

Università degli Studi di Padova



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

Tesi di Laurea

METODI E MODELLI PER LO STUDIO DELLA CONNETTIVITÀ
EFFETTIVA DEL DEFAULT MODE NETWORK ESTRATTO DA
IMMAGINI DI RISONANZA MAGNETICA FUNZIONALE IN
RESTING STATE

Laureanda: Ilaria Mazzonetto

Relatore: Ch.ma Prof.ssa Alessandra Bertoldo
Correlatori: Ing. Marco Castellaro
Ing. Matteo Tonietto

14 aprile 2014

Ai miei genitori.....

Indice

Abstract.....	1
Introduzione.....	3
Cap.1 Risonanza magnetica funzionale in resting state.....	5
1.1 Il segnale BOLD.....	5
1.2 La risposta emodinamica.....	7
1.3 Fluttuazioni spontanee del segnale BOLD e resting state fMRI.....	9
1.4 Il <i>Default Mode Network</i>	12
Cap.2 Identificazione del <i>Default Mode Network</i>	17
2.1 <i>Seed-based Correlation Analysis</i>	17
2.2 <i>Independent Component Analysis (ICA)</i>	18
2.2.1 L'algoritmo <i>FastICA</i>	21
2.3 <i>Probabilistic Independent Component Analysis (PICA)</i>	22
2.4 <i>Independent Component Analysis</i> a livello di gruppo.....	26
2.4.1 <i>GroupICA & Back Reconstruction</i>	26
2.5 ICA: osservazioni generali.....	28
Cap.3 Analisi di connettività effettiva.....	29
3.1 Analisi della causalità di Granger.....	31
3.1.1 Applicazioni a dati fMRI.....	36
3.2 Modelli dinamici causali.....	37
3.2.1 Selezione del modello ottimo.....	44
3.2.2 Analisi a livello di gruppo.....	46
3.2.3 Applicazioni a dati fMRI in resting-state.....	48
Cap.4 Materiali e Metodi.....	51
4.1 Soggetti.....	51
4.2 Acquisizioni dei dati.....	51
4.3 Pre-processing.....	52

4.4	Estrazione del <i>Default Mode Network</i>	55
4.5	Analisi della causalità di Granger.....	56
4.6	Analisi di connettività con DCM	59
4.6.1	Implementazione dei modelli e selezione del modello ottimo.....	60
Cap.5	Risultati.....	67
5.1	Selezione del <i>Default Mode Network</i>	67
5.2	Analisi di connettività effettiva.....	72
5.2.1	Analisi della causalità di Granger	72
5.2.2	Modelli dinamici causali.....	72
Cap.6	Discussione dei risultati.....	81
6.1	Selezione del <i>Default Mode Network</i>	81
6.2	Analisi di connettività effettiva.....	82
6.2.1	Analisi della causalità di Granger	82
6.2.2	Modelli dinamici causali.....	83
Conclusioni	85
Bibliografia	87

Abstract

L'obiettivo di questa tesi è l'individuazione di un modello di connettività effettiva rappresentante le influenze causali che si esercitano tra i principali nodi del *Default Mode Network* in un pool di soggetti sani.

Le analisi sono state condotte a partire da dati fMRI in resting-state di nove volontari sani.

Per ogni soggetto, mediante l'*Independent Component Analysis*, è stato individuato il *default mode network*, ciò ha consentito di localizzare i quattro principali nodi della rete di cui sono state poi studiate le interazioni causali.

Tale studio è stato condotto a livello individuale per mezzo dell'analisi della causalità di Granger e dei modelli dinamici causali, in cui utilizzo in questo ambito rappresenta una novità.

L'analisi a livello di gruppo dei risultati ottenuti con i modelli dinamici causali ha consentito di individuare un modello di connettività effettiva, la cui struttura è in accordo con quanto presente in letteratura.

Introduzione

Le moderne tecniche di *neuroimaging*, come ad esempio la risonanza magnetica funzionale (fMRI), consentono di studiare in modo preciso e non invasivo i cambiamenti che avvengono nell'attività cerebrale in seguito all'esecuzione di un specifico compito. Negli studi di fMRI in cui il soggetto svolge un certo *task* oppure è sottoposto a degli stimoli, l'attività spontanea del cervello viene considerata rumore. Negli ultimi anni due considerazioni hanno spostato l'attenzione verso lo studio di tale "rumore". La prima di carattere energetico: le fluttuazioni spontanee dell'attività cerebrale concorrono in larga parte alla spesa energetica del cervello. La seconda considerazione è di carattere sperimentale: si è osservato che l'attività spontanea del sistema a riposo non è un rumore casuale ma è organizzata in maniera specifica.

Con attività neuronale spontanea ci si riferisce ad attività non attribuibile ad uno specifico input od output, essa rappresenta l'attività che viene intrinsecamente generata dal cervello.

La tecnica fMRI che permette lo studio di tale attività prende il nome di fMRI in resting state, lo scopo principale di tale metodica è l'analisi della correlazione temporale del segnale BOLD in regioni distinte del cervello quando esso è vigile e cosciente, ma rilassato e in assenza di stimoli. Le correlazioni temporali tra le fluttuazioni del segnale nelle diverse regioni del cervello a riposo sono state interpretate in termini di connettività funzionale. Questi "pattern" di connettività sono stati rappresentati come "network" (reti) tra le regioni attive del cervello e si indicano con il termine resting-state networks (RSNs). Il network che presenta maggior consistenza nella popolazione è il *Default Mode Network* (DMN). Una rete di aree cerebrali maggiormente attive durante il riposo (resting) che vanno incontro a calo dell'attività quando il cervello è chiamato ad eseguire dei compiti. Queste aree, localizzate principalmente nella corteccia prefrontale mediale, nella corteccia cingolata posteriore e nella corteccia parietale inferiore destra e sinistra, svolgerebbero una "attività di fondo" destinata ad un lavoro mentale principalmente introspettivo e di elaborazione di piani, progetti ed azioni. Diversi sono gli studi che collegano alterazioni del DMN a malattie neurologiche e disordini psichici.

Lo scopo di questa tesi è valutare la connettività effettiva tra i principali nodi della rete in una corte di soggetti sani al fine di poter analizzare, in studi futuri, come tali connessioni varino in soggetti affetti da Sclerosi Multipla. La connettività effettiva rappresenta l'influenza causale che un'area cerebrale esercita su di un'altra e costituisce un passo in avanti rispetto alla connettività funzionale perché indica il verso con cui avviene tale influenza.

Per l'identificazione del DMN si è ricorsi all'*Independent Component Analysis*. Tale tecnica, applicata a dati fMRI in resting state, consente di stimare particolari pattern spaziali distribuiti

indipendentemente, tra cui il DMN, che rappresentano le cosiddette sorgenti dei dati.

A partire dall'individuazione dei principali nodi della rete è stata poi condotta un'analisi di connettività effettiva per mezzo dell'analisi della causalità di Granger e dei modelli dinamici causali. Mentre la prima metodica, pur presentando diversi limiti, è già stata utilizzata per questi studi, l'uso dei DCM in resting-state rappresenta una novità rilevante.

Risonanza magnetica funzionale in resting state

La risonanza magnetica funzionale (fMRI) è una tecnica non invasiva che sfrutta le variazioni emodinamiche prodotte dall'attività neuronale per identificare le aree del cervello che si attivano in seguito ad una o più stimolazioni esterne (task). Questo metodo di indagine consente di ricostruire la mappa di attivazione del cervello per funzioni sensoriali, mentali e motorie, con un'alta risoluzione spaziale (millimetro), e permette lo studio delle connessioni tra diverse regioni cerebrali.

1.1 Il segnale BOLD

I cambiamenti dell'attività neurale del cervello sono associati a cambiamenti delle richieste energetiche: quanto maggiore è l'attività funzionale di un distretto cerebrale, tanto maggiore sarà il suo metabolismo e, conseguentemente, la sua richiesta energetica.

L'aumento dell'attività elettrica neuronale comporta una maggiore richiesta da parte dei neuroni di energia e quindi di ossigeno. Per soddisfare l'aumentato bisogno di ossigeno, grazie al reclutamento o dilatazione dei capillari e/o all'aumento della velocità del sangue, il flusso sanguigno aumenta. L'incremento locale del flusso ematico avviene però in misura maggiore dell'aumento del consumo di ossigeno; il risultato di questo disaccoppiamento è un incremento della concentrazione di ossi-emoglobina con riduzione della desossi-emoglobina sul versante venoso del letto capillare.

L'emoglobina possiede proprietà magnetiche diverse a seconda che si trovi legata o meno all'ossigeno. L'emoglobina ossigenata è diamagnetica, ovvero non possiede elettroni spaiati ed ha momento magnetico nullo, mentre la deossigenata è paramagnetica, quindi possiede elettroni spaiati e momento magnetico diverso da zero.

Il sangue completamente deossigenato ha una suscettibilità magnetica maggiore del 20% rispetto al sangue completamente ossigenato. La risonanza magnetica funzionale sfrutta questa proprietà magnetica dell'emoglobina, che viene utilizzata come mezzo di contrasto endogeno.

L'introduzione di un materiale con suscettibilità magnetica all'interno di un campo magnetico causa lo sfasamento degli *spin* nucleari, determinando un decadimento della magnetizzazione trasversale, legata alla costante temporale T_2^* . La deossigenazione del sangue, modificando la suscettibilità magnetica, fa variare il segnale MR pesato T_2^* misurato, che aumenta al diminuire della deossigenazione. L'ampiezza di questo effetto aumenta con la radice quadrata dell'intensità del campo magnetico statico.

Tramite esperimenti su animali, è stato dimostrato che con campi magnetici B_0 maggiori di 1.5 T e immagini pesate T_2^* è possibile misurare un segnale dipendente dal livello di emoglobina deossigenata presente nella regione cerebrale, il cosiddetto segnale BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) (Ogawa, 1990). Infatti la relativa diminuzione della concentrazione di deossiemoglobina nelle regioni in cui vi è attività neuronale causa un aumento del parametro T_2^* che a sua volta porta ad aumento dell'intensità dell'immagine pesate T_2^* (figura 1.1).

T2* in condizione di riposo e di attivazione

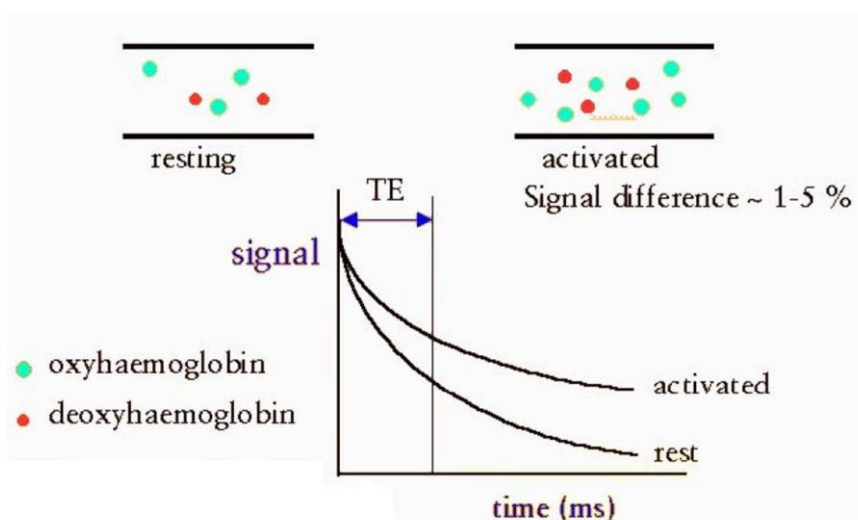


Figura 1.1: Nelle aree attivate l'aumento della frazione di emoglobina ossigenata porta a un incremento netto del segnale MR pesato T_2^* rispetto alla condizione di base. La modulazione dell'intensità del segnale BOLD durante l'attivazione funzionale è relativamente modesta, supera in genere di appena il 2-5% i valori a riposo (Bertoldo, 2012).

I cambiamenti del volume sanguigno in funzione dell'aumento del volume ematico durante l'attività cerebrale sono descritti dal *balloon model* (Buxton, Wong, & Frank, 1998). L'aumento del flusso sanguigno in seguito all'attività neurale causa un flusso entrante di sangue nel sistema venoso maggiore di quello uscente, determinando un aumento del volume sanguigno. Nelle

piccole vene l'aumento di volume iniziale è caratterizzato dalla presenza di emoglobina deossigenata, che viene eliminata per prima dai capillari. Tale aumento causa una perdita del segnale MR, l'*initial dip*. L'aumento del segnale acquisito è dovuto ad un aumento sproporzionato del flusso sanguigno rispetto alle reali necessità che comporta un incremento locale della concentrazione di emoglobina e una relativa diminuzione della concentrazione di emoglobina deossigenata. Il successivo *undershoot* è causato da uno sbilanciamento tra le velocità con cui il flusso e il volume ematico ritornano al valore basale.

In figura 1.2 è rappresentato l'andamento del segnale BOLD in risposta ad uno stimolo.

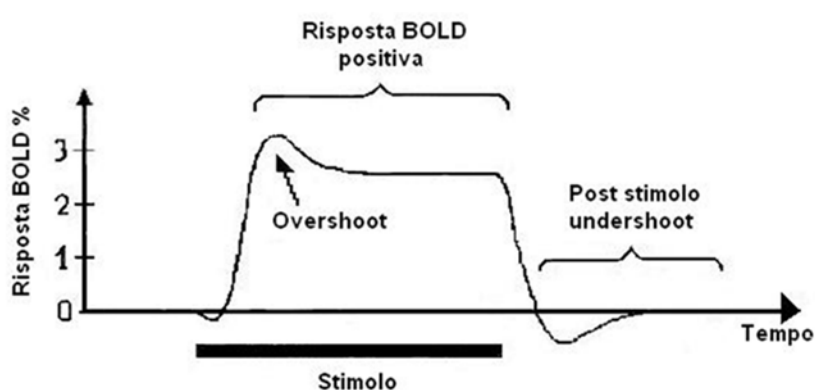


Figura 1.2: Andamento temporale del segnale BOLD in seguito ad uno stimolo.

1.2 La risposta emodinamica

La variazione del segnale MR misurato, innescata dall'attività neuronale, è chiamata risposta emodinamica (HDR). La forma della risposta emodinamica varia nel tempo da regione a regione ed è strettamente collegata allo stimolo che l'ha generata: stimoli molto frequenti ne aumenteranno l'ampiezza, mentre stimoli di durata maggiore ne prolungheranno la durata.

Essendo le variazioni del segnale BOLD dominate dall'emodinamica, e non direttamente dall'attività dei neuroni, l'aumento del segnale conseguente ad un'attivazione neurale è lento e protratto nel tempo. È importante considerare infatti che l'attività di ogni singolo neurone è quasi impulsiva (durata temporale nell'ordine dei millisecondi), mentre la durata della risposta emodinamica, grazie alla cascata di eventi che si susseguono durante un'attivazione, è di circa 10 s. Determinare l'esatta relazione tra gli eventi neuronali e la forma della risposta emodinamica è quindi molto difficile poiché le dinamiche che li caratterizzano sono differenti.

In figura 1.3 sono rappresentate le durate delle diverse fasi della risposta emodinamica. Dopo un'iniziale latenza, in cui può essere presente o meno l'*initial dip*, le richieste metaboliche, in seguito all'attività neuronale, aumentano sopra i livelli basali determinando un aumento del flusso entrante di sangue ossigenato. Se l'apporto di sangue ossigenato nell'area supera la sua

estrazione si ha una diminuzione dell'emoglobina deossigenata all'interno del voxel. Circa 2 s dopo l'inizio dell'attività nervosa il segnale acquisito aumenta sopra il valore basale, ciò si verifica in corrispondenza dell'aumento del flusso sanguigno oltre le reali necessità con conseguente incremento del rapporto tra emoglobina ossigenata e non ossigenata. Il segnale raggiunge un valore di picco dopo circa 5 s e, nel caso l'attività neuronale permanga nel tempo, si arresta ad un valore costante formando un plateau. Al termine dell'attività neuronale si evidenzia un *undershoot* post-stimolo dovuto al fatto che il flusso sanguigno decrementa molto più velocemente del volume ematico provocando una diminuzione dell'ampiezza del segnale fMRI fino ad un valore inferiore a quello di baseline (figura 1.4). A mano a mano che il volume ematico ritorna a livelli normali il segnale raggiunge il valore basale (Bertoldo, 2012) (Howseman & Bowtell, 1999).

Vale la pena sottolineare che il segnale BOLD relativo ad un voxel riflette la quantità totale di emoglobina deossigenata presente, ma è influenzato anche dal rumore proveniente da diverse fonti, tale rumore raggiunge spesso ampiezze dello stesso ordine di grandezza del segnale misurato.

Si ricorda inoltre che il segnale MRI deriva quasi interamente dai protoni dell'idrogeno contenuti nei tessuti, perturbati dalla presenza del mezzo di contrasto paramagnetico, la deossiemoglobina.

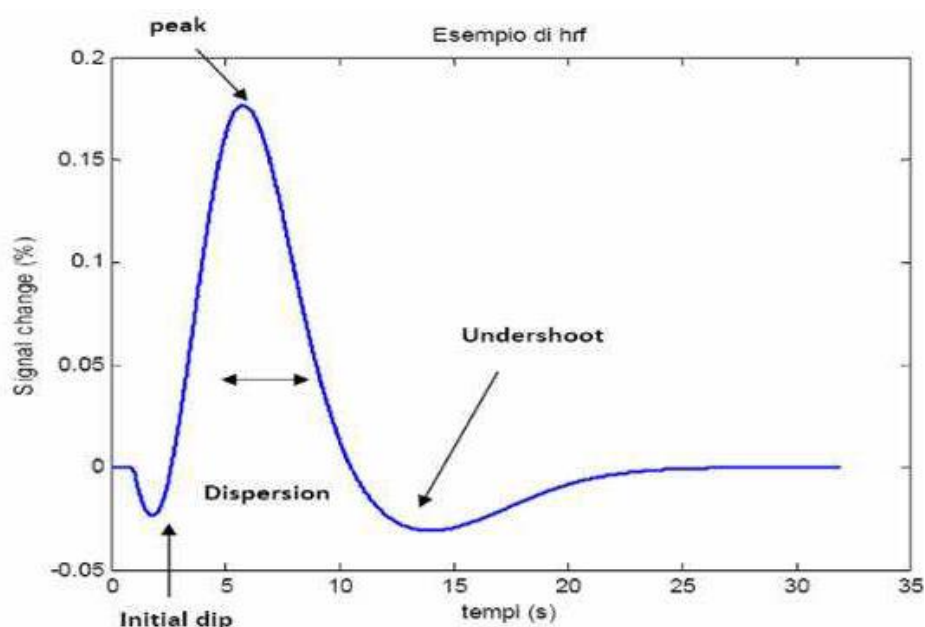


Figura 1.3: Durata temporale delle diverse fasi della risposta emodinamica.

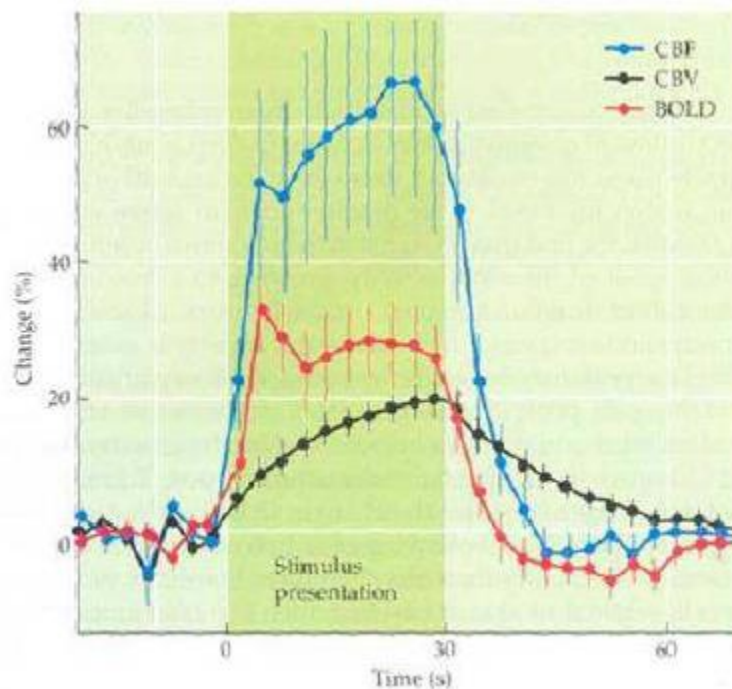


Figura 1.4: Andamento del segnale BOLD associato alla variazione del flusso ematico (CBF) e del volume sanguigno (CBV). Si nota che il CBV ritorna allo stato basale più lentamente del CBF.

1.3 Fluttuazioni spontanee del segnale BOLD e resting state fMRI

La modulazione del segnale BOLD in relazione allo svolgimento di un determinato compito o in risposta ad uno stimolo consente di collegare la topografia del cervello alla funzione stimolata. Nel segnale BOLD è presente inoltre una modulazione spontanea non attribuibile ad un input funzionale.

Negli studi di fMRI in cui il soggetto è sottoposto a dei *task*, l'attività spontanea viene considerata rumore. Nonostante i risultati ottenuti dalla fMRI tradizionale, due considerazioni hanno spostato l'attenzione verso lo studio di tale "rumore".

La prima di carattere energetico: il cervello rappresenta solo il 2% della massa totale del corpo, ma consuma il 20% dell'energia. Gli aumenti nel metabolismo neuronale in presenza di compiti funzionali sono solitamente inferiori al 5% del consumo energetico in assenza di essi, da ciò segue che le fluttuazione spontanee concorrono in larga parte alla spesa energetica del cervello (Fox M.D., 2007).

La seconda considerazione è di carattere sperimentale: si è osservato che l'attività spontanea del sistema a riposo non è un rumore casuale ma è organizzata in maniera specifica, (Biswal, Yetkin, & Haughton, 1995).

Con attività neuronale spontanea ci si riferisce ad attività non attribuibile ad uno specifico input od output, essa rappresenta l'attività neuronale che viene intrinsecamente generata dal cervello. Per studiare tale attività mediante fMRI è necessario ridurre al minimo gli input sensoriali ed evitare lo svolgimento di qualsiasi task cognitivo. Generalmente viene chiesto al soggetto di rimanere sdraiato con gli occhi chiusi e di non addormentarsi. Tale tecnica prende il nome di fMRI in resting state e permette di studiare la correlazione temporale del segnale BOLD in regioni distinte del cervello, in assenza di task o stimoli.

Il "resting state", o stato di riposo, corrisponde alla condizione in cui il cervello umano è vigile e cosciente, ma rilassato e in assenza di stimoli. Le correlazioni temporali tra le fluttuazioni del segnale nelle diverse regioni del cervello a riposo sono state interpretate in termini di connettività funzionale. Questi "pattern" di connettività sono stati rappresentati come "network" (reti) tra le regioni attive del cervello e si indicano con il termine resting-state networks (RSNs).

Le fluttuazioni spontanee oltre ad avere una forte coerenza spaziale sono caratterizzate da uno spettro in frequenza con una distribuzione del tipo $1/f$, a differenza del rumore casuale che ha uno spettro piatto. In particolare le frequenze responsabili dei pattern di correlazione spaziale del segnale BOLD spontaneo sono quelle comprese nella fascia 0.01-0.1 Hz (Fox M.D., 2007).

L'ampiezza delle oscillazioni spontanee del segnale BOLD in bassa frequenza (LFBF) è confrontabile con l'ampiezza del segnale misurato in seguito allo svolgimento di un task o alla presenza di uno stimolo (Nir, Levy, & al., 2006). Al momento non è chiaro come si possano interpretare le ampiezze di tali fluttuazioni, alcuni studi stanno ora valutando una possibile relazione con parametri metabolici locali quali il consumo di ossigeno e di glucosio.

Negli anni passati c'è stato un lungo dibattito circa la possibilità che il segnale BOLD in resting state fosse il risultato di una combinazione di processi fisiologici non legati all'attività neuronale. In particolare, il movimento cardiaco e respiratorio e la modulazione in bassa frequenza di tali attività possono distorcere in modo simile l'andamento di tale segnale in regioni anatomicamente separate introducendo una falsa correlazione. Va però considerato che il segnale BOLD spontaneo è principalmente dominato dalle basse frequenze, frequenze maggiori di 0.3 Hz come quelle delle oscillazioni cardiache e respiratorie forniscono un contributo minimo al segnale (Fox M.D., 2007).

Le oscillazioni in bassa frequenza non sono presenti solo nel segnale BOLD, rappresentano al contrario un fenomeno fisiologico ubiquitario. Fluttuazioni con oscillazioni a frequenze minori di 0.1 Hz sono state osservate per la concentrazione di anidride carbonica nelle arterie, per il diametro dei vasi sanguigni nel cervello, per il volume ematico, per il flusso ematico cerebrale, per l'ossigenazione dei tessuti e per il metabolismo ossidativo corticale. Tra tutti, le variazioni nel diametro arteriale meritano particolare attenzione per l'immediato effetto sul segnale BOLD

(Fox M.D., 2007).

Sostegno all'ipotesi che le LFBF siano collegate all'attività neuronale è offerto dall'osservazione che la maggior parte dei RSNs individuati si sviluppano ognuno su regioni che presentano simili funzioni. Questa considerazione suggerisce che regioni cerebrali che spesso lavorano assieme, in stato di riposo presentano attività neuronali spontanee fortemente correlate. Ulteriore conferma è fornita dall'esistenza di una forte relazione tra le LFBF e variazioni nell'attività elettrica dei neuroni.

Tralasciando i contributi dovuti ai processi fisiologici sopracitati, le LFBF in resting state si possono considerare una somma di due termini. Un primo termine è legato all'attività mentale cosciente del soggetto durante l'acquisizione, questo contributo è concettualmente simile alla modulazione del segnale indotta da uno stimolo esterno e può variare a seconda dell'attività del soggetto. Il secondo termine, che rappresenta la componente principale, è invece legato all'attività intrinseca e persiste in diversi stati e condizioni quali il sonno o l'anestesia (Fox M.D., 2007).

Nel cervello in condizione di resting state sono stati individuati diversi network. Le prove più significative della loro esistenza risiedono nella riproducibilità delle reti nel singolo soggetto, nella consistenza delle reti tra soggetti diversi e nella corrispondenza delle aree corticali individuate con diverse metodiche di studio.

I principali network individuati sono: il default mode network (DMN), il sensorimotor network (SMN), il visual (V-RSN) e l'auditory (A-RSN) network, l'executive control network (ECN), il lateralized frontoparietal network (FPN) e il temporoparietal network (TPN). Mentre il SMN, il V-RSN e l'A-RSN coinvolgono regioni corticali normalmente implicate nei processi sensorimotori, visivi e uditivi, il DMN e il FPN prendono parte nei processi cognitivi.

Il *default mode network* fu individuato per la prima volta mediante PET (Raichle, MacLeod, Snyder, Powers, & al., 2001) e successivamente da immagini fMRI (Greicius, Krasnov, Reiss, & Menon, 2003), include il precuneo, la corteccia cingolata posteriore, la corteccia parietale inferiore destra e sinistra e la corteccia prefrontale mediale. Un sempre maggior numero di studi stanno evidenziando come alterazioni al DMN siano collegate ad alterazioni neurologiche come l'Alzheimer (Agosta, Pievani, & Copetti, 2011), il morbo di Parkinson (Tessitore, Amboni, Esposito, & al., 2012), malattie ai neuroni motori e sclerosi multipla (Sumowski, Wylie, & Leavitt, 2013).

Il *sensorimotor network* include il giro precentrale, il giro postcentrale e l'area motoria supplementare, tali regioni sono normalmente coinvolte in task motori.

In letteratura sono riportati addirittura tre *visual networks*, generalmente è possibile identificare il V-RSN primario che si estende sulla regione calcarina e pericalcarina e il V-RSN secondario che comprende la regione occipitale extrastriatale, il giro occipitotemporale e l'area

occipitoparietale (Nir, Hasson, Levy, Yeshurun, & Malach, 2006). In soggetti non vedenti, con neuropatia ottica ereditaria di Leber (Rocca, Esposito, Valasina, & Pagani, 2011) o con sclerosi multipla (Gallo, Esposito, & Sacco, 2012) tale network presenta una netta alterazione della connettività intrinseca.

L'*auditory network* include il giro temporale superiore, il giro di Heschls, l'insula posteriore e il giro postcentrale.

L'*executive control network* è costituito dal giro frontale mediale, dal giro frontale superiore e dalla corteccia cingolata anteriore, è coinvolto nelle funzioni esecutive quali i processi di controllo e la working memory.

Il *frontoparietal network* è costituito da due componenti distinte ma speculari nei due emisferi, comprende il giro frontale inferiore, il giro frontale mediale, il precuneo, il giro parietale inferiore e il giro angolare. Questo RSN è associato a differenti funzioni come la memoria, l'attenzione e i processi visivi.

Il *temporoparietal network* include il giro temporale superiore, il giro temporale mediale e parte del giro angolare, esso è coinvolto nei processi linguistici (Sacco, Bonavita, Esposito, Tedeschi, & Gallo, 2013) (Auer, 2008) (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010).

Una delle più promettenti applicazioni degli studi in resting state è proprio il confronto di tali RSNs tra gruppi. Dato che non ci sono task, gli studi possono essere condotti in soggetti incapaci di sottoporsi a particolari paradigmi sperimentali e non soffrono del problema della sensibilità dei risultati all'impostazione dell'esperimento e/o alla sua esecuzione. Molti lavori in questo settore si sono focalizzati nel confrontare soggetti sani con pazienti affetti da malattie neurologiche o disordini psichici. Alterazioni di resting state networks sono state individuate in molte malattie come l'Alzheimer, la sclerosi multipla, la schizofrenia, l'autismo, l'epilessia e la sindrome da deficit di attenzione e iperattività. L'entità della variazione di questi "pattern" di correlazione spaziale risulta legato al grado di severità della malattia o al recupero da deficit funzionali (He, 2007) (Auer, 2008). Ciò suggerisce che lo studio della connettività intrinseca mediante fMRI in resting-state può fornire importanti informazioni diagnostiche e prognostiche in pazienti con malattie neurologiche o disordini psichici. In aggiunta, tale tecnica consente la valutazione dell'attività cerebrale durante il sonno, l'anestesia o gli stati vegetativi e data la modalità con cui si svolge un singolo data-set può essere utilizzato per più analisi.

1.4 Il *Default Mode Network*

Uno dei RSNs più importanti è il DMN: aree del cervello note per innescarsi in assenza di attività funzionali rivolte verso il mondo esterno, ma che vanno incontro a calo dell'attività (deattivazione) quando il cervello è chiamato ad eseguire dei compiti. Tale network tra quelli

descritti al paragrafo precedente è quello che presenta maggior consistenza intra e inter individuale (Buckner, Andrews-Hanna, & al., 2008).

Il DMN è in genere definito fisiologicamente in negativo, come una modalità che entra automaticamente in funzione quando manca un'attività diretta ad uno scopo, e perciò è anche detto, per sottolinearne l'antitesi rispetto alla rete che si attiva quando si impiegano pensieri e azioni per eseguire un compito definito, *task-negative network* o TNN (contrapposta alla *task-positive network* o TPN che consente l'esecuzione).

Esso entra in funzione in assenza di pensieri diretti dall'esterno (il cosiddetto "pensiero indipendente dagli stimoli"), si attiva nel momento in cui il cervello è in una fase di introspezione o di pensiero autoreferenziale, ad esempio come nel sogno ad occhi aperti o nella fase di elaborazione di piani, progetti ed azioni (Buckner, Andrews-Hanna, & al., 2008).

È composto dalla corteccia prefrontale mediale (MPFC), dalla corteccia cingolata posteriore (PCC), dalla corteccia parietale inferiore (IPC), dalla corteccia temporale inferiore (ITC) e dalla formazione ippocampale. Tra tutte, la PCC, la MPFC e la IPC assumono un ruolo centrale (Buckner, Andrews-Hanna, & al., 2008).

Per l'identificazione della struttura anatomica del DMN sono stati condotti, dagli anni Novanta in poi, tre ordini di studi fondamentali: studi in PET (Raichle, MacLeod, Snyder, Powers, & al., 2001) (Shulman, Fiez, Corbetta, Buckner, & al., 1997), studi in fMRI (Greicius & Menon, 2004) (Shannon, Snyder, Vincent, & al, 2006) e studi di connettività in resting state (Greicius, Krasnov, Reiss, & Menon, 2003) (Fox, Snyder, Vincent, & al, 2005) (Vincent, Snyder, Fox, Shannon, & al, 2006).

Nei primi due tipi di studio la modalità classica di ricerca delle aree cerebrali implicate nel mantenimento della condizione di default è quella della presentazione di stimoli attenzionali, in corrispondenza dei quali si valuta la distribuzione delle deattivazioni (fenomeno per cui un'area cerebrale risulta meno attiva in condizioni di esecuzione di un compito che in condizioni di controllo), per poi mapparle.

Gli studi di connettività di Greicius (Greicius, Krasnov, Reiss, & Menon, 2003) hanno messo in evidenza un profondo legame anatomo-funzionale tra le regioni del DMN, mostrando che la regione del cingolo posteriore, un importante nucleo di attivazione del DMN, risulta correlata funzionalmente con altre aree cerebrali che in buona parte coincidono con le regioni individuate negli studi precedenti di *task induced deactivation*. Grazie a tali studi è stato inoltre scoperto che il *default mode network* include l'ippocampo ed altre aree adiacenti nel lobo temporale mediale che sono collegate alla memoria episodica. Ciò è stato confermato anche da Vincent (Vincent, Snyder, Fox, Shannon, & al, 2006).

In figura 1.5 sono mostrati degli esempi di risultati ottenuti dallo studio dell'anatomia del DMN mediante i diversi approcci appena descritti: in particolare gli studi di deattivazione task indotti

presentati nelle prime due righe sono stati condotti da Shannon (Shannon, Snyder, Vincent, & al, 2006), mentre lo studio della connettività funzionale presentato nella terza riga è stato eseguito da Vincent (Vincent, Snyder, Fox, Shannon, & al, 2006). Gli studi di deattivazione task-indotti sono stati svolti sia considerando un paradigma sperimentale a blocchi che event related. Nel primo caso vengono alternati nel tempo degli intervalli di task e degli intervalli di rest le cui durate sono costanti. Nel secondo caso invece, gli stimoli vengono presentati singolarmente e in modo random. Il task in questo caso si presenta in maniera casuale sia nel tempo che nell'ordine di esecuzione (nel caso in cui nella stessa sessione siano presenti stimoli diversi).

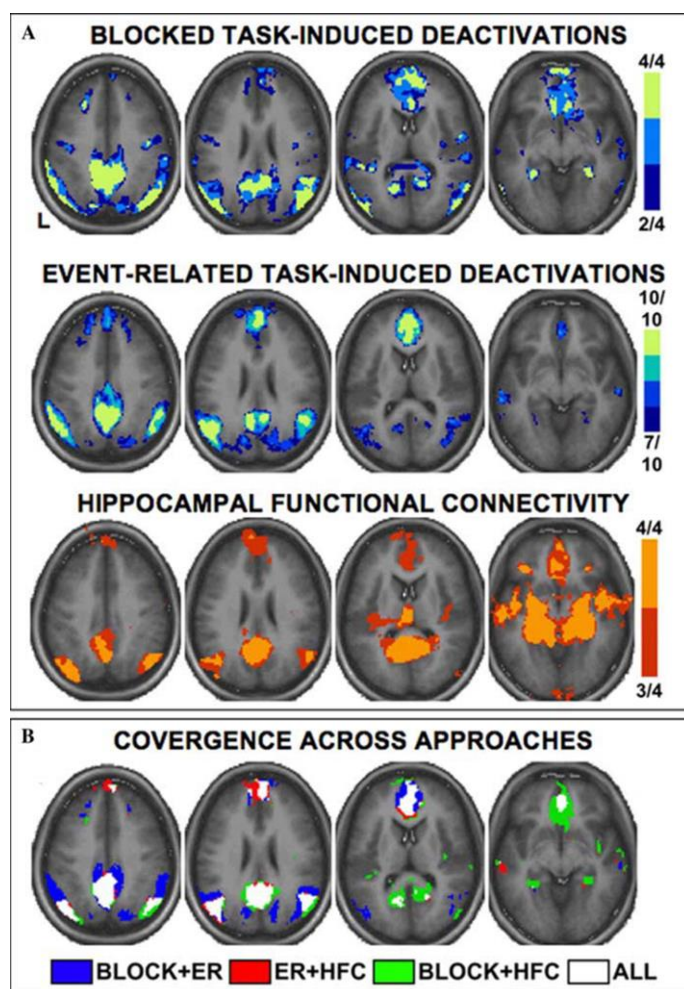


Figura 1.5: (A) Identificazione del default mode network mediante fMRI utilizzando un design sperimentale a blocchi nella prima riga e event-related nella seconda riga; nella terza riga il default mode network è stato ricavato da dati in resting state mediante l'analisi della funzionalità connettiva. Per ogni approccio i risultati mostrati derivano dall'analisi di numerosi data-set, il colore rappresenta il numero di data set nei quali una determinata area risulta deattivata o funzionalmente correlata. (B) La convergenza dei diversi approcci (in bianco) evidenzia i nodi fondamentali del DMN. Le immagini sono presentate in convenzione neurologica. (Buckner, Andrews-Hanna, & al., 2008)

Il *default mode network* ricavato nei tre casi risulta essere molto simile. L'ultima riga evidenzia le regioni che mostrano una completa convergenza tra tutti gli studi:

- la corteccia mediale frontale, storicamente deputata alla percezione del sé, alle attività di introspezione, al tono emotivo, alla flessibilità cognitiva e comportamentale (cioè alla capacità di elaborare nuove strategie cognitive a fronte di scenari diversi);
- la corteccia cingolata posteriore, il precuneo e la formazione ippocampica, coinvolte nell'integrazione di informazioni visuospatiali e sede della memoria episodica;
- il lobo parietale inferiore destro e sinistro, aree associative connesse allo sviluppo semantico.

La corteccia cingolata posteriore è il principale nodo del DMN, in tale regione si trovano aree di associazione eteromodali (HAAs), che presentano un elevato numero di connessioni con altre regioni del cervello e sono coinvolte nei processi di integrazione. Le HAAs sono state individuate anche nella corteccia parietale inferiore, nel lobo temporale mediale e nella corteccia prefrontale, quest'ultima è interconnessa tramite molti network con quasi tutte le regioni corticali e sottocorticali (Buckner, Andrews-Hanna, & al., 2008).

Identificazione del *Default Mode Network*

In letteratura sono riportati diversi metodi per l'analisi del *default mode network* a partire da dati fMRI in resting state, i principali sono la *Seed-based Correlation Analysis* (SCA) e l'*Independent Component Analysis* (ICA).

2.1 *Seed-based Correlation Analysis*

La SCA consiste nel calcolare la correlazione tra il segnale medio prelevato in una regione di riferimento, chiamata *seed*, e i segnali estratti da tutte le altre aree cerebrali. Il risultato della SCA è una mappa di connettività nella quale per ogni voxel è visualizzato lo Z-score indicante quanto il segnale in quel voxel è correlato con il segnale estratto dal *seed*. Lo Z-score di un dato, appartenente ad un insieme di valori che presentano una distribuzione gaussiana di media μ e varianza σ^2 , indica a quante deviazioni standard σ si trova il dato rispetto al valore medio μ di popolazione.

Generalmente per la rappresentazione si determina una soglia in modo da identificare quali sono i voxel significativamente correlati con la regione di riferimento. La regione di interesse può essere definita a priori oppure può essere selezionata da una mappa di attivazione *task-dependent* precedentemente ricavata (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010). Questa tecnica richiede un preventivo filtraggio passa banda dei segnali, in modo da analizzare solamente le correlazioni tra i segnali nel range di frequenze 0.01-0.1 Hz.

Il principale problema della SCA è che piccole variazioni nella localizzazione del seed influenzano notevolmente il risultato ottenuto (Cole, Smith, & Beckmann, 2010), un esempio di quanto detto è riportato in figura 2.1 nella quale si evidenzia come l'identificazione del *default mode network* sia sensibile alla posizione della regione di riferimento. Con questa tecnica risulta inoltre difficile individuare i vari pattern di connettività funzionale senza avere delle informazioni precise sulla loro localizzazione spaziale. Se da un lato questo non rappresenta un

problema nel caso di soggetti sani, per i quali è nota la distribuzione spaziale dei vari network, potrebbe esserlo per soggetti con patologie neurologiche, per i quali non è raro riscontrare alterazioni.

La necessità di informazioni a priori per la selezione del *seed* e le problematiche sopra citate, ne limitano l'utilizzo, facendo prediligere invece l'*Independent Component Analysis*.

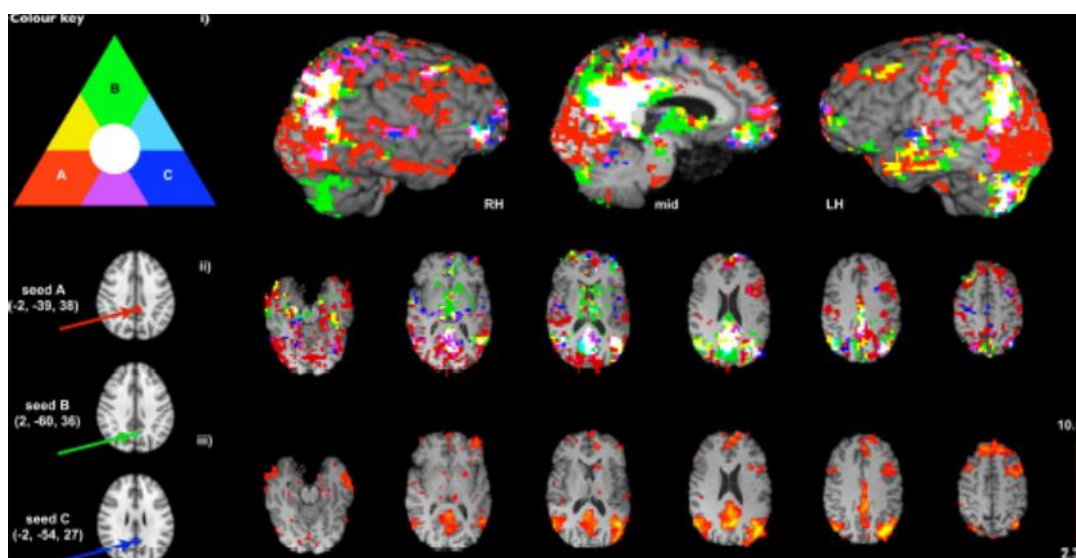


Figura 2.1: Confronto di tre versioni del default mode network ricavate usando tre differenti localizzazioni per il seed proposte in letteratura (A: Fox et al., 2005 in rosso; B: Singh and Fawcett, 2008 in verde; C: Greicius et al., 2003 in blu scuro). In (i) e (ii) sono presentati i risultati ottenuti evidenziando i voxel di maggior correlazione con il seed rispettivamente: in un rendering 3D ricavato da un'acquisizione MRI ad alta risoluzione e in sei slices selezionate. RH=emisfero destro, mid=linea mediana, LH=emisfero sinistro. Cluster-corrected $Z=2.3$, $p<0.05$. Dall'estensione dei colori primari (indicanti voxel identificati solo con uno dei tre seed) soprattutto nella regione prefrontale, nei lobi occipitali e nelle regioni subcorticali, si deduce che variazioni nella selezione del seed comportano notevoli differenze nei risultati. In (iii) è visualizzato il DMN ottenuto con ICA a partire dallo stesso data-set, la color-bar a destra indica i valori degli Z-scores (Cole, Smith, & Beckmann, 2010).

2.2 Independent Component Analysis (ICA)

L'*Independent Component Analysis* è una tecnica di analisi *data-driven* il cui scopo è quello di risalire alle sorgenti che hanno preso parte alla creazione del segnale o dei segnali misurati. Viene applicata a dati fMRI con l'obiettivo di trovare particolari pattern spaziali distribuiti indipendentemente che rappresentano le cosiddette sorgenti dei dati.

Il segnale osservato è visto come la somma dei contributi di tutte le componenti indipendenti presenti nel data-set. Si supponga di avere M segnali a media nulla $s_1, s_2, s_3, \dots, s_M$ e che siano osservabili solo N combinazione lineari di tali segnali. Sia x_j la j -esima variabile osservabile:

$$x_j = a_{j1}s_1 + a_{j2}s_2 + \dots + a_{ji}s_i \quad (2.1)$$

con $i = 1, 2, \dots, M$ $j = 1, 2, \dots, N$ e $N \geq M$. In forma matriciale l'espressione (2.1) diventa:

$$\mathbf{X} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{S} \quad (2.2)$$

Essendo la matrice \mathbf{A} (matrice di *mixing*) incognita, il problema di stima delle sorgenti può essere risolto solo facendo delle assunzioni sulle proprietà statistiche delle sorgenti s_i , per poter procedere si assume quindi che le osservazioni siano generate da un insieme di sorgenti non-gaussiane statisticamente indipendenti, attraverso un processo di *mixing* lineare e *noise-free*.

Per ridurre la complessità del problema, come tipiche procedure di *pre-processing* vengono eseguite le operazioni di: *demeaning*, *whitening* e riduzione della dimensionalità.

L'eliminazione della media è effettuata per semplificare molti algoritmi e non perché la media non possa essere stimata. Dopo la stima dei parametri incogniti con i dati centrati, è possibile completare la stima sommando la media precedentemente stimata. L'operazione di *whitening* consiste nel trasformare un insieme di variabili casuali aventi Σ come matrice di covarianza in una serie di nuove variabili casuali la cui matrice di covarianza è $c\mathbf{I}$, con c costante e \mathbf{I} matrice identità. Le nuove variabili casuali sono scorrelate e a varianza unitaria. In pratica si cerca la matrice \mathbf{V} tale che:

$$\mathbf{Z} = \mathbf{V} \cdot \mathbf{X} \quad (2.3)$$

dove $E[\mathbf{Z} \cdot \mathbf{Z}^T] = \mathbf{I}$. Ponendo:

$$\mathbf{C} = E[\mathbf{X} \cdot \mathbf{X}^T] \quad (2.4)$$

allora:

$$\mathbf{V} = \mathbf{C}^{-1/2} \quad (2.5)$$

Infatti:

$$E[\mathbf{Z} \cdot \mathbf{Z}^T] = \mathbf{I} = E[\mathbf{V} \cdot \mathbf{X} \cdot \mathbf{X}^T \cdot \mathbf{V}^T] = \mathbf{C}^{-1/2} \cdot \mathbf{C} \cdot \mathbf{C}^{-1/2} \quad (2.6)$$

\mathbf{C} è una matrice quadrata e simmetrica. Nella pratica per costruire la matrice \mathbf{V} si può ricorrere alla *Singular Value Decomposition* (SVD). Lo sbiancamento è un'operazione molto importante perché restringe la ricerca della matrice di mixing alle matrici ortogonali e riduce il numero di parametri da stimare. Dopo l'operazione:

$$\mathbf{Z} = \mathbf{V} \cdot \mathbf{X} = \mathbf{V} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{S} \quad (2.7)$$

la matrice ortogonale di *mixing* da stimare è quindi $\mathbf{W} = \mathbf{V} \cdot \mathbf{A}$.

Poiché variabili incorrelate con densità di probabilità congiunta gaussiana sono anche indipendenti una matrice ortogonale di mixing non può essere stimata da variabili gaussiane.

Sotto l'ipotesi di non gaussianità delle sorgenti, grazie al teorema del limite centrale si può affermare che le misture date dalla combinazione lineare delle fonti avranno una distribuzione di probabilità sicuramente "più gaussiana" di quella delle sorgenti stesse. \mathbf{W} viene stimato in modo da massimizzare la non gaussianità di $\mathbf{S} = \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{Z}$ (Hyvarinen & Oja, 2000).

Esistono diverse misure di non-gaussianità:

- *Indice di curtosi*: è un indice di forma che misura l'addensamento di una distribuzione statistica intorno al suo valore medio. Data una variabile aleatoria y , l'indice di curtosi è definito nel seguente modo:

$$\text{Kurt}(y) = E[y^4] - 3(E[y^2])^2 \quad (2.8)$$

Poiché tale indice risulta nullo per variabili gaussiani, per massimizzare la misura di non gaussianità esso va massimizzato.

- *Negentropy*: rappresenta la variazione dell'entropia, in modo da essere nulla nel caso in cui venga applicata ad una variabile con densità di probabilità gaussiana, e non negativa in caso contrario. In generale l'entropia di una variabile casuale può essere interpretata come la quantità di informazioni necessaria per descrivere la variabile: maggiore è la casualità, meno cioè la variabile è prevedibile, maggiore è l'entropia. Mentre l'entropia è definita per variabili discrete, per una variabile aleatoria continua y con una funzione di densità di probabilità $p(y)$, si definisce l'entropia differenziale come:

$$H(y) = - \int_{-\infty}^{+\infty} p(y) \cdot \ln(p(y)) dy \quad (2.9)$$

Un risultato fondamentale della teoria dell'informazione è che una variabile gaussiana ha entropia maggiore tra tutte le variabili casuali di uguale varianza. Quindi l'entropia può essere usata come misura di non-gaussianità. Si definisce la *negentropy* $J(y)$ di una variabile aleatoria y in questo modo:

$$J(y) = H(y_{\text{gauss}}) - H(y) \quad (2.10)$$

Dove y_{gauss} è una variabile aleatoria gaussiana con la stessa matrice di covarianza di y . Essendo nulla per variabili gaussiane, per massimizzare la misura di non gaussianità la *negentropy* va massimizzata.

Nell'analisi ICA in fMRI si assume che i dati possano essere modellati identificando set di voxel la cui attività varia nel tempo in modo simile e in modo distinguibilmente differente da quella degli altri set. L' *Independent Component Analysis* determina quindi delle componenti

spazialmente indipendenti, ciascuna caratterizzata da un andamento temporale caratteristico. Ci si riferisce a questo approccio con il termine di *spatial-ICA* (sICA). Tale tecnica, introdotta per l'analisi di dati fMRI da McKeown (McKeown, Makeig, Brown, & al, 1998), consente di suddividere, in un set di pattern spaziali, i dati acquisiti, in modo tale che essi possano essere stimati sommando assieme i contributi di ogni pattern. Nell'ICA spaziale le serie temporali provenienti da v voxel misurati in t istanti temporali sono rappresentati da una matrice \mathbf{X} per la quale vale appunto: $\mathbf{X} (t \times v) = \mathbf{A} (t \times t) \cdot \mathbf{S} (t \times v)$. L' i -esima colonna della matrice \mathbf{A} rappresenta la dinamica temporale associata all' i -esima mappa spaziale contenuta nella riga i -esima della matrice \mathbf{S} . Il numero massimo di componenti che può stimare la spatial-ICA è pari al numero di *time points* acquisiti.

Ci sono due limitazioni legati all'utilizzo della sICA. La prima è che, mancando di un modello di rumore, le minime differenze nella funzione HDR misurate in regioni diverse sono trattate come "*real effect*". Queste differenze potrebbero rappresentare valide variazioni spaziali, ma anche semplici differenze nel rumore di fondo. In tal caso regioni che si attivano in conseguenza dello stesso stimolo verrebbero classificate in differenti mappe spaziali (Beckmann & Smith, 2004). In secondo luogo, non sono disponibili test di significatività statistica. Si può pensare di trasformare le mappe spaziali in *Z-scores* e decidere un opportuno valore di soglia, va però tenuto presente che le mappe spaziali derivano dalla decomposizione ICA nella quale la stima ottimizza la non-gaussianità della distribuzione delle intensità spaziali. L'istogramma delle intensità spaziali di una singola componente non è gaussiano ed una trasformazione in *Z-scores voxel-wise* e successiva sogliatura non ha alcun significato statistico, rappresenta solamente quanto le intensità dei voxel differiscono dall'intensità media (Beckmann & Smith, 2004)

2.2.1 L'algoritmo *FastICA*

Uno degli algoritmi più performanti per la separazione di sorgenti è il *FastICA*, denominato così perché ha una velocità di convergenza cubica.

Tale algoritmo è molto diffuso nell'analisi delle componenti indipendenti in quanto non necessita della definizione di molti parametri e ha una velocità di convergenza cubica. *FastICA* consente di calcolare, una alla volta, tutte le componenti indipendenti non-gaussiane che hanno prodotto il data-set misurato.

Lo scopo è cercare una trasformazione \mathbf{W} per il vettore \mathbf{x} tale che il vettore $\mathbf{y} = \mathbf{W}\mathbf{x}$ abbia componenti indipendenti. Massimizzando quindi la non gaussianità per la trasformazione \mathbf{W} si massimizza l'indipendenza delle componenti \mathbf{y} ricostruite. Come misura di non-gaussianità *FastICA* utilizza un'approssimazione della *negentropy*. Assumendo che la variabile \mathbf{y} abbia valore medio nullo e varianza unitaria, l'approssimazione è definita nel modo seguente:

$$J(\mathbf{y}) \propto [E\{G(\mathbf{y})\} - E\{G(\mathbf{v})\}]^2 \quad (2.11)$$

dove \mathbf{v} è una variabile gaussiana con valore medio nullo e varianza unitaria e G è una funzione non quadratica.

Prima di applicare l'algoritmo *FastICA* in ogni voxel si devono eseguire le fasi di pre-processing descritte precedentemente. L'algoritmo ricostruisce le componenti $\mathbf{w}^T \mathbf{x}$ del vettore \mathbf{y} , una per una, massimizzandone la non-gaussianità attraverso un algoritmo iterativo dotato di un opportuno criterio di convergenza. Lo schema base dell'algoritmo è il seguente:

- 1) si sceglie un vettore iniziale \mathbf{w} ;
- 2) si pone $\mathbf{w}^+ = E\{\mathbf{x}g(\mathbf{w}^T \mathbf{x})\} - E\{g'(\mathbf{w}^T \mathbf{x})\}\mathbf{w}$, con $g(\cdot)$ derivata della funzione non quadrata $G(\cdot)$ presente nell'equazione (2.11);
- 3) si aggiorna $\mathbf{w} = \mathbf{w}^+ / \|\mathbf{w}^+\|$;
- 4) si confronta \mathbf{w}^+ con il precedente, se l'algoritmo non converge si torna al punto 2) altrimenti si esce.

La stima di n componenti, richiede l'applicazione di tale algoritmo n volte. Per evitare che diverse righe \mathbf{w}^T della matrice convergano allo stesso massimo di non-gaussianità è necessario scorrelarle dopo ogni iterazione. Se un certo numero k di righe della matrice \mathbf{W} sono già state stimate, per valutare la $(k+1)$ -esima riga si deve indagare il sottospazio ortogonale alle prime k righe. Prima del passo 3) occorre quindi eseguire una procedura di ortogonalizzazione (ad esempio Gram-Schmidt) (Hyvarinen & Oja, 2000).

La stima della matrice \mathbf{W} permette poi di ricavare le sorgenti indipendenti.

Non è possibile stabilire a priori l'ordine con cui sono ricostruite le componenti, \mathbf{W} è quindi una stima di \mathbf{A}^{-1} (equazione 2.14) a meno di permutazioni (Hyvarinen & Oja, 2000).

2.3 Probabilistic Independent Component Analysis (PICA)

Il metodo *Probabilistic Independent Component Analysis* (PICA) introduce nel modello *spatial ICA* classico una matrice di *mixing* non quadrata e un termine di rumore. Il modello PICA viene caratterizzato ipotizzando che i vettori delle serie temporali siano generati da una combinazione lineare istantanea di q ($q < t$) sorgenti non-gaussiane statisticamente indipendenti più un rumore additivo gaussiano:

$$\mathbf{x}_i = \mathbf{A} \cdot \mathbf{s}_i + \boldsymbol{\eta}_i \quad \forall i \in V \quad (2.12)$$

dove \mathbf{x}_i indica la serie temporale, di dimensione $t \times 1$, relativa al voxel di localizzazione i , \mathbf{s}_i , di

dimensione $k \times 1$, denota le sorgenti non gaussiane contenute nei dati, $\boldsymbol{\eta}_i$ rappresenta il rumore gaussiano $\boldsymbol{\eta}_i \sim N(0, \sigma^2 \boldsymbol{\Sigma}_i)$, \mathbf{A} è la matrice di mixing di dimensione $t \times q$, con rango q , infine V è l'insieme delle localizzazioni di tutti i voxel. La covarianza del rumore è assunta essere funzione del voxel in modo da considerare la sua variazione nei differenti tessuti. Per semplicità si assume che alle serie temporali \mathbf{x}_i sia stata sottratta la media.

Per risolvere il problema di separazione delle sorgenti occorre trovare una matrice \mathbf{W} , di dimensione $q \times t$, tale che la stima:

$$\hat{\mathbf{s}} = \mathbf{W} \cdot \mathbf{x} \quad (2.13)$$

sia una buona approssimazione delle sorgenti \mathbf{s} .

Senza perdita di generalità si può assumere che le sorgenti abbiano varianza unitaria. Se la covarianza del rumore $\boldsymbol{\Sigma}_i$ è nota, si effettua un'operazione di *whitening* dei dati in modo da ottenere:

$$\bar{\mathbf{x}}_i = \bar{\mathbf{A}} \cdot \mathbf{s}_i + \bar{\boldsymbol{\eta}}_i \quad (2.14)$$

con $\bar{\boldsymbol{\eta}}_i \sim N(0, \sigma^2 \mathbf{I})$, il rumore risulta così isotropo in ogni voxel. Nel seguito si farà tale assunzione.

Poiché il segnale e il rumore sono assunti scorrelati, la matrice di covarianza dei dati risulta:

$$\mathbf{R}_x = \mathbf{A} \cdot \mathbf{A}^T + \sigma^2 \mathbf{I} \quad (2.15)$$

Sia \mathbf{X} , di dimensione $t \times v$, la matrice contenente tutte le v serie temporali e sia $\mathbf{X} = \mathbf{U} \cdot (v\boldsymbol{\Lambda})^{1/2} \cdot \mathbf{V}$ la sua rappresentazione tramite Singular Value Decomposition. La stima di \mathbf{A} si ottiene usando il criterio di massima verosimiglianza, vale allora:

$$\hat{\mathbf{A}}_{\text{ML}} = \mathbf{U}_q \cdot (\boldsymbol{\Lambda}_q - \sigma^2 \mathbf{I}_q)^{1/2} \cdot \mathbf{Q}^T \quad (2.16)$$

dove \mathbf{U}_q e $\boldsymbol{\Lambda}_q$ contengono i primi q autovalori e autovettori di \mathbf{U} e $\boldsymbol{\Lambda}$. La matrice \mathbf{Q} è una matrice di rotazione ortogonale di dimensione $q \times q$. Dalla stima di $\hat{\mathbf{A}}$, le stime delle sorgenti sono ottenute proiettando le serie temporali di ogni voxel sulle serie temporali contenute nelle colonne della matrice di *unmixing* \mathbf{W} :

$$\hat{\mathbf{s}}_{\text{ML}} = \hat{\mathbf{W}} \cdot \mathbf{x} \quad \text{con} \quad \hat{\mathbf{W}} = (\hat{\mathbf{A}}^T \cdot \hat{\mathbf{A}})^{-1} \cdot \hat{\mathbf{A}}^T \quad (2.17)$$

La stima della varianza del rumore σ^2 si ottiene invece data dalla media degli autovalori relativi al minore sottospazio generato dai $t-q$ più piccoli autovettori:

$$\sigma^2_{ML} = \frac{1}{t-q} \sum_{l=q+1}^t \lambda_l \quad (2.18)$$

Nel caso la covarianza del rumore non sia nota, la stima del modello si ricava iterando le stime della matrice di *unmixing* e delle sorgenti e stimando poi la covarianza del rumore a partire dai residui $\hat{\boldsymbol{\eta}}$.

La stima del rumore nell'*i*-esimo voxel è data da:

$$\hat{\boldsymbol{\eta}}_i = \mathbf{P} \cdot \mathbf{x}_i \quad \text{con} \quad \mathbf{P} = \mathbf{I} - \widehat{\mathbf{W}}^T \cdot \widehat{\mathbf{W}} \quad (2.19)$$

Nel caso in cui l'ordine *q* del modello sia stato stimato correttamente $\mathbf{P} \cdot \mathbf{A} = 0$ e l'espressione (2.19) diventa:

$$\hat{\boldsymbol{\eta}}_i = \mathbf{P} \cdot \mathbf{x}_i = \mathbf{P} \cdot (\mathbf{A} \cdot \mathbf{s}_i + \boldsymbol{\eta}_i) = \mathbf{P} \cdot \boldsymbol{\eta}_i \quad (2.20)$$

Il rumore stimato è quindi una proiezione lineare del rumore vero e non è confuso dal segnale residuo.

Per quanto riguarda la stima della varianza del rumore in ogni voxel *i* σ^2_i essa vale:

$$\sigma^2_i = \frac{\hat{\boldsymbol{\eta}}_i^T \cdot \hat{\boldsymbol{\eta}}_i}{\text{trace}(\mathbf{P})} \quad (2.21)$$

Tale stima, se *t-q* è sufficientemente grande, è approssimativamente uguale alla varianza vera del rumore.

Dividendo le mappe spaziali per le singole stime della deviazione standard σ_i si ottengono delle mappe spaziali rappresentanti lo *Z-score* in ogni voxel. Per valutare quali voxel sono significativamente attivi in ogni mappa, ci si avvale del modello probabilistico *mixture modelling* applicato alla densità di probabilità delle mappe spaziali legate agli *Z-scores*. Dall'equazione (2.14) e (2.15) segue che:

$$\hat{\mathbf{s}}_i = \widehat{\mathbf{W}} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{s}_i + \widehat{\mathbf{W}} \cdot \boldsymbol{\eta}_i \quad (2.22)$$

Nello spazio del segnale, definito dalla matrice \mathbf{A} , il rumore nel modello si manifesta come un termine additivo gaussiano nella stima delle sorgenti, ciò rimane vero anche dopo aver trasformato i valori delle intensità di ciascun voxel in *Z-score*. La distribuzione dei valori delle intensità spaziali trasformati in *Z-scores* viene modellata mediante una mistura composta da una distribuzione gaussiana e due distribuzioni Gamma. Ciò per descrivere il rumore di fondo e gli effetti BOLD positivi e negativi. La mistura viene fittata usando l'algoritmo di *Expectation Maximization* (EM). Nel caso in cui il numero di voxel attivi sia molto piccolo il contributo delle

distribuzioni Gamma sulla mistura è stimato nullo, in questo caso la semplice trasformazione in *Z-scores* e successiva soglia è appropriata. In caso contrario, a partire dal fit della mistura si calcola probabilità a posteriori di attivazione del voxel *i*-esimo. I voxel la cui probabilità a posteriori supera una certa soglia sono classificati come attivi (Beckmann & Smith, 2004).

La *Probabilistic Independent Component Analysis* applicata a dati fMRI in resting state, si è dimostrata uno strumento robusto per l'identificazione dei diversi resting state network. Questi pattern di connettività funzionale individuati tramite PICA mostrano un'elevata consistenza spaziale sia a livello individuale, nel caso di data-set acquisiti con diverse risoluzioni spaziali e temporali, sia a livello di popolazione (Beckmann, De Luca, Devlin, & al., 2005).

In figura 2.2 sono visualizzati i principali RSNs comunemente identificati con ICA/PICA. Tali pattern sono consistenti con pattern di co-attivazione *stimulus-evoked* come la corteccia motoria e sensoriale, il sistema visivo e uditivo e network che controllano processi cognitivi elevati (Biswal, Yetkin, & Haughton, 1995) (Smith, Fox, Miller, & et al., 2009).

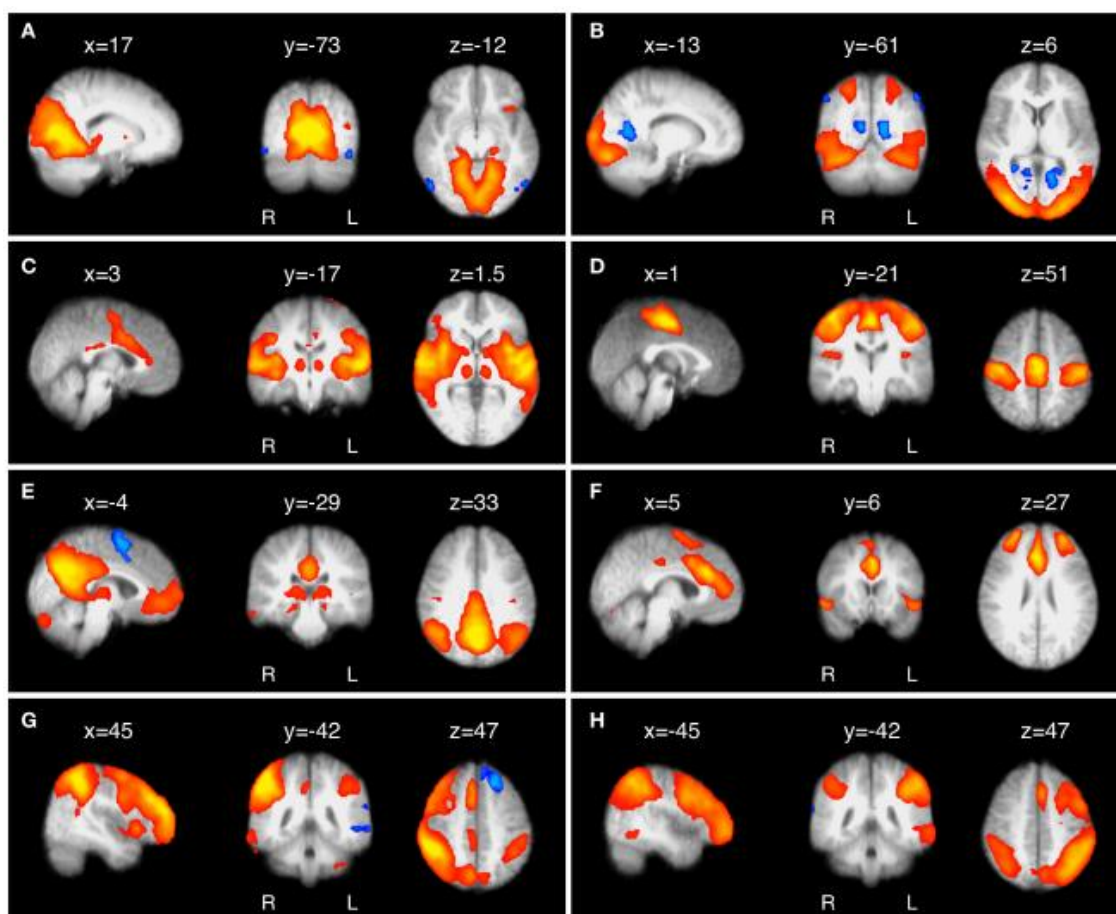


Figura 2.2: Otto dei più comuni e consistenti RSNs identificati con ICA. (A) corteccia visiva primaria; (B) corteccia visiva extrastriata; (C) corteccia uditiva; (D) corteccia somatosensoriale; (E) default mode network coinvolto nella memoria episodica e nelle attività introspettive ; (F) network implicato nel controllo esecutivo; (G-H) network fronto-parietale destro e sinistro, coinvolto nella working memory e nell'attenzione (Beckmann, De Luca, Devlin, & al., 2005).

2.4 Independent Component Analysis a livello di gruppo

Per le inferenze a livello di gruppo mediante *Independent Component Analysis* sono stati proposti diversi approcci (Beckmann, De Luca, Devlin, & al., 2005) (Guo & Pagnoni, 2008) (Lukic, Wernick, Hansen, & al, 2002) (Schmithorst & Holland, 2004) (Svensen, Kruggel, & Benali, 2002). In linea di massima le scelte possibili sono due. Si può effettuare un'analisi delle componenti indipendenti a livello individuale e ottenere poi una stima di gruppo mediante la *cluster analysis* o lo studio della correlazione spaziale delle mappe ottenute. Oppure si esegue un'analisi delle componenti indipendenti direttamente a livello di gruppo, opzione per la quale sono stati proposti diversi metodi che differiscono tra loro per il modo in cui vengono effettuate le stime individuali e di gruppo, per gli output disponibili e per le statistiche inferenziali eseguite.

Con dati fMRI in resting-state l'ICA di gruppo si effettua per mezzo di una concatenazione temporale dei dati di tutti i soggetti. Alla base di questa scelta vi è l'ipotesi che i pattern spaziali siano comuni all'interno della popolazione, al contrario della risposta temporale che non può invece essere assunta consistente tra i soggetti. Ciò equivale a ritenere che all'interno della popolazione le differenze maggiori si riscontrino nelle serie temporali associate a ciascuna componente indipendente più che nelle mappe spaziali (Schmithorst & Holland, 2004).

Tale approccio consente di ottenere per ciascuna componente stimata una mappa spaziale e una serie temporale ad essa associata da cui è possibile risalire alle componenti individuali di ogni soggetto. Ciò rende possibile il confronto tra gruppi diversi di soggetti e tra soggetti all'interno dello stesso gruppo. Questa analisi non è invece possibile utilizzando l'ICA individuale per problemi di corrispondenza tra le mappe ottenute per i diversi soggetti e per il fatto che piccole variazioni nei dati fanno sì che una componente in un soggetto possa venire splittata in più componenti in un altro soggetto.

2.4.1 GroupICA & Back Reconstruction

L'approccio *GroupICA* implementato in *Group ICA of fMRI Toolbox* (GIFT) (www.icatb.sourceforge.net), pacchetto utilizzato in questa tesi, comprende una concatenazione temporale dei data-set individuali e uno step di *back-reconstruction* che consente di ricavare le mappe spaziali e relative serie temporali per ciascun soggetto.

La figura 2.3 fornisce una rappresentazione grafica di questo metodo che prevede la stima di una matrice di mixing con partizioni specifiche per ciascun soggetto. Una volta stimata tale matrice, le componenti di ciascun soggetto sono calcolate proiettando il data set individuale su di una matrice rappresentante l'inversa della partizione della matrice di mixing relativa a quel

soggetto.

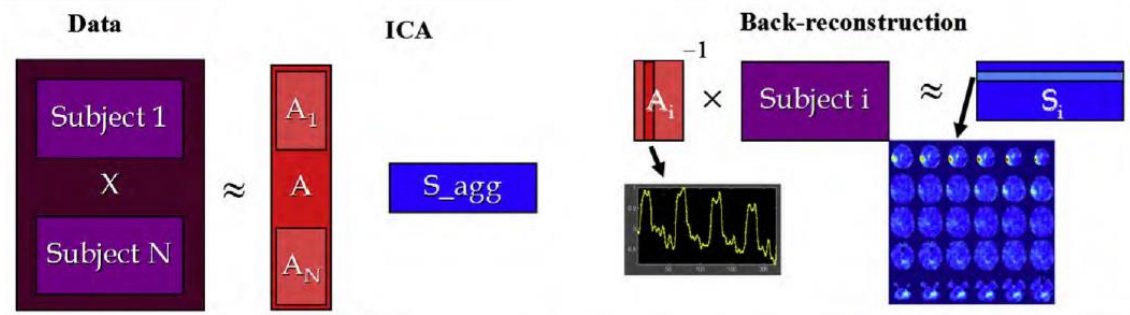


Figura 2.3: Illustrazione grafica della GroupICA implementata in GIFT (Calhoun, Liu, & al., 2009).

Vale la pena osservare che per regioni computazionali, GIFT esegue più step di riduzione dei dati mediante l'analisi delle componenti principali (PCA).

Sia $\mathbf{X}_i = \mathbf{F}_i^{-1}\mathbf{Y}_i$ la matrice ridotta $L \times V$ dei dati del soggetto i , dove \mathbf{Y}_i è la matrice $K \times V$ contenente i dati pre-processati e spazialmente normalizzati, \mathbf{F}_i^{-1} è la matrice di riduzione $L \times K$ determinata con la PCA, V il numero di voxel, K il numero di *time-points* disponibili ed L la dimensione ridotta dopo l'esecuzione della PCA. I dati ridotti di tutti i soggetti vengono concatenati temporalmente e subiscono un'ulteriore riduzione alla dimensione N (numero di componenti da stimare) mediante PCA. La matrice concatenata e ridotta $LM \times V$ di tutti gli M soggetti è:

$$\mathbf{X} = \mathbf{G}^{-1} \begin{bmatrix} \mathbf{F}_1^{-1}\mathbf{Y}_1 \\ \vdots \\ \mathbf{F}_M^{-1}\mathbf{Y}_M \end{bmatrix} \quad (2.23)$$

dove \mathbf{G}^{-1} è una matrice $N \times LM$ ridotta anch'essa mediante PCA. Seguendo l'approccio ICA si può scrivere $\mathbf{X} = \mathbf{AS}$ con \mathbf{A} matrice di mixing $N \times N$ e \mathbf{S} matrice $N \times V$ delle componenti indipendenti. Sostituendo questa espressione nell'equazione (2.23) e moltiplicando entrambi i membri per \mathbf{G} si ottiene:

$$\mathbf{G}\hat{\mathbf{A}}\hat{\mathbf{S}} = \begin{bmatrix} \mathbf{F}_1^{-1}\mathbf{Y}_1 \\ \vdots \\ \mathbf{F}_M^{-1}\mathbf{Y}_M \end{bmatrix} \quad (2.24)$$

Partizionando la matrice \mathbf{G} per gli M soggetti si ricava la seguente espressione:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{G}_1 \\ \vdots \\ \mathbf{G}_M \end{bmatrix} \hat{\mathbf{A}}\hat{\mathbf{S}} = \begin{bmatrix} \mathbf{F}_1^{-1}\mathbf{Y}_1 \\ \vdots \\ \mathbf{F}_M^{-1}\mathbf{Y}_M \end{bmatrix} \quad (2.25)$$

Considerando gli elementi relativi alla partizione i si può scrivere l'equazione per il soggetto i :

$$\mathbf{G}_i \widehat{\mathbf{A}} \widehat{\mathbf{S}}_i = \mathbf{F}_i^{-1} \mathbf{Y}_i \quad (2.26)$$

La matrice \mathbf{S}_i nell'equazione (2.26) contiene le mappe individuali del soggetto i ed è calcolata dalla seguente espressione:

$$\widehat{\mathbf{S}}_i = (\mathbf{G}_i \widehat{\mathbf{A}})^{-1} \mathbf{F}_i^{-1} \mathbf{Y}_i \quad (2.27)$$

Moltiplicando entrambi i membri dell'equazione (2.26) per \mathbf{F}_i si ottiene:

$$\mathbf{Y}_i \approx \mathbf{F}_i \mathbf{G}_i \widehat{\mathbf{A}} \widehat{\mathbf{S}}_i \quad (2.28)$$

La formula (2.28) fornisce la decomposizione in componenti indipendenti dei dati del soggetto i contenuti nella matrice \mathbf{Y}_i . La matrice \mathbf{S}_i , $N \times V$, contiene le mappe spaziali delle sorgenti e la matrice $\mathbf{F}_i \mathbf{G}_i \mathbf{A}$, $K \times N$, è la matrice di mixing del singolo soggetto e contiene le serie temporali per ciascuna delle N componenti (Calhoun, Liu, & al., 2009).

A questo punto analizzando le specifiche serie temporali o le mappe spaziali è possibile fare inferenze a livello di gruppo.

2.5 ICA: osservazioni generali

L'*Independent Component Analysis* consente di analizzare i dati fMRI anche in assenza di vincoli spaziali o conoscenze a priori sul segnale di attivazione caratteristico delle varie componenti. Inoltre essa è in grado di distinguere tra segnali fisiologici legati all'attivazione neuronale ed eventuali componenti di rumore presenti nel data-set.

L'interpretazione dei risultati non è però immediata. Innanzitutto si deve considerare che ogni volta che si effettua un'analisi possono esserci delle variazioni nelle componenti indipendenti stimate, probabilmente ciò è causato da assunzioni di indipendenza statistica non vere per i dati in oggetto o per la presenza di rumore. In secondo luogo, l'ICA estrae solo un numero di componenti definito a priori e le componenti non sono ordinate durante la decomposizione.

La scelta del numero di componenti indipendenti (*ICs*) da estrarre costituisce un problema di selezione dell'ordine del modello. Una sottostima del numero di *ICs* comporta un'estrazione sub-ottima del segnale e rende difficile l'individuazione e la separazione dei fenomeni di interesse. Nondimeno, un'eventuale sovrastima causa la presenza di un grande numero di componenti spurie dovute ad una stima poco vincolata e ad una decomposizione che overfitta i dati, influenzando negativamente le successive conclusioni e aumentando drammaticamente i costi computazionali (soprattutto nel caso di PICA).

Capitolo 3

Analisi di connettività effettiva

Le prime ricerche nell'ambito degli studi funzionali sul cervello si ponevano l'obiettivo di individuare ed isolare le regioni funzionalmente specializzate nello svolgimento di determinati compiti cognitivi o attività sensoriali. Miravano cioè allo studio di quell'aspetto dell'organizzazione delle strutture cerebrali che viene indicato con il nome di *segregazione funzionale*.

Negli ultimi dieci anni, il punto di vista è cambiato e l'interesse si è focalizzato anche sullo studio della cosiddetta *integrazione funzionale*, cioè sulla rilevazione e comprensione dei legami e dei meccanismi che permettono a gruppi di neuroni, anatomicamente collegati e funzionalmente dedicati ad attività cerebrali specifiche, di interagire ed integrarsi tra loro. Tali interazioni avvengono secondo determinate architetture organizzative che formano nel complesso la connettività cerebrale.

Esiste una classificazione ben precisa dei vari tipi di connettività: anatomica, funzionale e effettiva. La connettività anatomica descrive l'insieme dei collegamenti fisici che esistono tra le varie aree cerebrali, la connettività funzionale riguarda la correlazione temporale fra due eventi neurofisiologici spazialmente distinti mentre la connettività effettiva spiega l'influenza che un sistema neurale esercita, direttamente o no, su un altro.

La connettività anatomica si riferisce alla presenza di connessioni sinaptiche tra neuroni vicini, o in più larga scala, alla distribuzione dei fasci di fibre di materia bianca che collegano regioni distinte del cervello.

Se si considerano brevi intervalli temporali (minuti, ore), le connessioni anatomiche risultano stabili e persistenti, a lungo termine invece possono intervenire fenomeni di neuroplasticità (Lang, Tomé, Keck, Gòrriz-Saez, & Puntonet, 2012).

Per neuroplasticità si intende la capacità del sistema nervoso di andare incontro a modificazioni strutturali e funzionali in risposta ad eventi fisiologici, a stimoli ambientali o ad eventi patologici. Durante questo fenomeno i circuiti neuronali subiscono una riorganizzazione funzionale e un riarrangiamento strutturale. Quest'ultimo fenomeno, che consiste in una ricostituzione anatomica che avviene soprattutto grazie alla neoformazione di connessioni

sinaptiche per effetto di uno sprouting assonale, può modificare la connettività anatomica.

La connettività funzionale fornisce invece una descrizione della distribuzione dell'attività neuronale.

Essa riflette solamente le dipendenze statistiche tra i dati misurati senza nessuna assunzione di come le regioni cerebrali coinvolte possano essere connesse o come queste correlazioni siano mediate. Due regioni risultano pertanto funzionalmente connesse se possiamo predire l'attività di una delle due regioni sulla base dell'attività dell'altra regione. La connettività funzionale non implica però necessariamente una relazione causale: se due regioni A e B sono temporalmente correlate questo non significa necessariamente che l'attivazione della regione A sia richiesta affinché si attivi la regione B o che stimolando la regione A si attivi di conseguenza la regione B. Ad oggi la tecnica più diffusa per lo studio della connettività funzionale è la fMRI, in quest'ambito particolari attenzioni sono rivolte agli studi in *resting state*, che consentono di analizzare l'attività cerebrale spontanea, la cosiddetta connettività funzionale intrinseca (iFC).

Il confronto tra la connettività funzionale intrinseca e la connettività funzionale estrinseca (*task evoked*) ha messo in luce che i rispettivi pattern di attivazione sono sovrapponibili, seppur il grado di corrispondenza vari da regione a regione (Smith, Fox, Miller, & et al., 2009). Tale corrispondenza suggerisce che l'attività di fondo serve a mantenere integre, anche in assenza di stimoli esterni, le reti neuronali che controllano azioni e attività cognitive.

La connettività funzionale risulta collegata alla connettività strutturale, ma non può essere considerata un mero indice per la valutazione di quest'ultima. Tale relazione è infatti molto variabile e tende a modificarsi nel soggetto con il tempo. La connettività funzionale, così come quella anatomica, è infatti altamente plastica. A prova del complesso legame tra la connettività anatomica e la connettività funzionale si riporta uno studio condotto da O'Reilly (O'Reilly, Croxson, & Jbabdi, 2013). Nell'esperimento tre scimmie sono state sottoposte a commissurotomia: a due sono state rimosse tutte le connessioni commissurali, mentre ad una è stata preservata la commessura anteriore. Analisi di fMRI in *resting state*, prima e otto mesi dopo l'intervento, hanno evidenziato che la commissurotomia del proencefalo riduceva notevolmente la connettività funzionale interemisferica ma, sorprendentemente, questo effetto era notevolmente mitigato quando la commessura anteriore era lasciata intatta dall'intervento. Le connessioni strutturali integre invece presentavano un aumento della loro connettività funzionale. Gli autori dello studio hanno dedotto che la connettività funzionale è probabilmente guidata dalle connessioni cortico-corticali della sostanza bianca degli emisferi, ma con complesse interazioni di rete tali che un pattern di connettività funzionale simile a quello riscontrato in condizioni normali può essere mantenuto anche con poche connessioni strutturali indirette. Quanto osservato suggerisce una considerevole ridondanza del connettoma funzionale: in condizioni normali i *resting state network* costituiscono un canale preferenziale

attraverso cui i neuroni in aree differenti del cervello comunicano, ma nel caso tali network vengano danneggiati, le interazioni funzionali possono comunque avvenire grazie all'utilizzo di percorsi alternativi (Lewis, Baldassare, Committeri, & et al., 2009).

La connettività effettiva descrivendo l'influenza causale che un sistema di neuroni esercita su un altro (Friston, Frith, & Frackowiak, Time-dependent changes in effective connectivity measured with PET, 1993) riflette l'origine dell'attività delle varie regioni cerebrali coinvolte in un network funzionale. 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 sottolineano la necessità di un modello causale per descrivere le interazioni tra le diverse parti del sistema d'interesse. Connettività funzionale ed effettiva rappresentano quindi due diversi approcci per descrivere l'integrazione funzionale di diverse aree cerebrali costituenti un network connesso. La connettività funzionale è un fenomeno osservabile che può essere misurato con tecniche come la correlazione, la coerenza o il trasferimento di entropia. La connettività effettiva corrisponde invece ai parametri del modello che cerca di spiegare l'origine della connettività funzionale osservata. In questo senso la connettività effettiva corrisponde all'intuitiva nozione di accoppiamento o influenza causale diretta, essa dipende quindi dal modello usato per descrivere tale influenza. Ciò è un aspetto cruciale perché significa che l'analisi di connettività effettiva può essere ridotta ad un confronto di modelli, l'inferenza circa la presenza di una determinata connessione, per esempio, si riduce sotto quest'ottica ad un confronto tra modelli con e senza tale connessione. Modelli differenti di connettività effettiva sono confrontati in termini di evidenza statistica, data una certa osservazione. Poiché l'evidenza di un modello è funzione sia del modello che dei dati, l'analisi di connettività effettiva è sia *hypothesis-driven* che *data-driven*.

Come per lo studio della connettività funzionale, la connettività strutturale rappresenta un'informazione a priori per lo studio della connettività effettiva in quanto fornisce informazioni solo sulla presenza di connessioni, ma non sulla loro efficacia.

In questa tesi, per la stima della connettività effettiva, sono stati seguiti due approcci: l'analisi della causalità di Granger, che sfrutta il concetto di causalità tra serie temporali, e i modelli dinamici causali, che prevedono la determinazione di un modello causale, basato su conoscenze anatomiche tra le aree funzionali in esame.

3.1 Analisi della causalità di Granger

In generale, le relazioni di causa-effetto tra due serie temporali sono molto complesse da stabilire. Se si osserva un'alta correlazione fra due segnali, $x(t)$ e $y(t)$, si può tutt'al più dire che

questi segnali presentano una spiccata tendenza a muoversi insieme, ma in assenza di altre informazioni nulla si può dire sui nessi causali che li collegano. Potrebbe darsi che $x(t)$ sia la causa di $y(t)$, o viceversa, o addirittura che ci sia un terzo segnale $z(t)$ (non osservato o non considerato) che sia la causa di entrambi.

Norbert Wiener fu il primo a dare una definizione di causalità in senso statistico per due segnali misurati simultaneamente (Wiener, 1956):

“se la predizione del primo segnale è migliorata incorporando anche le informazioni relative al passato del secondo segnale, piuttosto che usando solo le informazioni relative al passato del primo segnale, allora si può dire che il secondo segnale è causa del primo.”

L’idea di Wiener mancava però di un’implementazione matematica. Clive Granger, partendo da quest’idea di causalità e dal fatto che le cause precedono sempre gli effetti, formulò il concetto di causalità in termini matematici nel contesto dei modelli autoregressivi lineari per processi stocastici (Granger, Investigating causal relations by econometric models and cross-spectral methods, 1969):

“Dati due segnali $x(t)$ e $y(t)$, si può dire che $x(t)$ influenza $y(t)$ se, includendo i valori passati del primo segnale nella stima regressiva del secondo, la qualità della stima migliora, cioè si riduce l’errore di predizione.”

Nel concetto di causalità formalizzato da Granger si considera il caso di un modello autoregressivo bivariato.

In generale, un modello autoregressivo multivariato (MVAR) è un modello a tempo discreto, lineare e tempo invariante, descritto da equazioni alle differenze.

Sia \mathbf{y}_n , vettore di processi stocastici stazionari in senso lato (WSS) ed ergodici di dimensione $m \times N$, con N numero di campioni di ciascun processo e m numero di processi stocastici, un modello autoregressivo multivariato di ordine p è definito come:

$$\mathbf{y}(n) = -\sum_{k=1}^p \mathbf{A}(k)\mathbf{y}(n-k) + \mathbf{u}(n) \quad (3.1)$$

dove: $\mathbf{y}(n) = [y_1(n), y_2(n), \dots, y_m(n)]^T$ è il vettore contenente l’ n -esimo campione delle m serie temporali; p è l’ordine del modello e rappresenta il numero di istanti precedenti, di ciascun processo, coinvolti nella descrizione temporale dell’istante attuale del processo; $\mathbf{A}(k)$ è una matrice, di dimensione $m \times m$, che contiene i coefficienti del modello, relativi al ritardo k -esimo e $\mathbf{u}(n) = [u_1(n), u_2(n), \dots, u_m(n)]^T$ rappresenta l’ n -esimo campione degli m ingressi di rumore bianco gaussiano, con media nulla e matrice di covarianza Σ .

Il modello descrive quindi il valore di ciascuna serie temporale all'istante n come somma lineare pesata degli $n-1, \dots, n-p$ valori precedenti di tutti gli ingressi del modello, con pesi dati dai coefficienti della matrice \mathbf{A} .

Supposto noto l'ordine p , identificare il modello significa associare, attraverso opportuni metodi, dei valori numerici ai coefficienti della matrice \mathbf{A} e alla varianze della matrice Σ .

Dall'equazione (4.1) si definisce l'errore di predizione del modello, $\mathbf{e}(n)$, come differenza tra il valore vero $\mathbf{y}(n)$ e il valore predetto $\hat{\mathbf{y}}(n)$:

$$\mathbf{e}(n) = \mathbf{y}(n) - \hat{\mathbf{y}}(n) = \mathbf{y}(n) - \sum_{k=1}^p \mathbf{A}(k)\mathbf{y}(n-k) \quad (3.2)$$

I parametri ottimi del modello sono per quelli per cui la varianza dell'errore di predizione è minima. Usando il metodo ai minimi quadrati, ciò si traduce nel calcolo del minimo della funzione costo $\mathbf{J}(n, \theta)$:

$$\mathbf{J}(n, \theta) = \mathbb{E}[\mathbf{e}^2(n)] \quad (3.3)$$

dove θ indica il vettore dei parametri.

Poiché \mathbf{J} è una funzione quadratica, calcolarne il punto di minimo equivale a cercare il punto in cui si annullano le derivate parziali rispetto ai parametri incogniti.

$$\frac{\partial \mathbf{J}(n, \theta)}{\partial \mathbf{A}(k)} = 0 \quad \text{con } k = 1, 2, \dots, p \quad (3.4)$$

Considerando che il vettore degli errori di predizione $\mathbf{e}(n)$ può essere interpretato come la stima dei rumori d'ingresso $\mathbf{u}(n)$, la matrice di covarianza Σ si può stimare calcolando la matrice di covarianza dell'errore di predizione, che coincide con il minimo della funzione definita da (3.3).

In questo modo si ottiene il sistema di $p+1$ equazioni matriciali di Yule Walker estese al caso multivariato in $p+1$ incognite: p matrici per i coefficienti a_{ij} e una matrice per la matrice di covarianza di $\mathbf{u}(n)$.

Il concetto di causalità formalizzato da Granger può essere quindi espresso nel seguente modo: date due serie temporali stazionarie \mathbf{x} e \mathbf{y} , se includendo i valori passati di \mathbf{x} e di \mathbf{y} in un modello autoregressivo bivariato, la varianza dell'errore di predizione di \mathbf{y} è minore rispetto alla varianza dell'errore di predizione ottenuto stimando \mathbf{y} solo dai suoi valori precedenti, allora \mathbf{x} causa \mathbf{y} .

Il concetto di causalità nel caso di solo due serie temporali, è stato successivamente esteso da Geweke al caso multivariato introducendo il concetto di causalità condizionata (Geweke, 1984).

Date m serie temporali stazionarie \mathbf{y}_k , con $k = 1, 2, \dots, m$, si può affermare che \mathbf{y}_j causa \mathbf{y}_i (con $i \neq j$) se l'errore di predizione di \mathbf{y}_i stimato con un modello autoregressivo multivariato

includendo tutti gli ingressi \mathbf{y}_k risulta ridotto rispetto all'errore di predizione di \mathbf{y}_i stimato con un modello autoregressivo multivariato includendo tutti gli ingressi \mathbf{y}_k tranne \mathbf{y}_i .

Indicando con $\mathbf{y} = \{\mathbf{y}_1, \mathbf{y}_2, \dots, \mathbf{y}_m\}$ e con $\hat{\mathbf{y}} = \{\mathbf{y}_1, \mathbf{y}_2, \dots, \mathbf{y}_m\}$ escluso \mathbf{y}_j , la causalità di Granger del segnale \mathbf{y}_j rispetto a \mathbf{y}_i (con $i \neq j$) condizionata a tutti gli altri m segnali può essere misurata come:

$$GC_{\mathbf{y}_j \rightarrow \mathbf{y}_i | \mathbf{y}} = \ln \frac{\text{var}(\mathbf{y}_i | \hat{\mathbf{y}})}{\text{var}(\mathbf{y}_i | \mathbf{y})} \quad (3.5)$$

L'indice di Granger fornisce una misura dell'influenza che il segnale \mathbf{y}_j ha su \mathbf{y}_i , dando informazioni sulla presenza di connettività funzionale. Tale indice è sempre definito non negativo ed è pari a zero quando tra i segnali sotto analisi non esiste nessun legame causale. Viceversa, un valore significativamente diverso da zero indica la presenza di una influenza, causalità tra i segnali \mathbf{y}_j e \mathbf{y}_i .

Come esempio, si considerino tre processi stocastici stazionari multivariati $\mathbf{y}_1, \mathbf{y}_2, \mathbf{y}_3$. Se si vuole studiare l'influenza che il segnale \mathbf{y}_2 ha sul segnale \mathbf{y}_1 , dato \mathbf{y}_3 , il modello MVAR completo è il seguente:

$$\begin{aligned} y_1(n) &= -\sum_{k=1}^p a_{1,1}(k)y_1(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{1,2}(k)y_2(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{1,3}(k)y_3(n-k) + e_1(n) \\ y_2(n) &= -\sum_{k=1}^p a_{2,1}(k)y_1(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{2,2}(k)y_2(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{2,3}(k)y_3(n-k) + e_2(n) \\ y_3(n) &= -\sum_{k=1}^p a_{3,1}(k)y_1(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{3,2}(k)y_2(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{3,3}(k)y_3(n-k) + e_3(n) \end{aligned} \quad (3.6)$$

con matrice di covarianza dell'errore di predizione:

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \text{var}(\mathbf{y}_1) & \text{cov}(\mathbf{y}_1, \mathbf{y}_2) & \text{cov}(\mathbf{y}_1, \mathbf{y}_3) \\ \text{cov}(\mathbf{y}_2, \mathbf{y}_1) & \text{var}(\mathbf{y}_2) & \text{cov}(\mathbf{y}_2, \mathbf{y}_3) \\ \text{cov}(\mathbf{y}_3, \mathbf{y}_1) & \text{cov}(\mathbf{y}_3, \mathbf{y}_2) & \text{var}(\mathbf{y}_3) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sigma_{11}^2 & \sigma_{12}^2 & \sigma_{13}^2 \\ \sigma_{21}^2 & \sigma_{22}^2 & \sigma_{23}^2 \\ \sigma_{31}^2 & \sigma_{32}^2 & \sigma_{33}^2 \end{bmatrix} \quad (3.7)$$

Mentre il modello MVAR ristretto è rappresentato dalle seguenti equazioni:

$$\begin{aligned} y_1(n) &= -\sum_{k=1}^p a_{1,1}(k)y_1(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{1,3}(k)y_3(n-k) + e_1(n) \\ y_3(n) &= -\sum_{k=1}^p a_{3,1}(k)y_1(n-k) - \sum_{k=1}^p a_{3,3}(k)y_3(n-k) + e_3(n) \end{aligned} \quad (3.8)$$

con matrice di covarianza dell'errore di predizione del modello ristretto ai segnali \mathbf{y}_1 e \mathbf{y}_3 :

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \text{var}(\mathbf{y}_1) & \text{cov}(\mathbf{y}_1, \mathbf{y}_3) \\ \text{cov}(\mathbf{y}_3, \mathbf{y}_1) & \text{var}(\mathbf{y}_3) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \rho_{11}^2 & \rho_{13}^2 \\ \rho_{31}^2 & \rho_{33}^2 \end{bmatrix} \quad (3.9)$$

L'indice di causalità di Granger $\mathbf{y}_2 \rightarrow \mathbf{y}_1 | \mathbf{y}_3$, considerando le espressioni (3.7), (3.9) diventa:

$$GC_{y_2 \rightarrow y_1 | y_3} = \ln \frac{\text{var}(y_1 | y_1, y_3)}{\text{var}(y_1 | y_1, y_2, y_3)} = \ln \frac{\rho_{11}^2}{\sigma_{11}^2} \quad (3.10)$$

Se il segnale y_2 causa significativamente y_1 , l'errore di predizione di y_1 calcolato tenendo conto dell'informazione passata di tutti i segnali del sistema risulta ridotto rispetto all'errore di predizione di y_1 ottenuto eliminando dal modello il segnale y_2 . In questa situazione infatti ρ_{11}^2 è molto minore di σ_{11}^2 e quindi $GC_{y_2 \rightarrow y_1 | y_3} \neq 0$ (Bertoldo, 2012).

Lo stimatore GC , definito nell'espressione (3.5), misura la causalità che un segnale j ha su un segnale i sulla base delle varianze degli errori di predizione del modello MVAR completo, che descrive tutti i segnali, e del modello MVAR ristretto, che non considera il segnale j . Un modello con più parametri è in grado di descrivere i dati almeno quanto un modello con meno parametri, ci si aspetta quindi che l'errore di predizione del modello completo sia sempre minore o uguale dell'errore di predizione del modello ristretto. Per capire se il modello completo sia in grado di fornire una stima significativamente migliore ci si avvale dell'F-test.

Dato un modello MVAR di ordine p , con m segnali in ingresso, per valutare la causalità di j su i si considerano la varianza degli errori di predizione del modello ristretto (*restricted*) σ_r^2 e del modello completo (*unrestricted*) σ_u^2 . Le ipotesi formulate per il test sono:

- $H_0: \sigma_r^2 = \sigma_u^2$.
- $H_1: \sigma_r^2 < \sigma_u^2$

Se vale l'ipotesi nulla, H_0 , il segnale j causa secondo Granger il segnale i .

La statistica F del test è definita come:

$$F = \frac{\frac{RSS_r - RSS_u}{v_1}}{\frac{RSS_u}{v_2}} \quad (3.11)$$

dove RSS_r e RSS_u sono rispettivamente le somme dei residui quadrati relative al modello ristretto e al modello completo. Fissata l'ipotesi nulla H_0 , la statistica F appartiene a una distribuzione di Fisher-Snedecor con gradi di libertà $v_1 = p$ e $v_2 = N - 2p - 1$, con p pari all'ordine del modello ed N uguale al numero di campioni di ciascun segnale. Lavorando con m segnali e dovendo effettuare test multipli, il livello di significatività α viene corretto applicando la correzione di Bonferroni $\alpha' = \alpha / (m(m - 1))$. In questo modo si ottiene il reale livello di significatività per ciascuna ipotesi nulla.

L'ipotesi nulla è rigettata (il segnale j non causa secondo Granger il segnale i) solo se:

$$p - \text{value} = 1 - \text{Prob}(F_{(v_1, v_2)} \leq F) < \alpha' \quad (3.12)$$

In linea di principio la correzione per Bonferroni controlla gli errori di tipo I (la probabilità di individuare una causalità tra due segnali non vera), ma incrementa la probabilità di errori di

tipo II (la probabilità di non individuare una causalità realmente esistente tra due segnali).

3.1.1 Applicazioni a dati fMRI

L'analisi della causalità di Granger (GCA) applicata a dati elettrofisiologici consente di stimare la direzione e l'intensità delle trasmissioni sinaptiche tra popolazioni di neuroni differenti (Brovelli, Ding, Ledberg, & al, 2004) (Bollimunta, Chen, Schroeder, & al, 2008). Se nel caso di dati EEG l'interpretazione dei risultati ottenuti con GCA è quindi molto chiara, altrettanto non si può dire nel caso di dati fMRI. In tale situazione infatti, le serie temporali riflettono l'attività neuronale in maniera indiretta essendo la risposta neuronale mediata dalla risposta emodinamica.

Nell'applicazione della GCA a dati fMRI occorre considerare che la variabilità della latenza della risposta emodinamica nelle differenti regioni cerebrali (Deshpande & Sathian, 2010), la bassa frequenza di campionamento (Witt & Meyerand, 2009) e l'elevato rumore nella misura (Nalatore, Ding, & Rangarajan, 2007) possono influire negativamente sui risultati. In particolare la variabilità della latenza della risposta emodinamica nelle diverse regioni può violare il principio su cui si basa la causalità di Granger secondo cui la causa precede sempre gli effetti.

Vista l'influenza esercitata da questi fattori è stato suggerito che anziché focalizzarsi sui risultati forniti da una singola analisi, è molto più informativo considerare come varia la causalità al variare della condizione sperimentale (Rypma, Berger, Prabhakaran, Bly, & Kimberg, 2006) (Miao, Wu, Li, Chen, & Yao, 2011). Sotto quest'ottica è quindi opportuno chiedersi se, al variare della condizione sperimentale, un aumento o una diminuzione della causalità di Granger, stimata a livello emodinamico, corrisponda ad un aumento o una diminuzione della causalità a livello neuronale. Wen ha cercato di chiarire questa relazione attraverso uno studio di simulazione (Wen, Rangarajan, & Ding, 2013). Egli ha dimostrato che i risultati ottenuti mediante GCA applicata a dati fMRI, purché questi siano stati corretti per la latenza della risposta emodinamica, riflettono la dinamica neuronale sottostante. Tale considerazione non vale ovviamente per dati fMRI in resting-state, per i quali non è possibile studiare la variazione della causalità di Granger al variare della condizione sperimentale.

Si osserva inoltre che gli incoraggianti risultati ottenuti sono basati su modelli bivariati. Va considerato invece che le interazioni causali tra due aree cerebrali possono essere mediate da altre regioni e la loro identificazione è fondamentale per capire come il flusso di informazioni si muove all'interno del network. L'approccio bivariato non consente di distinguere tra un'influenza causale diretta tra due regioni cerebrali e un'influenza indiretta mediata da una terza regione e inoltre può introdurre molti falsi positivi (Zhenyu, Wang, Nelson, & al., 2011). Si supponga che la regione cerebrale A controlli l'attività delle regioni cerebrali B e C e che tale

controllo si verifichi con un certo ritardo in una delle due; la GCA basata sul modello bivariato stimerà, producendo un falso positivo, un'influenza causale tra B e C.

Altri problemi legati all'applicazione della GCA a dati fMRI includono l'elevato numero di variabili (voxel) e la probabilità di non riuscire a stimare influenze causali veloci a causa delle lente dinamiche del segnale BOLD (Bressler & Seth, 2010).

Il problema dell'elevato numero di variabili può essere risolto applicando delle tecniche di riduzione della dimensionalità, come l'analisi delle componenti principali (PCA). Il secondo problema è di più difficile risoluzione anche se studi di simulazione hanno dimostrato che gli scambi neuronali veloci possono essere identificati utilizzando un campionamento molto frequente e facendo delle inferenze di causalità basandosi, non sui singoli valori di causalità $GC_{x \rightarrow y}$ e $GC_{y \rightarrow x}$, ma sulla loro differenza $GC_{x \rightarrow y} - GC_{y \rightarrow x}$ (Roebroeck, Formisano, & Goebel, 2005). Questa strategia limita la perdita di informazione dovuta al filtraggio passa-basso introdotto dalla risposta emodinamica, ma non consente l'utilizzo di modelli multivariati.

3.2 Modelli dinamici causali

Un forte limite dei classici metodi usati per lo studio della connettività effettiva è il fatto di operare a livello di segnale misurato. Le interazioni causali che si vogliono stimare sono invece esercitate a livello neuronale, livello che può essere osservato solo utilizzando delle tecniche invasive. I modelli dinamici causali (DCM) consentono invece di fare delle inferenze di connettività a livello neuronale combinando: un modello parsimonioso e neurobiologicamente plausibile delle dinamiche presenti in una popolazione neuronale e un *forward model* che spieghi come l'attività neuronale sia collegata al segnale misurato.

I DCM, al contrario della GCA, non sono una tecnica esplorativa e vengono usati per testare ipotesi specifiche che dipendono dal design sperimentale.

Il cervello viene trattato come un sistema deterministico dinamico non-lineare che è soggetto a degli input e che produce output. La connettività effettiva è parametrizzata in termini di accoppiamento tra stati del cervello non misurabili (per esempio l'attività dei neuroni nelle differenti regioni cerebrali). L'obiettivo è stimare questi parametri perturbando il sistema e registrando le risposte. Le perturbazioni rappresentano gli ingressi del modello possono produrre delle risposte attraverso due meccanismi. Gli input possono indurre direttamente delle variazioni nelle variabili di stato, è il caso, ad esempio, degli input sensoriali che si può supporre causino delle risposte dirette nell'area visiva primaria o nell'area uditiva. Gli ingressi possono modificare il sistema anche attraverso variazioni della connettività effettiva, un tipico esempio sono i fenomeni di plasticità indotti dal tempo. Alla luce di questa classificazione è molto importante che il design sperimentale sia multifattoriale, esso deve cioè comprendere

almeno un fattore per entrambi le classi: uno coinvolto nella perturbazione sensoriale e uno in grado di modulare le connessioni tra le aree cerebrali. In figura 3.1 è illustrata una rappresentazione schematica dei concetti appena descritti alla base del DCM.

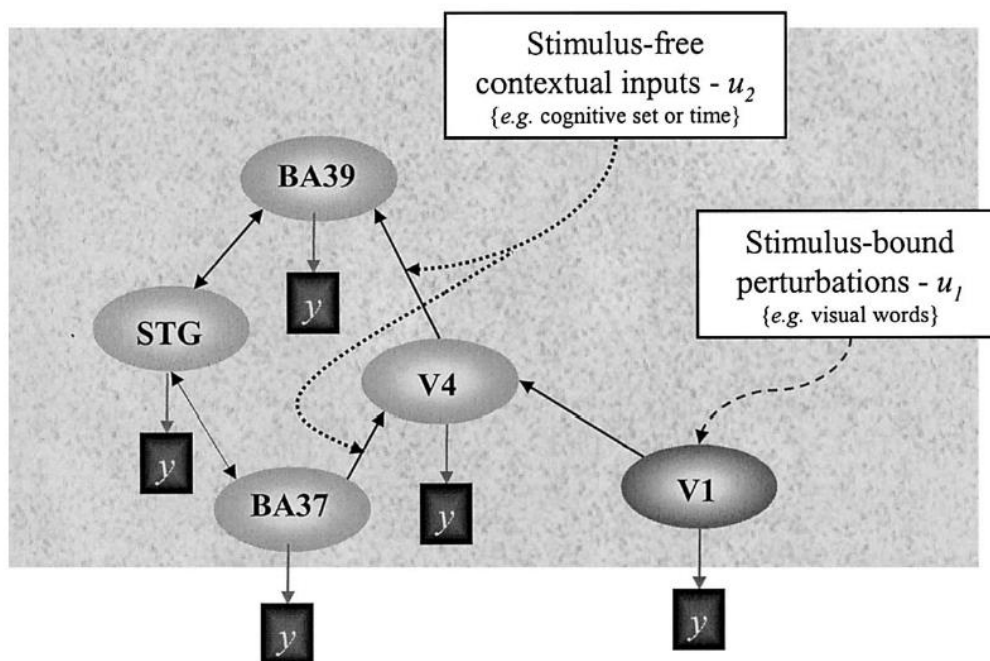


Figura 3.1: Illustrazione schematica dei concetti basilari del DCM. In particolare sono evidenziati i due differenti modi con i quali gli ingressi possono indurre delle risposte. Nell'esempio ci sono cinque nodi: l'area visiva V_1 e V_4 nel giro fusiforme, l'area 39 e 37 (BA37 e BA39) e il giro temporale superiore (STG). Le perturbazioni stimulus-bound, indicate con u_1 , agiscono come ingressi estrinseci nell'area visiva primaria V_1 . Gli input stimulus-free, indicati con u_2 , agiscono nel sistema modulando le connessioni che l'area V_4 ha con il nodo BA39 e con il nodo BA37. I rettangoli grigio scuro rappresentano il modello emodinamico che trasforma la variabile di stato z_i (l'attività neuronale in ciascuna regione) nella risposta emodinamica misurata, il segnale BOLD, y_i (Friston, Harrison, & Penny, 2003).

La formulazione matematica del modello neuronale è affrontata, in questo capitolo, a partire da un'approssimazione bilineare. Tale approssimazione riduce i parametri in tre gruppi che controllano tre differenti fattori: l'influenza estrinseca degli input sugli stati cerebrali; le connessioni intrinseche che accoppiano le risposte in un'area agli stati di altre e infine le variazioni nell'accoppiamento intrinseco indotto dagli input. Il termine bilineare è legato al fatto che una variazione della connettività conseguente ad un ingresso può essere formulata come un'interazione del secondo ordine tra l'input e l'attività nella regione sorgente, quando questa causa una risposta nella regione target.

Poiché i DCM non sono ristretti ai sistemi lineari o istantanei, sono necessariamente complicati ed hanno potenzialmente bisogno di un gran numero di parametri. Questo è anche il motivo per cui godono di una plausibilità biologica maggiore rispetto agli altri approcci.

I modelli dinamici causali sono stimati grazie stimatori Bayesiani e le inferenze circa particolari

connessioni sono condotte usando la loro densità di probabilità a posteriori. La procedura di stima calcola la distribuzione di probabilità di un parametro in termini di media statistica e deviazione standard. Una volta nota la probabilità a posteriori, la probabilità che il parametro superi una certa soglia si calcola facilmente. La probabilità a posteriori viene calcolata usando la verosimiglianza e la densità di probabilità a priori. La verosimiglianza di un dato, dati i parametri, è invece specificata dal DCM. I *priors* sulla densità di probabilità dei parametri di connettività pongono dei vincoli che assicurano stime robuste ed efficienti. Alcuni di essi consentono di restringere le aree cerebrali dove gli input possono indurre risposte estrinseche, ciò rappresenta un ulteriore passo in avanti rispetto alle tecniche convenzionali in cui tutti gli ingressi possono accedere a tutte le regioni cerebrali.

Il modello dinamico causale è un sistema *multiple-input multiple-output* che comprende m ingressi ed l uscite. Ognuna delle l regioni produce un'uscita che corrisponde al segnale BOLD misurato. Ciascun elemento i del sistema, ossia ciascuna regione cerebrale, ha 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 variabili non sono influenzate dalle variabili di stato delle altre regioni. La variabile di stato rimanente corrisponde invece all'attività neuronale o sinaptica ed è funzione delle variabili di stato delle altre regioni del cervello (Friston, Harrison, & Penny, 2003).

Equazioni di stato neuronale

Il DCM modella l'evoluzione temporale delle variabili di stato neuronali delle l regioni come una funzione dello state attuale, degli input e di alcuni parametri che definiscono l'architettura funzionale e le interazioni tra le regioni corticali a livello neuronale:

$$\begin{bmatrix} \dot{z}_1 \\ \dot{z}_2 \\ \vdots \\ \dot{z}_l \end{bmatrix} = \dot{z} = \frac{dz}{dt} = F(z, u, \theta^n) \quad (3.13)$$

F è una funzione non lineare che descrive l'influenza neurofisiologica che l'attività z_i di tutte le l regioni cerebrali e gli ingressi u esercitano sui cambiamenti degli stati neuronali stessi. Gli stati z e gli ingressi u sono funzioni del tempo, mentre i parametri θ^n sono tempo invarianti. L'espressione (3.13) nella sua formulazione bilineare garantisce una riparametrizzazione in termini di connettività effettiva:

$$\dot{z} \cong Az + \sum_{j=1}^m u_j B_j z + Cu = (A + \sum_{j=1}^m u_j B_j) z + Cu \quad (3.14)$$

$$A = \frac{\partial F}{\partial z} = \frac{\partial \dot{z}}{\partial z}$$

$$B_j = \frac{\partial^2 F}{\partial z \partial u_j} = \frac{\partial}{\partial u_j} \frac{\partial \dot{z}}{\partial z}$$

$$C = \frac{\partial F}{\partial u}$$

Prima di spiegare il significato dei termini A , B e C si consideri che la connettività effettiva può essere interpretata come l'influenza che un sistema esercita su un altro, in termini di induzione di una risposta, e che nei DCM la risposta è definita in termini di variazione dell'attività neuronale nel tempo \dot{z} .

Considerando ciò, la matrice A ($l \times l$) rappresenta la connettività effettiva mediata dalle connessioni anatomiche, indipendente dal contesto, tra le regioni cerebrali. Definisce le interazioni tra le regioni in assenza di input. Questa connettività latente può essere pensata come un accoppiamento intrinseco in assenza di perturbazioni indotte dal setup sperimentali. Va sottolineato che lo stato, che viene perturbato, dipende dal disegno sperimentale (baseline o condizione di controllo) ed è perciò è specifico di ciascun esperimento.

La matrice B_j ($l \times l$), con $j=1, \dots, m$, definisce le variazioni nella connettività effettiva, dipendenti dal contesto, indotte dal j -esimo input u_j .

La matrice C ($l \times m$) rappresenta l'influenza estrinseca degli input sull'attività neuronale.

I parametri $\theta^n = \{A, B_j, C\}$ sono le matrici di connettività la cui stima definisce l'architettura funzionale e le interazioni tra le regioni cerebrali a livello neuronale. Le distribuzioni a posteriori di questi parametri danno informazioni circa l'impatto che le differenti perturbazioni hanno, nel determinare la dinamica del modello (figura 3.2).

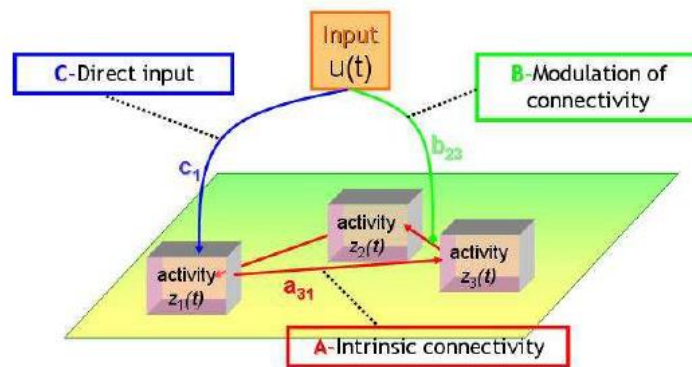


Figura 3.2: Rappresentazione schematica del modello di stato neuronale e del significato fisico delle tre classi di parametri che descrivono la connettività.

Considerando che le soluzioni di equazioni differenziali lineari ordinarie della forma $\dot{z} = Az$ sono funzioni esponenziali, i parametri possono essere intesi come delle costanti di tempo della

risposta della popolazione neuronale, la quale ha appunto un andamento esponenziale. Trattandosi di un ambiente dinamico, forti connessioni indicano che un cambiamento dell'attività neuronale avviene velocemente, ossia con una piccola costante di tempo (Friston, Harrison, & Penny, 2003).

Equazioni di stato emodinamico

Il DCM combina il modello rappresentante le dinamiche neuronali con un modello emodinamico validato sperimentalmente e biofisicamente plausibile che trasforma l'attività neuronale nel segnale BOLD. In figura 3.3 è riportata la struttura del modello: esso è costituito da un modello lineare dinamico, che descrive le variazioni locali del flusso ematico cerebrale in seguito all'attività neuronale, e dal cosiddetto *Balloon model*. Le quattro variabili di stato s, f, v, q rappresentano rispettivamente il segnale vasodilatatorio, il flusso ematico, il volume venoso normalizzato e il contenuto di deossiemoglobina. Tali variabili emodinamiche dipendono solamente dallo stato neuronale di ciascuna regione e sono espresse in forma normalizzata rispetto al loro valore in stato stazionario.

Il segnale s , generato dall'attività neuronale z , è definito come la velocità di variazione del flusso normalizzato (s^{-1}). La sua variazione nel tempo è descritta dalla seguente equazione:

$$\dot{s} = z - \kappa s - \gamma(f - 1) \quad (3.15)$$

dove κ e γ , parametri incogniti, indicano rispettivamente la costante di tempo di decadimento del segnale e la costante di tempo del feed-back di autoregolazione esercitato dal flusso sanguigno f . Assumendo che il flusso ematico sia legato linearmente all'attività sinaptica, il suo andamento temporale è espresso per mezzo del modello più parsimonioso:

$$\dot{f} = s \quad (3.16)$$

Il flusso sanguigno f reagisce al segnale s inducendo variazioni nel volume ematico v e nel contenuto di deossiemoglobina q :

$$\tau \dot{v} = f_{in} - f_{out} = f - v^{1/\alpha} \quad (3.17)$$

$$\tau \dot{q} = f E(f, \rho) / \rho - v^{1/\alpha} q / v \quad (3.18)$$

Dall'equazione (3.17) si deduce che le variazioni del volume ematico dipendono dalla differenza tra il flusso entrante e il flusso uscente dal compartimento venoso. Quest'ultimo è legato al volume per mezzo dell'esponente di Grubb α . La costante di tempo τ definisce il tempo di transito del sangue nell'area. L'equazione (3.18) definisce l'origine della variazione del contenuto di deossiemoglobina. Tale variazione è proporzionale alla differenza tra la quantità

presente nel compartimento venoso e la quantità espulsa. L'estrazione di ossigeno E è funzione del flusso $E(f,\rho) = 1 - (1 - \rho)^{1/f}$ dove ρ è la frazione di estrazione di ossigeno a riposo.

Il segnale BOLD misurato, output del *Ballon Model*, è descritto come una funzione statica non lineare del volume venoso v e del contenuto di deossiemoglobina q :

$$y = \lambda(v, q) \quad (3.19)$$

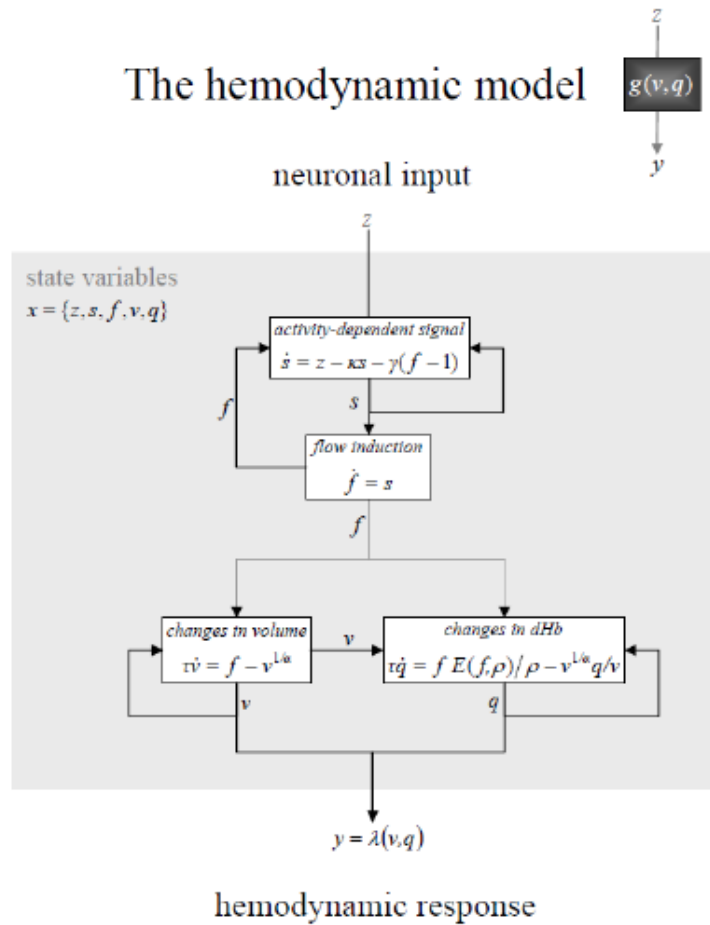


Figura 3.3: Architettura del modello emodinamico di una singola regione cerebrale. L'attività neuronale induce una vasodilatazione e un segnale s (funzione dell'attività) che aumenta il flusso ematico f , ciò ha ripercussioni nel volume v e nel contenuto di emoglobina deossigenata q . La trasformazione dell'attività neuronale z nel segnale BOLD misurato y , effettuata dal modello emodinamico, è funzione non lineare del contenuto di deossiemoglobina q e del volume venoso v (Friston, Harrison, & Penny, 2003).

Modello completo

Combinando gli stati neuronali ed emodinamici $x = \{z, s, f, v, q\}$ e raggruppando i parametri incogniti $\theta = \{\theta^n, \theta^h\}$ con $\theta^n = \{A, B, C\}$ parametri neuronali e $\theta^h = \{\kappa, \gamma, \tau, a, \rho\}$ parametri emodinamici, si ottiene il modello completo:

$$\dot{x} = F(x, u, \theta) \quad (3.20)$$

$$y = \lambda(x)$$

Per un dato insieme di parametri θ e input u , le equazioni di stato possono essere integrate in modo da ottenere la risposta BOLD predetta $h(u, \theta)$. Dopo aver calcolato la risposta predetta, il segnale misurato si ottiene considerando due ulteriori termini: un rumore bianco ε e dei componenti di *confounds* $X(t)$:

$$y = h(u, \theta) + X\beta + \varepsilon \quad (3.21)$$

dove β rappresenta i coefficienti incogniti di *confounds*.

A partire da questa formulazione, con un approccio Bayesiano, si stimano le distribuzioni a posteriori dei parametri neurali ed emodinamici in termini di media e varianza. Seguendo l'approccio in (Friston, 2002) si ha

$$y - h(u, \eta_{\theta|y}) \approx J\Delta\theta + X\beta + \varepsilon = [J, X] \begin{bmatrix} \Delta\theta \\ \beta \end{bmatrix} + \varepsilon \quad (3.22)$$

$$\Delta\theta = \theta - \eta_{\theta|y}$$

$$J = \frac{\partial h(u, \eta_{\theta|y})}{\partial \theta}$$

Questa approssimazione locale lineare entra in un algoritmo iterativo di *Expectation Maximization* (EM) che calcola la media condizionata $\eta_{\theta|y}$ e la covarianza $C_{\theta|y}$ dei parametri e la stima *restricted maximum likelihood* (ReML) degli iperparametri λ per l'errore di covarianza. Si consideri che le quantità che determinano la risposta attesa sono considerate parametri, i termini che descrivono il comportamento probabilistico dei parametri sono definiti iperparametri.

L'algoritmo EM consiste di due passi che vengono iterati fino a convergenza:

E-step:

$$J = \frac{\partial h(\eta_{\theta|y})}{\partial \theta} \quad (3.23)$$

$$\bar{y} = \begin{bmatrix} y - h(\eta_{\theta|y}) \\ \eta_{\theta} - \eta_{\theta|y} \end{bmatrix}$$

$$\bar{J} = \begin{bmatrix} J & X \\ 1 & 0 \end{bmatrix}$$

$$\bar{C}_{\varepsilon} = \begin{bmatrix} \sum \lambda_i Q_i & 0 \\ 0 & C_{\theta} \end{bmatrix}$$

$$C_{\theta|y} = (\bar{J}^T \bar{C}_{\varepsilon}^{-1} \bar{J})^{-1}$$

$$\begin{bmatrix} \Delta\eta_{\theta|y} \\ \eta_{\beta|y} \end{bmatrix} = C_{\theta|y} (\bar{J}^T \bar{C}_{\varepsilon}^{-1} \bar{y})$$

$$\eta_{\theta|y} \leftarrow \eta_{\theta|y} + \Delta\eta_{\theta|y}$$

M-step:

$$P = \bar{C}_{\varepsilon}^{-1} - \bar{C}_{\varepsilon}^{-1} \bar{J} C_{\theta|y} \bar{J}^T \bar{C}_{\varepsilon}^{-1}$$

$$\frac{\partial F}{\partial \lambda_i} = -\frac{1}{2} \text{tr}\{P Q_i\} + \frac{1}{2} \bar{y}^T P^T Q_i P \bar{y}$$

$$\left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \lambda_{ij}^2} \right\rangle = -\frac{1}{2} \text{tr}\{P Q_i P Q_j\}$$

$$\lambda \leftarrow \lambda - \left\langle \frac{\partial^2 F}{\partial \lambda_{ij}^2} \right\rangle^{-1} \frac{\partial F}{\partial \lambda}$$

Gli effetti di *confounds* sono trattati come effetti fissi con una varianza a priori infinita che non appare nelle equazioni (3.23). La variabile della risposta è rappresentata come un vettore di una singola osservazione, la cui covarianza d'errore comprende sia le correlazioni temporali che quelle inter-regionali. Le equazioni (3.23) consentono di stimare i momenti condizionali dei parametri e degli iperparametri, a patto di specificarne la media η_{θ} e la covarianza C_{θ} a priori. I *priors* sui parametri emodinamici sono *priors* informativi, essi vincolano la stima in un range di valori fisiologicamente plausibile. Al contrario, i *priors* sui parametri di connessione assicurano solamente che il sistema rimanga stabile.

La procedura di stima è un'analisi della densità a posteriori sotto ipotesi gaussiane. La stima fornisce un'approssimazione gaussiana dei parametri a posteriori $q(\theta)$ in termini della loro media $\eta_{\theta|y}$ e covarianza $C_{\theta|y}$.

La probabilità a posteriori è poi usata per calcolare la probabilità che un determinato parametro, o contrasto di parametri $c^T \eta_{\theta|y}$, superi una determinata soglia γ , di default la soglia è fissata a zero, si testa cioè la probabilità che il parametro esista.

$$p = \Phi_N \frac{c^T \eta_{\theta|y} - \gamma}{\sqrt{c^T C_{\theta|y} c}} \quad (3.24)$$

con Φ_N distribuzione cumulativa normale (Friston, Harrison, & Penny, 2003).

3.2.1 Selezione del modello ottimo

Un problema centrale in ogni tipo di metodologia modellistica riguarda la possibilità di confrontare diversi modelli. Il lemma fondamentale di Neyman-Pearson afferma che la miglior

statistica sulla quale basare la selezione del modello è fornita dalla *log-likelihood ratio*. Nell'inferenza classica, la distribuzione della *log-likelihood ratio*, sotto l'ipotesi nulla che non ci siano differenze tra i modelli può essere calcolata abbastanza facilmente per alcuni tipi di modelli. Comuni esempi sono la distribuzione Lambda di Wilks per modelli multivariati e la distribuzione t di Student per modelli univariati. In ambito Bayesiano, l'equivalente della *log-likelihood ratio* è la *log-evidence ratio*, comunemente chiamata *Bayes Factor*.

La stima Bayesiana fornisce la stima di due quantità. La prima è la distribuzione a posteriori dei parametri del modello $p(\theta|y, m)$ che può essere usata per fare delle inferenze sui parametri θ del modello m . La seconda è l'*evidence* di un modello $p(y|m)$, cioè la probabilità di ottenere il dato osservato y dato un particolare modello m . Quest'ultima consente di calcolare il Bayes Factor e permette quindi il confronto tra modelli.

Dal teorema di Bayes che definisce la probabilità a posteriori come:

$$p(\theta|y, m) = \frac{p(y|\theta, m)p(\theta|m)}{p(y|m)} \quad (3.25)$$

L'*evidence* di un modello si può vedere come una costante di normalizzazione per il prodotto della *likelihood* dei dati e la probabilità a priori dei parametri, cioè:

$$p(y|m) = \int p(y|\theta, m)p(\theta, m)d\theta \quad (3.26)$$

Poiché in molti casi questa integrazione non è trattabile analiticamente e risulta numericamente difficile da calcolare si utilizza una sua approssimazione. Una tecnica comune per approssimare questo integrale è l'approccio VB (*Variational Bayes*) che consente di calcolare la *negative Free-Energy* del sistema $F(m)$. Tale quantità risulta legata all'*evidence* del modello per mezzo della seguente relazione:

$$\log p(y|m) = F(m) + KL[q(\theta|y, m)||p(\theta|y, m)] \quad (3.27)$$

L'ultimo termine nell'equazione (3.27) rappresenta la divergenza di Kullback-Leiber (KL) tra la densità a posteriori approssimata $q(\theta|y, m)$ e la densità a posteriori vera $p(\theta|y, m)$. Questa quantità è sempre positiva ed è pari a zero quando le due quantità sono identiche. La $F(m)$ rappresenta quindi un limite inferiore della $\log p(y|m)$ e poiché l'*evidence* è fissa (ma sconosciuta), massimizzare la $F(m)$ equivale implicitamente a minimizzare la divergenza KL. La *negative Free-Energy* può essere stimata utilizzando l'approssimazione di Laplace, ad esempio rappresentando l'*evidence* del modello come una gaussiana. Tale approssimazione $F_L(m)$ può essere espressa come somma di due termini:

$$F_L(m) = Accuracy(m) - Complexity(m) \quad (3.28)$$

$$\begin{aligned}
 \text{Accuracy}(m) &= -\frac{1}{2} \varepsilon_y^T C_\varepsilon^{-1} \varepsilon_y - \frac{1}{2} \log |C_\varepsilon| \\
 \text{Complexity}(m) &= \frac{1}{2} e_\theta^T C_\theta^{-1} e_\theta + \frac{1}{2} \log |C_\theta| - \frac{1}{2} \log |C_{\theta|y}| \\
 \varepsilon_y &= y - h(u, \eta_{\theta|y}) \\
 e_\theta &= \eta_{\theta|y} - \eta_\theta
 \end{aligned}$$

con $\eta_{\theta|y}$ stima massima a posteriori, $C_{\theta|y}$ covarianza a posteriori dei parametri, C_ε covarianza dell'errore, η_θ media a priori dei parametri, C_θ covarianza a priori dei parametri e $h(u, \eta_{\theta|y})$ predizione del modello. Tale equazione riflette la necessità per il modello ottimo di costituire il miglior compromesso tra l'accuratezza e la complessità.

Approssimazione alternative per l'evidence del modello sono espresse dal *Bayes Information Criterion* (BIC) e dall'*Akaike Information Criterion* (AIC).

3.2.2 Analisi a livello di gruppo

Per le inferenze a livello di gruppo si considera la situazione in cui si fittano M modelli sui dati di N soggetti. Ciascun modello viene fittato sui dati di tutti i soggetti.

Esistono due approcci per la selezione del modello ottimo a livello di gruppo: l'analisi agli effetti fissi (FFX), nella quale si assume che il modello ottimo sia lo stesso per tutti i soggetti, e l'analisi agli effetti random (RFX) nella quale si accetta la possibilità il modello ottimo non sia lo stesso per tutti i soggetti.

3.2.2.1 Analisi agli effetti fissi (FFX)

Dato che l'intero data-set Y che comprende i dati di ciascun soggetto y_n $n=1, \dots, N$, è indipendente tra i soggetti, si può scrivere che

$$\begin{aligned}
 p(Y|m) &= \prod_{n=1}^N p(y_n|m) \\
 \log p(Y|m) &= \sum_{n=1}^N \log p(y_n|m)
 \end{aligned} \tag{3.29}$$

Le inferenze Bayesiane a livello di gruppo possono essere implementate usando la regola di Bayes:

$$p(m | Y) = \frac{p(Y|m)p(m)}{\sum_{m=1}^M p(Y|m)p(m)} \tag{3.30}$$

Sotto l'ipotesi di priors uniformi per i modelli $p(m)$, il confronto tra coppie di modelli, $m=i$ e $m=j$, può essere effettuato utilizzando il Bayes Factor:

$$BF_{ij} = \frac{p(Y|m=i)}{p(Y|m=j)} \quad (3.31)$$

Considerando solo due modelli e priors uniformi, la probabilità a posteriori del modello è maggiore di 0.95 se il Bayes Factor è superiore a 20. Quando si confrontano due modelli in un gruppo di soggetti è necessario calcolare il Group Bayes Factor (GBF) definito come il prodotto dei Bayes Factor individuali.

L'analisi agli effetti fissi è utilizzata quando si studiano meccanismi fisiologici basali in soggetti sani.

Una volta selezionato il modello ottimo, se un approccio agli effetti fissi può essere considerato adeguato, la stima dei valori di media e covarianza delle connessioni intrinseche a livello di gruppo possono essere calcolate nel modo seguente:

$$\begin{aligned} C_{\theta \rightarrow y_1, \dots, y_n}^{-1} &= \sum_{i=1}^N C_{\theta|y_i}^{-1} \\ \eta_{\theta \rightarrow y_1, \dots, y_n} &= \left(\sum_{i=1}^N C_{\theta|y_i}^{-1} \eta_{\theta|y_i} \right) C_{\theta \rightarrow y_1, \dots, y_n}^{-1} \end{aligned} \quad (3.32)$$

con $C_{\theta|y_i}$ e $\eta_{\theta|y_i}$ indicanti rispettivamente la stima a posteriori di media e covarianza dei parametri per il soggetto i (Neumann & Lohmann, 2003).

Sotto ipotesi di informazioni a posteriori Gaussiane ciò equivale a calcolare la densità a posteriori per l'intero gruppo combinando le densità a posteriori individuali e considerando la densità a posteriori di un soggetto come la densità a priori del soggetto successivo.

3.2.2.2 Analisi agli effetti random (RFX)

Questo tipo di analisi si basa sulle caratteristiche della popolazione dalla quale sono estratti i soggetti. Dato un insieme di modelli $m=1, \dots, M$ si indica con r_m la probabilità del modello, cioè la frequenza con il quale il modello m risulta ottimo nella popolazione. Si definisce una distribuzione a priori per r_m data dalla densità di Dirichlet:

$$p(r|\alpha) = \text{Dir}(\alpha) = \frac{1}{Z(\alpha)} \prod_{m=1}^M r_m^{\alpha_m - 1} \quad (3.33)$$

Dove $Z(\alpha)$ è un parametro di normalizzazione e i parametri, α_m , hanno valori strettamente positivi e possono essere interpretati come il numero di volte in cui il modello m viene selezionato. Dato che sono stati estratti $n=1, \dots, N$ soggetti dalla popolazione di interesse si definisce la variabile α_{mn} pari all'unità se il modello m è stato selezionato come modello ottimo per il soggetto n . La probabilità del vettore di assegnazione α_n è data dalla distribuzione multinomiale:

$$p(\alpha_n|r) = Mult(r) = \prod_{m=1}^M r_m^{\alpha_{nm}} \quad (3.34)$$

L'evidenza del modello, $p(y_n|m)$, assieme alla distribuzione di probabilità del modello e al vettore delle assegnazioni costituiscono un modello generativo per Y . Invertendo tale modello è possibile fare delle inferenze circa le probabilità che un modello venga selezionato.

L'approccio RFX è consigliato quando si analizzano meccanismi pato-fisiologici in soggetti malati o quando lo studio della connettività effettiva è effettuato utilizzando task differenti.

3.2.3 Applicazioni a dati fMRI in resting-state

I DCM classici sono basati su equazioni differenziali ordinarie e ipotizzano che non ci siano variazioni random negli stati neuronali e fisiologici in grado di mediare gli effetti di input sperimentali noti sulla risposta fMRI misurata. L'unica componente stocastica del modello entra linearmente come errore di misura, nel punto in cui la risposta viene osservata.

Tali assunzioni contraddicono però i risultati di diversi studi che suggeriscono di considerare il rumore fisiologico dovuto a fluttuazioni stocastiche nelle risposte neuronali e vascolari (Biswal, Yetkin, & Haughton, 1995) (Kruger & Glover, 2001) (Riera, Watanabe, Kazuki, & al., 2004).

Un ulteriore limite dei DCM è la sua inapplicabilità a dati fMRI in resting state. In questo capitolo si è visto che il DCM è un modello caratterizzato da due livelli: un livello neuronale (nascosto) e un livello emodinamico (misurabile dalle immagini fMRI). Il livello emodinamico consente di legare le variabili del livello neuronale ai segnali emodinamici acquisiti, misurando le risposte ottenute in seguito a perturbazioni note del sistema. Nelle acquisizioni in resting state, non essendo il soggetto sottoposto a stimoli o *task*, il DCM è privo di ingressi. Ciò comporta l'impossibilità di risalire ai parametri di connettività effettiva.

Per risolvere queste mancanze sono stati introdotti i DCM stocastici che considerano la presenza di fluttuazioni spontanee dell'attività neuronale o degli stati emodinamici, come la perfusione locale o il contenuto di deossiemoglobina. Le oscillazioni spontanee, nei DCM stocastici, sono viste come il risultato di dinamiche endogene autonome che non possono essere dedotte da ingressi sperimentali esogeni. In questi modelli la presenza di perturbazioni note del sistema non è più necessaria perché i segnali misurati sono spiegati dalle fluttuazioni spontanee degli stati neuronali ed emodinamici (Li, Daunizeau, Stephan, & al., 2011).

Nemmeno questa tecnica risulta però ottimale. Un primo problema è dovuto al fatto che, poiché le assunzioni sulle fluttuazioni spontanee sono molto deboli, la stima del modello è computazionalmente molto onerosa. Nel determinare le differenze di connettività effettiva tra i gruppi sorge un secondo problema: i gruppi potrebbero differire realmente in termini di connettività effettiva oppure per quanto riguarda la forma e l'ampiezza delle fluttuazioni

spontanee, o entrambi. In questo caso si vorrebbe stimare congiuntamente la connettività effettiva e le autocorrelazioni delle fluttuazioni neuronali e fare poi dei test per valutare l'esistenza di differenze nella connettività, nelle fluttuazioni neuronali o in entrambi.

In (Friston, Kahan, Biswal, & Razi, 2014) si propone una soluzione suggerendo di stimare, al posto delle variazioni temporali delle fluttuazioni negli stati neuronali in grado di produrre la risposta fMRI osservata, i parametri delle loro funzioni di cross-correlazione o cross-spettro. Ciò significa nella pratica, sostituire le serie temporali con le loro statistiche di secondo ordine, sotto ipotesi di stazionarietà. Così facendo il problema di stima degli stati neuronali lascia il posto al problema di stima delle densità spettrali delle fluttuazioni neuronali e del rumore osservato. Tecnicamente parlando, ciò significa che i DCM non sono più stocastici ma diventano deterministici. Questo aumenta l'efficienza computazionale e i parametri stimati risultanti, includendo sia la connettività effettiva che misure legate alle fluttuazioni neuronali, consentono il confronto tra gruppi. Va tenuto presente però che tale approccio, per le ipotesi di stazionarietà, può essere utilizzato solo con dati in resting-state.

Una tecnica alternativa per risolvere il problema dell'inapplicabilità dei DCM alle analisi in resting-state è descritta in (Biswal & Di, 2014). L'idea è di modellare esplicitamente le fluttuazioni in bassa frequenza (LFF) del segnale BOLD invece di considerarle, come nei DCM stocastici, una componente di rumore. Dato che una funzione periodica $f(x)$ può essere approssimata da una combinazione di funzioni seno e coseno, le LFF vengono modellate mediante le serie di Fourier:

$$f_{LFF}(x) = \frac{c_0}{2} + \sum_{n=1}^{\infty} [c_n^{cos} \cos(nx) + c_n^{sen} \sin(nx)] \quad (3.34)$$

Poiché le fluttuazioni in bassa frequenza sono principalmente all'interno dell'intervallo 0.01-0.08 Hz (Biswal, Yetkin, & Haughton, 1995) sono state usate funzioni sinusoidali solo in questo range, con 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 Hz. Il termine costante è considerato ininfluenza per la descrizione delle LFF. L'inclusione sia della funzione seno che della funzione coseno garantisce che le fluttuazioni in qualsiasi fase all'interno della banda delle basse frequenze siano catturate. Questo per tenere in considerazione della variabilità tra soggetti, variabilità che potrebbe riguardare anche le fasi.

$$\begin{aligned} f_{LFF}(x) \approx & c_1^{cos} \cos(0.01 \cdot 2\pi \cdot x) + c_1^{sen} \sin(0.01 \cdot 2\pi \cdot x) \\ & + c_2^{cos} \cos(0.02 \cdot 2\pi \cdot x) + c_2^{sen} \sin(0.02 \cdot 2\pi \cdot x) \\ & + c_3^{cos} \cos(0.04 \cdot 2\pi \cdot x) + c_3^{sen} \sin(0.04 \cdot 2\pi \cdot x) \\ & + c_4^{cos} \cos(0.08 \cdot 2\pi \cdot x) + c_4^{sen} \sin(0.08 \cdot 2\pi \cdot x) \end{aligned} \quad (3.35)$$

La modellizzazione così effettuata diventa l'ingresso forzante del modello e rende possibile l'applicazione dei DCM a dati fMRI in resting-state.

Capitolo 4

Materiali e Metodi

Lo scopo di questo lavoro di tesi consiste nell'identificazione di un modello connettività effettiva che spieghi le interazioni funzionali esistenti tra i nodi del *default mode network* di un soggetto sano. Per poter arrivare a tale formulazione, a partire da dati fMRI in resting-state, mediante *Independent Component Analysis* (ICA), è stata ricavata una mappa spaziale che ha consentito di localizzare i quattro nodi principali di tale network: la corteccia prefrontale mediale (MPFC), la corteccia cingolata posteriore (PCC), il lobo parietale inferiore destro (LPID) e il lobo parietale inferiore sinistro (LPIS). Lo studio delle loro interazioni funzionali è stato poi condotto mediante l'analisi della causalità di Granger (GCA) e l'implementazione di modelli dinamici causali (DCM).

4.1 Soggetti

La corte di soggetti disponibili per questo studio è costituita da nove soggetti sani (quattro maschi e cinque femmine) con età compresa tra i 23 e i 24 anni. Tutti i soggetti hanno dato il consenso informato per lo studio.

4.2 Acquisizioni dei dati

Le immagini funzionali sono state acquisite presso Euganea Medica Padova con uno scanner di Risonanza Magnetica Philips Achieva 1.5 T, con bobina Neuro Vascular Coil a 16 canali.

Per ogni soggetto, i dati fMRI in resting state sono stati acquisiti con due sequenze EPI pesate T_2^* con le seguenti specifiche:

- Tipo di acquisizione: 2D
- Repetition Time (TR): 3000 ms
- Echo Time (TE): 50 ms
- Flip angle: 90°
- Numero di posizioni temporali: 100

- Dimensione matrice: 128 x 128
- Dimensione pixel: 1.79687 mm x 1.79687 mm
- Spessore di ognifetta: 4 mm
- Numero di fette: 30

Durante l'acquisizione, all'interno della camera di Risonanza Magnetica, i soggetti erano in posizione supina, con le braccia distese lungo i fianchi e la testa bloccata mediante un poggiatesta. Per attutire i suoni della risonanza, ai volontari sono stati forniti dei tappi per le orecchie ed una cuffia antirumore. È stato inoltre chiesto loro di tenere gli occhi chiusi, di non pensare a nulla e di non addormentarsi.

Per ogni soggetto è stata acquisita anche una scansione anatomica pesata T_1 le cui specifiche sono di seguito elencate:

- Tipo di acquisizione: 3D
- Repetition Time (TR): 25 ms
- Echo Time (TE): 4.5920 ms
- Flip angle: 30°
- Dimensione matrice: 256 x 256
- Dimensione pixel: 0.9765 mm x 0.9765 mm
- Spessore di ogni fetta: 2.4 mm
- Numero di fette: 120

4.3 Pre-processing

Prima di procedere all'analisi dei dati è necessario rimuovere dai segnali la variabilità che non riflette direttamente gli effetti sperimentali. I dati fMRI sono infatti soggetti ad imprecisioni spaziali e temporali di intensità spesso paragonabile a quella del segnale emodinamico. Fonti di tale rumore possono essere ad esempio le oscillazioni fisiologiche, i movimenti della testa, l'inomogeneità del campo magnetico e fenomeni di deriva indotti dal sistema di acquisizione.

Per la fase di *pre-processing* delle immagini funzionali è stato utilizzato il toolbox *Multivariate Exploratory Linear Decomposition Into Independent Components* (MELODIC) versione 3.14, presente in FSL5.0 (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl).

Prima di procedere con la fase vera e propria di *preprocessing* sono stati eliminati i primi cinque volumi di ogni acquisizione, in modo da analizzare solo quelle immagini in cui è stato raggiunto lo stato stazionario.

Successivamente le immagini sono state corrette per il movimento mediante l'utilizzo del comando MCFLIRT. La correzione per il movimento è una fase fondamentale dato che anche il minimo movimento della testa (1-2 gradi di rotazione o pochi mm di traslazione) comporta la

perdita della corrispondenza tra un determinato punto fisico nel cervello e un particolare voxel in volumi successivi. In aggiunta, variazioni del segnale BOLD dovute al movimento possono essere di gran lunga maggiore dell'effetto BOLD in sé, soprattutto in zone sul bordo del cervello o vicino ai ventricoli. La procedura di correzione per il movimento consiste nell'allineare tutti i volumi ad un volume di riferimento, nel caso in esame il volume centrale. Poiché il cervello è sempre lo stesso nei vari istanti temporali, viene usata una trasformazione rigida attraverso la quale i volumi sono sovrapposti tramite tre traslazioni (lungo i tre assi di riferimento x , y , z) e tre rotazioni (nel piano x - y , x - z e y - z). I parametri vengono scelti minimizzando una funzione costo, l'algoritmo MCFLIRT utilizzato minimizza la correlazione normalizzata. Dopo aver stabilito i parametri del riallineamento, le immagini originali vengono campionate tramite interpolazione trilineare per stimare i valori non affetti dal movimento.

Poiché nelle analisi successive sono coinvolte solamente le strutture cerebrali, è stato utilizzato il comando BET per la rimozione, dalle immagini funzionali, dei tessuti non cerebrali. Considerando il primo volume, mediante un algoritmo di segmentazione, viene creata una maschera che viene applicata a tutti i volumi.

Per aumentare il rapporto segnale-disturbo le immagini vengono filtrate con un filtro gaussiano con FWHM (ampiezza a metà del picco) pari a 5 mm, con questa operazione il valore di un determinato voxel viene calcolato come media pesata dei valori nei voxel adiacenti. Questa operazione consente di normalizzare la distribuzione dell'errore migliorando la potenza statistica.

La fase di *pre-processing* comprende poi l'applicazione di un filtro passa-alto per rimuovere le componenti lente dovute all'azione deriva del segnale introdotta dallo scanner. In questo caso si è scelto un periodo di cut-off pari a 100 s. Tale scelta è vincolata al fatto di voler preservare le frequenze comprese nel range 0.01 - 0.1 Hz, frequenze responsabili dei pattern di correlazione del segnale BOLD spontaneo.

L'ultimo step consiste nella normalizzazione dell'intensità con il quale si forza ogni volume ad avere la stessa intensità media.

Le operazioni di *preprocessing* appena descritte non sono sufficienti se si vogliono effettuare delle analisi di gruppo, in tal caso è necessario normalizzare l'immagine funzionale su di un atlante. Affinché sia possibile un confronto tra soggetti è infatti fondamentale che i cervelli abbiano forme e dimensioni uguali tra loro, nella realtà il cervello umano presenta una grande variabilità all'interno della popolazione sia per dimensione (si stima che la dimensione possa variare anche del 30% tra due soggetti) che per forma esterna e suddivisione interna. L'operazione di normalizzazione effettuata prevede due fasi (figura 4.1): nella prima le immagini funzionali vengono coregistrate ad un'immagine strutturale pesata T_1 (*Main structural image*) mediante una trasformazione rigida (*Normal Search BBR*), successivamente le immagini

funzionali coregistrate vengono normalizzate su di un atlante (*Standard space*), chiamato spazio stereotassico, mediante una trasformazione affine a dodici gradi di libertà (*Normal Search 12 DOF*) corrispondenti a tre rotazioni, tre traslazioni, tre fattori di scala e tre *shear/skew*. Lo spazio stereotassico impostato di *default* in FSL5.0 è il template MNI, ottenuto dalla combinazione di 152 acquisizioni pesate T_1 .

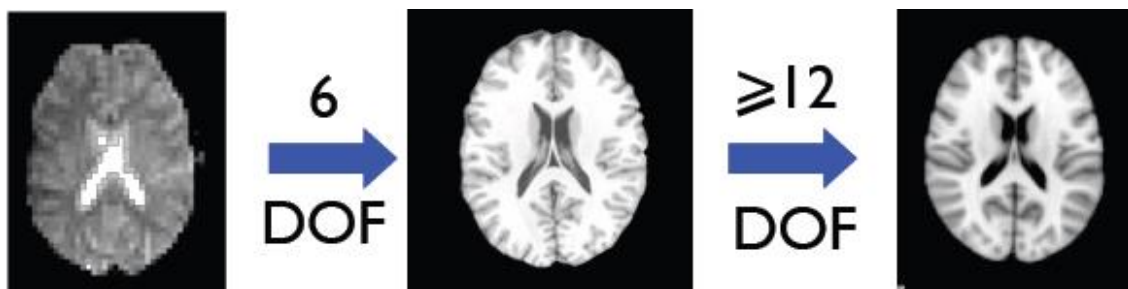


Figura 4.1: Rappresentazione schematica del processo di normalizzazione: coregistrazione di un'immagine funzionale (a sinistra) sulla corrispondente immagine anatomica (al centro) e normalizzazione dell'immagine coregistrata su di un'atlante (a destra).

È di fondamentale importanza controllare il risultato ottenuto dalle operazioni appena descritte, in modo da assicurarsi che le opzioni scelte (tipo di trasformazione e gradi di libertà) garantiscano un buon risultato. Questo controllo può essere effettuato per ispezione visiva del report prodotto dal toolbox MELODIC durante la fase di registrazione. A titolo indicativo, in figura 4.2, sono riportati due risultati ottenuti coregistrando un'immagine funzionale su di un'immagine strutturale pesata T_1 : l'immagine in scala di grigi rappresenta l'immagine funzionale di partenza, le linee rosse rappresentano i bordi dell'immagine coregistrata. Nella prima riga le linee rosse si sovrappongono ai bordi dell'immagine funzionale, ciò garantisce la correttezza dell'operazione effettuata, non si può dire altrettanto per la seconda riga, nella quale le linee rosse e i bordi dell'immagine in scala di grigi non sono sovrapponibili.

Al fine di ottenere le migliori coregistrazioni possibili, le operazioni di normalizzazione delle immagini sul template sono state condotte inizialmente sia mediante una semplice trasformazione affine a dodici gradi di libertà, sia mediante una trasformazione non lineare (*warp resolution: 10 mm*) applicata in cascata ad una trasformazione lineare. Per ispezione visiva dei risultati presenti nei report prodotti, la trasformazione lineare affine si è rivelata la scelta ottimale.

Le fasi appena descritte di preprocessing e normalizzazione sono state effettuate sulle diciotto acquisizioni singole di 95 volumi ciascuna e su nove acquisizioni create concatenando temporalmente le due run disponibili per ogni soggetto. La concatenazione temporale delle acquisizioni è stata effettuata per testare se i risultati ottenuti, sia a livello di identificazione del DMN sia per quanto riguarda la connettività effettiva, sono sensibili all'arco temporale

considerato: 300 s nel primo caso, 600 s nel secondo.

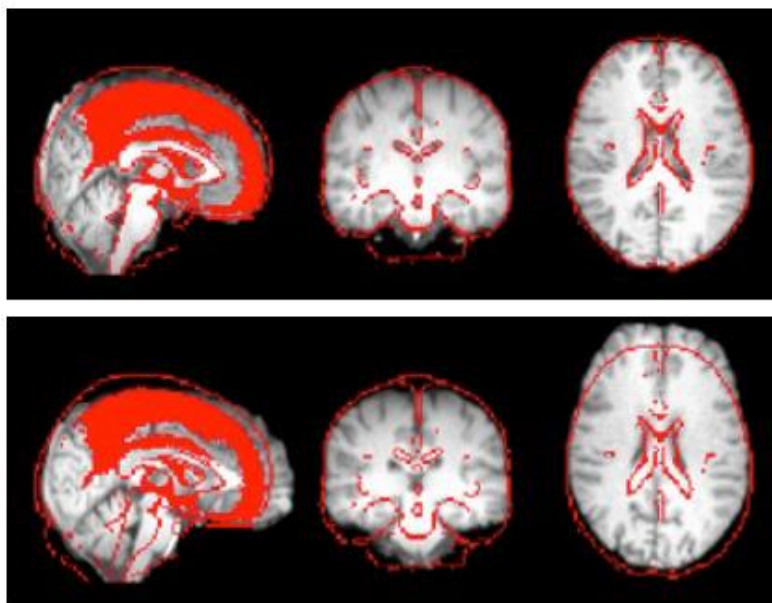


Figura 4.2: Output prodotto dal toolbox MELODIC durante la fase di registrazione di un'immagine pesata T2 su di un'immagine pesata T1. Nella prima riga è visualizzato il risultato di un'operazione di registrazione corretta; nella seconda riga, la non sovrapposibilità delle linee rosse ai bordi dell'immagine sullo sfondo evidenzia un'operazione di coregistrazione errata.

4.4 Estrazione del *Default Mode Network*

L'obiettivo di questa prima fase del lavoro di tesi consiste nell'individuare i quattro lobi principali del DMN (la corteccia cingolata posteriore, la corteccia prefrontale mediale e i lobi parietali inferiori destro e sinistro) a partire da dati fMRI in resting-state.

L'identificazione del DMN individuale è stata effettuata per mezzo dell'*Independent Component Analysis* (ICA) usando due diversi software: *Group ICA of fMRI Toolbox* (GIFT) (www.icatb.sourceforge.net) e *Multivariate Exploratory Linear Decomposition Into Independent Components* (MELODIC) versione 3.14, presente in FSL5.0 (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl). Entrambi effettuano una decomposizione dei dati funzionali 4D, provenienti dalle acquisizioni fMRI, in un insieme di mappe spaziali 3D ognuna delle quali modulata dal relativo andamento temporale. L'analisi delle componenti indipendenti, per mezzo del toolbox GIFT, è effettuata usando l'algoritmo *FastICA*, spiegato nel paragrafo 2.2.1. In MELODIC viene invece implementata la *Probabilistic Independent Component Analysis*, definita nel paragrafo 2.3.

Avendo a disposizione due acquisizioni per ogni soggetto, le analisi individuali sono state condotte sia utilizzando le due acquisizioni separate, sia usando una loro concatenazione temporale.

Un altro aspetto su cui ci si è soffermati riguarda il numero di componenti, nel paragrafo 2.5 si è

visto che tale scelta influenza notevolmente i risultati poiché un numero elevato comporta una frammentazione del *default mode network*, mentre un valore troppo basso fa convergere più *resting state networks* sulla stessa componente. Al fine di capire quale fosse il valore ottimale, l'*Independent Component Analysis* è stata effettuata, indipendentemente dal toolbox utilizzato, sia impostando un numero di componenti pari a venti (Elseoud, Starck, Remes, & al, 2010) sia lasciando che il software stesso stimasse il numero di componenti da estrarre.

Confrontando i risultati ottenuti combinando le diverse opzioni (toolbox utilizzato, uso di acquisizioni separate o concatenate temporalmente e numero di componenti) in termini di: tempo necessario per la stima e consistenza della rete tra i soggetti e con quanto presente in letteratura, sono state identificate le linee guida da utilizzare per l'estrazione del DMN individuale.

Il *default mode network* rappresentativo la corte di soggetti analizzati è stato calcolato con GIFT, impostando un numero di componenti pari a venti ed utilizzando separatamente le due sessioni disponibili di ogni soggetto. La *groupICA* implementata in GIFT è spiegata nel paragrafo 2.4.1.

L'individuazione della mappa spaziale corrispondente al network di interesse è stata fatta per ispezione visiva, confrontando la distribuzione spaziale delle attivazioni nelle varie mappe con le localizzazioni dei principali nodi del *default mode network* (Beckmann, De Luca, Devlin, & al., 2005). A conferma della corretta selezione è stata effettuata anche un'analisi in frequenza del segnale associato alla mappa per determinare se i picchi della densità spettrale di potenza del segnale fossero concentrati a frequenze minori di 0.1 Hz (Niazy, Xie, Miller, & al, 2011). Poiché il toolbox GIFT, al contrario del toolbox MELODIC, non fornisce in output la densità spettrale associata al *time-course* di ogni componente, per le mappe ottenute con GIFT la densità spettrale di potenza del segnale associato è stata calcolata a parte con il metodo del periodogramma.

4.5 Analisi della causalità di Granger

L'analisi della causalità di Granger (GCA) è stata compiuta sulle serie temporali medie relative ai quattro nodi principali del DMN, per mezzo del tool ARFIT (Neumaier & Schneider, 2001) e del tool GCCA (Seth, 2010) di Matlab. Lo studio della connettività effettiva è stato svolto sia mediante modelli bivariati che multivariati.

Per l'estrazione delle serie temporali, il problema principale è legato alla necessità di individuare distintamente i voxel appartenenti alla regione prefrontale mediale, alla corteccia cingolata posteriore e ai due lobi parietali inferiori. L'uso della mappa del DMN individuale ricavata con ICA non rappresenta una soluzione per i seguenti motivi:

- presenta attivazioni non solo in zone riconducibili al DMN;
- in alcuni casi l'area di attivazione nella corteccia cingolata posteriore risulta contigua

- all'area di attivazione in uno dei due lobi;
- spesso una zona di attivazione appartenente al DMN è compresa in un'area molto più estesa.

Un esempio di quanto detto è riportato in figura 4.3.

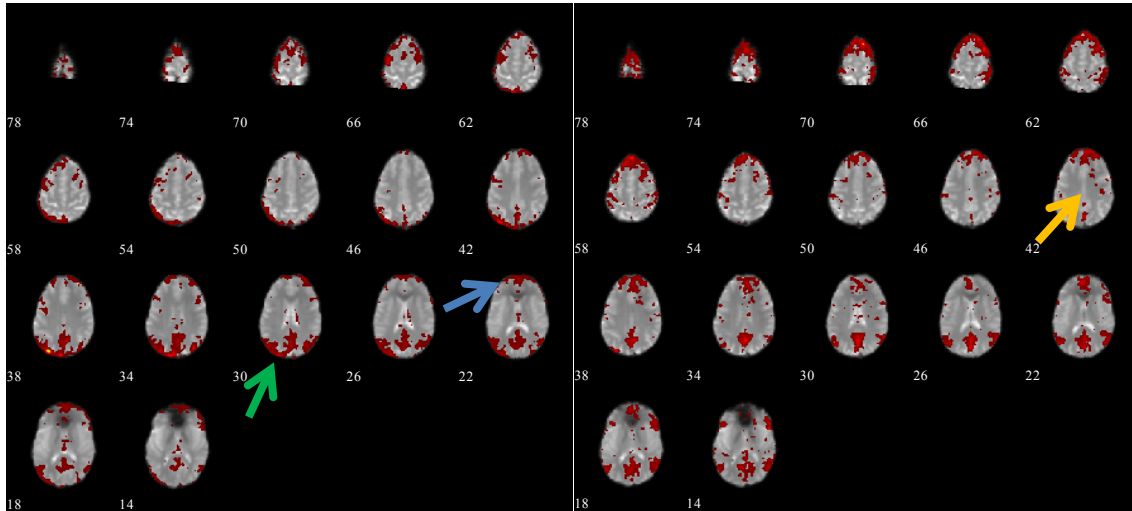


Figura 4.3: Mappe spaziali del DMN relative a due soggetti analizzati. A sinistra: la freccia verde indica la contiguità delle zone di attivazione nella corteccia cingolata posteriore e nel lobo parietale inferiore destro, la freccia azzurra indica l'estensione della zona di attivazione in regioni non appartenenti al DMN. A destra: la freccia arancio evidenzia la presenza di attivazioni in zone non riconducibili al DMN. Le immagini sono presentate in convenzione neurologica.

Per poter ricavare il segnale medio in ciascun nodo è quindi necessaria una maschera che consenta di selezionare i quattro lobi separatamente. Per la creazione di tale maschera si è ricorsi alla mappa spaziale individuale del DMN, ricavata nella fase precedente, e ad un template del DMN disponibile in FSL5.0. Dal momento che la mappa spaziale ricavata con ICA è nello spazio dell'immagine funzionale, mentre il template è nello spazio MNI, è necessario effettuare un'operazione di coregistrazione che renda il template sovrapponibile all'immagine funzionale. Poiché è buona norma effettuare sempre la coregistrazione da un'immagine a bassa risoluzione verso un'immagine ad alta risoluzione, sono state ricavate, mediante il comando FLIRT in FSL5.0, le trasformazioni che consentono di passare dall'immagine funzionale all'immagine pesata T₁ e da quest'ultima al template MNI. Tali trasformazioni sono state invertite e concatenate in modo da ottenere la trasformazione che consente la coregistrazione del template ad alta risoluzione sull'immagine funzionale. Mediante l'utilizzo di *Tools for NIFTI and ANALYZE image* di Matlab, il template è stato sovrapposto alla mappa del DMN individuata con ICA in modo da creare una maschera costituita dai voxel che risultano attivi nella mappa spaziale e che appartengono al template. Nella maschera così creata sono state individuate le componenti connesse. Tra le componenti costituite da più cinquanta voxel sono state identificate quelle corrispondenti ai quattro lobi del DMN. A questo punto si dispone di

una maschera che consente di selezionare distintamente, nell'immagine funzionale, i voxel appartenenti alle quattro aree di interesse.

Una volta ricavate le serie temporali medie (un esempio è riportato in figura 4.4), prima di procedere all'identificazione del modello autoregressivo, a ciascuna serie temporale è stato sottratto il valore medio. È stato inoltre verificato che ciascun processo fosse stazionario in senso lato, ovvero non contenesse radici unitarie, in modo da verificare l'ipotesi per l'applicabilità della GCA (Granger & Newbold, 1974). Tale verifica è stata effettuata per mezzo del test *Augmented Dickey Fuller* implementato nel tool GCCA.

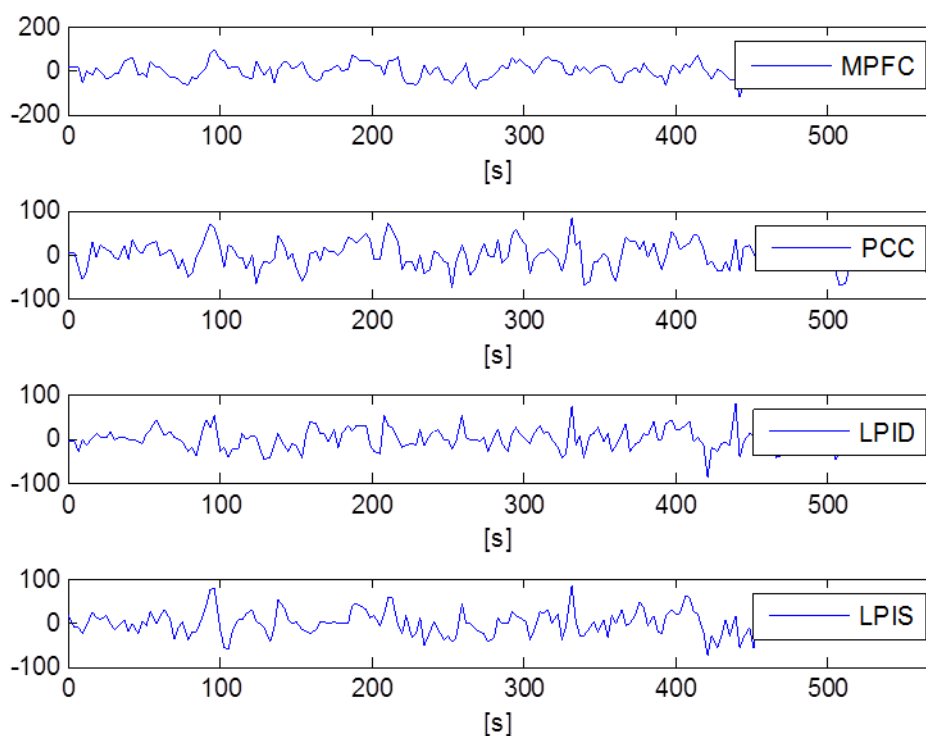


Figura 4.4: Esempio di serie temporali medie estratte nelle quattro aree di interesse di uno dei soggetti analizzati: corteccia prefrontale mediale (MPFC), corteccia cingolata posteriore (PCC), lobo parietale inferiore destro (LPID), lobo parietale inferiore sinistro (LPIS).

L'identificazione di un modello autoregressivo multivariato (MVAR) è stata effettuata per mezzo del tool ARFIT di Matlab, il quale calcola, supposto noto l'ordine, i coefficienti del modello e la matrice di covarianza dei residui basandosi su un algoritmo di stima ai minimi quadrati.

Uno degli aspetti più critici nell'identificazione di un modello MVAR è la scelta dell'ordine del modello, ossia del numero di istanti di ciascun processo coinvolto, precedenti l'istante attuale che si sta descrivendo. Il numero di coefficienti a_{ij} da stimare di un modello MVAR è $m \times m \times p$, dove m rappresenta il numero di processi coinvolti e p l'ordine del modello. Minore è p , minore sarà la complessità del modello e di conseguenza peggiore sarà la stima, tuttavia ordini troppo

elevati seguono bene i dati al punto da sovrastimarli, descrivendo anche il rumore in essi presenti. Occorre quindi scegliere il modello che meglio fitta i dati con il minor numero di parametri. Per rispettare l'appena citato principio di parsimonia, l'ordine del modello è stato scelto minimizzando l'indice di Akaike:

$$\hat{p} = \min_p AIC(p) = \min_p N \ln |\Sigma(p)| + \frac{2}{N} pm^2 \quad (4.1)$$

dove m indica il numero di processi coinvolti nel modello multivariato, N il numero di campioni di ciascun processo e $|\Sigma(p)|$ il determinante della matrice di covarianza dei residui. Tale criterio fornisce una misura della qualità della stima di un modello statistico tenendo conto sia della bontà del fit che della complessità del modello. Per ogni modello sono stati considerati ordini da 1 a 10, per ognuno di essi è stato calcolato il valore dell'indice di Akaike ed è stata poi effettuata la scelta sulla base dell'ordine che minimizza tale quantità. Noto il modello, è stato calcolato con Matlab, l'indice di causalità di Granger utilizzando la formula (3.5). L'analisi della significatività statistica di tale indice per ogni coppia di segnali è stata condotta utilizzando l'F-test implementato nel tool GCCA di Matlab. Il livello di significatività α , posto pari al 5%, è stato corretto applicando la correzione di Bonferroni.

Il procedimento descritto con riferimento ai modelli multivariati è stato applicato anche ai modelli bivariati.

4.6 Analisi di connettività con DCM

Nel paragrafo 3.2.3 si è visto che il principale ostacolo all'applicazione dei DCM nei dati resting-state è dovuto al fatto che il modello dinamico causale non può essere stimato in assenza di ingressi forzanti. Tale problema è stato aggirato utilizzando come ingressi del modello la modellizzazione delle LFF mediante serie di Fourier (Biswal & Di, 2014).

Considerando l'equazione (3.14) ed assumendo che l'ingresso del DCM sia rappresentato dalle LFF, il modello neuronale può essere descritto dalla seguente equazione differenziale ordinaria:

$$\frac{dz}{dt} = Az + Cu \quad (4.2)$$

con

$$\begin{aligned} Cu = & c_1^{cos} \cos(0.01 \cdot 2\pi \cdot x) + c_1^{sen} \sin(0.01 \cdot 2\pi \cdot x) \\ & + c_2^{cos} \cos(0.02 \cdot 2\pi \cdot x) + c_2^{sen} \sin(0.02 \cdot 2\pi \cdot x) \\ & + c_3^{cos} \cos(0.04 \cdot 2\pi \cdot x) + c_3^{sen} \sin(0.04 \cdot 2\pi \cdot x) \end{aligned} \quad (4.3)$$

$$+ c_4^{cos} \cos(0.08 \cdot 2\pi \cdot x) + c_4^{sen} \sin(0.08 \cdot 2\pi \cdot x)$$

dove la matrice A descrive la connettività intrinseca e la matrice C lega le fluttuazioni endogene alle risposte delle N regioni coinvolte. Con riferimento all'equazione (3.14) si assume che nella condizione di resting-state non ci siano variazioni della connettività effettiva e quindi la matrice B viene considerata nulla. L'analisi della connettività effettiva mediante modelli dinamici causali è stata eseguita con SPM8 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8) utilizzando la concatenazione temporale delle due acquisizioni disponibili per ogni soggetto. Solo in un secondo momento, per testare quanto robusta fosse la selezione del modello ottimo i DCM sono stati implementati sulle singole acquisizioni.

4.6.1 Implementazione dei modelli e selezione del modello ottimo

La costruzione del DCM richiede due cose: una design matrix, che descrive il paradigma sperimentale e i cui regressori definiscono gli input u del modello, e le serie temporali che rappresentano la risposta z misurata nelle quattro regioni di interesse.

La design matrix viene creata durante un'analisi GLM (general linear model), metodologia utilizzata per ottenere delle mappe statistiche di attivazione. Nel GLM i dati di fMRI vengono rappresentati mediante un modello lineare nella forma:

$$z = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n + \varepsilon \quad (4.4)$$

dove z , il dato osservato, viene espresso come combinazione lineare di n fattori sperimentali x_n più un termine di errore ε . I parametri β_i , $i=1, \dots, n$, indicano in che misura ogni fattore contribuisce alla generazione della risposta z . In forma matriciale il GLM diventa:

$$\mathbf{z} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (4.5)$$

dove \mathbf{z} è il vettore delle risposte in ogni singolo voxel, \mathbf{X} è la design matrix, $\boldsymbol{\beta}$ è il vettore da stimare dei parametri ed $\boldsymbol{\varepsilon}$ è l'errore assunto indipendente e con distribuzione gaussiana $N(0, \sigma^2 \mathbf{I})$. La design matrix viene calcolata come convoluzione tra l'ingresso forzante $u(t)$, definito in fase di progettazione dell'esperimento, e la risposta impulsiva emodinamica $h(t)$, nota a priori a meno dell'ampiezza β . Il valore dei parametri β , per ogni voxel, viene determinato con uno stimatore lineare ai minimi quadrati pesati. Nel caso di dati resting-state, poiché l'analisi GLM così spiegata non può essere effettuata per la mancanza dell'ingresso $u(t)$, risulta necessario ricorrere alla modellizzazione delle LFF anticipata all'inizio del paragrafo. Seguendo quanto proposto in (Biswal & Di, 2014) sono stati inclusi nel GLM otto *box-car*

functions con periodo 100, 50, 25 e 12.5 s, rappresentanti rispettivamente le frequenze 0.01, 0.02, 0.04 e 0.08 Hz. Queste funzioni corrispondono alla versione binarizzata delle componenti di Fourier sinusoidali. L'uso di *box-car functions* al posto delle funzioni seno e coseno è una scelta pragmatica: SPM approssima gli input con funzioni lineari a tratti, l'uso di tali funzioni rappresenta quindi il modo più semplice per la specificazione di una funzione periodica.

Le *box-car functions* sono specificate nella sezione *Specify-1 st-Level* nella parte *Data & Design* indicando per ciascuna *onsets* e *duration*. Questi parametri sono espressi per comodità in termini di scansioni.

Per determinare i valori di *onsets* e *duration* per ciascuna funzione, è necessario dividere il periodo per il valore del TR, quindi per una frequenza di 0.01 Hz e un TR di 3 s, il periodo espresso in scansioni sarà pari a 32. Considerando che, nel caso della funzione con frequenza 0.01 Hz, ogni 32 scansioni viene fornito uno stimolo la cui lunghezza è pari a metà periodo, i valori da attribuire al campo *onsets* e *duration* si ricavano facilmente.

Per ciascuna frequenza sono state considerate due *box-car functions*, una sfasata di 90° rispetto all'altra.

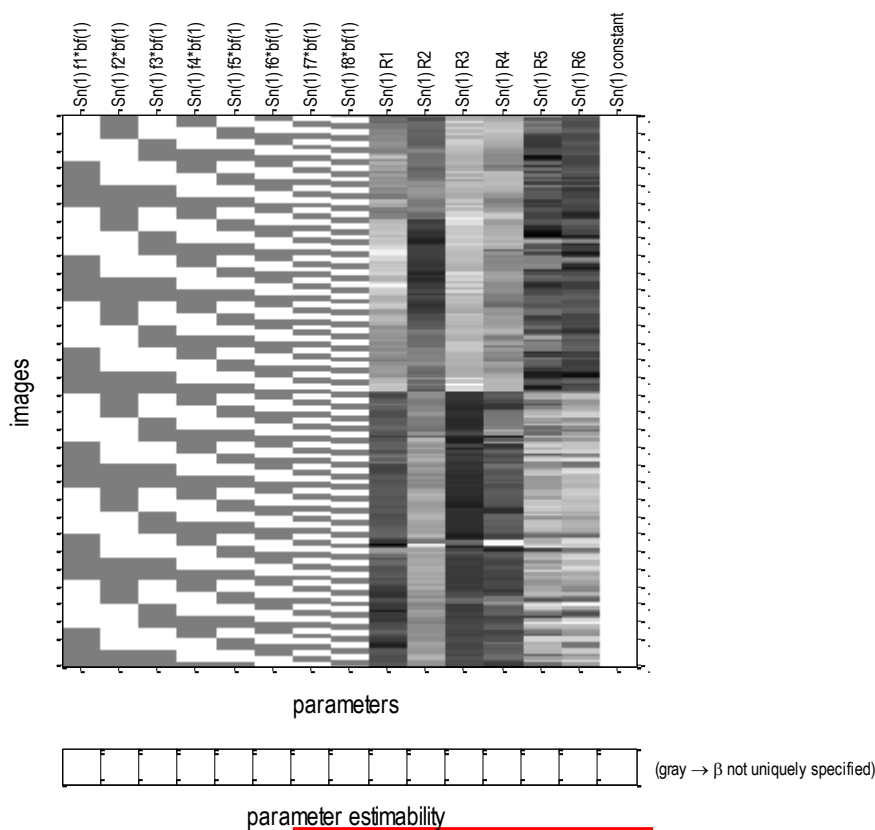
Ai fini pratici va considerato che tali funzioni non vanno convolute con la risposta emodinamica in quanto non sono degli input derivanti da un design sperimentale, ma servono solo a modellizzare le LFF. Per ottenere ciò, nella sezione *Basis Function* è stata usata l'opzione *Fourier set* imponendo valore nullo sia per la lunghezza della finestra che per l'ordine. Tale stratagemma garantisce che le colonne della design matrix siano effettivamente le *box-car function* impostate e non il risultato della loro convoluzione con una funzione che descrive la risposta emodinamica.

Nel modello sono stati inoltre aggiunti i sei regressori del movimento della testa, stimati in fase di pre-processing, per rimuovere i potenziali effetti del movimento della testa nei risultati.

Contrariamente a quanto proposto in (Biswal & Di, 2014) al modello non è stato aggiunto un filtro passa alto con cut-off a 100 s, questo perché i segnali analizzati sono già stati filtrati durante la fase di pre-processing (paragrafo 3.2).

La design matrix ottenuta per un singolo soggetto è riportata in figura 4.5, in essa ogni riga rappresenta una scansione. Le colonne 1-8 rappresentano le *box-car functions* necessarie per la modellazione delle fluttuazioni in bassa frequenza del segnale BOLD, lo sfasamento di 90° di ogni funzione è stata ottenuto posticipando la funzione stessa di un quarto di periodo. Le colonne 9-16 sono i regressori del modello: i sei parametri della correzione del movimento più un termine costante. Una volta specificato il modello, il comando *Model Estimation* effettua la stima dei parametri. Al fine di capire se tra le otto *box-car functions* considerate ce ne siano alcune il cui contributo nella generazione della risposta z è maggiore rispetto ad altre, è stata valutata la distribuzione dei corrispondenti valori β_i $i=1, \dots, 8$ tra i voxel, per tutti i soggetti.

Statistical analysis: Design



Design description...

Basis functions : Fourier set
Number of sessions : 1
Trials per session : 8
Interscan interval : 3.00 {s}
High pass Filter : Cutoff: 5000 {s}
Global calculation : mean voxel value
Grand mean scaling : session specific
Global normalisation : None

Figura 4.5: Design matrix ottenuta per un singolo soggetto con SPM8.

Dopo aver stimato il modello GLM si specifica l'*F-contrast*, definendo nella sezione *Contrast-Manager* una matrice diagonale di contrasto 8×8 che consente di evidenziare le regioni la cui varianza può essere descritta dall'inclusione delle otto *box-car functions*. Per ottenere un numero sufficiente di voxel classificati come attivi e poter quindi definire le aree che costituiscono il livello neuronale del DCM, il p-value non viene corretto con l'opzione FWE (*family-wise error* o correzione per Bonferroni).

Le regioni da cui estrarre le serie temporali sono ricavate sovrapponendo la mappa del DMN ricavata con l'*Independent Component Analysis* alla mappa di attivazione ottenuta con il *General Linear Model*. Nelle regioni di sovrapposizione corrispondenti alla corteccia prefrontale mediale,

alla corteccia cingolata posteriore e ai due lobi parietali inferiori, vengono selezionati i voxel di maggiore intensità. Tali voxel rappresentano il centro della regione di interesse definita come una sfera di raggio 8 mm. Il comando *eigenvariate* calcola la prima componente principale delle serie temporali, estratte da tutti i voxel inclusi nella sfera selezionata, dopo averne sottratto la media ed aver tolto i sei regressori per il movimento. In questo modo si cerca di limitare la probabilità che il segnale usato nei DCM contenga artefatti.

A questo punto, imponendo che le otto *box-car functions* abbiano lo stesso effetto in tutti i nodi, sono stati definiti diversi modelli variando solamente i parametri della connettività intrinseca. Si sottolinea che sebbene gli input passati al DCM siano gli stessi per tutti i nodi, il modello stima separatamente gli ingressi in ciascun nodo.

Il DCM viene costruito nella sezione *Dynamic Causal Modelling* scegliendo l'opzione *Specify*. Dopo aver fornito il file SPM.mat, creato al momento della stima del GLM, e gli autovettori principali delle regioni che verranno incluse nel modello, sono stati impostati i seguenti parametri:

- Slice timing: [3, 3, 3, 3]
- Echo Time, TE[s]: 0.05
- Modulatory effects: bilinear
- States per region: one
- Stochastic effects: no
- Centre input: no

La definizione continua poi descrivendo le connessioni intrinseche e gli effetti degli input sui nodi, passaggi con i quali vengono specificate le matrici A e C dell'equazione 4.2).

Per l'analisi della connettività effettiva del DMN sono stati testati quattro modelli che differiscono tra loro solamente per le connessioni intrinseche. I modelli analizzati sono presentati in figura 4.6.

Tutti i modelli testati presentano una connessione tra la corteccia cingolata posteriore e la corteccia prefrontale mediale. Gli studi sulla connettività anatomica del DMN (Khalsa, Mayhew, Chechacz, & al, 2014) (van Oort, van Cappellen, van Walsum, & al., 2014) mettono in luce la presenza di una connessione anatomica tra PCC e MPFC, poiché tali nodi sono anche i nodi principali del DMN (Biswal & Di, 2014) non avrebbe senso considerare dei modelli privi di tale connessione.

Il modello 1 rappresenta la rete maggiormente identificata tra i soggetti con l'analisi della causalità di Granger.

Il modello 2 è il modello di connettività effettiva del DMN presentato in (Biswal & Di, 2014).

I modelli 3 - 4 differiscono dal modello 2 solo per le diverse relazione di causalità ipotizzate tra PCC e MPFC. In particolare questi due modelli cercano di combinare le informazioni fornite

dall'analisi della causalità di Granger e da (Biswal & Di, 2014).

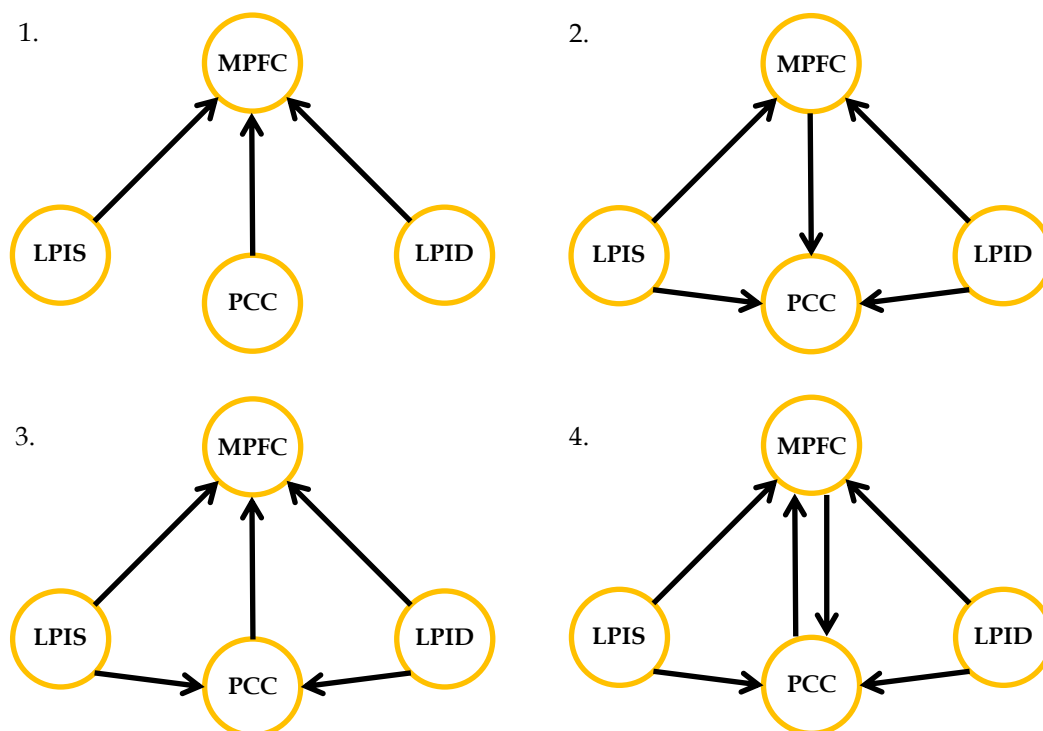


Figura 4.6: Rappresentazione dei modelli testati. Gli input forzanti del modello non sono rappresentati, essendo uguali per tutti i nodi e per tutti i modelli.

Per ogni modello è stata stimata la distribuzione a posteriori dei parametri di connettività intrinseca, in termini di media, coefficienti di variazione (%) e probabilità che tali distribuzioni superino un valore di soglia γ_t , posto pari a zero. Si testa cioè la probabilità che una connessione esista.

Sulla base di quanto espresso in (Penny, 2011) la selezione del modello ottimo individuale è stata condotta considerando il valore della Free Energy.

Per ottenere delle informazioni relative all'intera popolazione e quindi libere dalle componenti di variabilità intra e inter individuale è stata effettuata un'analisi di gruppo.

Considerando che l'analisi in oggetto riguarda l'individuazione di un modello ottimo che descriva la connettività effettiva del DMN potrebbe essere sufficiente un'analisi agli effetti fissi, tuttavia per verificare che la selezione sia robusta è stata utilizzata anche l'analisi agli effetti random.

Una volta selezionato il modello ottimo, considerando che un approccio agli effetti fissi può essere considerato adeguato, la stima dei valori di media e covarianza delle connessioni intrinseche a livello di gruppo sono state calcolate con le formule (3.32).L'implementazione dei DCM e la selezione del modello ottimo è stata eseguita sia considerando le acquisizioni singole

sia utilizzando una loro concatenazione, ciò per verificare se la selezione del modello ottimo fornisce lo stesso risultato.

Capitolo 5

Risultati

In questo capitolo sono presentati i risultati ottenuti per quanto riguarda l'identificazione del *default mode network* e le successive analisi di connettività che hanno coinvolto i principali nodi della rete.

5.1 Selezione del *Default Mode Network*

Le mappe del *default mode network* presentate in figura 5.1, 5.4 e 5.6 sono state ottenute utilizzando il toolbox GIFT, fissando a venti il numero di componenti e tenendo separate le due acquisizioni di ogni soggetto. Come è stato spiegato nel capitolo 4 l'individuazione della mappa spaziale corrispondente al network di interesse è stata fatta per ispezione visiva, confrontando la distribuzione spaziale delle attivazioni nelle varie mappe con le localizzazioni dei principali nodi del *default mode network*. A conferma della corretta selezione è stata effettuata anche un'analisi in frequenza del segnale associato alla mappa per determinare se i picchi della densità spettrale di potenza del segnale fossero concentrati a frequenze minori di 0.1 Hz.

In figura 4.1 è mostrato il *default mode network* di gruppo sovrapposto ad un'immagine T1 con risoluzione 2x2x2 mm. La figura 5.2 e 5.3 illustrano rispettivamente il segnale associato alla mappa spaziale selezionata e la sua densità spettrale di potenza calcolata con il metodo del periodogramma.

Le figure 5.4-5.5 illustrano il tipico risultato trovato nello studio del DMN individuale di un soggetto della popolazione. La mappa spaziale è sovrapposta al primo volume dell'immagine funzionale del soggetto stesso.

La figure 5.6.-5.7 rappresentano invece il caso peggiore riscontrato nello studio del DMN individuale.

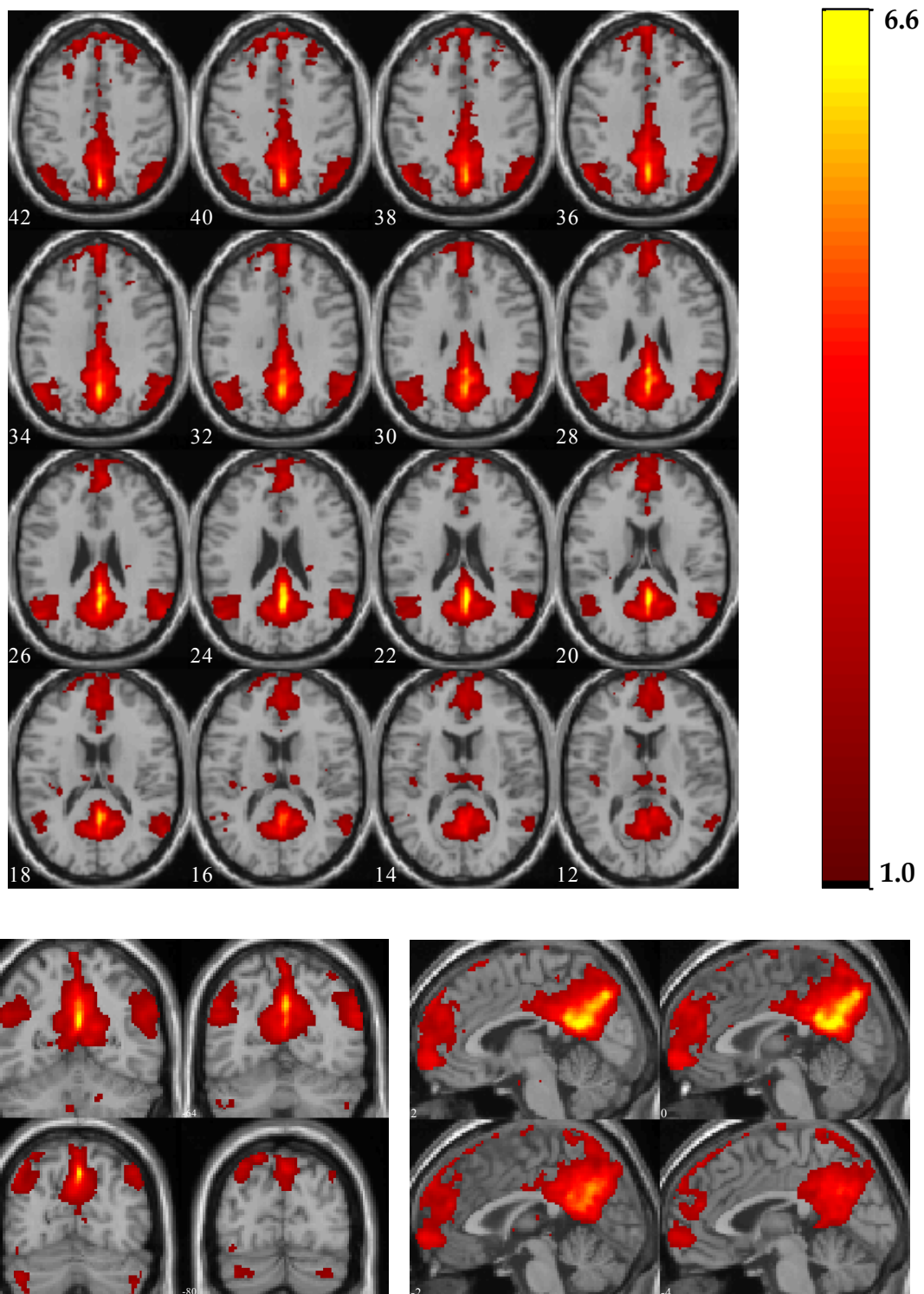


Figura 5.1: Definizione del default mode network di gruppo mediante (Group) Independent Component Analysis. La mappa spaziale estratta è sovrapposta ad un'immagine T₁: sezione assiale (in alto), sezione coronale (in basso a sinistra), sezione sagittale (in basso a destra). La colorbar in alto a destra, che associa il colore indicato nella mappa allo Z-score, è riferita alle tre immagini. Le immagini assiali e coronali sono presentate in convenzione neurologica.

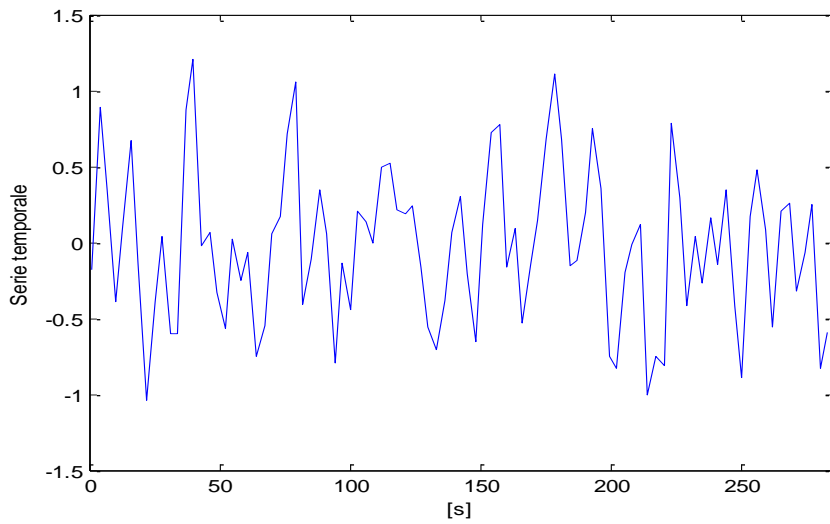


Figura 5.2: Serie temporale associata al DMN in figura 5.1 ricavata mediante (Group) Independent Component Analysis.

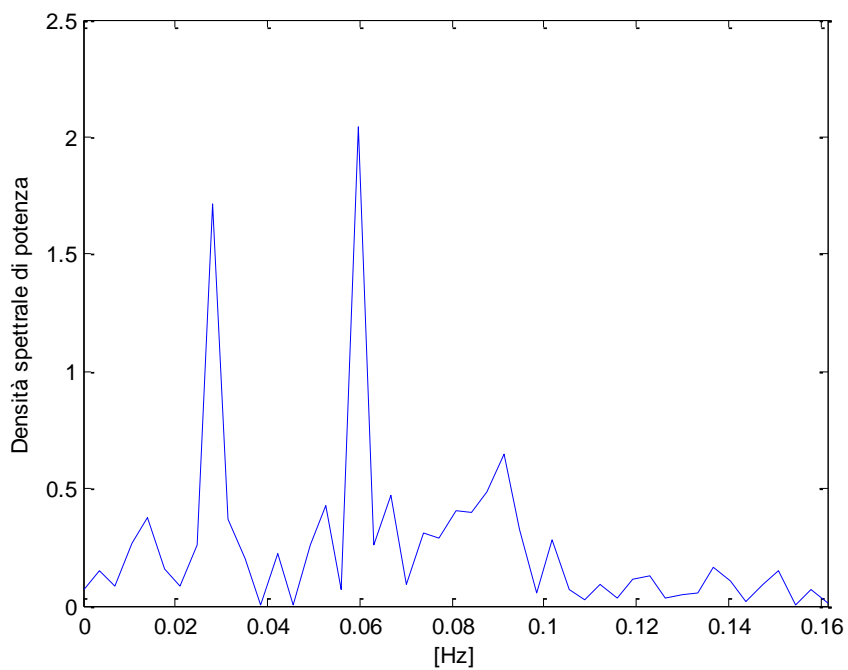


Figura 5.3: Spettro di potenza associato al segnale in figura 5.2.

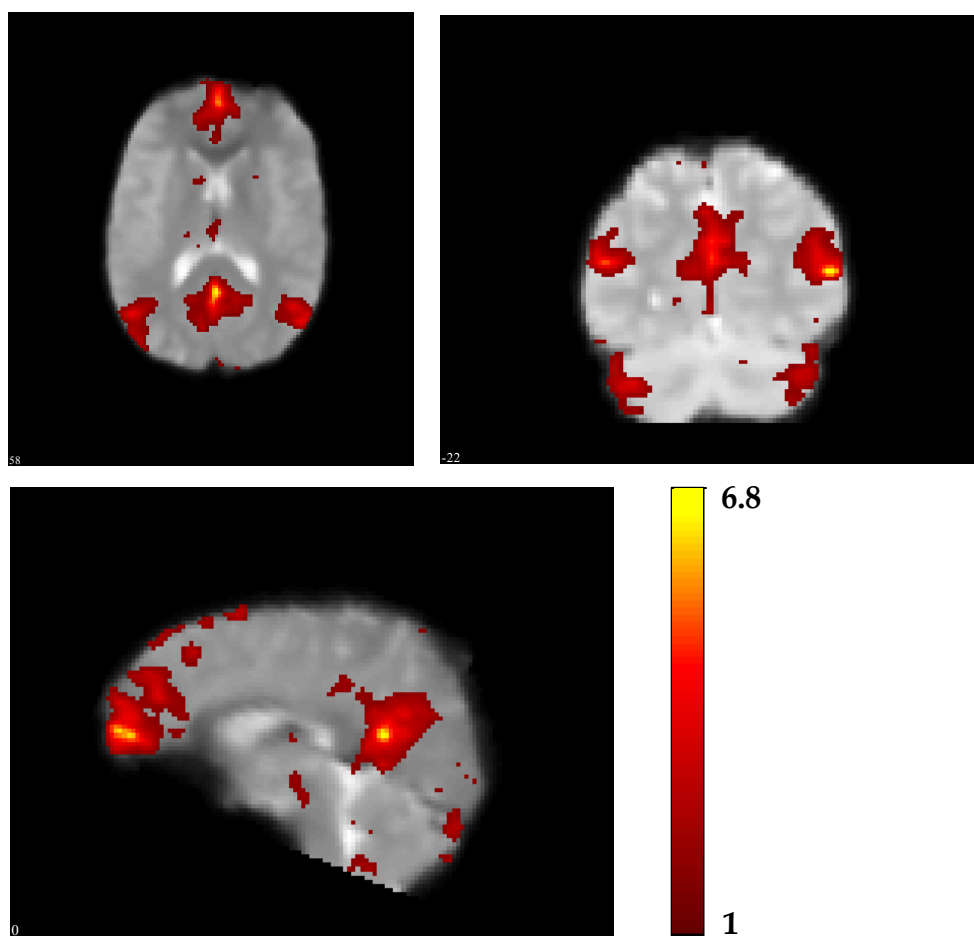


Figura 5.4: Definizione del default mode network di uno dei soggetti analizzati mediante Independent Component Analysis. La mappa spaziale estratta è sovrapposta all'immagine funzionale del soggetto: sezione assiale (in alto a sinistra), sezione coronale (in alto a destra), sezione sagittale (in basso). La colorbar in basso a destra, che associa il colore indicato nella mappa allo Z-score, è riferita alle tre immagini. Le immagini assiali e coronali sono presentate in convenzione neurologica.

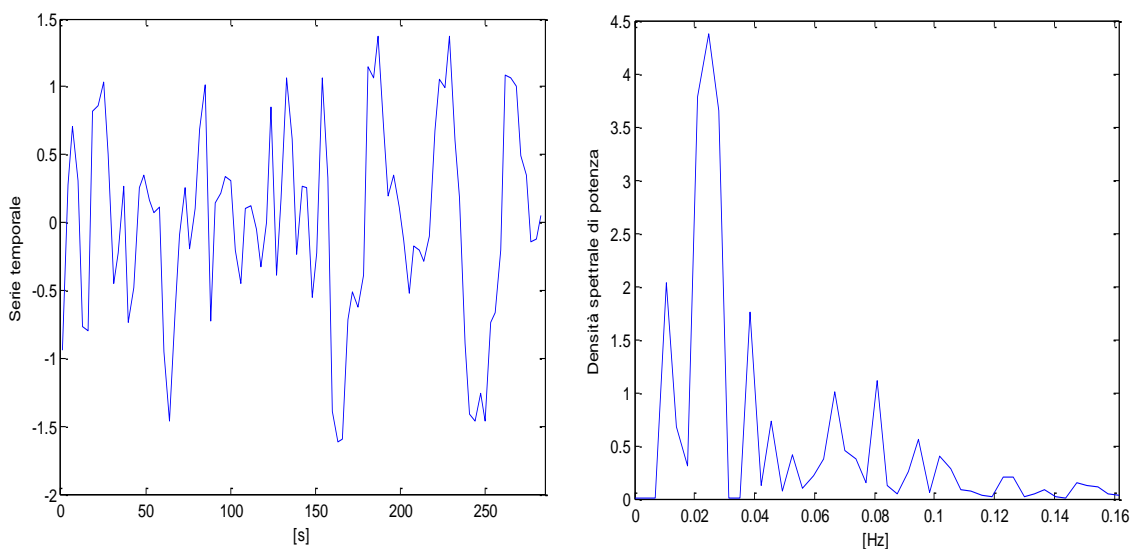


Figura 5.5: Serie temporale (a sinistra) e relativo spettro di potenza (a destra) associati al DMN in figura 5.4.

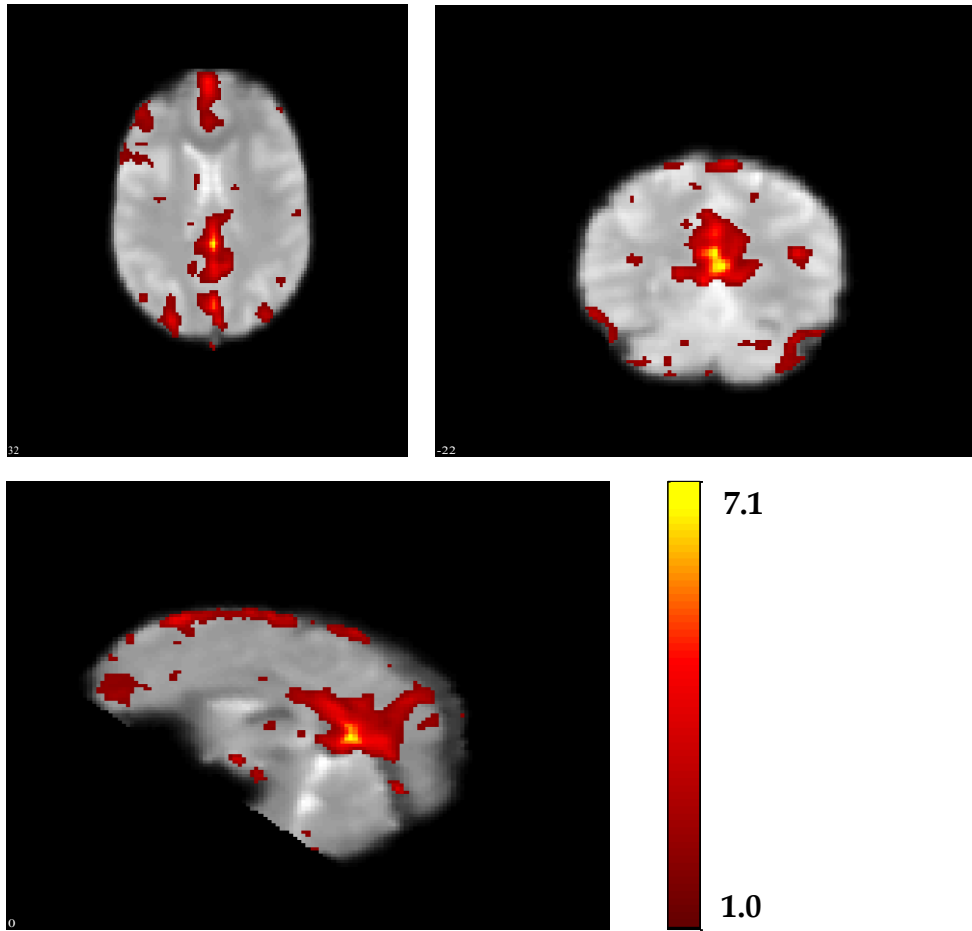


Figura 5.6: Definizione del default mode network di uno dei soggetti analizzati (caso peggiore) mediante Independent Component Analysis. La mappa spaziale estratta è sovrapposta all'immagine funzionale del soggetto: sezione assiale (in alto a sinistra), sezione coronale (in alto a destra), sezione sagittale (in basso). La colorbar in basso a destra, che associa il colore indicato nella mappa allo Z-score, è riferita alle tre immagini. Le immagini assiali e coronali sono presentate in convenzione neurologica.

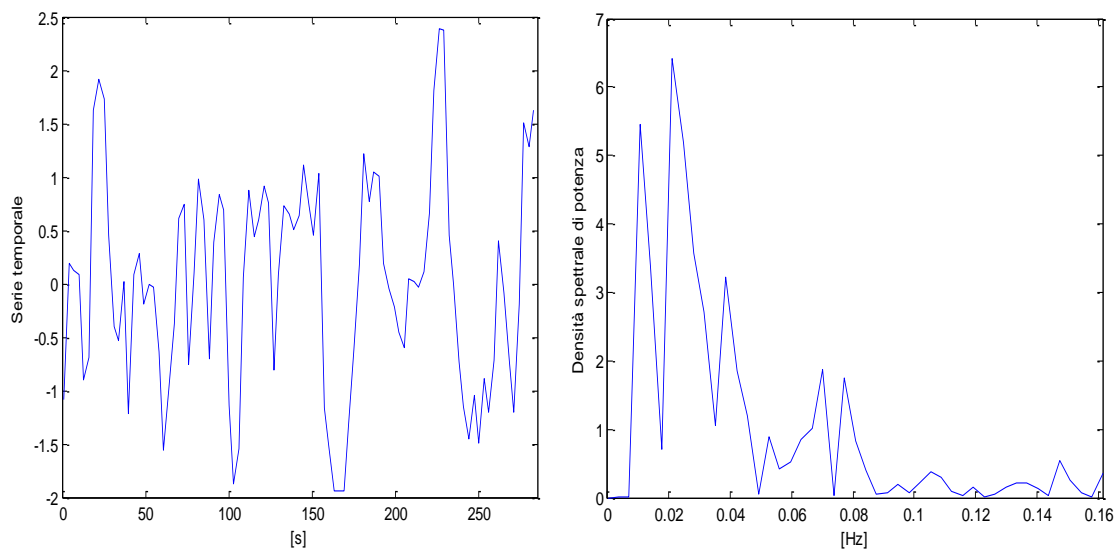


Figura 5.7: Serie temporale (a sinistra) e relativo spettro di potenza (a destra) associati al DMN in figura 5.6.

5.2 Analisi di connettività effettiva

In questo paragrafo sono riportati i risultati ottenuti dall'analisi della connettività effettiva condotta sulla corte di soggetti disponibili.

5.2.1 Analisi della causalità di Granger

La tabella 5.1 illustra i risultati ottenuti derivanti dall'analisi della causalità di Granger. Ogni riga evidenzia le influenze causali statisticamente significative stimate per ciascun soggetto. Nella colonna centrale sono riportati i risultati ottenuti mediante l'implementazione di un modello multivariato che considera contemporaneamente le quattro serie temporali estratte dalla corteccia prefrontale mediale (MPFC), dalla corteccia cingolata posteriore (PCC), dal lobo parietale inferiore destro (LPID) e dal lobo parietale inferiore sinistro (LPIS). Nella colonna a destra le influenze causali sono state invece stimate mediante un modello bivariato, tale modello valuta l'influenza causale tra due segnali considerando una coppia di segnali alla volta. Nella rappresentazione, una freccia uscente dal generico nodo A ed entrante nel generico nodo B indica che il nodo A "causa secondo Granger" il nodo B, la significatività statica di tale influenza è indicata a lato della freccia. La soglia imposta, $\alpha=0.05$, è stata corretta per confronti multipli per Bonferroni. Le influenze stimate per ciascun soggetto si riferiscono alle serie temporali estratte dalla concatenazione temporale delle due run acquisite.

5.2.2 Modelli dinamici causali

Prima di procedere all'implementazione del modello si è valutato se tra le otto *box-car functions* proposte in (Biswal & Di, 2014) ce ne fossero alcune il cui contributo nella generazione della risposta z fosse maggiore rispetto ad altre. In figura 5.8 è visualizzata l'approssimazione mediante una gaussiana della distribuzione dei valori dei parametri β_i $i=1, \dots, 8$ del *General Linear Model* stimati in tutti i voxel, per un soggetto rappresentativo della popolazione.

La figura 5.8 indica il modello ottimo di popolazione e i valori medi di popolazione dei parametri della connettività intrinseca con i relativi coefficienti di variazione (CV %) stimati mediante un approccio agli effetti fissi. Le ampiezze delle frecce rappresentano la forza della connessione stimata. Le figure 5.8-5.11 mostrano i risultati ottenuti confrontando i modelli in figura 4.6 sia mediante l'approccio agli effetti fissi (FFX), che mediante l'approccio agli effetti random (RFX). Le due figure si riferiscono rispettivamente ad un'analisi con acquisizioni concatenate temporalmente e non.

In figura 5.12 è invece illustrata la risposta osservata e predetta dal modello ottimo nei quattro nodi del default mode network, per un soggetto della popolazione.

Soggetto	Modello autoregressivo multivariato	Modello autoregressivo bivariato
1	<pre> graph TD PCC((PCC)) -- "5x10⁻⁸ *" --> MPFC((MPFC)) LPIS((LPIS)) LPID((LPID)) </pre>	<pre> graph TD LPIS((LPIS)) -- "5x10⁻⁵ *" --> MPFC((MPFC)) PCC((PCC)) -- "2x10⁻¹⁴ *" --> MPFC((MPFC)) LPID((LPID)) -- "10⁻⁷ *" --> MPFC((MPFC)) </pre>
2	<pre> graph TD LPIS((LPIS)) PCC((PCC)) MPFC((MPFC)) LPID((LPID)) </pre>	<pre> graph TD LPIS((LPIS)) -- "6x10⁻⁸ *" --> MPFC((MPFC)) PCC((PCC)) -- "5x10⁻⁷ *" --> MPFC((MPFC)) LPID((LPID)) -- "3x10⁻⁶ *" --> MPFC((MPFC)) </pre>
3	<pre> graph TD PCC((PCC)) -- "3x10⁻⁴ *" --> MPFC((MPFC)) LPIS((LPIS)) LPID((LPID)) </pre>	<pre> graph TD LPIS((LPIS)) -- "3x10⁻⁸ *" --> MPFC((MPFC)) PCC((PCC)) -- "10⁻¹¹ *" --> MPFC((MPFC)) LPID((LPID)) -- "4x10⁻⁹ *" --> MPFC((MPFC)) PCC((PCC)) -- "10⁻³ *" --> LPID((LPID)) </pre>
4	<pre> graph TD LPID((LPID)) -- "2x10⁻³ *" --> MPFC((MPFC)) LPIS((LPIS)) PCC((PCC)) </pre>	<pre> graph TD LPIS((LPIS)) -- "2x10⁻⁴ *" --> MPFC((MPFC)) PCC((PCC)) -- "6x10⁻³ *" --> MPFC((MPFC)) LPID((LPID)) -- "7x10⁻⁶ *" --> MPFC((MPFC)) </pre>
5	<pre> graph TD LPID((LPID)) -- "3x10⁻⁵ *" --> MPFC((MPFC)) LPIS((LPIS)) PCC((PCC)) </pre>	<pre> graph TD LPIS((LPIS)) -- "4x10⁻¹³ *" --> MPFC((MPFC)) PCC((PCC)) -- "9x10⁻¹⁰ *" --> MPFC((MPFC)) LPID((LPID)) -- "10⁻¹⁵ *" --> MPFC((MPFC)) </pre>

(continua alla pagina seguente)

Soggetto	Modello autoregressivo multivariato	Modello autoregressivo bivariato
6		
7		
8		
9		

Tabella 5.1: Risultati ottenuti applicando la Granger Causality Analysis ai dati fMRI in resting-state del gruppo di soggetti disponibili. In ogni riga sono evidenziate le relazioni di causalità individuate, a partire dagli stessi dati, con modelli multivariati (colonna centrale) e con modelli bivariati (colonna a destra). (* $p < 0.05$ dopo correzione per Bonferroni). MPFC: Corteccia prefrontale mediale, PCC: Corteccia cingolata posteriore, LPID: Lobo parietale inferiore destro, LPIS: Lobo parietale inferiore sinistro.

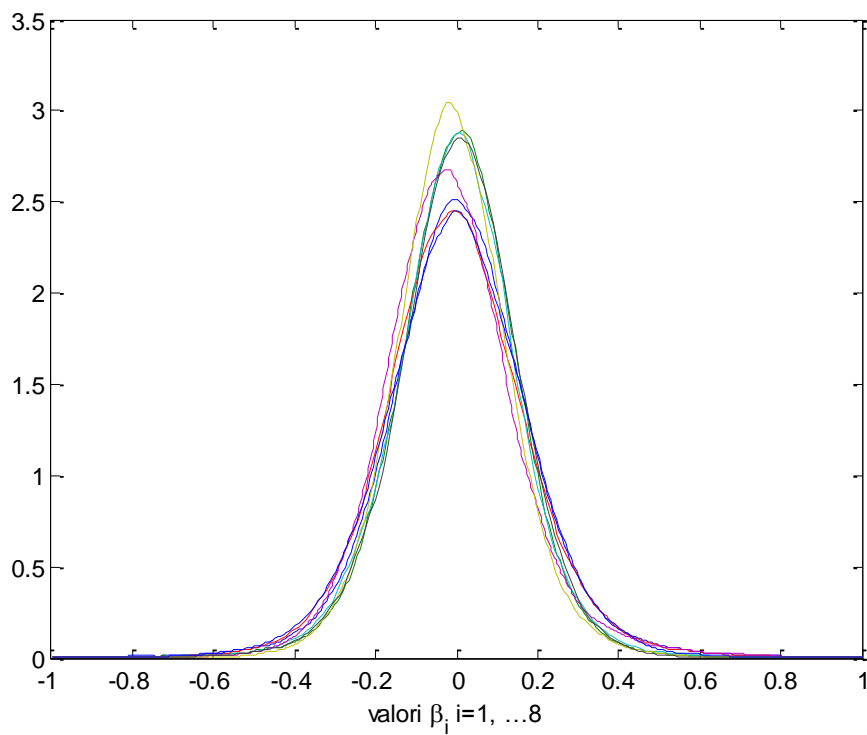


Figura 5.8: Distribuzione dei valori stimati dei parametri β_i $i=1, \dots, 8$ del GLM approssimate con una gaussiana. Risultato ottenuto per uno dei soggetti rappresentativo della corte di soggetti disponibili. Ogni colore indica la distribuzione di un diverso parametro.

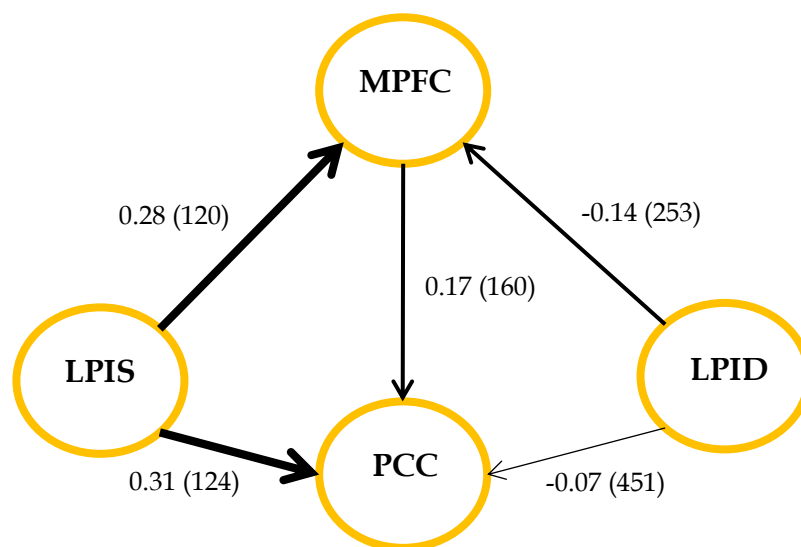


Figura 5.9: Modello vincente e valori dei parametri di connettività intrinseca di popolazione con relativi CV. L'ampiezza delle frecce è in relazione alla forza della connessione. MPFC: Corteccia prefrontale mediale, PCC: Corteccia cingolata posteriore, LPID: Lobo parietale inferiore destro, LPIS: Lobo parietale inferiore sinistro.

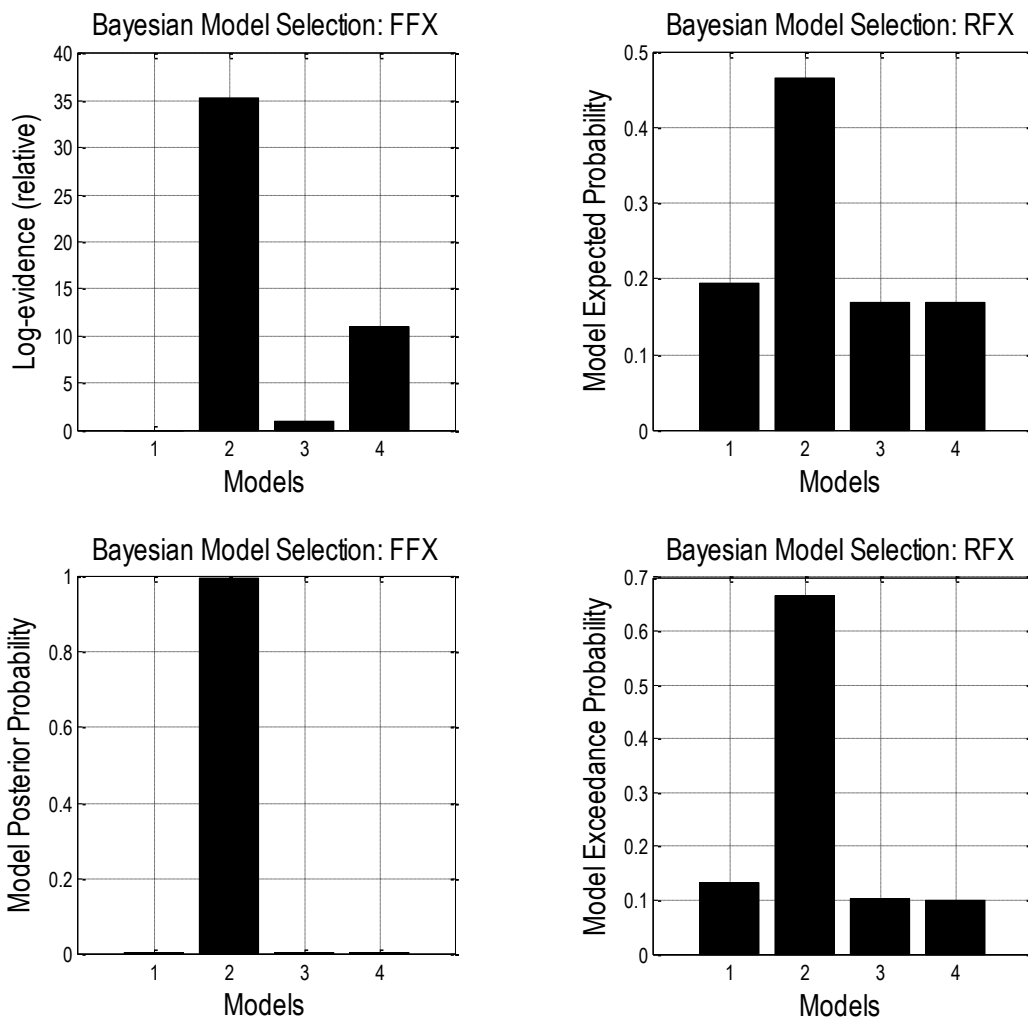


Figura 5.10: Confronto tra i quattro modelli in esame con strategia ad effetti fissi (a sinistra) e strategia ad effetti random (a destra). Lo studio della connettività effettiva è stato condotto concatenando temporalmente le due acquisizioni disponibili per ciascun soggetto.

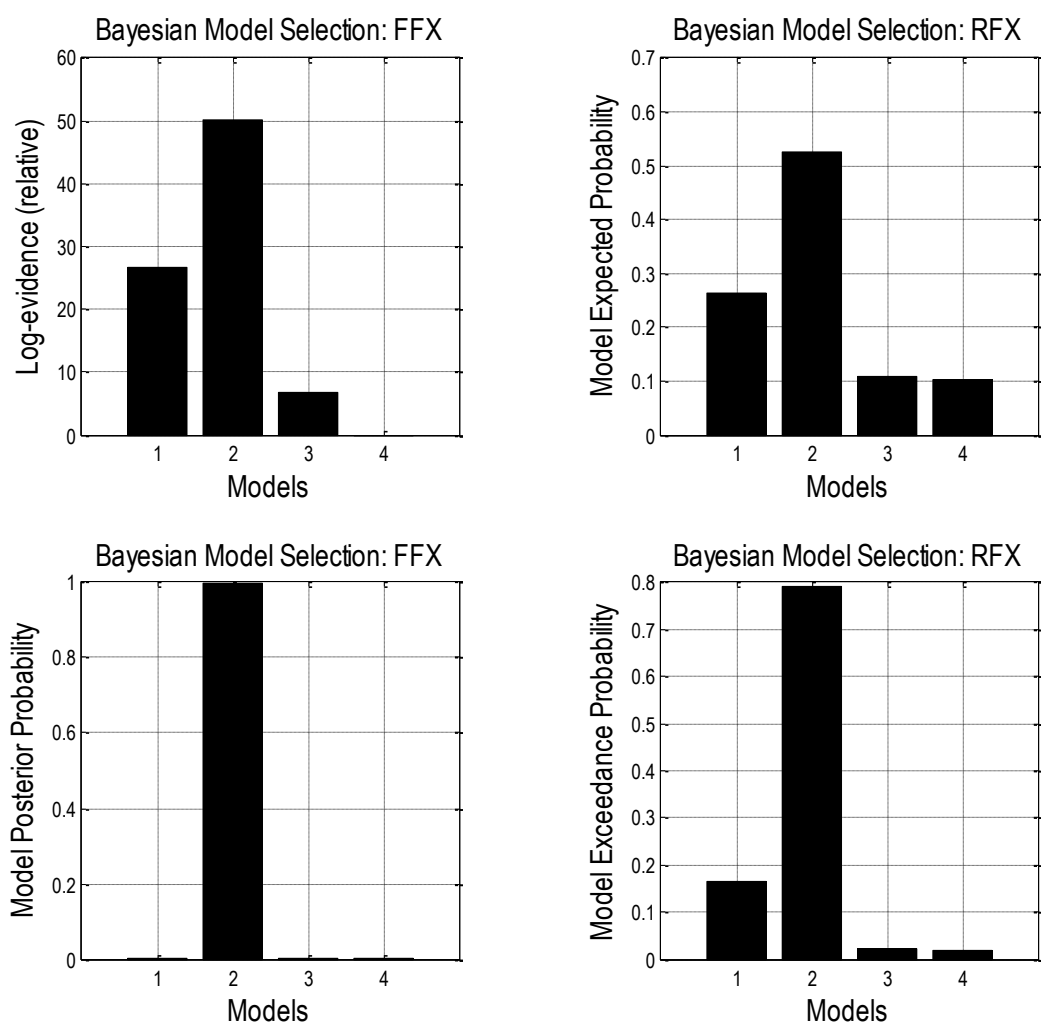


Figura 5.11: Confronto tra i quattro modelli in esame con strategia ad effetti fissi (a sinistra) e strategia ad effetti random (a destra). Lo studio della connettività effettiva è stato condotto considerando separatamente le due acquisizioni disponibili per ciascun soggetto.

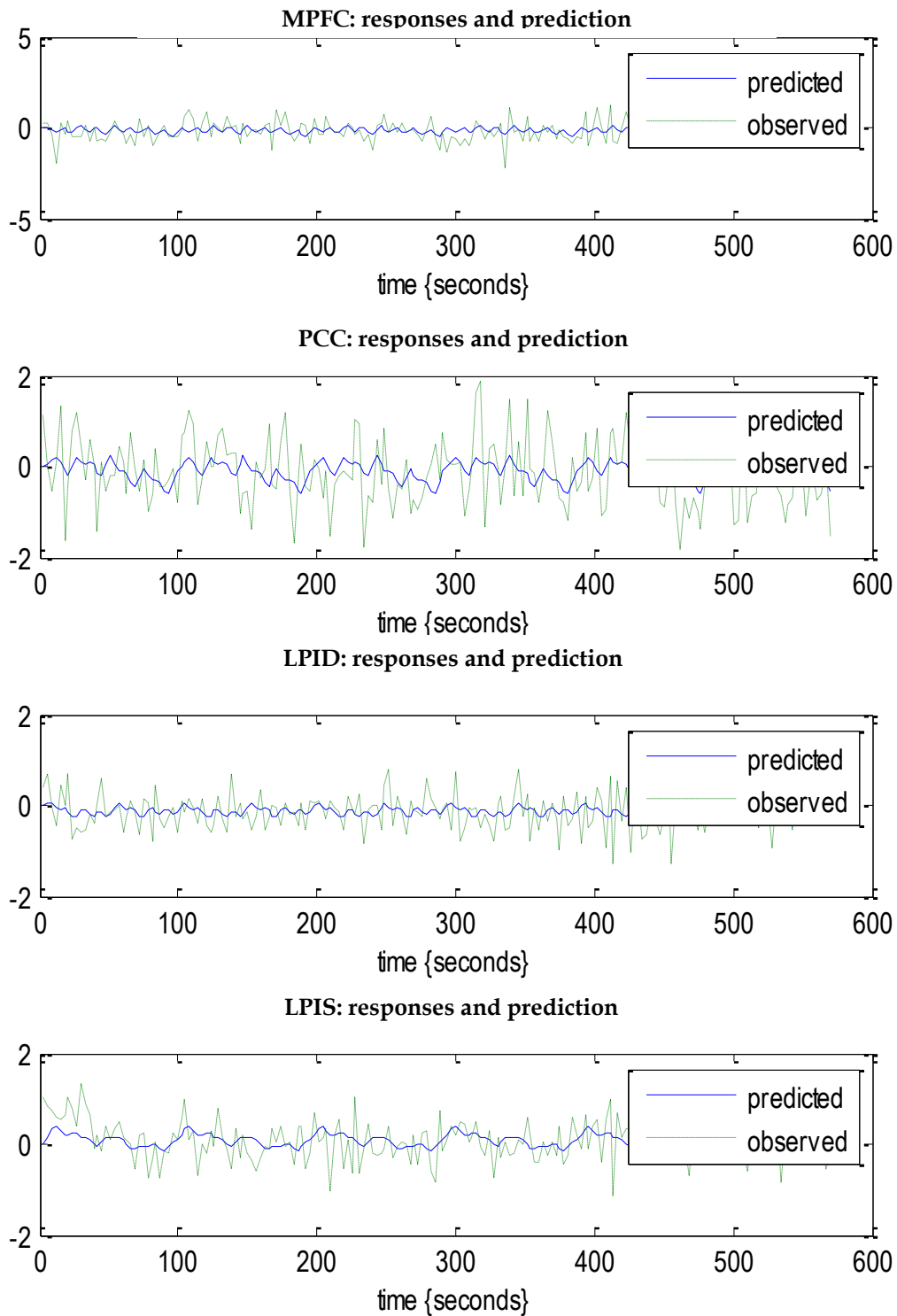


Figura 5.12: Risposta osservata (in verde) e predetta (in blu) dal modello selezionato nei quattro nodi del DMN di un soggetto rappresentativo della popolazione. MPFC: Corteccia prefrontale mediale, PCC: Corteccia cingolata posteriore, LPID: Lobo parietale inferiore destro, LPIS: Lobo parietale inferiore sinistro.

Discussione dei risultati

6.1 Selezione del *Default Mode Network*

Confrontando la mappa spaziale del DMN individuale ottenuta a partire dalla concatenazione temporale delle due acquisizioni disponibili con quella ottenuta utilizzando le due acquisizioni separate, si è notato che l'utilizzo della concatenazione temporale aumenta il numero di attivazioni spurie.

Per quanto riguarda il numero di componenti si è visto che la scomposizione del data-set funzionale nel numero di componenti stimate da GIFT o da MELODIC comporta un overfitting dei dati e il DMN viene splittato in più componenti: nella maggior parte dei casi è il nodo frontale ad essere separato dagli altri tre nodi.

In base ai risultati ottenuti si è quindi deciso di utilizzare le due acquisizioni separate e di fissare il numero di componenti a venti, valore in accordo con quanto proposto in (Elseoud, Starck, Remes, & al, 2010). A parità di impostazioni scelte, poiché i due toolbox impiegati fornivano mappe spaziali molto simili, per motivi computazionali si è scelto di utilizzare il toolbox GIFT che consente di effettuare un'analisi ICA in un tempo molto minore rispetto a quello impiegato dal toolbox MELODIC.

In figura 5.1 si nota che il DMN di gruppo è coerente con quanto descritto in (Smith, Fox, Miller, & et al., 2009) e i quattro nodi principali: la corteccia prefrontale mediale, la corteccia cingolata posteriore e i due lobi parietali inferiori risultano ben definiti. Lo Z-score più alto è localizzato nella corteccia cingolata posteriore, osservazione che si può giustificare considerando che la PCC è il nodo che presenta la maggior connettività funzionale nel DMN (Buckner, Andrews-Hanna, & al., 2008) (Greicius, Krasnov, Reiss, & Menon, 2003). Lo spettro di potenza del segnale associato al DMN in figura 5.3 conferma che l'attività della rete è concentrata soprattutto nelle frequenze minori di 0.1 Hz (Niazy, Xie, Miller, & al, 2011).

Poiché le analisi di connettività effettiva sono state condotte sulle regioni del DMN, selezionate sulle mappe individuali, nel capitolo 5 sono presentati anche i risultati ottenuti in questo senso.

In particolare, la figura 5.4 mostra un tipico DMN individuale identificato per otto dei nove soggetti analizzati. La mappa ricavata in questi casi fornisce chiaramente informazioni sulla localizzazione dei quattro nodi, risultato che ha permesso lo studio successivo di connettività effettiva. La figura 5.6 illustra invece il caso peggiore, in cui non è stato possibile localizzare i lobi parietali inferiori.

6.2 Analisi di connettività effettiva

6.2.1 Analisi della causalità di Granger

In tabella 5.1 sono presentati i risultati ottenuti dallo studio della connettività effettiva mediante l'Analisi della Causalità di Granger, implementata con modelli bivariati e multivariati. Poiché l'impiego, nelle sue due varianti, sulle singole acquisizioni non forniva risultati per quattro dei nove soggetti analizzati, tale tecnica è stata applicata alla concatenazione temporale delle due acquisizioni disponibili per ciascuno dei soggetti.

Nel soggetto 7 lo studio di connettività è stato effettuato solamente tra i due nodi centrali poiché la mappa del DMN individuata con ICA (figura 5.6) non ha permesso di localizzare i lobi parietali inferiori.

La relazione individuata con maggior frequenza è l'influenza causale della corteccia cingolata posteriore sulla corteccia prefrontale mediale. L'esistenza di una relazione di causalità tra questi due nodi era prevedibile considerando che la PCC e la MPFC sono i nodi che presentano una maggior correlazione tra le oscillazioni del segnale BOLD in bassa frequenza (Buckner, Andrews-Hanna, & al., 2008) e che tali nodi sono inoltre collegati anatomicamente (van Oort, van Cappellen, van Walsum, & al., 2014) (Khalsa, Mayhew, Chechlac, & al, 2014). Il verso della relazione di causalità stimata è però in contrasto con quanto ottenuto in altri studi di connettività effettiva del DMN mediante GCA (Jiao, Lu, Zhang, & al, 2011) (Zhou, Wang, Klahr, & al, 2011).

La colonna centrale della tabella 5.1 evidenzia che con i modelli multivariati la variabilità della rete stimata è molto alta, al contrario di quanto accade con i modelli bivariati. In tal caso infatti, in otto dei nove soggetti l'analisi evidenzia un'influenza della corteccia cingolata posteriore e dei lobi parietali inferiori sulla corteccia prefrontale mediale. In questo caso le connessioni stimate con la GCA contraddicono in parte le connessioni anatomiche: nessuna relazione di causalità viene individuata tra la corteccia cingolata posteriore e i lobi parietali inferiori, che si ipotizza siano invece collegati anatomicamente (Khalsa, Mayhew, Chechlac, & al, 2014), sono invece stimate delle connessioni tra i lobi parietali inferiori e la corteccia prefrontale mediale,

che non sembrano avere connessioni anatomiche sottostanti.

Dal confronto dei risultati ottenuti con i modelli multivariati e con quelli bivariati si nota che le relazioni di causalità stimate con i modelli multivariati vengono individuate anche con i modelli bivariati e che quest'ultima tecnica identifica in tutti i soggetti un numero maggiore di connessioni rispetto alla precedente. Nell'interpretazione di ciò si deve considerare che, come già spiegato al paragrafo 3.1.1, l'applicazione della GCA mediante modelli bivariati tende a introdurre nei risultati molti falsi positivi.

Per la difficile interpretazione dei risultati ottenuti con i modelli bivariati e per l'ampia variabilità di rete stimata dai modelli multivariati, l'impiego di questa tecnica non ha consentito la definizione di un modello di connettività effettiva per il DMN consistente tra i soggetti.

Si ritiene che il problema principale in tale applicazione sia il fatto che il principio secondo cui la causa precede sempre l'effetto può essere violato a causa della differente latenza della risposta emodinamica nei quattro nodi analizzati.

6.2.2 Modelli dinamici causali

I DCM sono stati implementati secondo quanto proposto in (Biswal & Di, 2014), utilizzando in un primo momento, per ciascun soggetto, le concatenazioni temporali delle singole acquisizioni. Per valutare se tutte le otto *box-car functions* proposte da Biswal fossero necessarie per la modellizzazione delle fluttuazioni del segnale BOLD in bassa frequenza è stata studiata la distribuzione dei parametri β_i $i=1, \dots, 8$ stimati dal General Linear Model, tali parametri rappresentano le ampiezze delle *box-car functions*. In base ai risultati ottenuti, un esempio è riportato in figura 5.8, si evince che le otto funzioni concorrono tutte in modo simile alla determinazione della risposta emodinamica.

Le reti analizzate sono presentate in figura 4.6. Avendo la necessità di testare modelli che coinvolgessero tutti i nodi del DMN, il soggetto 7 è stato escluso dall'analisi.

Degli otto soggetti rimasti, ne sono stati scartati altri due, per i quali, indipendentemente dal modello testato, il DCM forniva stime che si discostassero dai *priors*.

In figura 5.9 è riportato il modello ottimo di popolazione, i valori riportati sugli archi indicano i parametri medi di popolazione delle connessioni intrinseche e i relativi coefficienti di variazione (CV%). Lo spessore delle frecce dipende dalla forza della connessione stimata. La struttura del modello è in accordo con i risultati ottenuti da Biswal & Di, ciò non si può dire però per i valori dei parametri delle connessioni intrinseche.

In (Biswal & Di, 2014) tutte le connessioni stimate risultano più deboli e con CV maggiori, inoltre le influenze del lobo parietale inferiore sinistro sulla corteccia cingolata posteriore e sulla corteccia prefrontale mediale risultano trascurabili. Se ciò fosse vero significherebbe che il lobo

parietale inferiore sinistro ha un'attività che non viene influenzata dagli tre nodi del default mode network.

Da un punto di vista fisiologico si ritiene che i risultati presentati in figura 5.1 abbiano una maggior plausibilità: tali valori fanno supporre che il LPIS abbia un'azione di eccitazione sulle attività di PCC e di MPFC, al contrario del LPID che sembra invece avere un'azione di inibizione. Si nota inoltre che le azioni di eccitazione svolte dal lobo parietale inferiore sinistro sono simili, mentre le inibizione esercitate dal lobo parietale inferiore destro sono molto più deboli e tra loro diverse.

Questa possibile asimmetria funzionale del DMN può essere ricondotta al fatto che i lobi parietali destro e sinistro differiscono tra loro sia in termini di organizzazione strutturale che di funzioni cerebrali (Caspers & Eickhoff, 2008) (Robertson, Lamb, & al., 1988).

In accordo anche con quanto ottenuto in (Zhou, Wang, Klahr, & al, 2011) (Jiao, Lu, Zhang, & al, 2011) esiste inoltre una relazione di causalità tra la corteccia prefrontale mediale e la corteccia cingolata posteriore.

È ragionevole pensare che le influenze causali dei lobi e della corteccia prefrontale mediale sulla corteccia cingolata posteriore possano esercitarsi attraverso le connessioni anatomiche presenti tra questi nodi, individuate in (Khalsa, Mayhew, Chechlac, & al, 2014). Va sottolineato però che la relazione tra la connettività anatomica e la connettività effettiva è molto complessa e non sempre la presenza di una implica anche l'altra (O'Reilly, Croxson, & Jbabdi, 2013).

Per la selezione del modello è stata adottata una strategia agli effetti fissi, ritenendo fondata l'ipotesi che il modello fosse lo stesso per tutti i soggetti analizzati. Si ricorda che è stato analizzato un meccanismo fisiologico di base su una corte di soggetti sani. La probabilità a posteriori del modello vincente, adottando questo tipo di analisi, è pari al 100%. L'analisi agli effetti random è servita a confermare tale selezione (figura 5.10).

Per valutare quanto robusto fosse il risultato ottenuto, l'implementazione dei DCM è stato condotta anche sulle acquisizioni singole. Ancora una volta, indipendentemente dalle scelta di condurre un'analisi agli effetti fissi o agli effetti random, viene selezionato lo stesso modello (figura 5.11).

La figura 5.12 mostra che il DCM così formulato è in grado di fittare le fluttuazioni in bassa frequenza del segnale BOLD. Utilizzando tale approccio, i DCM classici che finora erano stati utilizzati solo per analisi fMRI *task-related* possono quindi essere estesi allo studio in resting-state.

Conclusioni

Il lavoro svolto in questa tesi si poneva due obiettivi: l'individuazione del *default mode network* a partire da dati fMRI in resting state e la definizione di un suo modello di connettività effettiva. Mediante l'*Independent Component Analysis* è stato possibile localizzare i quattro principali nodi del DMN: la corteccia prefrontale mediale, la corteccia cingolata posteriore, il lobo parietale inferiore destro e sinistro.

La connettività effettiva è stata studiata mediante l'analisi della causalità di Granger (GCA) e l'implementazione di modelli dinamici (DCM).

La GCA non ha consentito la formulazione di un modello di connettività effettiva consistente tra i soggetti a causa dell'ampia variabilità di rete stimata con i modelli multivariati e la difficile interpretazione dei risultati, per la possibile presenza di falsi positivi, ottenuti con i modelli bivariati.

L'utilizzo dei DCM per lo studio della connettività effettiva in resting-state si è basato su quanto proposto in (Biswal & Di, 2014). Poiché l'implementazione di modelli dinamici causali richiede la definizione di almeno un input del sistema, non definibile nelle analisi in resting-state, sono state utilizzate come ingressi forzanti le modellizzazioni mediante serie di Fourier delle fluttuazioni in bassa frequenza del segnale BOLD. Lo studio così condotto ha portato alla definizione di un modello di connettività effettiva del DMN. Tale modello descrive un'azione di eccitazione svolta dal lobo parietale inferiore sinistro sulla corteccia prefrontale mediale e sulla corteccia cingolata posteriore, alla quale si contrappone una debole azione di inibizione sulle stesse zone condotta dal lobo parietale inferiore destro. Il modello presenta inoltre una relazione di causalità diretta tra la corteccia prefrontale mediale e la corteccia cingolata posteriore. Il DCM si è quindi dimostrato un metodo più valido rispetto allo studio della causalità di Granger per inferire sulle connessioni presenti all'interno di un network confermando quanto esposto in (David, Guillemain, & al., 2008).

Bibliografia

- Aertsen, A., & Preissl, H. (1991). Dynamics of activity and connectivity in physiological neuronal networks. *VHC*.
- Agosta, F., Pievani, M., & Copetti, M. (2011). Resting state fMRI in Alzheimer's disease: beyond the default mode network. *Neurobiology of Aging*, vol. 33, no. 8.
- Auer, D. (2008). Spontaneous low-frequency blood oxygenation level-dependent fluctuations and functional connectivity analysis of the "resting" brain. *Magnetic Resonance Imaging* 26.
- Beckmann, C., & Smith, S. (2004). Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *Trans. Med. Imaging*, 23.
- Beckmann, C., De Luca, M., Devlin, J., & al., e. (2005). Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Phil. Trans. R. Soc. B*.
- Bertoldo, A. (2012). *Appunti del corso di neuroingegneria*. Università degli Studi di Padova.
- Biswal, B., & Di, X. (2014). Identifying the default mode network structure using the dynamic causal modeling on resting-state functional magnetic resonance imaging. *Neuroimage* 86.
- Biswal, B., Yetkin, F., & Haughton, V. (1995). Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn. Reson. Med.* 34 (4).
- Bollimunta, A., Chen, Y., Schroeder, C., & al, e. (2008). Neuronal mechanisms of cortical alpha oscillations in awake-behaving macaques. *J. Neurosci.* 28 (40).
- Bressler, L., & Seth, A. (2010). Wiener-Granger causality: a well established methodology. *Neuroimage*.
- Brovelli, A., Ding, M., Ledberg, A., & al, e. (2004). Beta oscillations in a large-scale sensorimotor cortical network: directional influences revealed by Granger causality. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
- Buckner, R., Andrews-Hanna, J., & al., e. (2008). The brain's default network: anatomy, function and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci* 1124.
- Buxton, R., Wong, E., & Frank, L. (1998). Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magnetic resonance in medicine*.
- Calhoun, V., Liu, J., & al., e. (2009). A review of group ICA for fMRI data and ICA for joint inference of imaging, genetic and ERP data. *Neuroimage*, 45.
- Caspers, S., & Eickhoff, S. e. (2008). The human inferior parietal lobule in stereotaxic space. *Brain Struct. Funct.* 212(6).
- Cole, D., Smith, S., & Beckmann, C. (2010). Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state fMRI data. *frontiers in systems neuroscience*.

- David, O., Guillemain, L., & al., e. (2008). Identifying neural drivers with fMRI: an electrophysiological validation. *Plos Biol* 6(12).
- Deshpande, G., & Sathian, H. (2010). Effect of hemodynamic variability on Granger causality analysis of fMRI. *Neuroimage*.
- Elseoud, A., Starck, T., Remes, J., & al, e. (2010). The effect of model order selection in group PICA. *Human Brain Mapping* 31(8).
- Fox M.D., R. M. (2007). Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nature Reviews, Neuroscience* 8.
- Fox, M., Snyder, A., Vincent, J., & al, e. (2005). The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103.
- Friston, K. (2002). Bayesian estimation of dynamical systems: an application to fMRI. *Neuroimage* 16.
- Friston, K., Frith, C., & Frackowiak, R. (1993). Time-dependent changes in effective connectivity measured with PET. *Hum. Brain Mapp.*1.
- Friston, K., Harrison, L., & Penny, W. (2003). Dynamic causal modelling. *Neuroimage*.
- Friston, K., Kahan, J., Biswal, B., & Razi, A. (2014). A DCM for resting state fMRI. *Neuroimage* [Epub ahead of print].
- Gallo, A., Esposito, F., & Sacco, R. (2012). Visual resting-state network in Relapsing-Remitting MS with and without previous optic neuritis. *Neurology*, vol. 79, no. 14.
- Geweke, J. (1982). Measurement of linear dependence and feedback between multiple time series. *J. Am. Stat. Assoc.* 77.
- Geweke, J. (1984). Measures of conditional linear dependence and feedback between time series. *J. Am. Stat. Assoc.* 79.
- Granger, C. (1969). Investigating causal relations by econometric models and cross-spectral methods. *Econometrica* 37, 424-438.
- Granger, C., & Newbold, P. (1974). Spurious regressions in econometrics. *J. Econometrics* 2.
- Greicius, M., & Menon, V. (2004). Default mode activity during a passive sensory task: uncoupled from deactivation but impacting activation . *Cogn. Neurosci.*, 16.
- Greicius, M., Krasnov, B., Reiss, A., & Menon, V. (2003). Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* ,100.
- Greicius, M., Supekar, K., Menon, V., & Dougherty, R. (2009). Resting-state functional connectivity reflects structural connectivity in the Default Mode Network. *Cerebral Cortex*, 19.
- Guo, Y., & Pagnoni, G. (2008). A unified framework for group independent component analysis for multi-subject fMRI data. *Neuroimage* 42.

-
- He, B. e. (2007). Breakdown of functional connectivity in frontoparietal networks underlie behavioral deficits in spatial neglect. *Neuron* 53.
- Howseman, A., & Bowtell, R. (1999). *Functional magnetic resonance imaging: imaging techniques and contrast mechanisms*. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.
- Hyvarinen, A., & Oja, E. (1997). A fast fixed-point algorithm for independent component analysis. *Neural Computation* 9.
- Hyvarinen, A., & Oja, E. (2000). Independent component analysis: algorithms and applications. *Neural Networks* 13.
- Ingvar, D. (1979). "Hyperfrontal" distribution of the cerebral grey matter flow in resting wakefulness: on the functional anatomy of the conscious state. *Acta Neurol. Scand.*, 60.
- Jiao, Q., Lu, G., Zhang, Z., & al, e. (2011). Granger causal influence predicts BOLD activity levels in the Default Mode Network. *Human Brain Mapping* 32.
- Kelly, C., & Castellanos, F. (2014). Strengthening connections: functional connectivity and brain plasticity. *Neuropsychol Rev*, 24.
- Khalsa, S., Mayhew, S., Chechlacz, M., & al, e. (2014). The structural and functional connectivity of the posterior cingulate cortex: Comparison between deterministic and probabilistic tractography for the investigation of structure-function relationships. *Neuroimage [Epub ahead of print]*.
- Kruger, G., & Glover, G. (2001). Physiological noise in the oxygenation-sensitive magnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Med.* 46.
- Lang, E., Tomé, A., Keck, I., Gòrriz-Saez, J., & Puntinet, C. (2012). Brain connectivity analysis: a short survey. *Computational Intelligence and Neuroscience*.
- Lewis, C., Baldassare, A., Comitteri, G., & et al. (2009). Learning sculpts the spontaneous activity of the resting human brain. *Proceedings of the national academy of science of the United States of America*, 106.
- Li, B., Daunizeau, J., Stephan, K., & al., e. (2011). Generalized filtering and stochastic DCM for fMRI. *Neuroimage* 58.
- Lukic, A., Wernick, M., Hansen, L., & al, e. (2002). An ICA algorithm for analyzing multiple data sets. *Image Processing*.
- McKeown, M., Makeig, S., Brown, G., & al, e. (1998). Analysis of fMRI data by blind separation into independent spatial components. *Human Brain Mapping*, 6(3).
- Miao, X., Wu, X., Li, R., Chen, K., & Yao, L. (2011). Altered connectivity pattern of hubs in default-mode network with Alzheimer's disease: an Granger causality modeling approach. *PLoS One* 6(10).
- Nalatore, H., Ding, M., & Rangarajan, G. (2007). Mitigating the effects of measurement noise on Granger causality. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 75.

- Neumaier, A., & Schneider, T. (2001). Estimation of parameters and eigenmodes of multivariate autoregressive models. *ACM Trans. Math. Softw.*, 27(1).
- Neumann, J., & Lohmann, G. (2003). Bayesian second-level analysis of functional magnetic resonance imaging. *Neuroimage* (20).
- Niazy, R., Xie, J., Miller, K., & al, e. (2011). Spectral characteristics of resting state networks. *Progress in Brain Research*, 193.
- Nir, Y., Hasson, U., Levy, I., Yeshurun, Y., & Malach, R. (2006). Wide-spread functional connectivity and MRI fluctuations in human visual cortex in the absence of visual stimulations. *NeuroImage*, vol. 30, no. 4.
- Nir, Y., Levy, I., & al., e. (2006). Widespread functional connectivity and fMRI fluctuations in human visual cortex in the absence of visual stimulation. *Neuroimage*, 30 .
- Ogawa, S. (1990). Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.
- O'Reilly, J., Crosson, P., & Jbabdi, S. (2013). Causal effect of disconnection lesions on interhemispheric functional connectivity in rhesus monkeys. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 110.
- Parvizi, J., van Hoesen, G., Buckwalter, J., & Damasio, A. (2006). Neural connections of the posteromedial cortex in the macaque. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* .
- Penny, W. (2011). Comparing Dynamic Causal Models using AIC, BIC and Free Energy. *Neuroimage*.
- Raichle, M., & Mintun, M. (2006). Brain work and brain imaging. *Annual Review of Neuroscience*, 29.
- Raichle, M., MacLeod, A., Snyder, A., Powers, W., & al., e. (2001). A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (98).
- Riera, J., Watanabe, J., Kazuki, I., & al., e. (2004). A state-space model of the hemodynamic approach: nonlinear filtering of BOLD signals. *Neuroimage* 21.
- Robertson, L., Lamb, M., & al., e. (1988). Effects of lesions of temporal-parietal junction on perceptual and attentional processing in humans. *J. Neurosci* 8(10).
- Rocca, M., Esposito, F., Valasina, P., & Pagani, E. (2011). Extra-visual functional and structural connection abnormalities in Leber's hereditary optic neuropathy. *PLoS ONE*, vol. 6, no. 2.
- Roebroeck, A., Formisano, E., & Goebel, R. (2005). Mapping directed influence over the brain using Granger causality and fMRI. *Neuroimage*, 25.
- Rypma, B., Berger, J., Prabhakaran, V., Bly, B., & Kimberg, D. (2006). Neural correlates of cognitive efficiency. *Neuroimage* 33(3).

-
- Sacco, R., Bonavita, S., Esposito, F., Tedeschi, G., & Gallo, A. (2013). The contribution of Resting State Networks to the Study of Cortical Reorganization in MS. *Multiple Sclerosis International*.
- Schmithorst, V., & Holland, S. (2004). Comparison of three methods for generating group statistical inferences from independent component analysis of functional magnetic resonance imaging data. *J. Magn. Reson. Imag.* 19.
- Seth, A. (2010). A MATLAB toolbox for Granger causal connectivity analysis. *J. Neurosci. Methods*, 186(2).
- Shannon, B., Snyder, A., Vincent, J., & al, e. (2006). Spontaneous correlations and the default network: effects of task performance. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 119.5.
- Shulman, G., Fiez, J., Corbetta, M., Buckner, R., & al., e. (1997). Common blood flow changes across visual task: II.: decreases in cerebral cortex. *F. Cogn. Neurosci.*, 9.
- Smith, S., Fox, P., Miller, K., & et al. (2009). Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Pnas Early Edition*.
- Sokoloff, L., Mangold, R., Wechsler, R., Kenney, C., & Kety, S. (1955). The effect of mental arithmetic on cerebral circulation and metabolism. *F. Clin. Invest.*, 34.
- Sumowski, J., Wylie, G., & Leavitt, V. e. (2013). Default network activity is a sensitive and specific biomarker of memory in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, vol. 19, no. 2.
- Suzuki, W., & Amaral, D. (1994). Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: cortical afferents. *J. Comp Neurol.* 350.
- Svensen, M., Kruggel, F., & Benali, H. (2002). ICA of fMRI group study data. *Neuroimage* 16.
- Tessitore, A., Amboni, A., Esposito, F., & al., e. (2012). Resting-state brain connectivity in patients with Parkinson's disease and freezing of gait. *Parkinsonism and Related Disorders*, vol.18, no. 6.
- van den Heuvel, M., & Hulshoff Pol, H. (2010). Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology* 20.
- van Oort, E., van Cappellen, A., van Walsum, D., & al., e. (2014). An investigation into the functional and structural connectivity of the Default Mode Network. *NeuroImage* 90.
- Vincent, J., Snyder, A., Fox, M., Shannon, B., & al, e. (2006). Coherent spontaneous activity identifies a hippocampal-parietal memory network. *J. Neurophysiol.*, 96.
- Wen, X., Rangarajan, G., & Ding, M. (2013). Is Granger causality a viable technique for analyzing fMRI data? . *PLOS ONE*.
- Wiener, N. (1956). The theory of prediction. In E. Beckenbach, *Modern Mathematics for Engineers*. McGraw-Hill.
- Witt, S., & Meyerand, M. (2009). The effects of computational method, data modelling and TR on effective connectivity results. *Brain Imaging Behav* 3(2).

Zhenyu, Z., Wang, X., Nelson, J., & al., e. (2011). A conditional Granger causality model approach for group analysis in functional MRI. *Magn. Reson. Imaging*.

Zhou, Z., Wang, X., Klahr, N., & al., e. (2011). A conditional granger causality model approach for group analysis in functional MRI. *Magn Reson Imaging* 29(3).