

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BOLOGNA

Seconda Facoltà di Ingegneria-Sede di Cesena
Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

**SVILUPPO DI UN MODELLO TALAMO-CORTICALE
PER LA GENERAZIONE DEI RITMI EEG DEL SONNO
E DELLA VEGLIA**

Tesi di laurea in:

SISTEMI NEURALI

Relatore:

Prof. Mauro Ursino

Candidato:

Marco Lacanna

Correlatore:

Ing. Filippo Cona

Anno Accademico 2011/2012

III Sessione di Laurea

RINGRAZIAMENTI

Ed eccomi giunto ad un traguardo che 5 anni fa sembrava lontano e inarrivabile.

Il 7 febbraio 2013 è per me una data importante, la fine di un ciclo e l'inizio di un nuovo capitolo della mia vita. Gli anni di università li ricorderò con piacere perché mi hanno fatto crescere dal punto di vista umano e professionale; tante cose sono cambiate, tante persone hanno incrociato la mia strada ed è stato piacevole condividere qualcosa con loro. "Un uomo solo è sempre in cattiva compagnia."

(Paul Valéry).

Ed è per questo che in questa pagina voglio ringraziare chi mi è stato accanto in questi anni, chi mi ha supportato, chi ha avuto modo di accompagnarmi nei momenti più felici e in quelli più difficili. Non faccio un elenco di nomi perché sarebbe superfluo, il sorriso che uscirà spontaneamente alla lettura di queste parole è sufficiente a comprendere che sono inclusi nei miei ringraziamenti.

Non posso però non ringraziare esplicitamente i miei genitori. Se oggi sono qui è grazie a loro, a quell'amore che solo un genitore nei confronti dei propri figli può donare. I loro sacrifici lunghi una vita mi hanno consentito di costruire le basi per il mio futuro; e per ora l'unica cosa che posso dare loro in cambio è la soddisfazione di vedermi concludere parte del mio percorso formativo, qui all'interno di un'aula universitaria. Sono e saranno per sempre un esempio di vita per me.

Un grazie a mia sorella, che sebbene lontana fisicamente, è sempre stata vicina ed è per me l'icona di chi non si accontenta mai nella vita, sempre alla ricerca di nuovi orizzonti e di nuovi obiettivi. Mi auguro di aver acquisito un po' di quel coraggio che la contraddistingue da sempre.

Ringrazio il mio relatore, il Prof. Mauro Ursino, per la serietà con cui svolge la sua attività professionale, la sua disponibilità e la capacità di trasmettere con passione le innumerevoli conoscenze che il suo bagaglio culturale contengono.

Al mio correlatore, l'Ing. Filippo Cona, un grazie sincero per la pazienza che ha avuto in questi mesi, per la dedizione con cui svolge le sue attività e per l'aiuto costante nel lavoro che c'è dietro questa tesi. Gli auguro con tutto il cuore di ottenere le migliori soddisfazioni umane e professionali perché è meritevole di tutto questo.

Grazie a tutti perché questo giorno è arrivato anche per merito vostro!

MARCO

INDICE

INTRODUZIONE	1
 CAPITOLO 1	
1.1 L'EEG	4
1.1.1 <i>Il neurone</i>	4
1.1.2 <i>Il potenziale d'azione</i>	5
1.1.3 <i>Origine del segnale EEG</i>	7
1.1.4 <i>L'EEG in ambito clinico</i>	8
1.1.5 <i>Stati di veglia e di sonno e ritmi cerebrali</i>	9
1.2 GLI OSCILLATORI CEBRALI.....	12
1.2.1 <i>La corteccia cerebrale</i>	12
1.2.2 <i>Il talamo</i>	13
1.2.3 <i>Il nucleo reticolare talamico (TRN)</i>	15
1.2.4 <i>Modalità di connessione tra gli oscillatori</i>	15
1.2.5 <i>Meccanismi che sottendono la transizione da veglia a sonno</i>	17
 CAPITOLO 2	
2.1 IL MODELLO MATEMATICO	18
2.1.1 <i>L'utilità di introdurre un modello matematico</i>	18
2.1.2 <i>Modelli di massa neurale</i>	19
2.1.3 <i>Descrizione del modello</i>	22
 CAPITOLO 3	
3.1 FUNZIONAMENTO DEL MODELLO.....	35
3.1.1 <i>Analisi di sensitività</i>	35

3.1.2	<i>Segnali generati dal modello in condizioni statiche</i>	37
3.1.3	<i>Transizione dinamica da veglia a sonno</i>	48
3.2	RISPOSTA DEL MODELLO A STIMOLI SENSORIALI	49
3.2.1	<i>Differenze dei segnali nel tempo con e senza stimolazione</i>	50
3.2.2	<i>Analisi dello spettrogramma del segnale in presenza dello stimolo</i>	55
CAPITOLO 4		
4.1	LA TMS	61
4.1.1	<i>Acquisizione dei dati reali</i>	63
4.2	UTILIZZO DEL MODELLO MATEMATICO PER IL FITTING DEI DATI REALI	64
4.2.1	<i>Risultati ottenuti</i>	65
CAPITOLO 5		
5.1	UN MODELLO TALAMO-CORTICALE PIU' COMPLESSO	70
5.1.1	<i>Struttura del modello</i>	70
5.1.2	<i>Segnali EEG della veglia e del sonno prodotti dal modello</i>	72
5.2	SINCRONIZZAZIONE TRA LE POPOLAZIONI NEURALI DURANTE GLI SPINDLES E LE ONDE LENTE	75
CAPITOLO 6		
6.1	DISCUSSIONE	82
6.1.1	<i>Obbiettivi dello studio e risultati raggiunti</i>	82
6.1.2	<i>Limiti dei modelli</i>	86
6.1.3	<i>Sviluppi futuri</i>	87
CONCLUSIONI		89
BIBLIOGRAFIA		91

INTRODUZIONE

Lo studio dei ritmi cerebrali rappresenta un importante aspetto delle neuroscienze moderne. L'interesse nella genesi, nel significato e nella funzione di tali ritmi, e più in generale nelle dinamiche neurali, è cresciuto notevolmente negli anni, a causa del ruolo importante che tali dinamiche sembrano svolgere nei processi di elaborazione del cervello, come la percezione degli stimoli sensoriali, l'apprendimento, la memoria, il movimento, ecc.

I ritmi cerebrali sono generati dall'interazione di innumerevoli gruppi neurali e possono essere osservati grazie ad uno strumento, l'elettroencefalografo (EEG), sviluppato nei primi anni del '900: attraverso il posizionamento di alcuni elettrodi sullo scalpo è possibile misurare i campi elettromagnetici prodotti dall'attività delle cellule nervose stesse. Le onde che si registrano presentano caratteristiche che variano in base allo stato del soggetto durante l'acquisizione del segnale, ad esempio segnali differenti possono essere osservati quando il soggetto sta dormendo, quando è sveglio ma rilassato o quando sta svolgendo un qualche task motorio o cognitivo.

Differenti ipotesi sul ruolo dei ritmi cerebrali sono state proposte nel corso degli anni: per esempio, onde che oscillano in bande theta e gamma sembrano giocare un ruolo centrale per i processi di memorizzazione degli episodi; le onde beta, invece, sembrano essere legate a task motori o alla sola immaginazione di un movimento; le onde gamma appaiono, anche, nei processi di memoria semantica, ecc. Si può immaginare come questo sia un campo di studio notevolmente complesso e ampio.

I modelli matematici rappresentano uno strumento utile e poco costoso per la comprensione dei meccanismi neuronali che sottendono la generazione dei ritmi cerebrali; attraverso tali modelli è possibile descrivere quantitativamente la dinamica di gruppi neuronali interconnessi e la genesi delle onde registrate durante un EEG. Nel corso degli anni, sono state intraprese due principali strade nella modellistica dei sistemi neurali: da una parte sono stati costruiti modelli più completi in cui la simulazione avviene a livello del singolo neurone e vengono descritte accuratamente le dinamiche principali per la generazione dei potenziali d'azione; dall'altra, sono stati definiti modelli che prevedono un numero di variabili di stato ridotto e in cui non è un singolo neurone ad essere modellato, ma è un'intera popolazione di neuroni

ad essere simulata e per la quale si integrano i valori medi della frequenza di firing e del potenziale di membrana.

Se si pensa che i ritmi cerebrali nascano per l'interazione di milioni di neuroni, è facile immaginare come la prima tipologia di modelli sia computazionalmente onerosa e poco efficiente, sebbene permetta di osservare i fenomeni da un punto di vista microscopico. Per tale motivo, negli ultimi anni le dinamiche cerebrali sono spesso descritte dalla seconda tipologia di modelli neurali, che prendono il nome di modelli di massa neurale. Tali modelli permettono di dare un quadro più generale e macroscopico di quei meccanismi cerebrali che nascono dall'interazione di regioni del cervello costituite da migliaia di neuroni, come appunto l'attività ritmica registrata tramite l'EEG.

Questo lavoro di tesi nasce con l'esigenza di sviluppare un modello di massa neurale, che possa spiegare i meccanismi che sottendono l'origine dei ritmi EEG, in particolar modo quelli registrati durante le fasi della veglia e del sonno. Lo scopo del lavoro è trovare una configurazione del modello in grado di riprodurre questi fenomeni, analizzare come questi fenomeni dipendano dai tanti parametri che descrivono il modello, e mettere in evidenza come un modello matematico possa in futuro essere uno strumento in grado di aiutare a risolvere problematiche relative alla neurofisiologia.

Il testo è stato organizzato in questo modo: nel primo capitolo trovano spazio le informazioni preliminari riguardo all'origine dell'EEG, alle caratteristiche principali dei vari stati della veglia e del sonno e alle strutture nervose che determinano i relativi meccanismi; il secondo capitolo è dedicato invece al concetto di modello matematico e alla descrizione, nel dettaglio, di un modello matematico minimo, definito dall'interconnessione tra una regione corticale e due strutture del talamo, il nucleo talamo-corticale e il nucleo talamo-reticolare; il terzo capitolo è destinato alla simulazione numerica del modello, allo studio dei ritmi EEG che riesce a fornire in uscita e alle risposte ad ingressi che simulano gli input sensoriali provenienti dall'esterno, durante le varie fasi della veglia e del sonno; il quarto capitolo riguarda, invece, l'uso del modello per il fitting di segnali EEG reali ricavati da soggetti sottoposti ad impulsi di TMS, con lo scopo di stimare i parametri fisiologici delle varie aree corticali; il quinto capitolo presenta un secondo modello neuronale più complesso, in cui ad interagire sono più strutture corticali, più nuclei talamo-corticali

e più nuclei talamo-reticolari, nato per verificare che le strutture cerebrali sincronizzino la propria attività in particolari stati di funzionamento; infine, il sesto capitolo riassume i risultati ottenuti nel lavoro di tesi, i limiti che i modelli matematici presentano e possibili sviluppi in lavori futuri.

CAPITOLO 1

1.1 L'EEG

L'elettroencefalogramma (EEG) è la registrazione dell'attività elettrica celebrale.

In base alla modalità di acquisizione del segnale, si possono distinguere tre tipi di EEG: 1) EEG di superficie, per il quale si utilizzano degli elettrodi che vengono posizionati sullo scalpo; 2) elettrocorticogramma, contraddistinto dal posizionamento degli elettrodi sulla corteccia celebrale, cioè la parte più in superficie del cervello; 3) EEG di profondità, metodo altamente invasivo, in quanto si utilizzano elettrodi ad ago inseriti direttamente nei tessuti cerebrali.

Il sistema che ha il maggiore impiego in clinica è l'EEG di superficie, perché, tra i tre, è il metodo più semplice, meno rischioso e più accettato dai pazienti. Tuttavia, la risoluzione spaziale non è elevata, poiché i potenziali registrati risultano attenuati, distorti e diffusi sullo scalpo a causa delle differenti conducibilità elettriche che i tessuti presentano al passaggio delle correnti intracraniche.

Attraverso l'EEG di superficie, si misura sostanzialmente l'attività della corteccia celebrale con i singoli neuroni che contribuiscono a generare i potenziali registrati dagli elettrodi. A causa della bassa risoluzione spaziale, non si ha la pretesa di avere un'affidabile localizzazione dei generatori corticali sottostanti.

1.1.1 Il neurone

Il neurone è l'unità funzionale del tessuto nervoso. Grazie alla sua struttura e alle sue proprietà chimiche esso è in grado di ricevere, integrare e trasmettere informazioni sotto forma di potenziali d'azione, cioè cambiamenti transitori del potenziale di membrana a riposo.

Il neurone è formato dai dendriti, dal corpo cellulare, detto "soma", dall'assone e dai terminali presinaptici. I dendriti rappresentano le strutture di ingresso del neurone, cioè quelle che ricevono gli input dagli altri neuroni. Il soma è costituito dal pirenoforo, in cui risiedono il nucleo e gli altri organelli deputati alle principali funzioni cellulari. L'assone, invece, è la fibra di trasmissione dell'informazione, cioè

del potenziale d'azione generato a livello del “monticolo assonico”. I terminali pre-sinaptici, infine, rappresentano le diramazioni dell'assone che portano l'informazione a livello di regioni specializzate, definite “sinapsi”, per i dendriti di altri neuroni.

Il neurone che sta trasportando l'informazione è chiamato pre-sinaptico, mentre il neurone che riceve a valle l'informazione è solitamente indicato come post-sinaptico.

1.1.2 Il potenziale d'azione

In condizioni stazionarie, tra interno ed esterno di una cellula nervosa, c'è una differenza di potenziale negativa (circa - 70 mV), dovuta ad uno sbilanciamento di concentrazioni ioniche che è garantito da meccanismi, di tipo attivo, di trasporto di ioni. Gli ioni a cui si deve tale fenomeno sono il potassio, la cui concentrazione è maggiore all'interno piuttosto che all'esterno, il sodio, più concentrato all'esterno, il calcio e il cloro, anch'essi più presenti all'esterno della cellula che all'interno.

A causa della differenza di potenziale registrabile in condizioni di riposo, la cellula è definita polarizzata; una cellula è invece depolarizzata se la differenza di potenziale è meno negativa di quella a riposo o iperpolarizzata se è più negativa.

Il potenziale d'azione si genera, in presenza di uno stimolo esterno, grazie all'esistenza sulla membrana di canali ionici, la cui apertura ne modifica lo stato.

A livello di una sinapsi, lo scambio di informazione tra due neuroni, avviene per mezzo della fuoriuscita di una sostanza, detta neurotrasmettitore, dai terminali pre-sinaptici del neurone portante l'informazione. La presenza di tale neurotrasmettitore ha come effetto, sui dendriti post-sinaptici, l'apertura di canali ionici “chemio-dipendenti” che favoriscono un flusso di uno specifico ione per diffusione, verso l'interno o l'esterno della cellula. Esistono diversi tipi di neurotrasmettitore, ognuno dei quali comporta l'apertura di un canale ionico piuttosto che un altro con la membrana che viene depolarizzata o iperpolarizzata. Il cambiamento transitorio del potenziale di membrana, che si osserva a livello dei dendriti, prende il nome di potenziale post-sinaptico.

Attraverso i suoi dendriti, un neurone riceve migliaia di sinapsi e i potenziali post-sinaptici si propagano verso il corpo cellulare, dove sono integrati.

Il potenziale d'azione si genera se il contributo di tutti i potenziali post-sinaptici determina, a livello del monticolo assonico, il raggiungimento di un valore di soglia del potenziale (circa -55 mV) che favorisce l'apertura di un'altra tipologia di canali di membrana, chiamati voltaggio-dipendenti.

Di estrema importanza, in particolare, sono i canali del sodio e del potassio le cui dinamiche di apertura e chiusura sono differenti. I canali del sodio si aprono molto velocemente, in risposta ad una depolarizzazione soprasoglia, e poi più lentamente si richiudono. I canali del potassio, invece, si aprono più lentamente e la loro apertura è più prolungata nel tempo.

Non appena i canali del sodio si sono aperti, gli ioni del sodio tendono ad entrare all'interno della cellula per diffusione e il potenziale di membrana raggiunge valori positivi (circa +30 mV, con un picco spesso indicato come spike). Subito dopo l'apertura, i canali del sodio si inattivano e, nel frattempo, si aprono lentamente i canali del potassio che tendono a far uscire gli ioni potassio verso l'esterno. A questo punto il potenziale di membrana diminuisce, andandosi ad assestare al valore di riposo; a questo punto, anche i canali del potassio si chiudono. La durata complessiva di un potenziale d'azione è dell'ordine dei 2 ms.

La modalità con cui il potenziale d'azione si genera è indipendente dal valore del complessivo potenziale post-sinaptico, purché si raggiunga la soglia per cui i canali si aprono. La frequenza con cui potenziali successivi si originano aumenta, invece, all'aumentare del valore di tale potenziale.

Il potenziale d'azione si propaga unidirezionalmente lungo l'assone senza subire variazioni d'ampiezza e di forma perché si genera continuamente lungo la sua membrana. Infatti, tra una regione in uno stato di depolarizzazione ed una attigua in uno stato di riposo c'è una differenza di potenziale e quindi flussi di corrente ionica che tendono a depolarizzare la regione a riposo e a scatenare un nuovo potenziale d'azione. L'unidirezionalità del flusso d'informazione è garantita dal fatto che, una volta che ha inizio un potenziale d'azione, la membrana entra in uno stato di refrattarietà, per qualche istante, risultando inerte ad altri stimoli.

E' lo scatenamento del potenziale d'azione a favorire la fuoriuscita di neurotrasmettitori a livello dei terminali post-sinaptici. Se tale neurotrasmettitore ha effetto depolarizzante sul neurone bersaglio, il neurone pre-sinaptico è eccitatorio; al contrario, un effetto iperpolarizzante è associato ad un neurone inibitorio.

1.1.3 Origine del segnale EEG

L'EEG di superficie registra l'attività neuronale della corteccia, cioè della zona più superficiale del cervello. La corteccia è popolata da due tipologie di neuroni: neuroni piramidali e neuroni non piramidali.

Le cellule piramidali, dette anche “di proiezione”, sono caratterizzate da assoni in grado di raggiungere zone sottocorticali, proiettando così l'informazione anche a distanza. Le cellule non piramidali, invece, sono locali, cioè hanno assoni più corti e confinati in spazi più ristretti.

Le cellule piramidali, definite così per la forma del corpo cellulare a “piramide”, presentano solitamente l'apice rivolto verso l'alto e la base, da cui si diparte l'assone, rivolta verso il basso. I dendriti che ascendono verso gli strati più superficiali della corteccia, sono nella maggior parte dei casi paralleli fra loro.

La principale fonte di origine dell'EEG registrato sullo scalpo è l'attività post-sinaptica delle cellule piramidali. Ogni dendrite è una sorgente di campo elettrico, ed essendo i diversi dendriti disposti tra di loro parallelamente, si può misurare un campo elettrico complessivo, dato dalla somma dei diversi contributi, sufficientemente grande da poter essere registrato.

Si consideri, per esempio, il caso in cui un dendrite riceva una sinapsi eccitatoria nella regione più superficiale della corteccia. In tale zona la membrana subisce una depolarizzazione, per cui, l'apertura tempestiva dei canali del sodio porta in ingresso alla cellula ioni positivi. Allora, rispetto alle regioni extracellulari lontane dalla sinapsi, nell'intorno del punto di depolarizzazione si ha un minor numero di ioni positivi. Ciò che si osserva, per cui, è che lo spazio extracellulare a livello sinaptico è più negativo dello spazio extracellulare a valle, determinando un dipolo elettrico. Idealmente un elettrodo posizionato in prossimità della sinapsi registra un potenziale negativo rispetto ad un elettrodo di riferimento posizionato in un sito neutro. Nel caso in cui la sinapsi fosse stata inibitoria, seguendo lo stesso ragionamento, si sarebbe registrato un potenziale positivo.

In realtà, un elettrodo non registra l'attività di un solo neurone, ma la sovrapposizione dei campi elettrici generati da tanti neuroni contenuti in un certo volume di corteccia cerebrale sottostante l'elettrodo. C'è inoltre da sottolineare come soltanto l'attività post-sinaptica contribuisca all' EEG e non per esempio il potenziale

d'azione che si propaga lungo l'assone. Questo perché i potenziali post-sinaptici, hanno delle durate nettamente più lunghe rispetto al potenziale d'azione e ciò rende possibile, in un determinato istante, che più attività post-sinaptiche lavorino in sincronia favorendo la sovrapposizione di più segnali. Il potenziale d'azione, al contrario, è talmente rapido nello scatenamento che risulta improbabile che più potenziali d'azione siano contemporanei e capaci di sovrapporre i propri effetti.

I dendriti ricevono migliaia di sinapsi perciò il dipolo cambia continuamente di intensità e direzione e in superficie si registrano delle onde.

1.1.4 L'EEG in ambito clinico

L'EEG è l'esame strumentale più diffuso e il primo ad essere entrato nell'uso clinico comune in ambito neurologico. Sono svariati i motivi per cui è richiesto l'uso di un EEG: viene usato per riconoscere situazioni in cui è presente un danno o una sofferenza del cervello o alterazioni dell'attività elettrica cerebrale tipiche di certe malattie, come l'epilessia che costituisce il suo principale campo di applicazione; è, inoltre, utile per identificare la localizzazione di tumori cerebrali, infiammazioni, infezioni (quali encefaliti o meningiti), sanguinamenti, ferite al capo, o patologie cerebrali quali il Parkinson; può confermare o escludere la morte cerebrale in un soggetto in coma; è associato allo studio dei disturbi del sonno, quali la narcolessia; è essenziale per monitorare l'attività cerebrale mentre un soggetto è sottoposto ad anestesia generale per un intervento chirurgico; può aiutare a predire una possibilità di recupero di un soggetto dopo una variazione dello stato di coscienza.

Le onde registrate da un elettroencefalografo sono caratterizzate da un'ampiezza, una forma e una frequenza associabili all'attività mentale del paziente durante il periodo di acquisizione. I neurologi sono in grado, osservando tali onde, di determinare se un'onda, ottenuta imponendo uno specifico task al paziente, appartenga ad uno stato fisiologico o patologico.

1.1.5 Stati di veglia e di sonno e ritmi cerebrali

Le onde che vengono registrate attraverso un EEG sono state classificate in base alla frequenza con cui oscillano, legata all'attività mentale del soggetto esaminando. Per semplicità si possono raggruppare tali onde in due sottogruppi, rappresentanti rispettivamente lo stato di veglia e di sonno. Veglia e sonno rappresentano gli stati di un ciclo circadiano, un ciclo cioè che si ripete quotidianamente e che è vitale al nostro benessere psico-fisico.

La veglia è uno stato cosciente in cui un soggetto ha pieno controllo dei suoi muscoli scheletrici, ha capacità di ragionare, porre attenzione su qualcosa, analizzare gli stimoli che provengono dall'ambiente che lo circonda, ricordare episodi del passato, compiere delle azioni, apprendere: è, in definitiva, tutto ciò che è legato a coscienza ed attenzione [1].

Le attività che si registrano durante la veglia sono così classificate:

- attività gamma: definita nella banda di frequenze tra i 25 e i 120 Hz, è legata all'attenzione, alla concentrazione, a processi di integrazione della percezione;
- attività beta: nel range tra i 14 e i 25 Hz, è dominante nelle normali attività di veglia in cui un soggetto seleziona e valuta gli stimoli del mondo circostante, nell'attivazione delle aree motorie, nei momenti di stress o di ansia in cui è necessario tenere sotto controllo la situazione e dare veloce soluzione ai problemi;
- attività alpha: ha frequenze che vanno dagli 8 ai 13 Hz e appare in fase di transizione da veglia a sonno. Il soggetto che presenta tali attività è infatti rilassato, ha gli occhi chiusi, è comunque in uno stato di coscienza vigile ed è concentrato nella soluzione di problemi o nel raggiungimento di uno stato meditativo leggero (per esempio durante una seduta di yoga).

Il sonno è descritto come uno stato comportamentale reversibile, caratterizzato da isolamento percettivo e assenza di responsività agli stimoli esterni, ma rappresenta al tempo stesso un complesso amalgama di processi fisiologici e comportamentali. Ancora oggi le conoscenze riguardanti il sonno sono limitate ma ciò che è chiaro è che dormire è necessario per la sopravvivenza. Studi su ratti cronicamente deprivati

del sonno hanno mostrato una degradazione delle normali funzioni conscie del cervello, a causa di una condizione per i soggetti altamente stressante [1].

Solitamente il sonno viene distinto in due fasi, la fase REM (rapid eye movement) e la fase NREM (non-rapid eye movement). Dal punto di vista elettroencefalografico, il sonno REM è associabile alla veglia, per il fatto che i ritmi registrati durante tale stato hanno delle caratteristiche molto simili alla veglia, in quanto il cervello è fortemente attivo. La fase REM è caratterizzata inoltre da rapidi movimenti stereotipati degli occhi, contrazioni muscolari involontarie in un contesto di globale atonia dei muscoli e dalla presenza dei sogni. Il sonno NREM, che anticipa quello REM, è caratterizzato invece da un decremento dell'attività muscolare con i muscoli che non sono completamente paralizzati, quasi totale assenza di sogni, prevalenza funzionale del sistema parasimpatico.

Le principali attività cerebrali che si osservano durante il sonno di tipo NREM sono [2]:

- attività theta: con frequenza tra i 3 e i 7 Hz, si caratterizza per attività muscolare tonica e scarsi e lenti movimenti oculari; la mente è impegnata in attività di immaginazione e ispirazione creativa. L'attività theta sembra giocare un ruolo fondamentale nella memoria episodica ed è associata ad un intenso lavoro dei lobi frontali. E' spesso indicato come sintomo di inizio della fase 1 del sonno e ha origine da un'interazione talamo-reticolare;
- sleep spindles (fusi del sonno): di natura talamo-reticolare, sono sequenze di onde, della durata di 0.5-1.5 secondi, che oscillano tra i 7 e i 14 Hz e che si generano ogni 2-5 secondi. Sono caratteristici della fase 2 del sonno e hanno come scopo quello di impedire che stimoli esterni arrivino in corteccia e determinino il risveglio. Assieme agli spindles la fase 2 presenta i cosiddetti complessi-k, formazioni elettroencefalografici di alto voltaggio costituiti da un andamento dell'onda EEG caratterizzato da una fase rapida negativa con fronte di risalita altrettanto rapido, seguito da una fase positiva con declino più lento. Tale onda assume la forma della lettera k;
- attività delta: caratterizzata da onde di frequenza tra 0.5 e 4 Hz, è associata a profondo rilassamento psicofisico e allo stadio 3 del sonno insieme alle onde lente. Le onde cerebrali a minore frequenza sono quelle proprie della mente inconscia, del sonno senza sogni, dell'abbandono totale ma anche di

condizioni patologiche come il coma. Ha una componente di origine corticale e una componente di origine talamica;

- slow-wave sleep (SWS, onde lente del sonno): sono oscillazioni di elevata ampiezza di origine corticale a frequenza molto bassa, solitamente 0.2-0.9 Hz, nelle quali si alternano stati UP e DOWN. Lo stato DOWN è legato ad una iperpolarizzazione delle cellule nervose mentre lo stato UP ad una loro depolarizzazione. I meccanismi che regolano le onde lente non sono ancora perfettamente noti così come la loro funzione. Sembrerebbe comunque che gli stati UP presentino oscillazioni paragonabili a quelle viste durante la veglia, tanto che alcuni autori parlano di stati UP come dei frammenti di veglia [3]. Probabilmente è in queste fasi del sonno che avviene il consolidamento della memoria, processo che secondo molti avviene durante le ore notturne [1], [4]. Non è però chiaro come, per esempio, negli intervalli temporali in cui un soggetto sta dormendo e genera degli stati UP simili alla veglia, rimanga incosciente.

C'è da aggiungere che, mentre per le attività del sonno, come per esempio gli spindles e le onde lente, tutti i neuroni “sparano” potenziali d'azione e si spengono contemporaneamente, la veglia si presenta come un'attività irregolare, di piccola ampiezza e più veloce [1]. Questo perché la veglia coinvolge il processamento di più informazioni differenti, per cui i neuroni non lavorano contemporaneamente e i loro potenziali non si sommano tra di essi in un'onda ampia come nelle SWS.

Tutti i ritmi sopraelencati si possono immaginare come l'uscita di una “pompa ritmica” che opera diversamente nei diversi stati cerebrali di veglia, sonno NREM e sonno REM. Tale pompa è un complesso circuito in cui interagiscono tre unità oscillanti: la Corteccia, il Talamo e il Reticolo Talamico [1], [2], [5]. Le cellule di tali strutture cooperano tra di loro, si scambiano continuamente informazioni e garantiscono il funzionamento dell'assai complesso sistema nervoso.

I ritmi, allora, non devono essere pensati come separati, con un'onda che preclude un'altra, ma coesistenti. È possibile, per esempio, che spindles si sovrappongano ad ritmo delta o theta, o che ci siano sequenze di onde lente e delta. Sebbene, infatti, i ritmi sono generati in strutture specifiche, la connettività tra le varie strutture produce un complesso insieme di ritmi [6], [7].

1.2 GLI OSCILLATORI CELEBRALI

Ogni secondo, centinaia di milioni di neuroni corticali, talamo-corticali e talamo-reticolari “sparano” potenziali d’azione e comunicano tra di loro. Si definisce neurone corticale una cellula nervosa della corteccia celebrale; un neurone talamo-corticale è invece una cellula del Nucleo Talamo-Corticale (TCN), cioè un nucleo talamico di comunicazione con la corteccia; infine, un neurone talamo-reticolare è una cellula del Nucleo Talamo Reticolare (TRN), cioè un struttura che avvolge il talamo e si interpone tra talamo e corteccia.

I più importanti circuiti cerebrali riguardano reti talamo-corticali, cortico-corticali e talamo-reticolari.

Il primo è definito da un vasto numero di connessioni bidirezionali tra talamo e corteccia fondamentali per la gestione dei vari stati di veglia e di sonno, nel processamento sia degli stimoli esterni che dei segnali con i quali le varie regioni corticali si scambiano informazioni.

Il sistema cortico-corticale è una rete di collegamento tra un punto della corteccia e un altro. Esistono due tipi di collegamenti, il primo si mantiene all’interno dello stesso emisfero mentre il secondo consiste di legami tra neuroni di emisferi opposti. Tali scambi di informazione sono necessari per integrare le diverse funzioni che ogni zona celebrale offre.

Infine, il sistema talamo-reticolare coinvolge neuroni talamo-corticali e talamo-reticolari ed ha una funzione fondamentale, come si vedrà, nella generazione di onde degli stati del sonno, come gli spindles.

1.2.1 La corteccia celebrale

E’ lo strato laminare esterno del cervello spesso 2-4 mm. Ricoperta da un fitto intreccio di pieghe, costituisce il 40 % del cervello in peso ed è composta da circa 15.000 milioni di neuroni. E’ la parte del cervello che ricopre un ruolo fondamentale nella percezione, nella memoria, nel pensiero, nell’intelletto e provvede a dare impulso all’attività volontaria.

Dal punto di vista funzionale, la corteccia è suddivisa in diverse aree o lobi:

- lobi frontali, nella parte anteriore del cervello, sede del controllo motorio e della pianificazione delle azioni;
- lobi parietali, nella zona centrale del cervello, sono deputati all'orientamento nello spazio, alla gestione degli input somato-sensoriali e alla programmazione motoria;
- lobi temporali, in posizione inferiore rispetto al lobo frontale e parietale, sono sede della memoria episodica e gestiscono importanti funzioni come la formazione del linguaggio, il processamento degli input uditivi e il riconoscimento di oggetti;
- lobi occipitali, nella zona posteriore del cervello, sono il luogo in cui vengono gestiti gli input visivi.

Le cellule che popolano gli strati corticali sono principalmente di due tipi, piramidali e non piramidali, come detto precedentemente. Le cellule non piramidali, a loro volta, si dividono in cellule basket, stellate o a candeliere in base alla particolare forma che assumono. Ciò che distingue una cellula piramidale da una non piramidale è la lunghezza dell'assone e quindi la capacità di scambiare o meno informazioni ad ampio raggio. Le cellule piramidali sono quelle destinate a comunicare con le zone sotto corticali e quindi, per esempio, con il talamo.

Le cellule non piramidali, invece, formano dei circuiti locali con i piramidali di una ristretta area corticale. Possono essere di natura inibitoria o eccitatoria: d'ora in poi tali cellule saranno indicate come "interneuroni inibitori" e "interneuroni eccitatori".

1.2.2 Il talamo

Il talamo è una struttura del sistema nervoso centrale, più precisamente del diencefalo. È un ammasso di sostanza grigia, con sostanza bianca nello strato zonale che ne riveste la superficie superiore e nelle lamine midollari interna ed esterna.

Il talamo ha molteplici funzioni. Innanzitutto costituisce una importante stazione di raccordo del sistema sensitivo nel suo complesso, ricevendo tutti gli impulsi sensitivi (esclusi quelli olfattivi) che hanno il loro punto di partenza nei vari recettori periferici e sono diretti alla corteccia. Ogni sistema sensoriale comprende un nucleo

talamico che riceve segnali sensoriali e li invia all'area corticale primaria associata. Detti stimoli non si limitano però ad attraversare il talamo: al suo livello subiscono una complessa azione di integrazione, modulazione e selezione.

Rientra nelle attività del talamo anche la regolazione di quei movimenti che sono destati da sensazioni dolorose e che sono detti psico-riflessi. Inoltre, tutte le informazioni che le varie corteccie si scambiano vengono prima analizzate e integrate a livello del talamo che rappresenta, tra le altre cose, il centro di regolazione degli stati di veglia e di sonno.

Il talamo è costituito da 15 nuclei talamo-corticali, già prima abbreviati come TCN. Essi coordinano le funzioni sopracitate di mediazione tra stimoli esterni e corteccia e tra diverse corteccie. Ogni TCN riceve input dai sensori periferici, dalla corteccia e dal prosencefalo che modula il suo stato di attivazione.

Le cellule talamiche si caratterizzano per un'attività di firing più complessa rispetto alle cellule corticali. I burst, in particolare, rappresentano una novità rispetto alle modalità con cui le cellule nervose corticali generano i potenziali d'azione [2]. Questi sono stati scoperti da registrazioni intracellulari, di neuroni talamo-corticali, che hanno rivelato una inusuale scarica di potenziali a frequenza elevatissima (800 Hz) subito dopo un'iperpolarizzazione. Ciò è dovuto all'attivazione a bassa soglia di una corrente di calcio, definita corrente transiente (I_T). I canali del calcio si caratterizzano per dei meccanismi di attivazione e inattivazione, allo stesso modo dei sopracitati canali del sodio. Quando il potenziale di membrana assume valori al di sotto di una soglia che è intorno ai -65 mV, tali canali del calcio sono completamente de-inattivati; una corrente cationica, definita I_h (dove h sta appunto per hyperpolarization), si attiva e determina una depolarizzazione, così il potenziale di membrana assume valori meno negativi che garantiscono, da una parte una rapida apertura dei canali, e dall'altra l'inattivazione dei canali stessi. Siccome le dinamiche di inattivazione sono più lente rispetto a quelle di apertura dei canali, per un breve intervallo di tempo i canali del calcio si trovano contemporaneamente attivati e de-inattivati: una rapida depolarizzazione, a partire da una condizione di iperpolarizzazione, attiva I_T istantaneamente. Le dinamiche di apertura e inattivazione di I_T sono dell'ordine dei 100-200 ms e portano il potenziale di membrana a superare ricorsivamente la soglia dei -55 mV e a generare un treno dai 3 agli 8 potenziali d'azione, definito appunto burst.

Oltre ai burst, le cellule talamiche sono in grado poi, come tutte le altre cellule nervose, di generare dei singoli spikes in risposta a depolarizzazioni sopra-soglia dello stato di riposo. L'attività a singoli spikes è solitamente definita attività tonica. Le cellule talamo-corticali, di cui si farà riferimento in tale testo, sono cellule glutammatergiche, cellule cioè che, quando eccitate, rilasciano il glutammato, un neurotrasmettitore eccitatorio con diverse tipologie di recettori come gli AMPA e gli NMDA.

1.2.3 Il nucleo reticolare talamico (TRN)

Il TRN è costituito da un sottile guscio di neuroni GABAergici che avvolge bilateralmente il talamo dorsale. Tale nucleo è suddiviso in diversi settori ciascuno dei quali collegato ad un particolare nucleo del talamo.

Il GABA è il più diffuso neurotrasmettitore di cellule inibitorie del sistema nervoso, per cui in prima istanza si può affermare che il TRN ha un effetto iperpolarizzante sulle strutture a cui si connette. Ancora molto poco si sa sulle funzioni esercitate da tale struttura; comunque, come più volte sottolineato da diversi autori, il TRN gioca un ruolo fondamentale sull'attività oscillatoria dell'EEG sia fisiologica che parossistica.

Il TRN riceve input dai nuclei talamo-corticali, dalla corteccia e dai sistemi di neuromodulazione del midollo allungato e del prosencefalo.

I neuroni reticolari presentano due modalità di attivazione, firing tonico e burst, allo stesso modo delle cellule talamiche.

L'attivazione di tali cellule può mettere in moto due tipi di recettori sulle cellule talamo-corticali a cui sono connesse, recettori GABA_A e recettori GABA_B [2]. La principale differenza tra i due riguarda le dinamiche di attivazione che risultano nettamente più lente per quelli GABA_B. I recettori GABA_B, inoltre, richiedono quantitativi elevati del ligando GABA ed è per questo che sono maggiormente accesi quando le cellule reticolari sono molto attive come, per esempio, durante i burst.

1.2.4 Modalità di connessione tra gli oscillatori

Il modo con cui i sistemi sopracitati sono tra di loro connessi è fondamentale per la generazione dei ritmi EEG.

Vale la pena, a questo punto, elencare le interazioni sinaptiche tra le cellule dei tre oscillatori [2], [5], [6], [8]:

- input talamo-reticolare a talamo-corticale: è un'interazione molto forte, in sito e può avvenire tra più regioni reticolari e talamiche. L'attivazione di una cellula reticolare comporta la generazione di potenziali post-sinaptici inibitori (IPSP), sui neuroni talamo-corticali, mediati da recettori di tipo GABA. L'IPSP può essere sufficientemente grande da innescare l'apertura dei canali del calcio e quindi la generazione di burst;
- input talamo-reticolare a talamo-reticolare: è un collegamento laterale tra una regione del TRN e una sua regione limitrofa. È una inibizione reciproca attraverso recettori GABA_A e in alcuni casi GABA_B.
- input talamo-corticale a talamo-reticolare: tale connessione chiude il loop tra TCN e TRN. Studi sperimentali hanno infatti dimostrato che, inducendo su un neurone reticolare un burst di potenziali d'azione, risulta un ritorno di potenziale post-sinaptico eccitatorio (EPSP) con una latenza di 100-150 ms. Questo "rimbalzo" è dovuto al fatto che l'IPSP, generato dal neurone reticolare, induce un burst sul neurone talamo-corticale e quindi un EPSP successivo sul reticolare stesso. La latenza di tale EPSP è dovuta alla durata delle dinamiche di attivazione dei recettori GABA.

Sembra sia tale meccanismo di rimbalzo alla base della generazione degli spindles durante la fase 2 del sonno;

- input corticale a talamo-corticale e talamo-reticolare: sono collegamenti di tipo eccitatorio che determinano quindi un EPSP sulle cellule post-sinaptiche in questione;
- input talamo-corticale a corticale: chiude il loop tra TCN e corteccia. E', a livello fisiologico, di fondamentale importanza perché rappresenta la connessione per cui stimoli sensoriali raggiungono la corteccia. È anch'essa una sinapsi di tipo eccitatoria.

La letteratura neurofisiologica sembra, invece, escludere collegamenti diretti da TRN a corteccia.

1.2.5 Meccanismi che sottendono la transizione da veglia a sonno

Un sistema di neuro-modulazione favorisce il passaggio da uno stato mentale ad un altro e determina la responsività del soggetto a degli stimoli sensoriali.

Durante gli stati di veglia e sonno REM, i neuroni corticali e talamo-corticali si trovano in uno stato di depolarizzazione della membrana che li porta vicini alla soglia per lo scatenamento di potenziali d'azione tonici. Soltanto pochi tipi cellulari sono attivi durante la veglia e spenti durante il sonno REM; per il resto i due stati, dal punto di vista della attività cerebrali, sembrano presentare meccanismi assai simili, dato che differenze sostanziali non sono state ancora scoperte.

Le cellule del TCN risultano depolarizzate e quindi attive grazie alla disinibizione delle cellule del TRN, che si trovano in uno stato di iperpolarizzazione e quindi inattività. Questo è garantito dal sistema colinergico, cioè l'insieme di quelle strutture del midollo allungato che esplicano la loro funzione per mezzo del rilascio di acetilcolina [2], [6], [8]. La disconnessione dei neuroni talamo-corticali dai neuroni del Reticolo favorisce non solo l'eliminazione degli spindles dai tracciati EEG ma anche di tutte le altre attività legate al burst firing.

Le fasi del sonno, invece, prevedono l'accensione del TRN per mezzo della noradrenalina e serotonina, rilasciate dalle strutture non-colinergiche, che depolarizzano i suoi neuroni. A questo punto TRN e TCN comunicano in loop tra di loro, il TCN è inibito e iperpolarizzato dal TRN e vengono così generate le onde tipiche del sonno, come spindles e onde lente. L'iperpolarizzazione del TCN garantisce, tra le altre cose, che gli input sensoriali provenienti dall'esterno non arrivino in corteccia ma si blocchino a tale livello.

CAPITOLO 2

2.1 IL MODELLO MATEMATICO

Un modello matematico è una rappresentazione esemplificativa di un sistema reale, in cui vengono schematizzate le sole caratteristiche fisiche che interessa studiare, tramite una serie di regole (solitamente un sistema di equazioni algebriche o differenziali) che legano le grandezze interne al sistema, gli ingressi, ovvero le sollecitazioni, e le uscite, cioè i dati che si vogliono ricavare dal sistema.

Un modello può essere statico, se è possibile trascurare le variazioni temporali del sistema, o dinamico, quando le grandezze subiscono un'evoluzione nel tempo. In quest'ultimo caso è necessario generalmente risolvere delle equazioni differenziali.

I vantaggi di un modello matematico sono molteplici:

- predire l'evoluzione di un sistema reale in funzione di ingressi diversi, senza rifare le esperienze, o in situazioni non verificabili sperimentalmente;
- formulare e validare quantitativamente delle ipotesi di partenza;
- ricostruire segnali o oggetti tridimensionali a partire da sezioni trasversali;
- è meno costoso di un modello fisico.

A questi vantaggi si aggiungono però degli svantaggi e dei limiti nell'utilizzo di un modello:

- il modello è sempre un'approssimazione della realtà;
- un modello può essere troppo complesso per cui risulta, dal punto vista computazionale, eccessivamente oneroso;
- non è sempre possibile tradurre teoricamente dei fenomeni sperimentali.

2.1.1 L'utilità di introdurre un modello matematico

Come detto in precedenza, la generazione delle onde EEG appare dipendere dall'interazione tra popolazioni di neuroni inibitori ed eccitatori, le cui dinamiche determinano le frequenze con cui oscillano. Lo studio di tali ritmi, dal punto di vista eziologico e del ruolo funzionale, è strettamente connesso con la stima dell'effettiva

connettività tra le regioni cerebrali. Una strada che permette di migliorare le conoscenze di questi sistemi oscillatori e investigare i problemi legati all'effettiva connettività tra le strutture, all'origine e alla propagazione dei ritmi, è l'uso di modelli matematici.

Sin dagli anni '50 fenomeni cellulari, come il potenziale d'azione, sono stati spiegati e analizzati attraverso equazioni matematiche e tecniche di elaborazione del segnale. Spesso gli strumenti che si hanno a disposizione sono insufficienti per fare analisi sperimentali, per cui si è assistito ad una continua crescita e sviluppo di tali modelli che nel tempo si sono arricchiti e complicati andando a spiegare le dinamiche di intere popolazioni cellulari.

A questo punto è utile fare una panoramica su una tipologia di modelli neuronali, che prendono il nome di modelli di massa neurale, per entrare poi nello specifico del modello di massa neurale che sarà oggetto della trattazione di questa tesi.

2.1.2 Modelli di massa neurale

I modelli matematici usati per studiare le dinamiche cerebrali possono essere suddivisi in due grandi gruppi, ognuno con i suoi pregi e difetti.

In una prima classe di modelli si possono inserire quelli nei quali i singoli neuroni sono descritti nel dettaglio e le proprietà dei canali ionici, degli assoni e dendriti sempre esplicitamente incorporati. Sebbene questi modelli hanno il pregio di descrivere i meccanismi di base dei neuroni a scala microscopica, essi sono eccessivamente onerosi, dal punto di vista computazionale, per poter analizzare il comportamento di intere regioni corticali per le quali è necessario un abbondante numero di neuroni da interconnettere. Inoltre, la presenza di un alto numero di elementi comporta delle difficoltà nella sintesi dei risultati.

Nella seconda tipologia di modelli neurali rientrano i modelli di massa neurale (NMM), introdotti per primi da Wilson e Cowan [9], Freeman [10] e Lopes Da Silva [11] negli anni '70. In questi modelli, le dinamiche di intere popolazioni neurali e delle loro sinapsi sono descritte usando solo poche variabili, sotto l'ipotesi che neuroni della stessa popolazione condividono input simili e sincronizzano la loro attività. Tale procedura è molto efficiente per determinare il comportamento

emergente dei sistemi neurali, per simulare le dinamiche dell'EEG, per valutare le connessioni tra le varie aree cerebrali, con una complessità computazionale molto ridotta rispetto ai modelli del primo tipo.

In un NMM, le variabili che vengono osservate e descritte nella loro evoluzione sono tipicamente il potenziale di membrana medio e la frequenza di scarica media della popolazione. Le due grandezze sono legate attraverso una funzione non lineare, solitamente una sigmoide, mentre le connessioni sinaptiche da una popolazione A ad una popolazione B sono descritte da un'equazione differenziale lineare che lega la frequenza di scarica di A con la variazione del potenziale di membrana di B. L'equazione differenziale può essere del primo ordine, come per esempio nel modello di Wilson e Cowan, o del secondo ordine, scelta molto diffusa nei modelli più recenti poiché tale tipologia di equazione è più complessa e plausibile.

del secondo ordine (eccetto per il modello primordiale di Wilson e Cowan in cui l'equazione differenziale è del primo ordine) Un primo modello ideato per la generazione di ritmi attraverso l'interazione ciclica tra popolazioni neurali inibitorie ed eccitatorie, è l'oscillatore di Wilson-Cowan (1972) ancora oggi largamente utilizzato per studiare la sincronizzazione tra gli oscillatori neurali. Lopes da Silva e altri (1974) hanno proposto un semplice modello di due popolazioni in feedback per simulare la generazione nel talamo del ritmo α . Tali modelli sono stati successivamente migliorati negli anni '90 da Jansen [12] e da Jansen e Rit [13]: i loro modelli prevedono l'interazione di tre popolazioni neurali con differenti cinetiche sinaptiche (neuroni piramidali, interneuroni eccitatori, interneuroni inibitori) come accade all'interno di una singola colonna corticale. Le equazioni di Jansen sono frequentemente usate oggi per costruire modelli di aree corticali interconnesse tra loro per l'analisi delle dinamiche EEG, per studiare l'effettiva connettività tra le aree a partire da dati reali EEG, di risonanza magnetica o TMS confrontati con l'uscita del modello, o per comprendere come potenziali evento-correlati dipendano da connettività intrinseche.

Un'importante spinta all'uso dei modelli di massa neurale è stata data nel 2002 da Wendling e altri [14] che hanno proposto l'aggiunta di una quarta popolazione al modello di Jansen così da tener conto, anche, degli interneuroni con recettori di tipo $GABA_A$ caratterizzati da veloci cinetiche sinaptiche. Con tale modello gli autori sono stati in grado di simulare le dinamiche di segnali EEG reali che portano da un'attività

fisiologica ad un attacco epilettico. Nel 2006 il modello di Wendling è stato usato da Ursino, Zavaglia e altri [15] per valutare la connettività corticale effettiva, attraverso tecniche di stima dei parametri durante semplici task motori. Tali studi hanno sottolineato l'importanza della presenza degli interneuroni inibitori veloci per ottenere potenza in banda γ .

Comunque, simulazioni di tali modelli hanno confermato ciò che la letteratura afferma riguardo ai loro limiti. Innanzitutto, un singolo modello di massa neurale a tre (Jansen) o quattro (Wendling) popolazioni di neuroni interconnessi, quando vengono simulati con un input di tipo rumore bianco, produce soltanto un singolo ritmo celebrale. Tale ritmo può essere generato da un'instabilità dei loop in feedback o attraverso l'amplificazione del rumore in una certa banda di frequenza. Per produrre ritmi in differenti bande di frequenza, è necessario un cambiamento nelle costanti di tempo delle dinamiche sinaptiche. In particolare, per simulare ritmi γ è necessario imporre valori molto piccoli per la costante di tempo degli interneuroni "fast", quelli cioè che hanno dinamiche veloci delle sinapsi.

Gli spettri reali dei segnali EEG misurati durante task motori o cognitivi mostrano invece la coesistenza di più ritmi nella stessa regione di interesse (ROI). La coesistenza di diversi ritmi appare un'importante caratteristica, che sottende funzioni non trascurabili delle dinamiche cerebrali.

David e Friston [16] hanno suggerito che uno spettro multimodale può essere ottenuto attraverso un NMM considerando la presenza di differenti sottopopolazioni, nella stessa regione corticale, con diverse cinetiche sinaptiche. Tale scelta sembra però non essere molto efficiente: è necessario, infatti, introdurre una popolazione di neuroni diversa per ogni ritmo che si intende generare.

Un approccio più semplice è stato proposto da Cona ed altri [17] e Zavaglia e altri [18] che hanno ipotizzato che ogni regione possa produrre un solo ritmo intrinseco dovuto alle sue dinamiche interne, ma possa ricevere ritmi addizionali, da altre regioni, attraverso connessioni eccitatorie a lungo raggio. A partire da tali considerazioni, Ursino ed altri [19] hanno sviluppato un modello di interconnessione tra regioni corticali diverse e costruite secondo lo schema a quattro popolazioni in feedback di Wendling. In questo modello è stata evidenziata l'importanza di introdurre un'autoinibizione degli interneuroni inibitori fast per la generazione del ritmo gamma. Tale connessione ha permesso di generare in un'unica regione

corticale, un segnale che include più ritmi cerebrali: il ritmo gamma, appunto, generato attraverso il loop degli interneuroni inibitori fast e un ritmo, a frequenze più basse (in banda alpha o beta) dovuto ai loop tra le cellule piramidali e gli interneuroni eccitatori e inibitori lenti.

È del 2001, invece, un modello di interconnessione tra TCN e TRN da parte di Suffczynski [20]. Per la prima volta, in un modello di NMM, le popolazioni si caratterizzano per le dinamiche del calcio necessarie a descrivere l'attività dei burst. Tra i risultati ottenuti, il modello permette di dare in output segnali con oscillazioni nel range di frequenza α .

Pirini e Ursino [21] hanno presentato un modello computazionale, simile a quello di Suffczynski, per descrivere le dinamiche di interazione tra il TCN e il TRN, analizzarne le attività oscillatorie e studiare come gli input sensoriali e modulatori possano imporre lo stato di funzionamento di tali strutture.

I due modelli presentati in questa tesi possono essere visti come uno sviluppo degli ultimi modelli descritti. Il primo, integra il modello di Pirini e Ursino con il NMM di regione corticale di Ursino e altri, con lo scopo di produrre ritmi EEG tipici della veglia e del sonno. Il secondo modello, più complesso, consiste invece di più aree corticali interconnesse tra di loro e legate a diverse aree talamo-corticali e talamo-reticolari.

I modelli sono stati sviluppati con l'obiettivo di determinare quali sono le dinamiche cerebrali che sottendono la generazione dei ritmi EEG della veglia e del sonno, di analizzare le risposte agli stimoli sensoriali nei vari stadi di funzionamento del modello e di provare a fittare tracciati EEG reali per stimare i parametri di connessione tra le varie strutture simulate.

2.1.3 Descrizione del modello

Il primo modello, a cui si fa riferimento nei primi capitoli di questo lavoro, vuole simulare l'interazione tra un Nucleo Talamo-Corticale, un nucleo Talamo-Reticolare e una regione corticale. La regione corticale è definita da quattro popolazioni che rappresentano, rispettivamente, le cellule piramidali, gli interneuroni eccitatori, gli interneuroni inibitori, con cinetiche sinaptiche lente ($GABA_{A \text{ slow}}$), e gli interneuroni

inibitori con cinetiche sinaptiche veloci ($\text{GABA}_{\text{B fast}}$), mentre il TCN e il TRN sono definiti entrambi da un'unica popolazione.

L' i -esima popolazione è descritta attraverso due variabili: il potenziale di membrana medio (che sarà indicato con $v_i(t)$) e la frequenza media di scarica dei potenziali d'azione ($z_i(t)$). Il generico pedice i sarà sostituito con le lettere T, R, P, E, S, F a seconda che si parlerà di TCN, TRN, cellule piramidali, interneuroni eccitatori, interneuroni inibitori slow o interneuroni inibitori fast.

Il potenziale di membrana medio è così ottenuto:

$$v_i(t) = \sum_j C_{ij} \cdot y_j(t - D_{ij}) + I_{\text{ext},i}, \quad (1)$$

dove y_j è il potenziale post-sinaptico generato dalla popolazione j -esima sulla popolazione i -esima; questo è moltiplicato per la forza di connessione C_{ij} tra le due popolazioni interagenti (in C_{ij} , il primo pedice indica la popolazione che sta ricevendo l'informazione, mentre il secondo descrive la popolazione che sta portando il segnale a livello sinaptico). A causa della distanza fisica tra le varie popolazioni, può essere introdotto un ritardo finito D_{ij} per le connessioni di lungo raggio. Il termine $I_{\text{ext},i}$ rappresenta l'insieme degli input esterni alla popolazione considerata.

La frazione di neuroni che, in un certo istante, sono attivi e stanno generando dei potenziali d'azione è definita in questo modo:

$$r_i(t) = \frac{1}{1 + e^{-(v_i(t) - v_{0,i})/\sigma_i}}. \quad (2)$$

$r_i(t)$ è, dunque, una funzione sigmoideale del potenziale di membrana $v_i(t)$; $v_{0,i}$ è il potenziale, per il quale, metà dei neuroni della popolazione stanno sparando, mentre σ_i è un fattore di pendenza della sigmoide (è inversamente proporzionale alla pendenza della regione lineare).

Per ricavare la frequenza media di scarica della popolazione, si moltiplica la frazione di neuroni in fase di firing per la massima frequenza di scarica F_i , che la popolazione i -esima è in grado di produrre:

$$z_i(t) = r_i(t) \cdot F_i. \quad (3)$$

Le dinamiche sinaptiche sono descritte da un'equazione differenziale del secondo ordine:

$$\ddot{y}_i(t) + 2 \cdot \omega_i \cdot \dot{y}_i(t) + \omega_i^2 \cdot y_i(t) = G_i \cdot \omega_i \cdot z_i(t), \quad (4)$$

dove G_i è il guadagno della sinapsi e ω_i è l'inverso della costante di tempo sinaptica. Pertanto, il potenziale post-sinaptico, determinato dalla popolazione i -esima è il risultato di una doppia integrazione di tale equazione differenziale. La risposta all'impulso dell'attività sinaptica, che si ricava, è del tipo:

$$h_i(t) = G_i \cdot t \cdot e^{-\omega_i t}. \quad (5)$$

y_i può essere anche calcolato, allora, come il risultato della convoluzione tra $z_i(t)$ e $h_i(t)$:

$$y_i(t) = z_i(t) \otimes h_i(t). \quad (6)$$

Ogni popolazione ha in ingresso una serie di input provenienti dalle altre popolazioni, cioè un potenziale post-sinaptico per ognuna di esse. Sarebbe necessario allora impostare, per ogni popolazione, un'equazione differenziale in ingresso per ogni tipo di sinapsi che riceve. Per non rendere, però, il modello troppo complesso, si sfrutta la linearità delle equazioni (1) e (6), per cui il potenziale post-sinaptico viene calcolato come uscita della popolazione a monte della sinapsi; tale potenziale è moltiplicato successivamente per la forza di connessione tra la popolazione pre e post-sinaptica e dato in ingresso a quest'ultima.

In generale una singola popolazione è modellata come è descritto dalla figura 1:

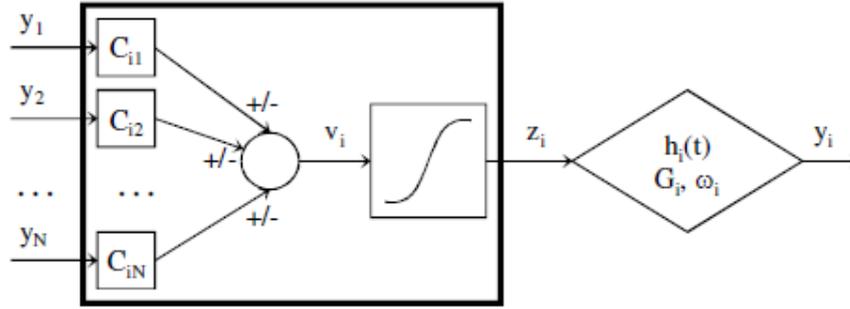


Figura 1. Schema a blocchi generico per una popolazione neurale.

Le equazioni sopracitate descrivono l'attività tonica delle popolazioni neurali. L'attività burst, invece, che caratterizza TCN e TRN, è modellata dalle equazioni descritte in seguito.

L'ipotesi che si assume è che la frazione di cellule coinvolte in un'attività di tipo burst non dia origine contemporaneamente ad attività tonica. Cioè uno stato di funzionamento preclude l'altro.

La frazione di neuroni che mostrano attività burst, $r_{B,i}$ (con i che può essere T o R), è determinata dal prodotto delle frazioni per cui la corrente I_T del calcio è in uno stato di attivazione e di de-inattivazione contemporaneamente:

$$r_{B,i}(v_i, t) = n(v_i) \otimes h_n(t) \cdot m(v_i) \otimes h_m(t). \quad (7)$$

La dinamica di de-inattivazione è governata da una equazione del secondo ordine, $h_n(t)$, associata ad una funzione sigmoideale $n(v_i)$, mentre la dinamica di attivazione della corrente I_T è governata semplicemente da una funzione sigmoideale $m(v_i)$, poiché le sue dinamiche $h_m(t)$ sono considerate molto più veloci di quelle di de-inattivazione:

$$n(v_i) = \frac{1}{1 + e^{\frac{(v_i(t) - v_{0,n})}{\sigma_n}}}, \quad (8)$$

$$m(v_i) = \frac{1}{1 + e^{\frac{(v_i(t) - v_{0,m})}{\sigma_m}}}, \quad (9)$$

$$h_n(t) = \frac{\omega_{n1} \cdot \omega_{n2}}{\omega_{n1} + \omega_{n2}} (e^{-\omega_{n1}t} - e^{-\omega_{n2}t}), \quad (10)$$

$$h_m(t) = \delta(t), \quad (12)$$

dove $\delta(t)$ è la delta di Dirac per cui, nell'Eq. 7, la seconda convoluzione è sempre uguale a $m(v_i)$ stesso.

La figura 2 mostra le curve di attivazione (colore verde) e de-inattivazione (colore blu) dei canali del calcio.

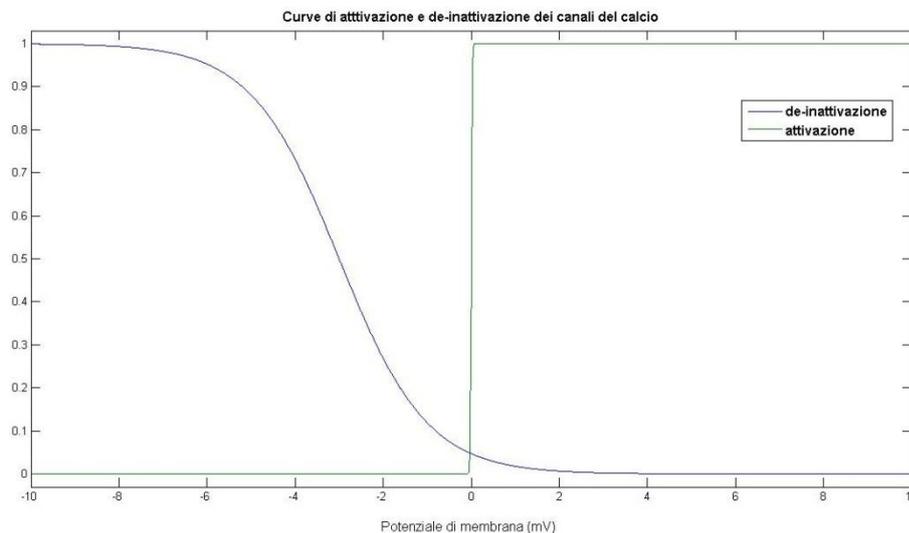


Figura 2. Curve di attivazione (verde) e de-inattivazione (blu) dei canali del calcio nelle cellule del TRN e del TCN.

Se le due variabili, mostrate nel grafico, fossero entrambe istantanee, il prodotto sarebbe sempre intorno allo zero. Invece, come è stato detto prima, solo le dinamiche di attivazione sono considerate istantanee, mentre quelle di de-inattivazione seguono una dinamica del secondo ordine. Per tale motivo, quando una delle due popolazioni talamiche è iperpolarizzata, il termine di de-inattivazione è 1 e il canale per la popolazione è de-inattivato; allora, se il potenziale di membrana si depolarizza rapidamente, il primo termine rimane 1, per un breve intervallo di tempo, a causa delle sue dinamiche, mentre il secondo termine cresce istantaneamente, portandosi a

valori più alti dello zero. A questo punto, il prodotto di $n(v_i)$ e $m(v_i)$ è diverso da zero e la popolazione talamica spara in modalità burst firing.

La frequenza con cui una popolazione talamica sta generando attività burst è data, poi, dal prodotto tra la frazione della popolazione che ha i canali del calcio aperti e de-inattivati, e la massima frequenza con cui un neurone può sparare tali treni di potenziali, F_B . Sfruttando poi l'ipotesi che, se un neurone sta lavorando in regime di burst non può contemporaneamente generare attività tonica e viceversa, la frazione di neuroni che sta sparando tonicamente è dato da:

$$r_{t,i} = (1 - r_{B,i}) . \quad (13)$$

Sommando i contributi della popolazione in regime tonico e della popolazione in regime burst, la frequenza con cui vengono generati potenziali d'azione è:

$$z_i(t) = r_{B,i}(v_i, t) \cdot F_B + (1 - r_{B,i}(v_i, t)) \cdot r_i(t) \cdot F_i , \quad (14)$$

diversa dall'Eq. 3 delle popolazioni senza attività burst, come quelle corticali.

Complessivamente il TCN è modellato secondo questo schema a blocchi (Figura 3):

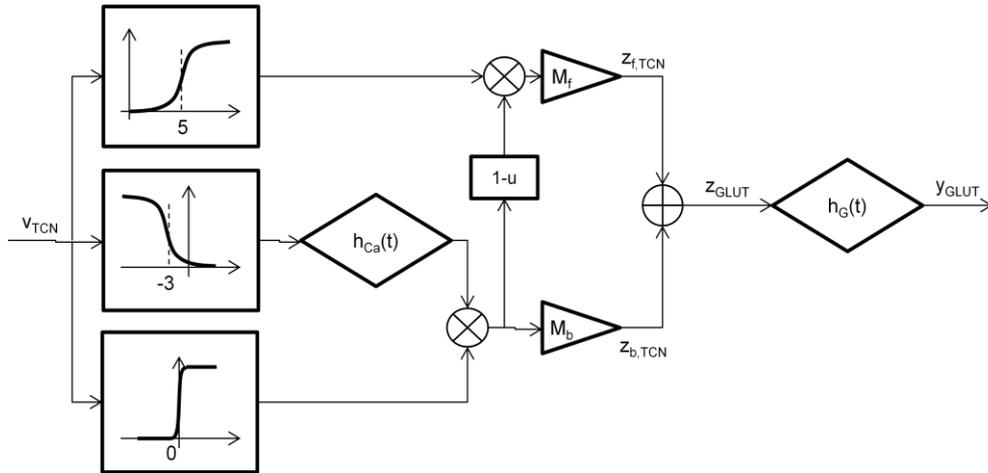


Figura 3. Schema a blocchi della popolazione del TCN.

Nei paragrafi precedenti, si è detto che le popolazioni che ricevono sinapsi inibitorie dal TRN, mediate dal neurotrasmettitore GABA, presentano due tipi di recettori: $GABA_A$ e $GABA_B$, con dinamiche di attivazione differenti. In questo modello è la popolazione del TCN a ricevere tali tipi di input.

I recettori $GABA_B$ si attivano soltanto per quantitativi elevati di GABA, quindi per frequenze di scarica sopra una soglia $z_{0,GABA_B}$ della popolazione pre-sinaptica. Il valore di tale soglia è 200 Hz, per cui tali recettori sono legati più che altro ad attività burst.

La frequenza di scarica, che determina l'attivazione di tali tipi di recettori, è il prodotto tra la funzione sigmoide della frequenza di scarica dei potenziali d'azione del TRN, che determina la frazione di popolazione che attiva recettori $GABA_B$, e la frequenza media con cui la popolazione reticolare sta sparando:

$$z_{GABA_B}(t) = z_R(t) \cdot \frac{1}{1 + e^{-\frac{(z_R(t) - z_{0,GABA_B})}{\sigma_{GABA_B}}}}. \quad (15)$$

Tale equazione garantisce che i recettori $GABA_B$ si attivino soltanto quando la frequenza di scarica del TRN è elevata; infatti, quando Z_R è al di sotto di una certa soglia, la sigmoide ha valore prossimo allo zero e z_{GABA_B} ha valori molto bassi; se, invece, Z_R è elevato, per esempio durante l'attività burst, la sigmoide ha valore intorno a 1 e la frequenza degli spikes associata all'attivazione dei recettori $GABA_B$ è proprio Z_R .

I recettori $GABA_A$ e $GABA_B$ hanno dinamiche diverse e quindi delle costanti di tempo e dei guadagni differenti. Complessivamente, il potenziale post-sinaptico, determinato dal TRN, è espresso come combinazione dei due contributi sinaptici:

$$y_R(t) = z_R(t) \otimes h_{GABA_A}(t) + z_{GABA_B}(t) \otimes h_{GABA_B}(t). \quad (16)$$

Per il TRN, allora, è possibile definire il seguente schema a blocchi (figura 4) :

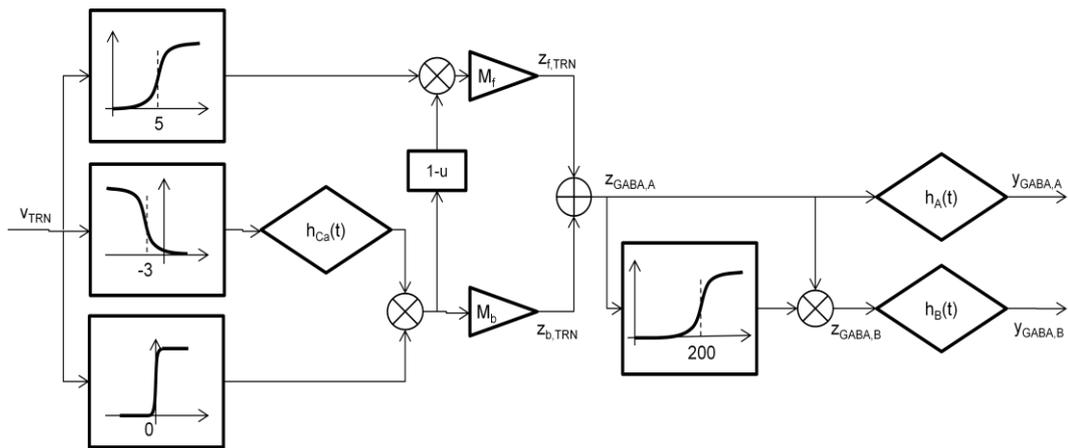


Figura 4. Schema a blocchi della popolazione del TRN.

Le sedici equazioni, fin'ora definite, sono in grado di descrivere le dinamiche interne delle popolazioni e i contributi che provengono dall'esterno. È necessario a questo punto descrivere come le singole popolazioni sono tra di loro connesse.

A modellare matematicamente i legami tra le varie popolazioni e gli input esterni, è stata introdotta l'Eq. 1. Le connessioni sono descritte attraverso dei coefficienti, C_{ij} , che determinano quanto forti, in media, siano le sinapsi tra una popolazione ed un'altra. Tali connessioni riguardano le popolazioni interne ad ogni area corticale, le connessioni tra TCN e TRN, tra TCN e corteccia e tra corteccia e TRN.

A livello corticale, seguendo le indicazioni del lavoro di Ursino e altri [19], le cellule piramidali inviano sinapsi eccitatorie a tutte le altre popolazioni e ricevono sinapsi eccitatorie o inibitorie da ognuna di esse. Gli interneuroni inibitori veloci si auto-inibiscono e sono inibiti dagli interneuroni GABA lenti (slow).

La figura 5 mostra dettagliatamente, con uno schema a blocchi, le connessioni intracorticali della regione modellata:

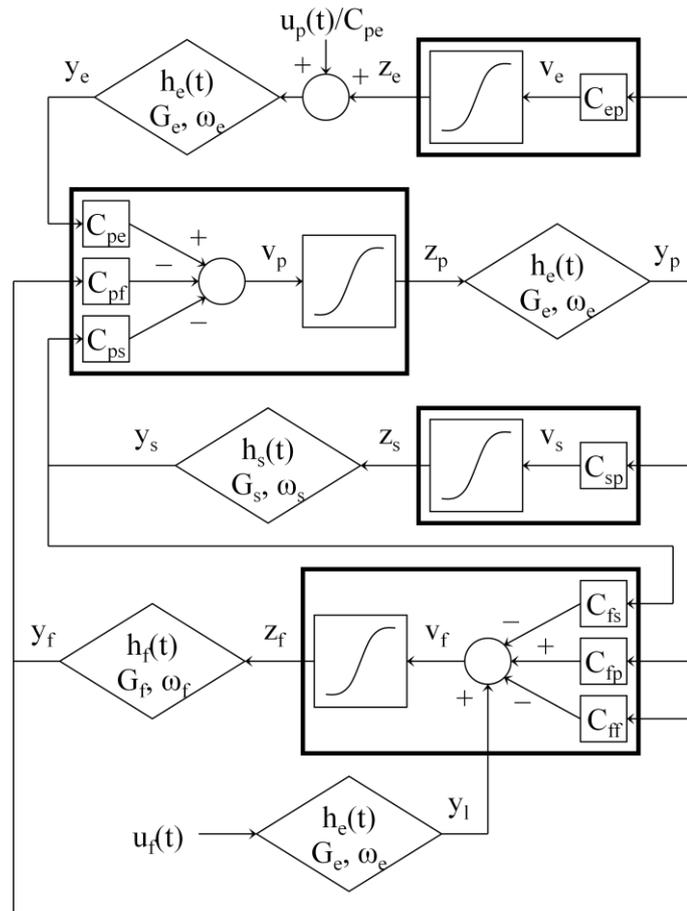


Figura 5. Schema a blocchi della regione corticale.

A tutto ciò, nel presente lavoro è stata aggiunta una auto-eccitazione dei piramidali. Tale connessione vuole simulare l'input che giunge alle cellule piramidali, di una data area corticale, da parte regioni corticali più distanti o limitrofe. L'aver introdotto tale loop presuppone che cellule piramidali, di aree corticali differenti, abbiano attività stazionarie identicamente distribuite oppure che sincronizzino la propria attività, quando questa non è stazionaria (come nel caso degli spindles). Per questa ragione non risultano differenze sostanziali tra un input proveniente da una cellula piramidale della stessa area corticale ed un input proveniente da una cellula piramidale di una regione corticale differente.

Tutto questo ha due scopi: da una parte tener conto delle connessioni eccitatorie tra aree corticali, dall'altra garantire al modello di generare le onde lente del sonno (SWS). Esiste una teoria [6], [7], per quest'ultima considerazione, secondo cui nelle SWS lo stato DOWN è provocato, non tanto dall'azione inibitoria di neuroni GABAergini, ma da una disfacilitazione delle connessioni tra cellule piramidali.

Per disfacilitazione si intende un fenomeno, opposto alla facilitazione, che consiste nella riduzione transitoria dell'efficacia di una sinapsi, cioè un indebolimento della forza di interazione.

Ciò conferma il fatto che le SWS siano di origine propriamente corticale piuttosto che talamo-corticale, tanto che studi su gatti, in seguito a intervento di talamectomia, hanno rivelato una persistenza di tali onde [22].

La disfacilitazione è stata modellata attraverso un depotenziamento delle sinapsi, che coinvolgono in loop la stessa popolazione piramidale. L'equazione che è stata impostata per l'aggiornamento di C_{pp} è la seguente:

$$\tau_{C_{PP}} \frac{\partial C_{PP}}{\partial t} = -C_{PP} + C_{PP,max} \cdot (1 - r_P(t)). \quad (17)$$

Quando, allora, le cellule piramidali sono silenti e $r_P(t)=0$, C_{pp} tende al valore massimo $C_{pp,max}$, mentre, quando $r_P(t)$ cresce, C_{pp} diminuisce, tendendo a zero quando l'intera popolazione sta sparando ($r_P(t)=1$).

A queste connessioni si aggiungono i legami reciproci tra TCN e TRN. Il TCN riceve, inoltre, input eccitatori dalla corteccia, per mezzo delle cellule piramidali, e invia segnali eccitatori sia alla corteccia che agli interneuroni $GABA_{A,fast}$.

Come descritto da Ursino [19], input alla corteccia, non solo attraverso le cellule piramidali, ma anche per mezzo di interneuroni $GABA_{A,fast}$, sono utili per la determinazione dei ritmi EEG della veglia con spettri di potenza multimodali, e quindi per la trasmissione di ritmi da una regione celebrale ad un'altra. Non sembrano invece determinare variazioni sostanziali, nel comportamento di tali modelli, input sugli interneuroni eccitatori e su quelli inibitori $GABA_{A,slow}$.

Infine, il TRN riceve input eccitatori dai piramidali ma non esercita alcuna azione inibitoria sulla corteccia, rispettando quelle che sono le informazioni ricavabili dalla letteratura neurofisiologica. A questi, si aggiunge un'autoinibizione delle cellule reticolari che modella le connessioni tra zone reticolari differenti.

Siccome tutte le connessioni intra-corticali, tra TRN e TCN e tra diversi TRN, sono mediate da sinapsi con dinamiche molto più lente rispetto al ritardo di connessione, quest'ultimo si trascura (nell'Eq. 1, per questi casi, $D_{ij}=0$). Invece, tutte le connessioni tra corteccia e TRN, corteccia e TCN e tra i neuroni piramidali sono

modellate considerando un ritardo finito, che mette in conto il tempo necessario affinché il segnale raggiunga regioni più lontane.

Ogni popolazione, oltre che ricevere l'attività della popolazione a cui è collegata sinapticamente in ingresso, può ricevere input da aree del cervello, non incluse nel modello, o dagli organi di senso. Tali input sono definiti estrinseci e possono essere di due tipi: modulatorio o sensoriale.

L'input modulatorio è usato per descrivere il controllo da parte di sistemi, come quello colinergico, in grado di determinare lo stato di funzionamento delle regioni cerebrali e garantire la transizione da stato di veglia a sonno. Tali input sono associati al TCN, al TRN e alle cellule piramidali, e sono indicati con una notazione del tipo $I_{M,i}$.

I neuroni piramidali ricevono anche l'attività di background da altre zone corticali, e complessivamente, il loro input viene modellato come rumore bianco, di tipo Gaussiano, caratterizzato da una media e da una deviazione standard (rispettivamente $\mu_{M,P}$ e $\sigma_{M,P}$).

Gli input sensoriali, invece, possono avere differenti forme in base al tipo di input che si vuole simulare. L'input sensoriale agisce soltanto sulla popolazione del TCN e rappresenta ciò che proviene da un qualsiasi organo di senso.

Per una lettura globale del modello, si rimanda alla figura 6 in cui vengono mostrate le connessioni tra TCN, TRN e corteccia (con + viene indicata una sinapsi eccitatoria mentre con - una sinapsi inibitoria) e i vari input alle diverse regioni.

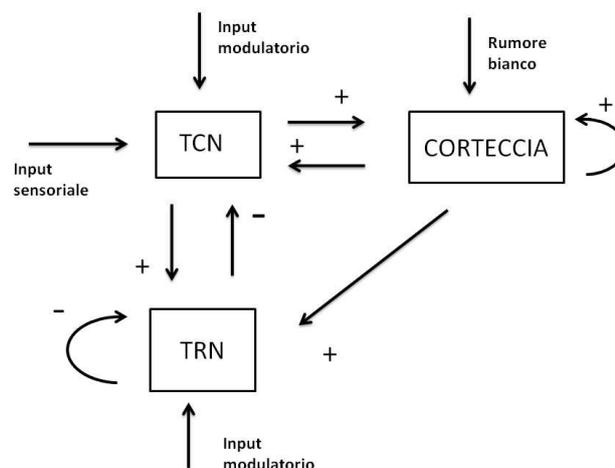


Figura 6. Connessioni tra le strutture che interagiscono nel modello e input estrinseci dati in ingresso.

Oltre agli input descritti, il modello è in grado di simulare impulsi sulla corteccia dati attraverso la TMS. Questo è utile alle analisi che, nel terzo capitolo di questo testo, saranno largamente trattate.

Tutti gli input estrinseci, sono, infine, filtrati con sinapsi eccitatorie del tutto simili a quelle usate per filtrare le connessioni a corto raggio tra le popolazioni.

Nella tabella 1 vengono elencati i valori scelti per i parametri presenti nel modello. La maggior parte di tali valori sono stati impostati sfruttando precedenti lavori sui NMM, in cui la scelta è stata determinata da studi fisiologici mirati e validati. In particolare, i parametri che sono stati lasciati immutati rispetto a tali modelli, sono stati: $v_{0,i}$, σ_i , F_i , G_i e ω_i per tutte le popolazioni. Per i valori di connessione intracorticali, C_{ij} , è stato fatto uso di quelli utilizzati nel lavoro di Ursino [19], in cui si simula una regione corticale che produce in uscita un segnale EEG con uno spettro tipico caratterizzato da attività nella banda beta.

Attraverso invece, un'analisi di sensitività, che sarà presentata nel prossimo capitolo, sono stati scelti i valori di C_{pp} , non presente nel modello sopracitato, così come i valori di connessione tra corteccia e i due nuclei talamici e tra TCN e TRN. La letteratura non sembra, infatti, dare un aiuto alla scelta di tali valori, per cui questi sono stati impostati dopo un procedimento di tipo "trial and error" che ha avuto lo scopo di garantire in uscita i segnali attesi.

Anche gli ingressi modulatori, di cui si parlerà successivamente, sono stati scelti con una metodologia simile, partendo però dalle conoscenze scientifiche, esposte in precedenza, sui meccanismi di transizione da veglia a sonno.

Tabella 1. Valori dei parametri usati nel modello.

Parametro	Valore	Unità di misura
$v_{0,T}, v_{0,R}$	5	mV
$v_{0,P}, v_{0,E}, v_{0,S}, v_{0,F}$	6	mV
$v_{0,n}$	-3	mV
$v_{0,m}$	0	mV
$z_{0,GABA_b}$	200	Hz
σ_T, σ_R	-1	mV
$\sigma_P, \sigma_E, \sigma_S, \sigma_F$	-1.79	mV

σ_n	1	mV
σ_m	-0.01	mV
σ_{GABAB}	-30	Hz
F_T, F_R	50	Hz
F_P, F_E, F_S, F_F	50	Hz
F_B	800	Hz
G_T	4.42	mV
G_{GABAA}	1.12	mV
G_{GABAB}	0.01	mV
G_P, G_E	5.17	mV
G_S	4.45	mV
G_F	57.1	mV
ω_T	83	rad/s
ω_{GABAA}	65	rad/s
ω_{GABAB}	11	rad/s
ω_P, ω_E	75	rad/s
ω_S	30	rad/s
ω_F	75	rad/s
ω_{n1}	10	rad/s
ω_{n2}	20	rad/s
C_{TR}	-4.3	/
C_{TP}	1	/
C_{RT}	3	/
C_{RR}	-0.3	/
C_{RP}	1.5	/
C_{PT}	3	/
$C_{PP,max}$	15	/
τ_{CPP}	30	s
C_{PE}	2	/
C_{PS}	-0.5	/
C_{PF}	-3.5	/
C_{EP}	1	/
C_{SP}	0.5	/
C_{FT}	0.3	/
C_{FP}	3	/
C_{FS}	-0.5	/
C_{FF}	-1.3	/
$D_{TR}, D_{RT}, D_{RR}, D_{PE}, D_{PS}, D_{PF}, D_{EP}, D_{SP}, D_{FP}, D_{FS}, D_{FF}$	0	ms
$D_{TP}, D_{RP}, D_{PT}, D_{PP}, D_{FT}$	1	ms

CAPITOLO 3

3.1 FUNZIONAMENTO DEL MODELLO

Il NMM è stato sviluppato allo scopo di produrre in uscita segnali EEG tipici della veglia e del sonno. L'introduzione del TCN e del TRN, è stata dettata dal fatto che è l'interazione, tra corteccia e queste due strutture, a sostenere, come più volte sottolineato, le onde nei diversi stati del sonno e il raggiungimento a livello corticale degli stimoli sensoriali durante la veglia.

Affinché il modello potesse garantire ciò che era stato ipotizzato, il lavoro di tesi è stato incentrato, nel periodo iniziale, su un'analisi di sensitività dei parametri che lo compongono.

Solo successivamente, quando le onde prodotte dal modello sono risultate soddisfacenti, è stato fatto un attento studio sulle risposte del sistema a degli input esterni, nelle diverse fasi della veglia e del sonno: tutto questo, per validare ulteriormente il modello e verificare che il comportamento rispecchiasse ciò che realmente avviene nei processi cerebrali.

3.1.1 Analisi di sensitività

Il capitolo 1 è terminato con l'elenco dei valori dei parametri utilizzati per le simulazioni del modello. Per la maggior parte di questi, sono state sfruttate le indicazioni presenti in articoli di NMM precedentemente sviluppati, per cui non sono stati considerati nell'analisi di sensitività effettuata.

I parametri oggetto dell'analisi sono, invece, qui elencati: C_{TR} , C_{TP} , C_{RT} , C_{RR} , C_{RP} , C_{PT} , C_{PP} , C_{FT} . A tali parametri di connessione si aggiungono i ritardi puri di connessione D_{TP} , D_{RP} , D_{PT} , D_{PP} , D_{FT} e i valori degli input modulatori ai diversi distretti, essenziali per il passaggio da uno stato di funzionamento ad un altro, $I_{M,T}$, $I_{M,R}$, $\mu_{M,P}$, $\sigma_{M,P}$.

L'analisi è stata eseguita, inizialmente, verificando per quali parametri il modello è maggiormente sensibile e presenta comportamenti instabili, come cicli limite, che

sono associabili a fenomeni parossistici piuttosto che fisiologici. Da tale indagine, è risultato che, valori più alti di quelli impostati per C_{TR} , C_{TC} e C_{RP} , conducono il sistema ad oscillazioni auto-sostenute da escludere ai fini del lavoro.

A questo punto, i parametri sono stati fatti variare affinché potessero assicurare, in uscita, segnali simili a quelli fisiologici, e che rispettassero, a grandi linee, le informazioni che i neurofisiologi hanno fornito attraverso le loro pubblicazioni.

Nella determinazione dei valori di C_{RP} e di C_{TP} , per esempio, è stata sfruttata l'indicazione data da una pubblicazione di M. Steriade [8]: i recettori glutammatergici nelle sinapsi cortico-talamiche, risultano preponderanti sui dendriti reticolari piuttosto che sui dendriti talamo-corticali. Questo è stato tradotto come una maggiore forza nella connessione da neuroni piramidali a neuroni reticolari rispetto alla connessione da piramidali a neuroni talamo-corticali.

Come detto precedentemente, un parametro importante per la generazione delle SWS, nelle fasi del sonno, è C_{pp} . Affinché il sistema potesse generare segnali associabili a tale stadio, è stato necessario impostare valori molto alti rispetto alle altre connessioni presenti, il che sottolinea come le varie regioni corticali sono tra di loro fortemente legate, e come sia il collegamento tra le cortecce un fondamentale elemento per la generazione delle SWS.

Tra le altre cose, si è visto come C_{RP} influenzi la depolarizzazione del TRN, per cui è determinante nella generazione degli spindles. Questi ultimi risultano più ampi al crescere di C_{RP} , a causa di una maggiore iperpolarizzazione del TRN, o assenti per valori troppo bassi, a causa di un TRN troppo depolarizzato; C_{TP} è legato alla depolarizzazione del TCN e quindi alle capacità del modello di generare onde della veglia o del sonno; C_{PT} influenza la depolarizzazione delle cellule piramidali. Per valori bassi, la corteccia non è abbastanza depolarizzata per eccitare il TCN e favorire alcune delle onde del sonno, mentre per valori troppo alti le cellule piramidali saturano; il C_{FT} , infine, ha un effetto opposto al C_{PT} , poiché una maggiore eccitazione degli interneuroni inibitori fast è tradotta in una maggiore inibizione delle cellule piramidali.

3.1.2 Segnali generati dal modello in condizioni statiche

I differenti stati di veglia e di sonno sono ottenuti variando solamente gli input modulatori del TCN e del TRN e l'attività di background in ingresso alle cellule piramidali. Tutti gli altri parametri, descritti nella tabella 1, rimangono invece fissi: questo fa del modello descritto un modello parsimonioso.

Come descritto nel paragrafo 1.2.5, i neuroni eccitatori sono più depolarizzati durante la veglia; durante il sonno diminuiscono gli input dal tronco encefalico, il che si traduce in una depolarizzazione delle cellule reticolari e un'iperpolarizzazione del TCN. Si può immaginare poi che, durante il sonno, la maggior parte delle funzioni cognitive in corteccia vengano meno per cui l'attività di background è meno rilevante.

Per queste ragioni, per favorire il passaggio da veglia a sonno, gli input al TCN e alle cellule piramidali vengono progressivamente ridotti, mentre l'input al TRN incrementato come descritto in Tabella 2.

I segnali prodotti dal modello, imponendo valori costanti degli input modulatori, sono elencati e raffigurati qui di seguito:

- attività beta (veglia): è un'attività garantita dalle dinamiche interne alla regione corticale. In figura 7 è raffigurato sulla destra il segnale generato dai potenziali post-sinaptici delle cellule piramidali, e associabile ad un tracciato EEG; sulla sinistra è rappresentata, invece, la frequenza degli spikes.

Come si vede dallo spettro di potenza (PSD), in figura 8, il segnale ha uno spettro molto ampio con un range di frequenza che supera i 30 Hz. Si nota, oltre che un picco intorno ai 15 Hz, tipico delle onde beta, anche un picco intorno ai 9 Hz. Questo è dovuto al fatto che, per le sue dinamiche interne, il TCN lavora intorno a tale frequenza e il collegamento tra TCN e corteccia gioca un ruolo fondamentale nella determinazione di uno spettro bimodale. Gli spettri raffigurati in questo testo sono stati ottenuti su segnali della durata di 200 s.

Per quel che riguarda l'attività del TCN e del TRN, questi si trovano in una condizione di depolarizzazione. Il TCN lavora nella regione più lineare della sigmoide mentre il TRN ha un'attività più debole con un tonic firing

sostanzialmente più basso. In nessuna delle due regioni si osservano attività burst, che sono tipiche degli stadi del sonno profondo.

Il comportamento di TCN e TRN è riassunto dalla figura 9: nella prima fila sono rappresentati, rispettivamente, l'attività burst, l'attività tonica e il potenziale di membrana medio del TCN; in seconda fila, con lo stesso ordine, si osserva l'andamento delle attività nel TRN;

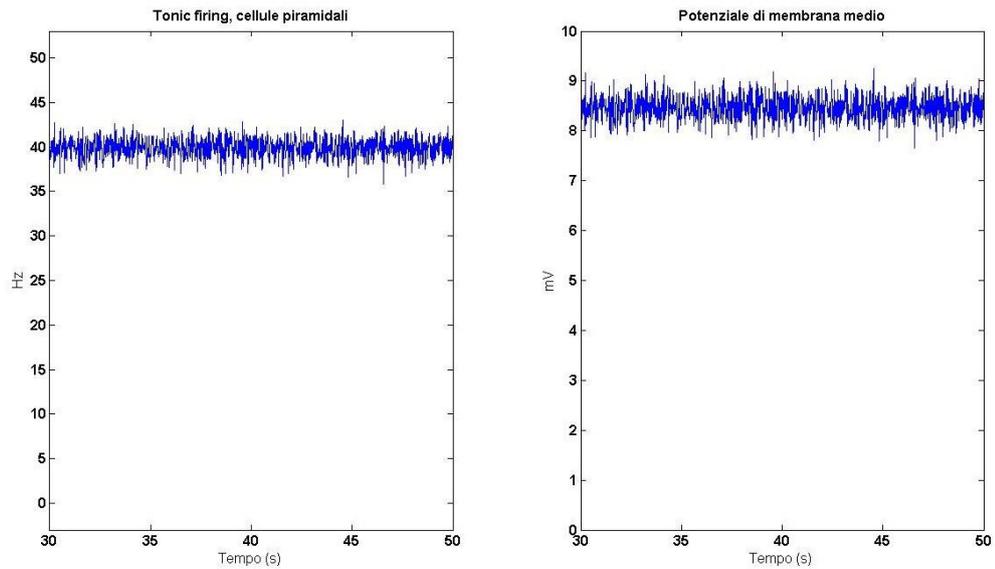


Figura 7. Attività nelle cellule piramidali durante la veglia (onde beta). Nel pannello di sinistra si osserva la frequenza di scarica dei potenziali d'azione (Hz) mentre, sulla destra, è mostrato il potenziale di membrana medio (mV).

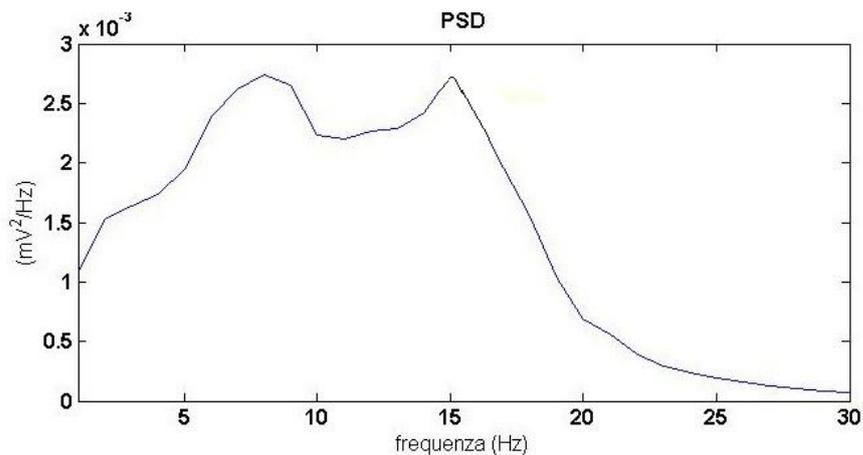


Figura 8. PSD (mV^2/Hz) del potenziale di membrana delle cellule piramidali (onde beta).

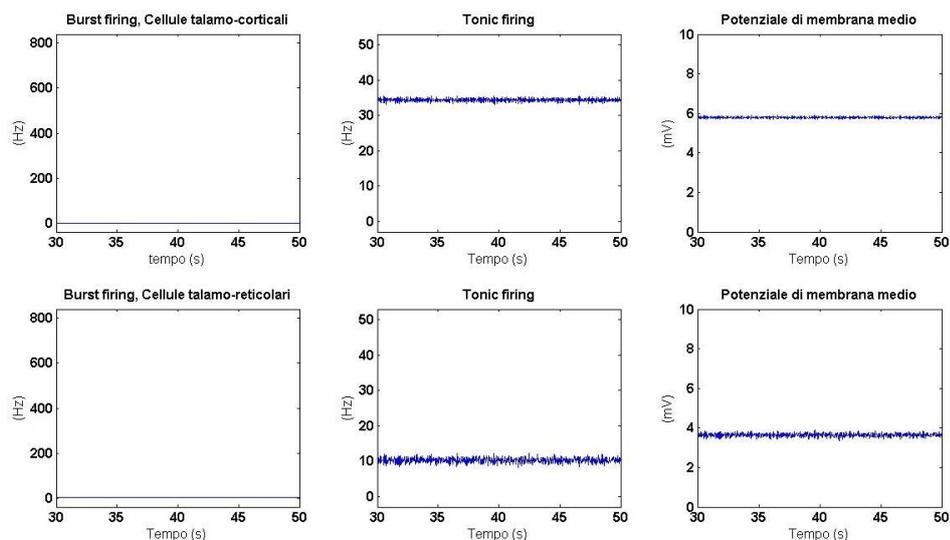


Figura 9. Attività nelle cellule del TRN e del TCN durante la veglia (onde beta). Nella prima fila di riquadri si osservano rispettivamente la frequenza di scarica dell'attività burst, la frequenza di scarica dell'attività tonica e il potenziale di membrana medio del TCN. Con lo stesso ordine sono mostrate, in seconda fila, le attività del TRN.

- attività theta (fase 1 del sonno): come previsto, durante la prima fase del sonno, l'attività corticale mostra delle frequenze più basse rispetto a quelle della veglia. Dalla figura 11, la densità di potenza spettrale mostra un picco intorno ai 6 Hz, quindi nel range theta, e un'attività molto ampia che coinvolge anche il range alpha, di natura anch'essa talamica, associata ad uno stato di rilassamento.

Nel tempo (Figure 10 e 12), i neuroni piramidali si mostrano meno depolarizzati, quindi hanno delle frequenze di scarica minori, e il TRN produce una leggera attività burst. Anche se raramente, durante la fase theta il modello può generare degli spindles, e questo conferma il fatto che le attività non sono indipendenti tra di loro ma ci possono essere sovrapposizioni di diverse attività contemporaneamente.

Un limite del modello può essere individuato nel passaggio dalla veglia alle prime fasi del sonno: infatti, variando anche di poco gli input modulatori, non si riesce a determinare, in maniera indipendente, prima un'attività alpha e successivamente theta, ma come mostrato dal PSD, le due tipologie di onde coesistono contemporaneamente;

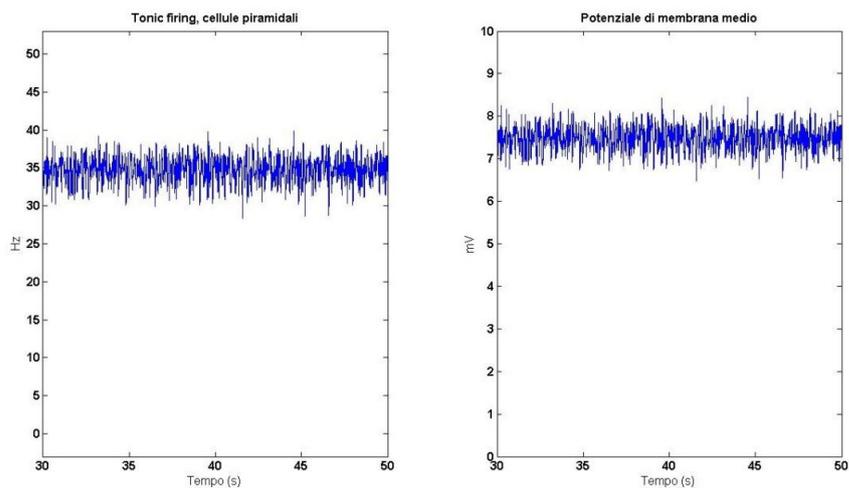


Figura 10. Attività delle cellule piramidali durante la fase 1 del sonno (onde theta).

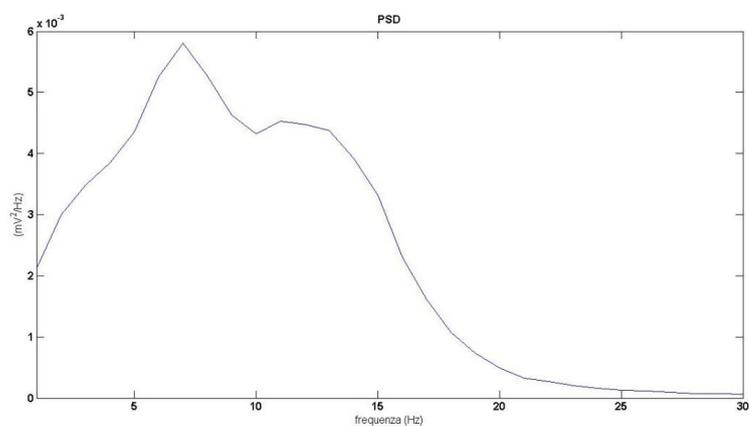


Figura 11. PSD del potenziale di membrana delle cellule piramidali (onde theta).

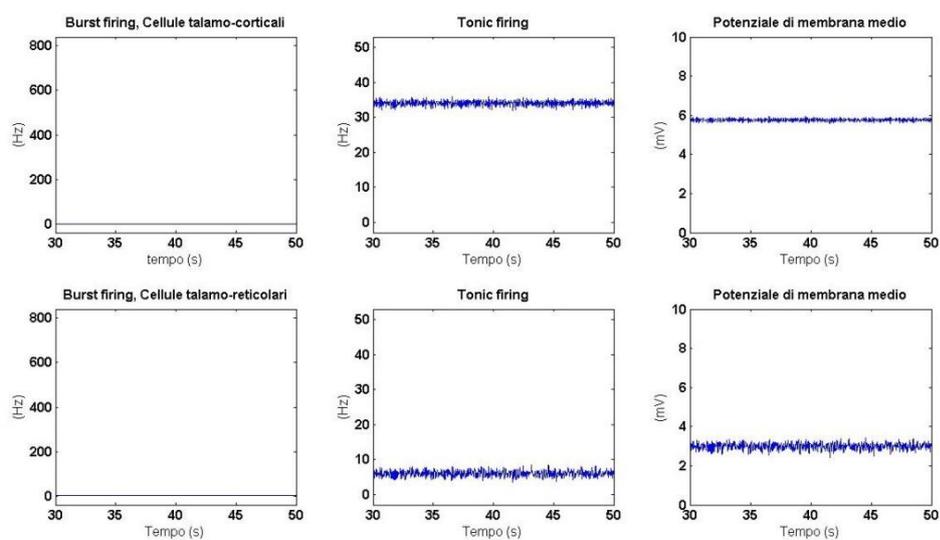


Figura 12. Attività del TRN e del TCN durante la fase 1 del sonno (onde theta).

- spindles (fase 2 del sonno): il modello produce delle onde che sembrano simulare bene quelle fisiologiche. Diverse caratteristiche della loro natura e della modalità di generazione, riscontrabili nelle pubblicazioni a riguardo, sono confermate [2], [6], [8], [23]:
 1. il TRN si dimostra il peace-maker nella generazione degli spindles. Esso parte da una condizione di leggera depolarizzazione; a causa del rumore, che riceve attraverso la corteccia, può andare in iperpolarizzazione per qualche istante, attivando così i canali del calcio; a questo punto, non appena ritorna a depolarizzarsi, genera i burst e causa una iperpolarizzazione sul TCN, che inizia a generare anch'esso dei burst. TCN e TRN creano oscillazioni auto-sostenute che prendono le sembianze di uno spindle;
 2. il TCN genera dei burst soltanto nella parte centrale dello spindle;
 3. gli spindles oscillano a 10 Hz e durano circa 1 secondo. Tra la generazione di uno spindle e quello successivo, passa un tempo di circa 4-5 secondi, in media;
 4. gli spindles terminano a causa dell'effetto depolarizzante della corteccia che riporta TRN e TCN sopra la soglia, disattivando i canali del calcio.

Nelle figure 13 e 15 sono rappresentate le attività, rispettivamente, delle cellule piramidali, talamo-corticali e talamo-reticolari. La linea tratteggiata, nelle figure del potenziale delle cellule talamiche, rappresenta la soglia d'attivazione dei canali del calcio.

Nella figura 14, è presentato il PSD del potenziale di membrana in ingresso ai piramidali: si osserva come tale spettro presenta un picco proprio a 10 Hz, che conferma a quale frequenza oscillino gli spindles; infatti, essendo gli spindles caratterizzati da onde di larga ampiezza, la densità di potenza a loro associata è più rilevante, rispetto all'attività di background. Intorno ai 20 Hz, il segnale presenta un altro picco, ma questo va inteso come il contributo della seconda armonica di tali onde;

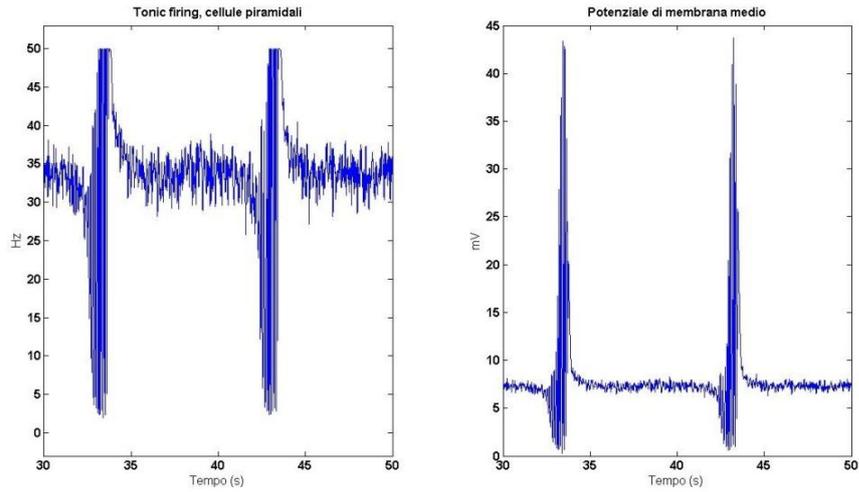


Figura 13. Attività delle cellule piramidali durante la fase 2 del sonno (spindles).

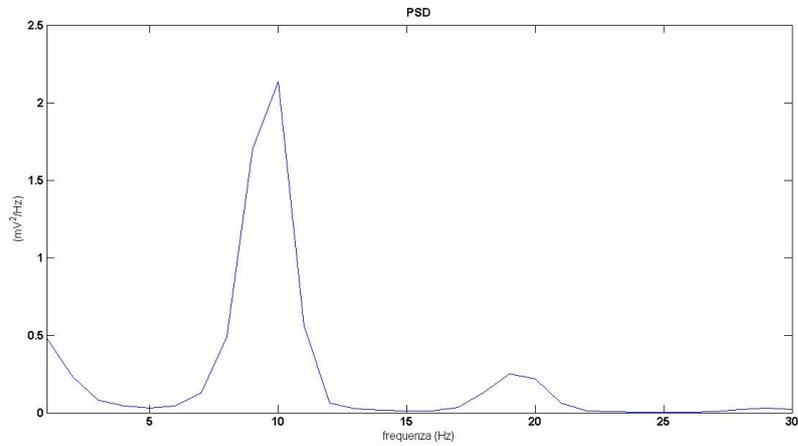


Figura 14. PSD del potenziale di membrana delle cellule piramidali (spindles).

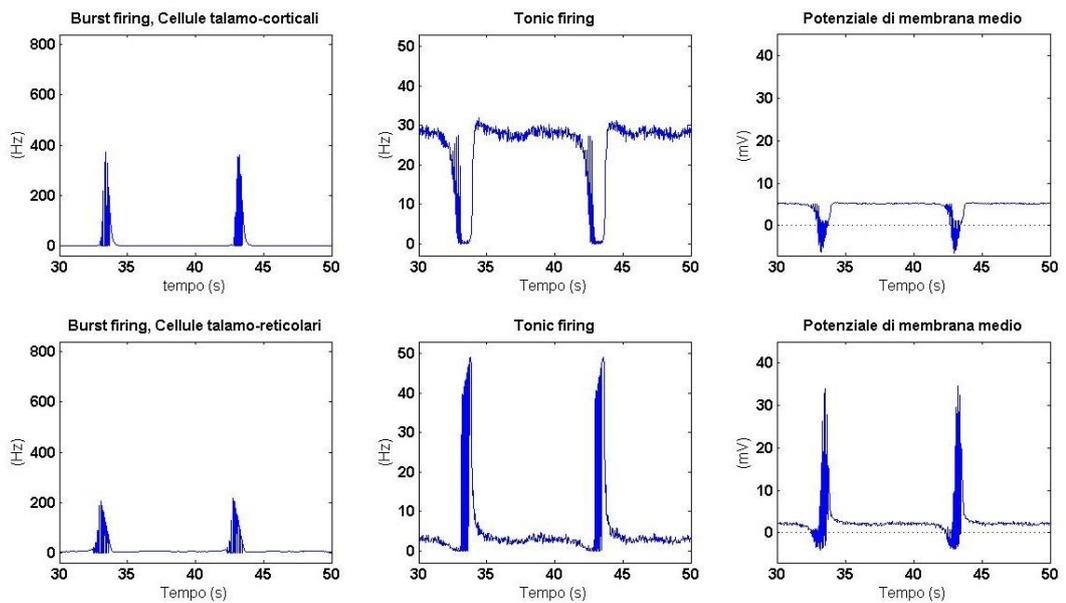


Figura 15. Attività del TRN e del TCN durante la fase 2 del sonno (spindles).

- onde delta (fase 3 del sonno): il modello genera delle onde che oscillano alla frequenza di circa 1 Hz. Sebbene durante il sonno il TRN riceva input modulatori che tenderebbero a depolarizzarlo, complessivamente è iperpolarizzato: dal TCN e dalla corteccia, infatti, riceve un input più basso rispetto alla veglia poiché queste due strutture sono soggette a diminuire la propria attività durante il sonno. Il TRN, durante la generazione delle onde delta, rimane solitamente iperpolarizzato e non è in grado di generare dei burst rilevanti. Le onde delta nascono allora per l'interazione tra corteccia e TCN, come riportato da un lavoro di Steriade [8]. Le oscillazioni possono essere interrotte dalla generazione di uno spindle, nel caso in cui il TRN riesca a depolarizzarsi e a raggiungere il valore di potenziale necessario all'apertura dei canali del calcio.

Le figure 16,17 e 18 chiariscono le dinamiche di tale attività;

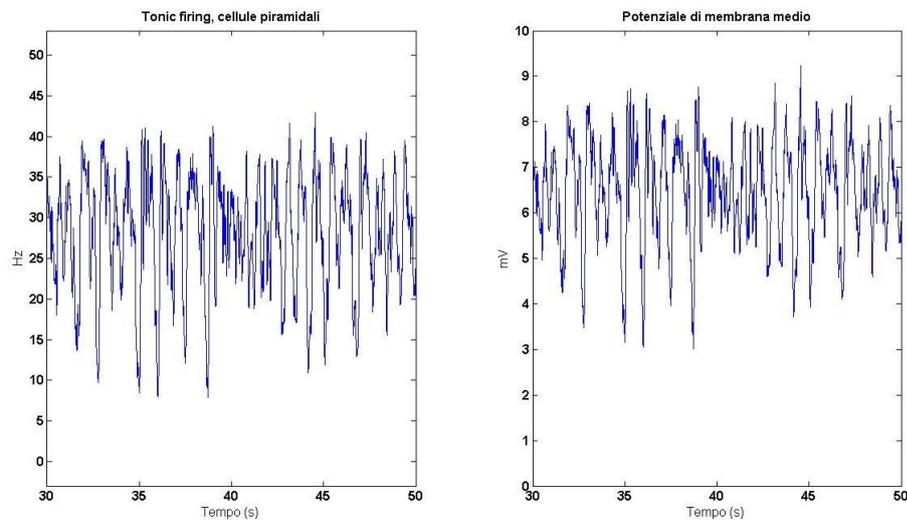


Figura 16. Attività delle cellule piramidali nella fase 3 del sonno (onde delta).

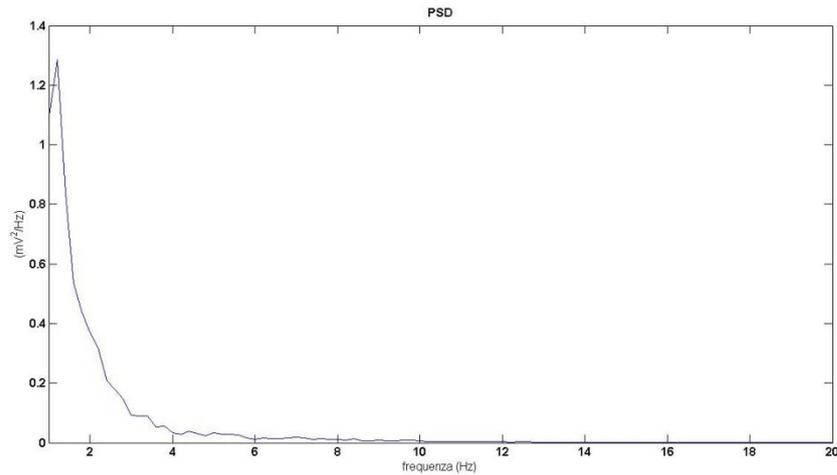


Figura 17. PSD del potenziale di membrana delle cellule piramidali (onde delta).

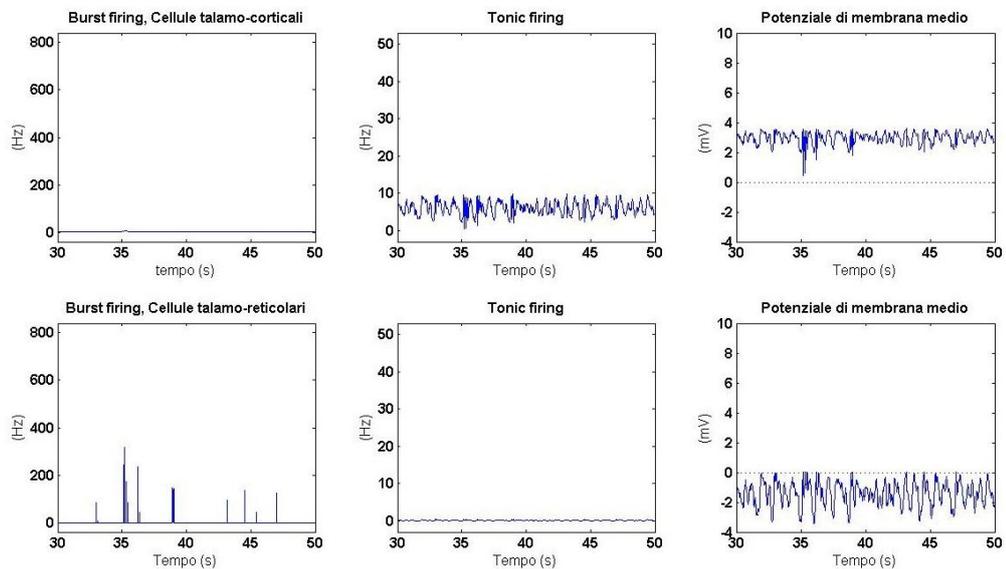


Figura 18. Attività del TRN e del TCN durante la fase 3 del sonno (onde delta).

- SWS (fase 3 del sonno, sonno profondo): il modello produce delle onde, che, per caratteristiche, possono essere associate a questa fase del sonno profondo. In verità, come già sottolineato, le informazioni riguardanti questa attività, in letteratura, sono poche e a volte contrastanti.

Come mostrato in figura 19 e 22, si distinguono due fasi differenti: una fase DOWN in cui i neuroni talamici sono globalmente silenziosi e iperpolarizzati, mentre i neuroni piramidali hanno una tendenza a sparare potenziali d'azione, a frequenza molto bassa. Tale attività è però necessaria a garantire lentamente

la depolarizzazione del TRN, a favorire la generazione di burst su di esso e, successivamente, sul TCN, con un meccanismo simile a quello degli spindles (Figura 22); a questo punto inizia una fase UP, in cui le cellule piramidali hanno un'attività tonica, ad alta frequenza, associata alla zona di saturazione superiore della sigmoide. La fine della fase Up è dovuta al depotenziamento delle connessioni che giungono dalle cellule piramidali di altre cortecce e simulate, nel modello, dall'autoeccitazione della popolazione di neuroni piramidali.

La fase UP dura circa 4 secondi, mentre la distanza temporale tra l'inizio di una fase UP e la successiva è di circa 10 secondi; pertanto, la frequenza con cui oscillano tali onde, è molto minore di 1 Hz, in accordo con la letteratura [5], [21], [23]. In figura 21, il PSD chiarisce la frequenza con cui oscillano le onde in fase UP, che è di circa 9 Hz.

È, comunque, opinabile la modalità con cui il modello genera la fase UP, per due motivi principali: da una parte, se è vero che una fase UP è un frammento di veglia, non sarebbe accettabile l'onda stereotipata (Figura 20), che il modello crea, a causa delle oscillazioni auto sostenute, in regime burst, del collegamento TRN-TCN; dall'altra, la fase UP è caratterizzata da neuroni piramidali che sparano al massimo della propria possibilità, andando in saturazione: è difficile immaginare, che durante una fase di sonno profondo, la corteccia abbia un'attività così vigorosa.

Come osservato in uno studio di Steriade [6], gatti che hanno subito un intervento di talectomia continuavano a produrre le onde lente del sonno, confermando che queste fossero di natura prettamente corticale. Per verificare questo comportamento, il modello è stato simulato ponendo a zero le connessioni che la corteccia riceve dal TCN. Come mostrato in figura 23, le SWS sono generate dal modello anche in questa particolare condizione, confermando le osservazioni sperimentali.

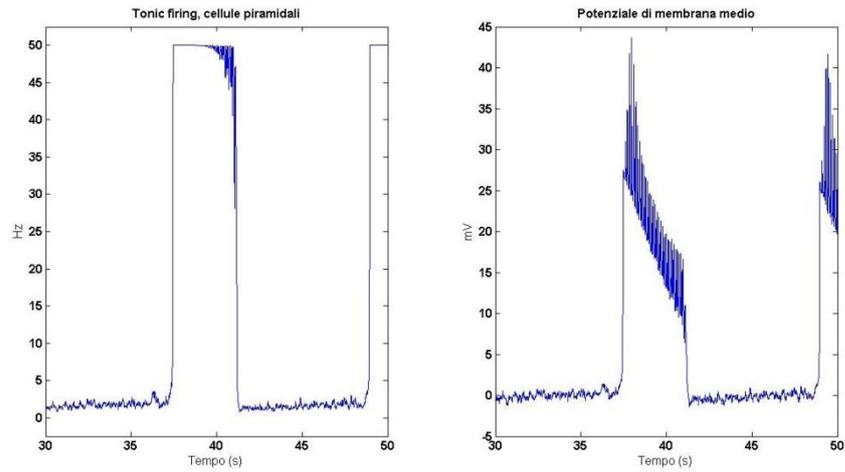


Figura 19. Attività delle cellule piramidali durante la fase 3 del sonno (SWS).

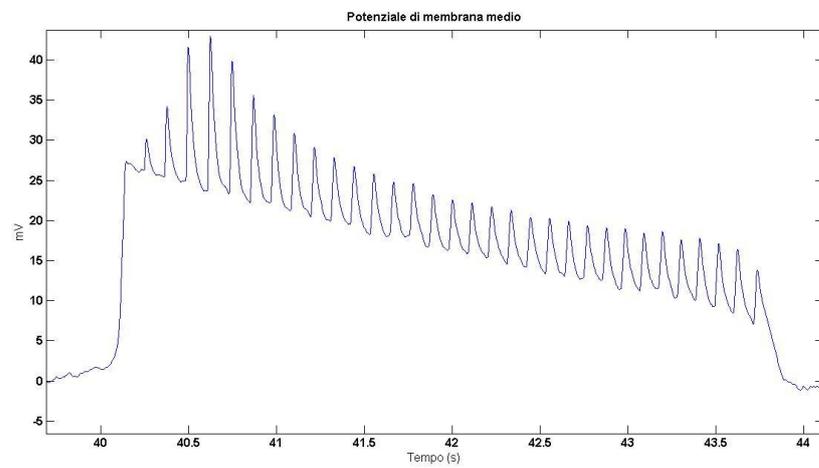


Figura 20. Ingrandimento della fase UP di un'onda lenta.

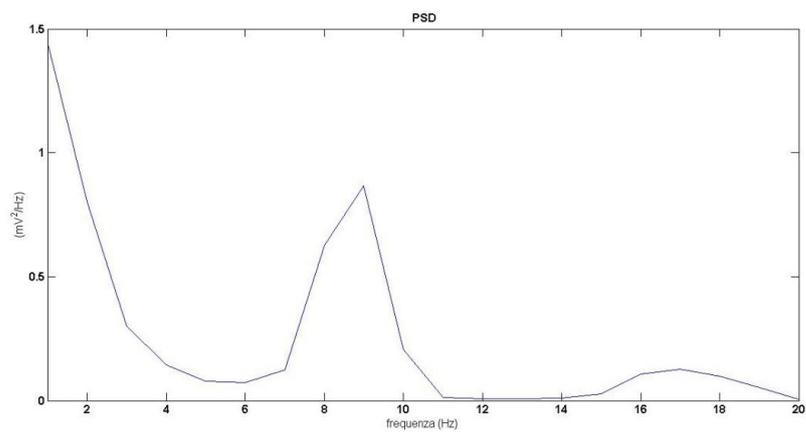


Figura 21. PSD del potenziale di membrana delle cellule piramidali (SWS).

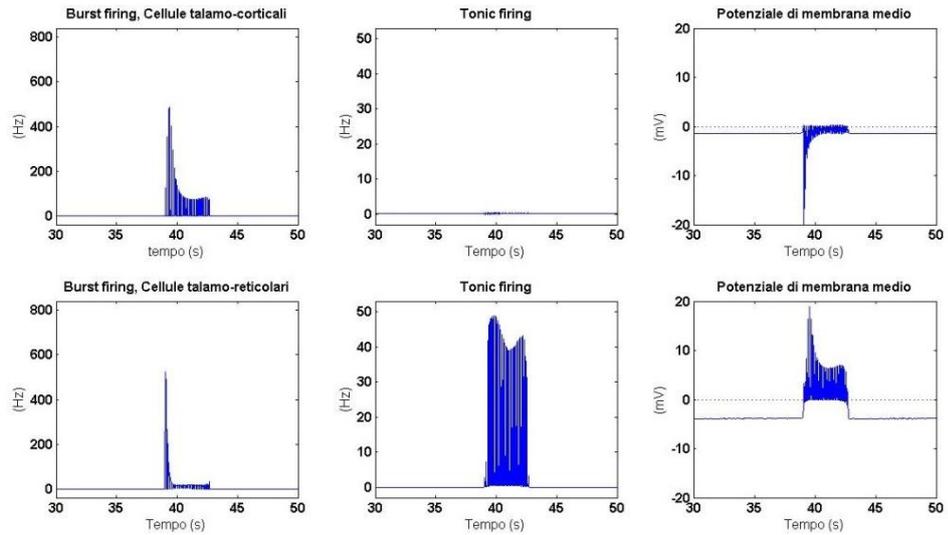


Figura 22. Attività del TRN e del TCN durante la fase 3 del sonno (SWS).

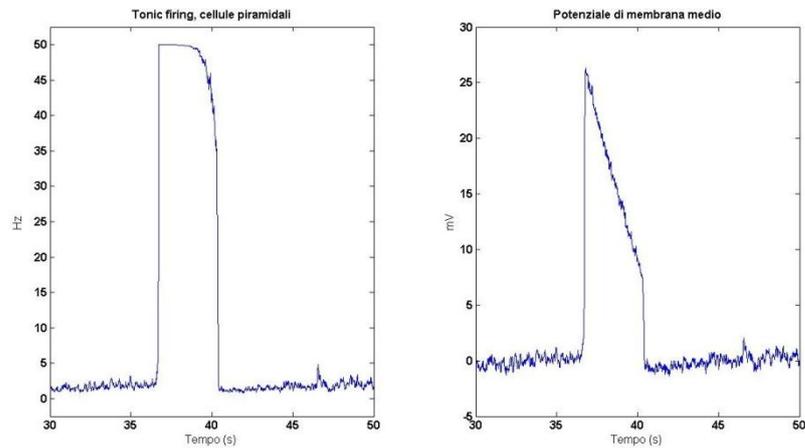


Figura 23. Generazione delle onde lente nelle cellule piramidali in assenza di collegamento dal TCN alla corteccia.

Tabella 2. Valore degli input modulatori e dei parametri del rumore bianco utilizzati nelle varie fasi del sonno e della veglia.

Parametri	Beta	Theta	Spindles	Delta	SWS
$I_{M,T}$	4.5	4.5	4	1.5	-1.5
$I_{M,R}$	-5	-5	-5	-5	-4
$\mu_{M,P}$	130	50	50	40	20
$\sigma_{M,P}$	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

Per riassumere il comportamento delle tre popolazioni nei vari stati, dai grafici di questo paragrafo, si possono fare le seguenti considerazioni: 1) il TRN, nelle fasi del sonno, sebbene riceva un input modulatorio maggiore che tende ad attivarlo, ha uno stato complessivo di iperpolarizzazione, che garantisce lo sviluppo di spindles e fasi UP delle SWS; questo è dovuto al fatto, che l'input depolarizzante, proveniente dalle popolazioni eccitatorie, diminuisce nel passaggio da veglia a sonno per cui, globalmente, il TRN è inattivo, tranne che quando genera i burst. Nelle fasi di veglia, invece, ha un'attività tonica, dovuta ad uno stato di complessiva depolarizzazione; 2) le cellule piramidali e talamo-corticali si trovano in uno stato di globale depolarizzazione in veglia, mentre durante le fasi del sonno, il TCN va incontro ad una iperpolarizzazione e le cellule piramidali tendono a ripolarizzarsi.

3.1.3 Transizione dinamica da veglia a sonno

Nel paragrafo precedente, sono state presentate le onde che il modello genera, imponendo differenti valori degli input modulatori. Nella realtà, però, il sistema talamo-corticale può passare da una attività all'altra attraverso transizioni graduali, mentre nelle analisi mostrate sinora il modello si trova già dall'inizio nelle varie condizioni di sonno e veglia. Un'analisi successiva allora, è stata quella di verificare il comportamento del modello variando in maniera graduale e dinamica i tre input modulatori, mostrati in tabella 2. Per verificare la presenza di possibili isteresi, è stato analizzato sia il caso di passaggio da veglia a sonno che viceversa.

I risultati del potenziale post-sinaptico delle cellule piramidali sono mostrati nelle figure 24 e 25: si vede come il modello riesce a produrre, in successione, tutte le attività che, nel paragrafo precedente, sono state ampiamente trattate; inoltre, non risultano dei cambiamenti rilevanti tra il passaggio da veglia a sonno e il passaggio inverso.

In ogni figura è raffigurato, nella parte superiore, l'andamento temporale, mentre, nella parte inferiore, lo spettrogramma, calcolato su finestre di 1 secondo e normalizzato su ogni finestra.

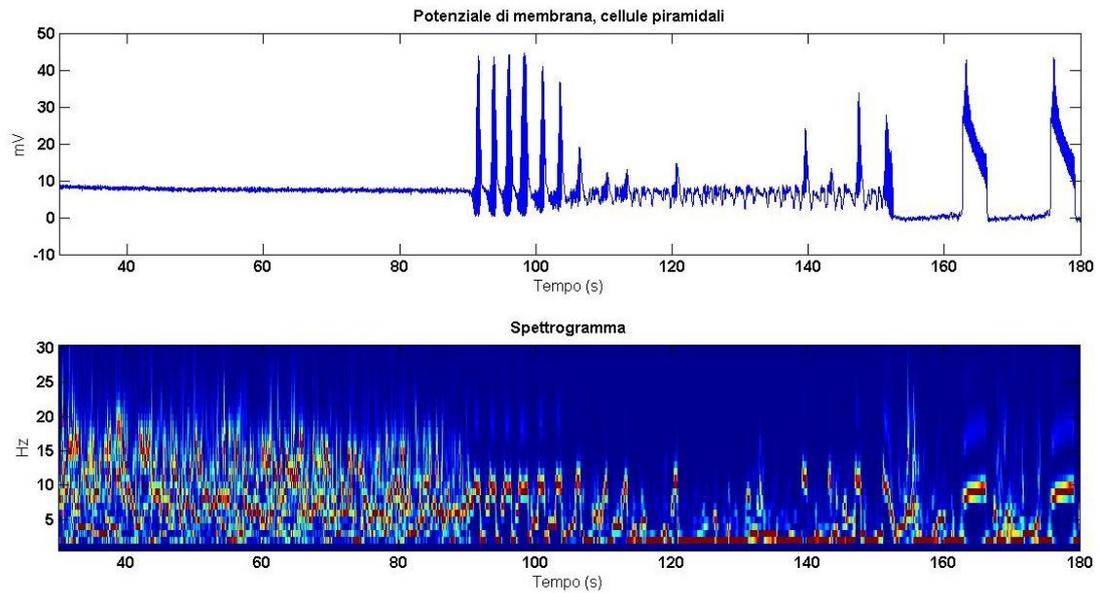


Figura 24. *Transizione dinamica da veglia a sonno. Nel pannello superiore è raffigurato l'andamento nel tempo del potenziale di membrana delle cellule piramidali; nel pannello inferiore è rappresentato lo spettrogramma del segnale.*

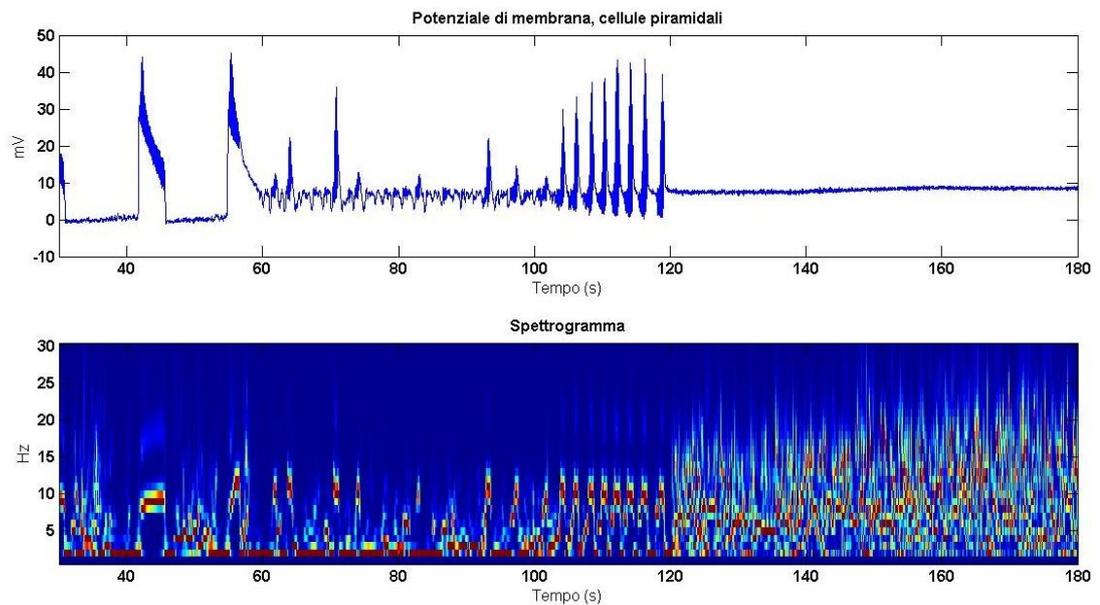


Figura 25. *Transizione dinamica da sonno a veglia.*

3.2 RISPOSTA DEL MODELLO A STIMOLI SENSORIALI

Nel capitolo 1, in riferimento alle funzioni del talamo, si è detto che tale struttura ha un compito fondamentale, che è quello di mediazione tra gli organi di senso e la

corteccia. Spesse volte si associa al talamo il termine “gate”, cioè un cancello che favorisce o impedisce il passaggio degli stimoli sensoriali. Durante il sonno, grazie a tale funzione, un soggetto è completamente isolato da ciò che lo circonda, per cui non percepisce alcun input che proviene dall’esterno, a meno che questo non sia così forte da innescare meccanismi di risveglio. Durante la veglia invece, il gate è aperto, gli stimoli raggiungono la corteccia e vengono elaborati da regioni specializzate.

Partendo da queste conoscenze, sono state fatte delle analisi dei segnali prodotti dal modello, nei vari stati di veglia e di sonno, imponendo degli stimoli sul TCN e verificando le conseguenze a livello corticale. Lo stimolo utilizzato è quello mostrato in figura 26 (nell’esempio la frequenza scelta è 10 Hz) e non è altro che una sinusoide a media non nulla positiva (stimolo eccitatorio), modulata da una campana di Gauss. Le osservazioni sono state fatte a frequenze differenti e cioè a 5, 10, 15 e 20 Hz, e sono state studiate le differenze sia del segnale nel tempo prima e dopo lo stimolo, che dello spettrogramma con e senza stimolazione.

Per dare dei risultati oggettivi e attendibili, nello studio degli spettrogrammi sono state effettuate 100 simulazioni differenti e ne è stata calcolata la media, così da verificare che i comportamenti delle singole simulazioni, osservati nel tempo, non fossero casuali ma ricorrenti.

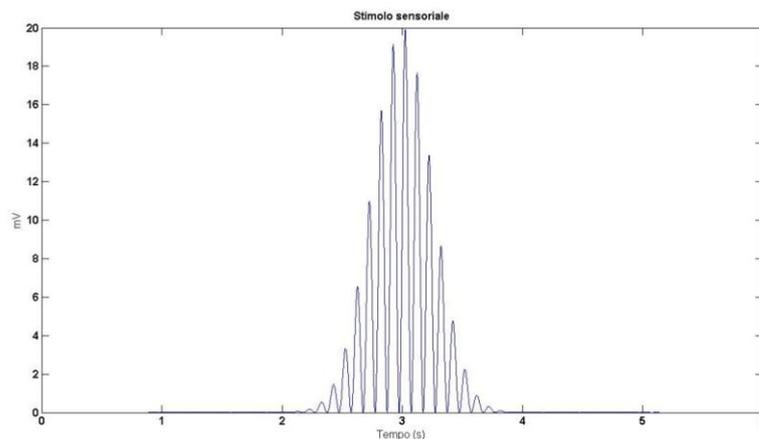


Figura 26. Forma dello stimolo sensoriale dato in ingresso al TCN (qui 10 Hz).

3.2.1 Differenze dei segnali nel tempo con e senza stimolo sensoriale.

Di seguito, vengono trattati separatamente i vari stadi di funzionamento del modello e, per ciascuno, sono mostrati i relativi grafici da cui trarre le dovute conclusioni.

Per osservare chiaramente le differenze tra il caso senza stimolo e quello con lo stimolo, per entrambi i segnali è stato imposto lo stesso rumore in ingresso, per cui la loro unica differenza sta proprio nell'input estrinseco.

- stimolo durante la veglia (attività beta): lo stimolo arriva in corteccia imperturbato. Il TCN, infatti, è in una zona di depolarizzazione e ciò che gli arriva in ingresso viene reinviato alla corteccia attraverso le sinapsi talamo-corticali. Lo spettro di potenza del segnale, in presenza dello stimolo, mostra chiaramente un picco alla frequenza di stimolazione. Per brevità viene mostrato, in figura 27, soltanto il caso di stimolo a frequenza di 10 Hz: non risultano, infatti, sostanziali differenze negli altri casi di studio se non nell'ampiezza dell'onda. Ciò è dovuto al fatto che le sinapsi si comportano come filtri passa-basso, per come sono modellate, quindi frequenze differenti vengono filtrate con un guadagno differente.

La figura mostra sulla sinistra l'andamento nel tempo del potenziale di membrana medio delle cellule piramidali in assenza di stimolo (colore rosso) e in presenza di stimolo (colore blu), mentre una linea verticale verde illustra l'istante temporale in cui lo stimolo è centrato; nel grafico di destra, invece, sono mostrate le rispettive densità di potenza spettrale dei due segnali.

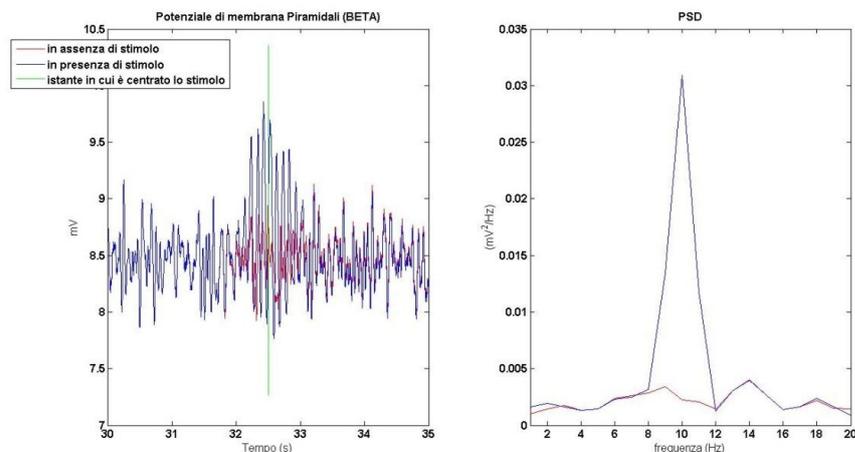


Figura 27. Potenziale di membrana nelle cellule piramidali e relativa PSD, durante la fase beta, prima (rosso) e dopo (blu) l'applicazione dello stimolo sensoriale.

- stimolo durante la fase 1 del sonno (attività theta): come dimostra la figura 28, non ci sono sostanziali differenze con il caso della veglia. In effetti, la fase 1 del sonno è caratterizzata dal rilassamento del soggetto che è ancora capace di avvertire ciò che lo circonda. Il TCN e il TRN sono depolarizzati per cui lo stimolo giunge in corteccia senza alcun tipo di interferenza;

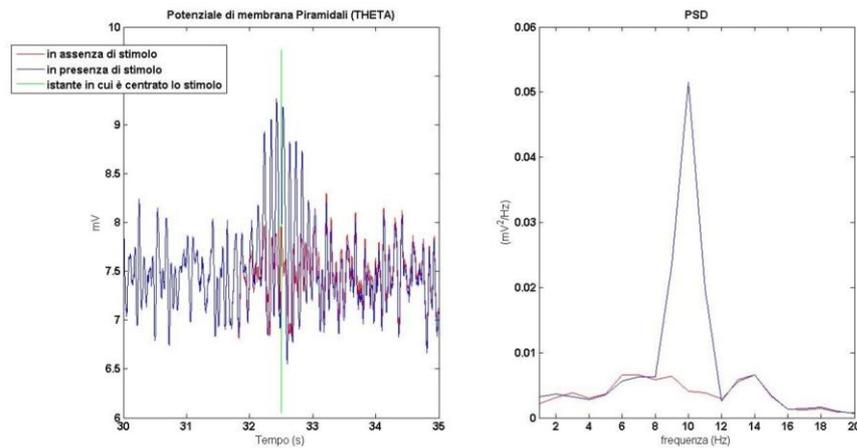


Figura 28. *Potenziale di membrana nelle cellule piramidali e relativa PSD, durante la fase theta, prima e dopo l'applicazione dello stimolo sensoriale.*

- stimolo durante la fase 2 del sonno (spindles wave): è una fase del sonno più profonda rispetto alla precedente e ci si attende che lo stimolo non determini variazioni dell'attività corticale. Sono stati considerati due casi di studio: il primo consiste nell'osservare la risposta ad uno stimolo quando il modello sta generando uno spindle, mentre l'altro quando ci troviamo in una fase di riposo tra due spindles consecutivi.

Nel primo caso (figura 29) lo spindle continua a persistere ma ha un'ampiezza minore rispetto al caso senza stimolo. Questo è dovuto al fatto che lo stimolo ha un effetto depolarizzante sul TCN, per cui l'effetto dell'iperpolarizzazione del TRN è meno forte, e i burst che risultano sono più deboli.

Nel caso, invece, di stimolo tra uno spindle e l'altro (figura 30), l'effetto dello stimolo è quello di ritardare la generazione dello spindle successivo, per il fatto che il TCN viene depolarizzato e il TRN, ricevendo una maggiore eccitazione dallo stesso, rimane depolarizzato per un tempo maggiore.

In conclusione, la corteccia, in presenza di stimolo, continua a generare delle onde stereotipate, come sono gli spindles: lo stimolo, cioè, è come se subisse una sorta di mascheramento, tale per cui l'informazione che trasporta è trasformata in un'attività del tutto simile a quelle tipiche delle fasi di sonno profondo;

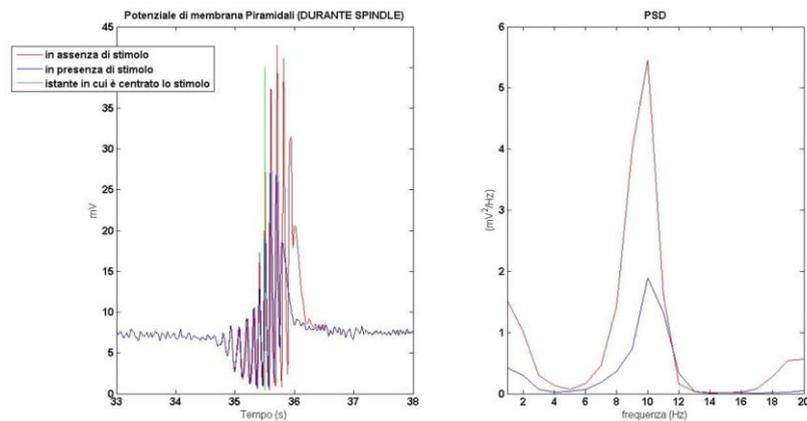


Figura 29. Potenziale di membrana nelle cellule piramidali e relativa PSD, durante gli spindles, prima e dopo l'applicazione dello stimolo sensoriale. Stimolo imposto durante la generazione di uno spindle.

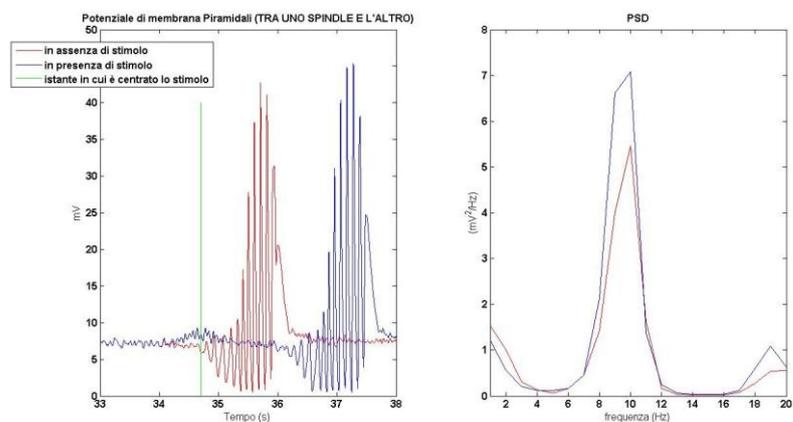


Figura 30. Potenziale di membrana nelle cellule piramidali e relativa PSD, durante gli spindles, prima e dopo l'applicazione dello stimolo sensoriale. Stimolo imposto tra uno spindle e il successivo.

- stimolo durante la fase 3 del sonno (onde delta): anche in questo caso, uno stimolo determina la generazione di uno spindle (figura 31, con stimolo a 5 Hz). Infatti, il TRN è iperpolarizzato per cui uno stimolo eccitatorio favorisce il raggiungimento della soglia per l'attivazione dei canali del calcio, e quindi

la generazione dei burst, che iperpolarizzano il TCN e determinano lo spindle;

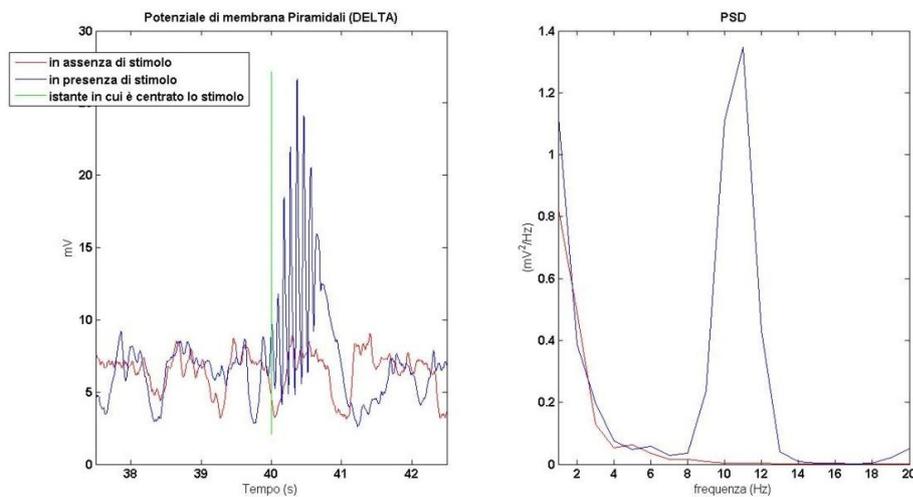


Figura 31. Potenziale di membrana nelle cellule piramidali e relativa PSD, durante le onde theta, prima e dopo l'applicazione dello stimolo sensoriale.

- stimolo durante la fase 3 del sonno (SWS): lo studio ha previsto stimolazioni sia nella fase UP che DOWN. Se lo stimolo viene imposto durante la fase UP (figura 32), lo stimolo non ha alcun effetto poiché i neuroni piramidali hanno raggiunto la saturazione ed eccitazioni ulteriori non cambiano la loro condizione. Come detto nel paragrafo 2.1.2, il fatto di avere dei neuroni piramidali saturi durante una fase del sonno, potrebbe risultare un limite del modello; per tale motivo potrebbe non essere accettata, dal punto di vista fisiologico, questa modalità di soppressione di uno stimolo sensoriale simulata dal modello. In ogni caso, si nota una differenza rispetto al segnale non stimolato nello spettro di potenza: il picco ai 9 Hz è più basso poiché l'eccitazione sul TCN riduce il tempo in cui i neuroni, insieme a quelli del TRN, oscillano a cavallo della soglia di generazione dei burst; di conseguenza le onde a 9 Hz durano meno tempo. Inoltre, si osserva che stimoli a frequenze più alte dei 9 Hz comportano una sorta di accelerazione delle oscillazioni, che raggiungono frequenze intorno agli 11 Hz.

Uno stimolo, invece, durante la fase DOWN (figura 33) determina, se ha un'ampiezza sufficientemente elevata, l'anticipazione della fase UP

successiva; se, invece, l'ampiezza è piccola per provocare l'apertura dei canali del calcio nel TCN e l'inizio di una nuova fase UP, non si osservano differenze sostanziali con la condizione senza stimolazione. Anche in questo caso allora, l'informazione trasportata dallo stimolo non raggiunge la corteccia, o al più partecipa a generare forme stereotipate del sonno.

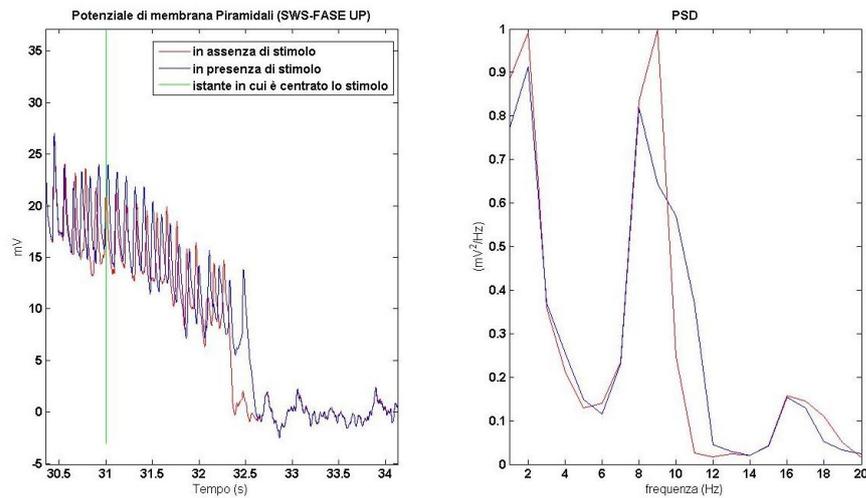


Figura 32. Potenziale di membrana nelle cellule piramidali e relativa PSD, nella fase SWS, prima e dopo l'applicazione dello stimolo sensoriale. Stimolo imposto durante la fase UP.

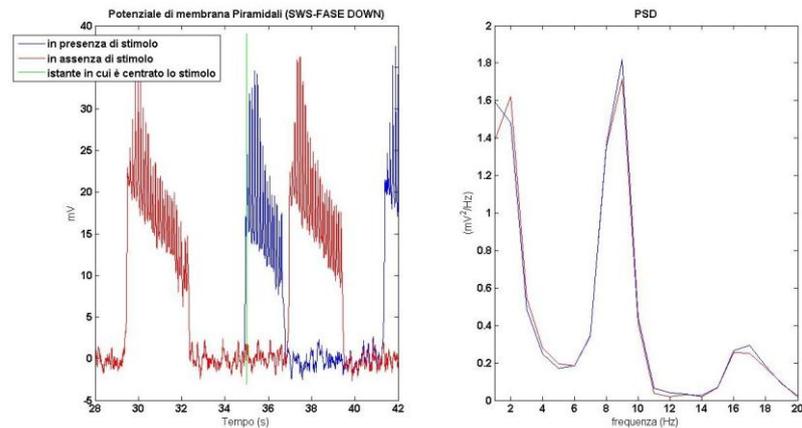


Figura 33. Potenziale di membrana nelle cellule piramidali e relativa PSD, nella fase SWS, prima e dopo l'applicazione dello stimolo sensoriale. Stimolo imposto durante la fase DOWN.

3.2.2 Analisi dello spettrogramma del segnale in presenza dello stimolo

Per dare ulteriori conferme a ciò che è stato detto precedentemente, l'analisi sulla risposta agli stimoli del modello è proseguita valutando, per ogni stato di funzionamento, lo spettrogramma del potenziale post-sinaptico in ingresso alle cellule piramidali, in presenza e in assenza di stimolazione. Lo spettrogramma è stato calcolato su finestre della durata di 2 secondi e sovrapposte per 1.5 secondi, in modo da avere una risoluzione temporale di 0.5 s ed una risoluzione frequenziale di 0.5 Hz. Nel caso delle onde lente sono stati trattati, in maniera indipendente, lo stimolo imposto in fase UP e lo stimolo in fase DOWN.

Per ridurre al minimo gli effetti dovuti alla varianza del rumore in ingresso, tale studio ha interessato, per ogni stadio, 100 diverse simulazioni per ognuna delle frequenze di stimolazione prese in considerazione (anche in questo caso 5, 10, 15 e 20 Hz); per ogni simulazione, imponendo lo stesso rumore in ingresso, è stato calcolato lo spettrogramma del segnale senza stimolo e con lo stimolo: i due spettrogrammi risultano pertanto identici e confrontabili all'inizio della stimolazione. Per ogni simulazione è stata calcolata la differenza dei due spettrogrammi.

Una volta ricavati i risultati delle 100 simulazioni, è stata fatta una media degli spettrogrammi in assenza di stimolo, una media in presenza di stimolo e una media delle differenze.

Di seguito sono trattati differenzialmente i diversi stati di funzionamento. Le immagini presentano 4 finestre differenti: nella prima è raffigurato lo spettrogramma dello stimolo che chiarisce la frequenza del segnale in ingresso e l'istante in cui viene imposto, nella seconda si osserva lo spettrogramma del segnale in assenza di stimolazione, nella terza lo spettrogramma del segnale quando è applicato lo stimolo e nella quarta, infine, il risultato della media delle differenze tra i due casi di studio. Il valore della potenza del segnale ad una data frequenza e in un dato istante di tempo è codificato da un colore appartenente ad un range che va dal blu, per i valori più bassi, al rosso, per i valori più alti. Per rendere le 4 immagini confrontabili, è stata effettuata una normalizzazione dividendo i 4 spettrogrammi per uno stesso valore, pari al valore di potenza massimo assoluto.

- stimolo durante la veglia (attività beta): a conferma di quanto detto nel paragrafo precedente, l'informazione ricevuta dal TCN arriva in corteccia

imperturbata. Infatti, si nota in maniera evidente come un'attività, alla frequenza dello stimolo e all'istante di applicazione, risalti rispetto all'attività di background. Di seguito è mostrato (figura 34), per brevità, soltanto il caso di stimolo a 10 Hz: i risultati non cambiano al variare della frequenza se non per il valore di potenza del segnale in seguito alla stimolazione. A causa del filtraggio delle sinapsi, infatti, la potenza del segnale, in corrispondenza dell'istante di applicazione di uno stimolo a frequenza maggiore dei 10 Hz, è più bassa;

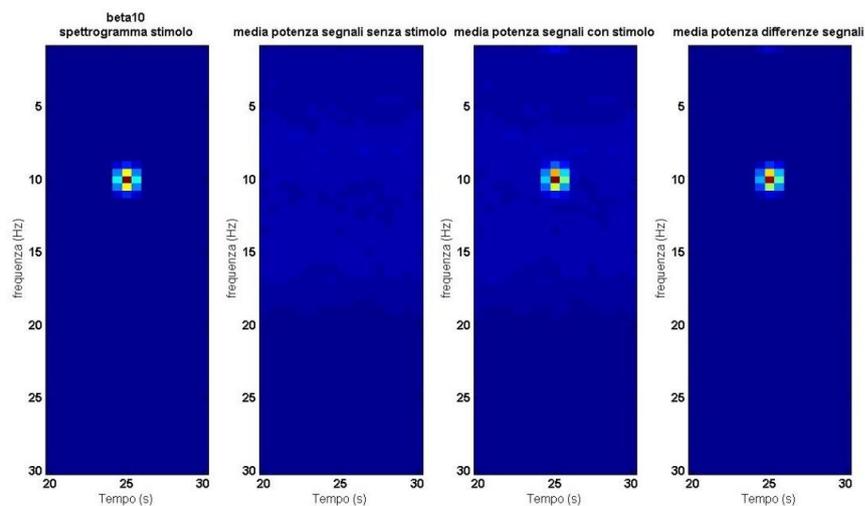


Figura 34. Spettrogrammi per l'analisi degli stimoli imposti durante l'attività beta (stimolo a 10 Hz). Nel primo pannello è presente lo spettrogramma dello stimolo, nel secondo lo spettrogramma medio dei segnali in assenza di stimolazione, nel terzo lo spettrogramma medio dei segnali in presenza di stimolo e nel quarto pannello lo spettrogramma dato dalla differenza tra il secondo e il terzo spettrogramma.

- stimolo durante la fase 1 del sonno (attività theta): i risultati non si discostano molto da quanto detto per l'attività beta: il segnale arriva in corteccia senza essere modificato. Anche in questo caso, all'aumentare della frequenza la potenza del segnale in corrispondenza dello stimolo si riduce. La figura 35 mostra gli spettrogrammi nel caso di stimolo a 15 Hz;

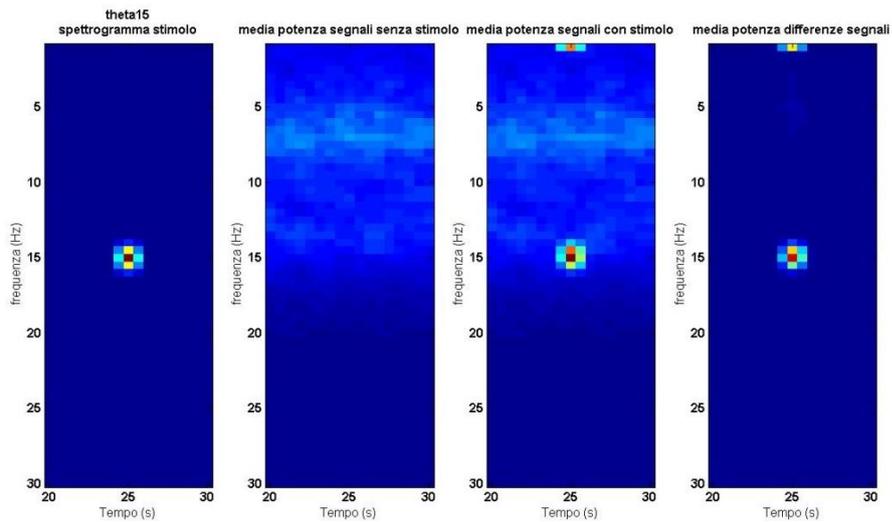


Figura 35. Spettrogrammi per l'analisi degli stimoli imposti durante l'attività theta (stimolo a 15 Hz).

- stimolo durante la fase 2 del sonno (spindles): per tutti i valori di frequenza considerati, si osserva come uno stimolo dato in tale fase comporti una sorta di risincronizzazione degli spindles. Nella seconda immagine di figura 36 (stimolo a frequenza 5 Hz) si vede come nelle 100 simulazioni gli spindles si manifestino casualmente nel tempo, per cui è visibilmente definita una fascia di colore uniforme a 10 Hz, la frequenza, cioè, con cui essi oscillano; nella terza e nella quarta immagine, invece, si osserva che, nell'istante di applicazione dello stimolo, la potenza è ridotta rispetto al caso senza stimolo, mentre è evidente un'attività a 10 Hz a circa 2 secondi dallo stimolo stesso. Tutto questo si spiega ricordando ciò che è stato detto in precedenza: se lo stimolo è applicato mentre è presente uno spindle, la sua ampiezza è ridotta e la potenza a lui associata pure; se invece lo stimolo è applicato tra uno spindle e l'altro, il risultato è un ritardo dello spindle successivo che, in maniera ricorrente, si sviluppa dopo che è trascorso un certo periodo dalla stimolazione, risultando un'attività non più casuale. In ogni caso lo stimolo non produce effetti in corteccia tanto che nello spettrogramma del segnale, in presenza di stimolazione, non si ha potenza alla frequenza dello stimolo;

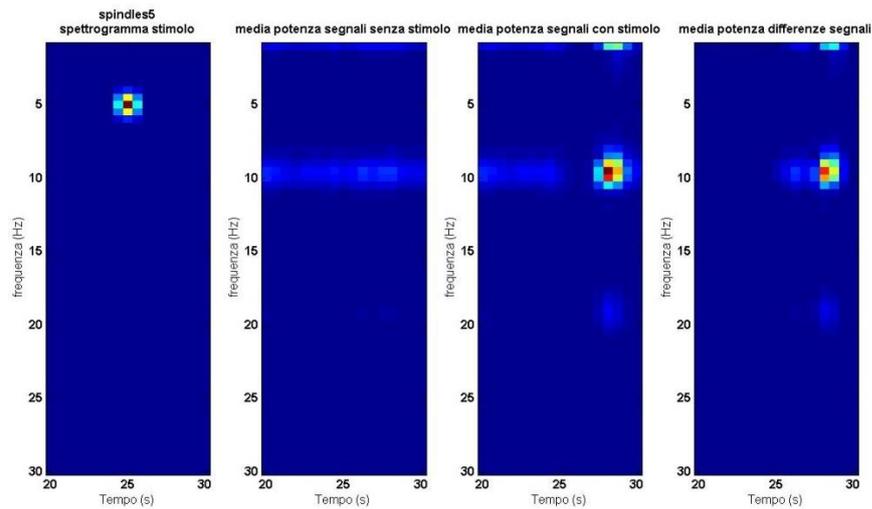


Figura 36. Spettrogrammi per l'analisi degli stimoli imposti durante gli spindles (stimolo a 5 Hz).

- stimolo durante la fase 3 del sonno (onde delta): l'analisi dello spettrogramma conferma quanto detto prima: uno stimolo dato in questa fase favorisce la generazione di uno spindle. In figura 37 si vede come, anche senza stimolo, c'è una leggera attività a 10 Hz dovuta alla presenza di qualche spindles casuale e sporadico che può insorgere in questa fase. Nel punto di applicazione dello stimolo, però, si osservano dei valori di potenza elevati a 10 Hz che corrispondono alle onde associabili a spindles;

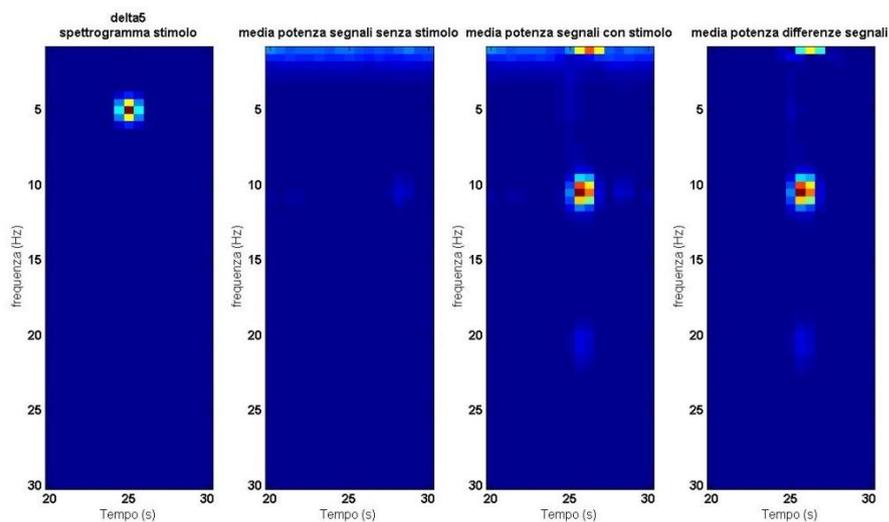


Figura 37. Spettrogrammi per l'analisi degli stimoli imposti durante l'attività delta (stimolo a 5 Hz).

- stimolo durante la fase 3 del sonno (onde lente): come detto precedentemente, sono stati analizzati due casi per tale attività: stimolo durante la fase DOWN e durante la fase UP.

Come mostra la figura 38 (stimolo a 5 Hz), se uno stimolo è dato durante la fase DOWN non si osservano differenze tra il segnale in presenza di stimolo e quello in assenza: il quarto pannello, infatti, è completamente blu poiché la differenza tra i due spettrogrammi è sempre nulla. Tale risultato è stato ottenuto per valori di ampiezza dello stimolo bassi e non sufficienti ad evocare una fase UP anticipata; se la forza di stimolazione fosse stata più grande, il TCN avrebbe raggiunto anticipatamente la soglia per la generazione dei burst e sarebbe iniziato il processo che avrebbe portato in anticipo una nuova fase UP. Non si osservano differenze al variare della frequenza.

La figura 39 chiarisce le dinamiche per il caso di stimolazione a 5 Hz durante la fase UP. Anche in questo caso la differenza tra gli spettrogrammi del segnale con lo stimolo e senza stimolo è nulla, con l'eccezione dei valori di potenza a circa 11 Hz nell'istante di stimolazione: come mostrato nei grafici del tempo nel paragrafo 2.2.1, la fase UP è caratterizzata da oscillazioni a circa 9 Hz; quando è applicato lo stimolo, esso comporta una leggera accelerazione delle onde ma l'informazione in input (alla frequenza di 5 Hz) non raggiunge, in ogni caso, la corteccia.

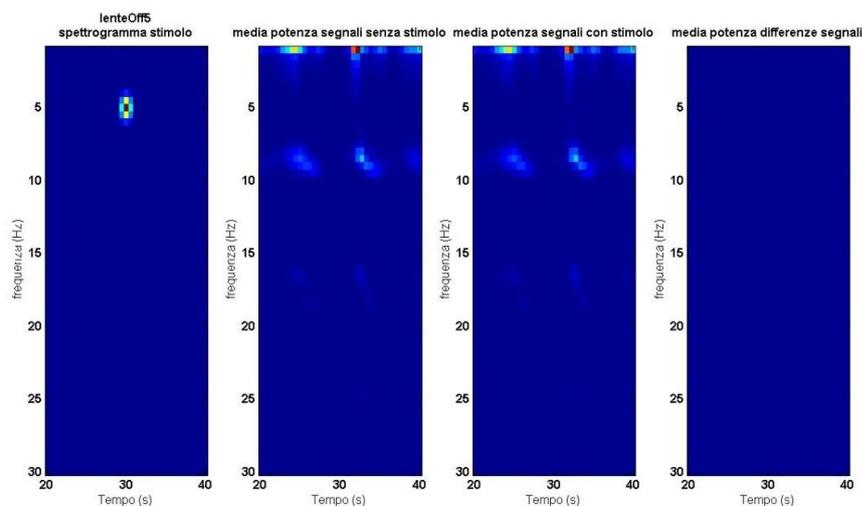


Figura 38. Spettrogrammi per l'analisi degli stimoli imposti nella fase SWS (stimolo a 5 Hz durante la fase DOWN).

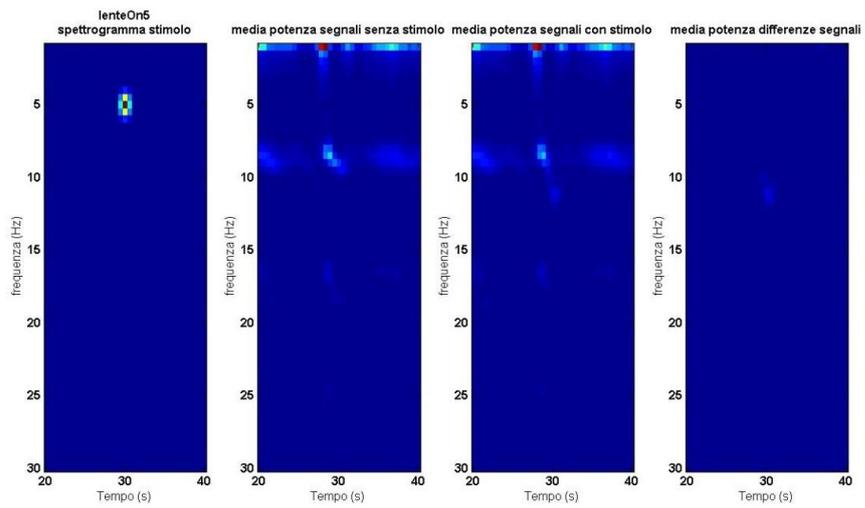


Figura 39. Spettrogrammi per l'analisi degli stimoli imposti nella fase SWS (stimolo a 5 Hz durante la fase UP).

CAPITOLO 4

4.1 LA TMS

Il capitolo precedente ha dato prova di come il modello computazionale riesca a riprodurre gran parte dei fenomeni reali d'interesse. Le analisi hanno permesso di validare il modello e renderlo disponibile, tra le altre cose, a confronti tra il segnale simulato e segnali EEG ricavati sperimentalmente, per stimare indirettamente il valore dei parametri in gioco.

In neurofisiologia una stima dei ritmi intrinseci delle regioni cerebrali, e di come questi ritmi sono trasmessi e modificati come conseguenza delle connettività fra le strutture, può essere ottenuta usando la TMS e osservando le risposte alle perturbazioni magnetiche indotte sull'EEG.

La TMS (stimolazione magnetica transcranica) è una tecnica non invasiva di stimolazione elettromagnetica del tessuto cerebrale; oltre che per studiare il funzionamento dei circuiti e delle connessioni neuronali all'interno del cervello, tale tecnica è, negli ultimi anni, in corso di sperimentazione per trattare disturbi psichiatrici e neurologici quali la depressione, le allucinazioni, il morbo di Parkinson, ecc. La TMS prevede la somministrazione sullo scalpo di un impulso magnetico breve (circa 200 μ s) e potente (circa 0.5 T) attraverso una bobina (coil). L'impulso magnetico induce nella superficie corticale, al di sotto del coil, una corrente elettrica transitoria che causa la depolarizzazione delle membrane cellulari attraverso l'apertura dei canali ionici. La TMS è stata originalmente introdotta nella neurofisiologia clinica per la valutazione dello stato funzionale delle vie corticospinali e prevedeva la somministrazione di un singolo impulso magnetico. A metà degli anni 90 i progressi tecnologici hanno consentito lo sviluppo di macchinari in grado di somministrare treni ripetitivi di impulsi magnetici, dati in rapida sequenza, con una frequenza che può arrivare ai 100 Hz. Questo tipo di stimolazione viene detta TMS ripetitiva (rTMS). È stato dimostrato che la rTMS interagisce con l'attività corticale in modo più efficace rispetto alla TMS a singolo impulso. Inoltre, la rTMS può essere applicata a bassa e/o alta frequenza e, a seconda della modalità di applicazione, può avere effetti diversi sull'attività corticale.

Come descritto da Rosanova [25], la frequenza naturale di oscillazione delle diverse regioni cerebrali è valutabile in seguito a stimolazioni TMS, di diversa intensità, su soggetti sani. Ogni regione sviluppa delle onde alla propria frequenza, in base alle sue dinamiche interne; allora se si osserva la risposta, in termini di segnale EEG, della regione corticale stimolata, è possibile analizzare le dinamiche interne della stessa regione, e comprendere, per esempio, come sono collegati le cellule piramidali con gli interneuroni e l'influenza che hanno le regioni talamiche sulla corteccia

Ogni regione, inoltre, trasmette le sue onde a regioni più lontane; se allora si stimola una regione corticale è possibile stimare, per esempio, la forza di connessione con un'altra regione: una volta stimolata una regione corticale A, con un impulso TMS, si può osservare l'EEG prodotta da una regione B e stimare quanto forte sia la forza di connessione tra queste due regioni corticali, quantificando l'influenza che l'impulso TMS ha avuto sulle onde generate dalla seconda regione.

Introdurre la TMS per tali valutazioni e non sfruttare esclusivamente i segnali EEG spontanei, è vantaggioso poiché i ritmi EEG sono eccessivamente variabili, e la loro topografia può cambiare radicalmente nello spazio di un secondo se il soggetto, per esempio, apre gli occhi o pianifica un movimento. Una stima allora delle frequenze di lavoro delle regioni corticali può essere ottenuta misurando le risposte evocate da stimoli esterni, tra cui appunto impulsi TMS. Analizzando la media di tali risposte si riducono al minimo gli eventi correlati dallo stimolo e si ottiene così un segnale dipendente, idealmente, solo dallo stimolo e che viene definito TMS Evoked Potential (TEP), concettualmente molto simile agli Event Related Potentials (ERP).

Partendo da queste considerazioni, il modello computazionale è stato utilizzato, nella fase successiva di tale lavoro di tesi, per "fittare" i dati sperimentali ricavati da Rosanova, e definire il set di parametri che garantisca una buona approssimazione dei segnali reali. Il modello proposto, si è visto, simula l'interazione tra una regione corticale e le corrispondenti regioni talamo-corticale e talamo-reticolare, per cui i dati sperimentali sono stati sfruttati esclusivamente per l'analisi delle dinamiche interne ad una regione corticale e delle sue connessioni con TCN e TRN.

Un modello più complesso, come quello proposto nel capitolo 4, potrebbe invece garantire un'indagine sulle connessioni tra regioni corticali diverse che, nel modello fin'ora presentato, sono semplificate attraverso l'autoeccitazione delle cellule piramidali, e quindi attraverso il parametro C_{pp} .

4.1.1 Acquisizione dei dati reali

Lo studio di Rosanova ha interessato 7 soggetti sani. Ogni soggetto è stato sottoposto a tre esperimenti separati, in ognuno dei quali è stata stimolata, attraverso la TMS, una di tre regioni corticali: occipitale, parietale e frontale (indicate come regioni 19, 7 e 6). Per ogni regione sono stati somministrati impulsi TMS a intensità differenti. Attraverso uno strumento di misurazione dell'EEG, compatibile con la TMS, sono stati ricavati i segnali elettroencefalografici provenienti dalle tre regioni d'interesse. Durante l'esperimento i soggetti erano rilassati, seduti su delle sedie ergonomiche, e con gli occhi aperti e fissi su un punto di uno schermo. Un poggiatesta garantiva una confortevole e stabile posizione per il capo.

Le risposte cerebrali alla TMS variavano in base al punto di stimolazione: stimoli sull'area 19 producevano, nei primi 200 ms di acquisizione, risposte a bassa frequenza e di grande ampiezza; stimoli sull'area 7 garantivano segnali più veloci e meno ampi; stimoli sull'area 6, oscillazioni ancora più veloci. Per estrarre la frequenza naturale delle risposte agli stimoli in ogni condizione, sono stati calcolati gli spettri del segnale, sui primi 200 ms dopo lo stimolo, e sono stati mediati quelli appartenenti alla medesima condizione. La frequenza associata al picco massimo è stata indicata come la frequenza naturale dell'area corticale analizzata. È stato osservato che la TMS induce oscillazioni EEG specifiche per il sito di stimolazione e per le regioni corticali ad esso connesse. Ogni area, infatti, se direttamente stimolata dalla TMS o attivata attraverso le connessioni a lungo raggio, esprimeva oscillazioni ad una frequenza vicina alla sua frequenza naturale. L'area 19 presentava frequenze intorno agli 11 Hz, l'area 7 intorno ai 20 Hz e l'area 6 a circa 31 Hz.

Stimolazioni con differenti intensità ha permesso, in più, di verificare che la frequenza di risposta di ciascuna area non dipendesse dall'intensità di stimolazione, ma dalle proprietà intrinseche del circuito neuronale attivato.

Per tale motivo, l'approccio usato in tale studio garantisce un promettente strumento per l'analisi e la comprensione dei meccanismi locali che sottendono la generazione dei segnali EEG. L'uso di perturbazioni per identificare la frequenza delle regioni del sistema cortico-talamico, e le loro interazioni all'interno del cervello, rappresenta uno strumento utile per capire come i ritmi cerebrali nascono e si fondono.

Inoltre, l'individuazione della frequenza naturale delle regioni corticali può avere importanti applicazioni cliniche: alterazioni delle proprietà delle cellule corticali o sottocorticali o alterazioni delle connettività tra di esse, sottendono diverse patologie neurologiche e psichiatriche, e possono manifestarsi attraverso cambiamenti nelle proprietà di generazione dei ritmi EEG e nelle frequenze delle onde; tali alterazioni possono essere diffuse o locali, per cui sarebbe importante creare una mappa delle frequenze naturali delle differenti aree corticali nelle diverse condizioni neuropsichiatriche, come la depressione, l'epilessia, o disordini della coscienza.

4.2 UTILIZZO DEL MODELLO MATEMATICO PER IL FITTING DEI DATI REALI

I segnali EEG ricavati, come descritto, dal gruppo di lavoro di Rosanova sono stati utilizzati per valutare, attraverso il modello matematico, quali sono le connessioni delle regioni cortico-talamiche che potrebbero variare in termini di forza da una regione all'altra, e stimarne approssimativamente il valore.

Tale analisi ha previsto, innanzitutto, l'introduzione di un ingresso impulsivo eccitatorio che simulasse un impulso di TMS, dato dall'esterno, sulle cellule piramidali; è stata poi definita una funzione errore che permette di dare una stima di quanto il segnale, simulato dal modello, differisca rispetto al segnale reale. Tale funzione è la classica somma dei quadrati delle distanze tra i campioni:

$$\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2, \quad (18)$$

dove x_i e y_i sono rispettivamente i campioni corrispondenti del segnale simulato e i campioni del segnale reale; l'analisi è proseguita minimizzando tale funzione errore attraverso il metodo *fminsearch* di matlab che, per mezzo del metodo del semplice, valuta il set di parametri ottimale in corrispondenza di un minimo locale della funzione in ingresso. I parametri liberi, utilizzati per la minimizzazione, sono tutti i parametri di connessione C_{ij} e l'ampiezza dello stimolo TMS di cui non si conosceva l'entità. Il segnale in uscita dal modello è stato privato dell'offset e diviso per un coefficiente pari a 85: tale coefficiente è un guadagno di conversione utilizzato per

simulare il processo di propagazione dei segnali EEG, per cui è stata scelta un'unità di misura arbitraria, dallo scalpo alla corteccia. Il valore del coefficiente corretto è stato ottenuto dopo una serie di osservazioni dei segnali, reali e simulati, sovrapposti tra loro.

Come descritto da Rosanova, sono stati analizzati solo 200 ms di tracciato EEG in seguito all'impulso TMS: gli istanti successivi, infatti, sembrano presentare ritmi non più associabili soltanto alle risposte al campo magnetico esterno ma anche alle attività di background che una regione corticale riceve da altre regioni corticali e sottocorticali. Tre sono stati i segnali reali analizzati e sfruttati per il fitting: la risposta della regione 19 ad uno stimolo TMS sulla regione 19, la risposta della regione 7 ad uno stimolo su di essa, e la risposta della regione 6 ad uno stimolo TMS sulla regione 6. Nel database sono presenti, come detto, anche le risposte di ogni regione a stimoli applicati ad una delle altre due, ma il modello matematico, simula l'interazione di una sola regione corticale con un nucleo talamo-corticale e un nucleo talamo-reticolare; se si volesse fare il fitting dell'intera rete neurale, considerando più regioni corticali, sarebbe necessaria l'introduzione di un numero eccessivo di parametri, e il processo di ottimizzazione risulterebbe complesso e inconcludente. Per tale motivo è conveniente fare dei fitting preliminari delle singole aree così da utilizzare i parametri ricavati per lavori futuri con modelli matematici più completi.

4.2.1 Risultati ottenuti

Il modello riesce ad riprodurre bene le oscillazioni dei tracciati reali, rispettando le frequenze alle quali queste oscillano.

Inizialmente si è cercata la soluzione ottima impostando come parametri liberi, tutti i parametri di connessione e il modulo dell'impulso TMS; i valori di partenza utilizzati per tali parametri sono quelli mostrati in tabella 1. Successivamente, sono stati analizzati accuratamente i valori ottenuti dal processo di minimizzazione della funzione errore e, in particolare, sono stati individuati quei parametri che, per i diversi segnali, non hanno subito sostanziali variazioni da quelli di partenza. Per i restanti parametri è stata effettuata un'analisi di sensitività del segnale d'uscita cambiando i valori dei parametri in un ampio range di variazione, in maniera tale da

determinare quei parametri per cui il modello è meno sensibile e riesce ancora a fittare bene i segnali reali.

Da questo procedimento è risultato che, da una regione all'altra, le variazioni delle dinamiche interne del circuito talamo-corticale sono descrivibili mediante quattro coefficienti di connessione tra le popolazioni: C_{PT} , C_{FP} , C_{PF} , C_{FF} . Modificando, allora, solo questi quattro parametri è possibile ricostruire le caratteristiche dei tre segnali reali.

Nelle figure successive vengono presentati i segnali EEG ottenuti in seguito alla minimizzazione della funzione errore, e imponendo, come parametri liberi, solo i quattro coefficienti elencati precedentemente; in ogni figura, si osserva il tracciato EEG reale (TEP) in blu e il tracciato EEG simulato in verde. Il tracciato EEG prodotto dal modello è stato simulato e plottato per un periodo di tempo più lungo, per verificare che le oscillazioni, causate dall'impulso dato in ingresso, si smorzino in tempi piuttosto brevi e che, quindi, il modello non presenti comportamenti indesiderati come cicli limite. La figura 40 presenta i risultati ottenuti per la regione 19, la figura 41 i risultati per la regione 7 e, infine, la figura 42 è dedicata ai segnali per la regione 6.

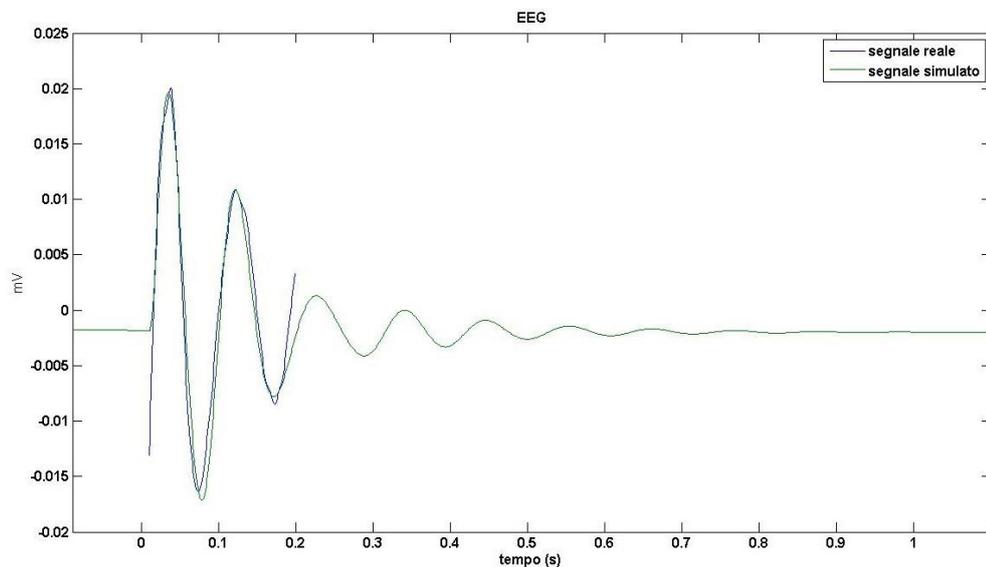


Figura 40. *Fitting di un segnale reale (stimolo TMS dato in zona occipitale). In verde è raffigurato il segnale generato dal modello mentre in blu è plottato il segnale reale.*

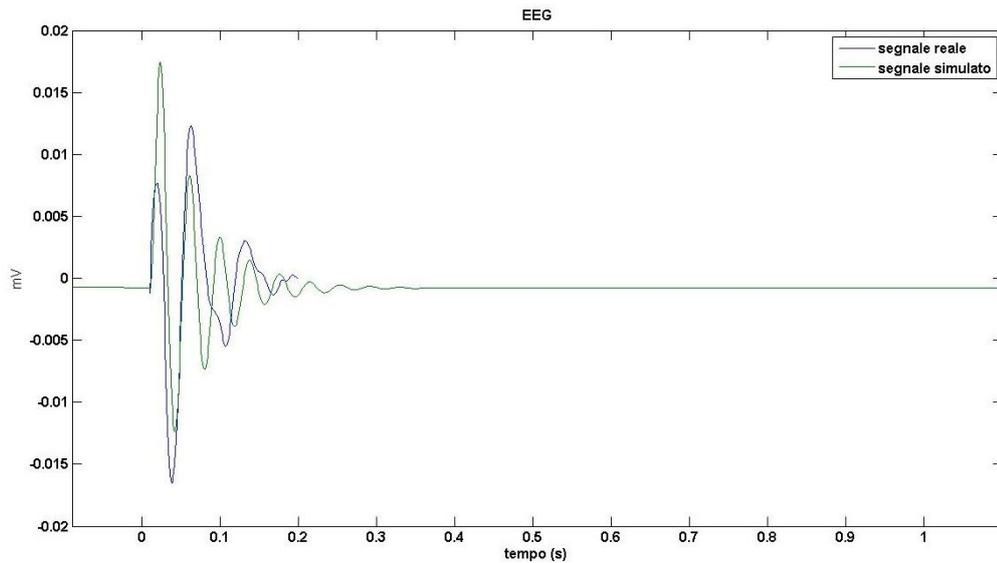


Figura 41. *Fitting di un segnale reale (stimolo TMS dato in zona parietale).*

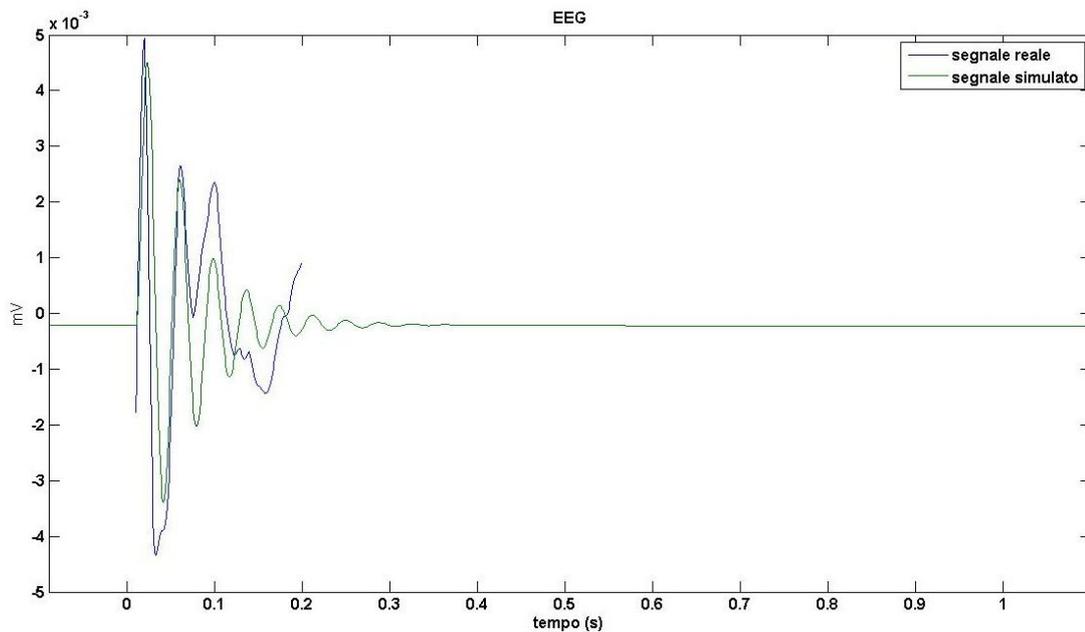


Figura 42. *Fitting di un segnale reale (stimolo TMS dato in zona frontale).*

Qui di seguito (figura 43), è presentato un quadro riassuntivo dei valori delle quattro connessioni, risultate essenziali per le dinamiche interne del circuito neuronale in esame, usati per ogni segnale analizzato. Per ogni coefficiente è illustrata una barra che definisce il range di valori per cui il modello continua a fittare bene i dati reali, mentre un cerchietto mostra il valore ottimale che risulta dal processo di minimizzazione della funzione errore. La bontà del fitting è stata valutata solo

visivamente, poiché non sempre la misura dello scarto quadratico medio è una misura ragionevole della somiglianza tra due segnali. Per esempio, se due segnali sono comunque comparabili ma traslati nel tempo l'uno rispetto all'altro, il valore della funzione errore è elevato, il che risulterebbe ingannevole.

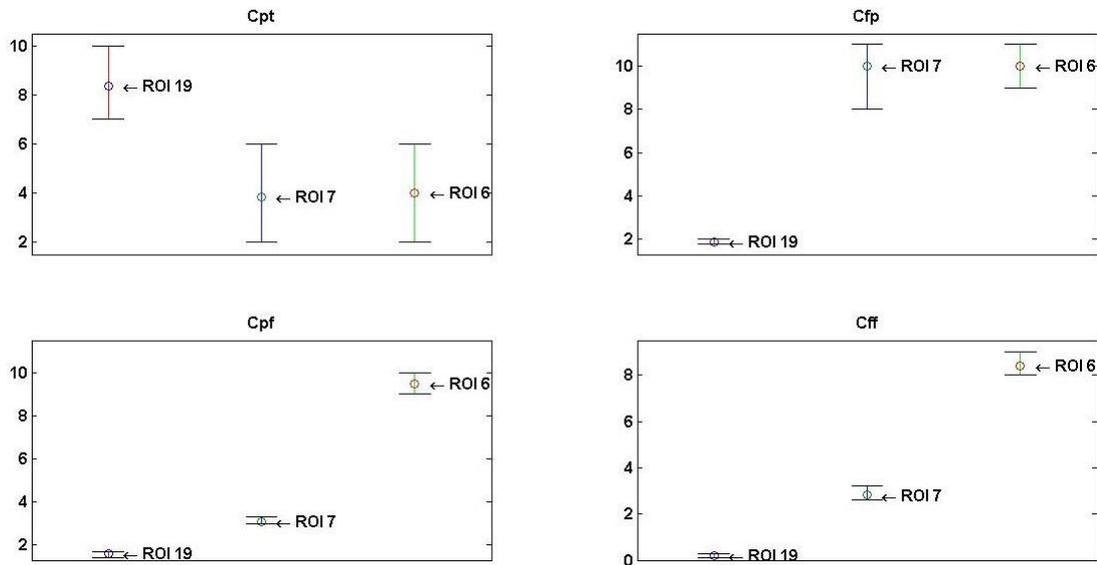


Figura 43. Andamento dei quattro parametri risultati essenziali nelle dinamiche interne di un modulo talamo-corticale. Nei quattro pannelli si osservano, in ordine, gli andamenti di C_{pt} , C_{fp} , C_{pf} e C_{ff} .

Da tali grafici si traggono le seguenti considerazioni:

- il collegamento tra il talamo e la corteccia è più forte a livello dei lobi occipitali e diminuisce spostandosi verso le regioni frontali. Questo conferma il fatto che i ritmi α , che sono di origine talamica [20], sono registrati soprattutto dagli elettrodi occipitali e parietali piuttosto che dai centrali e frontali, per cui è presumibile che il talamo influenzi maggiormente i lobi occipitali e abbia delle connessioni più forte con essi;
- il loop di collegamento tra cellule piramidali e interneuroni inibitori veloci (fast) è più forte all'interno delle regioni corticali frontali piuttosto che occipitali. Questo conferma le analisi effettuate da Cona e altri [26], con il suo modello corticale, nel fitting degli stessi tracciati reali: la forza delle connessioni all'interno del loop tra cellule piramidali e interneuroni $GABA_{A,fast}$ ha un valore piccolo per la regione 19 se confrontato con la regione 7; quando infatti i valori di C_{FP} e C_{PF} sono piccoli, il modello oscilla

a basse frequenze mentre per alti valori il modello oscilla nel range beta e gamma;

- l'autoinibizione della popolazione $GABA_{A,fast}$, è più forte all'interno delle regioni frontali e decresce spostandosi verso i lobi occipitali. Anche questo è in accordo con gli studi recenti di Cona e altri. Sembra, infatti, che il valore di C_{FF} ha un'importante influenza sulle dinamiche interne delle regioni corticali.

CAPITOLO 5

5.1 UN MODELLO TALAMO-CORTICALE PIU' COMPLETO

Fin'ora il testo si è occupato di analizzare il comportamento di un modello di massa neurale che descrive le dinamiche di interazione tra una regione corticale e due strutture talamiche, indicate come TCN e TRN. Attraverso tale modello, si è visto come è possibile riprodurre gran parte dei segnali EEG tipici della veglia e del sonno. In realtà, il sistema nervoso centrale prevede connessioni tra differenti zone corticali e diversi nuclei talamo-corticali, collegamenti tra le diverse regioni corticali e collegamenti tra le diverse regioni talamo-reticolari.

Un possibile miglioramento del modello matematico presentato, può essere ottenuto ampliando il numero di strutture interagenti. E' stato allora sviluppato un modello matematico in cui, partendo dalle stesse equazioni definite nel capitolo 1, viene simulata l'interazione tra più regioni corticali, talamo-corticali e talamo-reticolari. All'interno del lavoro di tesi, tale modello ha avuto due scopi: da una parte, verificare che le equazioni utilizzate nel primo modello siano estendibili a un modello più complesso; dall'altra, verificare che durante le fasi del sonno in cui si generano segnali non stazionari, quali spindles e onde lente, le regioni corticali si sincronizzano. Tale sincronizzazione sembra avere dei ruoli chiave nei meccanismi di consolidamento della memoria durante il sonno. In questa fase, infatti, sebbene gli stimoli proveniente dall'esterno sono bloccati a causa dell'inibizione del TCN, gli scambi di informazione tra le varie regioni corticali sono mantenuti. In questo contesto, le onde tipiche del sonno, come gli spindles e le onde lente, probabilmente sottendono meccanismi di plasticità sinaptica legati alla memorizzazione di informazioni. Secondo gli studi di Steriade [7], in seguito ad un training a cui è sottoposto un paziente per apprendimento di tipo dichiarativo, la densità con cui gli spindles si originano è nettamente più alta rispetto ad un soggetto che non è stato sottoposto ad alcun training. La parte iniziale del sonno, quella proprio in cui si osserva la presenza degli spindles, sembra giocare un ruolo importante nella memoria di tipo dichiarativa; durante le fasi di sonno profondo invece, in cui si generano le SWS, è la memoria non dichiarativa, cioè quella procedurale e inconscia

a prendere il sopravvento. L'attività burst delle cellule talamiche favoriscono questi processi di memorizzazione poiché accendono dei meccanismi di plasticità sinaptica nei circuiti corticali. Il modello di cui si parla in tale capitolo può essere un valido strumento di indagine di questi meccanismi di memorizzazione e di come i circuiti corticali si modificano e si riorganizzano durante la notte.

Validando l'ipotesi che durante il sonno le regioni si sincronizzano, si può accettare inoltre la semplificazione, utilizzata nel modello precedente, per cui la connessione tra regioni corticali differenti è stata sostituita da un'autoeccitazione dei neuroni piramidali e le connessioni laterali tra i nuclei talamo-reticolari con un'autoinibizione del TRN.

5.1.1 Struttura del modello

Il modello è definito dalle stesse equazioni che sono state descritte nel capitolo 1. Ognuna di tali equazioni viene ripetuta per un numero di volte che dipende dal numero di regioni corticali, TCN e TRN che si vogliono simulare. Il codice Matlab, con il quale è stato descritto il modello, è stato ottimizzato in maniera tale da scegliere liberamente il numero di queste strutture che si vogliono rappresentare.

Per quanto concerne le modalità di connessione tra le diverse strutture, è stata condotta una ricerca bibliografica su eventuali modelli presenti in letteratura che si sono occupati di una simile problematica. Sembrerebbe che in letteratura non esistano modelli di massa neurale in cui interagiscano molteplici strutture corticali e talamiche.

Un lavoro che è stato analizzato e sfruttato ai fini di questo modello, è il modello di Bazhenov [24]. Non si tratta di un modello di massa neurale poiché tale modello prevede l'interazione tra singole cellule descritte tramite le equazioni di Hodgkin-Huxley; le cellule simulate possono appartenere a una di quattro popolazioni: piramidali, interneuroni inibitori, talamo-corticali e talamo-reticolari. Il modello prevede delle connessioni laterali a corto e lungo raggio sia tra le diverse cellule piramidali che tra le diverse cellule reticolari; ogni cellula piramidale invia i propri segnali sia a diversi interneuroni inibitori che a diverse cellule talamo-reticolari e talamo-corticali e riceve un feedback dagli interneuroni inibitori e dalle cellule del

TCN; le cellule talamo-reticolari e talamo-corticali sono tra di loro connesse in ambo le direzioni anche a lunga distanza; un interneurone inibitorio può inoltre inibire le cellule del TCN.

Prendendo le mosse da tale lavoro è stato sviluppato il modello facendo le seguenti ipotesi:

- gli interneuroni inibitori, fast e slow, e gli interneuroni eccitatori di un'area corticale comunicano con le cellule piramidali della stessa area corticale; gli interneuroni fast e slow si scambiano informazioni all'interno della stessa area e gli interneuroni fast continuano ad auto-inibirsi, come nel precedente modello. Non sono previsti collegamenti tra queste popolazioni e le popolazioni di aree corticali differenti;
- le cellule piramidali inviano il proprio output agli interneuroni della stessa area corticale, alle popolazioni piramidali e agli interneuroni inibitori veloci delle altre aree corticali, e a tutti i nuclei talamo-reticolari e talamo-corticali simulati; rispetto al modello descritto nei capitoli precedenti, è stata eliminata l'autoeccitazione sulle cellule piramidali poiché sostituita dai collegamenti a lungo raggio tra regioni corticali diverse;
- ogni nucleo talamo-corticale invia informazioni a tutti i nuclei talamo-reticolari e a tutte le popolazioni piramidali, oltre che agli interneuroni inibitori fast presenti;
- ogni nucleo talamo-reticolare invia, infine, il proprio output a tutti i nuclei talamo-reticolari e talamo-corticali presenti. Il modello, rispetto al precedente, non prevede un'autoinibizione del TRN poiché sostituita da collegamenti laterali.

La scelta di associare ad ogni nucleo talamico tutte le regioni corticali presenti è giustificata dalle diverse tipologie di collegamenti che esistono tra il talamo e la corteccia. In particolare esiste una distinzione tra collegamenti talamo-corticali del primo ordine e collegamenti di ordine superiore [27]; quelli del primo ordine si riferiscono alle connessioni che garantiscono agli input sensoriali di raggiungere la regione corticale specializzata alla sua elaborazione, mentre nei collegamenti di ordine superiore rientrano quelli che garantiscono al talamo di essere da tramite nelle comunicazioni tra regioni corticali più distanti. Non c'è motivo di escludere che un

nucleo talamico formi connessioni di ordine superiore con con più regioni corticali e da qui la scelta nella topologia del modello in esame.

Gli input estrinseci alle diverse popolazioni sono gli stessi di quelli descritti nel capitolo 1.

Per quel che riguarda il valore dei parametri utilizzati nella simulazione, si tenga conto dei valori proposti nelle tabelle 1 e 2; partendo da tali valori, è stata fatta una considerazione riguardo agli input che una popolazione riceve dalle altre popolazioni: se una data popolazione, per esempio la popolazione dei piramidali, riceveva nel modello precedente un dato input dal TCN, deve ricevere complessivamente lo stesso input, anche se questa volta esso è una somma di segnali provenienti da nuclei talamo-corticali diversi. E' stato, inoltre, ipotizzato che la forza di connessione tra due popolazioni sia la stessa, sia che l'input ad una popolazione provenga da una popolazione appartenente allo stesso modulo talamo-corticale e sia che provenga da altri moduli. Per tale motivo, il valore di ogni connessione (come riportato in tabella 1) va diviso per il numero di popolazioni pre-sinaptiche dello stesso tipo. Se per esempio, la popolazione dei piramidali riceveva nel modello più semplice un input dal TCN attraverso una connessione la cui forza era pari a 3, in un modello più complesso in cui interagiscono tre moduli talamo-corticali, ogni popolazione dei piramidali riceve da ognuno dei tre TCN presenti, un input attraverso una connessione la cui forza è pari a 1 (cioè $3 \div 3$).

5.1.2 Segnali EEG della veglia e del sonno prodotti dal modello

Il modello matematico appena presentato genera segnali EEG delle diverse fasi della veglia e del sonno, allo stesso modo del modello a singolo modulo talamo-corticale. Come esempio, vengono rappresentati di seguito i grafici generati dal modello quando vengono simulate due moduli talamo-corticali accoppiati: complessivamente vengono simulati due regioni corticali, ognuna con le rispettive popolazioni di cellule piramidali, interneuroni inibitori veloci e lenti e interneuroni eccitatori, due nuclei talamo-corticali e due nuclei talamo-reticolari. Per brevità sono stati omessi dal testo i grafici relativi ai segnali nel tempo generati dalle singole popolazioni durante l'attività di tipo beta e di tipo theta. Un grafico (figura 44) riassume ciò che succede

allo spettro di potenza del potenziale di membrana medio delle due popolazioni piramidali, nel passaggio dalla fase beta (colore blu) alla fase theta (colore verde): si vede chiaramente come il picco massimo di potenza si sposti da un range di frequenze associate tipicamente ad un'attività beta, ad un altro range di frequenze più basse e associate ad attività theta. La differenza, seppur minima, che c'è, sia nel caso di attività theta che beta, tra le due curve, è dovuta al fatto che nel tempo i due segnali, seppur oscillando alle stesse frequenze, non sono identici: infatti, il rumore in ingresso alle due popolazioni piramidali è differente.

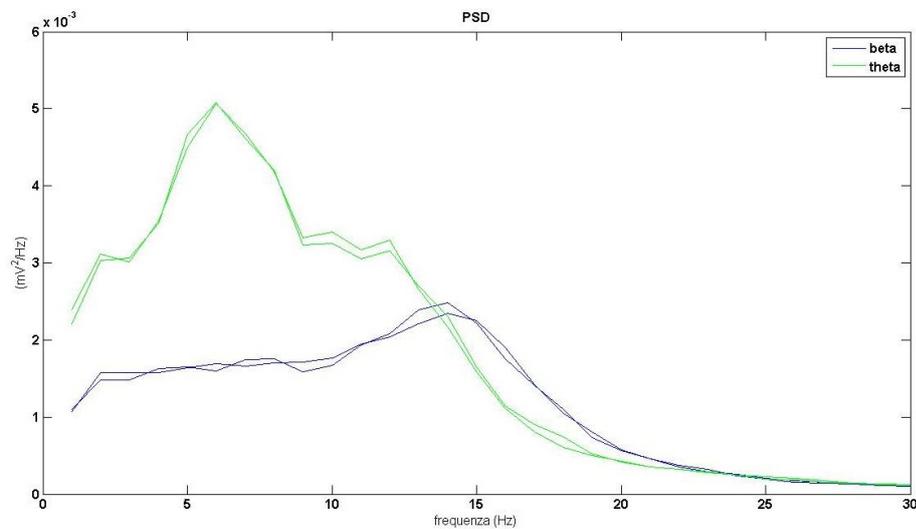


Figura 44. PSD del potenziale di membrana delle due popolazioni piramidali. In verde è presentato la PSD quando viene imposta l'attività theta e in blu quando viene imposta l'attività beta.

Per quel che riguarda la fase 2 del sonno, caratterizzata dalla presenza degli spindles, si rimanda alla figura 45. Come verrà meglio chiarito nel paragrafo successivo, si può osservare come, mentre tra uno spindle e l'altro le popolazioni hanno un'attività scorrelata e le oscillazioni sono governate dal rumore in ingresso, durante lo spindle le popolazioni si sincronizzano e generano oscillazioni sovrapponibili intorno ai 10 Hz.

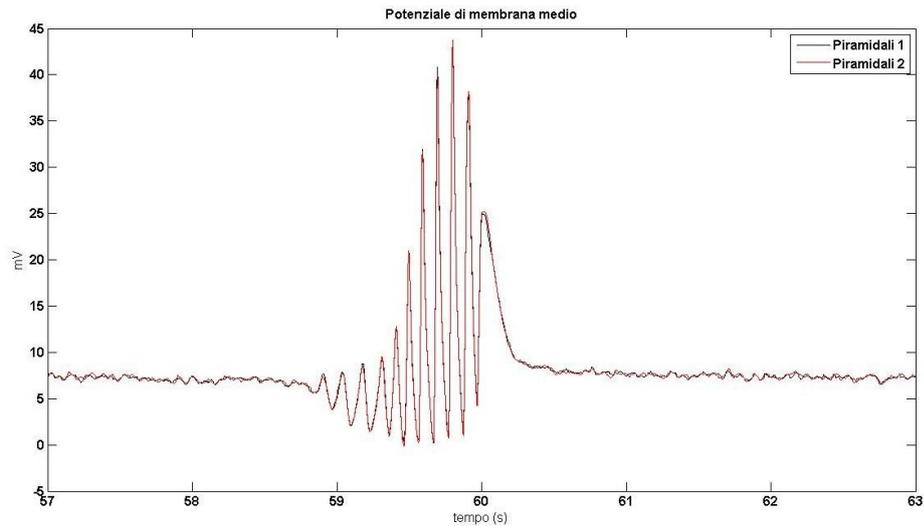


Figura 45. *Spindles nell'attività delle due popolazioni piramidali. Le attività sono sovrapposte per cui non è chiara la distinzione di colori usati per i due moduli talamo-corticali.*

La figura 46 mostra come il modello riesca a riprodurre le onde delta allo stesso modo del modello precedente. La frequenza con cui tali onde oscillano si aggira ancora intorno a 1-2 Hz.

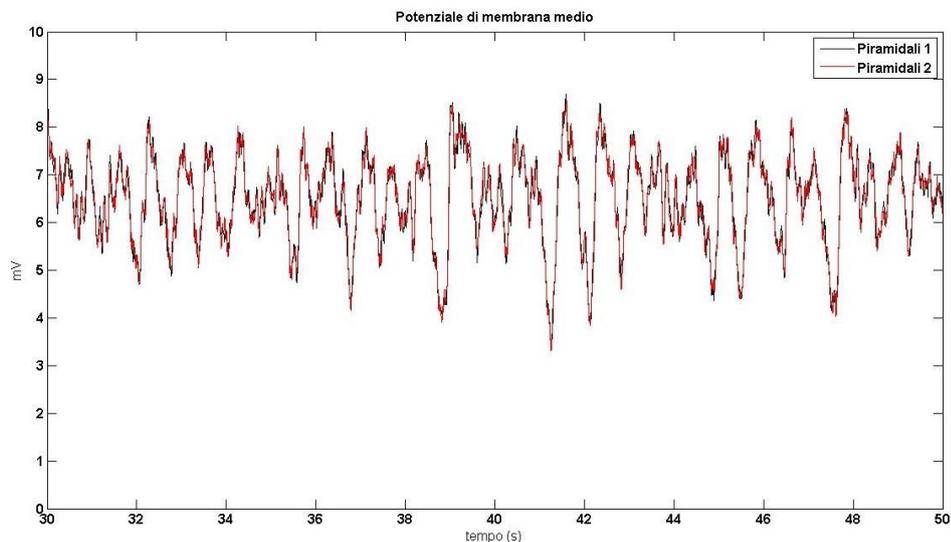


Figura 46. *Attività delta nelle due popolazioni piramidali.*

La figura 47, infine, chiarisce le dinamiche durante la fase ad onde lente del sonno. Come per gli spindles, risulta che tra una fase UP e l'altra, le popolazioni piramidali hanno un'attività scorrelata, mentre quando inizia la fase UP si sincronizzano e oscillano simultaneamente.

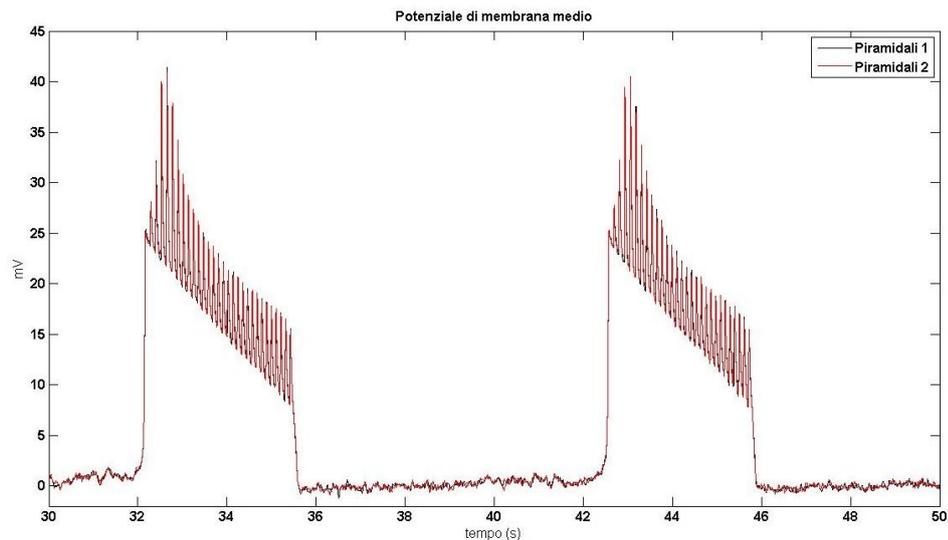


Figura 47. *SWS nelle due popolazioni piramidali.*

Negli esempi sono stati visualizzati i comportamenti del modello considerando due moduli talamo-corticali; i segnali mostrati possono, comunque, essere generati ugualmente con un numero maggiore di moduli, senza sostanziali cambiamenti alle caratteristiche delle onde. Inoltre, sembra che durante il sonno le popolazioni tendano a sincronizzare la propria attività. Il paragrafo successivo è dedicato allo studio di tale fenomeno.

5.2 SINCRONIZZAZIONE TRA LE POPOLAZIONI NEURALI DURANTE GLI SPINDLES E LE ONDE LENTE

Come più volte affermato, il TRN e i neuroni piramidali di una regione corticale ricevono, rispettivamente, input da altri TRN e da neuroni piramidali di altre regioni corticali. Nel modello descritto nei primi tre capitoli, questo non è stato esplicitamente simulato, ma, per ottimizzare il modello, tali collegamenti sono stati sostituiti da auto connessioni sull'unico TRN e sulla popolazione piramidale presenti. Durante le simulazioni dell'attività beta e theta questa semplificazione è ragionevole, in quanto tutte le popolazioni generano segnali stazionari e l'attività degli altri nuclei talamo-reticolari e delle altre regioni corticali ha sempre la stessa distribuzione di probabilità; questa ipotesi è invece difficilmente giustificabile durante le simulazioni

del sonno NREM, in cui vengono generati segnali non stazionari, in presenza di spindles e onde lente. Per questa ragione l'attività delle altre aree può avere diverse distribuzioni di probabilità in tempi diversi (ad esempio durante le fasi UP e DOWN di un'onda lenta), ma nel modello precedente si dava sempre per scontato che tali attività non stazionarie fossero sincronizzate tra diverse aree corticali o talamiche, dal momento che gli input laterali erano emulati con auto-eccitazioni o auto-inibizioni.

Il modello descritto in questo capitolo è un valido strumento per testare l'accuratezza dell'assunzione e validare ulteriormente il modello minimo a singolo modulo talamo-corticale. Inoltre, se il modello riuscisse a garantire la sincronia delle regioni cerebrali durante la generazione delle onde tipiche del sonno, questo potrebbe essere sfruttato, in lavori futuri, come strumento di indagine dei meccanismi che favoriscono, durante la notte, la memorizzazione.

Per verificare che le popolazioni si sincronizzino durante le fasi del sonno, in presenza di spindles e delle onde lente, è stata fatta l'analisi descritta qui di seguito. Sono stati simulati quattro moduli talamo-corticali, inizialmente connessi a coppia con ogni coppia svincolata dall'altra, come mostra la figura 48.

La connessione tra un modulo talamo-corticale ed un altro prevede che la popolazione dei piramidali di un modulo invii il proprio output alla popolazione dei piramidali, al TCN e al TRN dell'altro modulo; il TRN di un modulo invia informazioni al TRN e al TCN dell'altro modulo; e, infine, il TCN si collega ai neuroni piramidali e al TRN del modulo talamo-corticale accoppiato. La figura 49 mostra l'andamento del potenziale di membrana delle cellule piramidali, in presenza degli spindles, nella prima simulazione.

Successivamente, come mostra la figura 50, la prima coppia di moduli talamo-corticali invia il proprio output alla seconda coppia di moduli senza riceverne un feedback. Per fare dei confronti con la simulazione precedente è stato generato lo stesso rumore, in ingresso alle cellule piramidali, utilizzato precedentemente. La figura 51 mostra cosa succede in tale condizione.

Infine, i quattro moduli corticali sono stati connessi tra loro totalmente come descritto dalla figura 52. I risultati sono illustrati in figura 53.

Il segnale generato da ogni popolazione dei piramidali è stato raffigurato con un colore differente. Nella prima simulazione si vede come, in verità, siano due i colori

che risaltano, il rosso e il blu, poiché i moduli tra di loro connessi si sincronizzano perfettamente e le loro curve si sovrappongono totalmente, eccezion fatta per gli istanti di tempo tra uno spindle e il successivo in cui i due segnali non seguono perfettamente lo stesso andamento, a causa del rumore differente in ingresso alle popolazioni piramidali; la mancanza di collegamento tra le due coppie di moduli porta, poi, a due tracciati EEG in cui gli spindles sono generati in istanti temporali diversi. Questa prima simulazione ha permesso di verificare che gli spindles nascono casualmente per le dinamiche interne dei circuiti neuronali e che eventuali sincronizzazioni non sono legate a meccanismi interni al modello per i quali gli spindles sono generati sempre negli stessi istanti temporali.

Nella seconda simulazione si può osservare come questa volta ci sia un solo colore in evidenza e il tracciato EEG è perfettamente uguale a quello di colore rosso della precedente simulazione (poiché è stato utilizzato lo stesso rumore in ingresso per le diverse popolazioni piramidali): la coppia di moduli corticali che sta inviando il proprio segnale sta imponendo il suo ritmo e favorendo la sincronizzazione degli spindles nella seconda coppia di moduli.

Infine l'ultima simulazione, in cui i moduli sono completamente connessi tra loro, mostra un tracciato in cui gli spindles generati dalle popolazioni piramidali sono tra loro sovrapposti, poiché anche in questa occasione c'è sincronia; inoltre, il tracciato non è perfettamente sovrapponibile a quello della seconda simulazione, nonostante anche questa volta è stato mantenuto lo stesso rumore in ingresso, essendo un segnale generato dall'interazione di quattro moduli talamo-corticali e non più dall'interazione di due.

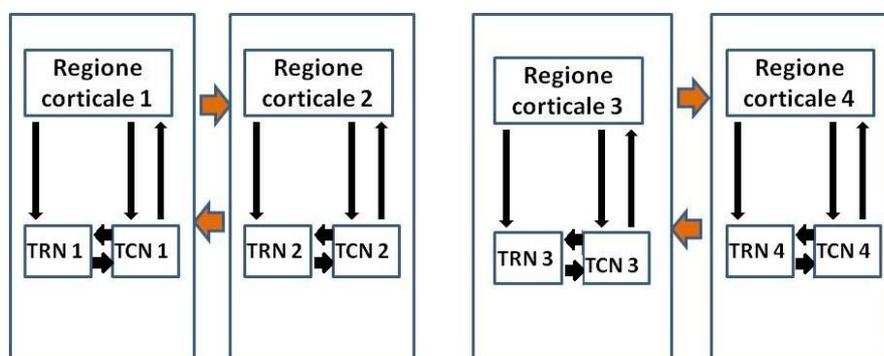


Figura 48. Schema di collegamento nella prima simulazione per l'analisi della sincronizzazione delle popolazioni durante spindles e SWS.

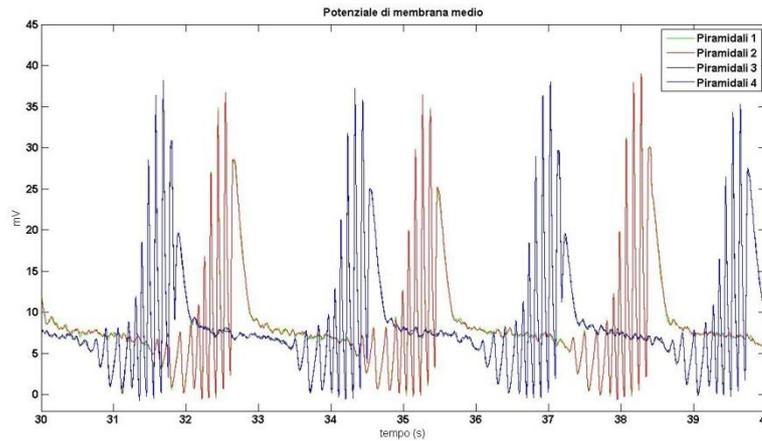


Figura 49. Risultati della prima simulazione in presenza di spindles. In blu si osserva l'attività della prima coppia di moduli talamo-corticali tra loro connessi e in rosso la seconda coppia.

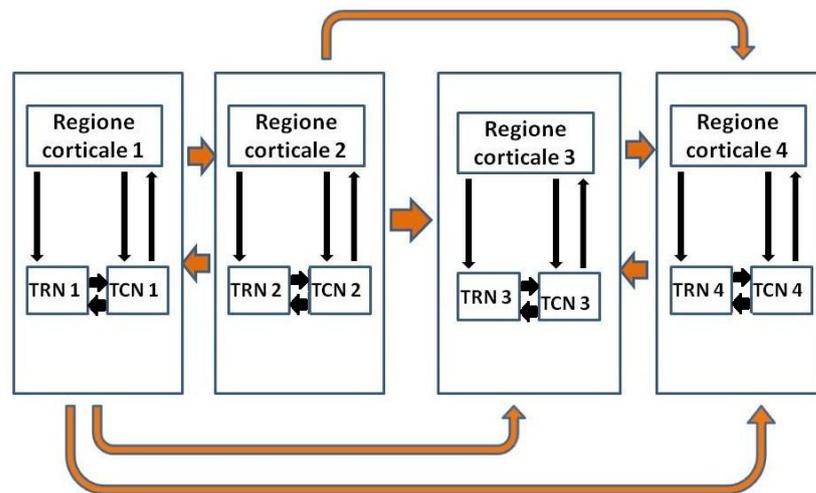


Figura 50. Schema di collegamento nella seconda simulazione per l'analisi della sincronizzazione delle popolazioni durante spindles e SWS.

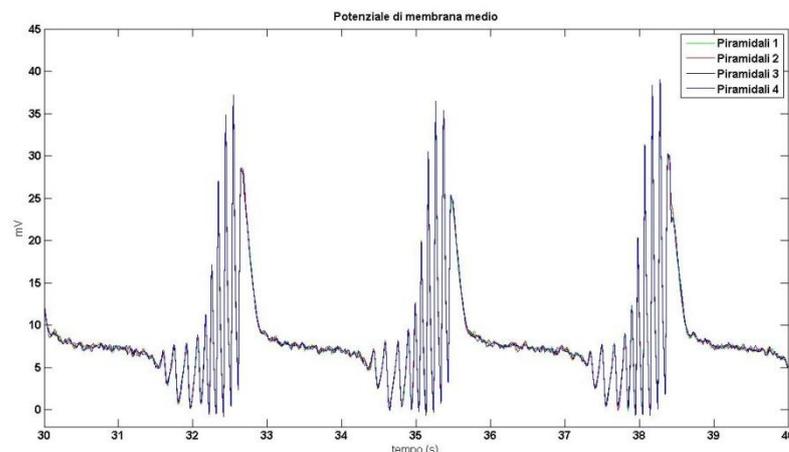


Figura 51. Risultati della seconda simulazione in presenza di spindles. La sovrapposizione delle onde permette l'osservazione di un solo colore.

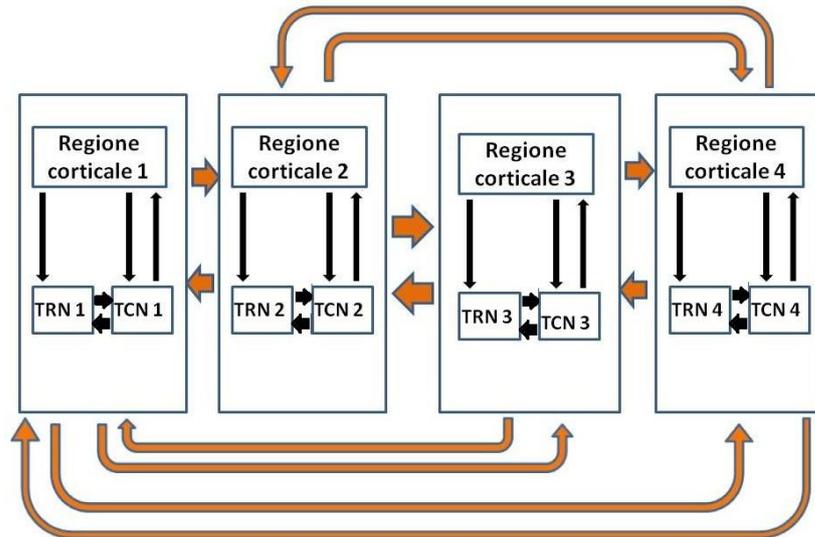


Figura 52. Schema di collegamento nella terza simulazione per l'analisi della sincronizzazione delle popolazioni durante spindles e SWS.

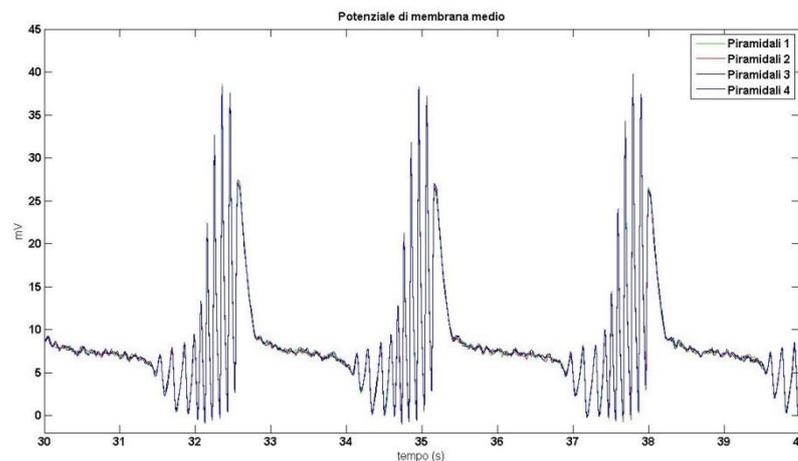


Figura 53. Risultati della terza simulazione in presenza di spindles.

Le stesse prove sono state effettuate impostando i parametri per la generazione delle onde lente e i risultati delle tre simulazioni sono mostrati, rispettivamente, nelle figure 54, 55 e 56. Tali risultati rispecchiano perfettamente quelli ottenuti con gli spindles, e quindi anche durante onde lente si ha una perfetta sincronizzazione tra le popolazioni.

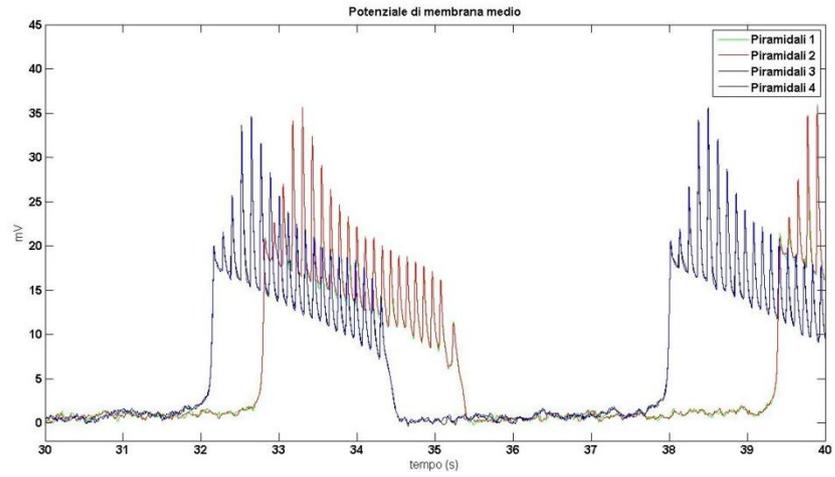


Figura 54. Risultati della prima simulazione in fase SWS.

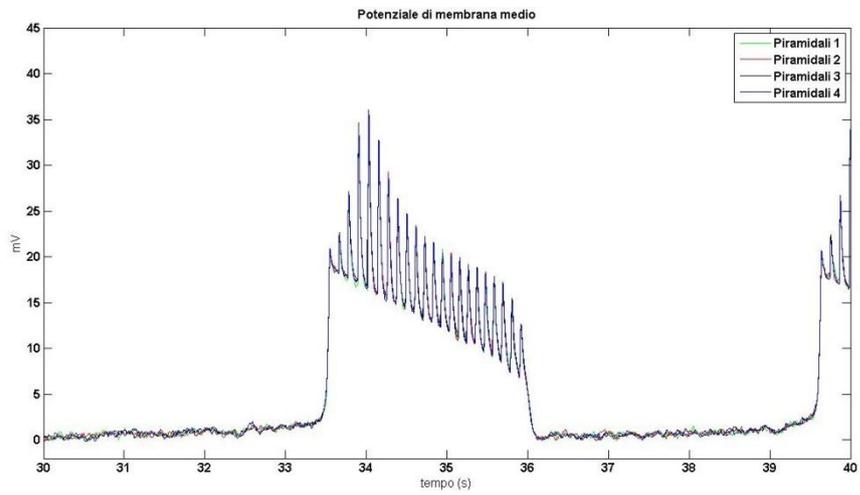


Figura 55. Risultati della seconda simulazione in fase SWS.

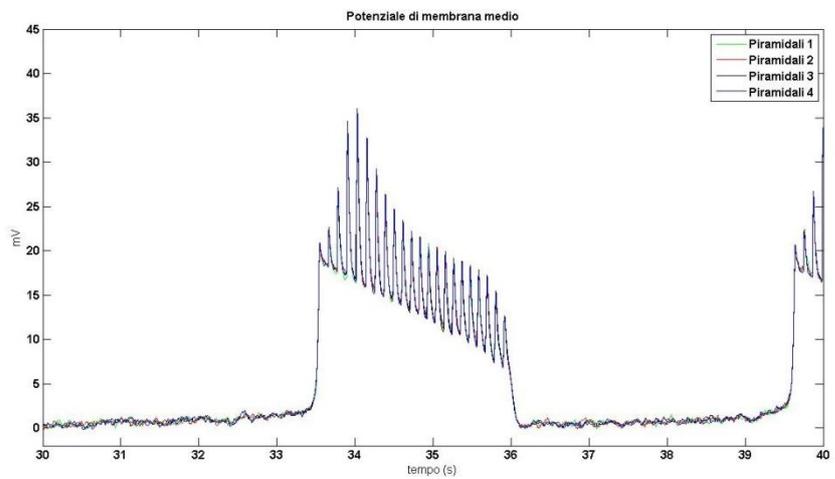


Figura 56. Risultati della terza simulazione in fase SWS.

In definitiva, è stato dimostrato che collegando moduli talamo-corticali diversi, le popolazioni, durante la generazione di segnali non stazionari, sincronizzano le proprie attività. Questo allora conferma l'ipotesi di partenza e permette di accettare la semplificazione adottata nel modello più semplice in cui i collegamenti a lungo raggio tra le popolazioni piramidali e i collegamenti laterali tra i TRN sono stati sostituiti da loop di collegamento su loro stessi.

Il modello si presta inoltre a possibili analisi future che riguardano le modalità con cui, durante il sonno, i vari circuiti cerebrali comunicano tra di loro, favoriscono la plasticità sinaptica e garantiscono fenomeni, come la memorizzazione, che sembrano legati alla sincronizzazione delle aree corticali durante la generazione degli spindles e delle onde lente.

CAPITOLO 6

6.1 DISCUSSIONE

Il presente lavoro di tesi è nato con lo scopo di sfruttare le caratteristiche e i vantaggi offerti dai modelli di massa neurale, per simulare i segnali EEG durante le fasi della veglia e del sonno.

Il primo modello che è stato analizzato è un modello di massa neurale in cui vengono fatte interagire tre strutture del sistema nervoso centrale, che la letteratura indica come i principali oscillatori determinanti i ritmi del sonno: la corteccia, i nuclei talamo-corticali e i nuclei talamo-reticolari. Tale modello è ridotto all'essenziale in quanto prevede l'interazione tra una sola regione corticale, un nucleo talamo-corticale e un nucleo talamo-reticolare.

Il secondo modello è invece più complesso, poiché prevede che siano più regioni corticali, più nuclei talamo-corticali e più nuclei talamo-reticolari ad interagire tra loro.

Nei paragrafi successivi verranno discussi gli obiettivi del lavoro con i risultati raggiunti, i limiti dei modelli e i possibili sviluppi nel futuro.

6.1.1 Obiettivi dello studio e risultati raggiunti

I modelli sono nati innanzitutto con lo scopo di identificare come tre strutture del SNC, le regioni corticali, i nuclei talamo-corticali e i nuclei talamo-reticolari, interagiscano tra di loro e producano in uscita i segnali che comunemente osserviamo, attraverso l'EEG, durante gli stati della veglia e del sonno. Per ogni modalità di funzionamento del modello è stata poi analizzata la risposta a stimoli provenienti dall'esterno e imposti quindi come ingresso alla struttura talamo-corticale.

Il primo modello realizzato prevede un numero minimo di popolazioni tra loro collegate: una regione corticale definita da quattro popolazioni neuronali (piramidali di natura eccitatoria, interneuroni eccitatori, interneuroni inibitori con dinamiche

sinaptiche veloci e interneuroni inibitori con dinamiche sinaptiche lente); un nucleo talamo-corticale, definito da una popolazione di neuroni eccitatori e in grado sia di generare attività tonica che attività burst dei potenziali d'azione; ed infine, un nucleo talamo-reticolare, definito da una popolazione di neuroni inibitori, anch'essa in grado di generare attività tonica e burst e in grado di determinare l'attivazione di due tipi di recettori post-sinaptici, GABA_A e GABA_B.

Cinque sono i ritmi che il modello è in grado di sviluppare variando gli input modulatori in ingresso alle popolazioni simulate: il ritmo beta, il ritmo theta, gli spindles, il ritmo delta e le onde lente del sonno. Seguendo i suggerimenti dati dalla letteratura, la transizione dalla veglia al sonno è stata ottenuta diminuendo gli input modulatori alla corteccia e al TCN e aumentandoli al TRN.

Il ritmo beta è caratterizzato da una PSD ampia che prevede un picco intorno ai 15 Hz; il ritmo nasce quando le tre strutture interagenti sono in fase di depolarizzazione. Quando viene imposto uno stimolo dall'esterno questo raggiunge la corteccia senza subire delle modifiche sostanziali, per cui la corteccia, durante la fase di veglia, è in grado di ricevere ed elaborare l'informazione proveniente dall'esterno.

Il ritmo theta prevede una PSD con un picco intorno ai 7 Hz e un range di frequenze che racchiude anche attività di tipo alpha; il ritmo si ottiene quando le tre strutture sono meno depolarizzate rispetto all'attività beta. Non ci sono sostanziali differenze per quel che riguarda la risposta agli stimoli, in quanto anche in questo caso lo stimolo arriva in corteccia imperturbato. Durante l'attività theta è possibile che il modello generi degli spindles, anche se raramente. Questo conferma quanto riferito dalla letteratura scientifica, e cioè che i ritmi cerebrali, nei diversi stati in cui si trova un soggetto, non sono tra di loro separati, ma possono coesistere.

Le onde simulate dal modello che possono essere associate a spindles sono delle oscillazioni della durata di circa 1 secondo a 10 Hz e che si ripetono ogni 4-5 secondi; essi sono intervallati da fasi in cui la popolazione dei piramidali è in fase di depolarizzazione mentre il TCN e il TRN sono leggermente depolarizzati e vicini alla soglia per lo scatenamento dei burst. Quando il TRN si iperpolarizza e genera i burst, spinge il TCN, dopo qualche istante, a generare burst anch'esso e a determinare un meccanismo di auto sostentamento che dura qualche secondo e che impone uno spindle in corteccia; la fine dello spindle è determinata dall'effetto depolarizzante della popolazione dei piramidali che riporta il TCN e il TRN nello

stato di leggera depolarizzazione. Il TRN si dimostra la struttura pace-maker nella generazione dello spindle confermando quanto osservato dai diversi autori che si sono occupati delle dinamiche di generazione degli spindle. Se uno stimolo sensoriale viene dato a questo livello di funzionamento, la corteccia non riceve l'informazione poiché questa viene mascherata con lo sviluppo di un nuovo spindle. Questo meccanismo potrebbe spiegare come un soggetto che sta dormendo rimane ignaro di ciò che sta succedendo nell'ambiente che lo circonda.

Il ritmo delta è definito da onde in un range di frequenza tra gli 1 e i 2 Hz; il TRN è iperpolarizzato e non partecipa alla sua generazione, mentre la popolazione piramidale lavora in regione lineare e il TCN è leggermente depolarizzato. Le onde delta sono spesso intervallate da qualche spindle, quando il TRN dallo stato di iperpolarizzazione raggiunge la soglia per la generazione dei burst. Anche in questo caso, se viene imposto in ingresso uno stimolo sensoriale, in corteccia si genera uno spindle e l'informazione recata dallo stimolo viene completamente distrutta e sostituita da un'onda tipica delle fasi del sonno.

Le onde lente simulate dal modello sono dei segnali in cui a delle fasi di depressione della popolazione dei piramidali si alternano delle fasi in cui la popolazione piramidale è completamente attiva. La frequenza con cui le fasi UP si generano è minore di 1 Hz; durante la fase UP si genera una attività oscillatoria ad una frequenza di circa 9 Hz. Durante la fase DOWN, il TRN e il TCN sono in fase di iperpolarizzazione, mentre la fase UP è garantita da un'intensa attività burst delle due popolazioni talamiche. Affinché ci sia alternanza tra una fase UP e una fase DOWN è stato necessario inserire nel modello una disfacilitazione del loop auto eccitatorio della popolazione piramidale, che simula i collegamenti tra cellule piramidali di regioni corticali diverse. A grandi linee le onde prodotte dal modello riproducono ciò che la letteratura indica, e cioè che la fase del sonno ad onde lente è definita da periodi in cui l'attività delle cellule piramidali è minima, intervallati da periodi in cui si registrano attività simili a quelle misurate durante la veglia. Inoltre il modello conferma l'idea che le onde lente siano di origine corticale, infatti simulazioni del modello per cui sono state annullate le connessioni dal TCN alla corteccia, hanno garantito comunque la generazione di tale tipologia di onde.

Anche in tale modalità di funzionamento gli stimoli non raggiungono la corteccia, sia quando lo stimolo è imposto durante la fase DOWN, sia quando è imposto durante la

fase UP: nella fase DOWN infatti, il talamo è iperpolarizzato per cui se lo stimolo ha un'ampiezza più piccola di una certa soglia, il potenziale rimane iperpolarizzato e blocca il passaggio dello stimolo verso la corteccia, mentre se l'ampiezza dello stimolo è più alta il potenziale talamico raggiunge la soglia per la generazione dei burst e anticipa lo sviluppo della fase UP successiva; se invece lo stimolo è imposto in fase UP, questo non ha effetto sulla popolazione piramidale poiché questa si trova in regione di saturazione e l'effetto di eccitazione dello stimolo non cambia il suo stato di funzionamento.

Una volta che il modello ha simulato in modo verosimile la genesi di gran parte dei segnali tipici della veglia e del sonno, esso è stato utilizzato per il fitting di dati reali, ricavati da soggetti sottoposti a impulsi TMS. Tale analisi ha avuto da una parte lo scopo di verificare che il modello riuscisse a riprodurre dei segnali reali, e dall'altra di fare uno studio approfondito su quali potessero essere i parametri di connessione che, variando da una regione corticale ad un'altra, determinano dinamiche diverse all'interno della corteccia. I segnali reali utilizzati in tale procedura sono dei segnali ricavati da tre zone corticali, in seguito all'applicazione di impulsi TMS: la regione occipitale, la cui frequenza naturale di oscillazione è intorno agli 11 Hz, la regione parietale, con frequenze naturali dell'ordine dei 20 Hz e la regione frontale con frequenze più alte che toccano i 30 Hz. Il modello, attraverso un processo di minimizzazione di una funzione costo ai minimi quadrati tra il segnale reale e quello simulato, è stato in grado di produrre delle onde alla frequenza dei segnali proposti. Attraverso un'analisi di sensitività in cui sono stati messi a confronto visivamente il segnale reale e il segnale simulato, sono stati individuati quattro parametri che sembrano svolgere un importante ruolo nelle dinamiche interne di un modulo talamo-corticale: C_{ff} , C_{pf} , C_{fp} e C_{pt} . Confermando i risultati di modelli corticali del passato, l'aumento della forza del loop tra le cellule piramidali e gli interneuroni inibitori fast e della forza di auto inibizione di questi ultimi garantisce delle dinamiche più veloci all'interno di un'area corticale; inoltre, sembra che il talamo abbia una maggiore influenza sulle regioni occipitali, garantendo attività di tipo alpha, rispetto alle regioni più frontali che viaggiano a frequenze nettamente maggiori.

Un modello più complesso è stato sviluppato nell'ultima parte del lavoro di tesi. Tale modello, sfruttando le stesse equazioni del modello precedente, permette di simulare l'interazione tra più moduli talamo-corticali. L'implementazione di questo modello

ha avuto come obiettivo, da una parte quello di verificare che si riescano ancora a generare le onde tipiche della veglia e del sonno, dall'altra di analizzare e confermare che le regioni corticali, quando vengono simulati segnali EEG non stazionari, in presenza degli spindles e delle onde lente, si sincronizzano. Nel modello precedente, per minimizzare la complessità del problema, è stata fatta un'assunzione in base alla quale le connessioni tra le diverse regioni corticali sono state sostituite con un loop di auto eccitazione dell'unica popolazione piramidale presente, e le connessioni laterali tra i diversi nuclei talamo-reticolari con un loop di auto inibizione dell'unico TRN simulato. Tale assunzione partiva proprio dall'ipotesi che durante la generazione di onde non stazionarie le varie strutture si sincronizzassero e generassero segnali di pari ampiezza nei medesimi istanti. La sincronizzazione delle regioni corticali durante il sonno sembra essere un meccanismo molto importante grazie al quale i circuiti neuronali si modificano e garantiscono il consolidamento della memoria nelle ore notturne.

Attraverso la simulazione di un modello che ha previsto l'interazione di quattro moduli talamo-corticali è stato dimostrata la capacità delle aree corticali di sincronizzarsi in presenza degli spindles e delle onde lente, verificando l'ipotesi utilizzata nel modello minimo e garantendo la possibilità in futuro di analizzare, attraverso il modello, come la sincronia favorisca alcuni processi di plasticità delle sinapsi.

6.1.2 Limiti dei modelli

Un modello matematico è sempre una rappresentazione "povera" della realtà e non sempre è in grado di simulare perfettamente la realtà che riproduce.

I modelli proposti presentano, innanzitutto, dei limiti nella generazione di alcuni segnali EEG comunemente misurati. Tipicamente nella fase dell'addormentamento, un soggetto presenta un passaggio graduale da ritmi tipici della veglia, come per esempio il ritmo beta, a ritmi più lenti, prima di tipo alpha e poi di tipo theta. I modelli non sono in grado di determinare un passaggio così graduale, ma riducendo anche di poco gli input su TCN e corteccia, si osserva un passaggio netto da un ritmo beta ad un ritmo più lento, la cui PSD ha componenti significative alle frequenze sia

della banda theta che della banda alpha. Abbassando ulteriormente gli input, vengono generati degli spindles, per cui non si riescono a generare indipendentemente prima un ritmo alpha e poi un ritmo theta.

In secondo luogo non convincono del tutto le onde lente simulate dal modello. Un primo problema riguarda la fase UP, caratterizzata da oscillazioni auto sostenute e stereotipate dovute alla contemporanea generazione dei burst nel TCN e nel TRN: la letteratura [3] parla invece di fase UP come un frammento di veglia, per cui ci si aspetta che le onde siano simili ad una fase beta e quindi più rumorose. Inoltre la fase UP del segnale simulato è caratterizzata dal fatto che la popolazione dei piramidali lavora in regime di saturazione, cioè al massimo delle sue possibilità: è difficile immaginare che durante una fase di sonno profondo esistano degli intervalli temporali in cui le cortecce siano così attive e lavorino in maniera così forte.

Per quel che riguarda gli spindles, gli autori parlano di onde che, durante questa fase, oscillano tra i 7 e i 14 Hz nei gatti [8], mentre per gli esseri umani parlano di un range di frequenze tra i 12 e i 15 Hz [8], [28]. Il modello produce al massimo oscillazioni intorno ai 10-11 Hz; la difficoltà di simulare spindle a frequenze più alte, rappresenta un altro limite alle caratteristiche del modello. A questo si aggiunge l'impossibilità di far lavorare il modello in un regime tale da generare un'altra tipologia di onde, tipiche della fase 2 del sonno e che si osservano solitamente prima di uno spindle, chiamati complessi-k (k-complex).

C'è inoltre da segnalare una problematica, legata più che altro all'efficienza computazionale del modello più complesso che prevede più moduli talamo-corticali interagenti: il modello infatti presenta dei tempi di simulazione eccessivamente lunghi, per cui per ora non è adatto a processi di fitting dei dati reali in quanto richiederebbero tempi di attesa inaccettabili.

6.1.3 Sviluppi futuri

Gli sviluppi futuri di tale lavoro di tesi riguardano, in primo luogo, la risoluzione delle problematiche presentate nel paragrafo precedente. Il miglioramento delle caratteristiche delle onde simulate dal modello e la generazione di altre tipologie di onde, come i complessi-k, potrebbero essere ottenuti andando a studiare e modificare

quei parametri che nel presente lavoro di tesi sono stati lasciati invariati e non soggetti ad analisi di sensitività. Infatti, il modello presenta un numero di parametri estremamente elevato e sarebbe stato poco vantaggioso includere nell'analisi di sensitività tutti i parametri presenti sin dall'inizio; per tale motivo, in questo lavoro, sono stati imposti mantenuti fissi alcuni parametri ricavati dalla letteratura e utilizzati in modelli di massa neurale precedentemente sviluppati, mentre è stata effettuata un'analisi approfondita di quei parametri di connessione tra la corteccia e i nuclei talamici, per i quali la letteratura neurofisiologica, fin'ora, non fornisce valori condivisi.

Ancora poche informazioni si hanno sui meccanismi di generazione delle onde lente. E' vero che diversi autori sostengono che durante le fasi UP, in particolare, si osservano dei frammenti di veglia e che questi probabilmente sono legati al fenomeno del consolidamento della memoria durante il sonno [1], [3], [7], ma ancora non è chiaro cosa intendano tali autori per frammenti di veglia; e ancora, come mai, se è vero che il soggetto sta sviluppando, durante la notte, dei segnali che sono tipici della veglia, rimanga incosciente e non consapevole di ciò che sta succedendo intorno. Uno studio più approfondito di quali meccanismi sottendano tali segnali sarebbe utile per sviluppare un modello più vicino alla realtà e che riproducesse più fedelmente segnali accostabili alle onde lente.

Per quel che riguarda il fitting dei dati, è auspicabile che in futuro si possano adottare degli strumenti matematici più complessi. In particolare sarebbe preferibile, da una parte adottare una funzione costo più sofisticata della semplice stima dei quadrati delle differenze tra il segnale simulato e il segnale reale, e dall'altra adottare un qualche algoritmo che possa determinare quantitativamente quali siano i parametri che variano da un'area corticale ad un'altra, favorendo le diverse dinamiche interne e le frequenze naturali di cui si caratterizzano.

Una volta risolti i problemi di complessità computazionale del modello a più moduli talamo-corticali, questo potrebbe essere sfruttato, attraverso il fitting dei segnali reali, per stimare non solo i parametri interni ad ogni area corticale ma anche i parametri di connessione tra aree corticali differenti, per avere un quadro più completo della fisiologia del sistema nervoso centrale.

Un modello che riuscisse a stimare correttamente i parametri di un paziente fittando i suoi dati reali, fornirebbe uno strumento di notevole utilità alla neurofisiologia,

poiché sarebbe in grado di determinare in soggetti patologici le aree del cervello danneggiate e quindi le connessioni neuronali che vengono meno; in questo modo sarebbe possibile sviluppare delle tecniche mirate alla cura di patologie ancora oggi inesplorate e irreparabili.

Inoltre il modello con più moduli corticali potrebbe essere uno strumento di analisi di come le varie regioni cerebrali comunichino tra di loro e favoriscano processi mentali come l'apprendimento, la memorizzazione, il "binding", ecc.

CONCLUSIONI

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di indagare le possibilità di utilizzo di un modello neurale come strumento di indagine delle dinamiche che sottendono la generazione dei ritmi EEG. Negli ultimi decenni sono stati sviluppati tanti modelli neurali con lo scopo di descrivere le attività cerebrali; i modelli, con il passare del tempo, hanno subito un'evoluzione rispetto ai precedenti e hanno raggiunto una complessità e un perfezionamento sempre maggiori.

I modelli sviluppati e analizzati in questo lavoro di tesi, rientrano in questo contesto e sono nati con la pretesa di migliorare i lavori del passato e aggiungere dei meccanismi cerebrali che fin'ora non erano stati riprodotti con modelli di massa neurale.

In particolare, la letteratura manca di modelli di massa neurale in cui si fanno interagire la corteccia con le strutture del talamo. Fin'ora infatti gli autori si sono occupati più che altro di indagare le dinamiche interne di una regione corticale, o talamica, e i collegamenti tra le varie cortecce, con lo scopo di simulare i segnali EEG della veglia. Per poter garantire che anche i fenomeni del sonno fossero introdotti in un modello neurale, è stato necessario aggiungere, alle popolazioni corticali, due popolazioni di natura talamica: il nucleo talamo-corticale e il nucleo talamo-reticolare. Queste popolazioni sono state modellate con delle equazioni che prevedono, non solo la possibilità di generare un'attività tonica, ma anche un tipo di attività, quella burst che è soprattutto osservata durante il sonno.

Il primo modello, che prevede l'interconnessione tra una regione corticale, il TCN e il TRN, si è rivelato in grado di produrre in uscita diversi segnali tipici sia della veglia che del sonno. Inoltre, un'analisi della risposta agli stimoli sensoriali ha mostrato la capacità del modello di simulare gran parte dei fenomeni, documentati da pubblicazioni neurofisiologiche, che i meccanismi di gating da parte del talamo.

Il modello è stato capace, in un'analisi successiva, di fittare con discreto successo segnali EEG reali ricavati da soggetti sottoposti ad impulsi TMS. Attraverso il modello è auspicabile che si possano stimare le forze di connessione tra le popolazioni interne ad un'area corticale e tra un'area corticale e i rispettivi nuclei talamo-corticale e talamo-reticolare.

Come base per approfondimenti nel futuro è stato sviluppato un altro modello in cui più regioni corticali, più TCN e più TRN sono fatti interagire. Tale modello ha dimostrato come durante il sonno, le regioni corticali si sincronizzano e generino contemporaneamente segnali non stazionari come gli spindles e le onde lente. Ciò potrebbe essere utile per lo studio dei meccanismi di consolidamento della memoria durante il sonno. Inoltre il modello completo potrebbe rappresentare, in futuro, un valido strumento per stimare le forze di interconnessione tra le aree cerebrali simulate e individuare, per esempio, quali strutture sono interessate da fenomeni patologici.

BIBLIOGRAFIA

- [1] B. J. Baars e N. M. Gage, *Cognition, Brain, and Consciousness: Introduction to Cognitive Neuroscience*. Academic Press, 2010.
- [2] D. A. McCormick e T. Bal, «Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms», *Annu. Rev. Neurosci.*, vol 20, pagg 185–215, 1997.
- [3] A. Destexhe, S. W. Hughes, M. Rudolph, e V. Crunelli, «Are corticothalamic ‘up’ states fragments of wakefulness?», *Trends Neurosci.*, vol 30, n° 7, pagg 334–342, Lug 2007.
- [4] J. A. Hobson e E. F. Pace-Schott, «The cognitive neuroscience of sleep: neuronal systems, consciousness and learning», *Nat. Rev. Neurosci.*, vol 3, n° 9, pagg 679–693, Set 2002.
- [5] V. Crunelli e S. W. Hughes, «The slow (<1 Hz) rhythm of non-REM sleep: a dialogue between three cardinal oscillators», *Nat. Neurosci.*, vol 13, n° 1, pagg 9–17, Gen 2010.
- [6] M. Steriade, «Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation», *Neuroscience*, vol 101, n° 2, pagg 243–276, 2000.
- [7] M. Steriade, «Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems», *Neuroscience*, vol 137, n° 4, pagg 1087–1106, 2006.
- [8] M. Steriade, «The corticothalamic system in sleep», *Front. Biosci.*, vol 8, pagg d878–899, Mag 2003.
- [9] H. R. Wilson e J. D. Cowan, «Excitatory and inhibitory interactions in localized populations of model neurons», *Biophys. J.*, vol 12, n° 1, pagg 1–24, Gen 1972.
- [10] W. J. Freeman, «Models of the dynamics of neural populations», *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl*, n° 34, pagg 9–18, 1978.
- [11] F. H. Lopes da Silva, A. Hoeks, H. Smits, e L. H. Zetterberg, «Model of brain rhythmic activity. The alpha-rhythm of the thalamus», *Kybernetik*, vol 15, n° 1, pagg 27–37, Mag 1974.
- [12] B. H. Jansen, G. Zouridakis, e M. E. Brandt, «A neurophysiologically-based mathematical model of flash visual evoked potentials», *Biol Cybern*, vol 68, n° 3, pagg 275–283, 1993.
- [13] B. H. Jansen e V. G. Rit, «Electroencephalogram and visual evoked potential generation in a mathematical model of coupled cortical columns», *Biol Cybern*, vol 73, n° 4, pagg 357–366, Set 1995.
- [14] F. Wendling, F. Bartolomei, J. J. Bellanger, e P. Chauvel, «Epileptic fast activity can be explained by a model of impaired GABAergic dendritic inhibition», *Eur. J. Neurosci.*, vol 15, n° 9, pagg 1499–1508, Mag 2002.

- [15] M. Ursino, M. Zavaglia, L. Astolfi, e F. Babiloni, «Use of a neural mass model for the analysis of effective connectivity among cortical regions based on high resolution EEG recordings», *Biol Cybern*, vol 96, n° 3, pagg 351–365, Mar 2007.
- [16] O. David e K. J. Friston, «A neural mass model for MEG/EEG: coupling and neuronal dynamics», *Neuroimage*, vol 20, n° 3, pagg 1743–1755, Nov 2003.
- [17] F. Cona, M. Zavaglia, L. Astolfi, F. Babiloni, e M. Ursino, «Changes in EEG power spectral density and cortical connectivity in healthy and tetraplegic patients during a motor imagery task», *Comput Intell Neurosci*, pag 279515, 2009.
- [18] M. Zavaglia, F. Cona, e M. Ursino, «A neural mass model to simulate different rhythms in a cortical region», *Comput Intell Neurosci*, pag 456140, 2010.
- [19] M. Ursino, F. Cona, e M. Zavaglia, «The generation of rhythms within a cortical region: analysis of a neural mass model», *Neuroimage*, vol 52, n° 3, pagg 1080–1094, Set 2010.
- [20] P. Suffczynski, S. Kalitzin, G. Pfurtscheller, e F. H. Lopes da Silva, «Computational model of thalamo-cortical networks: dynamical control of alpha rhythms in relation to focal attention», *Int J Psychophysiol*, vol 43, n° 1, pagg 25–40, Dic 2001.
- [21] M. Pirini e M. Ursino, «mass model of interconnected thalamic populations including both Tonic and Burst firing mechanisms», *International journal of bioelectromagnetism*, vol 12, pagg 26–31, 2010.
- [22] D. Contreras e M. Steriade, «Cellular basis of EEG slow rhythms: a study of dynamic corticothalamic relationships», *J. Neurosci.*, vol 15, n° 1 Pt 2, pagg 604–622, Gen 1995.
- [23] P. Fuentealba e M. Steriade, «The reticular nucleus revisited: intrinsic and network properties of a thalamic pacemaker», *Prog. Neurobiol.*, vol 75, n° 2, pagg 125–141, Feb 2005.
- [24] M. Bazhenov, I. Timofeev, M. Steriade, e T. J. Sejnowski, «Model of thalamocortical slow-wave sleep oscillations and transitions to activated States», *J. Neurosci.*, vol 22, n° 19, pagg 8691–8704, Ott 2002.
- [25] M. Rosanova, A. Casali, V. Bellina, F. Resta, M. Mariotti, e M. Massimini, «Natural frequencies of human corticothalamic circuits», *J. Neurosci.*, vol 29, n° 24, pagg 7679–7685, Giu 2009.
- [26] F. Cona, M. Zavaglia, M. Massimini, M. Rosanova, e M. Ursino, «A neural mass model of interconnected regions simulates rhythm propagation observed via TMS-EEG», *Neuroimage*, vol 57, n° 3, pagg 1045–1058, Ago 2011.

- [27] S. Sherman, «Thalamus», *Scholarpedia*, vol 1, n° 9, pag 1583, 2006.
- [28] P. A. Robinson, A. J. K. Phillips, B. D. Fulcher, M. Puckeridge, e J. A. Roberts, «Quantitative modelling of sleep dynamics», *Philos Transact A Math Phys Eng Sci*, vol 369, n° 1952, pagg 3840–3854, Ott 2011.