entrano gli input esterni o influenzando direttamente le singole regioni (c_i) o modulando le connessioni tra le aree (b_{ij}); (2) il livello emodinamico, responsabile della trasformazione dell'attività neuronale o sinaptica nel segnale BOLD osservato.

Ogni regione è caratterizzata da cinque variabili di stato. Quattro di queste sono di secondaria importanza e corrispondono alle variabili di stato del modello emodinamico. Gli stati emodinamici comprendono un segnale di vasodilatazione, il flusso normalizzato, il volume venoso normalizzato e il contenuto normalizzato di deossiemoglobina. Tali grandezze sono necessarie per calcola-

re la risposta BOLD del modello e non dipendono dagli stati delle altre regioni (Friston et al., 2000). Di primaria importanza per la stima dei parametri di connettività effettiva è, invece, la rimanente variabile di stato, corrispondente all'attività neuronale o sinaptica di ogni area, che è funzione degli stati neuronali delle altre regioni cerebrali. Nel seguito si descriveranno le equazioni per gli stati neuronali e, successivamente, le equazioni differenziali che costituiscono il modello emodinamico per ogni regione.

3.2.1 Equazioni di Stato Neuronale

Considerando solo gli stati neuronali $z = [z_1, \dots, z_l]$ è possibile costruire un modello di forma arbitraria per la connettività effettiva:

$$\dot{z} = F(z, u, \theta), \quad (3.1)$$

dove F è una funzione non lineare, rappresentante le influenze neurofisiologiche che l'attività z di tutte le l regioni e gli input u esercitano sulle altre aree cerebrali e θ sono i parametri del modello, la cui distribuzione di probabilità a posteriori è necessaria per l'*inference*. Si può notare come l'Eq.3.1 si diversifichi dalle usuali forme dei modelli causali, nei quali gli stati sono funzioni statiche di loro stessi: $z = F(z, u, \theta)$ (ad esempio, $z = \theta z + u$, dove u è un segnale di rumore). Nell'ambito dei modelli causali dinamici, la validità di questi sistemi statici, come il SEM, è limitata al caso in cui gli input evolvano molto lentamente rispetto alle dinamiche neuronali. L'Eq.3.1 viene qui considerata con una formulazione bilineare, che garantisce un'adequata riparametrizzazione in termini di connettività effettiva:

$$\begin{aligned} \dot{z} &\approx Az + \sum u_j B^j z + Cu \\ &= (A + \sum u_j B^j)z + Cu \\ A &= \frac{\partial F}{\partial z} = \frac{\partial \dot{z}}{\partial z} \\ B^j &= \frac{\partial^2 F}{\partial z \partial u_j} = \frac{\partial}{\partial u_j} \frac{\partial \dot{z}}{\partial z} \\ C &= \frac{\partial F}{\partial u}. \end{aligned} \quad (3.2)$$

Lo Jacobiano, o matrice di connettività, A rappresenta la connettività di

primo ordine tra le regioni, in assenza di input. La connettività effettiva è pensata come l'influenza che un sistema neuronale esercita su altri, inducendo delle risposte $\partial z/\partial z$. In particolare, nel DCM una risposta è definita in termini di cambiamento di attività nel tempo, ossia \dot{z} . Gli elementi di connettività rappresentati dalla matrice A possono essere pensati come un insieme di connessioni intrinseche in assenza di perturbazioni sperimentali. È da sottolineare come lo stato, che viene perturbato, dipenda dal disegno sperimentale e questo implica che le connessioni intrinseche risultino essere specifiche per ogni diverso esperimento. Le matrici B^j rappresentano effettivamente le variazioni nelle interazioni neuronali, indotte dal j -esimo ingresso. Esse descrivono i cambiamenti sensibili agli input in $\partial z/\partial z$ o, equivalentemente, la modulazione della connettività effettiva da parte delle perturbazioni sperimentali. Poiché le B^j sono derivate del secondo ordine, questi termini sono definiti 'bilineari'. Infine, la matrice C descrive l'influenza diretta degli ingressi esterni sull'attività neuronale. I parametri $\theta^c = \{A, B^j, C\}$ rappresentano la connettività, ossia le matrici di connessione da identificare, e definiscono l'architettura funzionale e le interazioni tra le diverse aree a livello neuronale (Figura 3.3).

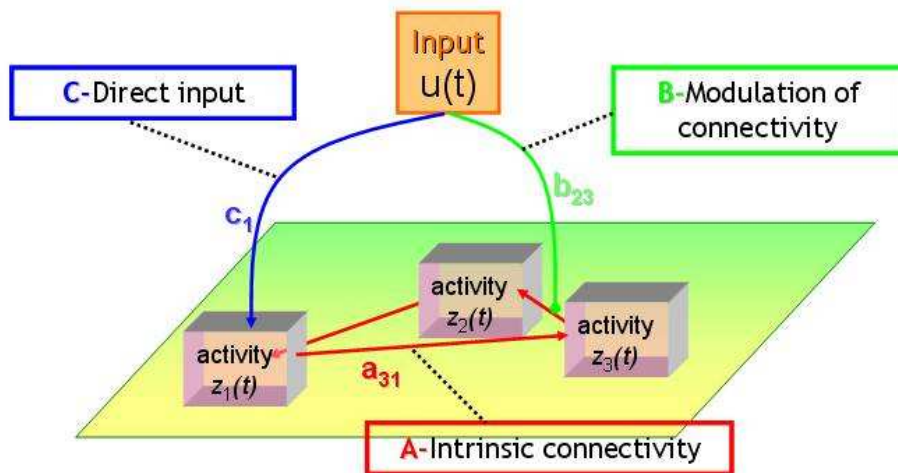


Figura 3.3: Rappresentazione schematica delle tre tipologie di parametri della connettività.

In Figura 3.4 si riporta l'esempio dell'architettura del livello neuronale per il sistema visivo, già schematizzato in Figura 3.1, al fine di chiarire la relazione tra la forma matriciale del modello bilineare e le equazioni di stato

per ogni regione. Dal punto di vista delle unità di misura, le connessioni rappresentano delle velocità. Poiché si considera un contesto dinamico, una ‘forte’ connessione indica un’influenza caratterizzata da una piccola costante di tempo (Figura 3.5).

Le attività neuronali in ogni regione causano cambiamenti nel volume venoso e nel contenuto di deossiemoglobina: da ciò deriva la risposta BOLD osservata (y). Il modello emodinamico descritto nel paragrafo successivo si riferisce alle immagini e può essere sostituito da altri modelli *forward*, specifici per segnali di natura diversa, come, ad esempio, modelli EEG, causati da correnti postsinaptiche misurate sullo scalpo.

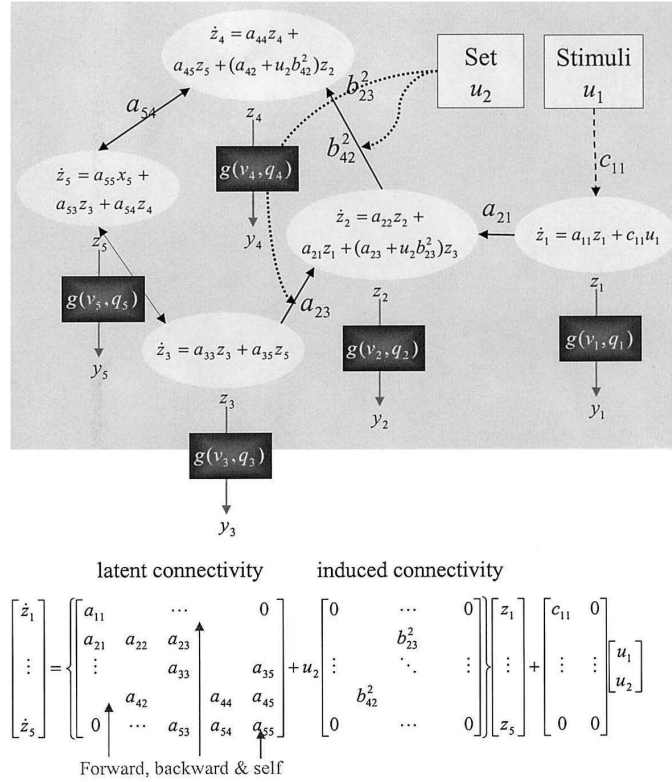
In linea di principio, è possibile studiare tutti i problemi di identificazione all’interno della stessa procedura di stima, considerando l’Eq.3.2 come struttura-base di un generico DCM, al quale viene poi integrato un modello *forward* segnale-specifico (Friston et al., 2003).

Rumore deterministico

Il modello delle equazioni di stato neuronale, trattate in questo paragrafo, (Eq.3.2) è basato su delle equazioni differenziali, che non ammettono la presenza di rumore deterministico. Ciò significa che esso non tiene conto delle dinamiche rumorose che si esprimono endogenamente in ogni regione. L’unica componente stocastica del modello entra linearmente come errore di misura, nel punto in cui la risposta viene osservata (Paragrafo 3.2.3).

Dal punto di vista neuronale, questa è chiaramente una limitazione, poiché le dinamiche locali non vengono regolate dai soli stimoli sperimentali. I DCM non permettono di descrivere i processi biologici in un determinato istante, ma hanno come scopo quello di rappresentare astrattamente tali processi per ottimizzare l’interpretazione neurofisiologica dei parametri del modello. Ad esempio, è fisiologicamente improbabile che l’attività neurale all’interno di un’area corticale sia congrua alle dinamiche di una variabile *single-state*. Tuttavia, lo stato ‘effettivo’ implicito nel sistema può essere un’approssimazione accettabile e utile per lo scopo del modello.

I DCM hanno lo stesso ‘status’ dei GLM nel cercare di sintetizzare e caratterizzare l’impatto delle perturbazioni sperimentali sulle risposte misurate. I DCM si distinguono per l’essere più vicini ai sistemi di base, nel senso che includono gli aspetti dinamici della neurofisiologia, le interazioni tra dif-



$$\dot{z} = (A + \sum_j u_j B^j)z + Cu$$

The bilinear model

Figura 3.4: Lo schema riporta il sistema in Figura 3.1 con le rispettive equazioni differenziali, che descrivono lo stato, in forma bilineare. Le grandezze \dot{z}_i descrivono le variazioni dell'attività neuronale z_i in termini di componenti linearmente separabili, che rispecchiano l'influenza delle altre variabili di stato. In particolare, è da notare come gli input contestuali u_2 condizionino tali equazioni. Questi, infatti, incrementano i parametri di connessione intrinseca (a_{ij}) proporzionalmente al valore dei termini di connessione bilineare (b_{ij}^k). In questo diagramma si evidenzia, inoltre, come la 'trasformazione' degli stati neuronali nelle riposte y_i , attraverso il modello emodinamico, sia funzione dello stato biofisico delle specifiche regioni, soprattutto in termini di contenuto di deossiemoglobina (q_i) e volume venoso (v_i). Nella parte sottostante allo schema, si riporta la formulazione matriciale delle equazioni differenziali del sistema. Queste equazioni possono essere riassunte in modo più compatto mediante le matrici dei parametri di connessione A , B^j e C (Friston et al., 2003).

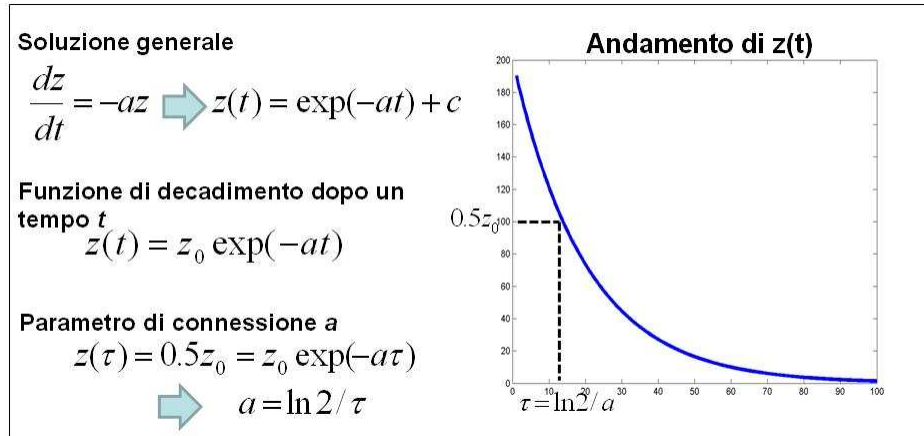


Figura 3.5: I parametri del DCM corrispondono a delle costanti di velocità. La generica soluzione di un'equazione differenziale del primo ordine $\dot{z} = -az$ è una funzione nella forma $z(t) = \exp(-at) + c$. La funzione di decadimento dell'attività neuronale è $z(t) = z_0 \exp(-at)$, dove il parametro di connessione a è inversamente proporzionale al tempo di dimezzamento τ di $z(t)$: $a = \ln 2 / \tau$

ferenti aree cerebrali e le non linearità, tuttavia rimangono dei modelli di sola osservazione e non costituiscono una tecnica 'esplorativa' per il sistema (Friston et al., 2003).

3.2.2 Equazioni di stato emodinamico

Le altre variabili presenti nel DCM rappresentano gli stati biofisici, che generano il segnale osservato: esse appartengono al modello emodinamico e mediano il passaggio dall'attività neuronale alle risposte BOLD. Gli stati emodinamici dipendono unicamente dallo stato neuronale di ogni regione (Friston et al., 2003) e sono tutte espresse in forma normalizzata rispetto al loro valore in stato stazionario. Il modello emodinamico è costituito da un semplice modello lineare dinamico, che descrive le variazioni locali del flusso di sangue cerebrale (rCBF: *regional Cerebral Blood Flow*), causate dall'attività neuronale, e dal cosiddetto 'Balloon model' (Friston et al., 2000). Per ogni i -esima regione, l'attività neuronale z causa un incremento del segnale di vasodilatazione s , che è soggetto ad un'autoregolazione *feedback*. L'afflusso f risponde proporzionalmente a questo segnale con concomitanti cambiamenti nel volume del sangue v e nel contenuto di deossiemoglobina q (Friston et al., 2003).

L'architettura del modello è riportata in Figura 3.6.

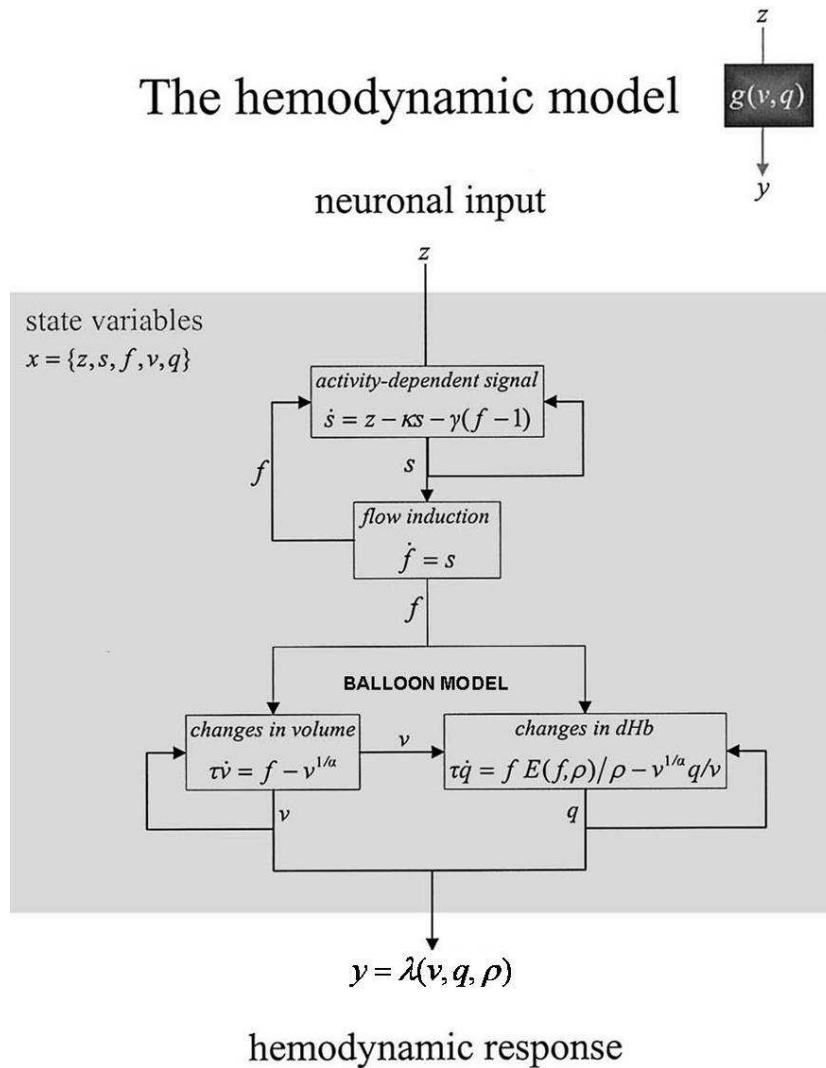


Figura 3.6: Lo schema rappresenta l'architettura del modello emodinamico per una singola regione. L'attività neuronale induce una vasodilatazione e un segnale attività-dipendente s , che incrementa il flusso f . Tale flusso causa cambiamenti nel volume v e nel contenuto di deossiemoglobina q . Da questi due stati emodinamici deriva la non linearità dell'uscita, ossia del segnale BOLD osservato. Immagine modificata da Friston, et al. (2003).

Componenti del *rCBF*

Il segnale s ingloba molte componenti neurogene e diffusive ed è generato dall'attività neuronale z ; regola il flusso sanguigno f ed è definito, operativamente, come velocità di variazione del flusso normalizzato (s^{-1}). L'equazione che descrive la variazione di s nel tempo è:

$$\dot{s} = z - \kappa s - \gamma(f - 1), \quad (3.3)$$

dove κ e γ sono due parametri incogniti, che determinano la dinamica di questa componente del modello emodinamico. Essi rappresentano, rispettivamente, la costante di tempo del decadimento del segnale e la costante di tempo del *feedback* di autoregolazione da parte di f . Il flusso sanguigno, a sua volta, è legato linearmente all'attività sinaptica e, rispettando questo *constraint*, si sceglie di descrivere l'andamento di f nel tempo con il modello più parsimonioso (Friston et al., 2000):

$$\dot{f} = s. \quad (3.4)$$

Componenti del *Balloon Model*

Il Balloon Model (Buxton and Frank, 1997; Buxton et al., 1998) è un modello nella forma 'input-state-output', caratterizzato da due variabili: il volume v e il contenuto di deossiemoglobina q . L'input del sistema è il flusso sanguigno f , mentre l'output rappresenta il segnale BOLD y , che è suddiviso tra una componente intra-vascolare ed una componente extra-vascolare, entrambe pesate per i rispettivi volumi. Il flusso sanguigno provoca due reazioni: un cambiamento nel volume e una variazione nel contenuto di deossiemoglobina.

La velocità di cambiamento del volume sanguigno (Mandeville et al., 1999) è semplicemente:

$$\begin{aligned} \tau \dot{v} &= f_{in} - f_{out}(v) \\ &= f - v^{1/\alpha}. \end{aligned} \quad (3.5)$$

Dall'Eq.3.5 si deduce che le variazioni nel volume riflettono la differenza tra il flusso entrante f_{in} e quello uscente f_{out} dal compartimento venoso considerato. τ è una costante di tempo, che rappresenta il tempo medio di transito

del sangue nell'area. Si sottolinea, inoltre, che il flusso uscente è funzione del volume, secondo la relazione:

$$f_{out} = v^{1/\alpha}, \quad (3.6)$$

dove α è la costante di Grubb (Grubb et al., 1974) ed è circa pari a 0.32, in stato stazionario.

La variazione nel contenuto di deossiemoglobina \dot{q} riflette la differenza tra la quantità di deossiemoglobina presente nel compartimento venoso e quella che viene espulsa dallo stesso:

$$\begin{aligned} \tau \dot{q} &= f_{in} E(f_{in}, \rho) / \rho - f_{out}(v) q / v \\ &= f E(f, \rho) / \rho - v^{1/\alpha} q / v, \end{aligned} \quad (3.7)$$

dove $E(f, \rho)$ è la frazione di ossigeno estratto dal flusso entrante e ρ , parametro incognito, rappresenta la frazione di estrazione di ossigeno a riposo (Friston et al., 2000). $E(f, \rho)$ dipende dall'apporto di ossigeno e, di conseguenza, dal flusso sanguigno (Buxton et al., 1998):

$$E(f, \rho) = 1 - (1 - \rho)^{1/f}. \quad (3.8)$$

Il segnale BOLD $y = \lambda(v, q, \rho)$ è considerato una funzione statica e non lineare del volume venoso v , del contenuto totale di deossiemoglobina in ogni voxel q (entrambi normalizzati ai rispettivi valori in stato stazionario) e della frazione di estrazione di ossigeno dal sangue capillare ρ , sempre in condizioni di stazionarietà. Le equazioni che descrivono il segnale BOLD sono:

$$\begin{aligned} y(t) &= \lambda(v, q, \rho) \\ &= V_0(k_1(1 - q) + k_2(1 - q/v) + k_3(1 - v)) \\ k_1 &= 7\rho \\ k_2 &= 2 \\ k_3 &= 2\rho - 0.2, \end{aligned} \quad (3.9)$$

dove $V_0 = 0.02$ è la frazione del volume ematico a riposo. Come si può vedere dall'Eq.3.9, $y(t)$ comprende una somma volume-pesata di segnali intra- ed extra-vascolari, dipendenti dal volume e dal contenuto di deossiemoglobina.

Parameter	Description	Prior Mean η_θ	Prior Variance C_θ
κ	Rate of signal decay	0.65 per s	0.015
γ	Rate of flow-dependent elimination	0.41 per s	0.002
τ	Hemodynamic transit time	0.98 s	0.0568
α	Grubb's exponent	0.32	0.0015
ρ	Resting oxygen extraction fraction	0.34	0.0024

Tabella 3.1: In tabella si riportano i parametri emodinamici, con i relativi valori di media a priori η_θ e varianza a priori C_θ (Friston et al., 2003).

Si precisa inoltre che, il valore delle costanti dell'Eq.3.9 (Buxton et al., 1998) è valido solo per campi magnetici prossimi a 1.5 T: campi magnetici di maggiore intensità necessitano di costanti diverse (Friston, 2002a). Nel Balloon Model sono presenti, quindi, tre parametri incogniti, che determinano le dinamiche del sistema: ρ , τ ed α , corrispondenti rispettivamente alla frazione di estrazione dell'ossigeno in stato stazionario, al tempo medio di transito del sangue nella regione di interesse e all'esponente di Grubb, che specifica la relazione tra volume e flusso sanguigno. Fissato il valore di tale parametri, l'unica grandezza richiesta per esplicitare la risposta BOLD è il flusso sanguigno entrante f (Friston et al., 2000).

Nella Tabella 3.1 si riporta un elenco dei parametri biofisici $\theta^h = \{\kappa, \gamma, \tau, \alpha, \rho\}$ presenti nel modello emodinamico, con i rispettivi valori.

3.2.3 Full Forward Model

Combinando gli stati neuronali ed emodinamici $x = \{z, s, f, v, q\}$ si ottiene un *full forward model*, specificato nella sua totalità dall'Eq.3.2 dello stato neuronale e da tutte le equazioni dello stato emodinamico (Eq.3.3, Eq.3.4, Eq.3.5, Eq.3.7):

$$\begin{aligned} \dot{x} &= f(x, u, \theta) \\ y &= \lambda(x), \end{aligned} \tag{3.10}$$

con parametri $\theta = \{\theta^c, \theta^h\}$ (Figura 3.7).

Per ogni set di parametri e di input, le equazioni di stato possono essere integrate ed elaborate attraverso la non linearità dell'uscita (Eq. 3.9) al fine di ottenere una risposta $h(u, \theta)$ dal modello. Tale integrazione può essere calcolata in modo abbastanza semplice, grazie al fatto che le funzioni di stimolo, comunemente impiegate nel design dell'fMRI, sono costituite da elementi sparsi (Friston et al., 2003). Gli input, infatti, si presentano come eventi non frequenti (nei paradigmi *event-related*), oppure le variazioni negli ingressi avvengono sporadicamente (nei design a blocchi) (Friston, 2002a). L'integrazione dell'Eq.3.10 è equivalente a una convoluzione generalizzata degli input con i sistemi di kernel di Volterra. Questi kernel si ricavano dallo sviluppo in serie di Volterra dell'Eq.3.10: (Bendat, 1990),

$$h_i(u, \theta) = \sum_k \int_0^t \dots \int_0^t K_i^k(\sigma_1, \dots, \sigma_k) u(t - \sigma_1), \dots, u(t - \sigma_k) d\sigma_1, \dots, d\sigma_k$$

$$K_i^k(\sigma_1, \dots, \sigma_k) = \frac{\partial^k y_i(t)}{\partial u(t - \sigma_1), \dots, \partial u(t - \sigma_k)},$$
(3.11)

dove K_i^k è il kernel di ordine k per la regione i . I kernel rappresentano una riparametrizzazione del modello e vengono utilizzati per caratterizzare le risposte locali agli impulsi, sia a livello neuronale, che a livello emodinamico. Le serie di Volterra sono degli sviluppi di Taylor estesi ai sistemi dinamici input-state-output, che considerano l'effetto dell'input nell'istante presente e nel recente passato. La caratteristica importante delle serie di Volterra è che esse non si riferiscono a tutte le *hidden state variables* che mediano il passaggio dall'ingresso all'uscita (ad esempio, il flusso sanguigno, il volume venoso,...). Questo le rende uno strumento molto potente, infatti forniscono una descrizione completa del comportamento dinamico del sistema, senza dover misurare le variabili di stato o fare assunzioni su come queste variabili interagiscono per produrre una risposta. Entrambe le funzioni dell'Eq.3.11 si possono ottenere mediante differenziazione numerica oppure, analiticamente, attraverso approssimazioni bilineari (Friston et al., 2000).

Il modello forward y (Figura 3.7) può essere costruito a partire dalla

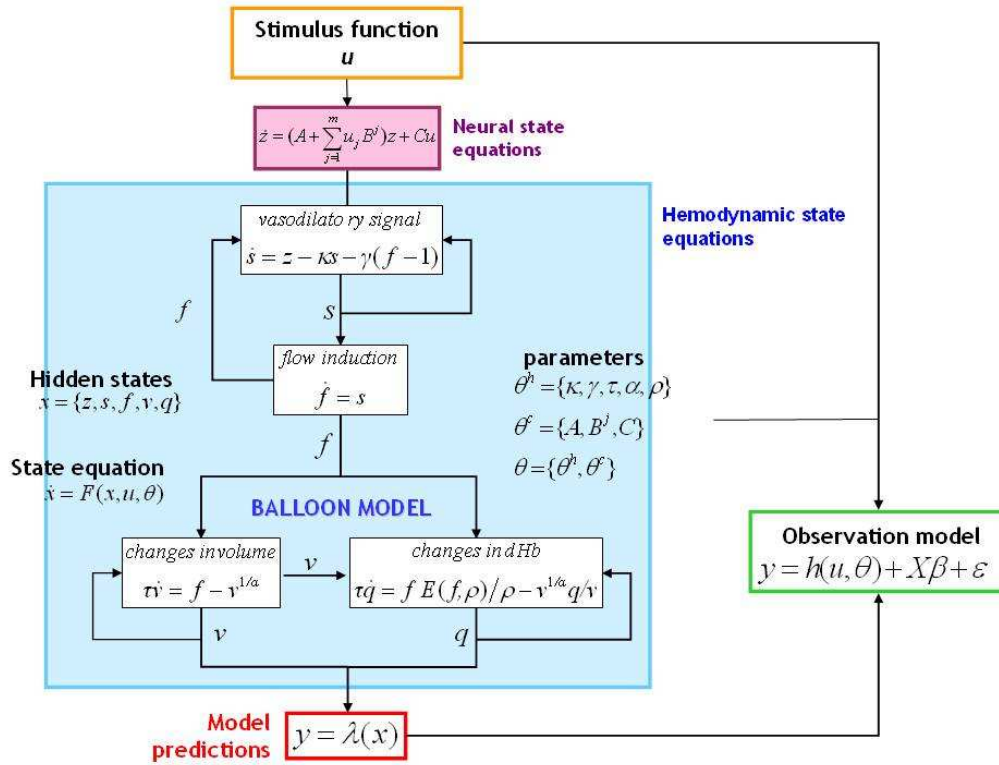


Figura 3.7: Schema completo del DCM, nel quale si evidenzia il legame tra le equazioni del livello neuronale e del livello emodinamico. Si sottolinea, inoltre, la relazione di confronto tra l’uscita predetta dal modello $h(u, \theta)$ e il segnale BOLD osservato y : quest’ultimo si ottiene sommando a $h(u, \theta)$ dei termini di *confound* $X\beta$ e un termine d’errore ϵ .

risposta predetta $h(u, \theta)$, alla quale si sommano un termine d’errore ϵ e una componente di disturbo $X(t)$, ottenendo:

$$y = h(u, \theta) + X\beta + \epsilon, \tag{3.12}$$

dove β è il vettore dei coefficienti incogniti dei *confound*.

3.2.4 I prior

Ciò che si vuole ottenere dal DCM è la probabilità a posteriori $\eta_{\theta|y}$ dei parametri. Per calcolare tale quantità è necessario, secondo la regola di Bayes, conoscere la verosimiglianza e la densità a priori dei parametri, in termini

di valore atteso η_θ e di covarianza C_θ (Appendice A). In questo contesto si utilizza un approccio totalmente Bayesiano, poichè, primo sono presenti *constraint* evidenti e necessari sulle dinamiche neuronali, che possono essere utilizzati per motivare i prior sui parametri di connessione, e secondo risulta relativamente semplice specificare i prior, determinati empiricamente, sui parametri emodinamici.

Prior sui parametri di connessione

È evidente che l'attività neuronale non può divergere esponenzialmente verso valori infiniti, di conseguenza, in assenza di input, lo stato neuronale deve tornare nella condizione di stabilità. Matematicamente questo si traduce nel fatto che, il maggiore autovalore reale della matrice A dei parametri intrinseci, noto anche come esponente principale di Lyapunov, dev'essere negativo. Questo vincolo verrà utilizzato per determinare la densità a priori dei parametri di connessione a_{ij} in modo tale da assicurare la dissipatività del sistema. La specificazione di questi prior può essere ottimizzata mediante una riparametrizzazione delle matrici di connessione:

$$\begin{aligned} A \rightarrow \sigma A &= \sigma \begin{bmatrix} -1 & a_{12} & \dots \\ a_{21} & -1 & \\ \vdots & & \ddots \end{bmatrix} \\ B \rightarrow \sigma B^j &= \sigma \begin{bmatrix} b_{11}^j & b_{12}^j & \dots \\ b_{21}^j & \ddots & \\ \vdots & & \end{bmatrix}. \end{aligned} \quad (3.13)$$

Questa fattorizzazione di A e B^j in matrici di connessione scalari e normalizzate rende gli accoppiamenti normalizzati adimensionali, così che le forze di connessione tra le regioni siano tutte espressi in relazione alle *self-connection*. Sebbene sia empiricamente evidente che l'emodinamica subisca ampie variazioni da regione a regione, c'è motivo di ritenere che le dinamiche neuronali, intrinseche di ogni area, non differiscano marcatamente le une dalle altre. È, quindi, possibile impiegare diverse fattorizzazioni, permettendo, ad esempio, di evidenziare le auto-connessioni per ogni specifica regione, mediante delle matrici diagonali. In questa trattazione si utilizzerà la fattorizzazione dell'Eq.3.13, poichè rende più semplice la formulazione e la specificazione dei

prior. Se l'esponente principale di Lyapunov di A è minore di zero, il sistema convergerà ad un punto di attrazione, mentre se è pari a zero, il sistema presenterà dinamiche oscillatorie. Dunque, per vincolare l'intensità delle connessioni, caratterizzate da prior Gaussiani su a_{ij} , è sufficiente garantire la negatività dell'esponente principale. Si presenta, però, un problema: diverse, ma ugualmente probabili, configurazioni di a_{ij} possono avere differenti esponenti principali. Una soluzione plausibile è di considerare la probabilità, che il più grande esponente possibile di A sia maggiore di zero e determinare i prior in modo tale da minimizzare tale quantità.

In breve, i prior sui parametri di connettività assicurano la stabilità del sistema. Le matrici di connessione possono essere decomposte in un *scaling parameter* σ , corrispondente al decadimento intrinseco o all'auto-inibizione di ogni regione, e in una matrice di connessione normalizzata. Lo spettro degli autovalori della matrice delle connessioni intrinseche determina le costanti di tempo dei modi o dei pattern dell'attività neuronale, espressa in risposta alla perturbazione sperimentale. Questi sono pesati mediante il parametro σ , la cui aspettazione a priori (η_σ) controlla le costanti di tempo caratteristiche del livello neuronale, cioè quelle osservate in assenza di connessioni. La varianza a priori v_σ è scelta in modo tale da minimizzare la probabilità che σ assuma valori negativi. Il prior risultante può essere espresso come funzione dell'emivita implicita $\tau_z(\sigma) = \ln 2/\sigma$, osservando che $p(\tau_z) = p(\sigma)\partial\sigma/\partial\tau_z$. Questa trasformazione mostra che si possono riscontrare transitori locali con costanti di tempo che variano nel range di valori dalle poche centinaia di millisecondi ad alcuni secondi (Figura 3.8). La distribuzione a priori di ogni singola forza di connessione a_{ij} è assunta essere indipendente, con un'aspettazione a priori $\eta_a = 0$ e una varianza v_a , tale da assicurare che l'esponente principale abbia una piccola probabilità di essere positivo. Questa varianza decresce con il numero di regioni. I prior per i parametri di connessione bilineare b_{ij}^k sono uguali a quelli per i parametri di connessione intrinseca. Poichè rappresentano le componenti input-dipendenti di a_{ij} , anch'essi sono normalizzati rispetto a σ e, di conseguenza, risultano adimensionali (Eq.3.13). I prior relativi all'influenza degli input estrinseci c_{ik} sono, invece, relativamente non informativi, con aspettazione zero e varianza unitaria. È importante interpretare gli elementi bilineari e i loro prior in relazione alla scala di grandezza degli input. Questo perchè i parametri bilineari non sono invarianti alla trasformazione

degli ingressi.

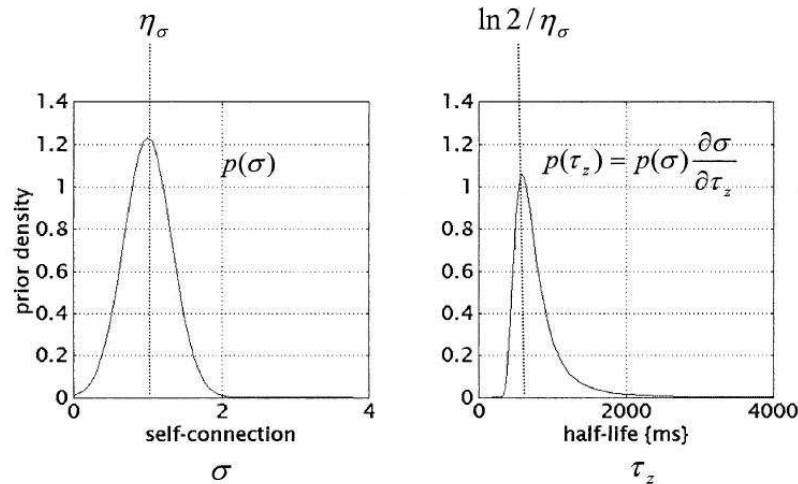


Figura 3.8: Funzioni della densità di probabilità a priori per il *scaling parameter* temporale o *self-connections* σ . Il primo grafico mostra la distribuzione Gaussiana di σ ; il secondo la distribuzione di σ quando viene espresso in termini dell'emivita caratteristica dei transistori neuronali τ_z , in ogni particolare regione (Friston et al., 2003).

Per esempio, se l'ampiezza degli input venisse raddoppiata, sarebbe necessario dimezzare il valore di b_{ij}^k per mantenere il medesimo effetto di modulazione sulle interazioni tra gli stati neuronali. Di conseguenza, gli input vengono sempre 'scalati', così che il loro integrale di tempo sia pari al numero di eventi o al numero di secondi del particolare contesto sperimentale. Inoltre, gli ingressi dovrebbero essere specificati in conformità all'assunzione dei prior, ossia devono modulare le connessioni indipendentemente gli uni dagli altri. Ciò significa che, se si esegue una riparametrizzazione degli input, ad esempio prendendo una combinazione lineare degli stimoli originali, si otterranno risultati sensibilmente differenti, a causa del cambiamento dei prior impliciti.

Si possono, inoltre, implementare ulteriori vincoli. Ad esempio, è possibile precludere alcune connessioni, settando la loro varianza a priori a zero (Friston et al., 2003).

Prior emodinamici

Le medie e le varianze utilizzate come prior per i cinque parametri emodinamici θ_h (vedi Tabella 3.1) corrispondono alla stima delle medie e delle

varianze a posteriori di tali parametri biofisici, calcolate su dei dati, acquisiti durante un particolare contesto sperimentale (Friston, 2002a).

Questo risulta essere ampiamente sufficiente per scopi generali; tuttavia, riducendo il rango della covarianza a priori dei parametri biofisici, è possibile ridurre la complessità computazionale della stima. Questo equivale a consentire a due sole combinazioni lineari dei parametri emodinamici di variare da regione a regione. Per ogni area si avrà:

$$\begin{aligned}
 Cov\{\kappa^1\} &= \frac{\partial \kappa^1}{\partial \theta^h} C_\theta^h \frac{\partial \kappa^{1T}}{\partial \theta^h} \\
 &= \epsilon^h \lambda^h \epsilon^{hT} \\
 C_\theta^h &= \frac{\partial \kappa^{1+}}{\partial \theta^h} \epsilon^h \lambda^h \epsilon^{hT} \frac{\partial \kappa^{1+T}}{\partial \theta^h},
 \end{aligned} \tag{3.14}$$

dove $+$ denota la matrice pseudoinversa. Questa risposta è semplicemente il kernel di primo ordine dall'Eq.3.11 e dipende dalla covarianza a priori dei parametri biofisici C_θ^h . Questo si spiega considerando il fatto che, nonostante i parametri biofisici possano variare in modo indipendente, la loro influenza sulla risposta emodinamica osservata può risultare indistinguibile.

Lo spettro degli autovalori nella diagonale principale di λ^h suggerisce che ci sono solo due modi di variazione dell'emodinamica. Dopo aver settato tutti gli altri autovalori a zero, la seconda parte dell'Eq.3.14 specifica le covarianze a priori, regolate nello spazio dei parametri. Se la densità a priori dei parametri emodinamici viene ristretta a un sottospazio bidimensionale, l'imporre dei *constraint* non è più un aspetto di primaria importanza, poichè non si è interessati a fare *inference* su di essi. Tuttavia, limitando così lo spazio di ricerca, la procedura di stima diviene più efficiente e il tempo computazionale si riduce.

Associando le densità a priori dei parametri di connessione ed emodinamici, è possibile esprimere la probabilità a priori di tutti i parametri in termini

della loro aspettazione η_θ e della loro covarianza C_θ a priori:

$$\theta = \begin{bmatrix} \sigma \\ a_{ij} \\ b_{ij}^k \\ c_{ik} \\ \theta^h \end{bmatrix}, \eta_\theta = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ \eta_\theta^h \end{bmatrix} \quad (3.15)$$

$$C_\theta = \begin{bmatrix} v_\sigma & & & & \\ & C_A & & & \\ & & C_B & & \\ & & & 1 & \\ & & & & C_h \end{bmatrix},$$

dove le covarianza a priori C_A e C_B contengono gli elementi della diagonale principale v_a , relativi a tutte le connessioni che possono variare.

A questo punto, avendo specificato tutti i prior necessari, è possibile calcolare la probabilità a posteriori e procedere con la stima, mediante l'algoritmo *ER* (Friston et al., 2003).

3.2.5 Stima dei parametri: algoritmo EM

L'algoritmo utilizzato per stimare i parametri del *full forward model* è l'*Expectation Maximization* (EM) (Appendice A). Seguendo l'approccio descritto in Friston (2002), si riportano le seguenti equazioni:

$$\begin{aligned} y - h(u, \eta_{\theta|y}) &\approx J\Delta\theta + X\beta + \epsilon \\ &= [J, X] \begin{bmatrix} \Delta\theta \\ \beta \end{bmatrix} + \epsilon \\ \Delta\theta &= \theta - \eta_{\theta|y} \\ J &= \frac{\partial h(u, \eta_{\theta|y})}{\partial \theta}. \end{aligned} \quad (3.16)$$

Questa approssimazione lineare locale viene data in ingresso all'algoritmo iterativo EM, al fine di ottenere l'aspettazione $\eta_{\theta|y}$ e la covarianza $C_{\theta|y}$ condizionale dei parametri, nonchè le stime della *Restricted Maximum Likelihood*

(ReML) degli iperparametri Λ , per l'errore di covarianza.

I passi **E** ed **M** vengono iterati fino a convergenza:

E – step

$$\begin{aligned}
J &= \frac{\partial h(\eta_{\theta|y})}{\partial \theta} \\
\bar{y} &= \begin{bmatrix} y - h(\eta_{\theta|y}) \\ \eta_{\theta} - \eta_{\theta|y} \end{bmatrix}, \bar{J} = \begin{bmatrix} J & X \\ 1 & 0 \end{bmatrix}, \\
\bar{C}_{\epsilon} &= \begin{bmatrix} \sum \Lambda_i Q_i & 0 \\ 0 & C_{\theta} \end{bmatrix}, \\
C_{\theta|y} &= (\bar{J}^T \bar{C}_{\epsilon}^{-1} \bar{J})^{-1} \\
\begin{bmatrix} \Delta \eta_{\theta|y} \\ \eta_{\beta|y} \end{bmatrix} &= C_{\theta|y} (\bar{J}^T \bar{C}_{\epsilon}^{-1} \bar{y}) \\
\eta_{\theta|y} &\leftarrow \eta_{\theta|y} + \Delta \eta_{\theta|y}
\end{aligned} \tag{3.17}$$

M – step

$$\begin{aligned}
P &= \bar{C}_{\epsilon}^{-1} - \bar{C}_{\epsilon}^{-1} \bar{J} C_{\theta|y} \bar{J}^T \bar{C}_{\epsilon}^{-1} \\
\frac{\partial F}{\partial \Lambda_i} &= -\frac{1}{2} \text{tr}\{P Q_{ij}\} + \frac{1}{2} \bar{y}^T P^T Q_i P \bar{y} \\
\left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \Lambda^2_{ij}} \right\rangle &= -\frac{1}{2} \text{tr}\{P Q_i P Q_j\} \\
\Lambda &\leftarrow \Lambda - \left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \Lambda^2} \right\rangle^{-1} \frac{\partial F}{\partial \Lambda}.
\end{aligned}$$

In questo caso gli elementi di disturbo X vengono trattati come *fixed effect*, con una varianza a priori tendente a infinito, che non compare necessariamente nell'Eq.3.17.

La variabile della risposta potrebbe essere vista come una serie temporale multivariata, tuttavia essa è trattata come vettore di una singola osservazione, la cui covarianza dell'errore include sia le correlazioni temporali che quelle spaziali: $C_{\epsilon} = V \otimes \Sigma(\Lambda) = \sum \Lambda_i Q_i$. Questa covarianza è parametrizzata mediante alcuni iperparametri Λ_i , che pesano il contributo delle componenti Q_i della covarianza stessa. La forma della matrice C_{ϵ} è conforme al prodotto tensore di Kronecker tra la matrice V ($n \times n$), codificante le correlazioni temporali sugli errori, e un'incognita covarianza Σ dell'errore locale ($l \times l$).

Le Eq.3.17 permettono di stimare i momenti condizionali dei parametri

di connessione e dei parametri emodinamici, nonché gli iperparametri, che influiscono sull'errore di osservazione (Friston et al., 2003).

3.2.6 Inference

La procedura di stima è un'analisi della densità a posteriori, sulla base di assunzioni Gaussiane (Friston, 2002a). Lo stimatore fornisce un'approssimazione Gaussianiana della densità a posteriori dei parametri $q(\theta)$, in termini della loro media $\eta_{\theta|y}$ e della loro covarianza $C_{\theta|y}$. L'aspettazione è nota anche come *posterior mode* o stimatore massimo a posteriori (MAP). Le distribuzioni a posteriori vengono utilizzate per l'*inference*, in quanto si calcola la probabilità che ogni parametro o contrasto di parametri $c^T \eta_{\theta|y}$ superi una determinata soglia γ_{th} (Figura 3.9):

$$p = \phi_N\left(\frac{c^T \eta_{\theta|y} - \gamma_{th}}{\sqrt{c^T C_{\theta|y} c}}\right), \quad (3.18)$$

dove ϕ_N è una distribuzione cumulativa normale. Le unità di misura dei valori di soglia sono concordi alle unità di misura dei parametri cui si riferiscono (nel caso delle connessioni: Hz, secondi o adimensionali) (Friston et al., 2003).

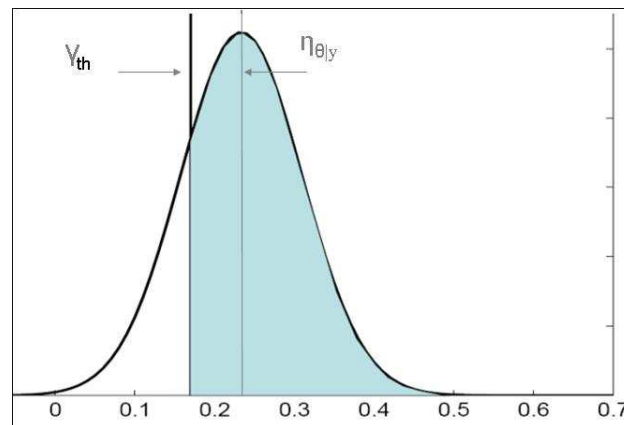


Figura 3.9: Rappresentazione grafica della distribuzione a posteriori dei parametri, con media $\eta_{\theta|y}$. L'area colorata rappresenta la probabilità che il parametro (o un contrasto sul parametro) ecceda la soglia γ_{th} fissata.

3.3 Bayesian Model Selection (BMS)

Un problema cruciale per ogni tipo di metodologia modellistica riguarda la selezione del ‘modello migliore’. La questione non è banale: la decisione viene presa confrontando i vari fit, ma tenendo conto anche della complessità di ogni modello, che può essere espressa, ad esempio, mediante il numero di parametri da stimare. La complessità è un aspetto importante, poichè esiste un compromesso tra un buon fit e la generalizzabilità del modello, ossia, la sua capacità di spiegare data set diversi, generati dallo stesso processo di base. Con l’aumentare del numero di parametri, migliora progressivamente anche il fit, mentre, oltre un certo limite, la generalizzabilità del modello decresce. Questo è dovuto all’*over-fitting*: un’eccessiva complessità porta a fittare anche le componenti di rumore, che sono proprie di ogni data set. Di conseguenza, il modello diventa meno generalizzabile, in quanto i risultati non possono essere estesi a una situazione generale, ma sono specifici per ogni singolo contesto sperimentale.

La questione della scelta del ‘modello ottimo’ viene, quindi, riformulata più correttamente in termini di selezione del ‘modello che rappresenta il miglior compromesso tra un buon fit e una bassa complessità’. In contesto Bayesiano, questo problema viene affrontato confrontando l’*evidence* $p(y|m)$ relativa ai diversi modelli. Dal teorema di Bayes, si definisce la probabilità a posteriori come:

$$p(\theta|y, m) = \frac{p(y|\theta, m)p(\theta|m)}{p(y|m)}, \quad (3.19)$$

l’*evidence* del modello può essere considerata come una costante di normalizzazione per il prodotto della *likelihood* dei dati e la probabilità a priori dei parametri, ossia

$$p(y|m) = \int p(y|\theta, m)p(\theta|m)d\theta. \quad (3.20)$$

In generale, tuttavia, questo integrale non può essere risolto analiticamente ed è, perciò, necessaria un’approssimazione dell’Eq.3.20.

Nell’ambito del DCM, una possibile soluzione potrebbe essere quella di utilizzare la *Laplace approximation*, ad esempio, rappresentando l’*evidence* del

modello mediante una gaussiana. Questo porta alla seguente espressione per il logaritmo dell'*evidence* del modello:

$$\begin{aligned}
\ln p(y|m) &= \text{accuracy}(m) - \text{complexity}(m) \\
&= \left[-\frac{1}{2} \ln |C_\epsilon| - \frac{1}{2} \epsilon_y^T C_\epsilon^{-1} \epsilon_y \right] - \left[-\frac{1}{2} \ln |C_\theta| - \frac{1}{2} \ln |C_{\theta|y}| - \frac{1}{2} \epsilon_\theta^T C_\theta^{-1} \epsilon_\theta \right] \\
\epsilon_y &= y - h(u, \eta_{\theta|y}) \\
\epsilon_\theta &= \eta_\theta | y - \eta_\theta,
\end{aligned} \tag{3.21}$$

dove $\eta_{\theta|y}$ denota la stima massima a posteriori (MAP), $C_{\theta|y}$ è la covarianza a posteriori dei parametri, C_ϵ è la covarianza dell'errore, η_θ è la media a priori dei parametri, C_θ è la covarianza a priori e $h(u, \eta_{\theta|y})$ è la predizione del modello, dato l'ingresso noto u e la stima MAP $\eta_{\theta|y}$ (?). L'Eq.3.21 rispecchia la necessità per il modello ottimo di costituire il miglior compromesso tra un buon fit dei dati (l'accuratezza) e la complessità del modello. Il termine di complessità dipende dalle distribuzioni dei prior e, quindi anche dalla covarianza a priori delle connessioni intrinseche. Questo diventa problematico nel contesto del DCM per l'fMRI, infatti questa covarianza è definita in modo modello-specifico, al fine di minimizzare la probabilità di ottenere dei sistemi instabili (Paragrafo 3.2.4.) Il confronto di modelli con un numero diverso di connessioni comporta, quindi, il confronto di prior differenti. Risulta, pertanto, più utile considerare un'approssimazione alternativa, e meno dipendente dai prior, per l'*evidence* del modello.

Approssimazioni adeguate e indipendenti dalla dipendenza dei prior sono espresse dal *Bayes Information Criterion* (BIC) e dall'*Akaike Information Criterion* (AIC):

$$\begin{aligned}
BIC &= \text{accuracy}(m) - \frac{p_\theta}{2} \ln n \\
AIC &= \text{accuracy}(m) - p_\theta,
\end{aligned} \tag{3.22}$$

dove p_θ è il numero di parametri e n è il numero di campioni (?). Se si confrontano i termini di complessità dei due indici, si nota che, rispetto all'AIC,

il BIC penalizza maggiormente la situazione in cui il numero di scansioni n sia uguale o maggiore di otto (che è sempre il caso dei dati di fMRI):

$$\frac{p_\theta}{2} \ln n > p_\theta \Rightarrow n > e^2 \approx 7.39. \quad (3.23)$$

Il BIC, quindi, favorisce la scelta di modelli più semplici, mentre l'AIC propende verso modelli più complessi. Questo può portare a risultati divergenti; convenzionalmente, per ogni coppia di modelli m_i e m_j , la selezione viene fatta solo, e solo se, gli indici BIC e AIC sono concordi. La decisione è, quindi, basata sull'approssimazione che fornisce il minor valore per il *Bayes Factor* (BF):

$$BF_{ij} = \frac{p(y|m_i)}{p(y|m_j)}. \quad (3.24)$$

Per quantificare la bontà di un modello rispetto agli altri, vengono applicate delle scale di classificazione. Una convenzione ampiamente utilizzata è quella proposta da Raftery (1995) e riportata in Tabella 3.2: l'*evidence* per selezionare il modello m_i rispetto a m_j può essere debole ($BF < 3$), positiva ($3 \leq BF < 20$), forte ($20 \leq BF < 150$) o molto forte ($BF \geq 150$).

B_{ij}	$p(m = i y)(\%)$	Evidence in favor of model i
1 – 3	50 – 75	Weak
3 – 20	75 – 95	Positive
20 – 150	95 – 99	Strong
≥ 150	≥ 99	Very Strong

Tabella 3.2: In tabella si riporta una classificazione dell'*evidence* a favore di un modello, sulla base dei valori dei BF. Nella colonna centrale si trovano i rispettivi valori percentuali della probabilità che il modello m_i rappresenti l' 'ipotesi vera' (?).

3.4 Relazione con le analisi convenzionali

È interessante notare come le analisi convenzionali dei dati di fMRI, che utilizzano modelli lineari di convoluzione, risultano essere un caso particolare dei modelli causali dinamici, che adottano un'approssimazione bilineare. Questo

aspetto è importante, perchè fornisce una connessione diretta tra il DCM e i modelli classici.

Ad esempio, nell'ipotesi che gli input siano connessi a ogni regione e che le interazioni tra le aree vengano annullate, settando a zero le varianze a priori di a_{ij} e b_{ij}^k , si ottiene un insieme di regioni cerebrali disconnesse, che rispondono solamente agli stimoli estrinseci. I parametri liberi di interesse si riducono, così, agli elementi della matrice C e riflettono la capacità degli ingressi di stimolare l'attività neuronale.

Un ulteriore esempio: impostando a zero le varianze a priori sulle *self-connection* (il parametro di scala σ) e sui parametri emodinamici si arriva ad avere un modello *single-input single-output* per ogni regione cerebrale, che può essere riformulato come un modello di convoluzione (Friston, 2002a). Per il voxel i e l'input j , c_{ij} può essere stimato dalla convoluzione dell'ingresso con $\partial K_i^1 / \partial c_{ij}$, dove K_i^1 è il kernel di primo ordine che media l'influenza di j su i . Gli input convoluti sono, quindi, utilizzati per creare un General Linear Model (GLM) che può essere stimato con la tecnica dei minimi quadrati:

$$y = X\beta + e \quad x(t) = u(t) \otimes h(t), \quad (3.25)$$

dove X è la design matrix, ottenuta dalla convoluzione tra l'input $u(t)$ e la risposta emodinamica $h(t)$, β è il vettore dei parametri incogniti ed e è l'errore Gaussiano. Questo è precisamente l'approccio adottato nell'analisi classica, nel quale $\partial K_i^1 / \partial c_{ij}$ è solitamente indicato come risposta emodinamica $h(t)$. Il punto chiave è che i GLM, impiegati nelle usuali analisi dei dati, non sono altro che casi particolari dei modelli bilineari, i quali includono molte più ipotesi. Tali ulteriori assunzioni vengono implementate attraverso i prior, che riducono le interazioni tra le regioni e prevengono ogni variazione nelle risposte biofisiche (Friston et al., 2003).

Capitolo 4

Materiali e Metodi

Per costruire un modello DCM a partire dai dati di fMRI acquisiti, è necessaria una preventiva elaborazione degli stessi. In questo capitolo si descriverà il *pre-processing* temporale e spaziale che permette di rendere i segnali adeguati all'applicazione del GLM. Un'analisi statistica sul valore stimato dei parametri del GLM permette di determinare quali sono le aree di attivazione rispetto a quelle non coinvolte nel *task*. Sui dati di fMRI viene eseguita sia un'analisi sui singoli soggetti, sia un'analisi di gruppo, che valuta le caratteristiche medie di popolazione. A partire dalle regioni attivate si costruiscono i vari modelli dinamici, testando diverse ipotesi a riguardo delle connessioni presenti tra esse. Tra i modelli valutati si determina il modello ottimo, utilizzando diversi indici di parsimonia.

4.1 Soggetti

Sono stati reclutati nove soggetti sani (quattro uomini e cinque donne) di età compresa tra i 19 e i 46 anni (media: 34.1, sd: 7.9). Tutti i soggetti sono destrimani ed hanno dato il consenso informato per lo studio, approvato dal Comitato Etico Locale del Dipartimento Universitario e dall'Ospedale, in accordo con la Dichiarazione di Helsinki.

4.2 Acquisizione dei dati fMRI

Le immagini funzionali vengono acquisite con una scanner di Risonanza Magnetica a 1.5 T (Symphony, Siemens, Erlangen, Germany), dotato della fun-

zionalità Echo Planar Imaging (EPI) e di uno standard transient/receive (TR) head coil. I dati di fMRI sono acquisiti con una sequenza EPI $T2^*$ -pesata, le cui specifiche sono:

- 36 slice
- Repetition Time, TR = 3700 ms
- Time Echo, TE = 50 ms
- matrice di scansione di dimensioni 64×64
- Field of View, FOV = 256×256
- spessore di ogni fetta = 3 mm
- dimensione del voxel = $3 \times 3 \times 3$ mm
- orientazione assiale delle fette.

Per ogni soggetto viene eseguita, inoltre, una scansione anatomica T1-pesata:

- 192 fette
- TR = 1990 ms
- TE = 3 ms
- matrice di scansione di dimensioni 512×512
- FOV = 256×256
- spessore di ogni fetta = 1 mm
- orientazione saggitale delle fette.

4.3 Paradigma Sperimentale

All'interno della camera della Risonanza Magnetica, i soggetti sono in posizione supina, con i gomiti flessi a 120° , le mani prone in posizione rilassata e la testa fissata mediante un poggiatesta regolabile e imbottito sui lati. Ai soggetti viene richiesto di mantenere il più possibile invariata questa postura durante l'esecuzione dell'esperimento e di fare, previo uno specifico segnale, un movimento di adduzione con il pollice della mano destra. Inoltre, durante il task, i soggetti devono tenere gli occhi aperti, evitare i blinking e fissare

un punto, posizionato a 20 cm di distanza. L'attenzione dei soggetti a questi ultimi, ma importanti, aspetti viene consolidata prima di ogni registrazione.

Durante l'acquisizione di fMRI, vengono registrati 100 volumi di 3700 ms ciascuno, alternando 5 cicli di attivazione a 5 cicli di controllo (rest), per un totale di 6 min di acquisizione di EPI. La velocità alla quale viene eseguito il movimento del pollice della mano destra è scandita da un metronomo, posto alla frequenza di 1 Hz. Il suono del metronomo è continuativo durante il task, mentre viene cessato in condizione di rest. Una voce segnala ai soggetti quando avviare e fermare il movimento. Prima dell'esperimento, ogni soggetto esegue per parecchi minuti il gesto che dovrà poi ripetere all'interno dello scanner, al fine di compiere il task correttamente e alla giusta velocità. Il contesto sperimentale prevede, inoltre, di avere le luci accese e di dotare i soggetti di tappi alle orecchie, per attutire i suoni della risonanza (Formaggio et al., 2008).

4.4 Analisi dei dati

4.4.1 Pre-Processing

Prima di procedere con l'analisi vera e propria dei dati, è essenziale effettuare un *pre-processing* degli stessi, al fine di rimuovere dai segnali la variabilità, che non rispecchia direttamente gli effetti sperimentali. Tutti i dati fMRI, infatti, sono soggetti ad imprecisioni spaziali e temporali di intensità spesso sovrapponibili a quella del segnale emodinamico. Queste sono causate da movimenti indesiderati della testa, da oscillazioni fisiologiche e da altre componenti di rumore, quali l'inomogeneità del campo magnetico. Inoltre, per poter confrontare acquisizioni diverse è necessario riportare tutte le immagini ad uno spazio standardizzato, al fine di rendere i dati utilizzabili per analisi statistiche.

Di seguito si descriveranno i passaggi di pre-elaborazione eseguiti mediante SPM8, suddividendoli tra quelli che considerano gli aspetti temporali e quelli che comportano trasformazioni spaziali.

***Pre-processing* temporale**

L'elaborazione temporale dei dati viene eseguita utilizzando l'algoritmo di *Slice Timing*. Questo provvede a correggere le differenze temporali nell'acquisizione delle immagini. L'argomento *Slice Order* dell'algoritmo specifica l'ordine di acquisizione delle fette ed è un vettore di N scalari, dove N è il numero di fette per volume. Ogni numero si riferisce alla posizione di una fetta all'interno del volume stesso e la sequenza dei numeri all'interno del vettore rappresenta l'ordine temporale di acquisizione delle fette.

Tale elaborazione è, quindi, necessaria per correggere l'ordine utilizzato nella registrazione delle fette durante la scansione EPI. Questa correzione permette di far corrispondere allo stesso istante temporale i dati di ogni fetta, altrimenti i suoi campioni potrebbero rappresentare tempi diversi, distanti anche metà TR rispetto alla fetta adiacente (nel caso di sequenza *interleaved*) (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/manual.pdf, 2011).

In questo specifico contesto, gli argomenti forniti in ingresso allo *Slice Timing* per l'elaborazione temporale delle immagini sono:

- le immagini funzionali, eventualmente corrette con l'algoritmo di *Realign*
- il numero di fette: $nSlice = 36$
- il tempo di ripetizione: $TR = 3.7$
- l'Acquisition Time TA, calcolato come $TR - (TR/nSlice)$: $TA = 3.5972$
- il vettore di *Slice Order*: [1 19 2 20 ... 18 36]
- la fetta di riferimento: 1.

***Pre-processing* spaziale**

Il pre-processing spaziale viene eseguito per eliminare gli artefatti dovuti al movimento, volontario o involontario, ma anche per sovrapporre correttamente le immagini funzionali alla relativa anatomica e per normalizzare entrambe ad uno spazio standardizzato.

Le immagini possono essere corrotte da eventuali movimenti del soggetto durante l'acquisizione, spostamenti anche lievi della testa o del corpo possono provocare alterazioni evidenti nei segnali acquisiti. Artefatti sempre presenti, inoltre, sono dovuti ad oscillazioni fisiologiche, quali la respirazione e il

battito cardiaco, che provocano minimi, ma considerevoli, spostamenti tra la registrazione di volumi dsuccessivi. Per correggere tali imprecisioni si procede con l'operazione di *Realign*, nella modalità *Reslice & Estimate*. Questo algoritmo calcola, mediante i minimi quadrati lineari, i 6 parametri che descrivono le tre traslazioni e le tre rotazioni necessarie per riallineare le immagini funzionali rispetto ad un'immagine di riferimento.

Il successivo passaggio di elaborazione consiste nello *smooth*. Esso regolarizza le immagini acquisite mediante un kernel Gaussiano di ampiezza specifica, al fine di eliminare il rumore intrinseco delle serie temporali. Il parametro richiesto è larghezza a metà altezza della funzione Gaussiana (FWHM) ed è generalmente fissato ad un valore doppio rispetto alle dimensioni dei voxel delle immagini, in questo caso $FWHM = [6 \ 6 \ 6]$.

A questo punto si procede con la fase di *Coregistration (Estimate & Reslice)*, tramite la quale si provvede al riallineamento delle immagini funzionali sulla corrispondente anatomica. In questo modo è possibile sovrapporre correttamente l'informazioni data dalle immagini $T2^*$ -pesate a quelle della T1. L'algoritmo calcolca, similmente al *Reslice*, i parametri che descrivono le tre traslazioni e le tre rotazioni codificanti le trasformazioni da eseguire sulle immagini funzionali e le applica alle stesse.

L'ultimo passaggio di elaborazione spaziale eseguito è quello di *Normalization*, nell'opzione *Estimate & Write*. Questa operazione permette di adattare le immagini individuali acquisite ad uno spazio standard, definito da uno modello ideale o da immagini template (ad esempio, lo spazio di Talairach o il Montreal Neuronal Institute, MNI, template). Nello specifico, per i dati qui considerati, si è impostata come *Source Image* l'immagine anatomica T1-pesata, come *Images to Write* sia le immagini funzionali che l'anatomica, come *Template Image* la *T1.nii* e il *Source Image Smoothing* è stato fissato a 6.

4.4.2 GLM: General Linear Model

La metodologia più utilizzata per ottenere delle mappe statistiche di attivazione è il GLM. Questo si basa sull'idea di poter rappresentare i dati di fMRI mediante un modello lineare nella forma:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n + e, \quad (4.1)$$

dove y rappresenta i dati osservati ed è espresso come combinazione lineare di n fattori sperimentali x_n , più un termine d'errore e . I parametri β_i indicano in che misura ogni fattore contribuisce alla generazione della risposta y . Il termine β_0 riflette il contributo totale di tutti i fattori che rimangono costanti durante l'esperimento: nei segnali fMRI questi sono rappresentati dall'attività cerebrale che permane durante l'esperimento, registrata anche in assenza di attivazione BOLD (Huettel et al., 2004). Il GLM è solitamente espresso in forma matriciale:

$$y = X\beta + e, \quad (4.2)$$

dove y è il vettore delle risposte di ogni singolo voxel, X è la design matrix che riassume le caratteristiche emodinamiche e sperimentali, β è il vettore dei parametri incogniti ed e è un termine d'errore, assunto essere indipendente e con distribuzione Gaussiana ($N(0, \sigma^2)$). La design matrix viene costruita a partire dall'ingresso $u(t)$ di stimolazione, che è completamente noto, poichè viene definito in fase di progettazione sperimentale, e dalla risposta emodinamica $h(t)$. Quest'ultima ha una forma nota, stabilita a priori a meno dell'ampiezza che, quindi, rappresenta il parametro incognito β da stimare. Le risposte emodinamiche più frequentemente utilizzate sono la canonica (che è ottenuta come differenza fra due funzioni gamma), la canonica integrata con la sua derivata temporale e la canonica integrata con le derivate rispetto al tempo e all'ampiezza (Figura 4.1). In particolare, la design matrix viene calcolata come convoluzione tra l'ingresso e la risposta impulsiva emodinamica: $x(t) = u(t) \otimes h(t)$ (Figura 4.2). Il valore dei parametri β , per ogni voxel, viene determinato mediante uno stimatore ai minimi quadrati lineari pesati (WMLS).

Per ottenere le mappe di attivazione è necessario eseguire un test statistico sulle stime dei parametri, al fine di determinare se la variazione del segnale BOLD nel voxel può essere considerata significativa e, quindi, se il voxel può essere classificato come attivo. Solitamente viene effettuato un *t-test*, in cui si definisce la variabile t come rapporto tra un contrasto dei parametri stimati $c^T \hat{\beta}$ e i residui pesati per il contrasto (Friston et al., 1995):

$$t = \frac{c^T \hat{\beta}}{\sqrt{\hat{\sigma}^2 c^T (X^T X)^{-1} c}}, \quad (4.3)$$

dove c è un vettore di contrasto, σ^2 è la varianza dell'errore e X è la de-

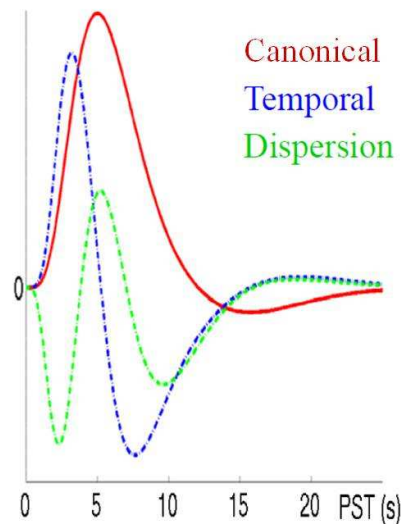


Figura 4.1: In figura si riportano la risposta emodinamica canonica, la risposta emodinamica derivata temporalmente e la risposta emodinamica derivata rispetto all'ampiezza (Bertoldo, 2009).

sign matrix (Worsley and Friston, 1995). I valori dei p -value possono essere corretti al fine di controllare il *Family Wise Error* (FWE). In SPM8 questo principio si basa sulla *random fields theory* (RFT). Questa metodica effettua una soglia sui valori dei p -value, basandosi sull'informazione che voxel adiacenti non sono indipendenti in virtù della continuità dei dati d'origine (Friston et al., 2007).

Nello specifico caso dei dati di questa tesi, le immagini di fMRI sono acquisite durante l'esecuzione di un compito motorio e le aree di attivazione vengono determinate mediante SPM8, dopo aver eseguito il necessario pre-processing sui segnali. È stata condotta, inizialmente, un'analisi sui singoli soggetti, seguita poi da un'analisi di gruppo.

La design matrix viene definita nella sezione *Specify-1st-Level* e, per l'elaborazione sui singoli soggetti, i parametri specifici vengono modificati come segue:

- Units for design: scans;
- Interscan interval (TR): 3.7 s
- Data & Design

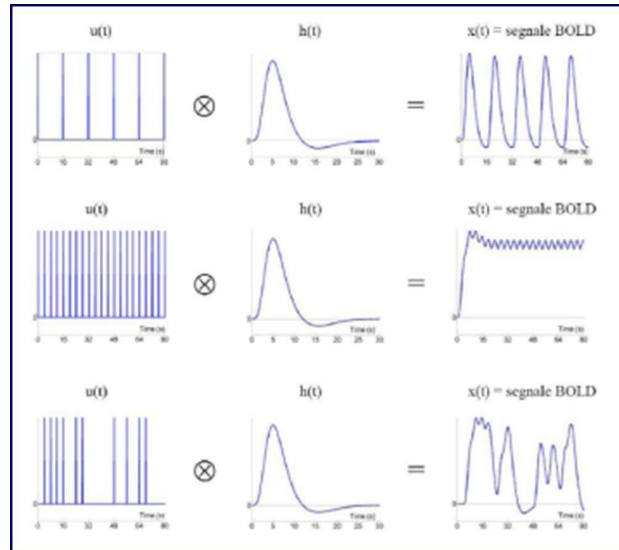


Figura 4.2: In figura si riporta il risultato della convoluzione tra ingresso $u(t)$ e risposta emodinamica $h(t)$, in tre diverse condizioni di frequenza di stimolo, sottolineando, quindi, l'importanza del design sperimentale per ottenere un buon segnale BOLD predetto. Nella prima immagine si raffigura la condizione ideale, in cui nel segnale BOLD si distinguono bene le attivazioni dovute al task. Nella seconda e nella terza immagine si riportano, rispettivamente, i segnali dovuti ad una stimolazione eccessivamente veloce e ad una stimolazione irregolare nel tempo (Friston et al., 1995).

- scans: immagini funzionali,
- conditions
 - * onset: [11 31 51 71 91],
 - * duration: 10,

gli altri parametri vengono lasciati alle impostazioni di default. In particolare, si sceglie di mantenere come risposta emodinamica la funzione canonica, poichè è quella più ampiamente utilizzata nell'analisi dei dati relativi a soggetti sani di controllo. La design matrix che si ottiene è riportata in Figura 4.3. Dopo aver specificato il modello, vengono stimati i parametri (*Model Estimation*) e si esegue il *t-test*, definendo nella sezione *Contrast Manager* un vettore di contrasto [1 0]. Il *p-value* può essere lasciato inalterato (*none*) oppure corretto con l'opzione *FWE* (Figura 4.4). In questa tesi si è scelto di non apportare correzioni ai valori dei *p*, poichè, in modo tale da ottenere un numero sufficiente di voxel classificati come attivi e definire, quindi, in modo

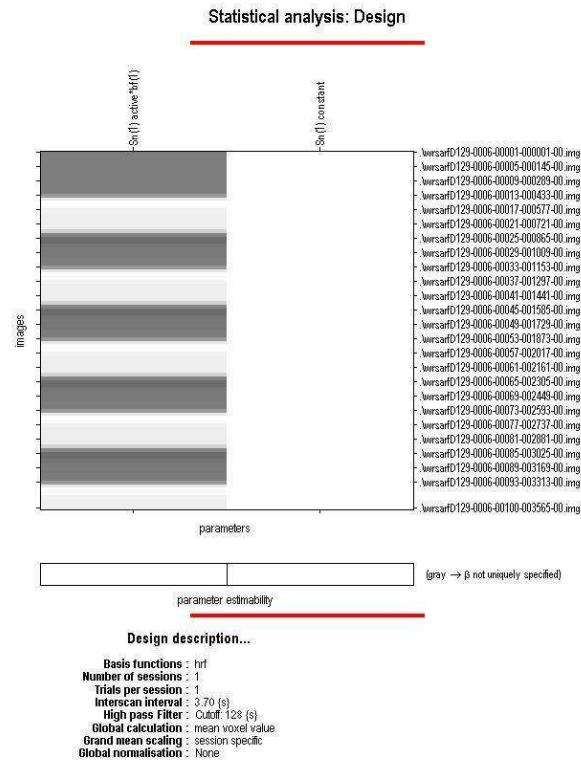


Figura 4.3: Design matrix ottenuta da SPM8, relativa all'analisi dei dati di un singolo soggetto.

più semplice le aree che andranno a costituire il livello neuronale del DCM.

Le regioni che si attivano durante il compito motorio sono quattro: la supplementare motoria (SMA), la sensitiva-motoria primaria contro-laterale al movimento (SM1c), la sensitiva-motoria primaria ipsi-laterale al movimento (SM1i) e il cervelletto (CER) (Figura 4.5) In alcuni soggetti le regioni che risultano attive sono soltanto tre, poichè dall'analisi non viene evidenziata l'attività della SM1i.

4.4.3 Analisi di gruppo

L'analisi di gruppo viene eseguita per ottenere delle informazioni di popolazione, svincolate dalle componenti di variabilità intra-individuale e inter-

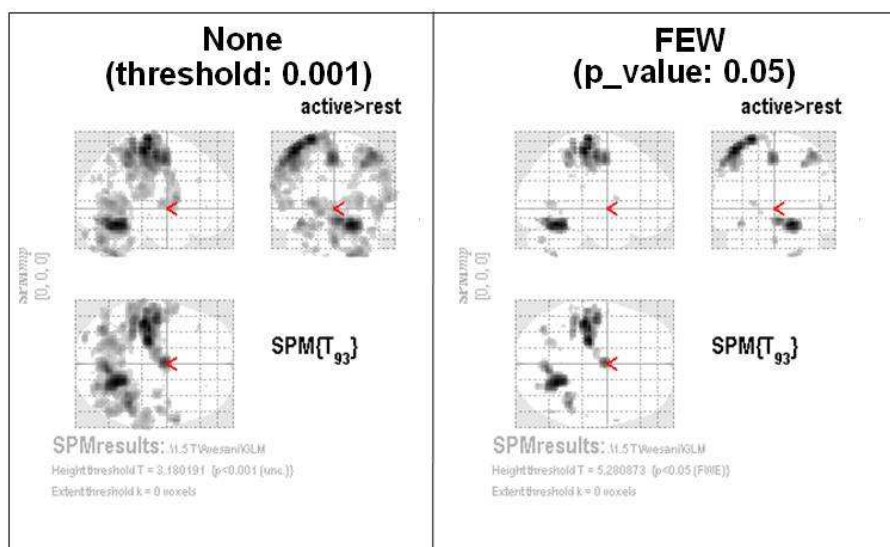


Figura 4.4: Esempio di mappe di attivazione ottenute dopo il t -test: nella prima immagine i valori dei p sono privi di correzione, mentre nella seconda si riporta la stessa immagine corretta per FWE.

individuale. Si determinano, quindi, le attivazioni comuni a tutti i soggetti, che riflettono l'anatomia funzionale 'tipica' della popolazione da cui l'insieme di soggetti considerati è stato campionato. Questo tipo di elaborazione può essere identificata con la *conjunction analysis* degli effetti dell'attivazione in cui i contrasti (e le conseguenti attivazioni) sono specificate separatamente per ogni soggetto. La conjunction si basa sulla *fixed-effect analysis*, nella quale si assume che ogni soggetto apporti lo stesso contributo fisso alle attivazioni osservate e, pertanto, riduce le variazioni random tra soggetto e soggetto. Una caratteristica della *fixed-effect analysis* è che l'errore di covarianza viene stimato sulle singole scansioni, le quali vengono considerate come un'osservazione indipendente, ignorando le correlazioni seriali. Uno svantaggio di questo tipo di analisi è che essa può essere ritenuta valida solo sui soggetti studiati, tuttavia è utile perchè permette sia di conoscere le aree di attivazione dei singoli soggetti, sia di osservare quali effetti sono comuni ad almeno una parte della popolazione (Friston et al., 1999).

In SPM8 la *conjunction analysis* viene realizzata nella sezione *Specify-1st-Level*. Qui, in *Data & Design* vengono definite tante *Subject/Session* quanti sono i soggetti. Per ogni sessione si definisce la design matrix come riportato

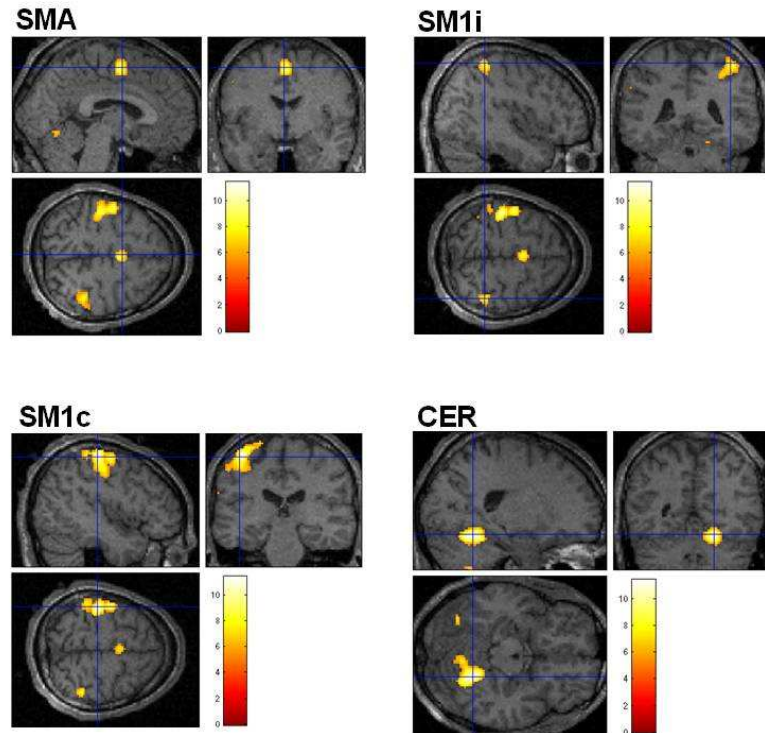


Figura 4.5: In figura sono rappresentate le aree motorie che si attivano durante il movimento di adduzione del pollice della mano destra.

nel Paragrafo 4.4.2 e si stima il modello così ottenuto. Il test statistico viene effettuato definendo un vettore contrasto per ogni soggetto, con valore 1 in corrispondenza del soggetto i con $i = 1, \dots, n$ dove n è il numero di soggetti. Questi vettori contrasto vengono considerati tutti assieme e la mappa statistica viene ottenuta con ipotesi *Global Null* e senza correzione FWE (Figura 4.6 e .

4.4.4 Modelli

Per definire i modelli dinamici è necessario, prima di tutto, estrarre le serie temporali dalle regioni attivate. Questo viene fatto nella sezione *eigenvariate* di SPM, fornendo all'algorithmo il centro e il raggio della sfera con cui si identifica l'area di interesse. Sui dati qui trattati vengono definite le quattro regioni motorie (Paragrafo 4.4.2), fissando come centro il voxel di maggiore

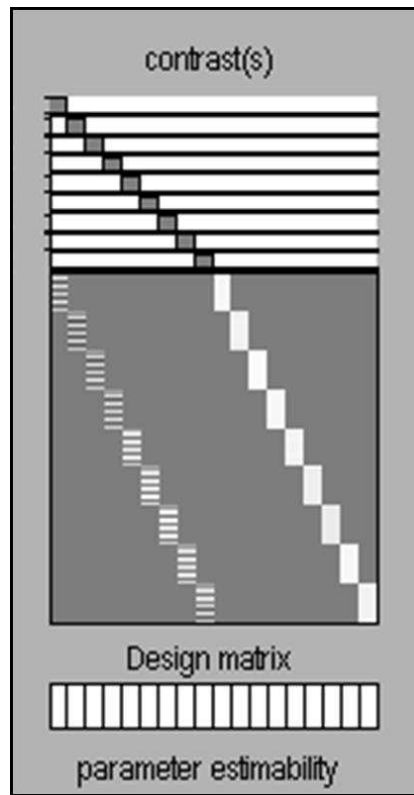


Figura 4.6: Analisi di gruppo. Il riquadro più in alto rappresenta l'insieme dei vettori di contrasto, mentre nella figura sottostante si riporta la matrice composta dalle design matrix dei singoli soggetti.

intensità localizzato nell'area di interesse. Il raggio delle sfere è stato impostato a 8 mm in tutti e quattro i casi (Figura 4.7). Si è notato che, se il numero di voxel così selezionati è maggiore di 100, nella successiva costruzione del DCM ne vengono effettivamente considerati solo 100. Invece, se il numero di voxel è inferiore a 100, il loro numero rimane invariato nella costruzione del modello. L'algoritmo applica, quindi, una soglia sulla numerosità dei voxel, al fine di rendere più omogenee in estensione le regioni considerate (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/, 2011).

Il DCM viene costruito nella finestra *specify* della sezione *Dynamic Causal Modelling*. Qui è richiesto il file SPM.mat con le informazioni relative all'attivazione e le serie temporali estratte dalle regioni d'interesse. Si procede, quindi, specificando le connessioni intrinseche presenti tra le aree, le connessioni che legano l'input alla specifica regione e le connessioni che modulano i

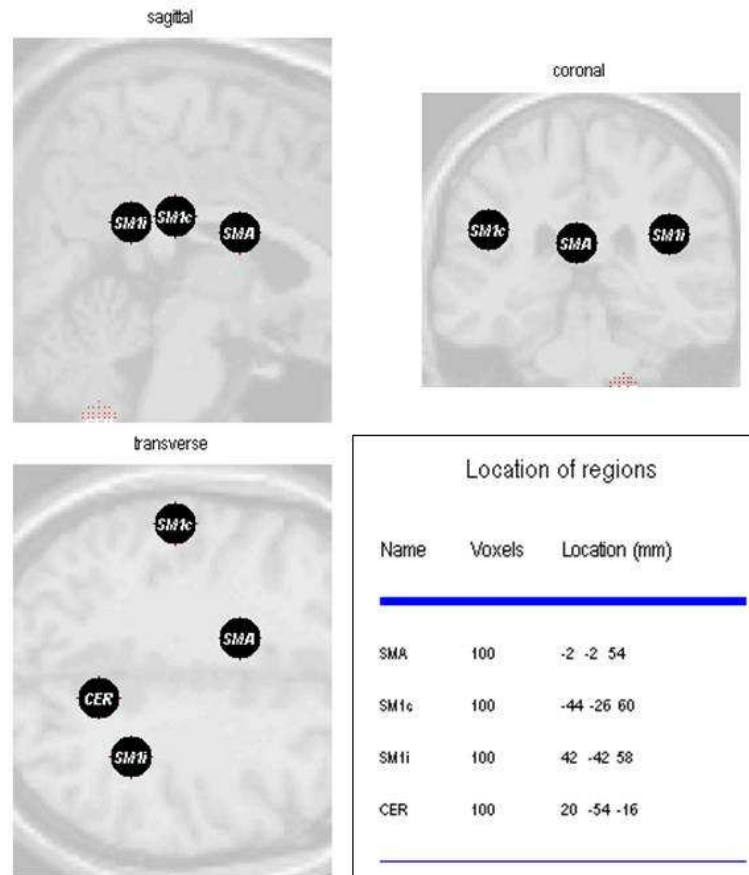


Figura 4.7: Aree motorie valutate nella costruzione del DCM. Esse sono rappresentate come delle sfere di raggio pari a 8 mm e il numero di voxel attivi considerati all'interno del volume sferico è pari a 100 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/, 2011).

legami intrinseci. Si procede, poi, con la stima dei parametri del modello.

Per poter costruire dei modelli dinamici, che spieghino correttamente i dati acquisiti, è necessario avere delle informazioni sulla funzione delle aree motorie, al fine di poter avanzare delle ipotesi sulla possibile rete di connessioni esistenti tra esse. Tutte contribuiscono alla realizzazione del gesto motorio, ma nello specifico, la SMA è importante per la programmazione di sequenze motorie complesse e per la coordinazione di movimenti bilaterali, i neuroni della corteccia motrice primaria codificano la forza e la direzione del movimento che dev'essere eseguito (in particolare, l'area contro-laterale al movimento risulta essere predominante), l'area del cervelletto, invece, svolge

un ruolo di coordinazione e di controllo feedback (Kandel et al., 1994).

In base a queste informazioni, si sono realizzati 20 modelli con alcune caratteristiche di base comuni. In particolare, visto il ruolo di ‘programmazione’ del movimento da parte della SMA, si è scelto di considerare una connessione diretta tra l’input (comando di movimento di adduzione del pollice della mano dx) e tale area. Successivamente sono state ipotizzate delle connessioni tra la SMA e le aree sensitive motorie primarie, poichè queste sono responsabili di tradurre in parametri di forza e direzione le specifiche elaborate dall’area supplementare motoria. Un’ulteriore considerazione riguarda la possibile connessione tra l’input e l’area del cervelletto, poichè questa, responsabile della coordinazione del movimento, potrebbe essere influenzata direttamente dallo stimolo. Inoltre, è stata considerata una reciproca connessione tra la SM1c e l’area del cervelletto, poichè potrebbe essere ragionevole considerare un controllo feedback tra il CER e l’area primaria che controlla l’ ‘intensità’ e la ‘spazialità’ del movimento.

I modelli costruiti sono stati vagliati da un neurologo esperto, che ha ridotto il loro numero ai 12 fisiologicamente plausibili. Fra questi se ne sono analizzati approfonditamente 8, che si differenziano tra loro per poche caratteristiche, al fine di poter confrontare la bontà del modello al variare di queste.

Gli 8 modelli studiati si dividono essenzialmente in due gruppi: nel primo, i modelli non presentano una connessione reciproca a_{34} e a_{43} tra la SM1i e il CER (Figura 4.8), mentre nel secondo queste connessioni sono presenti (Figura 4.9). All’interno di questi due raggruppamenti si possono distinguere, poi, modelli che presentano una connessione a_{32} dalla SM1c alla SM1i (modelli 1, 2, 7 e 8) e modelli che, invece, sono caratterizzati da una connessione a_{41} diretta dalla SMA al CER (modelli 3, 4, 5 e 6). Tra questi due sottogruppi i modelli si possono ancora distinguere tra quelli che presentano un’influenza diretta c_4 dell’input su CER (modelli 2, 4, 6 e 8), oppure quelli che sono privi di tale connessione (modelli 1, 3, 5 e 7).

Per i soggetti che presentano tre aree di attivazione, anzichè quattro, si sono considerati gli stessi modelli, ma senza il compartimento SM1i e tutte le connessioni relative ad esso, di conseguenza i modelli si riducono a quattro (1a, 2a, 3a e 4a) (Figura 4.10).

Per ogni modello la stima dei parametri fornisce la distribuzione a posteriori

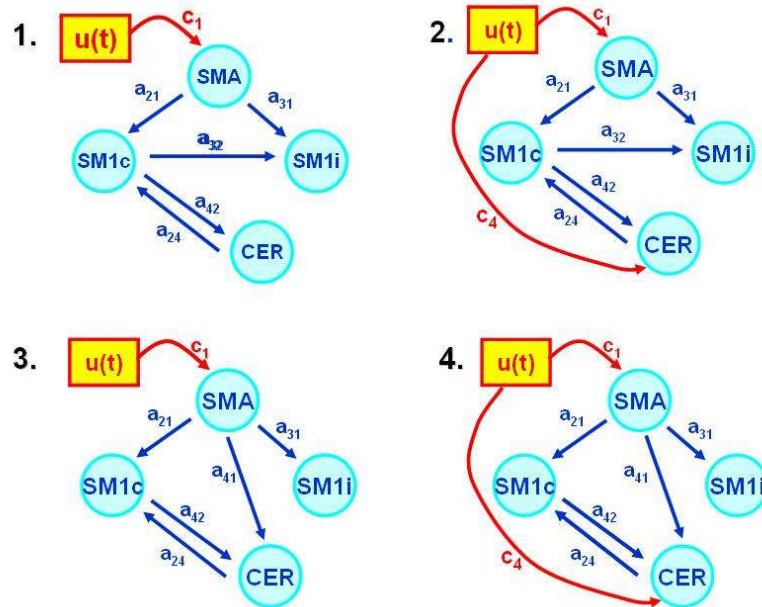


Figura 4.8: In figura sono riportati i quattro modelli caratterizzati dall'assenza delle reciproche connessioni a_{34} e a_{43} tra CER e SM1i. I modelli 1 e 2 si distinguono per l'interazione a_{32} tra SM1c e SM1i, mentre nei modelli 3 e 4 è presente la connessione a_{41} tra SMA e CER. I modelli 2 e 4, inoltre, si caratterizzano per l'influenza diretta c_4 dell'input sul CER.

degli stessi, in termini di media e della probabilità che la distribuzione superi una determinata soglia γ , posta pari a 0. Questa probabilità è indice della varianza della stima dei parametri, infatti, stime incerte presentano un'elevata varianza, che si traduce in un basso valore di probabilità, viceversa stime accurate, caratterizzate da una piccola varianza, hanno un'alta probabilità di superare il valore di soglia.

I quattro modelli che si è deciso di non analizzare tra i dodici scelti dal neurologo sono riportati in Figura 4.11. Nel modello A si sono considerati i termini bilineari b_{24} e b_{34} , modulanti le connessioni che dal CER vanno alla SM1c e alla SM1i, al fine di interpretare la funzione di controllo feedback del cervelletto. Questo modello, però, è stato escluso poichè presenta delle prestazioni inferiori rispetto agli altri sistemi. Il modello B prevede solo tre connessioni intrinseche (tra la SMA e la SM1c, la SMA e la SM1i, il CER e la SM1c) e due connessioni c_1 e c_4 dall'input alla SMA e al CER, rispettivamente. Questo modello non è stato considerato perchè debole dal punto di

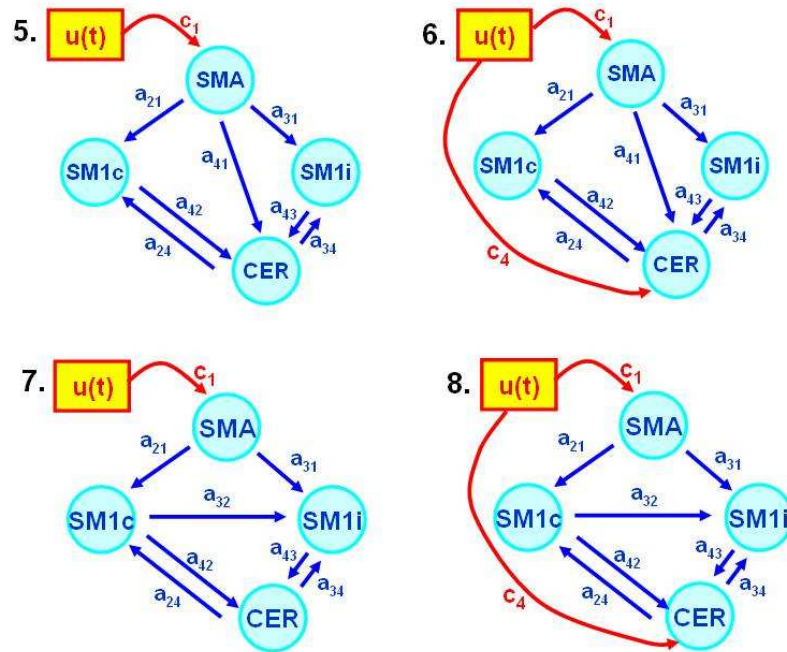


Figura 4.9: In figura sono riportati i quattro modelli caratterizzati dalla presenza delle reciproche connessioni tra CER e SM1i. I modelli 1 e 2 si distinguono per l'interazione a_{32} tra SM1c e SM1i, mentre nei modelli 3 e 4 è presente la connessione a_{41} tra SMA e CER. I modelli 2 e 4, inoltre, si caratterizzano per l'influenza diretta c_4 dell'input sul CER.

vista matematico, a causa del sottosistema chiuso rappresentato dalla SM1i. I modelli C e D presentano delle connessioni tra la SMA e la SM1c, tra quest'ultima e la SM1i, e da CER alla SM1c. Il modello C si distingue per la presenza dell'interazione a_{42} , mentre in D si nota la connessione c_4 . Entrambi questi modelli vengono scartati, perchè, anche in questo caso, la SM1i al movimento costituisce un sottosistema chiuso.

4.4.5 Selezione del modello ottimo

Per la selezione del modello ottimo sono stati valutati diversi indici. In primo luogo si sono considerati i valori inclusi nel file DCM.mat, restituito da SPM. Questi comprendono la negative log-evidence (F), l'indice di Akaike (AIC) e il Bayesian Information Criterion (BIC) (Paragrafo 3.3). Inoltre, è stato calcolato anche il Bayes Factor (BF) a partire dall'indice di Akaike, secondo

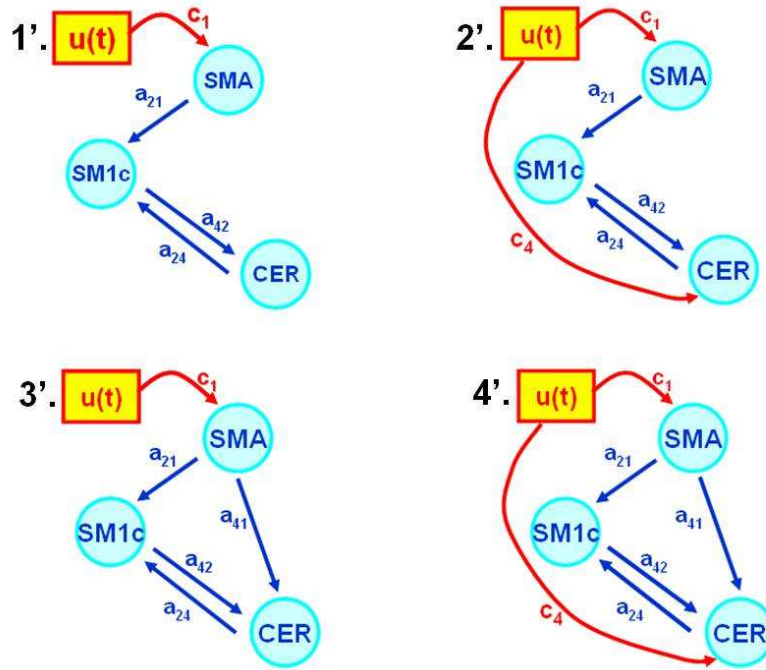


Figura 4.10: In figura si riportano i modelli costruiti su tre aree di attivazione (SMA, SM1c e CER). Questi modelli si riducono a quattro, poichè non è più possibile distinguere tra quelli in cui le reciproche connessioni a_{34} a a_{43} sono presenti e quelli in cui, invece, sono assenti.

l'Eq.3.24. Ponendo $accuracy(m) = \log p(y|\theta, m)$ le due equazioni Eq.3.21 ed Eq.3.22 diventano:

$$\log p(y|m) = \log p(y|\theta, m) - complexity(m) \tag{4.4}$$

e

$$AIC = \log p(y|\theta, m) - p. \tag{4.5}$$

Combinando l'Eq.4.4 e l'Eq.4.5 ne deriva che $AIC = \log p(y|m)$ e, di conseguenza, $p(y|m) = e^{AIC}$. L'Eq.3.24 diventa:

$$B_{ij} = \frac{p(y|m_i)}{p(y|m_j)} = \frac{e^{AIC_i}}{e^{AIC_j}}. \tag{4.6}$$

La scelta effettiva del modello ottimo è stata, però, effettuata in base al valore

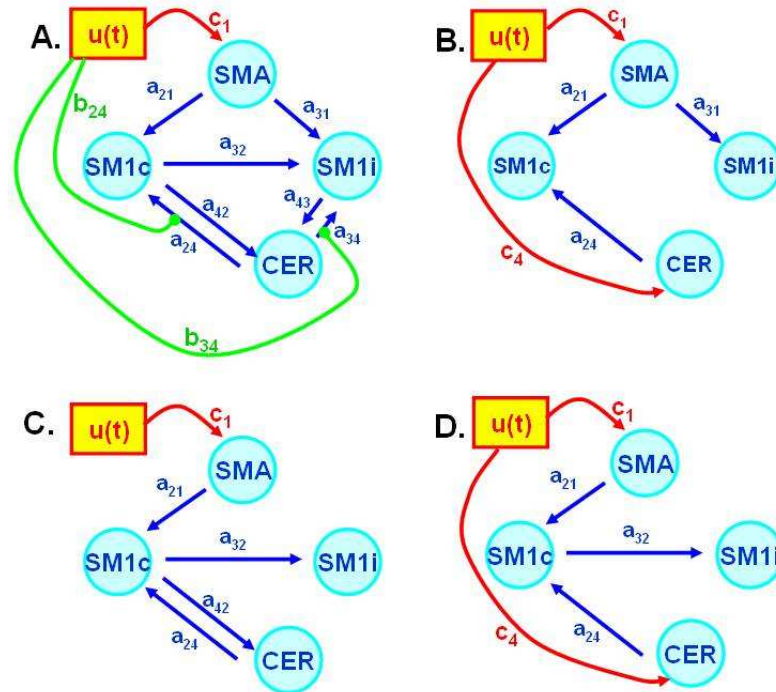


Figura 4.11: In figura si riportano i quattro modelli fisiologicamente plausibili, ma che non sono stati analizzati in questa tesi. Il modello A si distingue soprattutto per la presenza dei termini bilineari b_{24} e b_{34} ; il modello B è caratterizzato dall'assenza delle connessioni reciproche tra il CER e la SM1i e della connessione a_{32} tra la SM1c e SM1i; i modelli C e D non hanno le connessioni a_{34} e a_{43} , ma presentano l'interazione a_{32} . I due modelli differiscono per la connessione a_{42} (C) e per la connessione c_4 (D).

dell'indice di Akaike calcolato con una formulazione più utilizzata e meglio conosciuta (Akaike, 1974):

$$AIC = n \log(WRSS) + 2p, \quad (4.7)$$

dove n è il numero di campioni, $WRSS$ è la somma dei residui quadrati pesati e p è il numero di parametri del modello.

Capitolo 5

Risultati

5.1 Analisi sui singoli soggetti

L'analisi GLM dei dati sui singoli soggetti porta a identificare le aree di attivazione coinvolte nel compito motorio. I risultati si evidenziano quattro aree di attivazione (SMA, SM1c, SM1i e CER) per i soggetti 1, 2 e 7, mentre mostrano tre regioni di attivazione per i rimanenti soggetti (SMA, SM1c e CER) (Figura 5.1). Si evince, inoltre, la grande variabilità inter-individuale esistente, anche a parità di numero di aree di attivazione. Mettendo a confronto i soggetti 1, 2 e 7, per esempio, si può notare come le aree attivate siano differenti in termini di estensione e di intensità dei voxel appartenenti alla regione stessa. Il soggetto 1, infatti, mostra delle regioni di attivazione molto più circoscritte rispetto agli altri due. Diversamente, il soggetto 2 è caratterizzato da delle aree di attivazione molto estese, ma i voxel relativi ad esse mostrano una minor intensità di attivazione. Le stesse considerazioni si possono esprimere mettendo a confronto le immagini relative ai soggetti che presentano tre aree di attivazione. Anche in questo caso si nota un'elevata variabilità inter-individuale, soprattutto per quanto riguarda la SM1c.

5.1.1 Soggetti che presentano quattro aree di attivazione

Per i soggetti che presentano attivazione in quattro aree si sono costruiti gli otto modelli riportati in Figura 4.8 e in Figura 4.9, mentre per i soggetti in cui si attivano solo tre aree i modelli considerati sono quelli in Figura 4.10

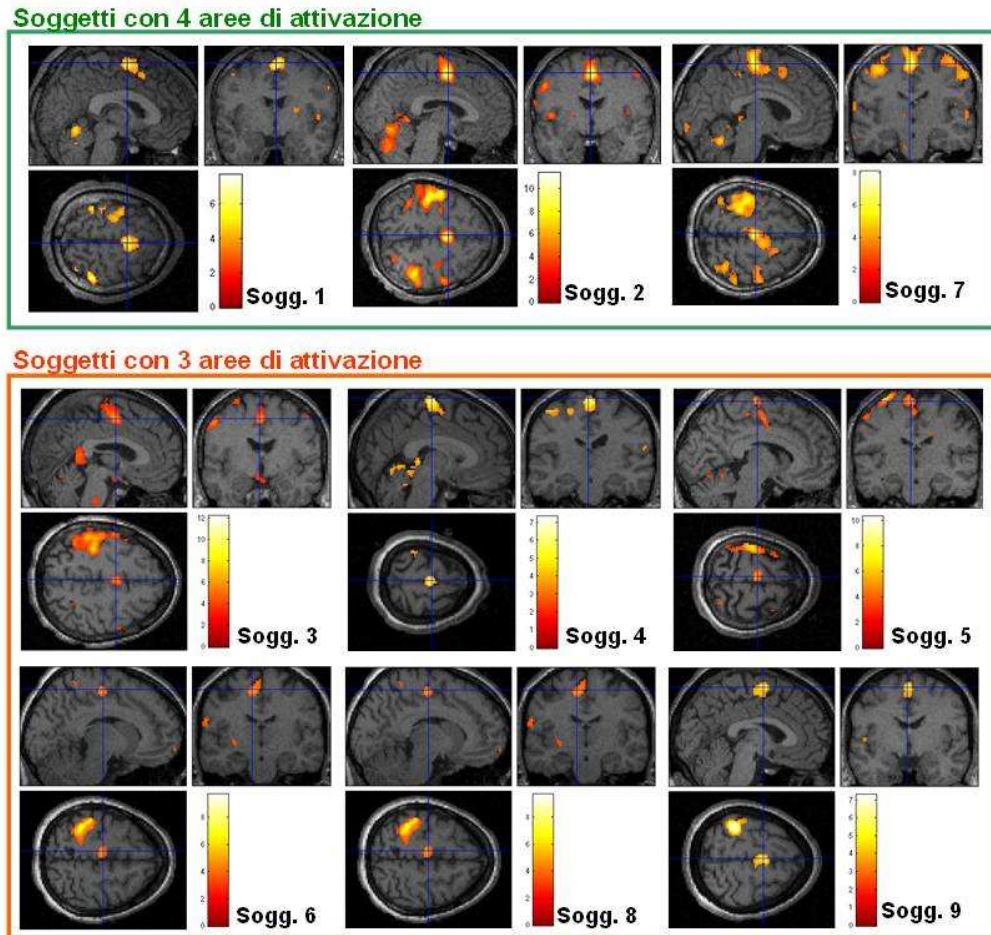


Figura 5.1: In figura si riportano le immagini relative alle attivazioni sui singoli soggetti.

(Paragrafo 4.4.4).

Per ogni modello viene stimata la distribuzione a posteriori dei parametri θ_c , in termini di media e di probabilità che tale distribuzione superi un valore di soglia γ_t , posta di default pari a zero. Nelle Figure da 5.2 a 5.5 si riportano i risultati completi relativi ad un soggetto con quattro aree di attivazione.

Per ogni modello viene calcolato il valore dell'indice di AIC (Eq.4.7), sulla cui base i sistemi vengono ordinati (Figura5.8, Figura5.9 e Figura5.10). Innanzitutto, si sottolinea che i diversi valori dell'indice di parsimonia non presentano grandi variazioni, poichè i modelli differiscono tra loro per poche

Mod. 1

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,668046	-1	0	0,253002
SM1i	0,299463	0,24713	-1	0
CER	0	0,529403	0	-1

C	
SMA	0,107197
SM1c	0
SM1i	0
CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999998	NaN	NaN	0,908161
SM1i	0,983777	0,929753	NaN	NaN
CER	NaN	0,999987	NaN	NaN

pC	
SMA	0,999978
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	NaN

Mod. 2

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,475414	-1	0	0,36939
SM1i	0,34061	0,267043	-1	0
CER	0	0,040116	0	-1

C	
SMA	0,083462
SM1c	0
SM1i	0
CER	0,062073

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,99857	NaN	NaN	0,981382
SM1i	0,990191	0,94021	NaN	NaN
CER	NaN	0,583924	NaN	NaN

pC	
SMA	0,999924
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	0,999049

Figura 5.2: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 1 e 2. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

caratteristiche e rappresentano tutti realizzazioni plausibili della rete di connessione tra le aree motorie.

Considerando i soggetti con quattro aree di attivazione (Figura5.8), si può notare come l'ordine dei modelli, stabilito in base all'indice di AIC, definisca come migliori i modelli che non presentano la reciproca connessione a_{34} e a_{43} tra SM1i e CER, ossia i modelli 1, 2, 3 e 4. Tra questi vengono prediletti i sistemi in cui è assente l'influenza diretta c_4 tra l'input $u(t)$ e il CER (modelli 1 e 3), indipendentemente dal fatto che sia presente un legame a_{32} tra la SM1c e la SM1i o una connessione a_{41} tra la SMA e il CER. Quest'ultimo aspetto si nota anche sui modelli in cui sono presenti delle interazioni tra SM1i e CER, infatti i modelli 5 e 7 risultano migliori rispetto al 6 e all'8.

Mod. 3

A	SMA	SM1c	SM1i	CER	C	
SMA	-1	0	0	0	SMA	0,10572
SM1c	0,514853	-1	0	0,244762	SM1c	0
SM1i	0,434989	0	-1	0	SM1i	0
CER	0,355307	0,198417	0	-1	CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER	pC	
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN	SMA	0,999973
SM1c	0,999876	NaN	NaN	0,903032	SM1c	NaN
SM1i	0,999966	NaN	NaN	NaN	SM1i	NaN
CER	0,996374	0,870698	NaN	NaN	CER	NaN

Mod. 4

A	SMA	SM1c	SM1i	CER	C	
SMA	-1	0	0	0	SMA	0,088606
SM1c	0,458895	-1	0	0,3195	SM1c	0
SM1i	0,467882	0	-1	0	SM1i	0
CER	0,014136	0,034955	0	-1	CER	0,058047

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER	pC	
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN	SMA	0,999936
SM1c	0,998678	NaN	NaN	0,962487	SM1c	NaN
SM1i	0,99996	NaN	NaN	NaN	SM1i	NaN
CER	0,528933	0,572871	NaN	NaN	CER	0,992038

Figura 5.3: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 3 e 4. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

Questo indica che la connessione c_4 sfavorisce il sistema.

Inoltre, in base ai valori di probabilità a posteriori dei parametri (Figure da 5.2 a 5.5) si nota che, in quei modelli in cui è presente la connessione c_4 , la probabilità delle connessioni afferenti al CER è molto bassa rispetto alle altre. Generalmente, infatti, i valori tipici di probabilità sono superiori al 90%, mentre in questi casi sono compresi tra il 50 e il 70%. Il modello che presenta prestazioni peggiori è quello caratterizzato dal maggior numero di connessioni verso il CER, ossia il modello 6, in cui è presente la reciproca connessione tra SM1i e CER, c_4 e l'interazione tra SMA e CER. I valori medi a posteriori delle connessioni intrinseche A sono molto variabili e sono compresi tra 0.04 e 0.6.

Mod. 5

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,510317	-1	0	0,272047
SM1i	0,37073	0	-1	0,215972
CER	0,341682	0,19811	0,147	-1

C	
SMA	0,102711
SM1c	0
SM1i	0
CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999795	NaN	NaN	0,928526
SM1i	0,997929	NaN	NaN	0,88279
CER	0,991204	0,866531	0,781645	NaN

pC	
SMA	0,999973
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	NaN

Mod. 6

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,423648	-1	0	0,379317
SM1i	0,316556	0	-1	0,286993
CER	0,018931	0,044749	0,033678	-1

C	
SMA	0,078128
SM1c	0
SM1i	0
CER	0,064224

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,995364	NaN	NaN	0,986575
SM1i	0,979845	NaN	NaN	0,959035
CER	0,538332	0,592431	0,568301	NaN

pC	
SMA	0,999873
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	0,995929

Figura 5.4: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 5 e 6. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

5.1.2 Soggetti che presentano tre aree di attivazione

In Figura5.6 e in Figura5.7 si riportano i risultati completi relativi ad un soggetto con tre aree di attivazione.

Nei soggetti con tre aree di attivazione (Figura5.9 e Figura5.10) il modello che garantisce le prestazioni migliori è l' 1', in cui non è presente la connessione diretta tra input e CER ed è privo anche dell'interazione tra SMA e CER. Nei soggetti 3, 4, e 9 risultano migliori i sistemi privi della connessione a_{41} tra SMA e CER, indipendentemente dalla presenza di c_4 (modelli 1' e 2'), mentre nei soggetti 5, 6 e 8 i risultati migliori sono ottenuti dai modelli 1' e 3', caratterizzati dall'assenza di c_4 . In tutti i soggetti, comunque, Il modello che risulta peggiore in tutti e sei i casi è il 4', caratterizzato invece dalla

Mod. 7

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,617786	-1	0	0,26626
SM1i	0,319458	0,234622	-1	0,150114
CER	0	0,408011	0,300461	-1

C	
SMA	0,105601
SM1c	0
SM1i	0
CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999989	NaN	NaN	0,922501
SM1i	0,985765	0,91048	NaN	0,787156
CER	NaN	0,996377	0,957295	NaN

pC	
SMA	0,999979
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	NaN

Mod. 8

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,441576	-1	0	0,397804
SM1i	0,247929	0,210479	-1	0,225572
CER	0	0,043041	0,04137	-1

C	
SMA	0,0772
SM1c	0
SM1i	0
CER	0,064822

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,996372	NaN	NaN	0,989539
SM1i	0,933719	0,880996	NaN	0,904064
CER	NaN	0,58932	0,584662	NaN

pC	
SMA	0,999878
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	0,999032

Figura 5.5: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 7 e 8. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

presenza di c_4 e della connessione a_{41} tra SMA e CER. Come nei modelli con quattro aree di attivazione, anche qui si nota una riduzione della probabilità a posteriori delle connessioni relative al CER nel caso in cui sia presente l'interazione diretta tra input e CER (soprattutto nei soggetti 5, 6 e 8).

Si sottolinea, inoltre, che in alcuni soggetti (soggetto 6 e 9) il valore stimato della media di alcuni parametri risulta negativo. Questo si verifica sui modelli 2' e 4', relativamente alle connessioni a_{41} e a_{42} , afferenti al CER. Da un punto di vista clinico tale risultato è stato interpretato come un'inibizione sull'area del cervelletto da parte delle regione da cui viene esercitato il controllo (SMA e SM1c).

Mod. 1'

A	SMA	SM1c	CER
SMA	-1	0	0
SM1c	0,803408	-1	0,544533
CER	0	0,717184	-1

pA	SMA	SM1c	CER
SMA	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999972	NaN	0,996691
CER	NaN	1	NaN

C	
SMA	0,089346
SM1c	0
CER	0

pC	
SMA	0,999952
SM1c	NaN
CER	NaN

Mod. 2'

A	SMA	SM1c	CER
SMA	-1	0	0
SM1c	0,357462	-1	0,692305
CER	0	0,090519	-1

pA	SMA	SM1c	CER
SMA	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,931934	NaN	0,999933
CER	NaN	0,657775	NaN

C	
SMA	0,044915
SM1c	0
CER	0,08024

pC	
SMA	0,99886
SM1c	NaN
CER	0,999642

Figura 5.6: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 1' e 2'. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

5.1.3 Modello ottimo

Considerando globalmente i risultati ottenuti sui singoli soggetti, si evince che, in base all'indice di AIC, per 8 soggetti su 9 i modelli ottimi risultano essere l'1 e l' 1', caratterizzati dall'assenza della connessione diretta tra input e CER, delle connessioni reciproche tra SM1i e CER (per i soggetti con quattro aree di attivazione) e della connessione tra SMA e CER. Per i soggetti con 4 aree di attivazione si sottolinea che il modello migliore, oltre a presentare le caratteristiche sopra elencate, è caratterizzato da una connessione tra SM1c e SM1i.

Mod. 3'

A	SMA	SM1c	CER
SMA	-1	0	0
SM1c	0,636473	-1	0,574896
CER	0,486029	0,436184	-1

C	
SMA	0,080755
SM1c	0
CER	0

pA	SMA	SM1c	CER
SMA	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,99886	NaN	0,997083
CER	0,990612	0,991041	NaN

pC	
SMA	0,999943
SM1c	NaN
CER	NaN

Mod. 4'

A	SMA	SM1c	CER
SMA	-1	0	0
SM1c	0,358017	-1	0,691987
CER	0,0193	0,088986	-1

C	
SMA	0,044994
SM1c	0
CER	0,079546

pA	SMA	SM1c	CER
SMA	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,932295	NaN	0,999932
CER	0,530107	0,654719	NaN

pC	
SMA	0,99884
SM1c	NaN
CER	0,99922

Figura 5.7: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 3' e 4'. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

5.2 Analisi di gruppo

Per ottenere delle informazioni relative all'intera popolazione e, quindi, svincolate dalle componenti di variabilità intra e, soprattutto, inter-individuale, è necessario effettuare un'analisi di gruppo.

Le aree motorie di attivazione motorie di popolazione, che si ottengono mediante la conjunction analysis sono quattro: SMA, SM1c, SM1i e CER (Figura 5.11).

I modelli considerati sono quelli di Figura4.8 e di Figura4.9. I risultati della stima dei parametri vengono riportati in Figura5.12, in Figura5.13, Figura5.14 e in Figura5.15.

Considerando i parametri di connessione tra l'input e le aree di attivazione, si nota che essi presentano dei valori di probabilità molto alti, che

superano il 98%, in particolare la probabilità di c_1 è pressochè prossima al 100%. Inoltre, mediamente i valori di c_1 sono molto più elevati rispetto a quelli di c_4 e questo indica un'influenza maggiore dell'input sulla SMA rispetto al CER.

Le medie dei parametri relativi alla connettività intrinseca (A) presentano, invece, un andamento molto variabile, assumendo in modelli diversi valori positivi o negativi. Si prenda, ad esempio, il parametro a_{42} : nel modello 1 esso è pari a 0.40, mentre nel modello 2 è uguale a -0.09. Lo stesso comportamento si ritrova confrontando quei modelli che differiscono per la sola connessione c_4 , in particolare risultano negativi il parametro a_{42} nei modelli 2, 4, 6 e 8, il parametro a_{41} nei modelli 4 e 6, e il parametro a_{43} nei modelli 6 e 8. Per questi parametri si evidenzia, inoltre, una diminuzione della probabilità, che assume valori variabili tra il 55 e il 70%. In tutti i sistemi nei quali si riscontrano queste caratteristiche è presente la connessione c_4 . La negatività dei parametri potrebbe quindi essere indice di un'inibizione del controllo sul CER da parte delle altre aree di attivazione, quando su di esso viene esercitata l'influenza diretta da parte dell'input. I bassi valori di probabilità indicano, tuttavia, che la specifica connessione, all'interno del modello testato, non è verosimilmente presente e questo degrada le performance del modello stesso.

Questo aspetto si ritrova anche confrontando gli indici di AIC (Figura 5.16). Per prima cosa si nota che i modelli migliori sono quelli in cui non sono presenti le reciproche connessioni a_{34} e a_{43} (modelli 1, 2, 3 e 4). Tra questi, le prestazioni migliori si ottengono da quei sistemi in cui è assente l'influenza diretta dell'input sul CER (modelli 1 e 3), indipendentemente dalla presenza di una connessione tra SM1c e SM1i o tra SMA e CER. Lo stesso trend si ritrova anche fra i modelli 5, 6, 7 e 8, tra i quali i risultati peggiori provengono dai sistemi 6 e 8, caratterizzati dalla connessione c_4 .

La presenza di una connessione tra la SM1c e la SM1i, piuttosto che tra la SMA e il CER non influenza molto le prestazioni del modello, infatti, i valori dei rispettivi indici di AIC hanno delle variazioni dell'ordine dei decimi e, pertanto, non significative. Il modello ottimo risulta essere il numero 3, caratterizzato dall'assenza delle connessioni a_{34} e a_{43} tra la SM1i e il CER e dall'assenza della connessione c_4 . Tale modello, inoltre, presenta la connessione a_{41} tra la SMA e il CER.

La selezione di questo modello potrebbe sembrare contrastante rispetto a quanto ottenuto dall'analisi sui singoli soggetti, in cui il modello migliore è il numero 1, tuttavia bisogna tener conto che le esigue variazioni del valore dell'indice di AIC tra il sistema 1 e il sistema 3 non permettono di fare una scelta netta tra i modelli. Il modello con le prestazioni peggiori è il numero 8, in cui si trovano sia le doppie connessioni tra SM1i e CER, sia l'influenza diretta dell'input sul CER. Esso inoltre è caratterizzato dalla connessione a_{32} tra la SM1c e la SM1i. In Figura5.17 e in Figura5.18 si riportano gli andamenti delle predizioni, relative al modello ottimo (modello 3) e al modello peggiore (modello 8), plottate rispetto ai dati. Si può notare che i segnali predetti dai due modelli non differiscono in modo apprezzabile ad un'ispezione visiva, tuttavia le diversità vengono evidenziate dall'analisi dei valori delle stime dei singoli parametri.

Sogg. 1

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1	2055,5423	2
2	2063,3721	3
3	2055,5118	1
4	2063,5014	4
5	2071,4319	6
6	2079,2407	8
7	2071,2856	5
8	2079,1933	7

Sogg. 2

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1	2059,7162	1
2	2067,7178	3
3	2059,8535	2
4	2067,7864	4
5	2075,6746	6
6	2083,7181	8
7	2075,5899	5
8	2083,6149	7

Sogg. 7

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1	2058,5101	1
2	2066,5789	3
3	2058,7427	2
4	2066,628	4
5	2074,5982	6
6	2082,5374	8
7	2074,4443	5
8	2082,4695	7

Figura 5.8: Valori di AIC per i soggetti con quattro aree di attivazione.

Sogg. 3

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1'	1490,483	1
2'	1496,1849	2
3'	1496,4107	3
4'	1502,1617	4

Sogg. 4

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1'	1490,4629	1
2'	1496,2728	2
3'	1496,3294	3
4'	1502,1513	4

Sogg. 5

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1'	1494,12	1
2'	1500,2342	3
3'	1500,1817	2
4'	1506,2022	4

Figura 5.9: Valori di AIC per i soggetti con tre aree di attivazione.

Sogg. 6

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1'	1496,3119	1
2'	1502,6484	3
3'	1502,6378	2
4'	1508,5812	4

Sogg. 8

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1'	1493,3307	1
2'	1499,7659	3
3'	1499,6464	2
4'	1505,7488	4

Sogg. 9

Modello	$AIC=N*\ln(WRSS)+2*P$	ordine
1'	1490,9648	1
2'	1496,4075	2
3'	1496,8934	3
4'	1502,303	4

Figura 5.10: Valori di AIC per i soggetti con tre aree di attivazione.

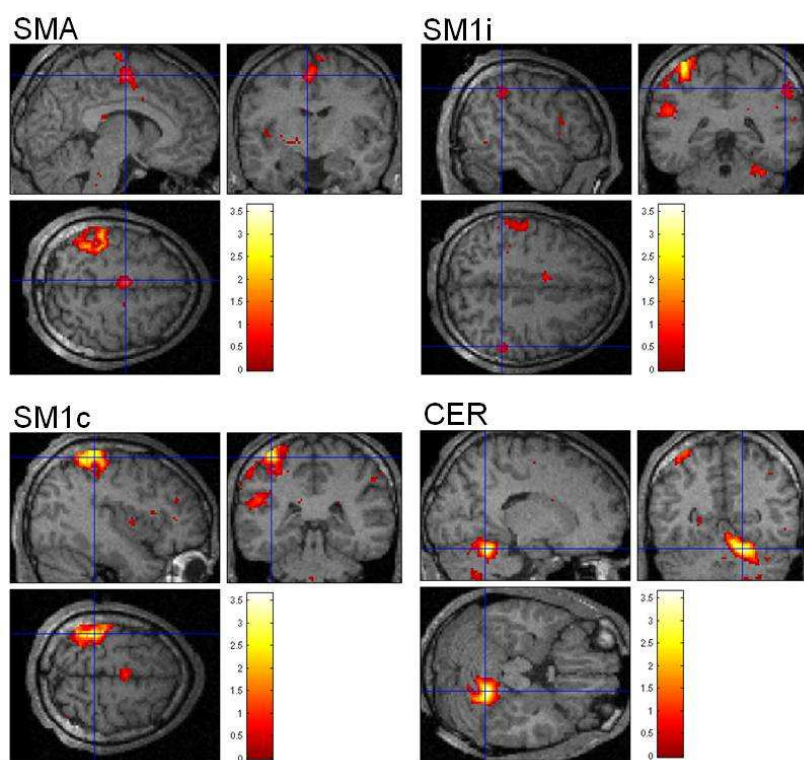


Figura 5.11: Aree motorie di attivazione (SMA, SM1c, SM1i e CER) ottenute dall'analisi di gruppo.

Mod. 1

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,628558	-1	0	0,092722
SM1i	0,162745	0,081292	-1	0
CER	0	0,398797	0	-1

C	
SMA	0,163981
SM1c	0
SM1i	0
CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	1	NaN	NaN	0,682033
SM1i	0,893652	0,679469	NaN	NaN
CER	NaN	0,999898	NaN	NaN

pC	
SMA	0,999932
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	NaN

Mod. 2

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,547424	-1	0	0,234004
SM1i	0,168281	0,085912	-1	0
CER	0	-0,08806	0	-1

C	
SMA	0,140043
SM1c	0
SM1i	0
CER	0,064913

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999984	NaN	NaN	0,889525
SM1i	0,898032	0,687438	NaN	NaN
CER	NaN	0,678927	NaN	NaN

pC	
SMA	0,999903
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	0,996083

Figura 5.12: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 1 e 2. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

Mod. 3

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,559529	-1	0	0,143696
SM1i	0,202797	0	-1	0
CER	0,269672	0,085041	0	-1

C	
SMA	0,161066
SM1c	0
SM1i	0
CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999997	NaN	NaN	0,770199
SM1i	0,980229	NaN	NaN	NaN
CER	0,987852	0,68713	NaN	NaN

pC	
SMA	0,999927
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	NaN

Mod. 4

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,542334	-1	0	0,231399
SM1i	0,208276	0	-1	0
CER	-0,06478	-0,08085	0	-1

C	
SMA	0,140326
SM1c	0
SM1i	0
CER	0,072426

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999984	NaN	NaN	0,886739
SM1i	0,978189	NaN	NaN	NaN
CER	0,63139	0,664438	NaN	NaN

pC	
SMA	0,999904
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	0,981479

Figura 5.13: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 3 e 4. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

Mod. 5

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,56015	-1	0	0,144753
SM1i	0,192172	0	-1	0,048006
CER	0,267447	0,083165	0,028484	-1

C	
SMA	0,160763
SM1c	0
SM1i	0
CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999997	NaN	NaN	0,771969
SM1i	0,960607	NaN	NaN	0,59799
CER	0,985434	0,682553	0,557078	NaN

pC	
SMA	0,999926
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	NaN

Mod. 6

A	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	-1	0	0	0
SM1c	0,542241	-1	0	0,235847
SM1i	0,185146	0	-1	0,079958
CER	-0,06569	-0,0816	-0,02775	-1

C	
SMA	0,13929
SM1c	0
SM1i	0
CER	0,073816

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN
SM1c	0,999983	NaN	NaN	0,891476
SM1i	0,941409	NaN	NaN	0,663159
CER	0,632993	0,665656	0,555151	NaN

pC	
SMA	0,999901
SM1c	NaN
SM1i	NaN
CER	0,982541

Figura 5.14: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 5 e 6. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

Mod. 7

A	SMA	SM1c	SM1i	CER	C	
SMA	-1	0	0	0	SMA	0,164146
SM1c	0,621389	-1	0	0,093644	SM1c	0
SM1i	0,177073	0,078495	-1	0,022346	SM1i	0
CER	0	0,366991	0,126034	-1	CER	0

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER	pC	
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN	SMA	0,999932
SM1c	1	NaN	NaN	0,683936	SM1c	NaN
SM1i	0,907116	0,672088	NaN	0,545191	SM1i	NaN
CER	NaN	0,998977	0,74358	NaN	CER	NaN

Mod. 8

A	SMA	SM1c	SM1i	CER	C	
SMA	-1	0	0	0	SMA	0,139268
SM1c	0,546652	-1	0	0,237379	SM1c	0
SM1i	0,153049	0,078142	-1	0,066441	SM1i	0
CER	0	-0,08807	-0,03449	-1	CER	0,066226

pA	SMA	SM1c	SM1i	CER	pC	
SMA	NaN	NaN	NaN	NaN	SMA	0,9999
SM1c	0,999983	NaN	NaN	0,893067	SM1c	NaN
SM1i	0,862567	0,669669	NaN	0,635308	SM1i	NaN
CER	NaN	0,678647	0,568604	NaN	CER	0,995875

Figura 5.15: Stime a posteriori dei parametri per i modelli 7 e 8. A sinistra si trovano i valori della media dei parametri intrinseci A e delle probabilità delle stesse (pA); a destra, le stime dell'influenza diretta dell'input sulle regioni di attivazione C e la relativa probabilità pC.

Modello	$AIC=N \cdot \ln(WRSS)+2 \cdot P$	ordine
1	2053,9319	2
2	2061,3271	4
3	2053,912	1
4	2061,2418	3
5	2069,888	5
6	2077,2068	7
7	2069,9051	6
8	2077,2969	8

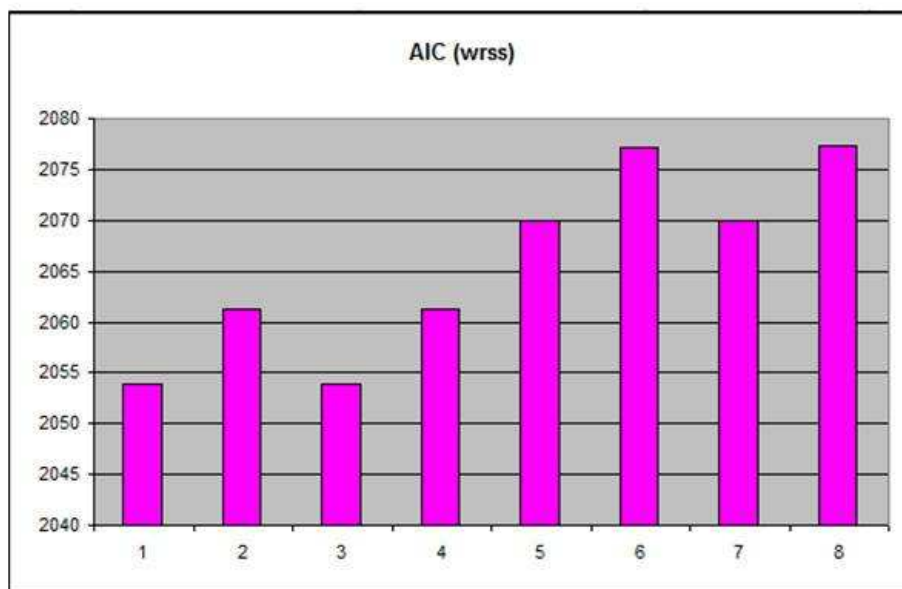


Figura 5.16: Valori di AIC di ogni modello, costruito sui dati dell'analisi di gruppo.

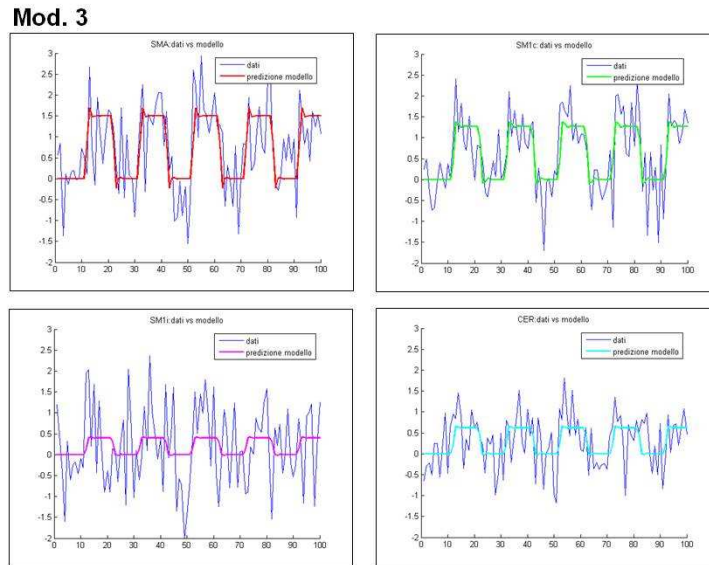


Figura 5.17: Andamenti delle predizioni del modello relative alle quattro aree di attivazione, rispetto ai dati. Le immagini sono riferite al modello migliore (modello 3).

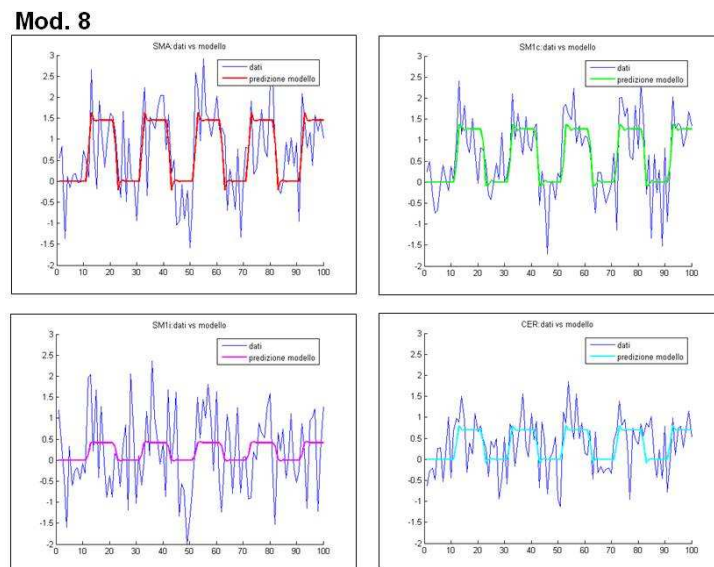


Figura 5.18: Andamenti delle predizioni del modello relative alle quattro aree di attivazione, rispetto ai dati. Le immagini sono riferite al modello peggiore (modello 8).

Capitolo 6

Conclusioni

L'obiettivo che si propone questa tesi è quello di studiare la connettività effettiva che caratterizza le aree cerebrali motorie, mediante il metodo del DCM. La connettività effettiva rappresenta l'influenza causale che un'area cerebrale esercita su un'altra regione.

Lo studio è stato condotto su nove soggetti volontari destrimani, i quali hanno eseguito un movimento di adduzione del pollice della mano destra, alla velocità di 1 Hz durante l'acquisizione di una sequenza di risonanza magnetica funzionale. Mediante l'analisi GLM convenzionale applicata ai dati fMRI si sono determinate le aree di attivazione cerebrali coinvolte nel task motorio: SMA, area adibita alla programmazione di sequenze motorie complesse e per la coordinazione di movimenti bilaterali, SM1c e SM1i aree legate alla determinazione della forza e della direzione del movimento, CER coinvolto nella coordinazione e nel controllo feedback del gesto motorio. Tre su nove soggetti hanno evidenziato l'attivazione di tutte e quattro le aree, mentre nei rimanenti sei non si è riscontrata l'attivazione dell'area sensitivo-motoria ipsi-laterale al movimento. Sulla base dell'attivazione di queste aree e delle conoscenze funzionali delle diverse regioni si sono costruiti 20 modelli di connettività, ipotizzando delle possibili reti di connessione. Questi sistemi sono stati vagliati da un neurologo esperto, che ha ridotto il loro numero ai 12 fisiologicamente plausibili.

Per i soggetti che presentano quattro aree di attivazione si è scelto di testare 8 fra questi modelli, che differiscono tra loro per alcune connessioni, al fine di poter testare in che misura alcune proprietà influiscono sulla predizione del modello. La struttura comune ai modelli analizzati è caratterizzata da:

presenza di una connessione tra la SMA e la SM1c, connessione tra la SMA e la SM1i, connessione reciproca tra il CER e la SM1c ed influenza diretta dell'input (l'ordine di eseguire il movimento) sulla SMA. Le differenze, invece, presenti tra questi modelli riguardano le doppie connessioni tra il CER e la SM1i, la connessione diretta dell'input sul CER e la presenza di una connessione tra l'SMA e il CER oppure tra l'SM1c e la SM1i.

I modelli testati sui soggetti che attivano tre aree presentano le medesime caratteristiche dei precedenti ma con l'unica differenza che l'area SM1i e tutte le connessioni ad esso relative sono mancanti. Sulla base di questa costruzione il numero dei modelli si riduce da otto a quattro, non esistendo più una distinzione tra i sistemi in cui la reciproca connessione tra la SM1i e il CER è presente o assente. All'interno del DCM la stima dei parametri del modello fornisce la distribuzione a posteriori dei parametri stessi, caratterizzata dal valore medio e dalla probabilità che tale distribuzione superi una determinata soglia. Infine al fine di ordinare i modelli e selezionare il modello ottimo viene calcolato per ognuno di essi l'indice di Akaike. Per i modelli costruiti a partire da quattro aree di attivazione, si deduce che i sistemi con prestazioni migliori sono quelli in cui SM1i e CER sono mutualmente connessi e in cui è assente l'influenza diretta dell'input sul CER. Tale connessione, infatti, porta a una destabilizzazione del sistema, causata da una diminuzione dei valori di probabilità delle connessioni relative al CER. Lo stesso risultato si ottiene in modelli con tre aree di attivazione, in cui la presenza dell'interazione tra input e CER degrada le prestazioni del modello.

In conclusione per otto soggetti su nove il modello ottimo risulta essere quello privo delle reciproche connessioni tra SM1i e CER e in cui è assente anche la connessione tra l'input e il CER. Tale modello è, inoltre, caratterizzato dalla presenza della connessione tra la SM1c e la SM1i (e non tra la SMA e il CER). Il modello peggiore presenta invece la connessione tra SMA e CER e l'interazione tra input e CER. Nei modelli con quattro aree il sistema peggiore è anche caratterizzato dalla presenza delle reciproche connessioni tra SM1i e CER.

Per evidenziare le componenti comuni presenti nel gruppo ed ottenere delle informazioni riguardanti la popolazione, ossia svincolate dalle componenti di variabilità intra-individuale ed inter-individuale, si è eseguita un'analisi di gruppo. Essa evidenzia quattro regioni di attivazione (SMA, SM1c, SM1i e

CER), su cui sono stati costruiti gli otto modelli testati sui singoli soggetti. Anche in questo caso, in base all'indice di AIC, si evince che i sistemi migliori sono quelli privi delle connessioni tra la SM1i e il CER e privi dell'influenza diretta dell'input sul CER. Il modello migliore inoltre è caratterizzato dalla connessione tra la SMA e il CER (e non tra la SM1c e la SM1i). Diversamente il modello peggiore è quello in cui sono presenti l'interazione diretta tra l'input e il CER, la doppia connessione tra SM1i e il CER e l'interazione tra la SM1c e la SM1i.

La diversa scelta del modello ottimo tra l'analisi dei singoli soggetti e l'analisi di gruppo, potrebbe sembrare contraddittoria. Tuttavia, si sottolinea che i valori degli indici di AIC presentano tra i due modelli esigue variazioni che non permettono di scegliere in modo netto un sistema rispetto ad un altro. Una possibile spiegazione è che i modelli confrontati differiscono tra loro per poche caratteristiche e sono, in partenza, tutti fisiologicamente accettabili. In particolare i modelli migliori di entrambe le analisi si differenziano solamente per la connessione tra la SM1c e la SM1i (sui singoli soggetti) e tra la SMA e il CER (nell'analisi di gruppo). Le caratteristiche comuni ad entrambi i modelli trovano un significativo riscontro fisiologico. L'influenza diretta dell'input (l'ordine di eseguire il movimento) sulla SMA, infatti, può essere motivato dal fatto che la SMA è responsabile della preparazione del gesto motorio e quindi è la prima area dal punto di vista temporale ad essere coinvolta. La SMA è, quindi, connessa alle aree sensitive primarie, le quali determinano la forza e la direzione del movimento che dev'essere eseguito. La presenza di una doppia connessione tra la SM1c e il CER spiega l'azione di coordinazione e di controllo feedback del CER, che, pertanto, scambia informazioni con l'area predominante che comanda l'intensità e la spazialità del movimento stesso.

In conclusione, i DCM ottenuti rappresentano tutti dei sistemi matematicamente accettabili dal punto di vista della stabilità e, soprattutto, i risultati ottenuti identificano verosimilmente la possibile connettività effettiva esistente tra le aree cerebrali motorie.

Le prospettive future di questo studio sono quelle di analizzare dati fMRI acquisiti con design sperimentali diversi, al fine di testare la connettività effettiva su sistemi differenti rispetto a quello motorio. Un altro aspetto interessante sarà quello di identificare, mediante il DCM, la connettività effettiva

su soggetti con stroke, al fine di valutare in che modo questa varia rispetto ai soggetti sani e determinare le vie di connessione alternative che il cervello riesce a sviluppare (plasticità) per supplire ad eventuali danni.

Appendice A

Stima dei parametri e degli iperparametri con EM

In questa appendice viene fornita una motivazione euristica per i passaggi di *Estimation* (**E**) e *Maximization* (**M**) dell'algoritmo di stima, sintetizzato nell'Eq.3.17. Questi step possono essere interpretati come un aumento del *Fisher Scoring* su una funzione obiettivo F , che rappresenta l'andamento del logaritmo della probabilità a posteriori.

E-step

Le aspettative condizionali e le covarianze dei parametri sono stimate nell'**E**-step, che realizza un gradiente ascendente sul logaritmo della probabilità a posteriori, comprendendo sia la verosimiglianza, che i potenziali a priori:

$$\begin{aligned} l &= \ln p(\theta|y, \Lambda; u) \\ &= \ln p(y|\theta, \Lambda; u) + \ln p(\theta; u) \\ \ln p(y|\theta, \Lambda; u) &= -\frac{1}{2}(y - h(u, \theta))^T C_\epsilon^{-1}(y - h(u, \theta)) \\ \ln p(\theta; u) &= -\frac{1}{2}(\eta_\theta - \theta)^T C_\theta^{-1}(\eta_\theta - \theta), \end{aligned} \tag{A.1}$$

dove $\ln p(y|\theta, \Lambda; u)$ è il logaritmo della *likelihood* e $\ln p(\theta; u)$ il logaritmo dell'informazione a priori.

Considerando dei gradienti rispetto ai parametri si ottiene il seguente schema di ‘aggiornamento’ di Fisher:

$$\begin{aligned}\eta_{\theta|y} &\leftarrow \eta_{\theta|y} - \left\langle \frac{\partial^2 l}{\partial \theta^2} \right\rangle^{-1} \frac{\partial l}{\partial \theta}(\eta_{\theta|y}) \\ \frac{\partial l}{\partial \theta} &= J^T C_\epsilon^{-1} r + C_\theta^{-1}(\eta_\theta - \eta_{\theta|y}) \\ - \left\langle \frac{\partial^2 l}{\partial \theta^2} \right\rangle &= J^T C_\epsilon^{-1} J + C_\theta^{-1} = C_{\theta|y}^{-1},\end{aligned}\tag{A.2}$$

dove $J = \partial h(\eta_{\theta|y})/\partial \theta$, $r = y - h(u, \eta_{\theta|y})$ e $C_\epsilon = \sum \Lambda_i Q_i$ è la covarianza dell’errore iperparametrizzata. L’Eq.A.2 è formalmente la stessa dell’**E**-step nell’Eq.3.17, dopo l’inclusione delle variabili di disturbo X .

M-step

Gli iperparametri sono stimati nell’**M**-step, esattamente nello stesso modo dei parametri, ma considerando che il logaritmo della verosimiglianza dipende solo da parametri incogniti, i quali vengono estromessi utilizzando una distribuzione condizionale approssimata $q(\theta)$. Si evidenzia che negli iperparametri non sono presenti dei *prior*. Questa integrazione spiega un lower bound sulla *log-likelihood*, definito “energia libera negativa” (Neal and Hinton, 1998). Dalla disuguaglianza di Jensen:

$$\begin{aligned}\ln p(y|\Lambda; u) &= \ln \int q(\theta) \frac{p(\theta, y|\Lambda; u)}{q(\theta)} d\theta \geq \\ F &= \int q(\theta) \ln \frac{p(\theta, y|\Lambda; u)}{q(\theta)} d\theta.\end{aligned}\tag{A.3}$$

Considerando dei gradienti rispetto agli iperparametri, si può ottenere il seguente schema per lo *scoring* di Fisher.

$$\begin{aligned}\Lambda &\leftarrow \Lambda - \left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \Lambda^2} \right\rangle^{-1} \frac{\partial F}{\partial \Lambda}(\Lambda) \\ \frac{\partial F}{\partial \Lambda_i} &= \frac{1}{2} \text{tr}\{PQ_i\} - \frac{1}{2} r^T P^T Q_i P r \\ - \left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \Lambda^2} \right\rangle_{ij} &= \frac{1}{2} \text{tr}\{PQ_i P Q_j\},\end{aligned}\tag{A.4}$$

dove $P = C_\epsilon^{-1} - C_\epsilon^{-1} J C_{\theta|y}^{-1} J^T C_\epsilon^{-1}$. L'incremento del parametro sul logaritmo della probabilità a posteriori l nel passo **E** è strettamente collegata all'ascesa sull'energia libera negativa F , utilizzata per gli iperparametri nell'**M**-step, con esatta equivalenza quando $q(\theta)$ è deterministica. Questo può essere visto se si scrive:

$$F = \int q(\theta) \ln p(y|\theta, \Lambda; u) d\theta - \int q(\theta) \ln \frac{q(\theta)}{p(\theta)} d\theta \quad (\text{A.5})$$

$$= \langle \ln p(y|\theta, \Lambda; u) \rangle_q - KL(q(\theta), p(\theta)).$$

F comprende la *log-likelihood* attesa in $q(\theta)$ e un termine a priori, rappresentato dalla divergenza di Kullback-Leibler (KL), tra le densità condizionali e a priori. Quando $q(\theta)$ si riduce a una densità di punti su $\eta_{\theta|y}$, si ottiene l'uguaglianza tra F e l .

Per completezza, è da notare che, in un contesto lineare, F è equivalente anche alla *Restricted Maximum Likelihood* (ReML), funzione obiettivo utilizzata nella stima classica dei componenti della varianza (Harville, 1977).

L'algoritmo EM è semplice e robusto e trova molteplici applicazioni nelle analisi dei dati, passando dalle stime ReML delle correlazioni seriali in fMRI, alla stima degli iperparametri nei modelli di osservazione gerarchici. Nell'implementazione qui considerata, i passi di *estimation* e *maximization* vengono iterati fino a convergenza, prima di ricalcolare $J = \partial h(\eta_{\theta|y}) / \partial \theta$. Per maggiori dettagli si citano (Friston et al., 2002) e (Stephan et al., 2005).

Bibliografia

- Absher, J. R., Benson, D. F., Geschwind, N., May 1993. Disconnection syndromes: an overview of Geschwind's contributions. *Neurology* 43, 862–867.
- Aertsen, A., Preissl, H., 1991. Dynamics of activity and connectivity in physiological neuronal networks. *VHC*, pp. 281–302.
- Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *Automatic Control, IEEE Transactions on* 19, 716–723.
- Beer, A. L., Plank, T., Greenlee, M. W., May 2011. Diffusion tensor imaging shows white matter tracts between human auditory and visual cortex. *Exp Brain Res*.
- Bendat, J., 1990. *Nonlinear system analysis and identification from random data*. Wiley New York etc.
- Bertoldo, A., 2009. Slide del corso di neuroingegneria.
- Bollen, K., 1989. *Structural equations with latent variables*. Wiley New York.
- Büchel, C., Friston, K., 1997. Modulation of connectivity in visual pathways by attention: cortical interactions evaluated with structural equation modelling and fmri. *Cerebral Cortex* 7 (8), 768.
- Buxton, R., 2009. *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging: principles & techniques*, 2nd Edition. Cambridge University Press.
- Buxton, R., Frank, L., 1997. A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 17 (1), 64–72.

- Buxton, R., Wong, E., Frank, L., 1998. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magnetic Resonance in Medicine* 39 (6), 855–864.
- Candéo, L., 2009. Caratterizzazione della risposta emodinamica per la generazione delle mappe di attivazione da immagini fmri. Master's thesis, Università degli studi di Padova, Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione.
- Formaggio, E., Storti, S., Avesani, M., Cerini, R., Milanese, F., Gasparini, A., Acler, M., Pozzi Mucelli, R., Fiaschi, A., Manganotti, P., 2008. Eeg and fmri coregistration to investigate the cortical oscillatory activities during finger movement. *Brain topography* 21 (2), 100–111.
- Friston, K., 1994. Functional and effective connectivity in neuroimaging: a synthesis. *Human Brain Mapping* 2 (1-2), 56–78.
- Friston, K., 1995. Functional and effective connectivity in neuroimaging: A synthesis. *Human Brain Mapping* 2, 56–78.
- Friston, K., 2002a. Bayesian estimation of dynamical systems: an application to fmri. *NeuroImage* 16 (2), 513–530.
- Friston, K., 2002b. Beyond phrenology: what can neuroimaging tell us about distributed circuitry? *Annual review of neuroscience* 25 (1), 221–250.
- Friston, K., Ashburner, J., Kiebel, S., Nichols, T., Penny, W., Corporation, E., 2007. *Statistical parametric mapping: the analysis of functional brain images*. Elsevier/Academic Press.
- Friston, K., Buechel, C., Fink, G., Morris, J., Rolls, E., Dolan, R., 1997. Psychophysiological and modulatory interactions in neuroimaging* 1. *Neuroimage* 6 (3), 218–229.
- Friston, K., Frith, C., Frackowiak, R., 1993a. Time-dependent changes in effective connectivity measured with pet. *Human Brain Mapping* 1 (1), 69–79.
- Friston, K., Harrison, L., Penny, W., 2003. Dynamic causal modelling. *Neuroimage* 19 (4), 1273–1302.

- Friston, K., Holmes, A., Price, C., Buchel, C., Worsely, K., 1999. Multisubject fmri studies and conjunction analyses. *Neuroimage* 10, 385–396.
- Friston, K., Holmes, A., Worsley, K., Poline, J., Frith, C., Frackowiak, R., et al., 1995. Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. *Human brain mapping* 2 (4), 189–210.
- Friston, K., Mechelli, A., Turner, R., Price, C., 2000. Nonlinear responses in fmri: the balloon model, volterra kernels, and other hemodynamics. *NeuroImage* 12 (4), 466–477.
- Friston, K., Penny, W., Phillips, C., Kiebel, S., Hinton, G., Ashburner, J., 2002. Classical and bayesian inference in neuroimaging: theory. *NeuroImage* 16 (2), 465–483.
- Friston, K. J., Nov 2003. Learning and inference in the brain. *Neural Netw* 16, 1325–1352.
- Friston, K. J., Frith, C. D., Liddle, P. F., Frackowiak, R. S., Jan 1993b. Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 13, 5–14.
- Goebel, R., Roebroeck, A., Kim, D., Formisano, E., 2003. Investigating directed cortical interactions in time-resolved fmri data using vector autoregressive modeling and granger causality mapping. *Magnetic Resonance Imaging* 21 (10), 1251–1261.
- Granger, C., 1969. Investigating causal relations by econometric models and cross-spectral methods. *Econometrica: Journal of the Econometric Society*, 424–438.
- Grubb, R., Rachel, M., Euchring, J., Ter-Pogossian, M., 1974. The effect of changes in pco₂ on cerebral blood volume, blood flow and vascular mean transit time. *Stroke* 19 (5), 630–639.
- Harrison, L., Penny, W., Friston, K., 2003. Multivariate autoregressive modeling of fmri time series. *NeuroImage* 19 (4), 1477–1491.

- Harville, D., 1977. Maximum likelihood approaches to variance component estimation and to related problems. *Journal of the American Statistical Association*, 320–338.
- Huettel, S., Song, A., McCarthy, G., 2004. *Functional Magnetic Resonance Imaging*, 2nd Edition. Sinauer Associates.
- Jezzard, P., P., M., Smith, S., 2003. *Functional MRI: an introduction to methods*, 1st Edition. Oxford University Press, USA.
- Kandel, E., Schwartz, J., Jessell, T., 1994. *Principi di Neuroscienze*, 2nd Edition. CEA.
- Kandel, E., Schwartz, J., Jessell, T., 2000. *Principles of Neuronal Scienze*, 4th Edition. McGraw-Hill Medical.
- Lazar, N., 2008. *The statistical analysis of functional MRI data*, 1st Edition. Springer.
- Mandeville, J., Marota, J., Ayata, C., Zaharchuk, G., Moskowitz, M., Rosen, B., Weisskoff, R., 1999. Evidence of a cerebrovascular postarteriole windkessel with delayed compliance. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 19 (6), 679–689.
- McIntosh, A., 2000a. Towards a network theory of cognition. *Neural Networks* 13 (8-9), 861–870.
- McIntosh, A. R., 2000b. Towards a network theory of cognition. *Neural Netw* 13, 861–870.
- McIntosh, A., Gonzalez-Lima, F., 1994. Structural equation modeling and its application to network analysis in functional brain imaging. *Human Brain Mapping* 2 (1-2), 2–22.
- Mehta, A. D., Ulbert, I., Schroeder, C. E., Apr 2000. Intermodal selective attention in monkeys. I: distribution and timing of effects across visual areas. *Cereb. Cortex* 10, 343–358.
- Miller, K., Luh, W., Liu, T., Martinez, A., Obata, T., Wong, E., Frank, L., Buxton, R., 2001. Nonlinear temporal dynamics of the cerebral blood flow response. *Human Brain Mapping* 13 (1), 1–12.

- Moore, T., Armstrong, K. M., Jan 2003. Selective gating of visual signals by microstimulation of frontal cortex. *Nature* 421, 370–373.
- Mori, S., 2007. Introduction to diffusion tensor imaging. Elsevier Science.
- Mori, S., van Zijl, P. C., 2002. Fiber tracking: principles and strategies - a technical review. *NMR Biomed* 15, 468–480.
- Motter, B. C., Sep 1993. Focal attention produces spatially selective processing in visual cortical areas V1, V2, and V4 in the presence of competing stimuli. *J. Neurophysiol.* 70, 909–919.
- Murray, S., Wojciulik, E., 2004. Attention increases neural selectivity in the human lateral occipital complex. *Nature Neuroscience* 7 (1), 70–74.
- Neal, R., Hinton, G., 1998. A view of the em algorithm that justifies incremental, sparse, and other variants. *Learning in graphical models* 89, 355–368.
- Olson, I. R., Chun, M. M., Allison, T., Jul 2001. Contextual guidance of attention: human intracranial event-related potential evidence for feedback modulation in anatomically early temporally late stages of visual processing. *Brain* 124, 1417–1425.
- Penny, W., Stephan, K., Mechelli, A., Friston, K., 2004. Comparing dynamic causal models. *NeuroImage* 22 (3), 1157–1172.
- Pizzolato, M., 2008. Generazione di mappe topografiche eeg da coregistrazioni eeg-fmri. Master's thesis, Università degli studi di Padova, Dipartimento di Ingneria dell'Informazione.
- Price, C. J., Friston, K. J., Oct 2002. Degeneracy and cognitive anatomy. *Trends Cogn. Sci. (Regul. Ed.)* 6, 416–421.
- Ramnani, N., Behrens, T. E., Penny, W., Matthews, P. M., Nov 2004. New approaches for exploring anatomical and functional connectivity in the human brain. *Biol. Psychiatry* 56, 613–619.
- Sporns, O., 2007. Brain connectivity. *Scholarpedia* 2 (10), 4695.

Stephan, K., Friston, K., 2010a. Analyzing effective connectivity with functional magnetic resonance imaging. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science* 1 (3), 446–459.

Stephan, K., Friston, K., Penny, W., 2005. Computing the objective function in dcm.

Stephan, K. E., Dec 2004. On the role of general system theory for functional neuroimaging. *J. Anat.* 205, 443–470.

Stephan, K. E., Friston, K. J., 2010b. Analyzing functional and effective connectivity with fmri. In: Ullsperger, M., Debener, S. (Eds.), *Simultaneous EEG and fMRI: Recording, Analysis, and Application*. Oxford University Press, Oxford, pp. 251–267.

Worsley, K., Friston, K., 1995. Analysis of fmri time-series revisited. *Neuroimage* 2 (3), 173–181.

www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/, 2011.

URL <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>

www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/manual.pdf, 2011.

URL <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/manual.pdf>

www.technologyreview.com, 2009.

URL <http://www.technologyreview.com/biomedicine/22044/page2/#photo>

Ringraziamenti

Questa è la parte che attendo da tanto tempo, un po' perchè essere arrivata a questo punto significa aver concluso il lavoro, ma soprattutto perchè sento davvero di dover esprimere la mia gratitudine a molte persone.

In primis, vorrei ringraziare la Prof.ssa Alessandra Bertoldo, per avermi permesso di svolgere questo lavoro di tesi, assecondando i miei interessi, il Prof. Paolo Manganotti, la Dr.ssa Emanuela Formaggio e la Dr.ssa Silvia F. Storti per avermi seguito in tutti questi mesi con professionalità, pazienza ed entusiasmo.

Un ringraziamento enorme va alla mia incasinatissima famiglia: grazie a mio padre per avermi permesso di realizzare questo sogno, grazie ai miei fratelloni per avermi sopportato (e per sopportarmi!) e, soprattutto, grazie a quella meraviglia vivente di mia madre, esempio di tenacia, umiltà e dignità.

Un grazie dal profondo del cuore al mio Gio. “Non esistono parole per esprimere ciò che tu rappresenti per me, sei più essenziale dell’aria che respiro e della luce del sole. Ti voglio bene.”

Grazie a quella banda pazza e spettacolare dei miei parenti, che mi hanno sempre sostenuto, avendo fiducia in me e nelle mie capacità.

Un grazie enorme ai miei amici di Belluno, Padova e Verona. Nominare tutti sarebbe un’ardua impresa, ma ognuno di voi ha un posto speciale nel mio cuore.. Vi voglio bene!

Questo è stato l’anno più bello che la vita mi ha regalato.

La piccola lacrima silenziosa che ora sta scendendo sul mio volto racchiude tutte le emozioni e la gratitudine che le parole non potrebbero contenere.

Elena