



Università di Pisa

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA
Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia

TESI DI LAUREA SPECIALISTICA

**Psicobiologia dell'ansia sociale:
studio di risonanza magnetica funzionale dello
stato di riposo cerebrale**

Candidato:
Leonardo Tozzi

Relatore:
Chiar.mo Prof. Pietro Pietrini

Correlatori:
Chiar.mo Prof. Carlo Palombo
Chiar.ma Prof.ssa Rossella Elisei

Anno Accademico 2012–2013

Indice

Riassunto	6
1 Introduzione	9
2 Lo studio dello stato di riposo	11
2.1 Tomografia a emissione di positroni	11
2.2 Risonanza magnetica funzionale	13
2.3 EEG e MEG	16
2.4 Problemi metodologici	17
3 Il Default Mode Network	19
3.1 Proprietà del DMN	21
3.1.1 Bassa frequenza oscillatoria	21
3.1.2 Aree coinvolte	22
3.1.3 Funzioni del DMN	23
3.2 Alterazioni del DMN	25
3.2.1 Interferenza del DMN	25
3.2.2 DMN e patologia	26
4 L'indice di Hurst	31
4.1 Proprietà dei frattali	32

4.2	Analisi frattale e coefficiente H	33
4.3	Razionale dello studio	35
5	Materiali e metodi	37
5.1	Partecipanti	37
5.2	Scala psicometrica	38
5.3	Acquisizione FMRI	38
5.4	Analisi dei dati	39
5.4.1	Preprocessing	39
5.4.2	Analisi di connettività	39
5.4.3	Calcolo dell'indice di Hurst	41
5.4.4	Analisi di gruppo	41
6	Risultati	43
6.1	Scala Liebowitz	43
6.2	Analisi di gruppo	43
6.2.1	Connettività funzionale	44
6.2.2	Indice di Hurst	49
7	Discussione	52
7.1	Connettività funzionale	52
7.2	Indice di Hurst	55
8	Conclusione	57
	Bibliografia	59
	Allegato	77
	Ringraziamenti	77

Elenco delle figure

6-1	Localizzazione cluster con regressione fra r e LSAS significativa	44
6-2	Valori cluster con regressione fra r e LSAS significativa	45
6-3	Localizzazione cluster con t-test su r significativo	47
6-4	Valori cluster con t-test su r significativo	48
6-5	Localizzazione cluster con regressione fra H e LSAS significativa	50
6-6	Valori cluster con regressione fra H e LSAS significativa	51
8-1	Allegato: Scala Liebowitz per l'ansia sociale (1)	75
8-2	Allegato: Scala Liebowitz per l'ansia sociale (2)	76

Elenco delle tabelle

6.1	Cluster con regressione lineare fra r e LSAS significativa	44
6.2	Cluster con t-test su r significativo	46
6.3	Cluster con regressione fra H e LSAS significativa	49

Riassunto

Negli ultimi anni ha acquisito sempre più interesse lo studio dello stato di riposo cerebrale, ovverosia del segnale neuronale proprio dell'individuo sveglio e all'erta, ma non impegnato in alcuno sforzo cognitivo mirato. Si ritiene infatti che l'attività rilevabile in questa condizione sia il risultato dell'interazione fra numerose reti cerebrali altamente organizzate e che sia in grado di influenzare in modo significativo le attivazioni specifiche rilevate durante i compiti finalizzati. È stato ipotizzato, inoltre, che tramite il suo studio si possano ottenere correlati funzionali misurabili di variabili psicometriche, monitorando la loro eventuale evoluzione fino alla patologia.

Nell'ottica di una visione dimensionale della malattia mentale, l'ansia sociale può essere facilmente intesa e misurata come una variabile continua in ogni individuo, estesa dalla semplice timidezza ai fenomeni di evitamento e panico in situazioni sociali propri della fobia sociale conclamata. Per questo motivo tale dimensione è stata oggetto di studio nella presente tesi, nella quale sono stati confrontati i punteggi sulla scala Liebowitz (LSAS) dell'ansia sociale di 36 soggetti e due misure funzionali calcolate a partire dai loro dati acquisiti in stato di riposo tramite risonanza magnetica funzionale cerebrale: la connettività del Default Mode Network e l'indice di Hurst.

Il Default Mode Network è un insieme di aree cerebrali attive e funzionalmente connesse in stato di riposo che riducono fortemente la loro scarica spontanea durante l'attività finalizzata (Raichle *et al.*, 2001). Queste sono: corteccia cingolata posteriore/precuneo (PCC), corteccia prefrontale mediale (MPFC) e corteccia parietale mediale

(MPC), laterale (LPC) e inferiore (IPC). Nel presente lavoro, lo studio del DMN ha reso possibile la valutazione dell'integrità dei collegamenti funzionali fra aree diverse in individui con vari gradi di ansia sociale.

L'indice di Hurst (H) è un indice frattale impiegato per descrivere l'andamento del segnale emodinamico all'interno delle singole aree cerebrali. Si tratta di un numero compreso fra 0 e 1 che descrive la tendenza relativa della serie temporale di regredire verso la sua media o di spostarsi in una direzione. In condizioni fisiologiche, gli indici di Hurst del segnale emodinamico cerebrale presentano solitamente un intervallo ristretto di valori (Herman *et al.*, 2009). H troppo discostati dalla norma potrebbero dunque rappresentare la presenza di una patologia o la progressione verso di essa.

La connettività del DMN con il resto del cervello e gli H di ogni voxel sono stati confrontati con i valori LSAS dei 36 soggetti tramite due procedure distinte. La prima è stata una regressione lineare fra gli indici funzionali di ogni partecipante e il loro punteggio di LSAS, la seconda è stata un confronto tramite t-test fra i 12 individui con LSAS ≥ 30 e 12 altri.

I risultati hanno indicato che un aumento di LSAS è correlato a una connettività funzionale ridotta fra insula e DMN a riposo. Questo potrebbe essere indice di uno stato di allarme in grado di sfuggire ai normali meccanismi di controllo dell'attività cerebrale, generando una predisposizione a sviluppare ansia e preoccupazione con più facilità in risposta a stimoli sociali, come volti e sguardi, ed enterocettivi.

Fra i soggetti con LSAS ≥ 30 sono state inoltre ritrovate differenze significative della connettività del DMN con precuneo, PCC, IPL e insula. La sincronia minore fra le oscillazioni di queste aree e quelle del resto del DMN potrebbe portare questi individui ad assegnare una maggior quota di attenzione sia alle percezioni enterocettive che alle proprie elaborazioni cognitive egodistoniche (bias attenzionale).

Per quanto riguarda l'indice di Hurst, è stata rilevata una correlazione positiva fra H e i punteggi sulla scala LSAS dei soggetti a livello di SPL e precuneo, aree coinvolte

nei fenomeni attentivi e nell'integrazione degli stimoli tattili e visivi (Shomstein, 2012). L'aumento di H in queste sedi potrebbe riflettere una loro maggiore rigidità nell'adattarsi agli impulsi provenienti da altre aree corticali che potrebbe esitare in difficoltà per il paziente nel variare l'allocazione della propria attenzione verso stimoli esterni in grado di smentire il suo giudizio riguardo alle proprie abilità sociali.

I risultati del presente studio forniscono una nuova base biologica a un'osservazione che era stata già formulata in ambito psicologico, clinico e psicometrico: l'ansia sociale si comporta come una dimensione estesa su un continuum che va dalla normale timidezza alla patologia.

Il fatto che questi risultati siano stati ottenuti a riposo, infine, potrebbe indicare che l'ansia sociale è una dimensione di tratto in grado di modificare la predisposizione a valutare le percezioni in un modo piuttosto che in un altro e di influenzare le successive elaborazioni cognitive.

Capitolo 1

Introduzione

Da tempo uno degli approcci sperimentali più diffusi per studiare la funzione cerebrale è quello di prendere in esame il reclutamento di aree specifiche durante lo svolgimento di compiti definiti. Oltre a questo tipo di procedura sperimentale, negli ultimi anni ha acquisito sempre più interesse anche lo studio dello stato di riposo, ovverosia dell'attività neuronale propria dell'individuo sveglio e all'erta ma non impegnato in alcuno sforzo cognitivo mirato.

Se si paragona il consumo energetico cerebrale nello stato di riposo con quello misurato durante l'esecuzione di un compito, in effetti, si può osservare come questo sia solo leggermente più alto nel secondo caso (Raichle e Gusnard, 2002; Raichle e Mintun, 2006). Gran parte dell'investimento metabolico del cervello viene quindi impiegato nel mantenimento o nella modifica di un'attività sempre presente e da questo si evince come il concentrarsi, nello studio dell'organo, solamente sulle modifiche funzionali rilevate durante l'esecuzione di compiti possa essere riduttivo.

Oggi si ritiene che l'attività rilevabile in stato di riposo sia il risultato dell'interazione fra numerose reti cerebrali altamente organizzate e che sia persino in grado di influenzare in modo significativo le attivazioni specifiche rilevate durante le azioni finalizzate. È stato ipotizzato, inoltre, che tramite il suo studio si possano ottenere correlati funzionali

misurabili di variabili psicometriche, monitorando la loro eventuale evoluzione fino alla patologia. Esistono numerosi dati che in effetti indicano un'alterazione della funzione cerebrale a riposo in diversi disturbi come la malattia di Alzheimer, la schizofrenia, la sindrome da deficit di attenzione e iperattività (ADHD), l'autismo, i disturbi dell'umore e quelli d'ansia.

La ricerca delle corrispondenze fra attività cerebrale e dimensioni personologiche ha beneficiato negli ultimi anni dell'affermazione di una visione dimensionale della malattia mentale, contrapposta a quella categoriale rappresentata dal DSM-IV TR. Secondo questo approccio, la malattia viene intesa come estremizzazione di variabili psicometriche facilmente misurabili in ogni individuo e sulla base delle quali può essere situato in un continuum fra fisiologia e patologia. In questa ottica, la dimensione di ansia sociale assume particolare interesse in quanto può essere intesa e misurata come una variabile continua, estesa dalla semplice timidezza ai fenomeni di evitamento e panico in situazioni sociali propri della fobia sociale conclamata.

Questo lavoro di tesi si inserisce nel quadro di un progetto di ricerca più ampio dell'Unità Operativa di Psicologia Clinica e della Cattedra di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica dell'Università di Pisa, volto a indagare le correlazioni fra diverse valutazioni psicometriche e alcuni indicatori misurabili di attività cerebrale. In particolare, è stato valutato il rapporto fra i punteggi sulla scala Liebowitz dell'ansia sociale di 36 soggetti e due misure calcolate a partire dai loro dati funzionali acquisiti in stato di riposo: la connettività del Default Mode Network e l'indice di Hurst.

Dopo un'introduzione sui vari metodi che vengono abitualmente utilizzati per lo studio dello stato di riposo, verranno approfondite le tecniche e le misurazioni specifiche che sono state scelte per essere impiegate nel protocollo sperimentale. Questo verrà poi esposto nel dettaglio nei capitoli successivi a cui seguiranno un'analisi critica dei risultati ottenuti e una conclusione.

Capitolo 2

Lo studio dello stato di riposo

Nel corso degli anni numerose tecniche sono state sviluppate per lo studio dell'attività cerebrale e queste possono naturalmente essere anche applicate nello studio specifico dello stato di riposo. In particolare, i metodi più utilizzati sono distinguibili in due gruppi: quelli che prevedono una misura indiretta del consumo metabolico cerebrale, come tomografia a emissione di positroni (PET) e risonanza magnetica funzionale (fMRI), e quelli che sono in grado di misurare direttamente l'attività elettrica cellulare, come l'elettroencefalogramma (EEG) e la magnetoencefalografia (MEG). Ognuno di questi strumenti presenta specifici vantaggi, svantaggi e campi di applicazione, oltre che tecniche di analisi del segnale dedicate.

2.1 Tomografia a emissione di positroni

La Tomografia a Emissione di Positroni (PET) è una tecnica che è stata impiegata a lungo per lo studio della funzione cerebrale e che si basa sull'impiego di composti marcati con radioisotopi positrone-emittenti. Questi sono costituiti da atomi energeticamente instabili con un eccesso di protoni che tendono a decadere spontaneamente emettendo positroni. Le particelle così rilasciate possiedono un'energia cinetica variabile e tale

da permettergli di percorrere un tratto di pochi millimetri prima di interagire con un elettrone. L'effetto risultante da questo evento è l'annichilazione delle due particelle e la formazione di due fotoni che si dipartono dal punto di incontro con velocità uguale e direzione opposta. I due fotoni raggiungono il tomografo colpendo quasi contemporaneamente una coppia di sensori diametralmente opposti e collegati ad un circuito computerizzato in grado di misurare la coincidenza fra i due impatti. Quando un fotone colpisce il cristallo contenuto nel detettore, questo emette luce tramite scintillazione, che viene poi amplificata da un fotomoltiplicatore e convertita in un segnale elettrico. La linea che unisce due rilevatori opposti è detta linea di coincidenza e l'analisi delle linee di coincidenza consente di identificare il numero di eventi di annichilazione al secondo che si verificano in ogni voxel.

È dunque possibile apprezzare la distribuzione nel tempo a livello tissutale del radionuclide utilizzato, la quale assume un significato differente a seconda del composto. Questo rende la PET una metodica versatile e ampiamente utilizzata nello studio dei processi metabolici. A livello cerebrale, in particolare, l'utilizzo di $^{15}\text{O}_2$ e del ^{18}F fluoro-2-deossi-D-glucosio hanno permesso, rispettivamente, lo studio della perfusione cerebrale e del consumo di glucosio cellulare, entrambi indici indiretti di attività neuronale.

Il vantaggio della PET è quello di disporre di differenti traccianti a seconda del tipo di misurazione desiderata. Tuttavia, la scarsa risoluzione temporale della metodica la rende inadatta allo studio delle modifiche dell'attività neuronale e soprattutto a quello delle connessioni funzionali fra aree diverse. Anche la risoluzione spaziale è limitata a 4-8 mm e l'impiego di materiali radioattivi presenta inoltre un potenziale rischio per la salute dell'utente.

2.2 Risonanza magnetica funzionale

L'imaging a risonanza magnetica (Magnetic Resonance Imaging, MRI) è una tecnica di generazione di immagini, basata sul principio fisico della risonanza magnetica nucleare. Durante l'esecuzione dell'esame, il soggetto viene sottoposto ad un forte campo magnetico statico, la cui intensità può variare dai decimi di tesla, per piccole macchine dedicate allo studio delle articolazioni, ai 3 tesla per le macchine abitualmente impiegate per scopi diagnostici e di ricerca. Alcuni apparecchi attualmente in commercio raggiungono anche campi di 7 T, mentre nell'ambito sperimentale sono in sviluppo dispositivi da 8 e 9 T.

Nel campo magnetico statico, gli spin dei protoni all'interno dei tessuti tendono ad allinearsi in modo parallelo o antiparallelo. Poiché gli spin allineati in senso parallelo sono in numero superiore, i tessuti vengono a possedere una leggera magnetizzazione totale. Durante l'allineamento, gli spin acquisiscono inoltre una precessione attorno alla direzione del campo magnetico che mostra una frequenza tipica nell'ordine dei MHz e quindi nel campo della radiofrequenza. Se sul paziente viene dunque applicato un secondo campo magnetico di questa esatta frequenza e di energia sufficiente, è possibile ruotare la magnetizzazione dei protoni di un angolo arbitrario che dipende dal tipo di immagini che si desidera ottenere (risonanza).

Dopo la somministrazione di questo campo, gli spin dei protoni tenderanno a tornare al loro stato iniziale di allineamento (fenomeno di rilassamento) emettendo una radiofrequenza rilevabile. Tramite una bobina ricevente viene misurato questo fenomeno, solitamente in due momenti temporali: il primo, indicato con T1, misura la rapidità con cui si ricostruisce la magnetizzazione diretta lungo la direzione del campo principale, il secondo (T2) misura la rapidità con cui si elimina la componente di magnetizzazione trasversale. In base alle loro caratteristiche magnetiche rilevate al tempo T1 e T2 è possibile distinguere i differenti tipi di tessuto e la loro composizione sui tre piani: assiale, coronale, sagittale.

In teoria, sarebbe possibile effettuare misurazioni rilevando il segnale emesso da una grande varietà di nuclei atomici, come ad esempio quelli del sodio, del fosforo, del carbonio e dell'idrogeno, impostando la frequenza di risonanza delle bobine a radiofrequenza al valore appropriato. Tuttavia come fonte di segnale viene attualmente usato quasi esclusivamente l'idrogeno.

La risonanza magnetica funzionale (Functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI) impiega gli stessi principi della RMI per valutare la funzionalità di un organo o un apparato. In particolare, la risonanza magnetica funzionale neuronale è una tecnica in grado di visualizzare la risposta emodinamica correlata all'attività cerebrale.

La fMRI trova il proprio fondamento nell'osservazione che l'emoglobina è diamagnetica quando ossigenata ma paramagnetica quando non ossigenata. Il segnale fornito dal sangue nella risonanza magnetica nucleare varia dunque in funzione del suo livello di ossigenazione e può essere rilevato usando un'appropriata sequenza di impulsi MRI (segnale Blood Oxygenation Level Dependent, BOLD). Maggiori intensità del segnale BOLD derivano da aumenti nella concentrazione di emoglobina ossigenata e grazie a questa tecnica è quindi possibile stimare le variazioni relative del flusso sanguigno cerebrale e del consumo d'ossigeno a livello parenchimale.

Per misurare il segnale BOLD si impiegano immagini acquisite in 1-4 secondi con voxel di dimensioni di circa $2\text{-}4\text{ mm}^3$. Il segnale così acquisito rappresenta l'afflusso sanguigno cerebrale da parte delle grandi arterie e vene, delle piccole arteriole e venule. È possibile visualizzare anche vasi più piccoli usando campi magnetici più intensi, acquisendo quindi una maggiore risoluzione spaziale. Per questo motivo negli ultimi anni sono stati resi operativi scanner da 7 tesla e sono in sviluppo scanner sperimentali da 8 e da 9 tesla.

Grazie alla fMRI è anche possibile stimare la connettività funzionale fra i raggruppamenti neuronali, ovvero il grado di correlazione fra le serie temporali del loro segnale BOLD. In particolare, i metodi impiegati a tale proposito sono numerosi e possono

essere suddivisi in due gruppi: approcci seed-based, che si basano sulla definizione di regioni di interesse (ROI), oppure approcci completamente data-driven, ad esempio l'analisi tramite componenti indipendenti (ICA) e il calcolo di dimensioni frattali, come l'indice di Hurst.

Gli approcci seed-based usano analisi statistiche di correlazione e di regressione per esaminare la coerenza temporale fra i valori nel tempo di un voxel o di una ROI selezionata e quelli di tutti gli altri voxel acquisiti (Uddin *et al.*, 2008). Questi metodi permettono dunque di considerare funzionalmente connessi quei voxel o quelle ROI che presentano un'attività correlata nel tempo (Fox e Raichle, 2007), considerata un'indicatore della sincronizzazione fra le scariche oscillatorie di raggruppamenti di neuroni (Friston, 1994). In questo modo si possono anche studiare quella che viene definita "omogeneità del network", ovverosia la correlazione tra l'attività di un voxel e tutti gli altri di una rete cerebrale predefinita (Uddin *et al.*, 2008) e la "connettività regionale", calcolata fra voxel di aree cerebrali e quelli vicini (Yu-Feng *et al.*, 2007; Deshpande *et al.*, 2009).

I metodi data-driven, invece, non necessitano che lo sperimentatore definisca a priori quali aree cerebrali debbano essere oggetto di studio. Nella ICA, per esempio, si scompongono tramite algoritmi le serie temporali di tutti i voxel acquisiti in componenti massimamente indipendenti. Queste, idealmente, rappresentano le tracce caratteristiche delle fonti che, attraverso la loro somma lineare, producono il segnale totale registrato (McKeown *et al.*, 1998). Il calcolo di dimensioni frattali a partire dalle serie temporali di valori acquisite in ogni voxel, invece, è una procedura di analisi relativamente recente, che si basa sull'assunzione che l'attività metabolica cerebrale, in quanto frutto dell'interazione complessa fra più componenti organizzate, possa essere ricondotta a un modello matematico di tipo frattale (Herman *et al.*, 2009).

A differenza della PET, la MRI è generalmente considerata innocua per l'utente, in quanto quest'ultimo non è sottoposto a radiazioni ionizzanti. Questo vantaggio,

unito a una migliore risoluzione temporale, fa sì che questa metodica sia in generale preferita per gli studi di connettività cerebrale. Gli svantaggi dell'utilizzo di questa tecnica si riducono quindi principalmente ai costi elevati e ai tempi lunghi necessari all'acquisizione delle immagini.

2.3 EEG e MEG

Nonostante la fMRI consenta una visualizzazione delle attivazioni cerebrali ideale dal punto di vista anatomico, la risoluzione temporale della metodica è bassa e l'aspetto dell'attività neuronale che produce cambiamenti nel segnale BOLD non è stato ancora definito chiaramente (Huettel *et al.*, 2004). L'elettroencefalogramma, invece, permette l'osservazione delle variazioni del potenziale elettrico nelle aree cerebrali anche durante brevissimi intervalli.

L'EEG registra infatti un segnale continuo, definito nel dominio del tempo. Per poter studiare i fenomeni di connettività funzionale con questa metodica, è tuttavia necessario esprimerlo nel dominio della frequenza grazie a una trasformazione di Fourier con finestra temporale mobile, un metodo detto “short time Fourier transform” (STFT) (Bruns, 2004). Una alternativa è la “wavelet transform”, che convolve il segnale misurato con una serie di filtri oscillatori, ognuno che rappresenta bande di frequenza diverse. Questo sistema fornisce una risoluzione tempo-frequenza più alta della STFT ma necessita di più tempo per essere calcolato (Gramatikov e Georgiev, 1995). Grazie a queste analisi si possono ottenere parametri come ampiezza e fase del segnale da cui derivare altre misure, come la sincronicità di fase, una misura che indica se il phase shift fra due canali di registrazione è vicino a una costante nell'intervallo di tempo specificato per ciascuna frequenza data (Tcheslavski e Beex, 2006). Sulla base del valore di sincronicità di fase si definisce infine se è presente phase locking fra due frequenze, ovvero se due segnali sono correlati o meno.

Anche l'analisi delle variazioni di campo magnetico prodotte dall'attività cerebrale tramite la magnetoencefalografia (MEG) sta diventando una metodica promettente per studiare lo stato di riposo. Grazie a questo strumento, è stato possibile rilevare alterazioni a questo livello in diverse patologie, quali la malattia di Parkinson (Bosboom *et al.*, 2006; Osipova *et al.*, 2006), di Alzheimer (Stam *et al.*, 2006; Stoffers *et al.*, 2008), la demenza indotta da HIV (Becker *et al.*, 2012) e i disturbi dello spettro autistico (Cornew *et al.*, 2012).

2.4 Problemi metodologici

Nonostante esistano dunque svariate metodologie di indagine che rendono possibile lo studio dello stato di riposo, ognuna presenta alcuni inconvenienti. Per esempio, non è ancora completamente chiarito il rapporto tra l'attività neuronale misurata con EEG o MEG e le variazioni del segnale fMRI. Inoltre, sia l'EEG che la MEG forniscono un segnale rumoroso e ricco di artefatti, anche se l'impiego della seconda metodica sembra essere più vantaggioso per l'osservazione dell'attività corticale. È probabile anche che molti segnali visibili con queste due tecniche non lo siano necessariamente con l'impiego della fMRI. Al contrario, il 20% dei neuroni della sostanza grigia non sono piramidali ma hanno comunque un'attività metabolica che non può essere misurata dall'EEG o dalla MEG e che potrebbe invece essere visibile grazie alla fMRI.

Un altro inconveniente è rappresentato dal fatto che le oscillazioni elettromagnetiche a bassa frequenza (fra 0.01 e 0.1 Hz), caratteristiche di diverse reti neuronali attive a riposo, sono difficili da studiare e per analizzarle sono necessari tempi di acquisizione lunghi, che possono ridurre la compliance e la stazionarietà dei partecipanti agli esperimenti (Birn *et al.*, 2006). A questo proposito, è stato osservato come una misura indipendente dell'attività respiratoria e del battito cardiaco siano molto utili per identificare il segnale neuronale più accuratamente, pur rendendo ancora più complessa la

procedura di acquisizione (Birn *et al.*, 2008).

Il problema dell'eccesso di dati artefattuali e della sovrapposizione di segnali da più origini può in ogni caso essere affrontato per esempio con lo studio tramite ICA. Questo metodo è infatti in grado di stimare ogni singola fonte che contribuisce a generare il segnale, rendendo più agevole l'isolamento degli artefatti e del rumore (Jung *et al.*, 2000; Makeig *et al.*, 2002; Vigario *et al.*, 2000). Per aumentare l'efficacia del sistema, è possibile anche usare l'ICA a singolo segnale, una forma di ICA che isola i componenti sottostanti usando solo l'informazione temporale di registrazioni a singolo canale (Davies e James, 2007). Lo svantaggio di questo tipo di procedure è la scelta delle frequenze da classificare come rumore, la quale viene lasciata allo sperimentatore e può portare alla perdita di dati.

Da quanto sin qui esposto si può concludere che esistono svariati modi per analizzare lo stato di riposo, i quali comprendono sia tecniche per valutare la connettività funzionale fra aree cerebrali distinte sia analisi dell'attività di singole regioni. Per la parte sperimentale del presente lavoro di tesi sono stati scelti due fra questi metodi: lo studio della connettività funzionale del Default Mode Network tramite un approccio seed-based e quello dell'indice di Hurst sull'intero volume cerebrale. Questi due argomenti verranno approfonditi nei capitoli successivi.

Capitolo 3

Il Default Mode Network

Lo studio dello stato di riposo è stato rivalutato e affrontato in maniera approfondita negli ultimi anni da quando Marcus Raichle ha dimostrato, utilizzando la PET e la fMRI, che esistono alcune aree cerebrali attive e funzionalmente connesse nell'individuo sveglio e all'erta che riducono fortemente la loro attività spontanea quando questi inizia una qualunque attività finalizzata (Raichle *et al.*, 2001). In particolare, queste aree includono la corteccia cingolata posteriore/precuneo (PCC), la corteccia prefrontale mediale (MPFC) e la corteccia parietale mediale (MPC), laterale (LPC) e inferiore (IPC). La presenza di connettività funzionale fra queste strutture è stata confermata non solo in fMRI sia da metodi seed-based che data-driven (Bluhm *et al.*, 2008), ma anche da studi elettroencefalografici. L'attività peculiare di queste aree è stata infatti osservata con l'EEG sia in termini di bande tradizionali (Chen *et al.*, 2008) sia di bande a frequenze molto lente (Helps *et al.*, 2008; Vanhatalo *et al.*, 2004). Chen *et al.* hanno anche elaborato, sulla base delle loro registrazioni elettroencefalografiche, la distribuzione spaziale delle fonti dell'attività elettrica a riposo rilevata (Chen *et al.*, 2008). La rete funzionale individuata è stata infine misurata contemporaneamente con EEG e fMRI, trovando numerose corrispondenze fra il segnale BOLD delle aree coinvolte e la loro attività elettrica (Debener *et al.*, 2005, 2006; Herrmann e Debener, 2008; Laufs,

2008).

Secondo Raichle e colleghi le aree coinvolte in questo fenomeno possono essere considerate come parti di un'unica rete funzionale, denominata "Default Mode Network" (DMN), attiva nello stato di riposo dell'attività cerebrale ma pronta a disattivarsi quando è necessario svolgere un compito di qualsiasi tipo (Raichle *et al.*, 2001). In effetti, la connettività funzionale del DMN sembra persino riflettere i collegamenti anatomici noti fra le strutture che lo compongono (Greicius *et al.*, 2009). A riprova di questa corrispondenza, le attivazioni nelle aree coinvolte sono state anche confrontate con le connessioni strutturali presenti in una corteccia di macaco, individuando relazioni funzione-struttura su più livelli (Honey *et al.*, 2007).

L'analisi dell'attività cerebrale in condizioni di riposo ha anche evidenziato aree che, al contrario del DMN, vengono attivate in modo aspecifico durante un'attività finalizzata. Esiste dunque una rete che è stata definita "task-positiva", che include la corteccia dorsolaterale prefrontale (DLPFC), parietale inferiore (IPC) e l'area motoria supplementare (SMA). L'attività di queste aree sembra essere associata con uno stato di allerta aumentata e di preparazione alla risposta comportamentale agli stimoli (Fox *et al.*, 2005; Fransson, 2005; Sonuga-Barke e Castellanos, 2007).

Il network task-positivo e il DMN presentano serie temporali ad andamento opposto nel tempo e l'attivazione della prima rete riduce quella della seconda. Diverse ipotesi sono state formulate per tentare di spiegare l'interazione fra questi due sistemi. Per esempio, secondo alcune teorie, l'attività oscillante del network task-positivo potrebbe riflettere l'attenzione rivolta ai fenomeni esteroceettivi durante il riposo, in modo da garantire una preparazione agli eventi inaspettati. Quindi il sistema di feedback fra le due reti potrebbe essere inteso come una transizione continua a bassa frequenza fra uno stato in cui l'attenzione viene rivolta verso l'ambiente esterno e uno in cui viene rivolta ai processi cognitivi, garantendo che l'individuo sia pronto a reagire agli eventi nonostante le sue elaborazioni mentali (Fox *et al.*, 2005; Fransson, 2005).

Successivamente all'identificazione delle aree coinvolte nei vari sistemi attivi a riposo, sono stati fatti in ogni caso significativi progressi nella caratterizzazione della loro attività, grazie all'applicazione mirata di metodiche di indagine volte a rilevare i fenomeni di connettività funzionale fra le loro componenti in vivo. In particolare, grazie alle moderne tecniche di imaging, soprattutto il DMN è stato studiato in modo approfondito in condizioni sia fisiologiche che patologiche.

3.1 Proprietà del DMN

In seguito allo studio del DMN in vivo si è giunti a definirlo come una rete ad attività oscillante a bassa frequenza composta da aree con proprietà e funzioni distinte, coinvolta nei fenomeni di attenzione e elaborazione mentale cosciente.

3.1.1 Bassa frequenza oscillatoria

Le oscillazioni rilevate nelle componenti del DMN hanno una frequenza minore di 0.1 Hz e si estendono collegando in modo funzionale aree molto diverse fra loro (Sonuga-Barke e Castellanos, 2007). La possibilità che esista una comunicazione stabile di questo tipo fra porzioni cerebrali anche anatomicamente distanti è stata dimostrata persino in presenza di collegamenti sinaptici deboli (Helps *et al.*, 2008). Esistono inoltre altre reti a bassa frequenza documentate oltre al DMN e alla rete task-positiva nella corteccia uditiva, sensoriale, motoria e in altre aree probabilmente coinvolte nella memoria e nelle funzioni esecutive (Damoiseaux *et al.*, 2006; Mantini *et al.*, 2007).

In generale, le proprietà delle reti neurali prevedono che le oscillazioni a bassa frequenza siano proprie di reti estese, mentre quelle ad alta frequenza si ritrovano solitamente in strutture più piccole. Si pensa a questo proposito che le prime siano in grado di modulare l'attività delle seconde e di collegarle fra loro (Buzsaki e Draguhn, 2004; Fox e Raichle, 2007). Per quanto riguarda il DMN, le sue oscillazioni sembrano appunto

inserirsi in modo lineare su quelle generate durante vari compiti a livello delle loro aree specifiche (Fox *et al.*, 2006).

Nonostante lo studio delle reti neurali sia un campo in rapida espansione, il ruolo preciso della correlazione fra le aree cerebrali tramite oscillazioni a bassa frequenza rimane ancora ignoto. Le ipotesi attualmente più accreditate gli attribuiscono funzione di collegamento temporale delle informazioni (Fries *et al.*, 2001), di coordinazione fra gruppi neuronali che lavorano spesso insieme (Fox e Raichle, 2007), di registrazione di pattern di attività relativi a un compito (Fox e Raichle, 2007), di predizioni dinamiche di attività future (Fox e Raichle, 2007) e di collegamento fra un meccanismo di attenzione rivolto verso l'esterno e l'interno (Fransson, 2006).

3.1.2 Aree coinvolte

Nonostante la funzione di ogni singola area del DMN sia ancora per la maggior parte sconosciuta, le ricerche volte a definire il loro ruolo nella rete consentono di formulare alcune ipotesi.

In particolare, la PCC sembra avere un ruolo nel campionamento continuo dell'ambiente interno ed esterno (Raichle *et al.*, 2001) e la riduzione della sua attività durante un compito appare in grado di facilitare l'impiego di attenzione per esso. Inoltre si pensa sia implicata nei fenomeni di memoria, siccome la sua attività si modifica in compiti mnemonici (Greicius *et al.*, 2003) ed è particolarmente suscettibile all'atrofia in pazienti con la malattia di Alzheimer (Buckner *et al.*, 2005).

Per quanto riguarda MPFC, invece, questa potrebbe avere un ruolo nella cognizione sociale, nel monitoraggio del proprio stato interiore e nella formulazione di pensieri sugli stati psicologici altrui (Blakemore, 2008; Gusnard *et al.*, 2001; Rilling *et al.*, 2008; Schilbach *et al.*, 2008). Nel contesto del DMN si ritiene che questa struttura sia coinvolta nella mediazione fra emozioni e funzioni cognitive delle regioni ventrali e dorsali. In particolare, la MPFC ventrale è connessa con strutture limbiche come l'amigdala, lo

striato ventrale e l'ipotalamo e potrebbe svolgere un ruolo nell'indurre i correlati visceromotori dell'informazione emozionale derivata da stimoli interni ed esterni (Gusnard *et al.*, 2001).

Anche l'attività del precuneo, come quella di MPFC, è associata con processi introspektivi associati all'elaborazione auto riferita ed emotiva ed è ridotta quando l'attenzione è diretta ad elementi esterni (Gusnard *et al.*, 2001). A riprova del coinvolgimento di questa struttura nei fenomeni attentivi, è stato anche evidenziato che una sua attività aumentata, o ridotta meno di quanto atteso, è in grado di predire errori in un test flanker fino a 30 secondi prima che questi vengano commessi (Eichele *et al.*, 2008).

È interessante notare inoltre come il DMN sembri avere una sua evoluzione durante lo sviluppo. Infatti, la sua presenza del bambino è più ridotta (Fransson *et al.*, 2007), e la connettività fra le sue strutture si presenta meno estesa in bambini di 7-9 anni (Fair *et al.*, 2008) rispetto a quelli di 9-12 (Thomason *et al.*, 2008).

3.1.3 Funzioni del DMN

Come già è stato accennato, molti degli studi svolti portano a ipotizzare un ruolo del DMN nel fenomeno più generale dell'attenzione. È stato infatti osservato che, durante la transizione fra stato di riposo e azione, la connettività fra le aree del DMN non viene annullata del tutto ma solo ridotta (Eichele *et al.*, 2008; Fransson, 2006; Greicius *et al.*, 2003, 2004) e più il compito richiede attenzione, più la riduzione è consistente (Garrity *et al.*, 2007; Singh e Fawcett, 2008). Per esempio, l'attività del DMN persiste durante semplici compiti sensoriali (Greicius *et al.*, 2003; Wilson *et al.*, 2008), durante i primi stadi del sonno (Horovitz *et al.*, 2008) e, anche se in misura minore, sotto sedazione cosciente (Greicius *et al.*, 2008). Allo stesso modo, perdite di attenzione momentanee durante un compito sono state associate a una attività persistente del DMN e a un'attività ridotta in altre aree cerebrali come il giro frontale inferiore (IFG), mediale (MFG) e la corteccia cingolata anteriore (ACC) (Weissman *et al.*, 2006). Anche

lo stato di “mind wandering” può essere incluso fra le condizioni in cui l’attenzione non è rivolta a un compito specifico e uno studio di Mason *et al.* (2008) ha mostrato come in effetti l’attività tonica del DMN sia associata con questo fenomeno nella veglia (Mason *et al.*, 2007).

In generale i compiti coscienti portano quindi a una inattivazione del DMN, ma esistono alcune eccezioni degne di nota. Durante attività che richiedono pensiero auto-riferito o memoria di lavoro vengono infatti disattivate solamente alcune aree del DMN o addirittura altre aumentano la loro attività. Per esempio, l’elaborazione di giudizi soggettivi ha portato a un aumento dell’attività nel MPFC dorsale (Gusnard *et al.*, 2001). I compiti di memoria, invece, disattivano solamente il PCC in maniera direttamente proporzionale alla loro difficoltà (Esposito *et al.*, 2006). Questi dati sembrano confermare l’ipotesi che la MPFC e, più in generale, il DMN, possano avere anche un ruolo nell’elaborazione del pensiero introspettivo.

Alcuni studiosi hanno anche ipotizzato che il DMN possa rappresentare un correlato funzionale dell’attività cerebrale necessaria a mantenere uno stato fisiologico di coscienza del sé (Guldenmund *et al.*, 2012). Questa ipotesi sembra essere avvalorata dall’osservazione di una connettività ridotta della rete durante il sonno non REM (Vogt e Laureys, 2005), l’ipnosi (Guldenmund *et al.*, 2012), l’anestesia e la sedazione (Greicius *et al.*, 2008), in particolare a livello del precuneo/PCC. È stato persino osservato che la connettività di questa struttura con gli altri componenti del DMN può permettere di distinguere pazienti in stato vegetativo, pazienti affetti da sindrome di veglia non responsiva e pazienti in coma in seguito a danno cerebrale (Guldenmund *et al.*, 2012). Altri Autori, tuttavia, si sono opposti a questa visione e ritengono che il DMN costituisca solamente un hub funzionale in grado di integrare l’attività aree cerebrali distanti (Fries *et al.*, 2001; Fox e Raichle, 2007).

Dopo aver individuato alcune delle sue proprietà fisiologiche, sono stati eseguiti diversi studi per definire se il DMN si presenti alterato in svariate condizioni pato-

logiche. Il ruolo ipotizzato della rete, infatti, lascia presupporre che un suo alterato funzionamento possa avere un impatto diretto sui fenomeni attentivi, di memoria e di pensiero auto-riferito e che possa essere correlato a manifestazioni di alcune patologie psichiatriche.

3.2 Alterazioni del DMN

Cambiamenti dell'attività del Default Mode Network sono stati in effetti individuati in diverse condizioni, patologiche e non. Un'attività anomala della rete, in particolare, sembra poter essere messa in relazione con la riduzione di capacità a svolgere compiti finalizzati e con disturbi comportamentali, emotivi e del pensiero presenti in alcune condizioni psicopatologiche

3.2.1 Interferenza del DMN

Si è più volte ribadito il ruolo del DMN nella modulazione dell'attenzione. È stato a tale proposito riportato come l'attivazione spontanea a bassa frequenza del DMN possa interferire con l'attenzione necessaria a svolgere un compito e quindi portare a un peggioramento della capacità di eseguirlo (Fox *et al.*, 2005). Per questo motivo è stato formulato il concetto di “interferenza del DMN” secondo cui l'attività a bassa frequenza del DMN che normalmente viene attenuata nel corso di compiti con uno scopo potrebbe persistere in alcune circostanze (motivazione subottimale e disturbi dell'attenzione) o riemergere durante i periodi di attività al punto da portare a cali attentivi e deficit di performance (Sonuga-Barke e Castellanos, 2007).

Un fenomeno simile è stato riportato anche nello stato di mind wandering citato in precedenza, una condizione caratterizzata dalla presenza di pensieri interferenti con un'attività impegnativa (Mason *et al.*, 2007). Si è rilevato infatti come l'attività registrata del DMN sia proporzionale all'aumento di errori nell'esecuzione del compito in

questa circostanza (Mason *et al.*, 2007). In risposta a questa ipotesi, anche Gilbert *et al.* hanno fatto notare come l'attività di MPFC fosse persistente in prove con tempi di reazione aumentati e hanno sostenuto che questo fosse dovuto a un coinvolgimento eccessivo del DMN nella risposta allo stimolo sperimentale (Gilbert *et al.*, 2007).

In generale, si può in ogni caso ipotizzare che l'interferenza del DMN nell'attivazione neuronale specifica per un compito volontario possa essere indotta o aggravata da alterazioni funzionali o quantitative dell'attività della rete.

3.2.2 DMN e patologia

Pattern atipici di anti-correlazione tra il DMN e il network task-positivo o connettività aberrante tra le regioni che li compongono sono tutti possibili meccanismi che potrebbero portare a uno sconvolgimento dell'equilibrio fra le reti attive a riposo, portando quindi a deficit di attenzione e peggioramento delle performance nelle azioni finalizzate. A riprova di questa teoria, questo tipo di alterazioni sono risultate evidenti in diversi disturbi mentali, alcuni dei quali caratterizzati da gravi disfunzioni dei processi introspettivi, come la malattia di Alzheimer, l'autismo, la sindrome da deficit di attenzione e iperattività (ADHD), i disturbi dell'umore e d'ansia.

Malattia di Alzheimer

Le connessioni fra le aree del DMN nello stato di riposo si presentano alterate nell'invecchiamento fisiologico (Damoiseaux *et al.*, 2008), ma nella malattia di Alzheimer questo aspetto diventa particolarmente evidente: la connettività fra l'ippocampo destro e molte regioni, alcune delle quali componenti il DMN, come la MPFC dorsale, l'ACC ventrale, il MTG e la PCC destra è infatti ridotta significativamente (Wang *et al.*, 2006). Questa alterazione potrebbe essere collegata al deficit della memoria di lavoro e dell'attenzione caratteristici del disturbo.

In pazienti affetti, l'entità della deattivazione del DMN può fornire addirittura un indicatore misurabile della gravità della patologia. In base alla sua ampiezza, tempistica e alle sue caratteristiche spaziali durante un compito di memoria è stato infatti possibile distinguere malati di Alzheimer da individui lievemente alterati cognitivamente e sani (Rombouts *et al.*, 2005). In questi soggetti, inoltre, l'omogeneità della connettività regionale nel PCC/precuneo correla positivamente con la progressione di malattia misurata dai punteggi sulla scala mini-mental state (He *et al.*, 2007) ed è alterata persino in caso di rischio genetico aumentato di malattia (Persson *et al.*, 2008).

Autismo

Nei pazienti affetti da autismo, il pensiero affettivo e introspettivo atipico o ridotto è associato con una bassa attività del DMN a riposo. In particolare, si pensa che la mancanza di attivazione del componente orbito-frontale mediale del DMN durante l'analisi di parole associate a un'emozione possa essere un'indicatore dell'elaborazione emotiva anomala caratteristica di questa patologia (Kennedy *et al.*, 2006).

Inoltre, nei soggetti autistici, anche la connettività fra le componenti del DMN si presenta ridotta, in particolare fra la MPFC e la PCC. Questo potrebbe portare a un disturbo limitato all'elaborazione emozionale e del pensiero riferito a sé (Cherkassky *et al.*, 2006; Kennedy e Courchesne, 2008; Kennedy *et al.*, 2006) e in effetti questa interpretazione è in accordo con la normale funzione del network task-positivo rilevata in questo gruppo clinico (Kennedy e Courchesne, 2008).

Un altro aspetto peculiare degli individui con disturbi dello spettro autistico è infine l'assenza di significative anti-correlazioni fra network task-positivo e DMN. Si è a tale proposito ipotizzato che in questi soggetti il rapporto fra le due reti sia sbilanciato e che questo potrebbe portarli fin dall'età dello sviluppo verso elaborazioni non emozionali e non sociali (Kennedy e Courchesne, 2008).

ADHD

Anche in pazienti affetti da sindrome da iperattività e deficit dell'attenzione (ADHD) uno studio ha riportato connettività alterata fra tutte le strutture del DMN (Tian *et al.*, 2006), nonché un'alterata interazione fra la sue parti anteriori (MFPC e giro frontale superiore) e posteriori (PCC e precuneo) (Castellanos *et al.*, 2008; Uddin *et al.*, 2008). Gli Autori hanno ipotizzato che questa anomalia potrebbe esprimersi sotto forma di una relazione difettosa fra memoria di lavoro e controllo attentivo.

In modo simile a quanto osservato nei soggetti autistici, fMRI a riposo di soggetti con ADHD hanno mostrato un'anti-correlazione ridotta fra network task-positivo e DMN rispetto a quella rilevata in controlli sani. Si pensa che questo possa spiegare almeno in parte i cali di attenzione e la variabilità di performance durante i compiti finalizzati, caratteristiche tipiche di questo disturbo (Castellanos *et al.*, 2008). In effetti, anche in una popolazione sana la variazione fra gli individui nella forza dell'anti correlazione tra il DMN e le componenti del network task-positivo sembra essere in grado di influire sulle performance in esercizi impegnativi dal punto di vista cognitivo. In particolare, un'anti-correlazione più forte fra le reti sembra essere associata a un migliore svolgimento del compito (Kelly *et al.*, 2008).

Schizofrenia

Al contrario di ciò che avviene per i soggetti autistici e affetti da ADHD, nei pazienti schizofrenici è stata individuata una maggiore connettività fra le strutture all'interno delle reti attive nello stato di riposo, che potrebbe determinare la mentalizzazione eccessiva e l'allerta costante verso l'ambiente esterno tipiche di questi individui (Zhou *et al.*, 2007).

Nello specifico, anche la connettività fra il DMN e gli altri network appare maggiore della norma, il che suggerisce una loro interdipendenza più alta. Questa osservazione potrebbe indicare uno stato di distraibilità permanentemente aumentata dalle alluci-

nazioni e dai deliri (Jafri *et al.*, 2008). A riprova del coinvolgimento delle strutture del DMN in questi fenomeni, è stata evidenziata una correlazione fra la loro gravità e l'entità di una deattivazione in eccesso del MFG e del precuneo durante compiti cognitivi (Garrity *et al.*, 2007).

Risulta particolarmente interessante l'osservazione, in un gruppo di schizofrenici, di indici di connettività significativamente più alti rispetto a soggetti sani non solo all'interno del DMN e fra questo e altre reti, ma anche nel network task-positivo. Inoltre, l'anti-correlazione fra i due sistemi si è presentata significativamente aumentata. Le strutture coinvolte da questo fenomeno sono state, per quanto riguarda il DMN, soprattutto la MPFC dorsale, il giro temporale inferiore e le regioni parietali laterali. Il network task-positivo, invece, ha mostrato maggiore attività nel PFC dorsale laterale destro, nelle insule e nel giro orbito frontale. Gli Autori sostengono che anche l'aumento di anti correlazione fra le due reti potrebbe rappresentare un loro antagonismo eccessivo, che probabilmente contribuisce all'eccesso di mentalizzazione e al deficit del controllo attentivo tipici della schizofrenia. Sono state evidenziate anche anticorrelazioni ridotte all'interno del DMN, fra la corteccia premotoria destra dorsale, il PCC e le regioni parietali. Queste suggeriscono che la corteccia dorsale premotoria destra possa mediare l'anticorrelazione fra i due network (Zhou *et al.*, 2007).

Da tutti questi risultati emerge l'ipotesi che una rivalità eccessiva fra il network task-positivo e il DMN sia accompagnata da cali ciclici nell'attenzione e da deficit nell'esecuzione di attività rivolte a uno scopo. D'altro canto, una anticorrelazione minore della norma sembra riflettere l'attività preponderante di uno dei due componenti, che può portare alla disfunzione anche dell'altro.

Disturbi dell'umore

Nei pazienti affetti da disturbo depressivo maggiore l'attività del DMN durante compiti emozionali è risultata significativamente diversa da quella di soggetti di controllo

(Grimm *et al.*, 2008). È stato inoltre osservato che il cingolato subgeniale costituisce in questa patologia una regione inclusa nel DMN, la cui attività appare direttamente correlata alla lunghezza dell'episodio depressivo (Greicius *et al.*, 2007). Come già accennato, si ipotizza che le regioni del DMN siano coinvolte nell'elaborazione di pensieri rivolti a sé e al monitoraggio dell'ambiente esterno e interno. Queste attività sono iperattive nella depressione, soprattutto in forma di ruminazioni (Grimm *et al.*, 2008) e questi risultati sembrano confermarlo.

Anche la presenza di disturbo bipolare è stata associata con anomalie della connettività nelle regioni prefrontali e limbiche del DMN (Liu *et al.*, 2012). Una maggiore attività del putamen si è inoltre rivelata in grado di distinguere questa patologia dal disturbo depressivo maggiore (Ford *et al.*, 2013).

Disturbi d'ansia

In individui con disturbi d'ansia si sono rilevate invece una deattivazione minore del MPFC e una ridotta attività del PCC durante la presentazione di parole associate a minaccia accompagnate da aumentati livelli di ansia (MPFC), elaborazioni emozionali (PCC) (Zhao *et al.*, 2007) e nel riconoscimento di volti neutri (Gentili *et al.*, 2009; Danti *et al.*, 2010). In questi soggetti sono state anche evidenziate anomalie a livello di svariate reti attive in stato di riposo, fra cui una ridotta connettività fra il PCC/precuneo e il resto del DMN. È stato inoltre osservato un aumento della connettività di MPFC con il resto della rete correlato alla gravità della patologia (Liao *et al.*, 2010). Gli studi sperimentali riguardanti questo gruppo di patologie appaiono tuttavia meno numerosi rispetto a quelli riportati in precedenza.

Capitolo 4

L'indice di Hurst

Le tecniche di misura della connettività funzionale si pongono come obiettivo quello di chiarire alcuni aspetti dell'attività neuronale ricercando la presenza di una interazione lineare fra aree cerebrali. L'attività del cervello, tuttavia, costituisce un sistema complesso il cui funzionamento globale non può essere derivato da quello delle sue parti considerate singolarmente e neppure dallo studio di un numero limitato di esse.

È evidente infatti che il comportamento dell'organo e la sua attività nel tempo risultano dall'interazione fra cellule numerose e interconnesse che generano un segnale variabile. Un'organizzazione di questo tipo prevede numerose ridondanze strutturali e funzionali ed è spesso presente nei sistemi biologici, in quanto garantisce l'integrità globale del complesso anche in caso di eliminazione di singoli elementi che lo compongono. Gli strumenti di indagine attualmente disponibili non sono in grado di formulare un modello che riproduca esattamente il comportamento globale di questo tipo di sistemi, ma la descrizione della loro struttura è possibile tramite strumenti appositi, mirati a ricondurre a modelli matematici noti la sua attività osservata.

Data la ricorrenza nei sistemi biologici di organizzazioni assimilabili a modelli di tipo frattale, questi sono stati applicati per descrivere l'andamento nel tempo del segnale emodinamico cerebrale, misurato sia con metodi ottici che tramite fMRI (Herman *et al.*,

2009). Questo approccio ha consentito il calcolo di alcuni suoi parametri, come l'indice di Hurst, che rappresentano elementi misurabili di interesse ai fini della caratterizzazione dell'attività neuronale.

4.1 Proprietà dei frattali

Un frattale è un oggetto definito come tale in base ad alcune sue proprietà geometriche e matematiche (Falconer, 1990) come l'auto-somiglianza, l'obbedienza alla relazione di scala a legge di potenza e l'invarianza di scala.

L'auto-somiglianza è una delle caratteristiche più peculiari dei frattali e rappresenta la loro tendenza a ripetersi nella propria forma allo stesso modo su scale di misura diverse. Dal punto di vista matematico, questa proprietà può essere espressa dalla relazione di scala a legge di potenza:

$$q = ps^\epsilon \tag{4.1}$$

Dove q è una misura quantitativa in scala s , p è un fattore di proporzionalità e ϵ è un numero negativo detto esponente di scala.

In base a questa equazione si può osservare come la misura di un parametro frattale diminuisca all'aumentare della scala impiegata. Si immagini ad esempio di misurare un oggetto il cui perimetro obbedisca alla relazione di scala a legge di potenza con $p = 2$ e $\epsilon = -2$ con un righello di dimensione $s_1 = 1$. In questo caso, risulterebbe $q_1 = 2 \times 1^{-2} = 2$. Se si decidesse di impiegare, invece un righello di dimensione $s_2 = 2$, l'equazione darebbe $q_2 = 2 \times 2^{-2} = 0,5$.

Assumendo di avere eseguito una serie di misurazioni e dunque di disporre di un'insieme di valori di q e di p corrispondenti, per valutare la loro obbedienza alla relazione di scala a legge di potenza è possibile determinare il valore di ϵ come la pendenza della retta di regressione lineare che più si avvicina alla loro distribuzione su un piano

cartesiano in base logaritmica, come risulta dall'equazione derivata dalla precedente:

$$\log q = \log p + \epsilon \log s \quad (4.2)$$

I valori di q dei frattali detti esatti non si discostano da questa retta, mentre quelli relativi ai fenomeni naturali sono di solito definiti statistici, in quanto le due parti dell'equazione sono uguali soltanto per quanto riguarda la loro distribuzione.

L'invarianza di scala è un'altra proprietà dei frattali, espressione del fatto che il rapporto fra due stime di q misurate in due scale diverse s_1 e s_2 dipende solamente dal rapporto fra le scale s_2/s_1 e non dai valori assoluti di s_1 e s_2 secondo la relazione:

$$q_2/q_1 = ps_2^\epsilon / ps_1^\epsilon = (s_2/s_1)^\epsilon \quad (4.3)$$

Nell'esempio precedente, la relazione risulta: $0,5/2 = 2 \times 2^{-2}/2 \times 1^{-2} = (2/1)^{-2}$

Per i frattali esatti, s_2/s_1 è una variabile discreta, mentre per quelli statistici può cambiare in modo continuo mantenendo però valida l'equazione. In questo ultimo caso, come nel precedente, le due parti dell'equazione sono uguali solo nella loro distribuzione. È evidente che, per i frattali naturali, la proprietà dell'invarianza di scala vale solo in un campo ristretto di valori, in quanto al di sotto di una certa soglia viene raggiunta la dimensione degli elementi strutturali più piccoli.

4.2 Analisi frattale e coefficiente H

L'analisi frattale è un insieme di strumenti matematici che permettono di ricercare nella serie temporale di un segnale l'obbedienza alle leggi matematiche sopra descritte, permettendo dunque l'utilizzo di indici frattali come l'indice di Hurst per definirne alcune proprietà.

Il calcolo di questo indice presenta il vantaggio di poter essere svolto senza ideare

alcun modello che stimi le interazioni fisiologiche delle componenti del sistema e si basa sull'osservazione che i segnali fisiologici seguono un andamento nel tempo che può essere descritto con un processo detto moto Browniano frazionario (fBm) (Eke *et al.*, 2000). Un segnale fBm può essere considerato auto-somigliante, in quanto il suo segmento campionato $x_{i,n}$ di lunghezza n ha la stessa distribuzione di un segmento più lungo $x_{i,sn}$ di lunghezza sn riscalato, cioè moltiplicato per s^{-H} . Questo significa che ogni misura statistica m_n di una serie temporale fBm di lunghezza n è proporzionale a n^H secondo la relazione già citata:

$$x_{i,n} = ds^{-H} x_{i,sn} m_n = dpn^H \quad (4.4)$$

Da cui deriva:

$$\log m_n = d \log p + H \log n \quad (4.5)$$

Dove H è detto coefficiente di Hurst e rappresenta l'indice di scala di questo tipo di frattale e p è un fattore di proporzionalità.

H ha un significato particolare all'interno di un modello che descrive l'andamento di un segnale fBm nel tempo. Si tratta di un numero compreso fra 0 e 1 che descrive la tendenza relativa della serie temporale di regredire verso la sua media o di spostarsi in una direzione. Data una serie di valori fino a un istante, quindi, un valore di $0 < H < 0,5$ indica un'alta probabilità che la serie prosegua con un andamento opposto rispetto a quello precedente. In questo caso, ad esempio, un valore alto sarà probabilmente seguito da un valore basso e viceversa, con una persistenza di questa tendenza all'inversione nel futuro. A un indice $0,5 < H < 1$ corrisponde al contrario una probabile prosecuzione della serie nella stessa direzione. Un valore alto sarà quindi probabilmente seguito da un altro valore alto e anche i valori nel futuro saranno probabilmente alti. Un valore di $H = 0,5$ invece può indicare una serie completamente non correlata, ma corrisponde anche a serie per cui le correlazioni fra i dati possono essere positive o negative solo in piccoli intervalli temporali.

Dal punto di vista metodologico, esistono diverse operazioni matematiche che possono essere effettuate per individuare l'indice di Hurst di una serie temporale autosomigliante. La scelta di quali utilizzare dipende soprattutto dal tipo di segnale e dal suo dominio. Grazie al metodo power spectral density (PSD) (Eke *et al.*, 2000), per esempio, Herman *et al.* hanno calcolato l'indice di Hurst dalle serie temporali del segnale emodinamico spontaneo a riposo nel cervello di ratto. Questo si è rivelato in grado di permettere la distinzione fra il flusso ematico capillare (parenchimale) e quello dei piccoli vasi (Herman *et al.*, 2009). Inoltre, i valori di H in regioni di sostanza bianca e grigia sono risultati diversi in soggetti umani e sono stati in grado di rivelare l'irrigidimento della vascolarizzazione cerebrale legato a età e sesso (Eke *et al.*, 2005).

Questi risultati hanno portato a formulare l'ipotesi che gli indici frattali calcolati sulla base dell'andamento di alcuni rilievi dell'attività cerebrale siano in grado di fornire indicazioni su alcune caratteristiche di interesse altrimenti non misurabili. In condizioni fisiologiche, infatti, gli indici di Hurst delle serie temporali del segnale emodinamico cerebrale presentano solitamente un intervallo ristretto di valori (Herman *et al.*, 2009). Valori di H troppo discostati dalla norma potrebbero quindi rappresentare una maggiore instabilità del sistema e dunque la presenza di una patologia o della progressione verso di essa.

4.3 Razionale dello studio

Alla luce della necessità di approfondire lo studio dei correlati neurologici funzionali dei disturbi mentali, nel presente lavoro si è scelto di esaminare la dimensione di ansia sociale in stato di riposo ricercando la sua associazione con alterazioni misurabili del DMN e dell'indice di Hurst. Per questo sono state scelte due metodiche di analisi. In primo luogo si è scelto di valutare la connettività funzionale fra le strutture del DMN e il resto del cervello per ogni soggetto e di valutarne la relazione con i livelli di ansia

sociale misurati con la scala Liebowitz alla ricerca di una correlazione fra i due indici di patologia. In secondo luogo è stato deciso di applicare alle serie temporali del segnale BOLD dei partecipanti una tecnica di calcolo dell'indice di Hurst. Anche i valori di H così ottenuti sono stati correlati con i punteggi della medesima scala psicométrica. Le due analisi illustrate hanno fini complementari: la prima è volta ad esplorare variazioni della connettività fra aree distanti, mentre la seconda è in grado di fornire informazioni sulle differenze dell'attività nelle singole regioni nel tempo.

Capitolo 5

Materiali e metodi

In questo capitolo verranno approfonditi il processo di acquisizione delle immagini, la loro elaborazione iniziale e i passaggi che hanno permesso di valutare la connettività fra le strutture componenti il DMN e di eseguire il calcolo dell'indice di Hurst per le serie temporali del segnale registrato.

Tutte le operazioni sono state eseguite con i programmi del pacchetto software AFNI (<http://afni.nimh.nih.gov>), salvo dove diversamente indicato.

5.1 Partecipanti

Trentasei volontari sani (16 di sesso femminile, età media \pm deviazione standard: 27 ± 4 anni) sono stati reclutati per lo studio. Tutti sono andati incontro a una anamnesi clinica, a un esame obiettivo e a test ematochimici di routine. Non assumevano inoltre farmaci al momento dell'acquisizione delle immagini e non avevano storia di patologie mediche, neurologiche o psichiatriche che avrebbero potuto influenzare la loro funzione cerebrale.

I partecipanti hanno dato il loro consenso in forma scritta dopo essere stati informati dei metodi dell'esperimento e dei suoi rischi potenziali. Hanno comunque mantenuto il

diritto di ritirarlo in qualunque momento dello studio. Il protocollo è stato approvato dal comitato etico della Facoltà di Medicina dell'Università di Pisa (Protocollo n. 020850).

5.2 Scala psicometrica

In questo studio il test psicometrico utilizzato è stato la scala Liebowitz dell'ansia sociale (LSAS). La LSAS è uno strumento progettato per valutare il grado di ansia sociale misurando paura ed evitamento in situazioni di interazione e performance sociale (Liebowitz, 1993). In particolare, è stata impiegata la versione auto-somministrata della scala (LSAS-SR), che ha dimostrato di presentare solo minime differenze rispetto a quella compilata durante colloquio specialistico (Fresco *et al.*, 2001). Questo test è stato incluso come allegato al termine del presente lavoro.

5.3 Acquisizione fMRI

Per ogni sessione di fMRI è stata ottenuta una serie temporale, in cui l'intero volume cerebrale è stato acquisito 450 volte in forma di 26 fette contigue spesse 4 mm (TR = 2000 ms, TE = 40 ms, flip angle 90°, FOV = 24 cm, risoluzione = 64x64 pixels) in sequenza echo-planar imaging (EPI).

Sono state inoltre ottenute per ogni soggetto immagini anatomiche ad alta risoluzione T1-pesate in sequenza spoiled gradient recall.

I soggetti sono stati invitati a rimanere sdraiati nello scanner con gli occhi chiusi e a rilassarsi senza addormentarsi.

5.4 Analisi dei dati

5.4.1 Preprocessing

L'apparecchio impiegato acquisisce il volume cerebrale a fette alterne, in modo da ridurre il rumore prodotto dall'attivazione di un voxel di una fetta su quelli delle fette contigue. È stato dunque necessario riallineare dal punto di vista spaziale e temporale le acquisizioni di ogni soggetto, utilizzando i programmi 3dvolreg e 3dTshift, in grado di ricostruire per ogni voxel una serie temporalmente esatta.

5.4.2 Analisi di connettività

La prima operazione eseguita per ridurre il rumore delle acquisizioni è stata quella di scegliere un valore c al di sotto del quale ogni voxel potesse essere considerato vuoto. Questa operazione è stata svolta in modo automatico tramite il programma cliplevel. Il valore di ogni voxel in ogni istante temporale è stato poi normalizzato secondo la formula:

$$(a - m)(a - c)/m \tag{5.1}$$

Dove a è il valore rilevato del voxel, m è la media dei valori di quel voxel in ogni momento temporale e c è il valore generato dal programma cliplevel.

Sono poi stati applicati un filtro passa alto (frequenza = 0,01), uno passa basso (frequenza = 0,10) e uno smoothing gaussiano con larghezza a metà altezza (fwhm) di 6, rispettivamente grazie ai programmi 3dFourier e 3dmerge.

Per eliminare gli artefatti dovuti al movimento del paziente nello scanner, è stata eseguita una regressione lineare tramite il programma 3dDeconvolve comprendente 6 regressori in grado di descrivere i movimenti della testa nello spazio possibili partendo da un file automaticamente generato dall'allineamento delle fette nello spazio. Grazie

a questa procedura, è stato possibile generare una mappa che comprendesse tutti i tipi di rumore dovuti allo spostamento del soggetto.

In modo da escludere anche il rumore generato dai fenomeni fisiologici, come la respirazione e il battito cardiaco, sono state create una seed region nello splenio del corpo calloso e una nel terzo ventricolo. L'attività rilevata in queste regioni è stata considerata completamente artefattuale ed è stata unita a quella dovuta ai movimenti del paziente con il software 3dSynthesize, in modo da creare un dataset di solo rumore. I valori di ogni voxel di questo sono stati infine sottratti algebricamente da quelli totali, con il programma 3dCalc.

I dati risultanti sono poi stati convertiti nello spazio anatomico standardizzato Talairach (Talairach e Tournoux, 1988) grazie al software adwarp, in modo da permettere il confronto con altri studi e l'identificazione delle aree cerebrali tramite l'atlante di riferimento.

A questo punto è stato possibile definire le aree di interesse e procedere alla valutazione della connettività funzionale fra di esse e il resto del cervello. In particolare, le aree selezionate sono state quattro componenti principali del DMN: la corteccia mediale prefrontale (MCC), la corteccia cingolata posteriore (PCC) e il lobulo parietale inferiore destro e sinistro (IPL).

Per valutare la presenza di connettività fra le varie regioni, è stata eseguita un'analisi di correlazione fra i valori delle serie temporali acquisite e quelle del resto del volume cerebrale con il programma 3dfim+, correggendo per la reciproca influenza delle 4 ROI.

I valori dei coefficienti di correlazione delle mappe risultanti sono stati convertiti in una distribuzione normale tramite la trasformata di Fisher e utilizzati per l'analisi di gruppo.

5.4.3 Calcolo dell'indice di Hurst

Per il calcolo dell'indice di Hurst, l'eliminazione del rumore dovuto al movimento dei partecipanti tramite il programma 3dDeconvolver è stata la prima operazione eseguita, con le stesse modalità di quanto già descritto in precedenza.

Come osservato da Maxim (Maxim *et al.*, 2005), il rumore della fMRI dopo questa elaborazione si può descrivere come frazionale gaussiano (fGn). Dato che questo tipo di segnale può essere considerato come l'incremento stazionario di un moto Browniano frazionato, è stato ottenuto quest'ultimo integrando le serie temporali di ogni voxel corrette per il movimento e sottoposte a detrending lineare. L'indice di Hurst è stato poi stimato usando un approccio detto discreto di secondo ordine (Elsevier, 1997), implementato dalla funzione `wfbmesti` disponibile in Matlab (MathWorks Inc., Natick, MA, 2000).

5.4.4 Analisi di gruppo

Per confrontare i dati funzionali ottenuti ai punteggi dei partecipanti sulla scala Liebowitz sono stati utilizzati due metodi.

Il primo è stato l'esecuzione di un'analisi di regressione lineare tramite il software 3dRegAna per valutare se l'incremento del coefficiente di correlazione r e dell'indice di Hurst fossero associati in alcune aree cerebrali a valori più elevati ottenuti nella scala psicometrica. Il punteggio di LSAS è stato dunque testato come variabile indipendente (predittore) per stimare H e r (criterio).

Il secondo procedimento è stato individuare i soggetti con un punteggio di LSAS ≥ 30 , un valore considerato indicativo di una diagnosi di fobia sociale con un'accuratezza del 93,9% (Rytwinski *et al.*, 2009). Questi 12 soggetti sono stati confrontati con i 12 che avevano ottenuto i punteggi minori sulla scala tramite un t test per testare l'ipotesi zero di distribuzione casuale dei parametri funzionali fra i due gruppi.

Le aree individuate dall'analisi finale, infine, sono state sottoposte ad una correzione finale per controllare per confronti multipli. In modo da avere una stima attendibile del numero minimo di voxel da considerare come costituenti un unico cluster significativo, è stata eseguita una simulazione a 10000 permutazioni con il programma 3dClustSim. È stata presa in considerazione una soglia di significatività dell'analisi di gruppo di $p \leq 0.01$ e la simulazione ha riportato come dimensioni di cluster rappresentanti un valido cut-off ($p = 0.05$) 1728 per l'analisi di connettività e 494 per il calcolo dell'indice di Hurst. La differenza fra le due simulazioni è dovuta al diverso pre-processing delle immagini.

Capitolo 6

Risultati

6.1 Scala Liebowitz

Nel nostro campione, il punteggio di LSAS è stato in media di $23,58 \pm 6.85$ (deviazione standard). In particolare, 12 dei 26 soggetti avevano un punteggio maggiore o uguale al cut-off di 30.

6.2 Analisi di gruppo

In questa sezione verranno esposti i risultati delle analisi di gruppo. Saranno dunque elencati i cluster di dimensioni significative ($p \leq 0,05$) in cui le analisi hanno dato risultati ($p \leq 0,01$). In particolare, per ogni cluster verranno indicate le coordinate in spazio Talairach (Talairach e Tournoux, 1988) del centro di massa e del picco di attivazione, le regioni e l'emisfero di appartenenza, lo Z score e, nel caso dell'analisi di connettività, il coefficiente r di Pearson.

6.2.1 Connettività funzionale

L'analisi ha mostrato che nell'insula è presente un cluster in cui è stata individuata una correlazione positiva ($p \leq 0,01$) fra il coefficiente di connettività funzionale r e i risultati della scala Liebowitz (Tabella 6.1).

Centro di massa			Picco			Volume	Regione	Emisfero	R	Z
X	Y	Z	X	Y	Z					
33,2	-34,1	13,9	32	-31	16	1758	Insula	R	0,55	-3,5

Tabella 6.1: Cluster con regressione lineare fra r e LSAS significativa

Il cluster individuato è illustrato in Figura 6-1.

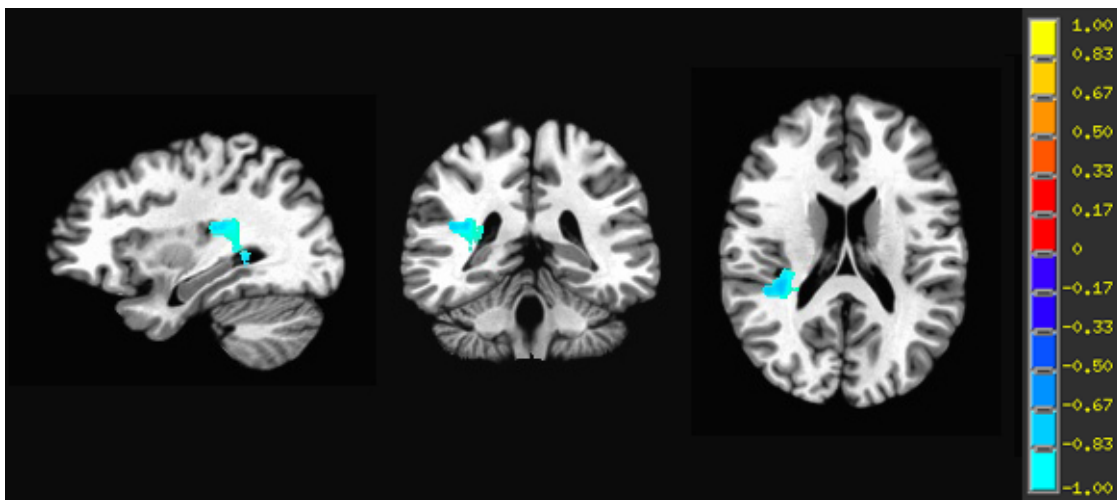


Figura 6-1: Localizzazione cluster con regressione fra r e LSAS significativa

La media dei valori di r dei voxel all'interno del cluster (asse orizzontale) e il punteggio di LSAS (asse verticale) di ognuno dei soggetti sono presentati sotto forma di grafico in Figura 6-2 insieme alla loro retta di regressione (in rosso).

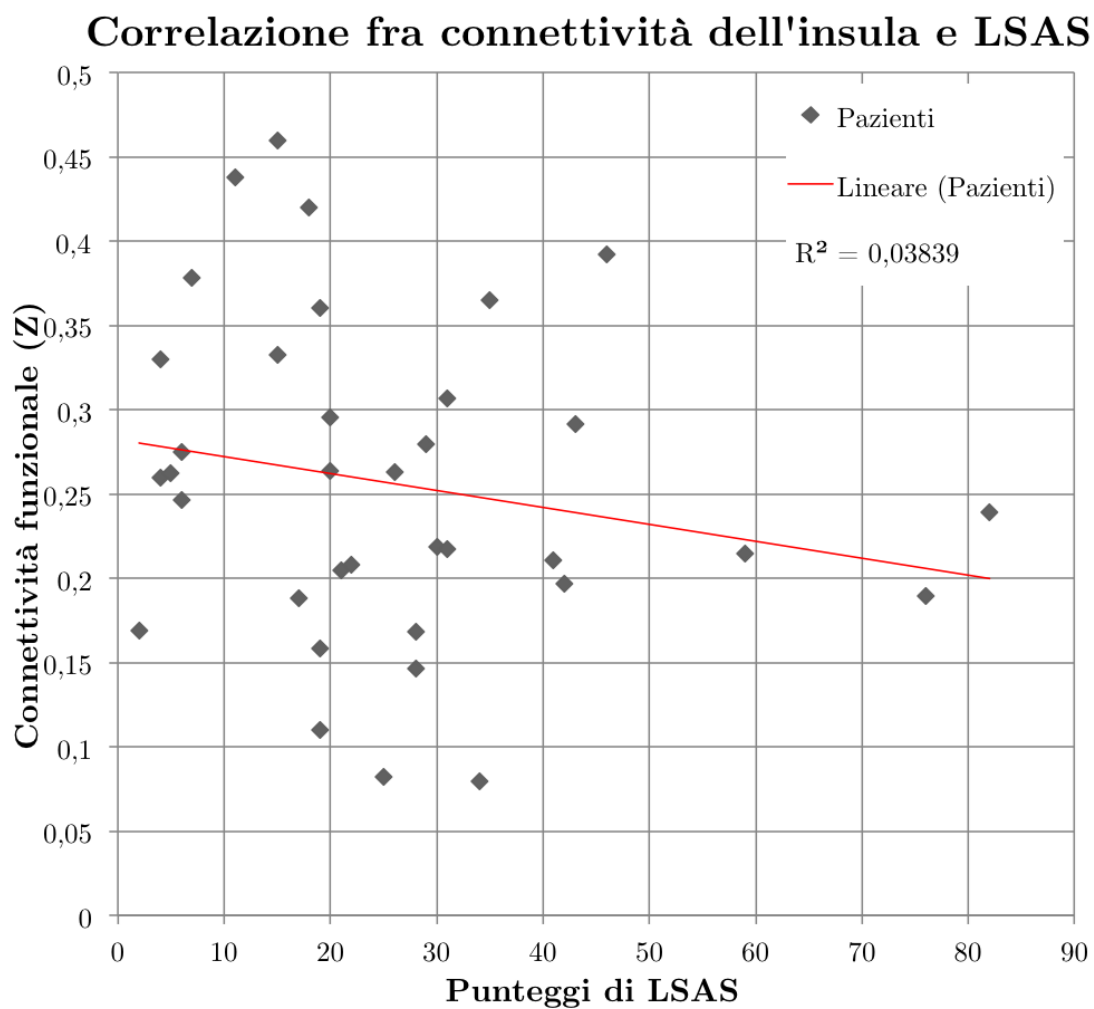


Figura 6-2: Valori cluster con regressione fra r e LSAS significativa

Per quanto riguarda il t test, è stata individuata una connettività funzionale significativamente minore ($p \leq 0,01$) negli individui con LSAS ≥ 30 fra il DMN e il cingolato posteriore, l'insula, il precuneo e il lobulo parietale inferiore (Tabella 6.2).

Centro di massa			Picco			Volume	Regione	Emisfero	Z
X	Y	Z	X	Y	Z				
-14	-80,2	16,9	-11	-89	15	4624	PCC	L	-0,36
36,8	-31,1	16,3	40	-35	16	2467	Insula	R	-0,28
22,6	-51,1	53,4	23	-48	57	2430	Precuneo	R	-0,32
-50,3	-25,9	26	-57	-29	12	1862	IPL	L	0,28

Tabella 6.2: Cluster con t-test su r significativo

I cluster individuati sono illustrati in Figura 6-3 a pagina 47.

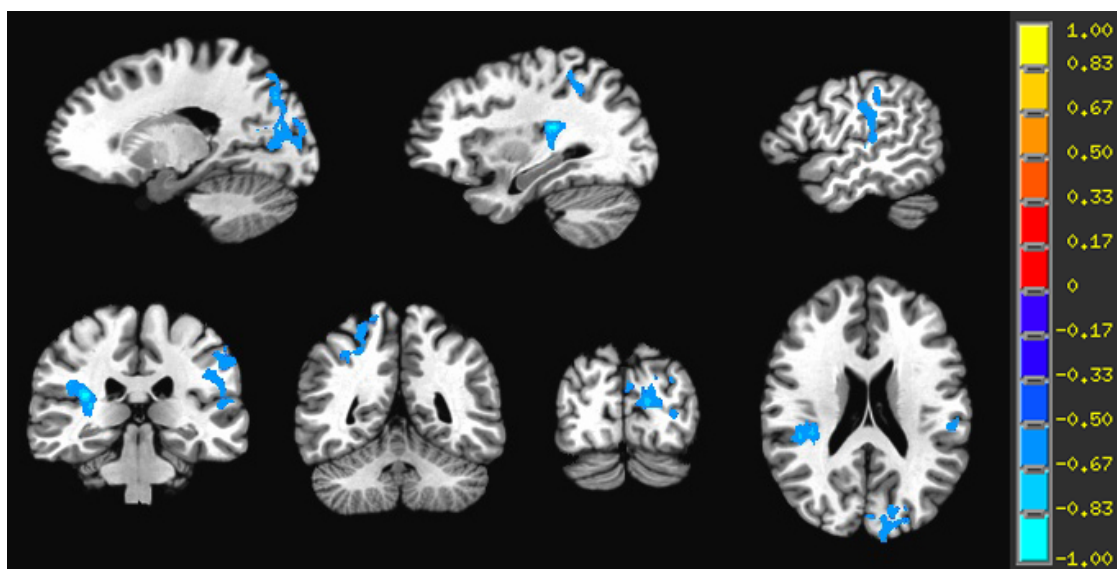


Figura 6-3: Localizzazione cluster con t-test su r significativo

La media dei valori di r dei voxel all'interno del cluster (asse orizzontale) e il punteggio di LSAS (asse verticale) di ognuno dei soggetti sono presentati sotto forma di grafico in Figura 6-4 insieme alla loro retta di regressione (in rosso).

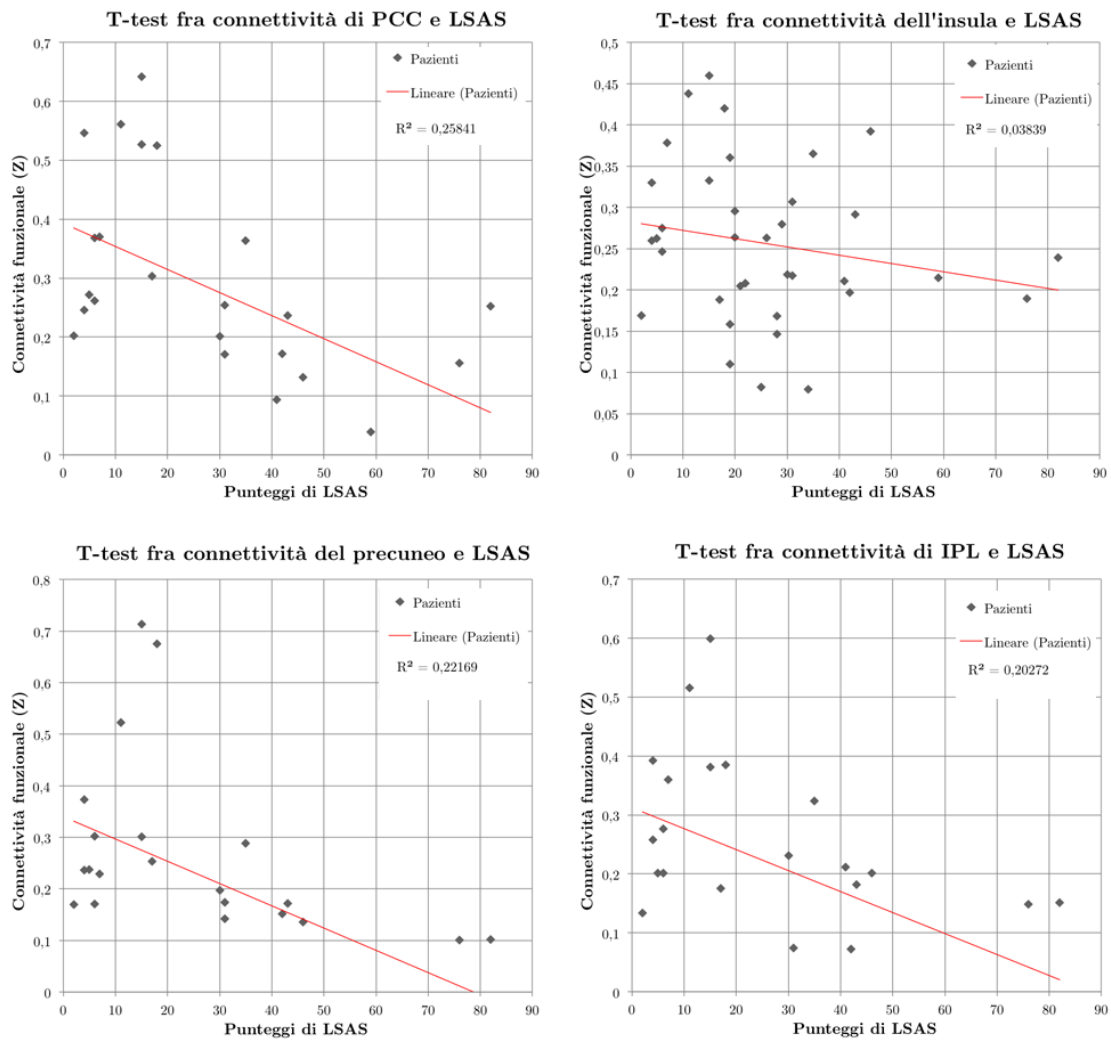


Figura 6-4: Valori cluster con t-test su r significativo

6.2.2 Indice di Hurst

I cluster di dimensione superiore al cut-off (494) in cui si è rivelata significativa ($p \leq 0,01$) l'analisi di regressione fra l'indice di Hurst e i risultati della scala Liebowitz si trovano a livello del precuneo, della PCC e del SPL (Tabella 6.3).

Centro di massa			Picco			Volume	Regione	Emisfero	R	Z
X	Y	Z	X	Y	Z					
23,7	-50,4	9,7	24	-51	9	851	Precuneo	R	0,7	4,75
-25	-54,6	59	-24	-54	59	820	SPL	L	0,65	4,33
-24,1	-58,7	37	-24	-61	38	629	Precuneo	L	0,6	3,876
-15,3	-67,5	27	16	-74	31	521	Precuneo	R	0,55	4,10

Tabella 6.3: Cluster con regressione fra H e LSAS significativa

I cluster individuati sono illustrati in 6-5 a pagina 50.

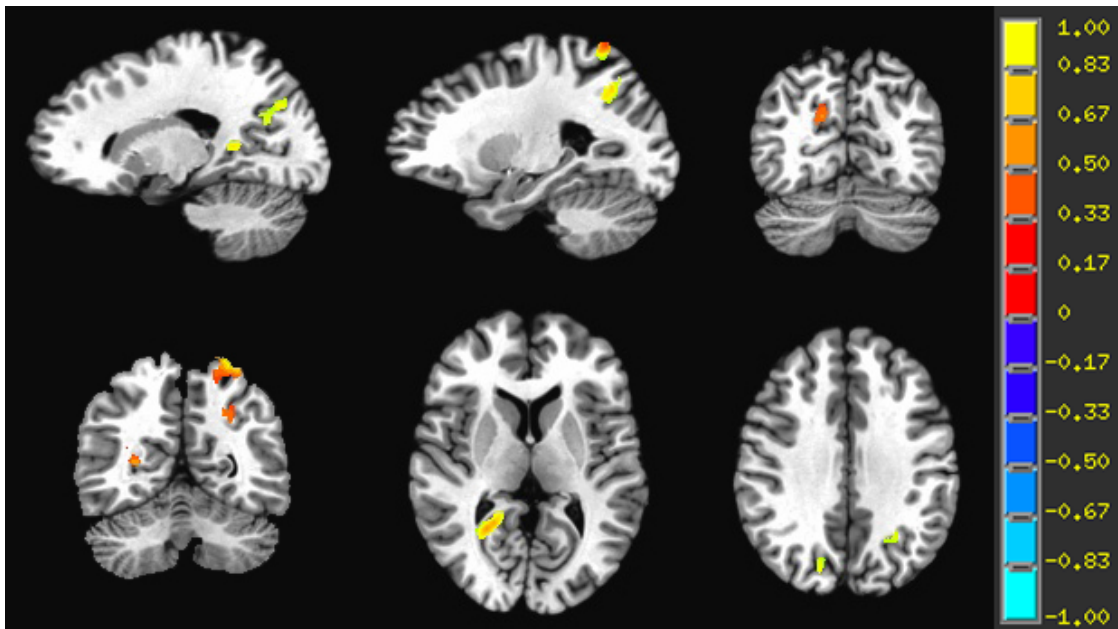


Figura 6-5: Localizzazione cluster con regressione fra H e LSAS significativa

La media dei valori di H dei voxel all'interno del cluster (asse orizzontale) e il punteggio di LSAS (asse verticale) di ognuno dei soggetti sono presentati sotto forma di grafico in Figura 6-6 insieme alla loro retta di regressione (in rosso).

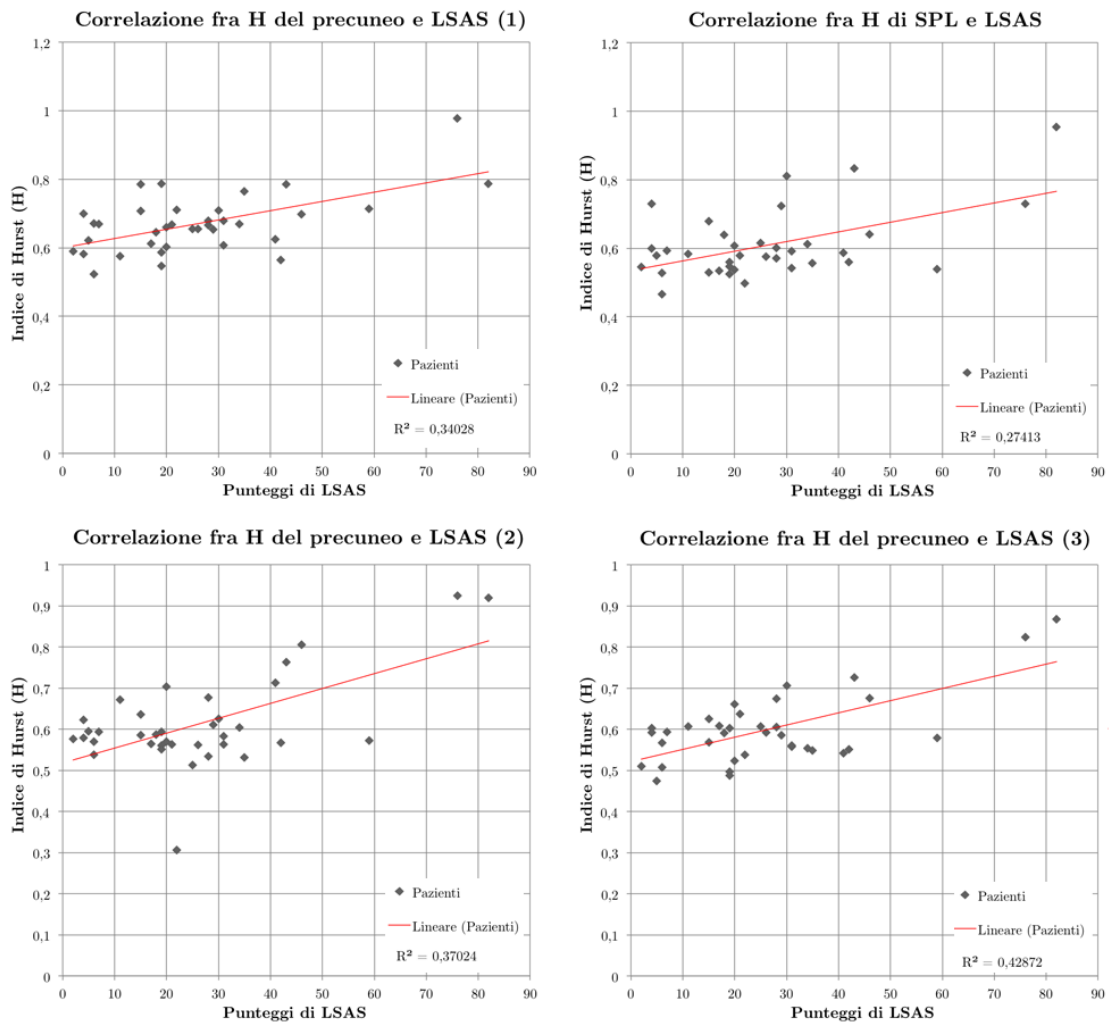


Figura 6-6: Valori cluster con regressione fra H e LSAS significativa

Per quanto riguarda il t test, questo non ha dato risultati significativi.

Capitolo 7

Discussione

7.1 Connettività funzionale

La connettività del DMN con l'insula dei partecipanti ha mostrato di essere correlata negativamente con i loro punteggi sulla scala LSAS. Questo risultato non è sorprendente: la corteccia insulare ha mostrato a più riprese un'attività anomala nella fobia sociale e, in generale, nei disturbi d'ansia. Questa struttura sembra infatti essere un sito di elaborazione delle percezioni estero- ed enterocettive, coinvolta in particolare nella valutazione del rischio che queste pongono per l'organismo e nel coordinamento di una risposta visceromotoria per farvi fronte.

L'enterocezione, definita come la percezione costante della condizione dell'intero corpo, ha origine da afferenti primari di piccolo diametro che convogliano segnali ai nuclei della sostanza reticolare, al talamo e alla corteccia posteriore e anteriore dell'insula, la quale riceve anche afferenze esteroceettive dalle aree sensoriali (Craig, 2002). Il ruolo di primo piano della corteccia insulare nell'abbinare le percezioni al loro correlato emotivo è dovuto alle sue connessioni bidirezionali sia verso l'amigdala che verso il nucleus accumbens (Reynolds e Zahm, 2005) e la corteccia orbitofrontale (Öngür e Price, 2000). Siccome i neuroni dell'amigdala possono adattare la loro risposta per dare valore posi-

tivo o negativo a uno stimolo (Paton *et al.*, 2006), l'insula è posizionata in modo ideale per ricevere informazioni sul significato di una percezione e integrarle con l'effetto che potrebbe avere sullo stato corporeo, innescando poi una risposta vegetativa all'eventuale pericolo. Inoltre l'informazione, dopo essere stata ricevuta dall'insula posteriore, viene inviata a quella anteriore che la ritrasmette alla corteccia cingolata anteriore, la quale può facilitare l'allocazione di risorse attentive per far fronte a un'eventuale situazione di emergenza (Carter *et al.*, 1999).

Questo meccanismo sembra essere coinvolto in numerose risposte alla percezione, in individui sia sani che affetti da disturbi d'ansia. Anche in assenza di patologia, per esempio, l'anticipazione o la percezione di stimoli avversi è in grado di attivare l'insula (Paulus *et al.*, 2003; Nitschke *et al.*, 2006), così come l'elaborazione cognitiva delle espressioni facciali, soprattutto quelle esprimenti paura o disgusto (Paulus e Stein, 2006). Già nei soggetti timidi, tuttavia, questa area corticale presenta un'attivazione aumentata in risposta a volti non solo arrabbiati e disgustati, ma anche felici e spaventati (Beaton *et al.*, 2010). Pazienti affetti da fobia sociale, invece, mostrano una forte iperattivazione dell'insula (Straube *et al.*, 2004; Amir *et al.*, 2005; Gentili *et al.*, 2008; Wright *et al.*, 2003) e un aumento della sua connettività con l'amigdala (Danti *et al.*, 2010) durante il riconoscimento di volti anche neutrali. Individui affetti da altri disturbi d'ansia, inoltre, presentano un'attività della corteccia insulare aumentata durante il processamento emotivo (Stein *et al.*, 2007) e nei soggetti con fobia specifica l'induzione dei sintomi ha dato un aumento del flusso cerebrale in questa regione (Rauch *et al.*, 1997). Questo eccesso di attività trova un suo riscontro anche dal punto di vista recettoriale, in quanto in soggetti affetti da disturbo da panico è stata rilevata una minore espressione del recettore inibitorio GABA_A a livello dell'insula (Malizia *et al.*, 1998).

In seguito a terapia ansiolitica, questi fenomeni sembrano regredire: in pazienti con disturbo d'ansia generalizzato, infatti, si è osservata una riduzione dell'attivazione dell'insula in modo dose dipendente dopo l'attenuazione dei sintomi tramite terapia con

citalopram (Hoehn-Saric *et al.*, 2004) e lorazepam (Paulus *et al.*, 2005).

Nel presente studio, il rilievo di un'attività desincronizzata fra insula e DMN a riposo potrebbe essere indice di uno stato di allarme in grado di sfuggire ai normali meccanismi di controllo dell'attività cerebrale. L'insula, infatti, potrebbe presentare una frequenza di scarica autonoma, svincolata dalle oscillazioni delle altre reti cerebrali attive a riposo, generando una predisposizione a sviluppare ansia e preoccupazione con più facilità in risposta a stimoli sociali, come volti e sguardi, ed enterocettivi. Questa ipotesi trova una corrispondenza nel caratteristico vissuto del disturbo, che viene solitamente descritto come innescato da qualunque elemento sociale (esterocettivo) generante disagio e ansia (enterocettivi), i quali vengono a loro volta nuovamente percepiti e amplificati.

Eseguendo un confronto tramite t-test fra i 12 soggetti con LSAS superiore a 30 e i 12 con il punteggio minore, sono state ritrovate differenze significative della connettività del DMN con precuneo, PCC, IPL e insula. Il precuneo e la PCC, come è già stato accennato, sono aree di primaria importanza nel DMN e sono coinvolte nei fenomeni attentivi e nell'elaborazione del pensiero auto-riferito (Gusnard *et al.*, 2001; Eichele *et al.*, 2008). Anche IPL ha un ruolo nel mantenimento e nella selettività dell'attenzione (Coull *et al.*, 1996; Shomstein, 2012), consentendo l'impiego di risorse mentali per le operazioni inerenti un compito volontario rispetto a quelle considerate irrilevanti (Fink *et al.*, 1996; Hopfinger *et al.*, 2000; Downar *et al.*, 2001). Il rilievo di una sincronia minore fra le oscillazioni di queste aree e quelle del resto del DMN potrebbe indicare una loro sottrazione alla normale attività oscillatoria globale propria dello stato di riposo, dunque una loro maggiore autonomia e reattività ad altri tipi di stimoli. Ciò potrebbe portare i soggetti con LSAS elevato ad assegnare una maggior quota di attenzione sia alle percezioni enterocettive sia alle proprie elaborazioni cognitive egodistoniche (bias attenzionale). Queste ultime, nell'ambito dei disturbi d'ansia, si presentano spesso come ruminazioni amplificanti la sensazione avvertita di disagio e facilitano l'insorgenza di ansia anticipatoria ed evitamento. Alla luce di quanto illustrato in precedenza sul-

l'alterata attività della corteccia dell'insula in questi partecipanti, peraltro confermata anche dal t test, si può intuire come questa e il precuneo/PCC potrebbero interagire in modo sinergico nella determinare le caratteristiche del disturbo. Gli aspetti clinici della fobia sociale potrebbero infatti essere almeno in parte dovuti a un circolo vizioso in cui uno stimolo sociale innocuo innesca una percezione di rischio e un correlato visceromotorio spiacevole abnormi (insula), ai quali viene attribuita sempre crescente attenzione (precuneo e PCC), portando alla loro amplificazione.

7.2 Indice di Hurst

È stata rilevata una correlazione positiva fra l'indice di Hurst e i punteggi sulla scala LSAS dei soggetti a livello di SPL e precuneo. Come già osservato, si ritiene che a ogni specifica area corticale corrisponda, in condizioni fisiologiche, un indice di Hurst variabile entro un certo intervallo e che il riscontro di valori che si discostano da quelli usuali indichi un'alterazione della predicibilità dell'attività regionale.

SPL è un'area coinvolta nei fenomeni attentivi e rappresenta anche un sito di integrazione degli stimoli tattili e visivi (Shomstein, 2012). Tutte le regioni che sono state individuate tramite l'analisi di regressione, dunque, sono coinvolte nel controllo dell'attenzione, sia per quanto riguarda quella rivolta all'attività cognitiva autoriferita che quella rivolta agli stimoli esteroceettivi. L'aumento di H in queste sedi potrebbe riflettere una loro maggiore rigidità nell'adattarsi agli impulsi provenienti da altre aree corticali.

Questa ipotesi presenta in effetti un riscontro nelle caratteristiche della patologia. Quando il tratto di ansia sociale è basso, il precuneo, SPL e PCC potrebbero essere più disponibili a variare il proprio input, rendendo la propria attività meno predicibile. In questo modo, il soggetto potrebbe prendere in esame l'informazione enteroceettiva ed esteroceettiva in maniera più libera, potendo in ogni momento variare il quantitativo di

attenzione assegnato all'una o all'altra attività.

Un soggetto con elevata fobia sociale, invece, potrebbe avere un equilibrio attentivo sbilanciato a favore del pensiero autoriferito (Clark e McManus, 2002) ed eccessivamente stabilizzato in tal senso. Questa rigidità nell'allocazione della propria attenzione potrebbe anche rendere conto di uno degli aspetti più caratteristici della patologia: l'incapacità di considerare stimoli esterni che potrebbero smentire il giudizio del paziente riguardo alle proprie abilità sociali. La mancata possibilità di ridirigere le proprie risorse cognitive verso altre attività potrebbe inoltre favorire l'insorgere e il mantenimento delle ruminazioni.

Capitolo 8

Conclusione

La ricerca di correlati psicobiologici delle malattie mentali offre un gran numero di prospettive per lo sviluppo della scienza medica. In particolare, gli indici misurabili di patologia individuati potrebbero essere impiegati in futuro per chiarire i meccanismi fisiopatologici dei disturbi psichiatrici, per facilitarne diagnosi e valutazione prognostica e per misurare l'efficacia dei loro specifici trattamenti.

Per quanto riguarda il presente studio, le correlazioni lineari individuate fra i parametri funzionali indagati e i punteggi di LSAS dei soggetti forniscono una nuova base biologica a un'osservazione che era stata già formulata in ambito psicologico, clinico e psicometrico: l'ansia sociale si comporta come una dimensione estesa su un continuum che va dalla normale timidezza alla patologia.

I 12 soggetti con valori della scala Liebowitz al di sopra del cut-off utilizzato per lo screening della fobia sociale, inoltre, hanno presentato significative differenze in diverse aree cerebrali sia per quanto riguarda la connettività funzionale del DMN che per quanto riguarda l'indice di Hurst.

Studi futuri potranno allargare la valutazione dell'ansia sociale fino alla patologia franca e confermare i risultati anche in pazienti con diagnosi clinica di fobia sociale. In base ai dati presentati in questo lavoro, in ogni caso, appare probabile che possano

essere ritrovate anche in questo gruppo di soggetti differenze simili a quelle riscontrate negli individui con valori di LSAS superiori al cut-off di 30.

Il fatto che questi risultati siano stati ottenuti a riposo, dunque in assenza di qualunque stimolo sociale, è infine di particolare interesse. Questo potrebbe indicare che l'ansia sociale è una dimensione di tratto in grado di modificare l'attività cerebrale a riposo così come la predisposizione a valutare le percezioni in un modo piuttosto che in un altro. In effetti sembra comunque ragionevole assumere che il modo in cui un individuo reagisce agli stimoli sociali ed effettua le elaborazioni cognitive conseguenti derivi almeno in parte dai suoi tratti di personalità e psicologici.

Bibliografia

- Amir N.; Klumpp H.; Elias J.; Bedwell J. S.; Yanasak N.; Miller L. S. (2005). Increased activation of the anterior cingulate cortex during processing of disgust faces in individuals with social phobia. *Biological psychiatry*, **57**(9), 975–981.
- Beaton E. A.; Schmidt L. A.; Schulkin J.; Hall G. B. (2010). Neural correlates of implicit processing of facial emotions in shy adults. *Personality and Individual Differences*, **49**(7), 755–761.
- Becker J. T.; Fabrizio M.; Sudre G.; Haridis A.; Ambrose T.; Aizenstein H. J.; Eddy W.; Lopez O. L.; Wolk D. A.; Parkkonen L. (2012). Potential utility of resting-state magnetoencephalography as a biomarker of cns abnormality in hiv disease. *Journal of neuroscience methods*, **206**(2), 176–182.
- Birn R.; Diamond J.; Smith M.; Bandettini P. (2006). Separating respiratory-variation-related fluctuations from neuronal-activity-related fluctuations in fmri. *Neuroimage*, **31**(4), 1536–1548.
- Birn R.; Murphy K.; Bandettini P. (2008). The effect of respiration variations on independent component analysis results of resting state functional connectivity. *Hum Brain Mapp*, **29**(7), 740–750.
- Blakemore S. (2008). The social brain in adolescence. *Nat Rev Neurosci*, **9**(4), 267–277.

- Bluhm R.; Osuch E.; Lanius R.; Boksman K.; Neufeld R.; Theberge J.; Williamson P. (2008). Default mode network connectivity: effects of age, sex, and analytic approach. *Neuroreport*, **19**(8), 887–891.
- Bosboom J.; Stoffers D.; Stam C.; van Dijk B.; Verbunt J.; Berendse H.; Wolters E. (2006). Resting state oscillatory brain dynamics in parkinson’s disease: an meg study. *Clin Neurophysiol*, **117**(11), 2521–2531.
- Bruns A. (2004). Fourier-, hilbert-and wavelet-based signal analysis: are they really different approaches? *Journal of neuroscience methods*, **137**(2), 321–332.
- Buckner R.; Snyder A.; Shannon B.; LaRossa G.; Sachs R.; Fotenos A.; Sheline Y.; Klunk W.; Mathis C.; Morris J.; Mintun M. (2005). Molecular, structural, and functional characterization of alzheimer’s disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci*, **25**(34), 7709–7717.
- Buzsaki G.; Draguhn A. (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. *Science*, **304**(5679), 1926–1929.
- Carter C. S.; Botvinick M. M.; Cohen J. D. (1999). The contribution of the anterior cingulate cortex to executive processes in cognition. *Reviews in the Neurosciences*, **10**, 49–58.
- Castellanos F. X.; Margulies D. S.; Kelly A. C.; Uddin L. Q.; Ghaffari M.; Kirsch A.; Shaw D.; Shehzad Z.; Di Martino A.; Biswal B. (2008). Cingulate-precuneus interactions: a new locus of dysfunction in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological psychiatry*, **63**(3), 332.
- Chen A.; Feng W.; Zhao H.; Yin Y.; Wang P. (2008). Eeg default mode network in the human brain: spectral regional field powers. *Neuroimage*, **41**(2), 561–574.

- Cherkassky V.; Kana R.; Keller T.; Just M. (2006). Functional connectivity in a baseline resting-state network in autism. *Neuroreport*, **17**(16), 1687–1690.
- Clark D. M.; McManus F. (2002). Information processing in social phobia. *Biological Psychiatry*, **51**(1), 92–100.
- Cornew L.; Roberts T. P.; Blaskey L.; Edgar J. C. (2012). Resting-state oscillatory activity in autism spectrum disorders. *Journal of autism and developmental disorders*, **42**(9), 1884–1894.
- Coull J.; Frith C.; Frackowiak R. S. J.; Grasby P. (1996). A fronto-parietal network for rapid visual information processing: a pet study of sustained attention and working memory. *Neuropsychologia*, **34**(11), 1085–1095.
- Craig A. D. (2002). How do you feel? interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nature Reviews Neuroscience*, **3**(8), 655–666.
- Damoiseaux J.; Rombouts S.; Barkhof F.; Scheltens P.; Stam C.; Smith S.; Beckmann C. (2006). Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(37), 13848–13853.
- Damoiseaux J.; Beckmann C.; Arigita E.; Barkhof F.; Scheltens P.; Stam C.; Smith S.; Rombouts S. (2008). Reduced resting-state brain activity in the default network in normal aging. *Cereb Cortex*, **18**(8), 1856–1864.
- Danti S.; Ricciardi E.; Gentili C.; Gobbini M. I.; Pietrini P.; Guazzelli M. (2010). Is social phobia a “mis-communication” disorder? brain functional connectivity during face perception differs between patients with social phobia and healthy control subjects. *Frontiers in systems neuroscience*, **4**.
- Davies M.; James C. (2007). Source separation using single channel ica. *Signal Processing*, **87**(8), 1819–1832.

- Debener S.; Ullsperger M.; Siegel M.; Fiehler K.; von Cramon D.; Engel A. (2005). Trial-by-trial coupling of concurrent electroencephalogram and functional magnetic resonance imaging identifies the dynamics of performance monitoring. *J Neurosci*, **25**(50), 11730–11737.
- Debener S.; Ullsperger M.; Siegel M.; Engel A. (2006). Single-trial eeg-fmri reveals the dynamics of cognitive function. *Trends Cogn Sci*, **10**(12), 558–563.
- Deshpande G.; LaConte S.; Peltier S.; Hu X. (2009). Integrated local correlation: a new measure of local coherence in fmri data. *Hum Brain Mapp*, **30**(1), 13–23.
- Downar J.; Crawley A. P.; Mikulis D. J.; Davis K. D. (2001). The effect of task relevance on the cortical response to changes in visual and auditory stimuli: an event-related fmri study. *Neuroimage*, **14**(6), 1256–1267.
- Eichele T.; Debener S.; Calhoun V.; Specht K.; Engel A.; Hugdahl K.; von Cramon D.; Ullsperger M. (2008). Prediction of human errors by maladaptive changes in event-related brain networks. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105**(16), 6173–6178.
- Eke A.; Herman P.; Bassingthwaite J.; Raymond G.; Percival D.; Cannon M.; Balla I.; Ikrényi C. (2000). Physiological time series: distinguishing fractal noises from motions. *Pflügers Archiv*, **439**(4), 403–415.
- Eke A.; Hermán P.; Hajnal M. (2005). Fractal and noisy cbv dynamics in humans: influence of age and gender. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **26**(7), 891–898.
- Elsevier, (A cura di) (1997). *Quadratic variations and estimation of the local Hölder index of a Gaussian process*, volume Annales de l’Institut Henri Poincaré (B) Probability and Statistics 33(4). Elsevier.

- Esposito F.; Bertolino A.; Scarabino T.; Latorre V.; Blasi G.; Popolizio T.; Tedeschi G.; Cirillo S.; Goebel R.; Di Salle F. (2006). Independent component model of the default-mode brain function: Assessing the impact of active thinking. *Brain Res Bull*, **70**(4-6), 263–269.
- Fair D.; Cohen A.; Dosenbach N.; Church J.; Miezin F.; Barch D.; Raichle M.; Petersen S.; Schlaggar B. (2008). The maturing architecture of the brain's default network. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105**(10), 4028–4032.
- Falconer K. (1990). Fractal geometry. j. *Mathematical Foundations and Applications*.
- Fink G. R.; Halligan P. W.; Marshall J. C.; Frith C. D.; Frackowiak R.; Dolan R. J. (1996). Where in the brain does visual attention select the forest and the trees? *Nature*.
- Ford K.; Théberge J.; Neufel R. (2013). Correlation of brain default mode network activation with bipolarity index in youth with mood disorders. *Journal of Affective Disorders*.
- Fox M.; Raichle M. (2007). Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci*, **8**(9), 700–711.
- Fox M.; Snyder A.; Vincent J.; Corbetta M.; Van Essen D.; Raichle M. (2005). The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**(27), 9673–9678.
- Fox M.; Snyder A.; Zacks J.; Raichle M. (2006). Coherent spontaneous activity accounts for trial-to-trial variability in human evoked brain responses. *Nat Neurosci*, **9**(1), 23–25.

- Fransson P. (2005). Spontaneous low-frequency bold signal fluctuations: an fmri investigation of the resting-state default mode of brain function hypothesis. *Hum Brain Mapp*, **26**(1), 15–29.
- Fransson P. (2006). How default is the default mode of brain function? further evidence from intrinsic bold signal fluctuations. *Neuropsychologia*, **44**(14), 2836–2845.
- Fransson P.; Skiold B.; Horsch S.; Nordell A.; Blennow M.; Lagercrantz H.; Aden U. (2007). Resting-state networks in the infant brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**(39), 15531–15536.
- Fresco D.; Coles M.; Heimberg R.; Liebowitz M.; Hami S.; Stein M.; Goetz D. (2001). The liebowitz social anxiety scale: a comparison of the psychometric properties of self-report and clinician-administered formats. *Psychol Med*, **31**(6), 1025–1035.
- Fries P.; Neuenschwander S.; Engel A.; Goebel R.; Singer W. (2001). Rapid feature selective neuronal synchronization through correlated latency shifting. *Nat Neurosci*, **4**(2), 194–200.
- Friston K. J. (1994). Functional and effective connectivity in neuroimaging: a synthesis. *Human brain mapping*, **2**(1-2), 56–78.
- Garrity A.; Pearlson G.; McKiernan K.; Lloyd D.; Kiehl K.; Calhoun V. (2007). Aberrant “default mode” functional connectivity in schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, **164**(3), 450–457.
- Gentili C.; Gobbini M. I.; Ricciardi E.; Vanello N.; Pietrini P.; Haxby J. V.; Guazzelli M. (2008). Differential modulation of neural activity throughout the distributed neural system for face perception in patients with social phobia and healthy subjects. *Brain research bulletin*, **77**(5), 286–292.

- Gentili C.; Ricciardi E.; Gobbini M. I.; Santarelli M. F.; Haxby J. V.; Pietrini P.; Guazzelli M. (2009). Beyond amygdala: default mode network activity differs between patients with social phobia and healthy controls. *Brain research bulletin*, **79**(6), 409–413.
- Gilbert S.; Dumontheil I.; Simons J.; Frith C.; Burgess P. (2007). Comment on - wandering minds: the default network and stimulus-independent thought. *Science*, **317**(5834), 43; author reply 43.
- Gramatikov B.; Georgiev I. (1995). Wavelets as alternative to short-time fourier transform in signal-averaged electrocardiography. *Medical and Biological Engineering and Computing*, **33**(3), 482–487.
- Greicius M.; Krasnow 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**(1), 253–258.
- Greicius M.; Srivastava G.; Reiss A.; Menon V. (2004). Default-mode network activity distinguishes alzheimer’s disease from healthy aging: evidence from functional mri. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **101**(13), 4637–4642.
- Greicius M.; Supekar K.; Menon V.; Dougherty R. (2009). Resting-state functional connectivity reflects structural connectivity in the default mode network. *Cereb Cortex*, **19**(1), 72–78.
- Greicius M. D.; Flores B. H.; Menon V.; Glover G. H.; Solvason H. B.; Kenna H.; Reiss A. L.; Schatzberg A. F. (2007). Resting-state functional connectivity in major depression: abnormally increased contributions from subgenual cingulate cortex and thalamus. *Biological psychiatry*, **62**(5), 429–437.

- Greicius M. D.; Kiviniemi V.; Tervonen O.; Vainionpää V.; Alahuhta S.; Reiss A. L.; Menon V. (2008). Persistent default-mode network connectivity during light sedation. *Human brain mapping*, **29**(7), 839–847.
- Grimm S.; Boesiger P.; Beck J.; Schuepbach D.; Bermpohl F.; Walter M.; Ernst J.; Hell D.; Boeker H.; Northoff G. (2008). Altered negative bold responses in the default-mode network during emotion processing in depressed subjects. *Neuropsychopharmacology*, **34**(4), 932–843.
- Guldenmund P.; Vanhaudenhuyse A.; Boly M.; Laureys S.; Soddu A. (2012). A default mode of brain function in altered states of consciousness. *Archives italiennes de biologie*, **150**(2-3).
- Gusnard D.; Raichle M.; Raichle M. (2001). Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nat Rev Neurosci*, **2**(10), 685–694.
- He Y.; Wang L.; Zang Y.; Tian L.; Zhang X.; Li K.; Jiang T. (2007). Regional coherence changes in the early stages of alzheimer’s disease: a combined structural and resting-state functional mri study. *Neuroimage*, **35**(2), 488–500.
- Helps S.; James C.; Debener S.; Karl A.; Sonuga-Barke E. (2008). Very low frequency eeg oscillations and the resting brain in young adults: a preliminary study of localisation, stability and association with symptoms of inattention. *J Neural Transm*, **115**(2), 279–285.
- Herman P.; Kocsis L.; Eke A. (2009). Fractal characterization of complexity in dynamic signals: application to cerebral hemodynamics. In *Dynamic Brain Imaging*, pp. 23–40. Springer.
- Herrmann C.; Debener S. (2008). Simultaneous recording of eeg and bold responses: a historical perspective. *Int J Psychophysiol*, **67**(3), 161–168.

- Hoehn-Saric R.; Schlund M. W.; Wong S. H. (2004). Effects of citalopram on worry and brain activation in patients with generalized anxiety disorder. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, **131**(1), 11–21.
- Honey C.; Kotter R.; Breakspear M.; Sporns O. (2007). Network structure of cerebral cortex shapes functional connectivity on multiple time scales. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**(24), 10240–10245.
- Hopfinger J.; Buonocore M.; Mangun G. (2000). The neural mechanisms of top-down attentional control. *Nature neuroscience*, **3**(3), 284–291.
- Horowitz S. G.; Fukunaga M.; de Zwart J. A.; van Gelderen P.; Fulton S. C.; Balkin T. J.; Duyn J. H. (2008). Low frequency bold fluctuations during resting wakefulness and light sleep: A simultaneous eeg-fmri study. *Human brain mapping*, **29**(6), 671–682.
- Huettel S.; McKeown M.; Song A.; Hart S.; Spencer D.; Allison T.; McCarthy G. (2004). Linking hemodynamic and electrophysiological measures of brain activity: evidence from functional mri and intracranial field potentials. *Cereb Cortex*, **14**(2), 165–173.
- Jafri M. J.; Pearlson G. D.; Stevens M.; Calhoun V. D. (2008). A method for functional network connectivity among spatially independent resting-state components in schizophrenia. *Neuroimage*, **39**(4), 1666.
- Jung T.; Makeig S.; Westerfield M.; Townsend J.; Courchesne E.; Sejnowski T. (2000). Removal of eye activity artifacts from visual event-related potentials in normal and clinical subjects. *Clin Neurophysiol*, **111**(10), 1745–1758.
- Kelly A.; Uddin L. Q.; Biswal B. B.; Castellanos F. X.; Milham M. P. (2008). Competition between functional brain networks mediates behavioral variability. *Neuroimage*, **39**(1), 527–537.

- Kennedy D.; Redcay E.; Courchesne E. (2006). Failing to deactivate: resting functional abnormalities in autism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(21), 8275–8280.
- Kennedy D. P.; Courchesne E. (2008). The intrinsic functional organization of the brain is altered in autism. *Neuroimage*, **39**(4), 1877.
- Laufs H. (2008). Endogenous brain oscillations and related networks detected by surface eeg-combined fmri. *Hum Brain Mapp*, **29**(7), 762–769.
- Liao W.; Chen H.; Feng Y.; Mantini D.; Gentili C.; Pan Z.; Ding J.; Duan X.; Qiu C.; Lui S. (2010). Selective aberrant functional connectivity of resting state networks in social anxiety disorder. *Neuroimage*, **52**(4), 1549–1558.
- Liebowitz M. (1993). Pharmacotherapy of social phobia. *J Clin Psychiatry*, **54 Suppl**, 31–35.
- Liu C.-H.; Ma X.; Li F.; Wang Y.-J.; Tie C.-L.; Li S.-F.; Chen T.-L.; Fan T.-t.; Zhang Y.; Dong J. (2012). Regional homogeneity within the default mode network in bipolar depression: a resting-state functional magnetic resonance imaging study. *PloS one*, **7**(11), e48181.
- Makeig S.; Westerfield M.; Jung T.; Enghoff S.; Townsend J.; Courchesne E.; Sejnowski T. (2002). Dynamic brain sources of visual evoked responses. *Science*, **295**(5555), 690–694.
- Malizia A. L.; Cunningham V. J.; Bell C. J.; Liddle P. F.; Jones T.; Nutt D. J. (1998). Decreased brain gabaa-benzodiazepine receptor binding in panic disorder: preliminary results from a quantitative pet study. *Archives of General Psychiatry*, **55**(8), 715.

- Mantini D.; Perrucci M.; Del Gratta C.; Romani G.; Corbetta M. (2007). Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**(32), 13170–13175.
- Mason M.; Norton M.; Van Horn J.; Wegner D.; Grafton S.; Macrae C. (2007). Wandering minds: the default network and stimulus-independent thought. *Science*, **315**(5810), 393–395.
- Maxim V.; Sendur L.; Fadili J.; Suckling J.; Gould R.; Howard R.; Bullmore E. (2005). Fractional gaussian noise, functional mri and alzheimer’s disease. *Neuroimage*, **25**(1), 141–158.
- McKeown M.; Makeig S.; Brown G.; Jung T.; Kindermann S.; Bell A.; Sejnowski T. (1998). Analysis of fmri data by blind separation into independent spatial components. *Hum Brain Mapp*, **6**(3), 160–188.
- Nitschke J. B.; Sarinopoulos I.; Mackiewicz K. L.; Schaefer H. S.; Davidson R. J. (2006). Functional neuroanatomy of aversion and its anticipation. *Neuroimage*, **29**(1), 106–116.
- Öngür D.; Price J. (2000). The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex*, **10**(3), 206–219.
- Osipova D.; Rantanen K.; Ahveninen J.; Ylikoski R.; Happola O.; Strandberg T.; Pekkonen E. (2006). Source estimation of spontaneous meg oscillations in mild cognitive impairment. *Neurosci Lett*, **405**(1-2), 57–61.
- Paton J. J.; Belova M. A.; Morrison S. E.; Salzman C. D. (2006). The primate amygdala represents the positive and negative value of visual stimuli during learning. *Nature*, **439**(7078), 865–870.
- Paulus M.; Stein M. (2006). An insular view of anxiety. *Biol Psychiatry*, **60**(4), 383–387.

- Paulus M. P.; Rogalsky C.; Simmons A.; Feinstein J. S.; Stein M. B. (2003). Increased activation in the right insula during risk-taking decision making is related to harm avoidance and neuroticism. *Neuroimage*, **19**(4), 1439–1448.
- Paulus M. P.; Feinstein J. S.; Castillo G.; Simmons A. N.; Stein M. B. (2005). Dose-dependent decrease of activation in bilateral amygdala and insula by lorazepam during emotion processing. *Archives of General Psychiatry*, **62**(3), 282.
- Persson J.; Lind J.; Larsson A.; Ingvar M.; Slegers K.; Van Broeckhoven C.; Adolfsson R.; Nilsson L.-G.; Nyberg L. (2008). Altered deactivation in individuals with genetic risk for alzheimer's disease. *Neuropsychologia*, **46**(6), 1679–1687.
- Raichle M.; Gusnard D. (2002). Appraising the brain's energy budget. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(16), 10237–10239.
- Raichle M.; Mintun M. (2006). Brain work and brain imaging. *Annu Rev Neurosci*, **29**, 449–476.
- Raichle M.; MacLeod A.; Snyder A.; Powers W.; Gusnard D.; Shulman G. (2001). A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**(2), 676–682.
- Rauch S. L.; Savage C. R.; Alpert N. M.; Fischman A. J.; Jenike M. A. (1997). The functional neuroanatomy of anxiety: a study of three disorders using positron emission tomography and symptom provocation. *Biological Psychiatry*, **42**(6), 446–452.
- Reynolds S. M.; Zahm D. S. (2005). Specificity in the projections of prefrontal and insular cortex to ventral striatopallidum and the extended amygdala. *The Journal of neuroscience*, **25**(50), 11757–11767.
- Rilling J.; Dagenais J.; Goldsmith D.; Glenn A.; Pagnoni G. (2008). Social cognitive neural networks during in-group and out-group interactions. *Neuroimage*, **41**(4), 1447–1461.

- Rombouts S. A.; Barkhof F.; Goekoop R.; Stam C. J.; Scheltens P. (2005). Altered resting state networks in mild cognitive impairment and mild alzheimer's disease: an fmri study. *Human brain mapping*, **26**(4), 231–239.
- Rytwinski N. K.; Fresco D. M.; Heimberg R. G.; Coles M. E.; Liebowitz M. R.; Cissell S.; Stein M. B.; Hofmann S. G. (2009). Screening for social anxiety disorder with the self-report version of the liebowitz social anxiety scale. *Depression and anxiety*, **26**(1), 34–38.
- Schilbach L.; Eickhoff S.; Rotarska-Jagiela A.; Fink G.; Vogeley K. (2008). Minds at rest? social cognition as the default mode of cognizing and its putative relationship to the default system of the brain. *Conscious Cogn*, **17**(2), 457–467.
- Shomstein S. (2012). Cognitive functions of the posterior parietal cortex: top-down and bottom-up attentional control. *Frontiers in integrative neuroscience*, **6**.
- Singh K.; Fawcett I. (2008). Transient and linearly graded deactivation of the human default-mode network by a visual detection task. *Neuroimage*, **41**(1), 100–112.
- Sonuga-Barke E.; Castellanos F. (2007). Spontaneous attentional fluctuations in impaired states and pathological conditions: a neurobiological hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev*, **31**(7), 977–986.
- Stam C.; Jones B.; Manshanden I.; van Cappellen van Walsum A.; Montez T.; Verbunt J.; de Munck J.; van Dijk B.; Berendse H.; Scheltens P. (2006). Magnetoencephalographic evaluation of resting-state functional connectivity in alzheimer's disease. *Neuroimage*, **32**(3), 1335–1344.
- Stein M.; Simmons A.; Feinstein J.; Paulus M. (2007). Increased amygdala and insula activation during emotion processing in anxiety-prone subjects. *American Journal of Psychiatry*, **164**(2), 318–327.

- Stoffers D.; Bosboom J.; Deijen J.; Wolters E.; Stam C.; Berendse H. (2008). Increased cortico-cortical functional connectivity in early-stage parkinson's disease: an meg study. *Neuroimage*, **41**(2), 212–222.
- Straube T.; Kolassa I.; Glauer M.; Mentzel H. (2004). Effect of task conditions on brain responses to threatening faces in social phobics: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *Biological Psychiatry*.
- Talairach J.; Tournoux P. (1988). *Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-D Proportional System: An Approach to Cerebral Imaging*.
- Tcheslavski G. V.; Beex A. (2006). Phase synchrony and coherence analyses of eeg as tools to discriminate between children with and without attention deficit disorder. *Biomedical Signal Processing and Control*, **1**(2), 151–161.
- Thomason M.; Chang C.; Glover G.; Gabrieli J.; Greicius M.; Gotlib I. (2008). Default-mode function and task-induced deactivation have overlapping brain substrates in children. *Neuroimage*, **41**(4), 1493–1503.
- Tian L.; Jiang T.; Wang Y.; Zang Y.; He Y.; Liang M.; Sui M.; Cao Q.; Hu S.; Peng M.; Zhuo Y. (2006). Altered resting-state functional connectivity patterns of anterior cingulate cortex in adolescents with attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Lett*, **400**(1-2), 39–43.
- Uddin L.; Kelly A.; Biswal B.; Margulies D.; Shehzad Z.; Shaw D.; Ghaffari M.; Rotrosen J.; Adler L.; Castellanos F.; Milham M. (2008). Network homogeneity reveals decreased integrity of default-mode network in adhd. *J Neurosci Methods*, **169**(1), 249–254.
- Vanhatalo S.; Palva J.; Holmes M.; Miller J.; Voipio J.; Kaila K. (2004). Infralow oscillations modulate excitability and interictal epileptic activity in the human cortex during sleep. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **101**(14), 5053–5057.

- Vigario R.; Sarela J.; Jousmaki V.; Hamalainen M.; Oja E. (2000). Independent component approach to the analysis of eeg and meg recordings. *IEEE Trans Biomed Eng*, **47**(5), 589–593.
- Vogt B. A.; Laureys S. (2005). Posterior cingulate, precuneal and retrosplenial cortices: cytology and components of the neural network correlates of consciousness. *Progress in brain research*, **150**, 205–217.
- Wang L.; Zang Y.; He Y.; Liang M.; Zhang X.; Tian L.; Wu T.; Jiang T.; Li K. (2006). Changes in hippocampal connectivity in the early stages of alzheimer’s disease: evidence from resting state fmri. *Neuroimage*, **31**(2), 496–504.
- Weissman D.; Roberts K.; Visscher K.; Woldorff M. (2006). The neural bases of momentary lapses in attention. *Nat Neurosci*, **9**(7), 971–978.
- Wilson S. M.; Molnar-Szakacs I.; Iacoboni M. (2008). Beyond superior temporal cortex: intersubject correlations in narrative speech comprehension. *Cerebral Cortex*, **18**(1), 230–242.
- Wright C. I.; Martis B.; McMullin K.; Shin L. M.; Rauch S. L. (2003). Amygdala and insular responses to emotionally valenced human faces in small animal specific phobia. *Biological psychiatry*.
- Yu-Feng Z.; Yong H.; Chao-Zhe Z.; Qing-Jiu C.; Man-Qiu S.; Meng L.; Li-Xia T.; Tian-Zi J.; Yu-Feng W. (2007). Altered baseline brain activity in children with adhd revealed by resting-state functional mri. *Brain and Development*, **29**(2), 83–91.
- Zhao X.-H.; Wang P.-J.; Li C.-B.; Hu Z.-H.; Xi Q.; Wu W.-Y.; Tang X.-W. (2007). Altered default mode network activity in patient with anxiety disorders: an fmri study. *European journal of radiology*, **63**(3), 373–378.

Zhou Y.; Liang M.; Tian L.; Wang K.; Hao Y.; Liu H.; Liu Z.; Jiang T. (2007). Functional disintegration in paranoid schizophrenia using resting-state fmri. *Schizophrenia research*, **97**(1), 194–205.

	PAURA/ ANSIA	EVITA- MENTO
17.P- SOTTOPORSI AD UN TEST		
18.S- ESPRIMERE DISACCORDO O DISAPPROVAZIONE A PERSONE CHE NON SI CONOSCONO MOLTO BENE		
19.S- GUARDARE NEGLI OCCHI UNA PERSONA CHE NON SI CONOSCE MOLTO BENE		
20.P- FARE UNA RELAZIONE DI FRONTE AD UN GRUPPO		
21.P- CERCARE DI CONOSCERE QUALCUNO		
22.S- RESTITUIRE LA MERCE AD UN NEGOZIO		
23.S- DARE UNA FESTA		
24.S- RESISTERE AD UN VENDITORE INVADENTE		

PUNTEGGIO PARZIALE: ANSIA DI PERFORMANCE (P)

PUNTEGGIO PARZIALE: ANSIA SOCIALE (S)

PUNTEGGIO TOTALE

Figura 8-2: Allegato: Scala Liebowitz per l'ansia sociale (2)

Ringraziamenti

Al termine di questo lavoro, vorrei dedicare spazio ad alcuni ringraziamenti.

Primo fra tutti, desidero ringraziare il Prof. P. Pietrini, che mi ha consentito di frequentare i suoi laboratori. È grazie a lui che ho potuto cimentarmi in prima persona nella ricerca in Neuroscienze, un obiettivo a cui ambivo da molto tempo.

Vorrei esprimere inoltre la mia gratitudine al Prof. F. Coceani, mio tutore alla Scuola Superiore Sant'Anna, che ha rappresentato per me una costante e un punto di riferimento durante tutto il mio percorso nell'istituzione.

Un grazie anche al Dott. Gentili, che mi ha seguito da vicino durante il lavoro di tesi e che mi ha sostenuto nel muovere i primi passi in un ambito di ricerca nuovo per me. Insieme a lui, ringrazio il Dott. E. Ricciardi e il Dott. A. Leo che hanno risposto a ogni mio dubbio e domanda con grande disponibilità.

Per queste pagine sono anche debitore alla mia famiglia, che mi ha sempre spinto a dedicarmi a ciò in cui trovavo piacere, incoraggiandomi anche ogni volta che ho scelto di non percorrere la via più facile.

Tutti gli sforzi che ho compiuto, inoltre, non sarebbero stati possibili senza gli amici che mi hanno accompagnato in questi anni. Ringrazio quindi Davide, Lorenzo M., Federico B., Gianluca, Antonio, Marina, Enrico, Francesca, tutti gli altri compagni del mio anno, Daniele G. e tutti i suoi allievi. Grazie anche a Daniele B., Tommaso, Lorenzo C., Gaia, Manuela, Paolo, Gabriele, Federico T. e a tanti altri, troppi per essere nominati tutti.