

RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE FUNZIONALE (fMRI)

I cambiamenti dell'attività cellulare del cervello sono associati ai cambiamenti delle richieste energetiche: quanto maggiore è l'attività funzionale di un tessuto cerebrale, tanto maggiore sarà il suo metabolismo e, conseguentemente, le richieste energetiche aumenteranno. I neuroni, più delle altre cellule del corpo umano, necessitano di un continuo apporto energetico: tale richiesta è soddisfatta attraverso il sangue.

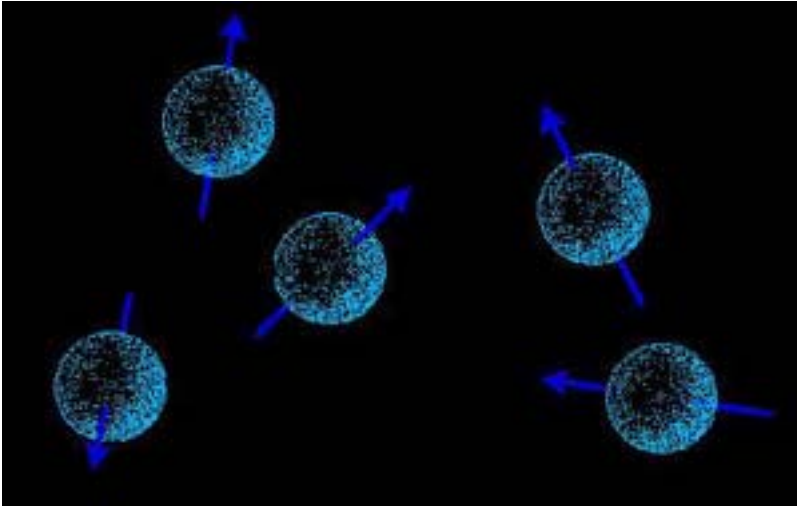
Negli ultimi 20 anni, si è assistito allo sviluppo di tecniche molto sofisticate che, sfruttando le variazioni emodinamiche prodotte dall'attività neuronale, sono in grado di identificare le aree attivate del cervello umano. Queste tecniche sono la risonanza magnetica funzionale (o fMRI) e la tomografia ad emissione di positroni (PET).

La risonanza magnetica nucleare (MRI) è una tecnica entrata in uso negli anni '70 allo scopo di ottenere immagini dettagliate dell'anatomia cerebrale sfruttando le proprietà nucleari di certi atomi in presenza di campi magnetici. Attraverso tecniche di rilevamento ultrarapido dei dati, è divenuta possibile l'acquisizione di immagini in tempi talmente ridotti (dell'ordine del centesimo di secondo) da permettere di seguire nel loro svolgimento alcuni fenomeni metabolici: si parla in questo caso di MRI funzionale (fMRI). Applicato alla fisiologia del cervello, l'fMRI ha permesso di visualizzare su una scala temporale estremamente fine le variazioni dell'ossigenazione delle regioni corticali, variazioni che si considera siano in stretta relazione con il grado di attività delle regioni stesse. Si sono sfruttate a questo scopo le proprietà magnetiche di cui gode l'emoglobina, che differiscono leggermente a seconda che questa sia legata o meno all'ossigeno. Si registrano dunque immagini che si ipotizza rappresentino fedelmente le variazioni dell'attività neurale regionale laddove si evidenzia un contrasto fra regioni ricche in ossiemoglobina, in cui cioè il flusso sanguigno risulta accresciuto, e regioni dal flusso sanguigno normale. Se, rispetto alla PET, il segnale rilevato dall'fMRI è più debole, la sensibilità è minore e di conseguenza il rapporto segnale / rumore è peggiore, i vantaggi di quest'ultima rispetto alla precedente sono molteplici. Oltre alla risoluzione temporale accresciuta, va sottolineato in primo luogo che l'fMRI si basa su un segnale intrinseco che non richiede alcun tipo di tracciante. Inoltre le misurazioni ottenute per fMRI dell'attività legata al compito svolto dal soggetto in sede sperimentale possono essere rapportate direttamente alle immagini anatomiche tridimensionali del soggetto ricavate con la stessa tecnica.

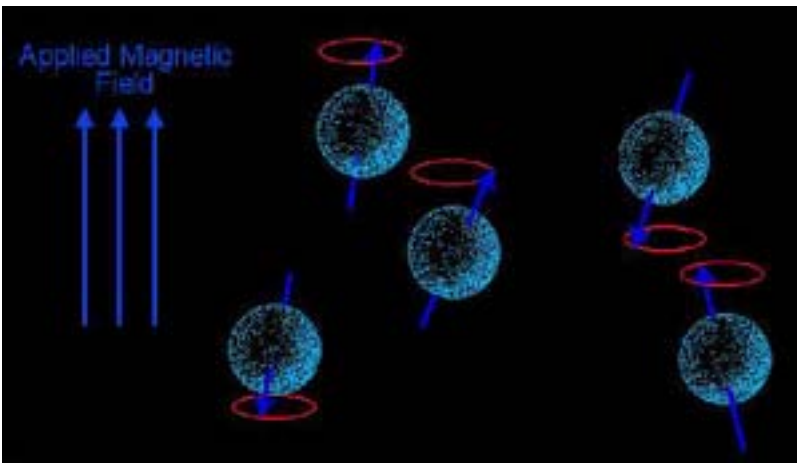
Studiamo ora meglio le basi del fMRI.

- **MECCANISMO FISICO ALLA BASE DEL SEGNALE MRI**

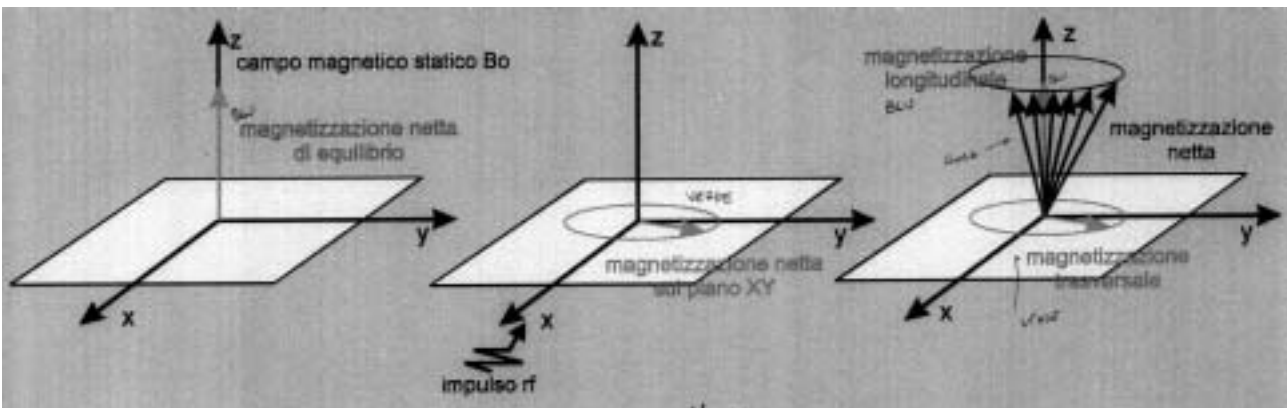
Il segnale MRI nel normale uso clinico, deriva quasi interamente dai protoni dell'acqua contenuta nei tessuti. L'intensità dell'immagine dipende, in primo luogo, dalla densità dei protoni ma può essere profondamente influenzata dall'ambiente locale delle molecole d'acqua. Dopo l'eccitazione con un impulso a RF (vedi figure), che modifica l'allineamento dei momenti magnetici dei protoni allontanandoli dalla direzione parallela al campo magnetico principale statico, i protoni recuperano il loro allineamento originale assai lentamente, in un range temporale che va da alcuni decimi di secondo fino ad alcuni secondi.



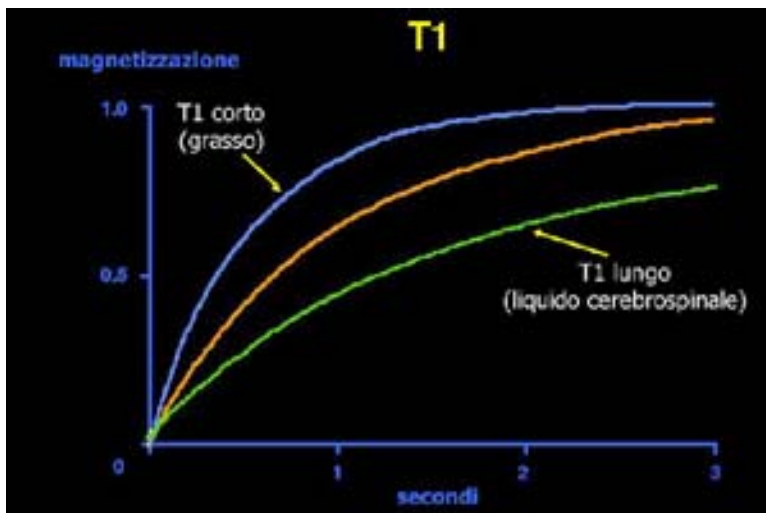
Protoni in assenza di campo magnetico esterno.



Protoni allineati in modo parallelo o opposto rispetto ad un campo magnetico esterno



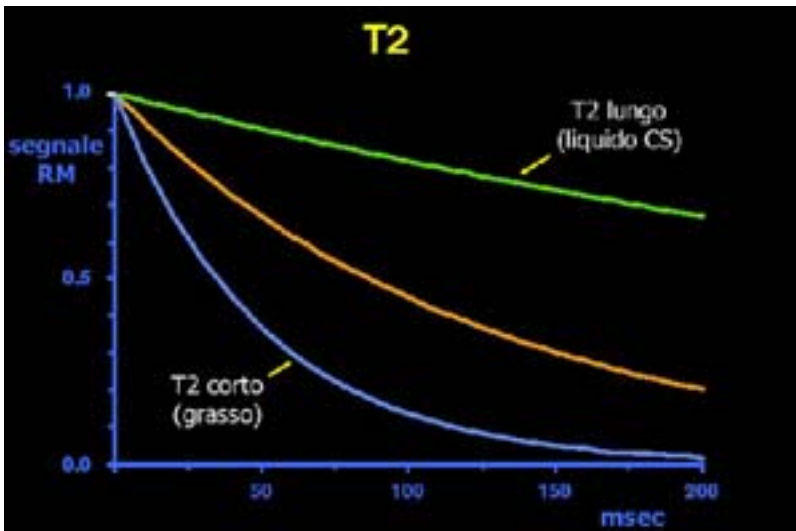
Durante questo tempo la magnetizzazione che è stata creata in direzione trasversale al campo magnetico statico induce un segnale in tensione nell'antenna che circonda il corpo oggetto di indagine. Se i protoni dell'acqua vengono nuovamente eccitati prima del totale recupero, si ottiene un segnale di minor intensità. Il tasso di recupero, definito «tempo di rilassamento longitudinale» T1, dipende dal tipo di tessuto preso in esame.



La velocità con la quale si raggiunge l'equilibrio magnetico e la conseguente magnetizzazione viene detto tempo di rilassamento T_1 . T_1 dipende dal tipo di tessuto che circonda i protoni.

Ad esempio, nel fluido cerebro-spinale, che per composizione si avvicina a quella dell'acqua pura, i protoni si rilassano in un tempo pari a circa 3 sec, mentre nella materia bianca, ove le molecole dell'acqua interagiscono fortemente con le membrane lipidiche e gli organelli intracellulari, il tempo di recupero si riduce a circa 0.5 secondi.

E' evidente che, variando il tempo di ripetizione degli impulsi RF, il contrasto tra tessuti aventi un T_1 lungo o corto può essere cambiato radicalmente. Tuttavia, un secondo tipo di meccanismo di rilassamento fornisce un mezzo per distinguere tra i tessuti. Al fine di osservare un segnale MR1 la magnetizzazione del protone deve essere deviata rispetto alla direzione del campo magnetico principale in modo da creare una componente che ruota con un moto di precessione trasversale rispetto alla suddetta direzione del campo. Per produrre un segnale di massima intensità, l'angolo di fase che il vettore di magnetizzazione forma nel piano trasversale deve rimanere costante in tutto l'oggetto, permettendo in tal modo che la magnetizzazione di ogni singolo protone si sommi in fase con quella degli altri protoni. Tuttavia, piccole differenze nell'ambiente magnetico di ciascuno spin produrrà una leggera differenza nelle frequenze di precessione, generando uno sfasamento angolare e quindi in una diminuzione del segnale nel tempo. Il decadimento del segnale ha un andamento di tipo esponenziale, ed è caratterizzato da una costante di tempo T_2 , detta «tempo di rilassamento trasversale».



La velocità con la quale i protoni ritornano all'orientamento originale viene detto tempo di rilassamento T2. T2, come T1, dipende dal tipo di tessuto che circonda i protoni.

Inoltre se particelle paramagnetiche producono una variazione del campo magnetico nell'oggetto (come ad esempio nel caso di un agente di contrasto contenete gadolinio), si verifica una ulteriore dispersione di fase (sfasamento angolare) che produce un ancor più rapido decadimento del segnale. Questo rilassamento addizionale è detto T2'. Questi due effetti insieme producono il così detto decadimento temporale T2*, dove:

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \frac{1}{T2'}$$

Fino alla fine degli anni '80, il decadimento dei segnali associato a disomogeneità del campo magnetico locale, detto rilassamento T2*, era considerato alla stregua di «un disturbo» e rappresentava una limitazione nelle immagini MR. Per mitigare questo effetto, veniva utilizzata o la tecnica spin-eco, nella quale una seconda rifocalizzazione degli impulsi RF successiva all'impulso iniziale rimuoveva lo sfasamento, oppure l'intervallo temporale tra l'impulso RF di eccitazione e l'acquisizione del segnale veniva ridotto il più possibile, come nel caso della tecnica FLASH (Fast Low-Angle Shot Imaging).

- MECCANISMO FISICO ALLA BASE DEL SEGNALE fMRI

Il riconoscimento che la presenza di sostanze paramagnetiche nel sangue poteva agire come un marker vascolare, producendo un contrasto utile, ha portato a nuove applicazioni della tecnica MRI. Si è quindi cominciato ad utilizzare (senza sequenze di rifocalizzazione) un intervallo temporale molto più lungo (20-80 msec) tra l'eccitazione e l'acquisizione del segnale. Inizialmente l'agente di contrasto paramagnetico veniva iniettato (un composto non tossico del gadolinio veniva inserito nel flusso sanguigno attraverso una vena della gamba). Una frazione di millimole per chilogrammo di peso corporeo di questo agente di contrasto è sufficiente a produrre una riduzione del segnale da parte del tessuto che circonda i vasi sanguigni di circa il 40% quando il bolo attraversa il vaso interessato. Si applicò questa tecnica per ottenere il flusso sanguigno cerebrale locale come rapporto tra il volume del sangue ed il tempo medio di transito. Nei primi studi sull'argomento venne esaminato il passaggio del mezzo di contrasto nel cervello di topi e di cani, e furono utilizzati sempre più frequentemente le tecniche di immagini MRI ultraveloce note con il nome di Echo Planar Imaging (EPI), introdotte da Mansfield (1977) e che permettono di

acquisire un'immagine completa in meno di 100 msec, e quindi di ottenere «istantanee» della distribuzione del mezzo di contrasto mentre attraversa il cervello.

In seguito l'MRI è stata applicata a uno studio sull'attivazione funzionale sull'uomo. L'esperimento riguardava la somministrazione di uno stimolo visivo ad un soggetto al quale era stato iniettato un mezzo di contrasto. Le immagini MRI venivano acquisite ogni 0.75 sec lungo il piano della solco calcarino in modo da identificare e seguire il passaggio del bolo. Integrando l'intensità dell'immagine relativa a successivi intervalli temporali, sono state ottenute delle stime del volume relativo di sangue e sono state comparate (attraverso un processo di sottrazione dell'immagine) con quelle ottenute quando il soggetto era a riposo. In questo modo è stato osservato un evidente aumento (fino al 30%) di volume sanguigno nella corteccia visiva primaria (VI).

Ogawa et al. (1990) e Tumer et al. (1991) dimostrarono, in esperimenti condotti su animali da laboratorio, che un simile cambiamento nel contrasto delle immagini MRI riguardanti aree circostanti i vasi sanguigni poteva essere ottenuto più semplicemente inducendo un cambiamento nello stato di ossigenazione del sangue. Questa osservazione derivava dal fatto notato da Faraday e misurato sperimentalmente da Pauling e Coryell (1936) che la desossiemoglobina è più paramagnetica dell'ossiemoglobina, la quale ha una suscettività magnetica quasi uguale a quella del tessuto, perciò la desossiemoglobina può essere considerata come un agente di contrasto naturale.

Variazioni nell'attività cerebrale di un soggetto che creano uno sbilanciamento tra la sottrazione di ossigeno ed il flusso sanguigno producono un cambiamento nel segnale MRI attorno ai vasi che irrorano la corteccia, questo fenomeno può essere osservato nel caso in cui vengano usate sequenze di immagini MR sensibili alle disomogeneità del campo magnetico.

Lo sviluppo di questa tecnica è culminata nei lavori di Kwong et al. (1992) e di Ogawa et al. (1990), i quali dimostrarono che se un soggetto veniva esposto a una luce brillante i cambiamenti di livello della desossiemoglobina nella corteccia visiva umana erano sufficienti a produrre cambiamenti misurabili nelle immagini MRI gradiente-echo su una lastra passante per la scissura. Tale tecnica fu definita «Blood Oxygenation Level Dependent contrast» (BOLD) e permette di mappare l'attività cerebrale funzionale senza mezzi di contrasto, senza uso di traccianti radioattivi e con la risoluzione spaziale propria dell' MRI.

Contemporaneamente altri autori hanno sperimentato un diverso metodo MRI per il monitoraggio non invasivo del flusso sanguigno. Questo approccio utilizzato per primo da Williams et al. (1992), impiega una tecnica per marcare il sangue, simile a quella relativa agli studi di diffusione dei traccianti. Nel caso specifico, il sangue viene marcato utilizzando un impulso a RF preparatorio prima della sequenza di acquisizione MRI, che marca gli spin dei protoni presenti nel sangue arterioso che fluisce nelle regioni cerebrali di interesse. Il marker è evanescente, poiché scompare con la costante di tempo di rilassamento T1 (tipicamente 1-2 sec), di conseguenza non è possibile ottenere una grande percentuale di spin marcati all'interno del tessuto cerebrale. Tuttavia, il marker, che consiste nell'inversione degli spin nucleari, diffonde liberamente, attraverso le pareti dei capillari nel tessuto riducendo in tal modo il segnale MR di circa il 2%, valore sufficiente ad essere misurato con sufficiente accuratezza. Variazioni di questa tecnica, nota oggi con il nome di Arterial Spin Tagging (AST) sono state sviluppate da altri autori; in queste gli spin della "fetta" che costituisce l'immagine da acquisire sono marcati, mentre non sono marcati gli spin del sangue arterioso che si muove verso la «fetta» e cambia l'intensità dell'immagine proporzionalmente al CBF locale. Potenzialmente le tecniche AST possono

essere quantificate in modo da ricavare valori assoluti della perfusione cerebrale locale, sebbene questo richiede la valutazione di una serie di termini correttivi.

In tempi più recenti, la tecnica AST è stata combinata con la tecnica EPI per misurare i cambiamenti relativi di flusso sanguigno durante l'attivazione. EPISTAR (Echo-Planar MR Imaging and Signal Targeting with Alternating RF) (Edelman et al., 1994) produce l'inversione degli spin in una «fetta» spessa del cervello/testa che è fisicamente vicina alla sezione d'interesse. L'effetto degli spin marcati, trasportati dal sangue nella «fetta» immagine, viene osservato come cambiamento del segnale all'interno della «fetta» ed il cambiamento del flusso sanguigno può essere monitorato confrontando immagini con e senza attivazione. Il metodo permette di investigare l'emodinamica variando il ritardo tra l'inversione e l'acquisizione. Il cambiamento del segnale collegato all'attività cerebrale osservabile con questa tecnica dipende dal tempo di rilassamento T1, sia direttamente che indirettamente, poiché il marcamento magnetico del sangue decade con il T1 del sangue. T1 aumenta all'aumentare del campo magnetico statico, di conseguenza anche la sensibilità dell'EPISTAR aumenta con tale valore.

- ASPETTI FISICI DEL SEGNALE fMRI-BOLD

L'ossigenazione del sangue Una piccola percentuale di ossigeno del sangue si presenta sotto forma diretta di ossigeno ^{17}O paramagnetico disciolto, ma questo contribuisce solo in modo trascurabile (-0.02 sec) al tasso di rilassamento nucleare del sangue. Il resto dell'ossigeno sanguigno è legato all'emoglobina, con un massimo di quattro molecole di ossigeno per molecola di emoglobina.

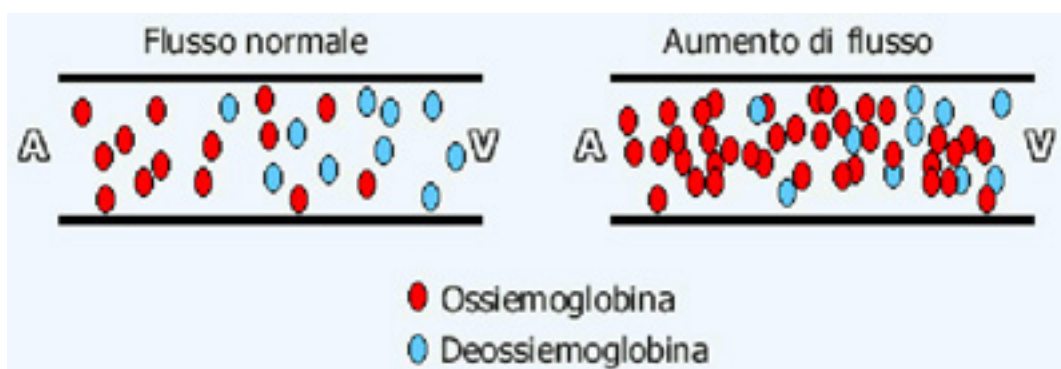
L'emoglobina L'emoglobina, che ha un peso molecolare di 46.500, è la molecola predominante nel sangue. La concentrazione netta di emoglobina nel sangue è approssimativamente di 115g/100ml, con una concentrazione intracellulare di 15g/100ml o da 5.5 a 6.0 mM. Tale molecola è formata da due coppie di catene polipeptidiche (chiamate unitamente globina), ciascuna delle quali è attaccata ad un gruppo eme, il quale è un complesso di protoporfirina e ferro. Il legame con l'ossigeno dipende dalla pressione parziale locale dell'ossigeno (detta anche tensione dell'ossigeno $p\text{O}_2$), Ciò permette all'ossigeno di essere rilasciato ai tessuti quando l'attività metabolica produce una carenza di ossigeno locale. La curva di dissociazione dell'ossigeno dall'emoglobina rappresenta una sigmoide. Tale grafico indica che il legame con l'ossigeno (o affinità) è più forte quando una o due molecole di ossigeno sono già legate alla molecola. E' vero anche l'inverso, ovvero quando la tensione dell'ossigeno è ridotta, la dissociazione dell'ossigeno avviene più facilmente se un ossigeno è già stato rilasciato dalla molecola di emoglobina.

La natura paramagnetica dell'emoglobina deossigenata e la sua influenza sul segnale NMR è stata riconosciuta molto prima dell'applicazione clinica dell'MRI. Nell'emoglobina deossigenata, dHb, il ferro dell'eme è in uno stato ferroso (Fe^{2+}) a spin-alto, prodotto dal fatto che quattro dei suoi sei elettroni esterni sono spaiati. Gli spin degli elettroni spaiati hanno un momento magnetico molto grande e le proprietà paramagnetiche a questo associate ne producono un comportamento simile a quello dei mezzi di contrasto esterni. Nell'emoglobina ossigenata (Hb), uno degli elettroni viene trasferito alla molecola di ossigeno, ed il ferro dell'eme cambia il suo stato in spin-basso, perciò non presenta più momento magnetico e, quindi, proprietà paramagnetiche.

- ASPETTI SPECIFICI DELLA TECNICA BOLD

Le immagini cerebrali prodotte dalla risonanza magnetica funzionale (fMRI) riflettono i cambiamenti dell'ossigenazione del sangue indotti da stimoli sensoriali, motori e cognitivi. Come è stato detto all'inizio del capitolo, la MRI è basata sul rilevamento del segnale elettromagnetico (segnale a radiofrequenza RF) che viene emesso dai protoni rotanti quando questi vengono eccitati da segnali RF in presenza di un campo magnetico statico esterno. Data la loro abbondanza e presenza diffusa, i nuclei dell'idrogeno (singoli protoni) producono il segnale MR più forte nei tessuti biologici. Gli impulsi RF eccitano i protoni ruotanti e producono una sincronizzazione nei loro spin (phase locked) in modo che i singoli contributi si sommino e producano un intenso segnale. Disomogeneità magnetiche microscopiche (ed altri fattori) all'interno dei tessuti provocano piccoli spostamenti nelle RF dei protoni vicini all'interno del singolo voxel, causando, in ultima analisi la loro desincronizzazione (sfasamento - dephasing) che riduce il segnale RF. Differenze nel tasso di sfasamento (dette T2*) possono indirettamente indicare un'attività neuronale.

La tecnica BOLD (blood oxygenation level dependent) mette in evidenza come cambiamenti nell'attività neuronale influiscono sul segnale MR. Uno stimolo sensoriale, motorio o cognitivo produce un aumento localizzato dell'attività neuronale. Ciò produce una locale vasodilatazione che genera, a sua volta, un rapido aumento del volume sanguigno causato o dalla produzione di metaboliti aventi proprietà vasodilatatorie o, più probabilmente, da un effetto diretto sui vasi sanguigni locali. La causa di tale fenomeno non è nota con chiarezza, ma potrebbe coinvolgere il rilascio dipendente dall'attività di fattori chimici quali l'ossido nitrico, l'adenosina, gli ioni idrogeno o potassio, o potrebbe coinvolgere una stimolazione nervosa diretta della muscolatura vascolare. Qualunque sia il meccanismo, il cambiamento nel flusso sanguigno, e conseguentemente, dell'apporto di ossigeno, è circa 2-4 volte maggiore del corrispondente aumento del volume sanguigno. Un eccesso di emoglobina ossigenata viene inviato alle regioni attivate riducendo in tal modo la quantità di desossiemoglobina all'interno dei voxel di tessuto cerebrale.



La desossiemoglobina è paramagnetica, mentre la ossiemoglobina non lo è. Di conseguenza, la presenza di desossiemoglobina nei capillari produce microscopiche disomogeneità magnetiche, che aumentano lo sfasamento degli spin dei protoni degli atomi di idrogeno in una regione di spazio che si estende approssimativamente per 2 volte il raggio del vaso. Man mano che la quantità di desossiemoglobina presente nel sangue viene spostata e diluita dal flusso sanguigno, si manifesta uno sfasamento meno rapido ed il segnale MR decade in modo più lento.

Tali cambiamenti vengono registrati dal sensore a RF dello strumento. In definitiva, regioni del cervello che hanno aumentato la loro attività appaiono come regioni brillanti (chiare) sull'immagine MR funzionale. Inoltre, altri fattori indotti dall'attivazione quali il cambiamento

di volume del sangue e gli effetti di movimento dei protoni possono contribuire al cambiamento del segnale MR. L'intensità di questi effetti può dipendere fortemente dal tipo di tecnica di imaging usata.

- CARATTERISTICHE DELLA fMRI-BOLD e AST

La differenza in suscettibilità magnetica tra il sangue totalmente ossigenato e desossigenato è piccola (circa 0.02×10^{-6} unità cgs), di conseguenza nella tecnica BOLD i cambiamenti di intensità sono generalmente piccoli, minori del 15% in presenza di un campo statico di 2 T persino quando la saturazione in ossigeno dell'emoglobina viene ridotta del 20% nel caso di ipossia acuta. Negli studi di attivazione cerebrale, con campi di 1.5 T la variazione del segnale è dell'ordine di 2-4%. Sia le prove sperimentali che i modelli dimostrano che la variazione nel tasso di rilassamento $T2^*$ associato a questa diminuzione del segnale aumenta all'aumentare del campo magnetico statico dello scanner, di conseguenza il cambiamento del segnale è tre volte maggiore a 4 T che a 1.5 T (a parità di sequenza e di tempo di eco). Data la diretta proporzionalità tra il rapporto S/N e l'intensità del campo statico, la tecnica BOLD dà ottimi risultati nel caso di campi magnetici dell'ordine dei 4 T. Tuttavia, se a 4 T le variazioni di segnale sono ben visibili (30% di variazione del segnale per lo stimolo visivo, 2-8% di variazione del segnale nella corteccia associativa) e quindi evidenziabili con un singolo shot nel caso di scanner MRI con campi statici più bassi, come quelli a 1.5 T tipicamente usati, è spesso necessario operare una media delle immagini per ottenere risultati significativi.

Contrariamente alla BOLD, le tecniche AST hanno un basso rapporto contrasto/rumore. Nel caso specifico il cambiamento nel segnale dipende dal tempo di rilassamento $T1$, che aumenta solo debolmente all'aumentare dell'intensità del campo. A 1.5 T il C/N è circa 1/3 di quello ottenibile con la tecnica BOLD e lo stesso campo statico, perciò è sempre necessaria l'operazione di media del segnale. Un vantaggio del metodo EPISTAR sta nel fatto che il segnale proveniente dal tessuto statico presente in ciascuna «fetta» viene annullato in assenza di perfusione, in tal modo il grande segnale di sottofondo «anatomico» non ha alcun peso sugli studi funzionali. In questa tecnica, i grandi errori di sottrazione nelle mappe funzionali risultanti dai movimenti della testa e quindi dall'imprecisione delle immagini, che affliggono particolarmente la tecnica BOLD, non si manifestano.

Il maggior svantaggio dei metodi AST sta, tuttavia, nella difficoltà di costruire immagini successive (multislance data). Questo problema deriva dal fatto che gli spin nucleari dei protoni dell'acqua che sono stati marcati viaggiano nel sangue, ed una volta che tali spin sono entrati nella «fetta» che costituisce l'immagine, sono disturbati dall'impulso a RF necessario per acquisire l'immagine stessa, di conseguenza il sangue deve essere marcato nuovamente per ogni immagine. Poiché gli spin marcati richiedono 1-2 sec per muoversi (ed entrare) nel letto del capillare, e durante questo tempo nessun altro impulso RF può influenzarli, non è fisicamente possibile ottenere un volume di dati al tasso di 10 «fette» per secondo, come nel caso della tecnica BOLD EPI.

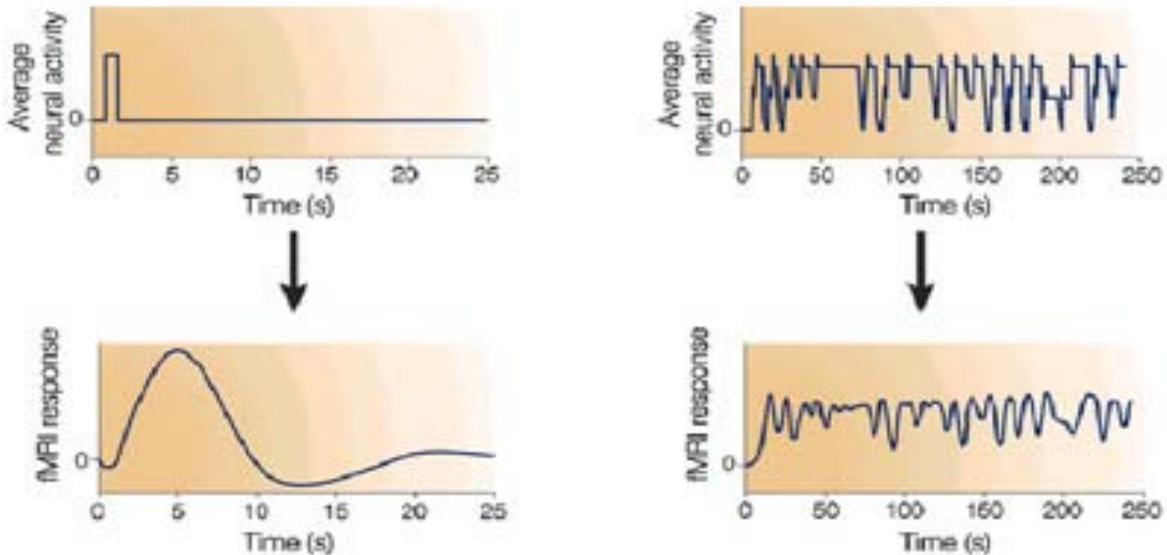
La comparazione delle aree attivate con la tecnica BOLD e con quella AST sulla base di un semplice stimolo cerebrale, dà un elevato valore di accordo. Può essere dimostrato che le immagini AST (quando ottenute correttamente) mostrano in modo selettivo aree nelle quali il flusso dei capillari è aumentato, mentre i cambiamenti a livello venoso ed arterioso non sono mostrati. Le immagini BOLD mostrano principalmente il cambiamento di

ossigenazione del sangue nelle piccole vene che giacciono in prossimità del tessuto corticale neuronale attivato, poiché queste contengono il sangue che maggiormente manifesta cambiamenti locali di ossigenazione (Tumer and Grinvald, 1994; Malonek and Grinvald, 1996). Alla scala della risoluzione spaziale ottenibile con la tecnica EPI, le aree attivate viste con la tecnica BOLD e con quella AST si sovrappongono, con differenze residue dovute alla minor risoluzione della tecnica AST. Immagini BOLD a più alta risoluzione, acquisite con un elevato campo statico che aumenta in modo selettivo il contributo dei vasi corticali più piccoli, può mostrare cambiamenti di ossigenazione ancor più selettivi come quelli associati ad una richiesta differenziale di ossigeno associata a colonne corticali adiacenti. La tecnica AST, invece, non è in grado di produrre immagini a così alta risoluzione.

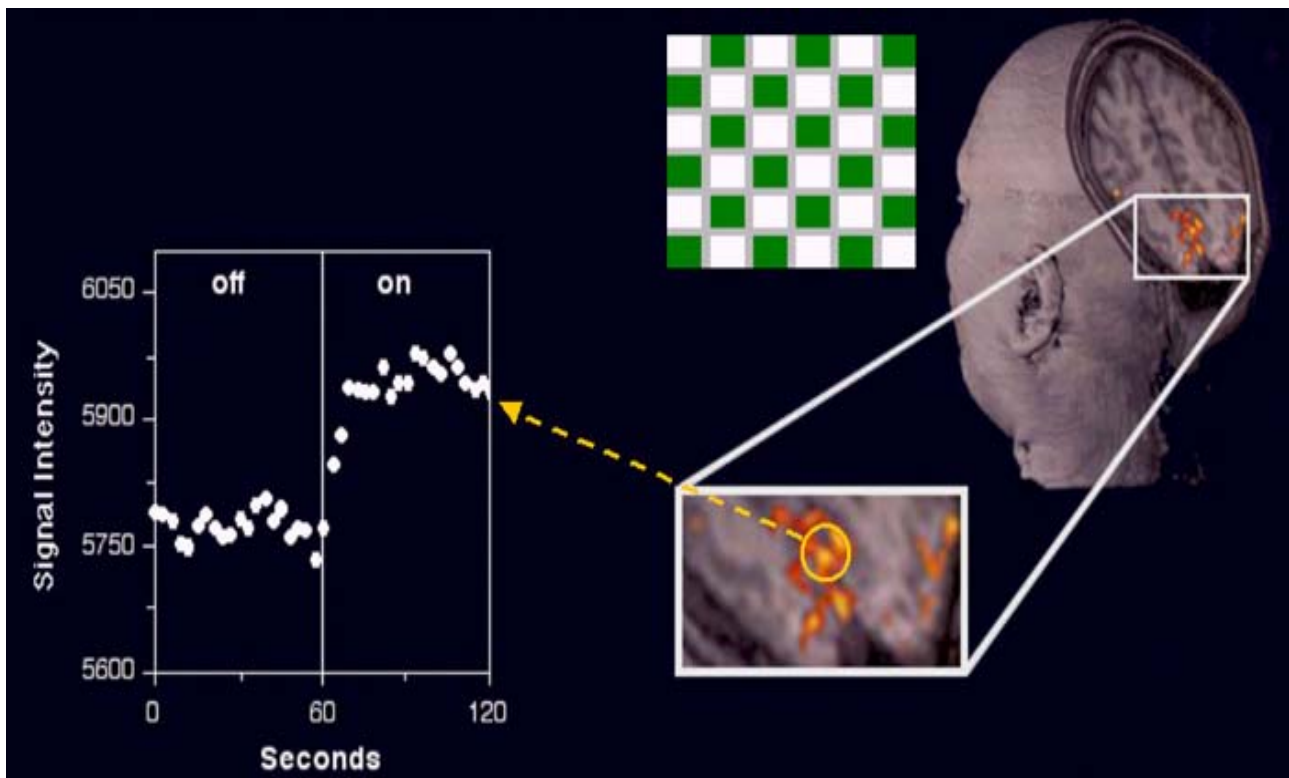
- RISOLUZIONE SPAZIALE E TEMPORALE DELLA fMRI

La risoluzione spaziale ottenibile con la tecnica MRI è teoricamente dell'ordine di 100 μm . Tale limite non è però raggiungibile con la tecnica che attualmente vanta una risoluzione di 1-2 mm.

I segnali fMRI necessitano di un certo intervallo di tempo per generarsi dopo l'onset dello stimolo, generalmente tale intervallo vale 4-5 secondi ma può raggiungere un limite inferiore di 2-3 secondi. In realtà la tecnica è in grado di monitorare cambiamenti nel segnale in un intervallo temporale di circa 100 ms (con la tecnica EPI). Tuttavia, il limite temporale della fMRI sembra essere dovuto più alle latenze fisiologiche dei meccanismi emodinamici che alla metodica.



Le variazioni del segnale fMRI sono lente (8-10 sec) rispetto alle variazioni dell'attività elettrica.



- INTEGRAZIONE DEI DATI EEG E fMRI

Le tecniche di High Resolution EEG e fMRI possono essere integrate nello studio delle funzioni del cervello umano. Infatti, come si è detto prima, la fMRI ha un'alta risoluzione spaziale (nell'ordine dei millimetri) e una bassa risoluzione temporale (nell'ordine dei secondi), mentre l'EEG ha una risoluzione spaziale accettabile (2-3 cm) ma ha un'alta risoluzione temporale (nell'ordine dei millisecondi). L'integrazione dei dati provenienti da queste due tecniche è basata sul fatto che zone del cervello attivate coincidono ad un incremento co-coordinato dell'attività elettrica regionale e del flusso sanguigno cerebrale.

Una tecnologia di High Resolution EEG particolarmente adatta per un'integrazione di questo tipo è la stima lineare inversa delle sorgenti da dati EEG altamente campionati (64-128 canali), basata su un modello di testa multicompartimentale realistico costruito con MR del soggetto. Infatti l'uso di soluzioni fMRI come informazioni a priori ha aumentato la risoluzione della stima lineare inversa delle sorgenti per picchi principali di potenziali legati al movimento (MRPs, movement related potentials).

Usiamo ora i dati fMRI come vincoli nella stima lineare inversa della sorgente di MRPs altamente campionati. Questa stima è fatta su un modello di testa realistico usando le "boundary elements techniques".

Una questione fondamentale nell'integrazione dei dati fMRI ed EEG è l'uso di una struttura geometrica comune per fondere il modello conduttore del volume della testa e i voxels attivati derivanti dalle immagini fMRI. Per far ciò, tali immagini devono essere prima registrate insieme a quelle anatomiche della testa del soggetto, che sono state ottenute

con l'acquisizione di una "T1-weighted conventional spin-echo-axial-oblique sequence". Le immagini MR sequenziali del soggetto analizzato costituiscono anche le basi per la costruzione del modello conduttore che deve essere usato nell'analisi EEG.

Una volta che è stato stabilito il riferimento geometrico comune, può essere effettuata la fusione delle informazioni provenienti dai voxel cerebrali attivati durante il task misurato e i dati EEG.

Un altro punto importante nell'integrazione modale di queste due tecniche riguarda il design sperimentale che deve essere mantenuto nelle due diverse modalità di registrazione. Infatti il design sperimentale dell'fMRI potrebbe essere diverso da quello ottenuto tramite la modalità EEG, a causa delle concrete differenze tra i due strumenti di misurazione. Tali differenze si possono tramutare in risposte indotte da diverse aree corticali nelle due modalità di registrazione, portando ad effetti disorientanti nell'integrazione multimodale.

Design sperimentali simili nell'EEG e fMRI possono essere facilmente realizzati con l'uso della cosiddetta "event-related fMRI", nella quale la risposta emodinamica può essere seguita su una scala temporale di molti secondi rispetto alla "standard block-design fMRI".

La metrica per lo spazio delle sorgenti, \mathbf{N} , deve tenere conto della normalizzazione della lead field matrix \mathbf{L} , per bilanciare le correnti superficiali, più visibili, rispetto a quelle profonde. Perciò vogliamo trovare delle caratterizzazioni della metrica \mathbf{N} che ci forniscano le basi per poter includere le informazioni sull'attivazione emodinamica statistica dell' i -esimo voxel corticale nella stima dell'attività della sorgente corticale.

La prima descrizione di \mathbf{N} tiene conto di tutti i voxels corticali sulla base della loro vicinanza ai sensori EEG. In questo caso l'inverso della risultante metrica è

$$(\mathbf{N}^{-1})_{ii} = \|\mathbf{L}_i\|^{-2}$$

in cui $(\mathbf{N}^{-1})_{ii}$ è l' i -esimo elemento dell'inversa della matrice diagonale \mathbf{N} e \mathbf{L}_i è la L2 norm dell' i -esima colonna della lead matrix field \mathbf{L} .

Introducendo gli fMRI priors nella stima, si producono effetti sulla soluzione: voxels attivati fMRI statisticamente significativi, che sono restituiti dal cosiddetto "percentage change approach", sono soppesati tenendo conto dei potenziali EEG misurati.

L'inversa della metrica risultante è

$$(\mathbf{N}^{-1})_{ii} = g(\alpha_i)^2 \|\mathbf{A}_i\|^{-2}$$

in cui $(\mathbf{N}^{-1})_{ii}$ e $\|\mathbf{A}_i\|$ hanno lo stesso significato di prima; $g(\alpha_i)$ è la funzione dell'incremento percentuale statisticamente significativo del segnale fMRI assegnato all' i -esimo dipolo dello spazio sorgente modellato. Questa funzione è espressa come

$$g(\alpha_i)^2 = 1 + (K - 1) \frac{\alpha_i}{\max(\alpha_i)} \quad , K \geq 1 \quad , \alpha_i \geq 0$$

dove α_i è l'incremento percentuale del segnale fMRI durante lo stato del task per l' i -esimo voxel e il fattore K accorda i vincoli nello spazio sorgente. Fissando $K=1$ ci permette di non considerare i priors fMRI ritornando alla soluzione puramente elettrica; per valori di $K \gg 1$ permette solo alle sorgenti associate ai voxel attivi fMRI di far parte della soluzione. È stato mostrato che un valore di K nell'ordine 10 (il 90% dei vincoli per l'informazione fMRI) è utile per evitare la cattiva localizzazione dovuta a soluzioni troppo forzate.

La stima dell'attività corticale ottenuta con questa metrica è denotata con diag-fMRI.

La precedente definizione della metrica \mathbf{N} corrisponde ad una matrice in cui gli elementi fuori diagonale sono tutti zeri. Però si può trarre vantaggio dagli elementi fuori diagonale per inserire informazioni sull'accoppiamento funzionale di sorgenti corticali. In particolare poniamo la generica entrata ij della matrice inversa \mathbf{N} uguale a

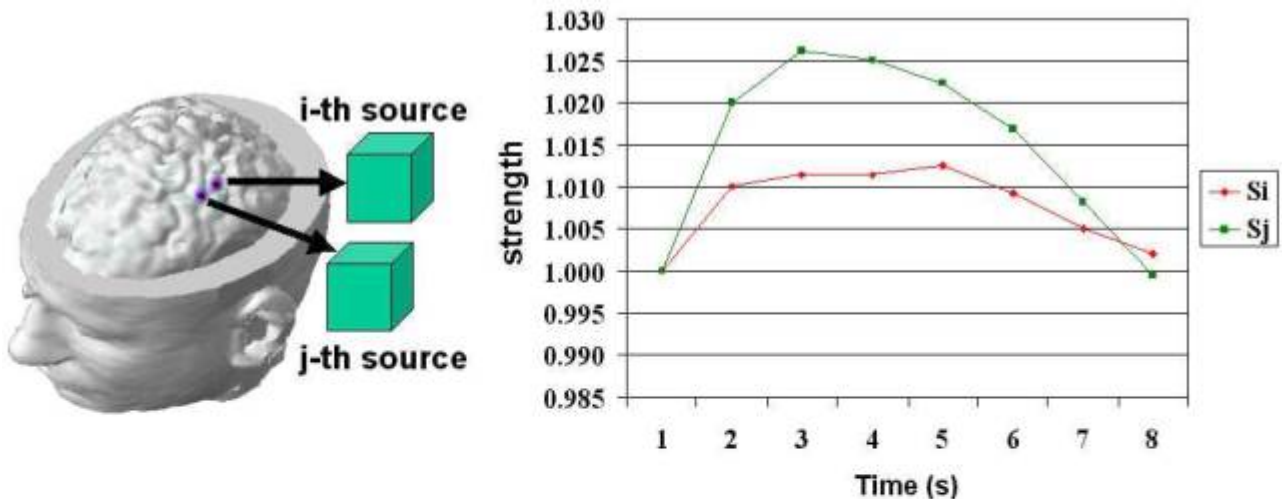
$$(N^{-1})_{ij} = g(\alpha_i)g(\alpha_j)\|A_i\|^{-1}\|A_j\|^{-1}corr_{ij}$$

dove $corr_{ij}$ è il grado di accoppiamento tra la sorgente i e quella j durante il particolare task analizzato. Tale accoppiamento è stato scoperto attraverso la correlazione delle risposte emodinamiche ottenute da dati fMRI evento-correlati. In seguito chiameremo la stima dell'attività corticale ottenuta con questa metrica con corr-fMRI.

È interessante notare che nel caso di sorgenti non correlate ($corr_{ij} \equiv 0$, $i \neq j$, $corr_{ii} \equiv 1$) la formulazione della corr-fMRI ci porta indietro a quella della diag-fMRI.

([Esempio sull'uso di queste tecniche: movimento del dito medio destro](#))

La seguente figura riassume i differenti approcci utilizzati per riuscire ad inserire i vincoli emodinamici nella soluzione del problema inverso per la stima delle sorgenti corticali delle EEG registrate, in un'unica formulazione matematica.



$$N_{ij}^{-1} = \|A_i\|_2^{-1} \cdot \|A_j\|_2^{-1} \cdot g(\alpha_i) \cdot g(\alpha_j) \cdot Corr(S_i, S_j)$$

$$Corr(S_i, S_j) = \begin{cases} \langle S_i, S_j \rangle & \text{corr - fMRI} \\ \delta_j^i & \text{diag - fMRI} \end{cases}$$

Nella prima parte tale figura: la stima dell'accoppiamento tra due sorgenti corticali generiche (i e jj) ottenuta dal calcolo della cross-correlazione tra le forme d'onda delle risposte fMRI.

Nella parte bassa: la formulazione matematica dell'inversa della metrica \mathbf{N} usata nella soluzione del problema lineare inverso. $Corr(S_i, S_j)$ è la correlazione a ritardo zero tra le due forme d'onda S_i e S_j e δ_j^i è il delta di Kronecker.

Andiamo adesso a considerare i discorsi fatti finora sull'integrazione fMRI-EEG, riprendendo il concetto di sorgente dipolare già introdotto precedentemente.

Per ottenere la combinazione di queste due modalità, i risultati dell'analisi fMRI devono essere usati come vincoli nella conseguente ricostruzione delle sorgenti EEG. Facendo questo però, bisogna tenere in considerazione che esistono delle differenze tra i fenomeni anatomici e i necessari setups sperimentali. Come risultato, le localizzazioni di differenze emodinamiche significative ("hotspots") non devono essere semplicemente eguagliate alle sorgenti di corrente; anzi si possono presentare diverse configurazioni problematiche.

- Sorgenti di corrente che non risultano dalle immagini fMRI. Questo può succedere, se i neuroni non sono attivi abbastanza a lungo da causare un aumento del flusso sanguigno.
- fMRI hotspots senza una sorgente corrispondente. Questa situazione può presentarsi nel caso di sorgenti silenziose, per esempio una sorgente o costellazioni di sorgenti che producono campi o potenziali non misurabili.
- Un piccolo disallineamento tra la localizzazione dell'hotspot e della sorgente. Questo si verifica a causa delle differenti localizzazioni dei neuroni o dei vasi coinvolti, così come anche a causa del fatto che una zona corticale estesa, se curva, può non contenere la rappresentativa localizzazione della sorgente.

Proponiamo ora due differenti strategie di integrazione dell'fMRI con le tecniche di ricostruzione delle sorgenti che si riferiscono a queste difficoltà. Una strategia è stata sviluppata per i metodi di dipole fit e un'altra per modelli di sorgenti distribuite.

fMRI-CONSTRAINED DIPOLE MODELS

I modelli dipolari, come è stato detto, sono delle parametrizzazioni dell'attività cerebrale che usano alcuni dipoli di corrente, il cui numero, localizzazioni, componenti, e caratteristiche temporali devono essere determinati. Normalmente si suppone di conoscere a priori il numero e le caratteristiche temporali, mentre i restanti parametri devono essere inseriti. Le caratteristiche temporali comuni includono il modello a dipoli in moto, dove le componenti e le localizzazioni sono determinate per ogni punto temporale, il modello a dipoli rotanti, dove le localizzazioni rimangono costanti per un range di latenza, e il modello a dipoli fissi con localizzazione e orientamento costanti e una strength che varia nel tempo.

Questo porta ad un problema di ottimizzazione del tipo

$$\min \Delta(\mathbf{j}) = \|\mathbf{m} - \mathbf{L}\mathbf{j}\|$$

qui \mathbf{m} sono i dati misurati, \mathbf{j} le componenti dipolari sconosciute per delle date localioni \mathbf{r} , e \mathbf{L} la lead field matrix per le date localioni \mathbf{r} .

Per fMRI-constrained dipole models, i dipoli fissati e ruotanti sono associati ad ogni hotspot della fMRI. Dunque gli hotspots sono usati come i punti di origine per i dipole fit, mentre viene imposto un vincolo di massima distanza.

L'andamento temporale, le localioni e le componenti dei dipoli sono fittati; affinché vengano considerati i dati non spiegati, viene fittato un ulteriore dipolo, che non è legato a nessuno degli hotspots sopra citati. (vedi la seguente figura).

Una soluzione regolarizzata è ottenuta come estensione dell'equazione scritta prima, nel senso che vengono sopprresse le componenti delle sorgenti con un piccolo overlap di dati e viene aggiunto un termine di penalità, che assicura che sia rispettato il principio di massima distanza. Il risultante problema di ottimizzazione è

$$\min \Delta(\mathbf{j}) = \|\mathbf{C}(\mathbf{m} - \mathbf{L}\mathbf{j})\| + \lambda \|\mathbf{W}_{\text{overlap}}\mathbf{j}\| + P$$

\mathbf{C} è la "sensor weighting resp. SNR normalization matrix", $\mathbf{W}_{\text{overlap}}$ è la "non-diagonal overlap weightening matrix" per \mathbf{C} ; \mathbf{M} , e \mathbf{L} sono dati. La normalizzazione SNR è un approccio che ci permette di combinare EEG e MEG, di sopprimere i canali di rumore, e di effettuare una valutazione diretta della goodness-of-fit in termini di χ^2 .

A causa della normalizzazione del rumore attuata attraverso \mathbf{C} , il parametro di regolarizzazione λ può essere precalibrato rispetto a SNR.

Il vincolo di vicinanza per le N sorgenti e per i punti d'origine \mathbf{s}_i e la distanza massima d_i sono imposti usando il termine di penalità

$$P = \begin{cases} 0 & \text{per } |r_i - s_i| < d_i \\ c|r_i - s_i| & \text{altrove} \end{cases} \quad \text{con } c \gg \lambda$$

Di nuovo il problema di ottimizzazione può essere risolto analiticamente per localioni r date (per es. $d_i = 5\text{mm}$).

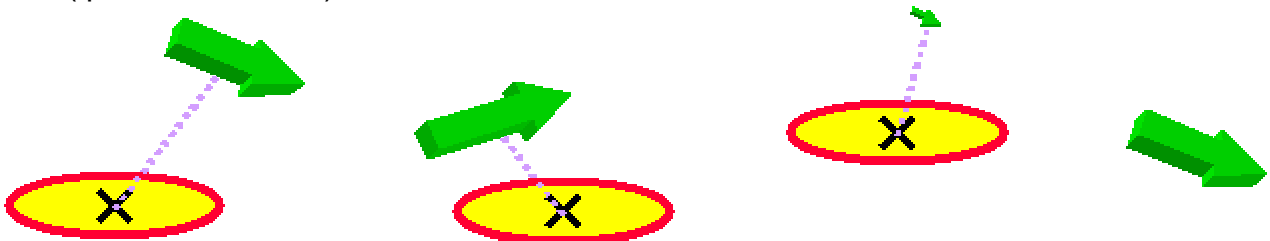
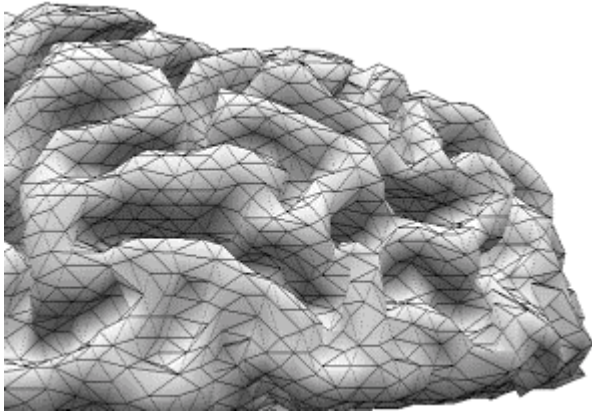


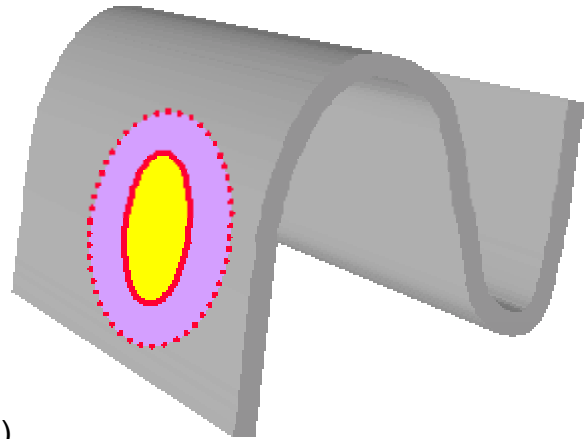
Grafico schematico di tre hotspots e un totale di 4 dipoli: i dipoli sono fissati agli hotspots in modo poco preciso, usando come origine la localione di tali hotspots e vincolando i dipoli a stare entro una massima distanza da i loro punti d'origine. È stato fittato un dipolo aggiuntivo, che non è legato a nessun hotspot.

fMRI-CONSTRAINED DISTRIBUTED SOURCE MODELS

Per questo tipo di modelli di sorgente, lo strato corticale segmentato dalla fMRI è usato come spazio sorgente, dando come risultato circa 10000 localioni fissate e normali con distanze dai 2 ai 3 mm. Per ognuna di queste localioni corticali, assumiamo che la sorgente dipolare descriva l'attività neuronale della piccola zona circostante. L'orientamento della sorgente è fissata secondo quello della cellula piramidale, per esempio perpendicolare alla superficie corticale.



1)



2)

1) Uno strato della parte di materia grigia usato come spazio sorgente per la ricostruzione della densità di corrente. I dipoli di corrente sono calcolati sui vertici; i loro orientamenti sono normali rispetto alla superficie triangolare. B) Relazione spaziale tra lo strato corticale, l'fMRI hotspot e l'area dove c'è stato un aumento dei location weights.

Una soluzione inversa normalizzata, regolarizzata con una minimal weighted L_2 -norm delle strength delle sorgenti è calcolata così:

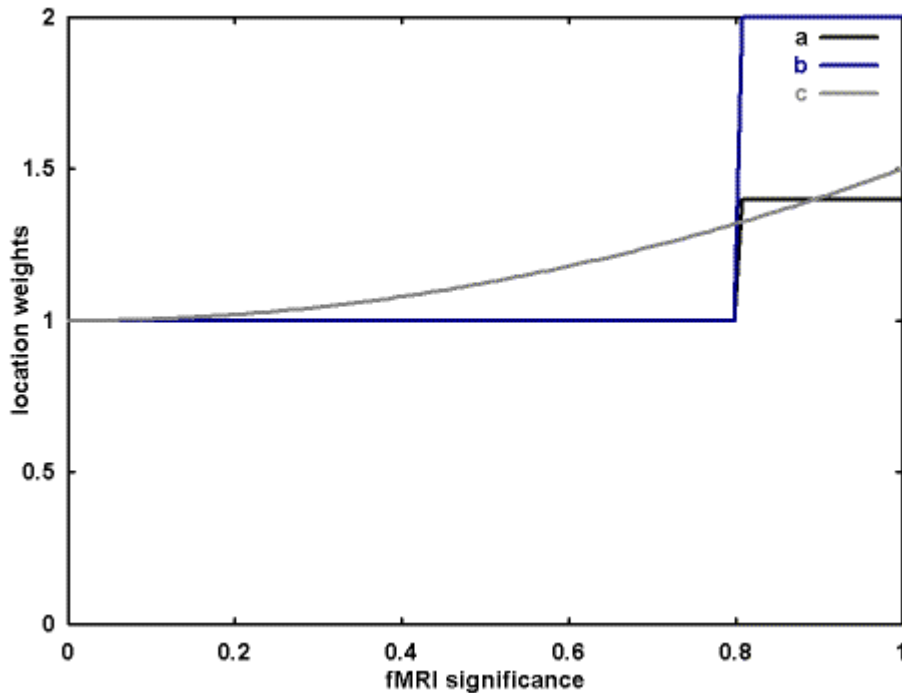
$$\min \Delta(\mathbf{j}) = \|\mathbf{C}(\mathbf{m} - \mathbf{L}\mathbf{j})\| + \lambda \|\mathbf{W}_{\text{fMRI}} \mathbf{W}_{\text{depth}} \mathbf{j}\|$$

Il primo termine è quello dei dati, esso misura la discrepanza tra i dati misurati e quelli calcolati. Qui \mathbf{m} sono i dati misurati, \mathbf{j} le correnti incognite, \mathbf{L} la lead field matrix, e \mathbf{C} è la sensor weighting resp. SNR normalization matrix.

Il secondo termine è quello del modello. Esso misura la discrepanza tra le correnti calcolate e il modello implicitamente assunto. Qui \mathbf{W}_{fMRI} è la diagonal fMRI-induced-location-weightening matrix, e $\mathbf{W}_{\text{depth}}$ è la diagonal depth normalization matrix.

I location weights \mathbf{W}_{fMRI} dipendono dalla loro rilevanza evidenziata dall'fMRI (fMRI significance).

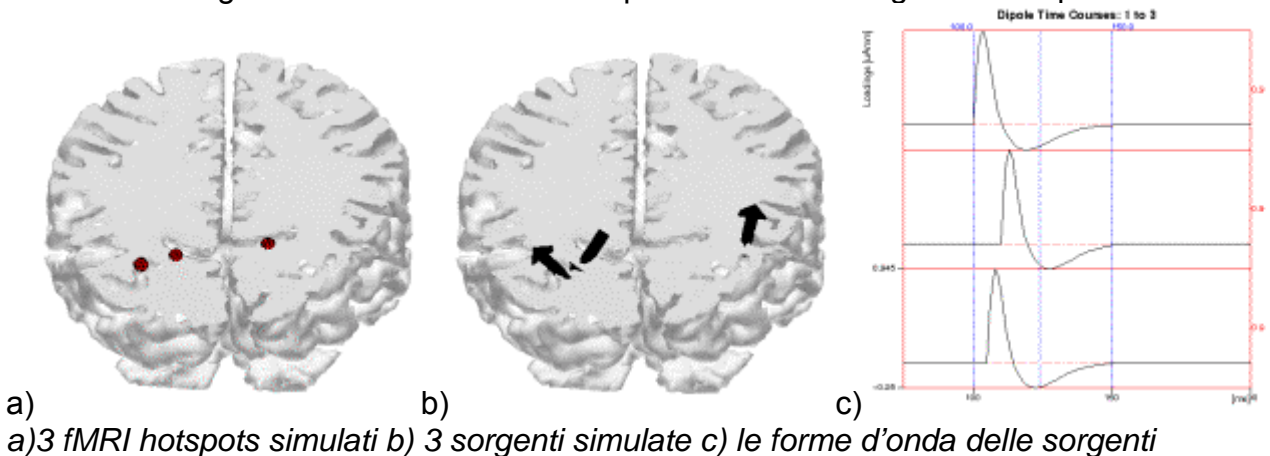
Possono essere usate diverse funzioni di weighting, includendo la totale soppressione dell'attività dei non-hotspot, lo smorzamento dell'attività dei non-hotspots, e alcune funzioni arbitrarie delle correlazioni fMRI.



Relazione tra la fMRI significance e il weighting factor per locazioni date. a) fMRI hotspots sono aumentati di un fattore 1.4 b) fMRI hotspots sono aumentati di un fattore 2.0 c) fMRI hotspots sono aumentati come funzioni della loro significance.

Facciamo una simulazione per testare i metodi di ricostruzione delle sorgenti vincolate tramite fMRI. Le EEG, usando 61 elettrodi, generano i dati per tre sorgenti dipolari. Ogni sorgente mostra come pattern di attivazione una sequenza di depolarizzazione/ripolarizzazione. In più viene aggiunto del rumore per poter raggiungere un SNR (signal-to-noise ratio) pari a 15 per i dipole fits e pari a 30 per le ricostruzioni delle densità di corrente.

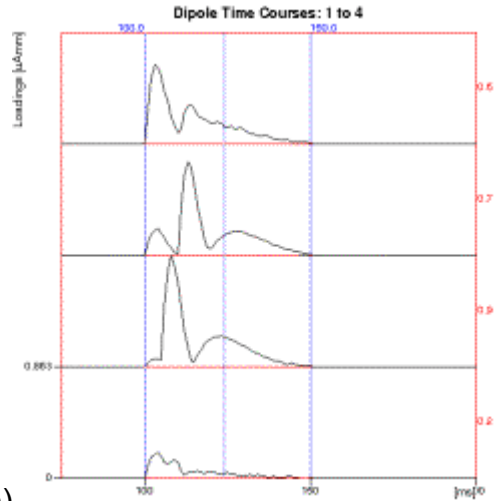
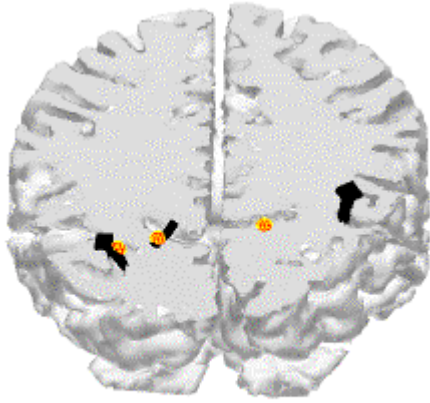
I dati fMRI vengono simulati con tre hotspots; 2 di questi coincidono con due delle tre locazioni di sorgente mentre il restante hotspot non ha una sorgente corrispondente.



a) 3 fMRI hotspots simulati b) 3 sorgenti simulate c) le forme d'onda delle sorgenti

Consideriamo prima i risultati per i **dipole fits** :

in tutti i 4-dipole fits, sono state trovate 3 sorgenti dominanti nelle locazioni corrette. Le sorgenti 1 e 2 interferiscono leggermente per i rotating dipole fits mentre ciò non accade per i fixed dipole fits. Possiamo studiare i risultati dalle seguenti figure:



a)

b)

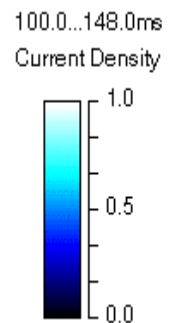
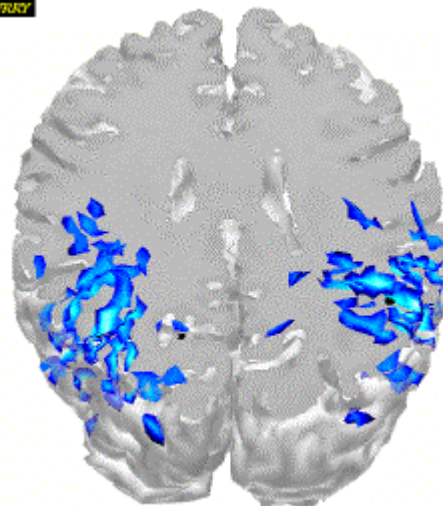
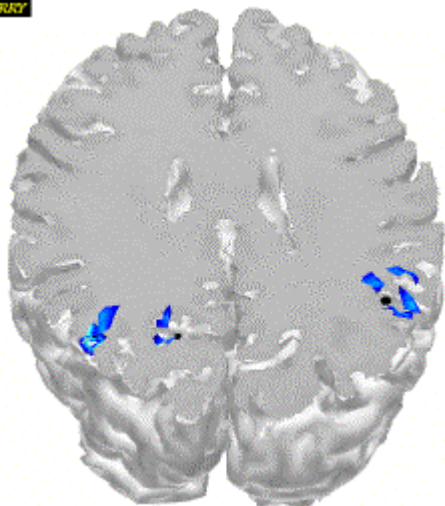
a) risultati per il fit di 4 dipoli ruotanti (in nero) e gli fMRI hotspots (colorati). C'è un dislocamento fra le sorgenti 1 e 2 (a sinistra) e gli hotspots usati come sorgenti, questo è dovuto al vincolo di massima distanza. b) Sono gli andamenti temporali rettificati di 4 dipoli ruotanti. Sono tutti positivi. La quarta sorgente è quella sul terzo hotspot; dovrebbe non avere alcun tipo di attività.

Consideriamo ora i risultati invece per **le densità di corrente** :

nelle soluzioni per le densità di corrente tramite fMRI-constrained MLNS (MINIMUM NORM LEAST SQUARES), tutte le locazioni delle sorgenti sono rintracciate quando viene usato un fattore di peso (weight factor) pari a 1.4, anche nel caso di sorgente senza un corrispondente hotspot. Comunque, gli andamenti temporali delle sorgenti 1 e 2 interferiscono. Studiamo i risultati nelle figure:

CURRY

CURRY



a)

b)

c)

a) Risultati della ricostruzione delle densità di corrente tramite fMRI-constrained MLNS e le locazioni delle sorgenti simulate(in nero) b) Risultati della ricostruzione delle densità di corrente tramite fMRI-unconstrained MLNS e le locazioni delle sorgenti simulate(in nero) c) la scala.

Al di là del range dei fattori di peso (weight factors) compresi tra 1.0 (non pesato) e 10.0 (fortemente pesato), si può osservare una transizione dai risultati non vincolati (unconstrained) ad una pura riflessione sulle locazioni degli hotspots. Comunque per tutti i metodi e i SNR, un fattore di peso pari a 1.4 risulta essere la scelta migliore: la soluzione

trae vantaggio dai vincoli dell'fMRI nel senso che le sorgenti sono focalizzate nelle locazioni degli hotspots, mentre la sorgente additiva è ancora recuperata.

Presentiamo ora delle tabelle, considerando per tutti i casi un fattore di peso pari a 1.4.

-Per SNR tra 30 e 8, il metodo fMRI-constrained MNLS (tabelle 1,2,3) è in grado di localizzare correttamente tutte e tre le sorgenti senza mostrare massimi falsi.

-Il metodo minimum norm L_1 (tabella 4) generalmente fornisce artefatti meno sfuocati rispetto al MNLS. Quando è usato insieme ai vincoli fMRI, l'attività è focalizzata nelle locazioni degli hotspots.

-Nel metodo LORETA (tabella 5) i pesi sono applicati, a differenza del minimum norm, alle misure locali della smoothness più che alle strengths delle sorgenti. LORETA inoltre non è in grado di mostrare la terza sorgente, che è recuperata solo nelle soluzioni non vincolate (unconstrained).

Tabella 1: Minimum norm least squares, SNR = 30. Per tutte le ricostruzioni tramite MNLS, i vincoli fMRI con pesi pari a 1.4 focalizzano sorgenti nel corrispondente hotspot, mentre la terza sorgente priva del corrispondente hotspot è ancora recuperata.

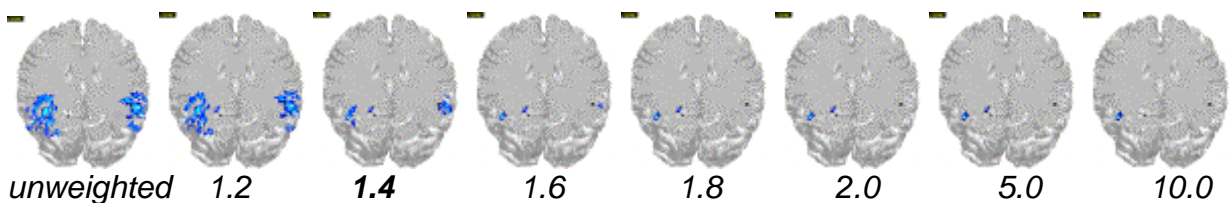


Tabella 2: Minimum norm least squares, SNR = 15

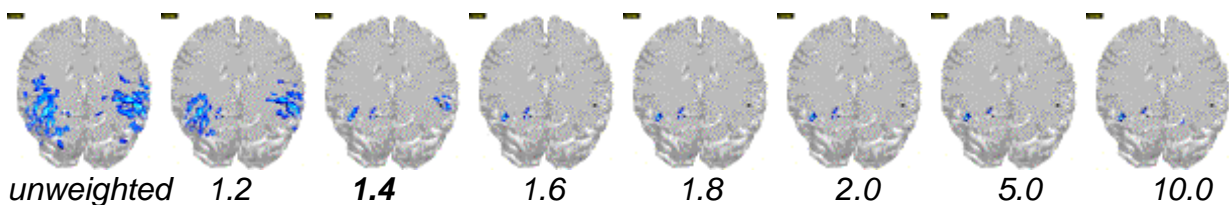


Tabella 3: Minimum norm least squares, SNR = 8. Anche per questo basso SNR, tutte le sorgenti sono trovate. La soluzione non vincolata è molto sfuocata a causa dell'alto livello di rumore nei dati.

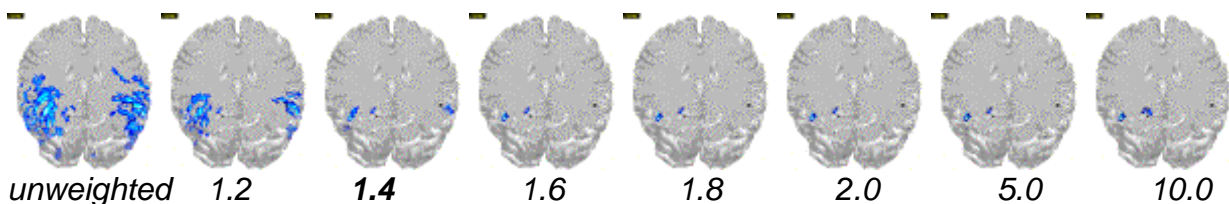


Tabella 4: Minimum L_2 norm, SNR = 15. Per le ricostruzioni tramite L_2 norm, i vincoli fMRI con peso pari a 1.4 focalizzano le sorgenti coi corrispettivi hotspots, mentre la terza sorgente priva del corrispondente hotspot è ancora recuperata. La soluzione non vincolata (unconstrained) mostra a artefatti nel cerebello, ed è tipico nelle misure molto sensibili come la L_2 norm.

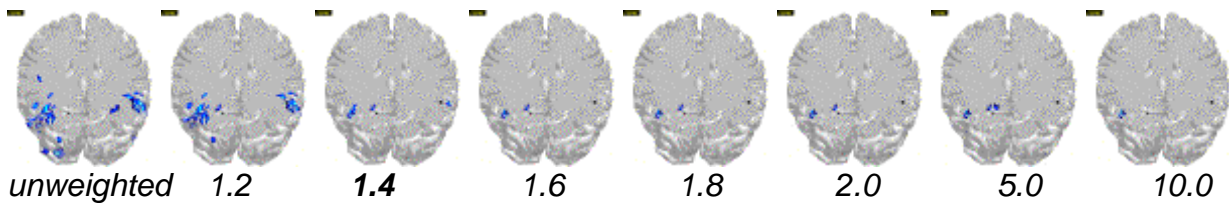
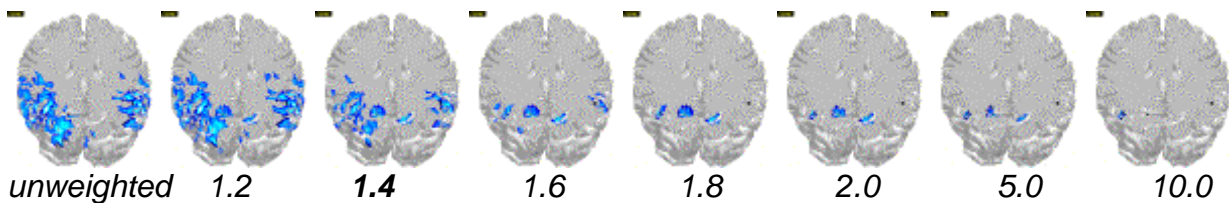


Tabella 5 : LORITA corticale, SNR = 15. I vincoli fMRI focalizzano le sorgenti coi corrispettivi hotspots, ma la sorgente senza il corrispondente hotspot non è ricostruito.



Quindi concludendo:

- Dipole fits traggono vantaggio dai vincoli fMRI: sono ottenuti i punti d'origine più significativi per il location fit (che è un aspetto cruciale in tutti i multiple dipole fits). Un dipolo ricostruito in vicinanza di ogni fMRI hotspot produce un corrispondente andamento temporale della sorgente.

I dipoli non vincolati spazialmente sono quindi necessari per tener conto della restante attività. Tuttavia, la discriminazione temporale delle sorgenti vicine può essere raggiunta solo imponendo un ulteriore vincolo di dipolo fisso.

Le ricostruzioni delle densità di corrente rispondono ai vincoli fMRI in 2 modi: l'attività in vicinanza agli hotspots è compressa . La restante attività può essere focalizzata correttamente, se la distribuzione del suo campo può non essere generata da sorgenti all'interno degli hotspots, e se il fattore di peso (weight factor) non è troppo grande. La discriminazione temporale delle sorgenti vicine è aumentata rispetto alle ricostruzioni non vincolate (unconstrained) se gli orientamenti della sorgente corretta sono dominanti negli hotspots.