

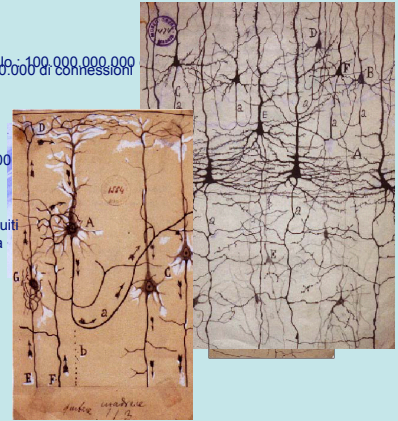
Introduzione ad alcuni metodi per lo studio in vivo della connettività funzionale e della connettività effettiva

Nicola Vanello

Cervello: 100.000.000.000
1.000.000.000.000.000 di connessioni

Corteccia: 30.000.000.000

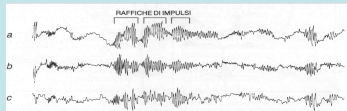
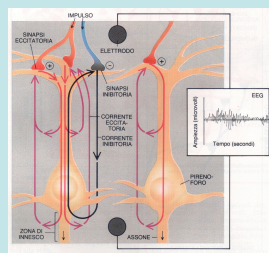
il numero possibile di circuiti neuronali è pari a circa 10^4 (1.000.000.000)



50 diversi tipi di neuroni

Differenza delle connessioni:

eccitatorie inibitorie

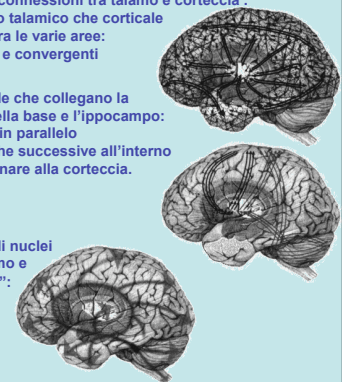


Complessità anatomica

Sistema talamocorticale: trama di connessioni tra talamo e corteccia. Separazione funzionale sia a livello talamico che corticale. Integrazione tramite connessioni tra le varie aree: connessioni reciproche divergenti e convergenti

Connessioni unidirezionali parallele che collegano la corteccia al cervelletto, ai gangli della base e l'ippocampo: dalla corteccia partono delle linee in parallelo che raggiungono stazioni sinaptiche successive all'interno delle diverse strutture per poi ritornare alla corteccia. Poche interazioni locali.

Sistema dei valori: connessioni a ventaglio originato in un insieme di nuclei del tronco cerebrale e dell'ipotalamo e proiettano diffusamente "ovunque": rilasciano neuromodulatori che influenzano l'attività sinaptica e la plasticità neurale



Livelli di analisi

Psicologia: analizzare il comportamento dell'esterno

Neuropsicologia: lega il comportamento all'interazione delle varie aree cerebrali

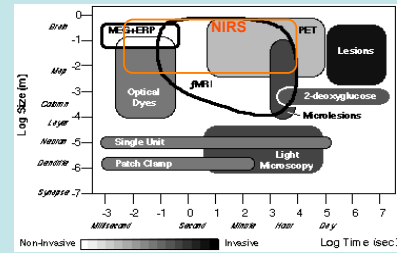
Neurofisiologia: studia l'attività dei neuroni organizzati in reti, individuate tramite indagini neuroanatomiche, sia per capire le proprietà intrinseche dei neuroni sia per capire il loro ruolo in sottosistemi, evidenziati da indagini neuropsicologiche

Biologia molecolare e della cellula e biofisica: correlano la struttura e la connettività delle membrane e dei sottosistemi che costituiscono le cellule con le caratteristiche funzionali sia a breve che a medio lungo termine

Il cervello opera a diverse scale spazio-temporali: lo studio dinamico è applicabile ad ogni livello ed ogni livello di analisi è macroscopico rispetto al livello immediatamente sottostante e microscopico rispetto a quello soprastante.

Problematica della relazione tra l'attività misurata ai diversi livelli (misurazioni multielettrodo e fMRI o PET)

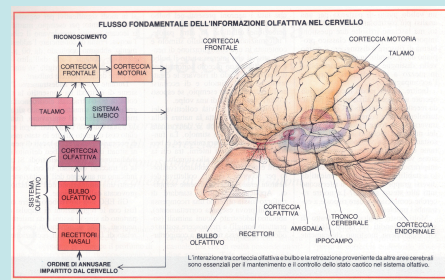
Metodi di Indagine

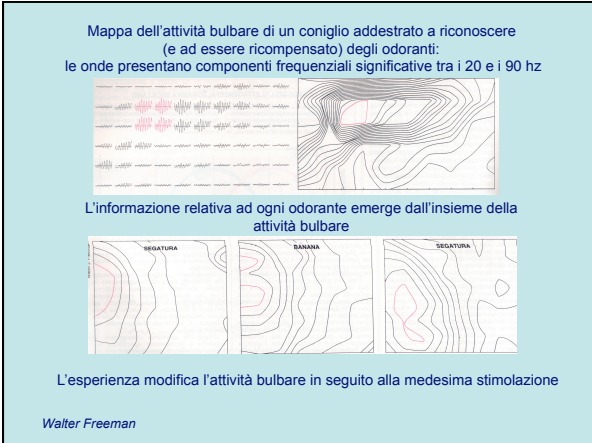


J.W. Belliveau, MGH Boston, (Science, Vol 261, 30 July 1993)

Metodi di Indagine

Technique	Variable	Time Resol.	Spatial Resol.	Comments
2D-Surface Imaging	133-Xe rCBF	5-7 min	2.5 cm	nontomographic no deep structures 3 runs
SPECT	99m-Tc-HMPAO/rCBF 99m-Tc-ECD/rCBF 133-Xe/rCBF	1-2 min 1-2 min 2 min	7 mm 7 mm 7 mm	semiquant.; 2 runs 2 runs 3 runs
PET	[15-O]water/rCBF [18-F]FDG/rCMRglc	15 sec-1 min 15-30 min	5 mm 5 mm	multiple runs 1 run
ERP	scalp-recorded electric potential	1 msec	Very coarse	many trials
MEG	magnetic field/ current source	1 msec	A few mm	many trials nonunique soln.
fMRI	blood oxygenation	A few sec.	2 mm	many runs semiquant. source of signal





Definizioni di Connettività

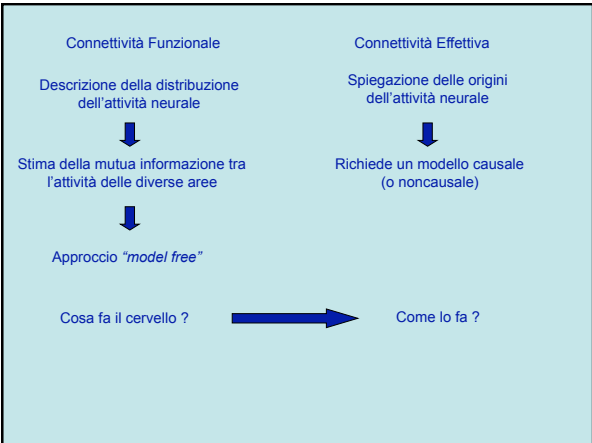
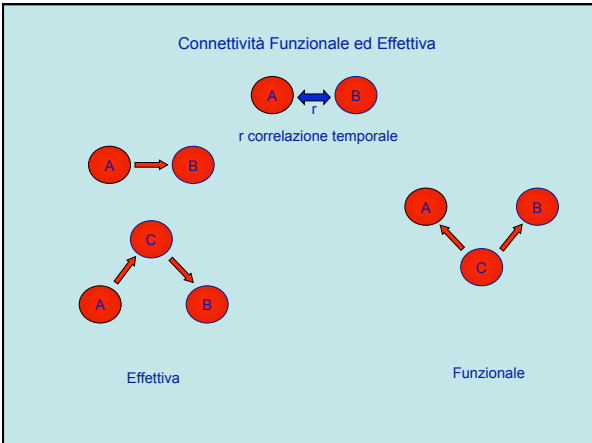
Connettività Anatomica:
può essere definita come il numero di assoni che dalla regione A vanno alla regione B per unità di area di B (e il tipo di connessione ??)

Connettività Funzionale:
la correlazione temporale tra eventi neurofisiologici distanti spazialmente

Friston, K.J., Frith, C.D., Frackowiak, R.S.J., 1993. Time-dependent changes in effective connectivity measured with PET. Hum. Brain Mapp. 1, 69-80.

Connettività Effettiva:
l'influenza che un sistema neurale, in maniera diretta o indiretta, esercita su un altro

Friston, K.J., Frith, C.D., Liddle, P.F., Frackowiak, R.S.J., 1993b. Functional connectivity: the principal component analysis of large (PET) data sets. J. Cereb. Blood Flow Metab. 13, 5-14.

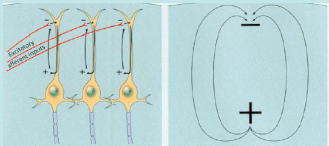



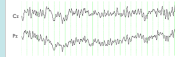
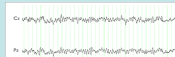

Quali sono le sorgenti dell'EEG?

Cellule Piramidali della corteccia: potenziali post sinaptici

Perché?


**Sono disposte secondo un orientamento colonnare
Vengono attivate in modo sincrono**



Delta (0-4 Hz, ampiezza variabile)		Sonno ad onde lente, meditazione, empatia
Theta (4-8 Hz, >20µV)		Stress emotivo (frontale centrale), ispirazione creativa e meditazione, stadio 2 sonno NREM
Alpha (8-12 Hz, 30-50 µV)		Sono le più diffuse, rilassamento, facilità
Beta (13-36 Hz, 5-30 µV)		Pensiero attivo, calcolo, concentrazione, attenzione
Gamma (>36 Hz)	È l'unica frequenza che si trova in tutte le aree. Legata alla coscienza – elaborazione distribuita delle informazioni	

Studio della connettività funzionale da dati EEG

Gevins e altri hanno utilizzato l'analisi delle covarianza dei potenziali event related (ERP). Questo permette di avere una migliore risoluzione temporale relativa agli eventi di interesse e di non "schiacciare" la dinamica mediando su registrazioni continue



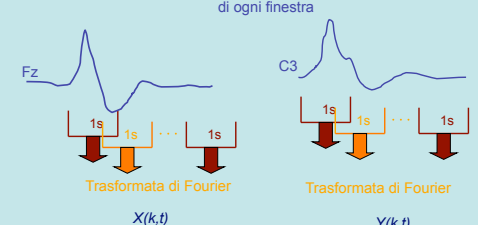
I dati vengono ottenuti mediando diverse prove (epoche)

Gevins, A.S., Cuttito, B.A., Bressler, S.L., Morgan, N.H., White, R.M., Illes, J., Greer, D.S., 1989. Event-related covariances during a bimanual visuomotor task. II. Preparation and feedback. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 74, 147–160.

Studio della connettività funzionale da dati EEG

Coerenza

Le registrazioni vengono divise in finestre e analizzate in frequenza: la divisione in finestre comporta l'assunzione di stazionarietà del sistema all'interno di ogni finestra



k è un intervallo di frequenze
t indica la finestra

Auto e Cross Spectral Density

Auto spettri

$$G_{xx}(k, t) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |X(k, t)|^2 \quad G_{yy}(k, t) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |Y(k, t)|^2$$

Cross-spettro

$$G_{xy}(k, t) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N X(k, t) * Y(k, t)^*$$

Coerenza

$$C_{xy}(k, t) = \frac{|G_{xy}(k, t)|^2}{G_{xx}(k, t) G_{yy}(k, t)}$$

Coerenza mediata nella banda k_1-k_2

$$C_{xy}(\hat{k}, t) = \frac{\left| \sum_{k=k_1}^{k_2} G_{xy}(\hat{k}, t) \right|^2}{\sum_{k=k_1}^{k_2} G_{xx}(\hat{k}, t) \sum_{k=k_1}^{k_2} G_{yy}(\hat{k}, t)}$$

Event-related coherence as a tool for studying dynamic interaction of brain regions

Colin Andrew, Gert Pfurtscheller

3 sec

Alpha Band (10-12 Hz)

4 sec

Alpha Band (10-12 Hz)

6 sec

Gamma Band (38-40 Hz)

Dito dx o sx Movimento

C3 C4 left and right sensorimotor cortex
ERD variazione % della potenza del segnale rispetto al riposo
Sincronizzazione SMA e aree motorie a riposo nella banda α desincronizzazione durante la pianificazione e l'esecuzione del movimento
Incremento della coerenza durante la pianificazione del movimento e l'esecuzione tra SMA e area controlaterale nella β

Andrew C., Pfurtscheller G., 1996, Event-related coherence as a tool for studying dynamic interaction of brain regions, *Electroenceph. Clinical Neurophysiology*, 98:144-148

L'eeg come misura effettuata su un sistema dinamico

Viene considerato un sistema causale e deterministico

Le relazioni funzionali $f(\cdot)$ sono non lineari

$$\frac{dx(t)}{dt} = f(x(t))$$

x rappresenta lo stato del sistema e $x(t)$ la sua evoluzione o traiettoria

Procedura del *time delay embedding*:
a partire dalla serie temporale della misura è possibile ricostruire lo spazio delle fasi

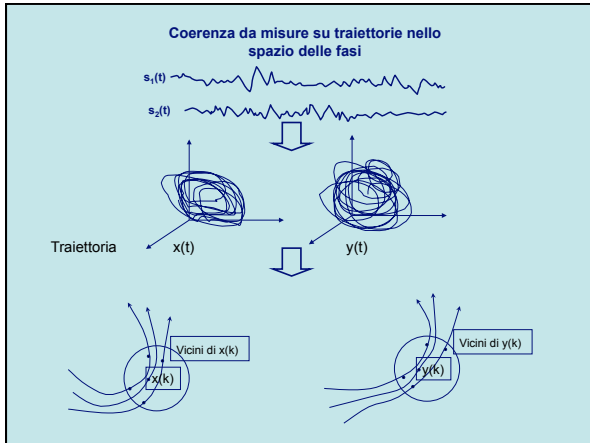
$x(t) = \{s(t), s(t+\tau), s(t+2\tau), \dots, s(t+m\tau)\}$

Ricostruzione al computer dell'attività elettrica del bulbo olfattivo di coniglio

Assenza di odorante

Transizione di stato

Durante la stimolazione olfattiva



Distanza tra i veri R vicini di x(k)

$$D_k^R(x) = \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \|x(k) - x(r_k(i))\|^2$$

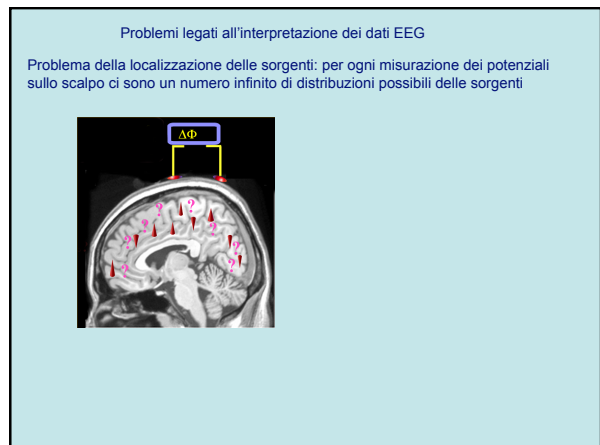
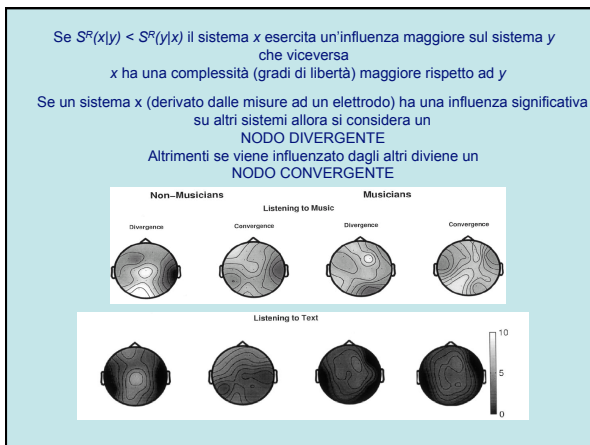
Distanza con i vicini mutui: la distanza con i punti di x che hanno gli stessi indici dei vicini di y(k)

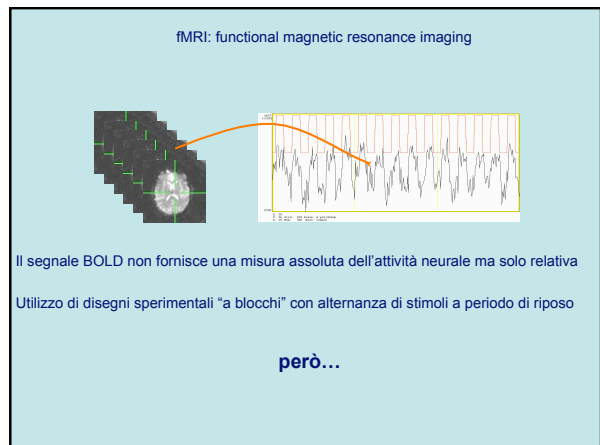
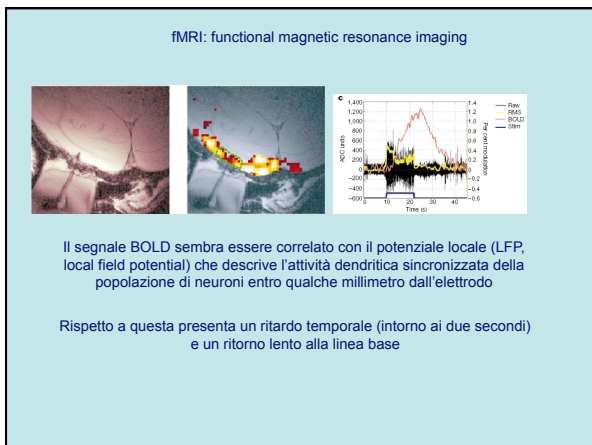
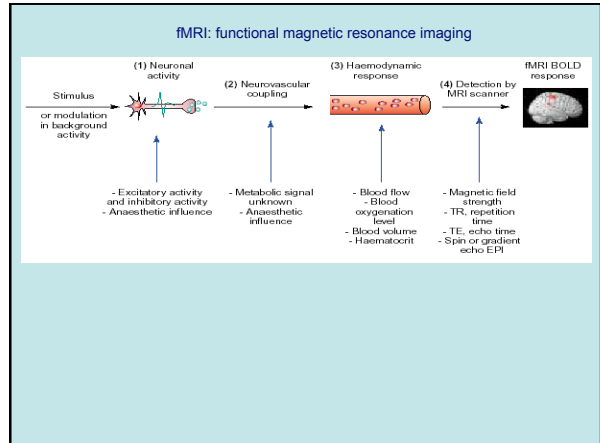
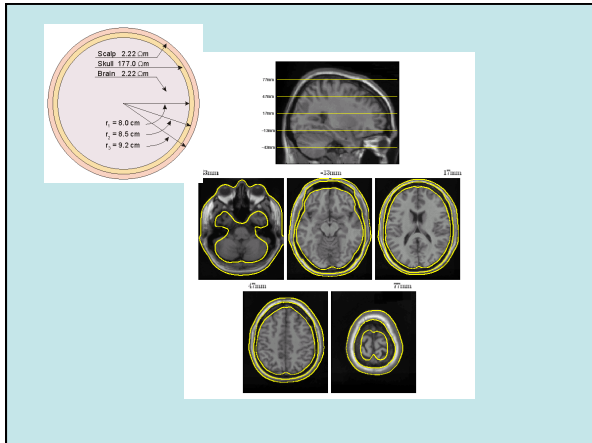
$$D_k^R(x|y) = \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \|x(k) - x(s_k(i))\|^2$$

Indice di somiglianza

$$S^R(x|y) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \frac{D_k^R(x)}{D_k^R(x|y)}$$

Non è una misura simmetrica $S^R(x|y) \neq S^R(y|x)$





Analisi serie temporali da dati fMRI

fcMRI: functional connectivity MRI

Viene analizzato il coefficiente di correlazione tra le serie temporali estratte da diverse regioni in condizioni di riposo: non viene svolto nessun compito.

Si considera la serie temporale estratta da un voxel di interesse (seed) e si calcola il coefficiente di correlazione tra questa e le serie temporali estratte dagli altri voxel

Biswal ha osservato che il coefficiente di correlazione tra gli andamenti temporali del segnale BOLD è significativo tra le aree motorie primarie (M1) e l'area motoria supplementare (SMA)

Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. **Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MR imaging.** *Magn Reson Med* 1995;34:537-541

Analisi serie temporali da dati fMRI

Nel lavoro di Cordes, 2001 si cerca il contributo delle varie frequenze al coefficiente di correlazione

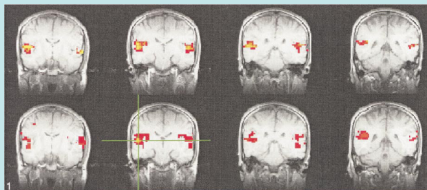
$$cc_n = \frac{N(\text{Re}(w_n)\text{Re}(\lambda_n) + \text{Im}(w_n)\text{Im}(\lambda_n))}{D}$$

$$cc = \sum_{n=1}^{N-1} cc_n$$

cc_n coefficiente di correlazione alla frequenza n-esima

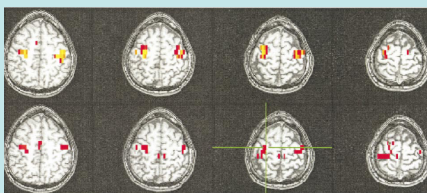
N sono il numero di punti temporali
 w_n e λ_n sono le trasformate di Fourier dei segnali estratti da due voxel
 D è un coefficiente di normalizzazione

Cordes D., e altri, Frequencies Contributing to Functional Connectivity in the Cerebral Cortex in "Resting-state" Data, *AJNR Am J Neuroradiol* 22:1326-1333, August 2001



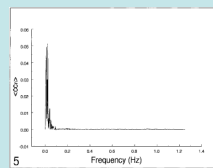
Svolgimento del compito

A riposo

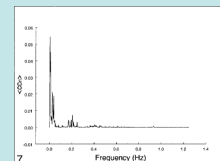


Svolgimento del compito

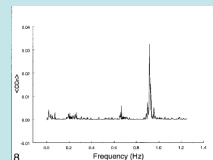
A riposo



Contributo delle varie frequenze al coefficiente di correlazione per la corteccia uditiva



Contributo delle varie frequenze al coefficiente di correlazione per la corteccia motoria



Contributo delle varie frequenze al coefficiente di correlazione per la arteria carotidea (Richiede un TR basso in modo da evitare l'aliasing delle frequenze cardiache e respiratoria)

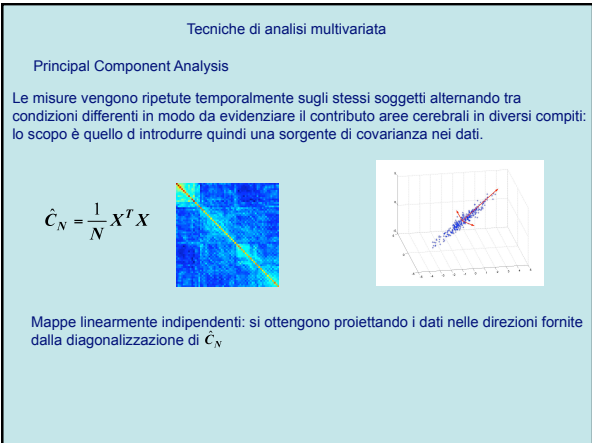
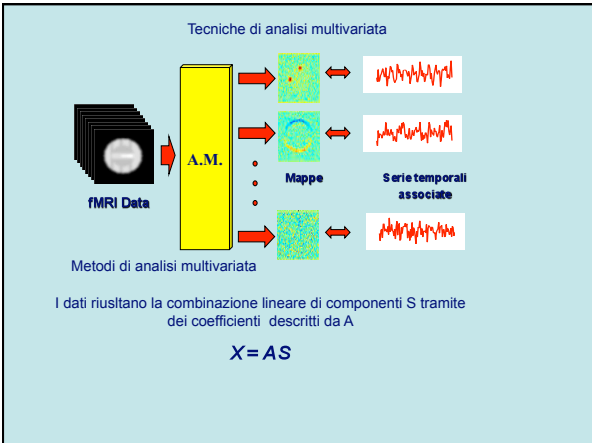
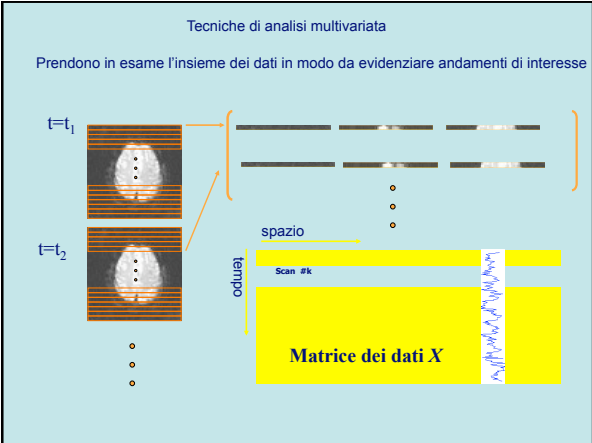
fcMRI: functional connectivity MRI

Il maggior contributo alla connettività è fornito dalle variazioni a frequenza inferiore ai 0.1 Hz

Questo tipo di connettività potrebbe essere legata all'attività spontanea - scariche a bassa frequenza correlate temporalmente

Come può l'esecuzione di un compito modulare il livello di connettività?

Il livello di attenzione al movimento può ad esempio modulare il grado di connettività tra la regione V5 e le regioni parietali posteriori



Tecniche di analisi multivariata
Independent Component Analysis

Mappe e serie temporali associate

Tecniche di analisi multivariata
Independent Component Analysis

Indipendenza statistica: fattorizzazione della funzione densità di probabilità congiunta

$$p(u) = \prod_{i=1}^N p_i(u_i)$$

dove le $p_i(u_i)$ sono le funzioni densità di probabilità delle singole componenti u_i

La decomposizione in componenti indipendenti può essere ottenuta minimizzando la mutua informazione tra le componenti estratte, ad esempio massimizzando la non gaussianità delle componenti

INDEPENDENT COMPONENT ANALYSIS OF AUDITORY FMRI RESPONSES
Fabrizio Esposito, Elia Formisano, Erich Seifritz, Raffaele Elefante, Rainer Goebel and Francesco Di Salle

La ICA separa delle componenti indipendenti anche nel caso di stimolazioni dello stesso tipo

Connettività effettiva

Relazione tra connettività effettiva ed efficacia sinaptica (o l'effetto che esercita l'attività di un neurone su un altro)

Aersten and Preissl, 1991: "notion of effective connectivity should be understood as the experiment and time dependent, simplest possible circuit diagram that would replicate the observed timing relationships between the recorded neurons"

Problema del *task related confounding effects* nella neurofisiologia: proiezioni aspecifiche

Connettività effettiva: come sono connesse le aree e quali aree sono connesse

U

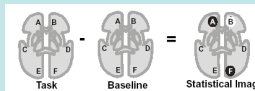
Structural Equation Modeling SEM

Richiede:
 un modello anatomico costituito dalle aree considerate e dalle connessioni tra le aree (mono/bidirezionali)

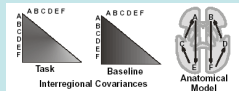
un modello funzionale che partendo dalla struttura del modello ricavi una matrice di covarianza tra le grandezze in gioco

Come il compito (o il contesto) modifica l'accoppiamento tra le aree?

Structural Equation Modeling SEM



Task - Baseline = Statistical Image



Task Interregional Covariances - Baseline Interregional Covariances = Anatomical Model



Selezione delle aree coinvolte nell'esecuzione del compito: studi fMRI, PET, motivazioni teoriche

Connessioni basate sullo studio della neuroanatomia
 Difficoltà per quanto riguarda il numero di parametri da stimare: compromesso tra accuratezza anatomica e affidabilità dei risultati

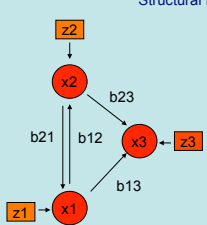
Calcolo delle covarianza dei dati nelle diverse condizioni di interesse

↓

Stima dei coefficienti di connettività (path coefficients)

Structural Equation Modeling SEM



$$\bar{x}I = \bar{x}B + \bar{z}$$

$$\bar{x} = inv(I - B) * \bar{z}$$

$x_1 = b_{11}x_1 + b_{12}x_2 + b_{13}x_3 + z_1$
 $x_2 = b_{21}x_1 + z_2$
 $x_3 = b_{23}x_2 + z_3$

Xi attività nella area i-esima
 Zi rappresenta i residui, cioè la varianza non spiegata dal modello
 Bij è il coefficiente di connessione (path coefficient) tra le aree i e j

Structural Equation Modeling SEM

Le incognite sono i coefficienti bij e il vettore z
 Vengono stimati in maniera tale che massimizzino una funzione di somiglianza tra la matrice di covarianza calcolata dai dati y

$$S = \frac{y^T y}{N - 1}$$

e quella imposta dal modello

$$\Sigma = \bar{x}^T \bar{x} = inv(I - B)^T C^T inv(I - B)$$

La funzione di massima verosimiglianza

$$F_{ML} = \log|\Sigma| + tr(S * inv(\Sigma)) - \log|S| - p$$

Structural Equation Modeling SEM

McIntosh, Memory 1999

Perceptual Matching
Riconoscimento di volti: utilizzo di ritardi crescenti tra la prima immagine e quella da riconoscere

Perceptual matching : le immagini vengono presentate contemporaneamente

Short Delay Intermediate Delay Long Delay

Short delay rispetto perceptual matching: incremento connessioni emisfero destro, riduzione emisfero sinistro

Si evidenzia in presenza di un lungo ritardo, uno spostamento dell'attività a sinistra un incremento degli effetti nella corteccia prefrontale e tra questa e la corteccia occipitale temporale

Dynamical Causal Modeling

L'attività cerebrale misurata è vista come emergente da un sistema dinamico deterministico e nonlineare
Il sistema è descritto come un sistema a più ingressi e più uscite (MIMO)

Differenze con SEM:
SEM L'attività è causata da fattori intrinseci (innovazioni) non descritti dal modello DCM Le variazioni sono causate dagli ingressi: gli ingressi influenzano direttamente l'attività o modificano le connessioni tra i nodi

Dynamical Causal Modeling

DCM è utilizzata soprattutto per rilevare i cambiamenti nella connettività effettiva imposti dal compito: questi vengono descritti tramite relazioni bilineari cioè che schematizzano, tramite relazioni del secondo ordine l'influenza che ingressi e l'attività in una regione sorgente, hanno su una regione bersaglio

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

z esprime l'attività in una data regione
 u sono gli ingressi
 B esprime la relazione bilineare

Grande numero di parametri: sebbene sia uno scenario realistico implica una difficoltà di soluzione

È necessario stimare i parametri utilizzando dei vincoli o meglio delle conoscenze a priori sui parametri da stimare: gli approcci classici assumono che ogni regione possa essere connessa ad ogni altra, in questo modello gli ingressi ad esempio sono direttamente connessi ad una regione

Dynamical Causal Modeling

Stimolo visivo: punti in movimento radiale

Si chiede ai soggetti di prestare attenzione alle variazioni di velocità in alcuni momenti

In realtà le variazioni non avvengono

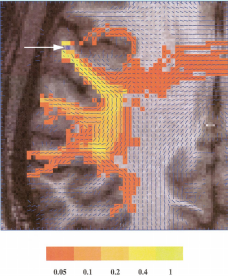
L'effetto del movimento è mediato, tramite una relazione bilineare, dalle afferenze provenienti da V1

Si vede che l'effetto della attenzione modula l'attività di V5 attraverso le variazioni delle connessioni con la corteccia parietale superiore e quelle tra questa ultima area e il giro frontale inferiore

DTI Diffusion Tensor Imaging

Può fornire dei vincoli per quanto riguarda la connettività anatomica

Viene utilizzata il Diffusion Weighted Imaging in modo da visualizzare gli effetti sulla diffusione dell'acqua di strutture anisotrope come le fibre assonali



C_d (A->B) coefficiente che esprime la frazione di fibre assonali che partono da un elemento di volume A e arrivano ad un altro B

Ad oggi non fornisce informazioni sulla direzionalità delle connessioni né sulla classificazione funzionale (tipo delle connessioni: tipo dei recettori alle sinapsi, il rapporto tra neuroni eccitatori ed inibitori, il numero delle connessioni, il loro impatto fisiologico)

An Investigation of Functional and Anatomical Connectivity Using Magnetic Resonance Imaging Martin A. Koch, David G. Norris, and Margret Hund-Georgiadis NeuroImage 16, 241–250 (2002)

Transcranial Magnetical Stimulation

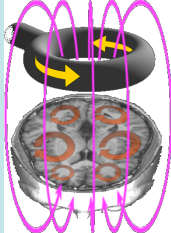
Permette di alterare, in modo controllato, l'attività di una regione cerebrale

Non richiede lo svolgimento da parte del soggetto di alcun compito: fattori come l'abilità del soggetto o la strategia usata nello svolgere il compito non influenzano il risultato

È possibile combinare la TMS con paradigmi complessi (PET, fMRI, EEG)

Variazioni rapide di campo magnetico:

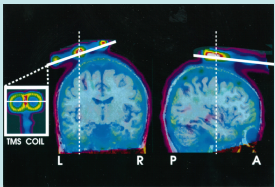
Valore del campo 1.5 T
Velocità di un impulso 100µs



Il posizionamento della bobina può essere effettuato tramite una localizzazione stereotassica da immagini MRI

Transcranial Magnetical Stimulation

Transcranial Magnetic Stimulation during Positron Emission Tomography: A New Method for Studying Connectivity of the Human Cerebral Cortex
Tomas Paus, Robert Jech, Christopher J. Thompson, Roch Comeau, Terry Peters, and Alan C. Evans



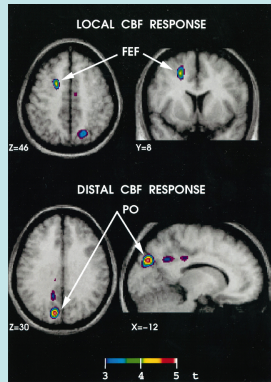
Viene eseguita la stimolazione della Frontal Eye Field (FEF) implicata nel movimento oculare: la zona viene stimolata variando il numero di stimolazioni al minuto (5, 10, 15, 20, 25, 30) ed eseguita un ANCOVA (effetto principale-soggetti, numero di impulsi-covariata)

Transcranial Magnetical Stimulation

Attivazioni

FEF (zona di stimolazione)

Corteccia parieto-occipitale mediale



Possibili influenze:

direzionalità del campo di eccitazione

Paradigma di stimolazione

