



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'ENERGIA ELETTRICA E
DELL'INFORMAZIONE "GUGLIELMO MARCONI" – DEI

Corso di Laurea in Ingegneria Biomedica

DECODIFICA NEURALE DALLA CORTECCIA
PREMOTORIA DORSALE DI MACACO
DURANTE I MOVIMENTI DI REACHING:
CONFRONTO TRA COORDINATE SPAZIALI E
PARAMETRI BIOMECCANICI PER
APPLICAZIONI BCI

Tesi di laurea in
FISIOLOGIA

Relatore

Prof. MATTEO FILIPPINI

Presentata da

GIULIA MOLINARI

Anno Accademico 2024/2025

INDICE

1. INTRODUZIONE	1
1.1 Reti neurali e interfacce cervello-computer (BCI)	1
1.2 L'area F2 della corteccia premotoria dorsale (PMd)	3
1.3 Il ruolo dei neuroni motori nella codifica dell'azione	5
1.4 Confronto tra coordinate spaziali e parametri articolari e muscolari	7
2. SCOPO DELLA TESI	8
3. MATERIALI E METODI	9
3.1 Soggetto sperimentale e acquisizione dati	9
3.2 Tracciamento del movimento con metodi markerless: DeepLabCut e Anipose	11
3.2.1 DeepLabCut: stima della postura in 2D basata su deep learning	11
3.2.2 Implementazione sperimentale di DeepLabCut.....	12
3.2.3 Anipose: ricostruzione tridimensionale e calibrazione multicamera	13
3.2.4 Sincronizzazione video, filtraggio e post-processing dei dati	13
3.3 Modellazione biomeccanica in OpenSim	15
3.3.1 Il software OpenSim	15
3.3.2 Creazione del modello virtuale	20
3.3.3 Inserimento dei dati sperimentali e cinematica inversa	21
3.4 Estrazione dei parametri articolari e muscolari	22
3.4.1 Angoli articolari, velocità e accelerazioni	23
3.4.2 Analisi delle lunghezze muscolari	25
3.4.3 Preparazione del dataset finale.....	26
3.5 Rete neurale LSTM e analisi dell'attività neurale	27
4. RISULTATI	32
4.1 Dati grezzi e ricostruzione tridimensionale dell'arto	32
4.2 Accuratezza del modello LSTM con input differenti	37
5. DISCUSSIONE	43

5.1 Differenze tra coordinate spaziali e altri parametri.....	43
5.2 Interpretazione dei risultati	44
5.3 Implicazioni per la neuroscienza del movimento e le BCI.....	46
5.4 Limiti dello studio e prospettive future.....	47
6. CONCLUSIONE.....	50
7. BIBLIOGRAFIA.....	52

1. INTRODUZIONE

1.1 Reti neurali e interfacce cervello-computer (BCI)

Le interfacce cervello-computer (Brain-Computer Interfaces, BCI) sono sistemi che permettono di trasformare i segnali neurali in comandi per controllare dispositivi esterni. La loro importanza risiede sia nelle applicazioni cliniche, come il ripristino di funzioni motorie in pazienti con lesioni neurologiche, sia nella possibilità di approfondire la conoscenza dei meccanismi alla base del controllo motorio. In generale, una BCI è costituita da tre elementi principali: un sistema di acquisizione del segnale (sensori neurali), un decoder, che elabora i segnali registrati per estrarne informazioni significative, e un attuatore, cioè il dispositivo controllato dal segnale decodificato. All'interno di questo schema, la fase di decoding è particolarmente cruciale, poiché consiste nel ricostruire i parametri del movimento a partire dall'attività neuronale. È proprio in questa fase che si concentrano molte delle sfide attuali, legate alla complessità e alla natura non lineare delle relazioni tra attività cerebrale e comportamento motorio (Mridha *et al.*, 2021).

Decodificare i parametri del movimento a partire dall'attività neuronale rappresenta quindi un tema centrale sia per comprendere i meccanismi neurali alla base del controllo motorio, sia per le potenziali applicazioni tecnologiche ed è proprio in questo ambito che si colloca lo sviluppo delle interfacce cervello-computer.

In ambito medico, le BCI trovano impiego nelle protesi motorie, nella riabilitazione post-ictus o nella gestione di patologie neurodegenerative.

Per la progettazione delle BCI è importante la scelta delle aree corticali target e delle modalità di registrazione dei segnali.

Le BCI invasive, in particolare quelle intracorticali, consentono di registrare l'attività di singoli neuroni o di piccole popolazioni direttamente nella corteccia cerebrale, garantendo una risoluzione spaziale e temporale elevata rispetto ai metodi non invasivi come EEG o MEG (Rouzitalab *et al.*, 2023).

Questo tipo di approccio è stato ampiamente utilizzato nei primati, la cui architettura cerebrale, come spiegato da Rouzitalab *et al.* (2023), è molto simile a quella umana. Ciò permette di studiare i processi decisionali, la pianificazione motoria e la trasformazione sensori-motoria all'interno di circuiti corticali complessi, come quelli che coinvolgono la corteccia prefrontale, premotoria e motoria primaria.

Decodificare le variabili cinematiche, cioè grandezze che descrivono il movimento dal punto di vista geometrico e temporale (ad esempio posizione, velocità e accelerazione di un arto nello spazio), o le variabili dinamiche, come forze e momenti articolari, è un passaggio cruciale nello sviluppo delle BCI. Queste variabili rappresentano infatti il livello più immediato e osservabile del comportamento motorio e costituiscono l'output necessario per controllare un attuatore esterno, come una protesi o un braccio robotico.

Inoltre, nel presente lavoro l'interesse per le variabili cinematiche nasce dalla volontà di confrontarle con parametri articolari e muscolari, al fine di chiarire a quale livello il movimento venga principalmente codificato dall'attività neurale nell'area F2.

La codifica di tali variabili a partire dai segnali corticali non è però banale, dato che l'attività dei neuroni non segue relazioni lineari semplici con le grandezze motorie ma riflette un insieme di trasformazioni sensori-motorie complesse, che dipendono dal contesto del compito e dalla dinamica temporale dell'azione. Per questo motivo sono necessari modelli in grado di catturare relazioni altamente non lineari e dipendenze temporali, in grado di descrivere i legami complessi tra i pattern di scarica neuronale e i parametri cinematici e di tener conto della loro evoluzione nel tempo.

Tradizionalmente sono stati utilizzati metodi di machine learning classici, come regressioni lineari o filtri di Kalman, apprezzati per la loro semplicità ed efficienza computazionale. Tuttavia, il crescente utilizzo di algoritmi di deep learning ha permesso di migliorare significativamente le performance di decoding, grazie alla loro capacità di apprendere trasformazioni non lineari dirette dai dati e di modellare la struttura temporale intrinseca dei segnali neurali (Glaser *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022).

Reti neurali di deep learning come le architetture LSTM (Long Short-Term Memory) o modelli ibridi che combinano CNN e ANN si sono mostrate particolarmente efficaci nel decodificare traiettorie o parametri motori a partire dall'attività di popolazioni corticali, superando in accuratezza i metodi tradizionali, soprattutto in presenza di variazioni temporali tra segnale neurale e comportamento (Liu *et al.*, 2022).

Lo studio delle reti neurali e delle BCI mira a chiarire come l'informazione motoria sia rappresentata nelle aree corticali; in questo lavoro, l'attenzione si concentra sulla corteccia premotoria dorsale e sull'area F2.

1.2 L'area F2 della corteccia premotoria dorsale (PMd)

La corteccia premotoria dorsale (PMd), e in particolare la sua porzione nota come area F2 nei primati, ha un ruolo fondamentale nel controllo motorio volontario. Localizzata anteriormente alla corteccia motoria primaria (M1) e in stretta connessione con le aree parietali e somatosensoriali, come mostrato in Figura 1, PMd è implicata nei processi di pianificazione del movimento, nella selezione dell'azione in base al contesto e nella trasformazione di informazioni sensoriali in comandi motori (Borgognon *et al.*, 2025).

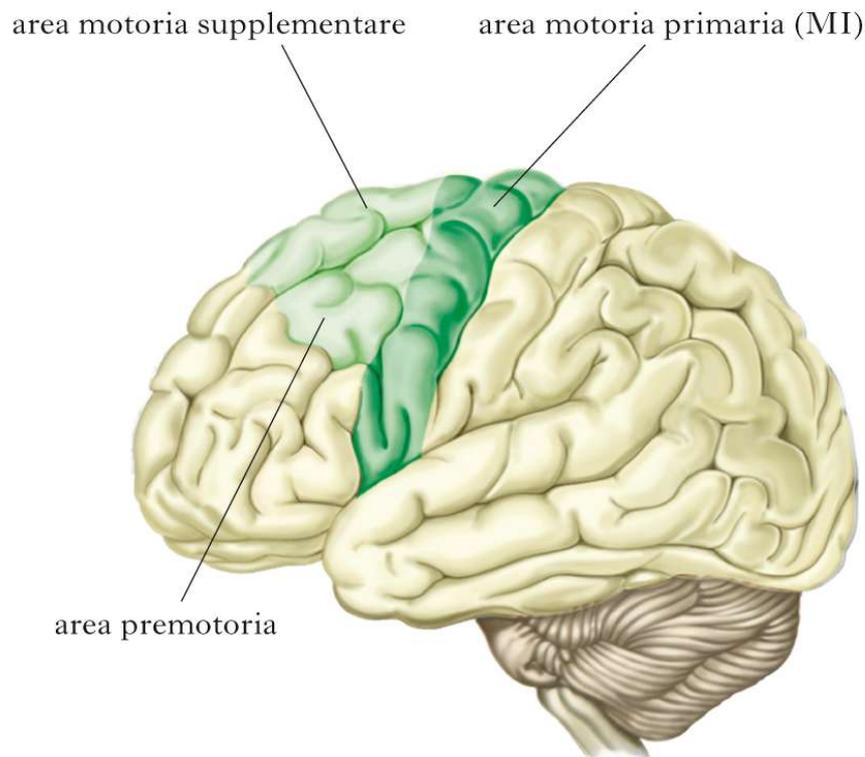


Figura 1. Localizzazione delle aree motorie sulla superficie laterale dell'emisfero cerebrale (da Treccani.it – Dizionario di Medicina, voce “Corteccia motoria”).

Studi morfologici e funzionali hanno suddiviso la PMd in due sottoregioni principali: la porzione caudale (F2), con una chiara organizzazione somatotopica, e quella rostrale (F7) (Matelli *et al.*, 1991; Wise *et al.*, 1997).

Evidenze sperimentali attribuiscono a F2 un ruolo centrale nella pianificazione, selezione e trasformazione sensori-motoria del movimento, soprattutto in compiti volontari e visuomotori.

Come mostrato in Figura 2, l'area F2 è intermedia tra le aree prefrontali, deputate all'elaborazione cognitiva e contestuale, e le aree motorie primarie, responsabili dell'esecuzione (Takahara *et al.*, 2012).

La sua connettività con aree parietali posteriori, come PE, PEc e PEip, supporta l'ipotesi di una funzione integrativa tra input sensoriali visuo-proprioceettivi e rappresentazioni motorie astratte (Rizzolatti *et al.*, 1998; 2002).

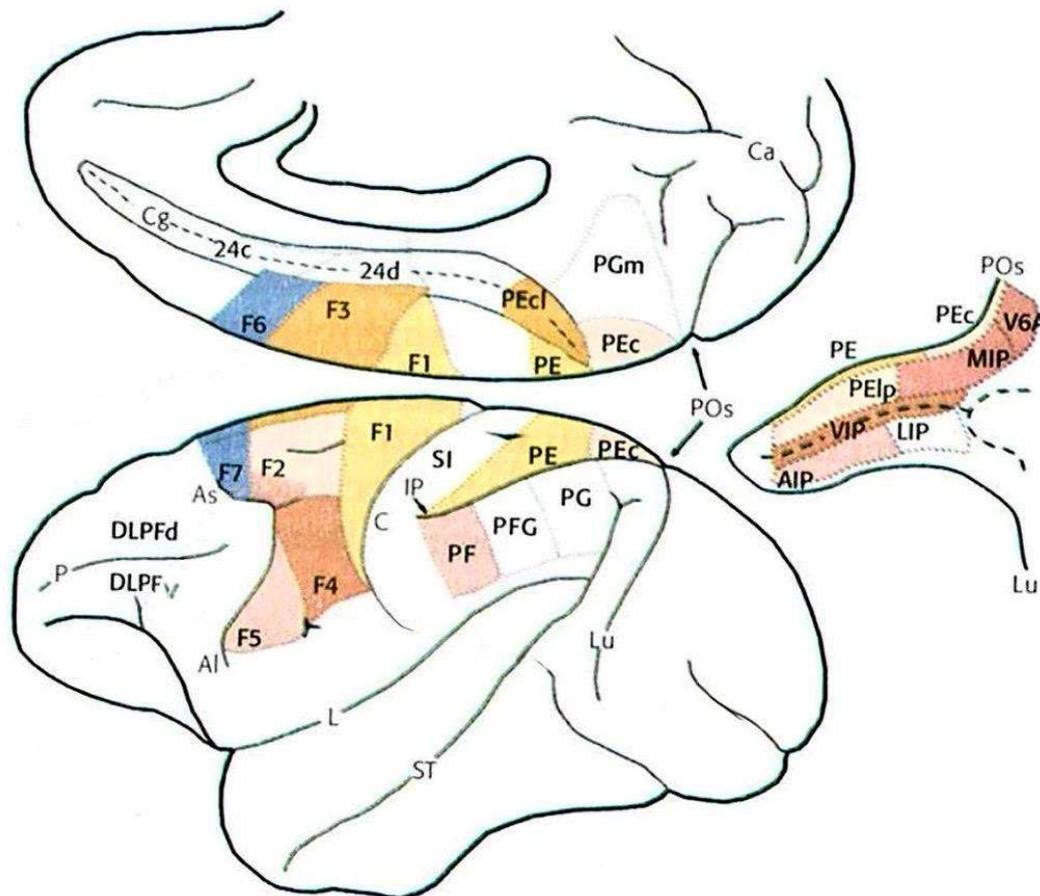


Figura 2. Topografia e connettività dell'area F2 nella corteccia premotoria dorsale (da Rizzolatti G., & Sinigaglia C. (2006)).

All'interno di F2, secondo lo studio di Luppino *et al.* (2003), si distinguono ulteriori sottodivisioni: una porzione dorsale (F2d), localizzata attorno alla fossetta precentrale superiore e connessa alla corteccia parietale superiore (area PE), e una porzione ventro-rostrale (F2vr), situata più anteriormente, con connessioni verso le aree prefrontali dorsolaterali (DLPFd) e cingolate rostrali (24a, 24b, 24d).

Questa organizzazione suggerisce una specializzazione funzionale: la porzione ventro-rostrale (F2vr), essendo connessa con aree prefrontali dorsolaterali e cingolate, è

plausibilmente coinvolta nell'integrazione di segnali contestuali, motivazionali e regolativi; al contrario, la porzione dorsale (F2d), in virtù delle sue connessioni con la corteccia parietale superiore (area PE), sembra deputata a funzioni più automatiche e sensorimotorie del controllo motorio

Takahara *et al.* (2012) hanno confermato questa distinzione studiando i circuiti tra la corteccia prefrontale ventrolaterale (vlPFC, area 45) e F2. Pur in assenza di connessioni dirette, esiste un circuito che passa per aree intermedie come la dPFC (aree 46d, 9, 8Ad, 8B), F7 e la pre-SMA, consentendo a F2 di ricevere informazioni cognitive già elaborate, utili per codificare regole comportamentali e trasformare gli stimoli visivi in movimenti appropriati.

1.3 Il ruolo dei neuroni motori nella codifica dell'azione

L'area premotoria dorsale F2 ha un ruolo cruciale nel processo attraverso cui il sistema nervoso trasforma obiettivi comportamentali, intesi come mete motorie da raggiungere nello spazio, ad esempio un target con una mano, oppure come scelte effettoriali per decidere quale arto utilizzare, in comandi motori articolari. Collocandosi tra la codifica percettiva e l'esecuzione motoria, F2 partecipa attivamente alla pianificazione del movimento e alla rappresentazione dell'intenzione motoria.

In particolare, la porzione ventrorostrale (F2vr) mostra una stretta connessione con la corteccia prefrontale dorsolaterale, in particolare con l'area 46, che svolge un ruolo chiave nel mantenimento e nell'aggiornamento della memoria di lavoro e nella pianificazione sequenziale di azioni complesse, e con l'area 8B, coinvolta nell'integrazione di informazioni visuo-spaziali per la programmazione dell'azione. È inoltre connessa con la corteccia cingolata dorsale, in particolare con l'area 24d, nota per la sua partecipazione alla valutazione comportamentale degli stimoli e alla modulazione motivazionale della scelta dell'azione.

Queste connessioni suggeriscono che F2vr non si limiti a rappresentare parametri puramente motori, ma contribuisca alla preparazione del movimento attraverso l'integrazione di segnali cognitivi e motivazionali (Luppino *et al.*, 2003; Shima & Tanji, 1998).

Diversi studi (Takahara *et al.*, 2012; Hoshi & Tanji, 2007) hanno evidenziato come i neuroni di F2 codifichino non il movimento in sé, ma l'intenzione contestuale dell'azione, selezionando comportamenti appropriati in base alle regole del compito.

L'informazione visiva, processata da aree associative come la 45 e la 46d, viene trasformata lungo un circuito che coinvolge la corteccia prefrontale dorsale (area 9) e l'area F7, prima di raggiungere F2 in forma orientata all'azione. L'attività di questi neuroni precede l'esecuzione, permettendo di adattare i comandi motori alle condizioni del compito.

Questa funzione si riflette nella capacità di F2 di rappresentare parametri astratti dell'azione, come la scelta dell'effettore (mano destra o sinistra) o la direzione del movimento, integrando informazioni spaziali e contestuali. Molti neuroni dell'area sono infatti direzionalmente sintonizzati e sensibili alla postura iniziale dell'arto, indicando una trasformazione attiva delle coordinate visuo-spaziali in comandi motori articolari (Rizzolatti *et al.*, 1998; Luppino *et al.*, 1991; Cisek & Kalaska, 2004).

Recenti studi di elettrofisiologia (Borgognon *et al.*, 2025) hanno confermato che l'attività neurale della PMd, e in particolare di F2, è dipendente dal compito, con una dinamica neurale che varia in base al contesto e al tipo di movimento. Durante compiti locomotori naturali, l'attività neuronale di F2 si adatta in modo flessibile, modificando il proprio schema di attivazione in base al contesto. Questo adattamento non si osserva invece nelle aree M1 e S1, che mostrano un'attività più stabile e meno influenzata dalle condizioni esterne.

Dal punto di vista funzionale, l'area F2 partecipa in modo attivo alla preparazione e pianificazione dei movimenti volontari del braccio, e spesso i suoi neuroni si attivano in anticipo rispetto all'inizio del movimento, con selettività direzionale (Luppino *et al.*, 1991). Questo tuning direzionale indica che F2 codifica lo scopo spaziale dell'azione, più che i dettagli muscolari del movimento, confermandone il ruolo in rappresentazioni motorie astratte.

F2 agisce dunque come nodo decisionale motorio che integra input percettivi provenienti principalmente dalla corteccia parietale posteriore, in particolare dalle aree PE, PEc e PEip, che a loro volta raccolgono informazioni somatosensoriali e visuo-proprioceptive, trasmettendole a F2 per la preparazione del movimento.

1.4 Confronto tra coordinate spaziali e parametri articolari e muscolari

Nel controllo motorio, il movimento può essere descritto attraverso diverse rappresentazioni. Le coordinate spaziali descrivono il movimento in termini di traiettoria nello spazio tridimensionale, utilizzando punti di riferimento esterni. Si tratta di una rappresentazione intuitiva ed estrinseca, ampiamente utilizzata nell'ambito della cinematica e che rispecchia l'interazione del soggetto con lo spazio.

Al contrario, una rappresentazione intrinseca si basa su parametri articolari e muscolari, come angoli articolari, velocità, accelerazioni dei segmenti scheletrici e variazioni di lunghezza muscolare. Questi parametri sono legati alla biomeccanica dell'esecuzione e riflettono il modo in cui il sistema motorio genera le forze necessarie per compiere un movimento. Possono essere stimati a partire dalle traiettorie spaziali tramite modelli muscoloscheletrici computazionali, come quelli implementati nel software OpenSim (Delp *et al.*, 2007; Seth *et al.*, 2018).

Una questione fondamentale nelle neuroscienze motorie riguarda il livello a cui il movimento viene codificato dalle aree motorie e premotorie del cervello, se in termini di coordinate estrinseche (spazio e traiettorie) o intrinseche (angoli articolari e tensioni muscolari).

Studi nei primati hanno mostrato che molti neuroni premotori rispondono alla posizione spaziale dell'azione più che alla configurazione articolare necessaria a raggiungerla (Fogassi *et al.*, 1992).

L'importanza della rappresentazione spaziale è stata recentemente confermata da registrazioni su popolazioni di neuroni corticali durante movimenti complessi di reach e grasp, che hanno mostrato come l'attività corticale predica le coordinate spaziali del movimento, dimostrando una forte componente di codifica estrinseca (Zhang *et al.*, 2023).

Altri studi sulle popolazioni di neuroni nella corteccia motoria (Zimnik & Churchland, 2021) hanno mostrato che l'andamento dell'attività neuronale riflette soprattutto la progressione del movimento verso la sua destinazione nello spazio, più che rappresentare in modo diretto i singoli angoli delle articolazioni o le tensioni muscolari. Questo lascia ancora aperta la questione se i parametri articolari siano davvero codificati in modo primario o solo come conseguenza della pianificazione spaziale.

Nel presente lavoro, questo interrogativo è stato affrontato utilizzando un approccio quantitativo che confronta la capacità predittiva di rappresentazioni estrinseche e intrinseche. Un modello biomeccanico open-source dell'arto superiore è stato scalato sulle dimensioni anatomiche del soggetto (*Macaca fascicularis*) considerato, consentendo di stimare angoli articolari, velocità, accelerazioni e variazioni di lunghezza muscolare a partire dalle traiettorie spaziali dei marker. Tali parametri sono stati quindi utilizzati come input per reti neurali addestrate sui dati di attività neuronale registrata nell'area F2 durante movimenti volontari, con l'obiettivo di determinare quale rappresentazione risultasse più strettamente predetta dall'attività corticale.

2. SCOPO DELLA TESI

Lo scopo di questo lavoro è indagare come l'attività neurale registrata nell'area premotoria dorsale (PMd), e in particolare nella sua porzione caudale F2, contribuisca alla rappresentazione del movimento nel primate *Macaca fascicularis*. Questa regione è nota per integrare informazioni sensoriali, contestuali e motorie, ma il livello a cui essa rappresenta l'azione resta ancora oggetto di dibattito.

L'analisi è stata quindi focalizzata sul confronto tra parametri cinematici estrinseci, come le coordinate spaziali delle traiettorie degli arti, e parametri intrinseci, come gli angoli articolari e le stime muscolari ricostruite tramite modelli biomeccanici in OpenSim, durante compiti naturali di reaching locomotorio.

Attraverso tecniche di tracciamento markerless e algoritmi di decodifica neurale, è stata valutata la capacità predittiva dei diversi set di variabili rispetto all'attività delle popolazioni neuronali registrate.

L'obiettivo è determinare se F2 rifletta in misura predominante lo scopo spaziale dell'azione, cioè la posizione finale dell'arto nello spazio, oppure i dettagli biomeccanici legati al suo stato articolare e muscolare.

Chiarire questo aspetto consente non solo di comprendere meglio il contributo funzionale di F2 all'interno della PMd, ma anche di delineare principi generali sulla rappresentazione del movimento nel cervello dei primati, con possibili ricadute nell'ambito delle interfacce cervello-computer (BCI) e della riabilitazione motoria.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Soggetto sperimentale e acquisizione dati

I dati utilizzati nel presente studio derivano dall'esperimento descritto da De Vitis *et al.* (2025), condotto presso il laboratorio di neuroscienze dell'Università di Bologna. L'esperimento è stato svolto nel pieno rispetto delle direttive europee (86/609/EEC; 2010/63/EU) e della legislazione italiana (D.L. 116-92; D.L. 26-2014) sull'uso di animali a fini scientifici, con approvazione dell'Animal-Welfare Body dell'Università di Bologna. Lo studio generale ha coinvolto un macaco femmina (*Macaca fascicularis*), addestrato a eseguire un compito di raggiungimento istruito verso nove posizioni spaziali in ambiente controllato e oscurità completa. Il soggetto era seduto su una sedia per primati con la testa stabilizzata e l'arto controlaterale all'emisfero registrato libero di muoversi.

Il compito prevedeva che il macaco mantenesse inizialmente la mano su un pulsante (Home Button) posizionato 4 cm davanti al torace. Dopo 1 secondo dall'inizio della pressione esercitata dalla mano sul pulsante, si accendeva un LED target emettendo luce verde ed indicando la posizione del bersaglio da fissare e quindi poi da raggiungere.

Il macaco interagiva con un singolo LED montato sulla punta di un braccio robotico, che veniva collocato di volta in volta nella posizione target grazie al braccio. La disposizione spaziale dei siti dei bersagli è stata adattata allo spazio peripersonale dell'animale, massimizzando la gamma di bersagli raggiungibili pur mantenendo l'esecuzione naturale dei movimenti. I valori assunti dagli angoli di vergenza sono risultati di 11,9°, 10,17° e 7,9°, mentre per gli angoli di versione si sono scelti valori di -15°, 0° e +15°.

Il soggetto doveva fissare il LED verde mantenendo premuto il pulsante e dopo un intervallo variabile tra 1.8 e 2.3 s, il LED cambiava colore (da verde a rosso), fungendo da segnale di "go" per rilasciare l'Home Button ed eseguire il movimento di raggiungimento del bersaglio.

A quel punto l'animale rilasciava il pulsante e compiva un movimento di raggiungimento verso il LED illuminato, mantenendo la presa sul target per un periodo compreso tra 0.8 e 1.2 s, per poi ritornare al Home Button una volta che il LED si spegneva.

Ogni sessione sperimentale era composta da 90 prove, con 10 ripetizioni per ciascuna delle nove posizioni target, presentate in ordine randomizzato. Durante l'esperimento, il rilascio del pulsante Home Button nelle fasi di attesa o di mantenimento della presa del bersaglio comportava l'interruzione e annullamento della prova.

Durante l'intero compito, i movimenti oculari venivano monitorati tramite un sistema di eye-tracking (ISCAN), calibrato all'inizio di ogni sessione mediante la fissazione del LED, per ricavare segnali di versione e convergenza corretti e garantire che il soggetto mantenesse lo sguardo sul target.

Parallelamente, l'attività extracellulare dell'area F2 della corteccia premotoria dorsale (Figura 3a) è stata registrata mediante un impianto cronico costituito da un array Utah da 120 elettrodi posizionati in siti mirati (Figura 3b) e da una scheda di acquisizione Open Ephys.

I segnali grezzi sono stati preprocessati sottraendo la media da tutti i canali e filtrati con un filtro Butterworth passa-banda (300–6000 Hz). I potenziali d'azione sono stati identificati tramite soglia a $-3,5$ RMS e successivamente isolati manualmente.

Per i dati cronici dell'array, i neuroni registrati sullo stesso canale in sessioni diverse sono stati trattati come unità indipendenti, poiché lo spike sorting è stato eseguito separatamente per ciascuna sessione.

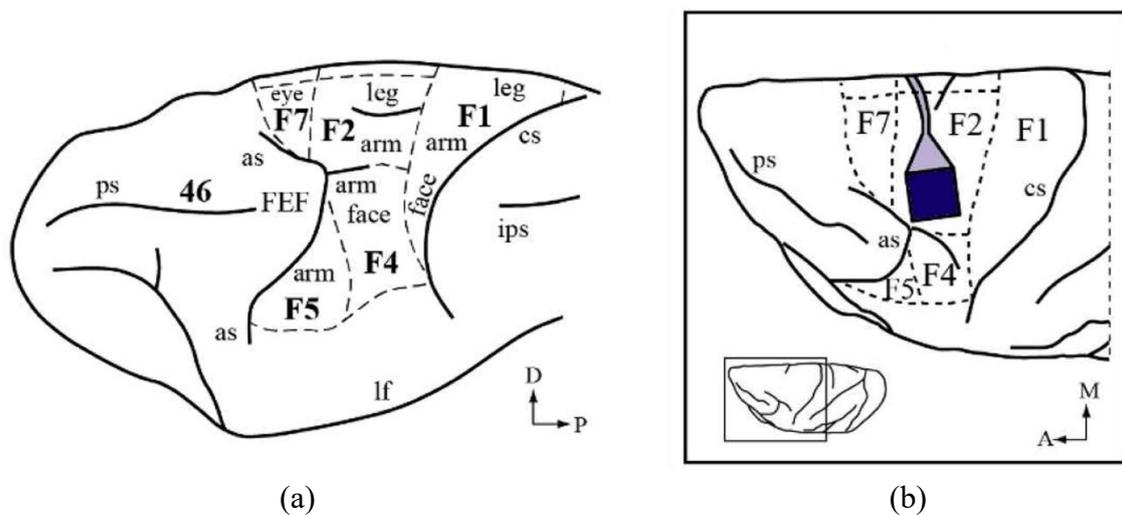


Figura 3.

(a) *Parcellizzazione della corteccia frontale agranulare che mostra le rappresentazioni di varie parti del corpo sovrapposte.*

(b) *Siti di impianto degli elettrodi mirati all'area F2 nella corteccia premotoria dorsale.*

(da De Vitis et al., 2025).

Per la ricostruzione cinematica dei movimenti del braccio, sono stati utilizzati dati markerless derivanti da registrazioni video multiple e successivamente elaborati tramite le tecnologie DeepLabCut (DLC; Mathis *et al.*, 2018; Nath *et al.*, 2019; Lauer *et al.*, 2022)

e Anipose (Karashchuk *et al.*, 2021), dettagliate nel paragrafo 3.2. Questo approccio ha permesso di ottenere una stima precisa delle coordinate spaziali tridimensionali (x, y, z) dei marker virtuali, necessarie per la modellazione biomeccanica del braccio in OpenSim.

3.2 Tracciamento del movimento con metodi markerless: DeepLabCut e Anipose

Un'analisi quantitativa accurata del comportamento animale è cruciale per numerosi ambiti della ricerca neuroscientifica. Tuttavia, le tecniche tradizionali basate su marcatori fisici, pur precise, risultano spesso invasive, costose e limitate nella loro flessibilità sperimentale (Vargas-Irwin *et al.*, 2010).

Per superare tali limiti, negli ultimi anni sono emersi approcci markerless basati su tecniche di visione artificiale e deep learning, in grado di estrarre informazioni posturali direttamente dai dati video, senza la necessità di dispositivi fisici applicati al corpo degli animali.

In questo contesto si inseriscono due strumenti particolarmente rilevanti: DeepLabCut, per la stima automatica della postura in 2D, e Anipose, per la successiva ricostruzione tridimensionale.

3.2.1 DeepLabCut: stima della postura in 2D basata su deep learning

DeepLabCut è un framework innovativo per la stima della postura markerless, che sfrutta il deep learning per tracciare automaticamente le parti del corpo di interesse in video ad alta complessità visiva (Mathis *et al.*, 2018).

Il sistema si fonda su una variante del modello DeeperCut (Insafutdinov *et al.*, 2016), che impiega reti profondamente convoluzionali pre-addestrate su ImageNet (Deng *et al.*, 2009) e successivamente ottimizzate attraverso transfer learning su un numero limitato di fotogrammi annotati manualmente (Krizhevsky *et al.*, 2012).

Questo approccio consente di ottenere una precisione paragonabile a quella umana, con errori medi (RMSE) dell'ordine di pochi pixel, anche in presenza di variabilità posturale, occlusioni o sfondi complessi.

DeepLabCut adotta un'architettura di rete neurale in cui, nel punto dei tradizionali classificatori, vengono impiegati strati di deconvoluzione per produrre mappe di probabilità spaziale ("score maps") che indicano la posizione più probabile di ciascuna parte del corpo in ogni frame (Mathis *et al.*, 2018).

L'addestramento della rete avviene in modo end-to-end, e la condivisione dei pesi, cioè dei parametri interni della rete che vengono appresi durante l'ottimizzazione, tra i diversi moduli che rilevano i punti anatomici (keypoints) permette di migliorare le prestazioni anche quando alcune parti del corpo non sono visibili.

A differenza di altri approcci basati su modelli scheletrici espliciti o su tecniche di segmentazione morfologica (Felzenszwalb & Huttenlocher, 2005; Uhlmann *et al.*, 2017), DeepLabCut non richiede la definizione preventiva di vincoli anatomici rigidi, rendendolo più adattabile a specie e comportamenti differenti.

Inoltre, grazie alla disponibilità open source del toolbox, alla facilità di annotazione iniziale e alla rapidità di inferenza (fino a 85 Hz su GPU moderne), il metodo è utile per l'analisi offline di grandi dataset video e, potenzialmente, per l'applicazione in tempo reale.

In definitiva, DeepLabCut rappresenta un contributo significativo nell'ambito della computer vision applicata alle neuroscienze comportamentali, permettendo un compromesso ottimale tra accuratezza, flessibilità e usabilità (Mathis *et al.*, 2018).

3.2.2 Implementazione sperimentale di DeepLabCut

Nel presente studio, il tracciamento markerless dei movimenti è stato ottenuto mediante sei videocamere monocromatiche DaHeng Mercury2 (950 nm, 100 Hz), che hanno registrato in parallelo i movimenti dei soggetti.

I frame estratti da ciascun flusso video sono stati manualmente etichettati su un sottoinsieme selezionato di immagini, definendo marker virtuali posizionati su articolazioni e punti di riferimento anatomici dell'arto superiore (ad esempio polso, gomito, dito). Tali annotazioni sono state utilizzate per addestrare il modello DLC, in modo che fosse in grado di identificare automaticamente la posizione di tali punti in tutti i frame dei video.

I dati generati da DLC costituiscono la base per la successiva ricostruzione tridimensionale eseguita con Anipose.

3.2.3 Anipose: ricostruzione tridimensionale e calibrazione multicamera

Sebbene strumenti come DeepLabCut abbiano rivoluzionato l'analisi comportamentale in 2D, una rappresentazione bidimensionale può risultare insufficiente per catturare la complessità dei movimenti nello spazio tridimensionale.

Per risolvere questo limite, Anipose implementa una pipeline completa che si basa sull'uso di più telecamere sincronizzate e sulla ricostruzione tridimensionale tramite triangolazione, sfruttando algoritmi robusti di calibrazione multi-camera, filtraggio temporale e ottimizzazione geometrica.

In particolare, la calibrazione delle telecamere, aspetto cruciale per l'accuratezza della ricostruzione 3D, è ottenuta tramite l'uso di un target fisico (chessboard, scacchiera), con un processo automatizzato e riproducibile che integra il toolbox Anipose-Calibrate.

Questo consente ad Anipose di determinare accuratamente i parametri intrinseci (come lunghezza focale, centro ottico e distorsione) ed estrinseci (posizione e orientamento nello spazio) di ciascuna telecamera, attraverso il modello di proiezione pin-hole, usando le funzioni di calibrazione della libreria OpenCV (Karashchuk *et al.*, 2021).

Una volta effettuata la calibrazione e annotati i punti corporei nei video 2D mediante strumenti come DeepLabCut, Anipose effettua la triangolazione delle traiettorie sfruttando modelli geometrici e algoritmi di ottimizzazione RANSAC (Random sample consensus), resistenti a outlier e noise.

Inoltre, il toolkit include sofisticati metodi di filtraggio spaziale e temporale, come filtri Savitzky-Golay e filtri basati su soglie dinamiche, per migliorare la coerenza delle traiettorie e ridurre gli artefatti dovuti a errori di rilevamento.

3.2.4 Sincronizzazione video, filtraggio e post-processing dei dati

In questo studio la sincronizzazione dei flussi video è stata garantita da un sistema basato su microcontrollore Arduino, che ha generato segnali TTL (Transistor-Transistor logic) per allineare temporalmente le acquisizioni.

Una volta ottenute le coordinate 3D preliminari, è stato applicato un processo di pulizia e filtraggio dei dati, al fine di rimuovere artefatti e componenti ad alta frequenza non fisiologiche. Questo processo ha incluso un filtro mediano mobile con finestra di 20 frame, un filtro passa basso a 10 Hz per la riduzione di componenti ad alta frequenza ed un filtro gaussiano con deviazione standard di 4 frame per la levigatura del segnale.

Infine, le coordinate sono state trasformate in un sistema di riferimento cartesiano con origine fissata sul pulsante iniziale (Home Button), secondo le seguenti convenzioni: asse X positivo verso destra (direzione laterale), asse Y positivo in avanti (antero-posteriore) e asse Z positivo verso l'alto.

L'intera pipeline, schematizzata nella Figura 4, ha restituito un dataset tridimensionale contenente le posizioni dei marker in ogni istante temporale, utilizzato come base per la successiva modellazione biomeccanica in ambiente OpenSim. Tale approccio consente una ricostruzione ad alta fedeltà dei movimenti articolari senza l'uso di marker fisici.

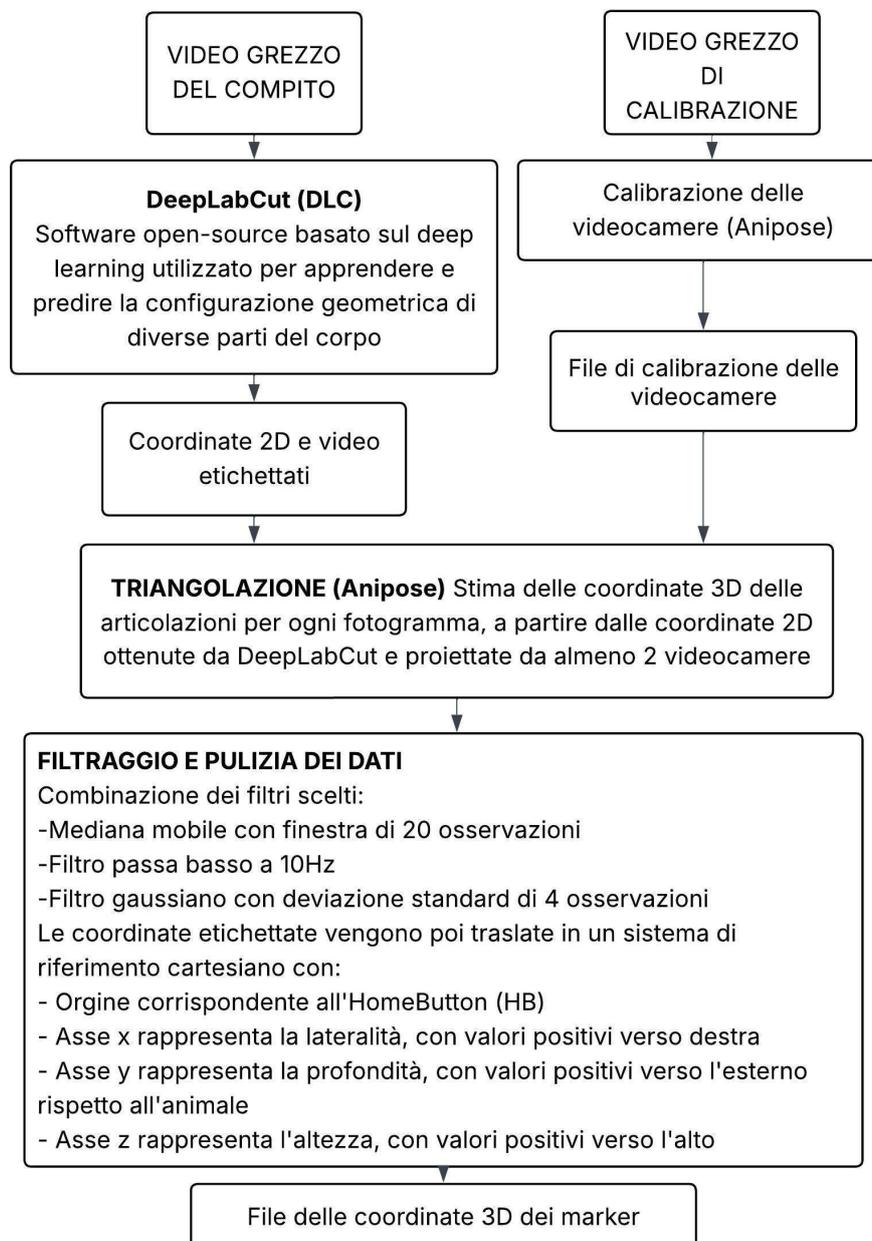


Figura 4. Schema della pipeline per la ricostruzione markerless del movimento utilizzata nello studio.

3.3 Modellazione biomeccanica in OpenSim

L'obiettivo di questa fase del lavoro è stato quello di integrare l'analisi del movimento tradizionale con una più dettagliata ricostruzione muscoloscheletrica, tramite la simulazione del gesto motorio di reaching del primate su un modello virtuale realistico, sviluppato con il software OpenSim.

Questo approccio consente non solo di ricostruire le traiettorie articolari, ma anche di stimare parametri biomeccanici non direttamente accessibili tramite la sola analisi sperimentale, come le variazioni di lunghezza muscolare. Queste ultime permettono di valutare l'allungamento e l'accorciamento dei muscoli coinvolti durante l'esecuzione del compito motorio.

3.3.1 Il software OpenSim

Negli ultimi decenni, il progresso delle tecnologie informatiche e dei metodi computazionali ha portato allo sviluppo di potenti strumenti open-source per la simulazione del movimento umano e animale. Tra questi, OpenSim si è affermato come una delle piattaforme più complete e utilizzate per la modellazione biomeccanica del sistema neuromuscoloscheletrico.

Il software consente di costruire modelli virtuali complessi, generare simulazioni dinamiche e stimare variabili biomeccaniche non direttamente misurabili sperimentalmente, come forze muscolari, lunghezze tendinee e momenti articolari (Delp *et al.*, 2007).

L'origine di OpenSim risale ai primi anni '90 con la creazione del software SIMM (Software for Interactive Musculoskeletal Modeling), sviluppato da Delp e Loan presso il National Center for Simulation in Rehabilitation Research (NCSRR) della Stanford University. SIMM consentiva di costruire, modificare e valutare modelli del sistema muscolo-scheletrico, favorendo lo studio delle conseguenze biomeccaniche di interventi chirurgici, come osteotomie e impianti protesici, oltre a stimare la lunghezza del complesso muscolo-tendineo, i bracci di momento dei muscoli rispetto alle articolazioni, le velocità, accelerazioni e le forze che agiscono durante vari movimenti. Il software offriva inoltre calcoli di attivazioni e forze muscolari, mettendo a disposizione numerosi strumenti per l'analisi dei risultati delle simulazioni. Tuttavia, SIMM era un software proprietario e con funzionalità limitate per la simulazione dinamica.

OpenSim rappresenta l'evoluzione open-source di SIMM ed è stato concepito con l'obiettivo di rendere più accessibili gli strumenti di simulazione biomeccanica e promuovere la collaborazione tra ricercatori attraverso una piattaforma condivisa.

La comunità di sviluppatori e ricercatori mantiene il software aggiornato attraverso la piattaforma Simtk.org, favorendo la condivisione di modelli e metodologie.

Dal punto di vista tecnico, OpenSim è costruito su un'architettura modulare scritta in C++ ANSI, con una interfaccia grafica (GUI) in Java e componenti estendibili tramite plug-in. Il motore di dinamica attualmente integrato è Simbody, un sistema open-source per la simulazione di sistemi multibody ad alte prestazioni.

Tra i componenti fondamentali si trovano modelli muscolari Hill-type che descrivono il comportamento attivo e passivo del muscolo, giunti articolari con vincoli cinematici definiti dall'utente, controllori per la generazione di movimenti simulati (ad esempio computed muscle control) e strumenti di analisi per stimare forze, momenti, accelerazioni indotte dai muscoli, potenza muscolare, ecc.

Un modello biomeccanico in OpenSim è descritto da un file principale con estensione .osim, che contiene tutte le componenti anatomiche e funzionali del sistema simulato: corpi rigidi, giunti, muscoli, marker virtuali, contatti col terreno, forze esterne. Tali modelli sono completamente personalizzabili sia via GUI che via script.

I muscoli sono modellati come attuatori in grado di generare forza in base all'attivazione neurale, alla lunghezza e alla velocità di contrazione, secondo la dinamica muscolo-tendinea. I modelli muscoloscheletrici permettono di indagare la coordinazione neuromuscolare, analizzare performance atletiche o stimare i carichi muscoloscheletrici durante l'esecuzione di gesti motori.

Una volta realizzato il modello, OpenSim consente di valutare l'impatto della cinematica articolare e delle proprietà muscolo-tendinee sulle forze e sui momenti articolari prodotti (Delp *et al.*, 2007).

OpenSim include un'ampia gamma di strumenti, tra cui: Scaling Tool adatta le dimensioni del modello ai dati antropometrici del soggetto utilizzando le distanze tra marker; Inverse Kinematics (IK) determina le coordinate articolari che minimizzano la distanza tra i marker sperimentali e quelli del modello; Inverse Dynamics (ID) calcola i momenti articolari a partire dalla cinematica e dalle forze di reazione; Static Optimization e Computed Muscle Control (CMC) stimano le attivazioni muscolari richieste per generare un movimento; Analyze Tool calcola variabili derivate come potenza muscolare, variazioni di lunghezze muscolari, momenti articolari e accelerazioni muscolo-indotte.

Queste funzionalità consentono di simulare e studiare il comportamento biomeccanico del sistema muscolo-scheletrico durante un'azione, confrontando i risultati con i dati sperimentali.

Per eseguire una simulazione, è necessario fornire al software tre elementi fondamentali: un modello muscoloscheletrico realistico e correttamente scalato, dati cinematici sperimentali (traiettorie dei marker) e forze esterne, se disponibili (come ad esempio forze di reazione a terra, GRF).

Nel presente lavoro, i dati cinematici sono stati forniti sotto forma di file .trc (Track Row Column). L'elaborazione ha poi prodotto file .mot, contenenti le traiettorie articolari calcolate.

I file .trc: rappresentazione delle traiettorie dei marker

Il formato .trc (Track Row Column), introdotto dall'azienda Motion Analysis Corporation (www.motionanalysis.com), è stato progettato per memorizzare le coordinate spaziali dei marker posizionati sul soggetto durante l'esecuzione di un movimento.

Si tratta di un file di testo organizzato in maniera precisa, che permette di tracciare la traiettoria dei marker nel tempo.

La struttura del file .trc (Figura 5) è suddivisa in più sezioni. Le prime tre righe costituiscono l'intestazione (header) e includono i seguenti metadati: il DataRate, ovvero la frequenza di acquisizione espressa in Hertz; il NumFrames, cioè il numero totale di fotogrammi (frames) registrati; il NumMarkers, ossia il numero di marker utilizzati; il OrigDataStartFrame, che indica il numero del primo frame; il OrigNumFrames, che indica il numero totale di fotogrammi.

Dopo l'header seguono due righe contenenti i nomi dei marker, che dovranno corrispondere esattamente ai nomi dei marker virtuali presenti nel modello in OpenSim, e una riga vuota di separazione, seguita poi dai dati veri e propri.

Ciascuna riga di dati rappresenta un istante temporale e riporta il numero progressivo del frame, il tempo assoluto (in secondi) e le coordinate spaziali (x, y, z) di ogni marker, espresse rispetto al sistema di riferimento globale definito durante l'acquisizione.

```

1 PathFileType 4 (X/Y/Z) markers.trc
2 DataRate CameraRate NumFrames NumMarkers Units OrigDataRate OrigDataStartFrame OrigNumFrames
3 60 60 87576 5 cm 60 1 87576
4 Frame# Time Elbow WristLat WristMed HandBack Middle1
5 | | X1 Y1 Z1 X2 Y2 Z2 X3 Y3 Z3 X4 Y4 Z4 X5 Y5 Z5
6 1 0.000 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
7 2 0.010 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
8 3 0.020 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
9 4 0.030 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
10 5 0.040 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
11 6 0.050 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
12 7 0.060 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
13 8 0.070 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
14 9 0.080 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
15 10 0.090 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
16 11 0.100 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
17 12 0.110 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
18 13 0.120 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
19 14 0.130 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
20 15 0.140 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.798
21 16 0.150 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.799
22 17 0.160 12.685 13.258 4.626 15.393 3.451 3.577 14.786 3.488 5.622 16.583 5.955 4.799

```

Figura 5. Esempio di file .trc.

È fondamentale rispettare rigorosamente il formato e la sintassi del file .trc, poiché eventuali incongruenze (ad esempio nella corrispondenza dei nomi dei marker o nella struttura dell'header) impediscono il corretto caricamento del file nel software.

In questo studio, il formato .trc è stato utilizzato per rappresentare i dati statici ed è formato all'incirca da 88.000 righe contenenti tutte le coordinate spaziali dei marker per ogni istante di tempo della registrazione effettuata sul soggetto.

I file .mot: serie temporali di coordinate articolari e forze

Il formato .mot (motion file) è utilizzato in OpenSim per memorizzare serie temporali relative a parametri cinematici o dinamici del modello, come coordinate articolari, forze o momenti, in funzione del tempo.

Anche questo file è suddiviso in due sezioni principali, ossia un header iniziale che descrive la struttura del file e la sequenza dei dati, come mostrato in Figura 6.

L'header presenta delle righe di apertura in cui viene indicato il nome del file, seguito dall'indicazione della versione del formato, il numero totale delle colonne e delle righe (nRows e nColumns) e dall'indicazione dell'unità di misura dei dati presenti.

Nella tabella poi dei dati ogni colonna è etichettata e rappresenta una variabile temporale, mentre ogni riga corrisponde a un singolo istante di tempo.

Nel caso di file .mot contenenti forze di reazione, le etichette standard possono includere il tempo, le forze di reazione nelle tre direzioni spaziali (vx, vy, vz), il punto di applicazione delle forze (px, py, pz) e le coppie articolari (momenti torcenti attorno agli assi x, y, z).

Ciascuna riga del file corrisponde a un singolo frame temporale, e i dati sono espressi rispetto al sistema di riferimento definito nel modello OpenSim.

```

1 Coordinates
2 version=1
3 nRows=2000
4 nColumns=8
5 inDegrees=yes
6
7 Units are S.I. units (second, meters, Newtons, ...)
8 If the header above contains a line with 'inDegrees', this indicates whether rotational values are in degrees (yes) or radians (no).
9
10 endheader
11 time shoulder_adduction shoulder_rotation shoulder_flexion elbow_flexion radial_pronation wrist_flexion wrist_abduction
12 -9.99300000 -6.50093552 21.40039215 -16.41804890 71.60232484 49.60127112 3.37500
13 -9.98300000 -6.53319769 21.60233688 -16.32666628 71.44679298 49.60536112 3.37500
14 -9.97300000 -6.57983288 21.79570718 -16.22308609 71.30758179 49.57982107 3.37500
15 -9.96300000 -6.63886407 22.00109594 -16.11000893 71.18054713 49.49509313 3.37500
16 -9.95300000 -6.69399499 22.18511925 -15.99851587 71.06540028 49.40132284 3.37500
17 -9.94300000 -6.73950798 22.32659801 -15.88433820 70.95369118 49.33812897 3.37500
18 -9.93300000 -6.79510155 22.47201601 -15.76539912 70.84118159 49.27488185 3.37500
19 -9.92300000 -6.80552892 22.52537114 -15.65565618 70.71980651 49.26311604 3.37500
20 -9.91300000 -6.90156085 22.70761271 -15.53687393 70.63273009 49.22972365 3.37500
21 -9.90300000 -6.96782499 22.84455286 -15.42421383 70.54311713 49.16373936 3.37500
22 -9.89300000 -6.98398260 22.89195467 -15.32071708 70.43370796 49.15591938 3.37500
23 -9.88300000 -7.08398234 23.06330023 -15.21555031 70.36349925 49.15192117 3.37500
24 -9.87300000 -7.15324650 23.20004480 -15.12255540 70.29110017 49.11047716 3.37500
25 -9.86300000 -7.20618784 23.30027872 -15.03916079 70.22046683 49.10035345 3.37500
26 -9.85300000 -7.27509569 23.43353546 -14.95679904 70.15460954 49.08359963 3.37500
27 -9.84300000 -7.34484130 23.56613606 -14.88207231 70.09409307 49.08127432 3.37500
28 -9.83300000 -7.40190034 23.67708692 -14.81506424 70.03574572 49.08754274 3.37500
29 -9.82300000 -7.47269828 23.81286346 -14.74882869 69.97770957 49.10363518 3.37500
30 -9.81300000 -7.54248385 23.94647564 -14.69049213 69.92892460 49.12277080 3.37500
31 -9.80300000 -7.60661636 24.07194595 -14.63510671 69.87988235 49.14490254 3.37500
32 -9.79300000 -7.67805800 24.20551361 -14.57791176 69.82765465 49.17899202 3.37500
33 -9.78300000 -7.74997901 24.34126006 -14.53164639 69.78574003 49.22188622 3.37500

```

Figura 6. Esempio di file .mot.

Nel presente lavoro, i file .mot sono stati prodotti in uscita dall'analisi di Inverse Kinematics su OpenSim e contengono i valori degli angoli articolari delle articolazioni simulate in funzione del tempo. Tali dati sono stati fondamentali per l'estrazione di parametri cinematici come velocità e accelerazioni angolari.

L'affidabilità delle simulazioni generate con OpenSim è supportata da numerosi studi in letteratura, che ne attestano l'accuratezza nel riprodurre la dinamica del movimento umano.

OpenSim è oggi impiegato in diversi ambiti, come riabilitazione, progettazione di dispositivi indossabili, studio della locomozione e chirurgia ortopedica virtuale (Delp *et al.*, 2007).

3.3.2 Creazione del modello virtuale

In questo studio è stata utilizzata la versione 4.5 del software OpenSim, installata su sistema operativo Windows.

Il modello biomeccanico base è un arto superiore destro di *Macaca mulatta* (*Macaco rhesus*), unico modello di primate disponibile nella libreria ufficiale di OpenSim. Questo modello, creato e descritto da Chan & Moran (2006), è stato sviluppato per simulare il controllo motorio e la biomeccanica dell'arto superiore del primate, con particolare attenzione alle implicazioni neurali dell'attività muscolare durante compiti di reaching.

Il modello presenta una struttura articolare composta da sette gradi di libertà: tre relativi alla spalla (abduzione/adduzione, flessione/estensione e rotazione interna/esterna), uno al gomito (flessione/estensione), uno per la prono-supinazione dell'avambraccio e due a livello del polso, responsabili della flessione/estensione e della deviazione radiale/ulnare. La muscolatura è composta da quarantotto muscoli, distribuiti su spalla, braccio e avambraccio, ciascuno modellato secondo un'approssimazione Hill-type e parametrizzato con dati fisiologici specifici per *Macaca mulatta*, inclusi la lunghezza a riposo, la forza isometrica massima e i bracci di momento.

La mano, per contro, è rappresentata come un segmento rigido non articolato, scelta che semplifica la struttura anatomica ma consente comunque di simulare in modo affidabile i movimenti globali dell'arto durante l'esecuzione del gesto motorio. Sebbene questa semplificazione limiti l'analisi dei movimenti delle dita, non compromette l'accuratezza dell'analisi per gesti di tipo grossolano, come il reaching (Chan & Moran, 2006).

Nonostante la limitazione introdotta dalla mano rigida, il modello è stato preferito rispetto a modelli umani in quanto fornisce una maggiore fedeltà anatomica rispetto alla specie oggetto dello studio (*Macaca fascicularis*), riducendo il rischio di introdurre errori legati a differenze morfologiche, in particolare nella distribuzione e funzione dei muscoli.

Per adattare il modello alle dimensioni corporee dell'animale utilizzato negli esperimenti, sono state stimate le lunghezze dei segmenti ossei (omero, radio-ulna e mano) a partire dalle distanze medie tra marker virtuali posizionati su gomito, polso e dorso della mano, ricavate tramite il software DeepLabCut. Sebbene il posizionamento dei marker sul modello virtuale risenta di un certo grado di approssimazione, dovuto sia alla natura virtuale del tracciamento sia alla presenza dei tessuti molli nell'animale reale, le misure ottenute hanno fornito una base adeguata per calcolare i fattori di scala per ciascun segmento.

Per stimare con maggiore accuratezza le dimensioni dei segmenti ossei del modello, le mesh tridimensionali originali sono state esportate da OpenSim e analizzate in Paraview (Ahrens *et al.*, 2005). In questo contesto, Paraview è stato utilizzato non come strumento di modellazione, ma come viewer che consente la misura diretta delle lunghezze e dei diametri dei segmenti. I valori così ottenuti sono serviti per calcolare i rapporti di scala da applicare successivamente al modello tramite OpenSim Creator, che ha permesso la modifica effettiva delle dimensioni e dei parametri del file .osim.

La modifica del modello è stata eseguita tramite OpenSim Creator (Kewley *et al.*, 2025), uno strumento open-source che consente la modifica diretta del file .osim. Attraverso questo strumento sono stati aggiornati i parametri geometrici dei segmenti, gli offset articolari e i punti di origine e inserzione dei muscoli, mantenendo la coerenza strutturale e funzionale del modello.

Il risultato finale è un modello muscoloscheletrico tridimensionale, scalato in modo specifico sulle dimensioni dell'animale sperimentale, dotato di una muscolatura coerente con la specie di riferimento e pronto per essere impiegato nelle fasi di simulazione e analisi cinematica.

3.3.3 Inserimento dei dati sperimentali e cinematica inversa

Dopo aver scalato il modello biomeccanico, la fase successiva ha riguardato il caricamento dei dati cinematici e l'esecuzione dell'analisi di cinematica inversa (Inverse Kinematics, IK). Questa procedura consente di ricostruire le traiettorie articolari del modello a partire dal tracciamento dei marker sperimentali, con l'obiettivo di riprodurre fedelmente il movimento reale del primate.

Per questa fase sono stati posizionati sul modello virtuale cinque marker (Elbow, WristMed, WristLat, HandBack, Middle1). La scelta di questi cinque marker è stata guidata dalla necessità di rappresentare in modo affidabile i segmenti principali coinvolti nel movimento (braccio, avambraccio e mano) e di garantire una corrispondenza diretta con i punti anatomici osservabili nei video markerless. Inoltre, tali marker risultano meno soggetti a occlusioni e ambiguità durante il tracciamento, permettendo di ottenere una ricostruzione cinematica stabile.

Sono stati esclusi marker aggiuntivi sulle dita poiché il modello OpenSim adottato rappresenta la mano come segmento rigido non articolato, e la loro inclusione avrebbe introdotto errori sistematici nella cinematica inversa.

La sequenza temporale del movimento è stata codificata in un file .trc, costruito manualmente rispettando rigorosamente la sintassi richiesta dal software. Il file, contenente 87.576 istanti temporali, è stato compilato utilizzando Visual Studio Code e strutturato secondo le specifiche descritte in precedenza nel paragrafo 3.3.1.

L'analisi di IK in OpenSim si basa su un algoritmo di minimizzazione degli errori che, per ciascun frame temporale, determina la configurazione articolare del modello (cioè l'insieme di coordinate generalizzate) che meglio approssima la posizione dei marker sperimentali. L'algoritmo imposta le coordinate articolari in modo da minimizzare la somma pesata degli errori quadrati, calcolati come distanza euclidea tra ciascun marker virtuale del modello e il corrispondente marker acquisito sperimentalmente.

Ogni marker può essere associato a un peso specifico, che ne regola l'importanza relativa all'interno del movimento. Inoltre, è possibile introdurre vincoli su specifiche coordinate, in modo da guidare il programma verso valori noti o fisiologicamente plausibili (Delp *et al.*, 2007).

Come output, l'IK tool produce un file .mot contenente le traiettorie articolari calcolate nel tempo, espresse in coordinate generalizzate: le rotazioni articolari sono espresse in gradi, mentre eventuali traslazioni sono riportate in metri. Tali dati rappresentano una ricostruzione continua e coerente del gesto motorio e costituiscono la base per tutte le successive analisi articolari biomeccaniche.

Nel complesso, l'analisi di cinematica inversa ha permesso di ottenere una ricostruzione realistica della cinematica articolare del primate durante l'esecuzione del gesto motorio.

3.4 Estrazione dei parametri articolari e muscolari

Completata la fase di ricostruzione cinematica, è stata avviata l'estrazione dei principali parametri articolari e muscolari, con l'obiettivo di costruire un dataset completo e strutturato, idoneo per le successive analisi neurali.

3.4.1 Angoli articolari, velocità e accelerazioni

A partire dal file .mot ottenuto tramite l'analisi di Inverse Kinematics (IK) in OpenSim, sono stati estratti i valori temporali degli angoli articolari relativi alle sette articolazioni principali del modello.

Tuttavia, l'analisi si è focalizzata in particolare su tre articolazioni maggiormente implicate nel movimento di reaching: `shoulder_adduction`, `shoulder_flexion` e `elbow_flexion`. Questi angoli rappresentano l'output diretto dell'analisi IK e costituiscono la base per l'elaborazione successiva.

Con una derivazione numerica di primo e secondo ordine rispetto al tempo, sono state calcolate rispettivamente la velocità angolare ($^{\circ}/s$) e l'accelerazione angolare ($^{\circ}/s^2$), verificando la coerenza tra le variazioni dei valori e la dinamica del movimento osservato. L'analisi dei grafici relativi alle velocità e accelerazioni angolari (Figure 7 e 8) ha confermato la coerenza interna tra i parametri cinematici estratti, mostrando una buona qualità del processo di derivazione numerica.

In particolare, si osserva una corrispondenza temporale tra i picchi di velocità e le variazioni più marcate dell'accelerazione, in linea con la fisiologia del movimento articolare. Tali picchi risultano localizzati in specifici intervalli temporali (ad esempio tra 100–200 secondi e intorno ai 600 secondi) e potrebbero riflettere fasi di maggiore dinamica motoria, ma non si può escludere che derivino da imprecisioni nella ricostruzione dei marker da parte di DLC o da limitazioni della cinematica inversa in OpenSim. Un'analisi più mirata, ad esempio confrontando direttamente le coordinate spaziali del polso in diversi trial, sarebbe necessaria per distinguere tra queste ipotesi.

La dinamica differisce tra le tre articolazioni analizzate. `Shoulder_adduction` e `shoulder_flexion` presentano picchi di velocità angolare molto accentuati (fino a ± 3000 $^{\circ}/s$ e ± 1500 $^{\circ}/s$ rispettivamente), ma relativamente isolati nel tempo, con una componente oscillatoria moderata tra un picco e l'altro. Questo comportamento è coerente con sequenze di movimenti rapidi seguiti da brevi fasi di riposo, tipiche del compito di reaching.

`Elbow_flexion` mostra invece una maggiore frequenza di oscillazioni nelle velocità angolari, con picchi di valori che si ripetono regolarmente e si aggirano intorno ai ± 400 $^{\circ}/s$. Tale regolarità suggerisce un pattern motorio più fluido e ciclico, probabilmente legato alla maggiore coinvolgimento dinamico dell'avambraccio nel compito.

Per quanto riguarda le accelerazioni angolari, i tracciati evidenziano valori di picco anche molto elevati (ad esempio fino a $\pm 100.000 \text{ }^\circ/\text{s}^2$ per `shoulder_adduction`), ma generalmente isolati e transitori.

Le curve risultano nel complesso regolari e consistenti dal punto di vista fisico, senza segnali sistematici di instabilità numerica. In particolare, l'articolazione del gomito (`elbow_flexion`) mostra accelerazioni più contenute (entro $\pm 30.000 \text{ }^\circ/\text{s}^2$), distribuite in modo continuo e privo di discontinuità evidenti, a conferma della maggiore fluidità del movimento osservato in questa articolazione.

Si osservano in generale alcuni picchi anomali di accelerazione, sporadici ma molto pronunciati, che potrebbero derivare da artefatti di interpolazione numerica o da movimenti che il modello non è riuscito a ricostruire alla perfezione. Poiché OpenSim ha l'obiettivo di minimizzare l'errore tra le coordinate reali da seguire e il movimento effettivo dell'arto biomeccanico, nei casi in cui il software incontra difficoltà nella ricostruzione può generarsi un movimento non fluido con transizioni rapide. Questo si manifesta nei dati come un'azione improvvisa, accompagnata da picchi anomali di accelerazione che non rispecchiano la continuità del movimento reale. Tuttavia, tali eventi risultano rari e non alterano l'andamento complessivo dei parametri analizzati.

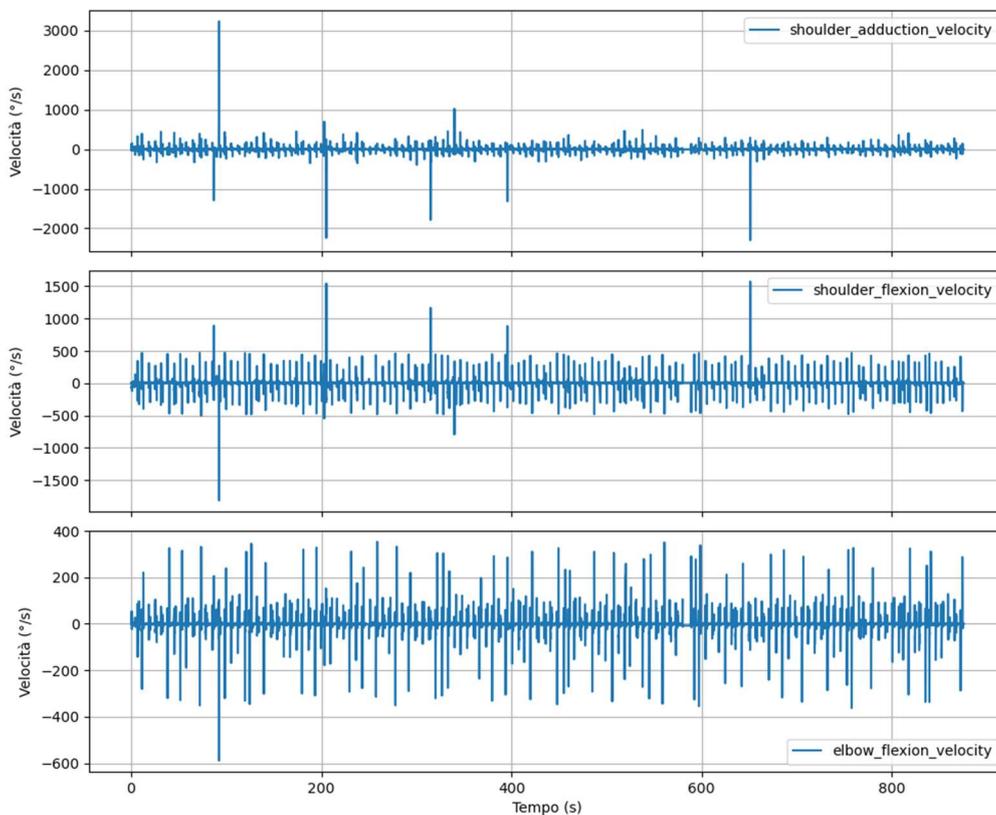


Figura 7. *Velocità angolari nel tempo.*

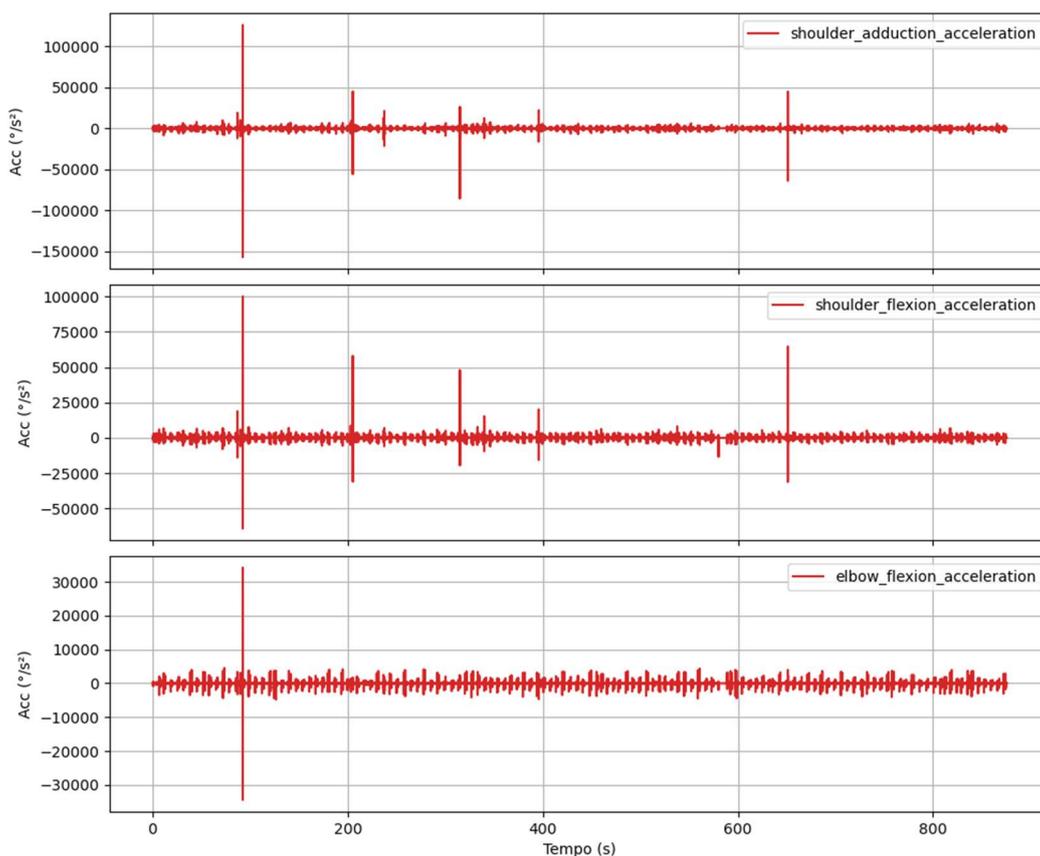


Figura 8. *Accelerazioni angolari nel tempo.*

3.4.2 Analisi delle lunghezze muscolari

Parallelamente all'analisi cinematica, è stata condotta un'estrazione delle lunghezze muscolari nel tempo, tramite la funzione Muscle Analysis di OpenSim, generando un file .sto contenente i valori della lunghezza di ciascun muscolo del modello in ogni istante.

Tra i 48 muscoli disponibili, l'analisi si è focalizzata su quelli più coinvolti nel movimento dell'arto, ovvero: bicep_lh (bicipite brachiale), teres_major (grande rotondo) e deltoid_ant (deltoide anteriore).

Il bicipite brachiale è un muscolo biarticolare situato nella regione anteriore del braccio, coinvolto nella flessione del gomito, nella supinazione dell'avambraccio e nella stabilizzazione della spalla. Il grande rotondo è un muscolo scapolo-omerale situato nella regione posteriore, deputato all'estensione, adduzione e rotazione interna dell'omero, mentre il deltoide anteriore origina dalla parte anteriore della clavicola e partecipa attivamente alla flessione e alla rotazione mediale del braccio.

Per ciascuno di essi è stato calcolato il delta di lunghezza, ovvero la differenza tra i valori massimi e minimi nell'intervallo temporale di interesse, per stimare l'effettivo grado di accorciamento o allungamento in centimetri.

Questo approccio ha consentito di identificare i muscoli maggiormente coinvolti nella cinematica osservata e di descriverne l'andamento dinamico nel tempo.

3.4.3 Preparazione del dataset finale

Una volta completata l'estrazione dei parametri articolari e muscolari, tutti i dati ottenuti (angoli, velocità, accelerazioni e lunghezze muscolari) sono stati organizzati in un foglio Excel strutturato, in cui ogni parametro è riportato in colonne separate in corrispondenza della sequenza temporale.

Durante questa fase, sono stati esclusi due brevissimi intervalli temporali di 3 secondi e di 8 secondi (in corrispondenza di 247s e 580s) nei quali OpenSim non è riuscito a ricostruire correttamente la cinematica del braccio. Questo errore è stato attribuito alla natura virtuale del posizionamento dei marker e ai limiti intrinseci del modello biomeccanico, che, pur scalato, potrebbe non rappresentare con esattezza la morfologia del soggetto reale utilizzato nell'esperimento.

Gli intervalli esclusi non coincidono con i picchi isolati osservati nei grafici di velocità e accelerazione (Figure 7 e 8), che risultano più numerosi e distribuiti lungo la registrazione. In questi due casi, infatti, OpenSim non è riuscito a ricostruire in maniera coerente l'intera cinematica del braccio, generando sequenze di dati incompatibili con il movimento reale. Per questo motivo sono stati rimossi dal dataset, mentre i picchi residui sono stati considerati come oscillazioni numeriche locali non tali da compromettere l'andamento generale.

Il file Excel così ottenuto è stato infine importato in uno script MATLAB (The MathWorks Inc., 2022) personalizzato, sviluppato per combinare in modo coerente tutti i gruppi di dati: coordinate spaziali (x, y, z), angoli articolari selezionati, velocità e accelerazioni angolari e lunghezze muscolari. Questo script ha permesso anche di suddividere l'intero dataset in singoli trial, corrispondenti alle diverse condizioni sperimentali di raggiungimento dei nove target spaziali previsti.

Il risultato finale è stato un file .mat strutturato, contenente per ciascun trial tutti i parametri biomeccanici d'interesse, ordinati temporalmente e associati alla rispettiva condizione sperimentale.

Prima dell'utilizzo nelle reti neurali, tutti i parametri sono stati normalizzati rispetto alla media e deviazione standard del training set, in modo da ridurre le differenze di scala tra variabili e favorire la convergenza dell'ottimizzatore. Questa procedura si è rivelata particolarmente importante per le accelerazioni, caratterizzate da valori numerici molto elevati.

Tale dataset rappresenta una base dati completa, coerente e multilivello, pensata per alimentare modelli predittivi di tipo LSTM, in grado di correlare i parametri motori con l'attività neurale registrata nell'area F2 della corteccia premotoria dorsale.

3.5 Rete neurale LSTM e analisi dell'attività neurale

L'approccio implementato in questo studio per la decodifica dei parametri cinematici del movimento a partire dall'attività neurale è costituito da una rete neurale ricorrente (RNN) con architettura Long Short-Term Memory (rete neurale LSTM).

L'impiego di tale modello si fonda sulla necessità di catturare la struttura temporale dei dati neurali, che risultano essere sequenze dinamiche caratterizzate da una forte dipendenza temporale.

Le reti LSTM, introdotte per superare i limiti delle classiche RNN, sono infatti progettate per gestire sequenze lunghe, mantenendo informazioni rilevanti a lungo termine grazie a un meccanismo interno di memoria controllata da porte di input, output e forget.

Nel contesto di questo lavoro, i dati neurali sono stati ottenuti tramite registrazioni intracorticali da una popolazione di neuroni localizzati nella corteccia premotoria dorsale, in particolare nell'area F2.

L'attività elettrica dei neuroni, registrata come segnale continuo di variazione di potenziale nel tempo, è stata sottoposta a un processo preliminare di spike sorting (ordinamento dei potenziali d'azione) per individuare i tempi di insorgenza dei potenziali d'azione.

A seguito di questa procedura, sono stati isolati 45 neuroni, i quali costituiscono le feature di input per il decodificatore LSTM.

Il risultato di questa elaborazione è una sequenza discreta di spike times (tempi di picco) per ciascun neurone, la quale tuttavia non può essere utilizzata direttamente come input

per un modello neurale, poiché presenta lunghezze variabili e non è compatibile con la struttura regolare richiesta da una rete.

Per questo motivo, si è proceduto con un'operazione di binning (binnaggio), ovvero la suddivisione della linea temporale di ciascun trial in intervalli regolari di 20 millisecondi. All'interno di ciascun bin è stato conteggiato il numero di spike per ogni neurone, ottenendo così una rappresentazione vettoriale uniforme dell'attività di scarica, con un valore numerico che rappresenta la frequenza di attivazione del neurone in quell'intervallo.

Successivamente, sono stati costruiti dei chunk temporali, ovvero delle finestre mobili della durata di 15 bin (equivalenti a 300 millisecondi (ms)), che avanzano nel tempo con uno step di 5 bin (100 ms), in modo da produrre un ampio numero di esempi attraverso la sovrapposizione parziale delle finestre.

Ogni chunk contiene quindi una sequenza tridimensionale che rappresenta il pattern temporale di scarica di una popolazione neuronale.

La struttura finale del dataset di input è data da un tensore tridimensionale (numero di campioni (batch size), numero di neuroni, lunghezza del chunk), in cui ogni esempio rappresenta l'attività di tutti i neuroni osservata per 300 ms.

A ciascun chunk neurale è stata associata un'etichetta composta da 5 bin successivi (100 ms) dei segnali cinematici del movimento, in particolare le coordinate spaziali (x, y, z) del marker associato all'effettore motorio.

Questo processo di preprocessing, dalla registrazione dei segnali neurali grezzi fino alla costruzione del tensore tridimensionale, è riassunto in Figura 9, che illustra visivamente i passaggi principali.

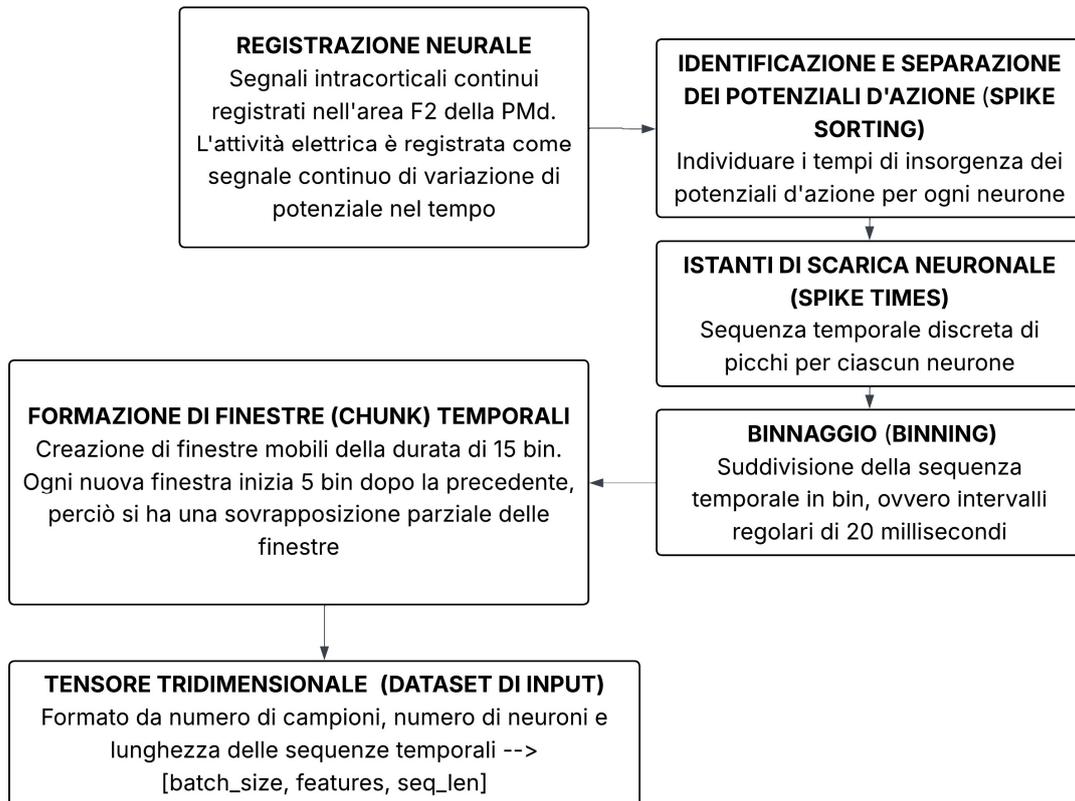


Figura 9. *Preprocessing dei dati di input per il modello LSTM: dalla registrazione dei segnali neurali grezzi alla costruzione del tensore tridimensionale.*

L’obiettivo del modello è dunque imparare una funzione che, dato un segmento temporale di attività neurale, riesca a predire accuratamente la traiettoria del movimento che segue immediatamente quella finestra di attività, restituendo come output una matrice di dimensione (3, 5), con i valori delle coordinate spaziali predette nei cinque bin successivi.

La rete neurale impiegata è stata sviluppata all’interno di una classe denominata LSTMtraj. Essa prevede un layer LSTM con dimensione dello strato nascosto pari a 64 unità, configurato per ricevere in input sequenze temporali in formato batch-first, ovvero con la struttura [batch_size, seq_len, features], dove “batch_size” indica quanti campioni sono elaborati in parallelo, “seq_len” rappresenta quanti passi temporali ha la sequenza e “features” corrisponde al numero di neuroni considerati.

Per una visione d’insieme dell’architettura e del flusso dei dati all’interno del modello, è riportato lo schema a blocchi in Figura 10, che evidenzia le principali componenti del modello LSTM e il collegamento tra i vari layer.

Dal momento che l'input originario ha una forma $[\text{batch_size}, \text{features}, \text{seq_len}]$, è stato necessario trasporre le dimensioni prima di passarle al modulo LSTM.

L'output del layer LSTM è una sequenza di vettori, uno per ciascun passo temporale, ma in questo caso è stato utilizzato esclusivamente l'output corrispondente all'ultimo timestep della sequenza, ritenuto il più informativo per la previsione futura. Tale vettore viene passato a un layer fully connected (lineare), che ne effettua una proiezione nello spazio delle traiettorie motorie. L'output viene infine riorganizzato per restituire una matrice con tre righe (coordinate spaziali) e cinque colonne (passi temporali).

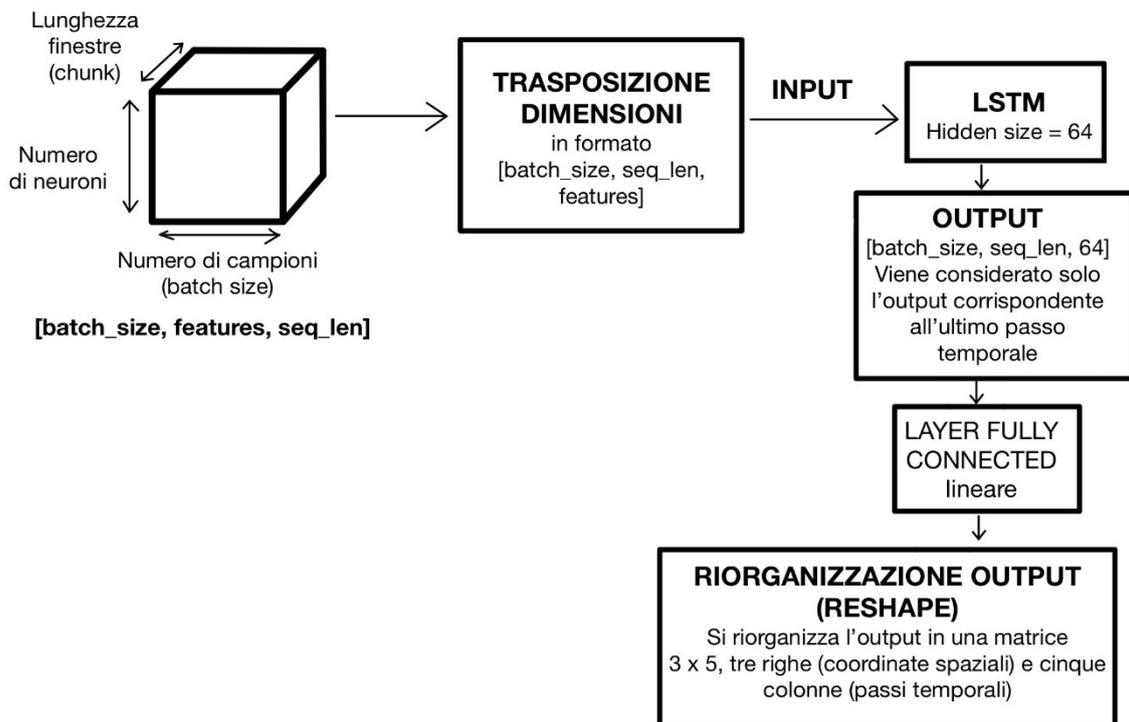


Figura 10. Schema a blocchi dell'architettura LSTM e del flusso dei dati.

Per l'addestramento della rete è stata implementata una funzione di perdita personalizzata, la TrajectoryLoss, che combina due termini distinti. Il primo è una classica funzione MSE (Mean Squared Error), calcolata come media degli errori quadratici tra i valori predetti e quelli osservati, pesata in modo indipendente per ciascuna delle tre dimensioni spaziali. Il secondo termine è un vincolo di regolarizzazione temporale che penalizza variazioni improvvise nella traiettoria predetta.

Quest'ultimo termine viene controllato tramite un parametro lambda che nel presente caso è stato posto a zero, cosicché la funzione di perdita si riducesse al solo MSE, concentrandosi esclusivamente sull'accuratezza spaziale delle predizioni.

Il risultato finale della funzione di perdita è quindi un compromesso tra accuratezza e coerenza temporale della traiettoria.

Il training della rete è stato effettuato su più fold di cross-validazione, ciascuno costituito da una partizione dei trial a disposizione. Per ogni fold, sono stati assegnati otto trial al training set, uno al validation set e uno al test set.

I dati sono stati suddivisi in batch di 16 esempi e il processo di ottimizzazione è stato gestito tramite l'algoritmo Adam con un learning rate pari a 0.001.

Per evitare fenomeni di overfitting, è stato introdotto un meccanismo di early stopping basato sul monitoraggio della loss sul validation set: se per più di 100 epoche consecutive non veniva osservato un miglioramento significativo, l'addestramento veniva interrotto automaticamente e veniva salvato il modello associato alla migliore performance di validazione.

Una caratteristica essenziale dell'approccio adottato è che la rete LSTM è stata utilizzata in cinque esperimenti distinti, ognuno dei quali finalizzato alla predizione di un diverso tipo di informazione biologica.

In ogni esperimento, la rete veniva alimentata dagli stessi dati neurali preprocessati, ma riceveva in output una terna diversa di variabili continue, sempre espresse come sequenze temporali su cinque bin.

Nel primo caso, la rete è stata addestrata per predire le tre coordinate spaziali del marker al polso (wrist), corrispondenti alle colonne 22, 23 e 24 del file .mat. In un secondo passaggio, sono stati forniti in output tre angoli articolari: shoulder adduction, shoulder flexion ed elbow flexion, prelevati dalle colonne 188, 189 e 190. Il terzo esperimento ha preso come target le velocità angolari relative agli stessi tre gradi di libertà articolare, definite dalle colonne 191, 192 e 193. Successivamente, la rete è stata addestrata a predire le relative accelerazioni angolari, colonne 194, 195, 196. Infine, è stata testata anche la capacità del modello di ricostruire informazioni muscolari, in particolare la lunghezza muscolare di tre muscoli selezionati (bicepLH, deltoidANT e tersMAJOR), ottenute dalle colonne 197, 198 e 199.

Per ciascuna di queste condizioni sperimentali, l'addestramento è stato eseguito da capo, e i modelli sono stati salvati all'interno di directory dedicate, denominate in modo da riflettere la variabile target (ad esempio, mef_F2_wristlat, mef_F2_angoliarticolari, e così via). Ogni cartella conteneva i pesi del modello per ciascun trial utilizzato come test, insieme ai file di supporto necessari per la successiva fase di inferenza.

L'analisi finale è stata condotta mediante uno script di inferenza automatizzato, che caricava i modelli addestrati e ne valutava le prestazioni sui rispettivi set di test.

Per ciascun esperimento, le traiettorie predette sono state confrontate con quelle reali e sono stati calcolati i coefficienti di determinazione R^2 separatamente per ciascuna delle tre variabili predette.

L'output dello script produceva un confronto grafico tra le cinque condizioni, in cui le prestazioni medie della rete venivano visualizzate tramite un grafico a barre, permettendo di evidenziare quali classi di segnali fossero meglio predette a partire dall'attività neurale registrata. Questo approccio comparativo ha consentito di ottenere una stima robusta della quantità e del tipo di informazione codificata nella corteccia premotoria dorsale, rivelando eventuali preferenze funzionali della popolazione neuronale verso specifici domini motori o muscolari.

4. RISULTATI

4.1 Dati grezzi e ricostruzione tridimensionale dell'arto

Nella fase iniziale dell'analisi, è stato fondamentale esplorare visivamente la qualità e la coerenza spaziale dei dati grezzi ottenuti tramite il tracciamento markerless. A tal fine, sono stati realizzati grafici tridimensionali delle posizioni target e dei punti articolari in cui sono stati collocati virtualmente i marker, utilizzando per la posizione articolare della mano le coordinate nello spazio ricostruite da DeepLabCut e Anipose.

In Figura 11, viene mostrata la configurazione tridimensionale dell'arto superiore in condizione di touch di uno dei target, con la disposizione dei marker virtuali sui segmenti scheletrici e sulle dita della mano. I marker sono stati etichettati secondo la nomenclatura anatomica standard (ad esempio *elbow*, *wrist lat/med*, *hand back*, *index tip* ecc.), permettendo di visualizzare in modo dettagliato la postura dell'arto nello spazio. Le linee nere rappresentano i collegamenti scheletrici tra i punti principali, evidenziando la struttura articolare del braccio e la sua estensione nello spazio 3D. Questa posizione evidenzia la mano chiusa attorno al target, suggerendo non solo l'esecuzione di un gesto di reach and touch (raggiungimento e tocco), ma anche un'azione di catch (presa), che implica una coordinazione motoria più complessa.

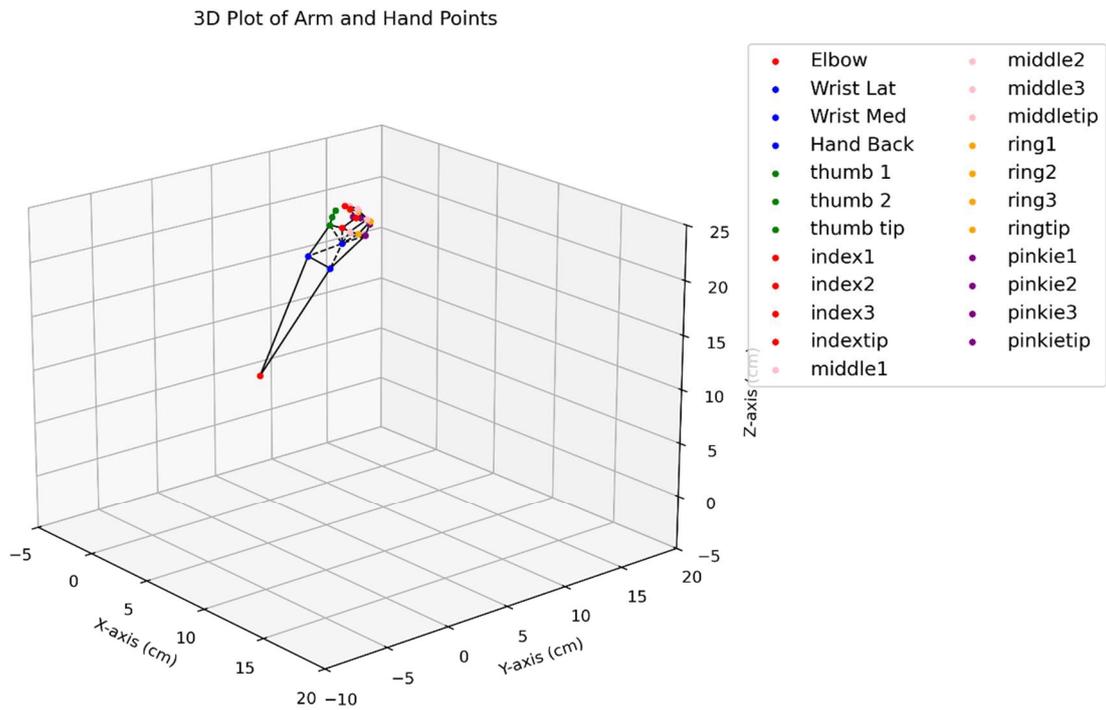


Figura 11. *Configurazione articolare della mano in fase di catch del target.*

In Figura 12 viene mostrato un confronto tra due configurazioni articolari in momenti distinti (inizio e fine movimento), per evidenziare visivamente la traiettoria e l'escursione del braccio tra la posizione iniziale e quella di contatto con il target. La distinzione tra le due posture è resa evidente dalla duplicazione dei marker, che consente di apprezzare il cambiamento spaziale di ciascun punto anatomico durante il gesto.

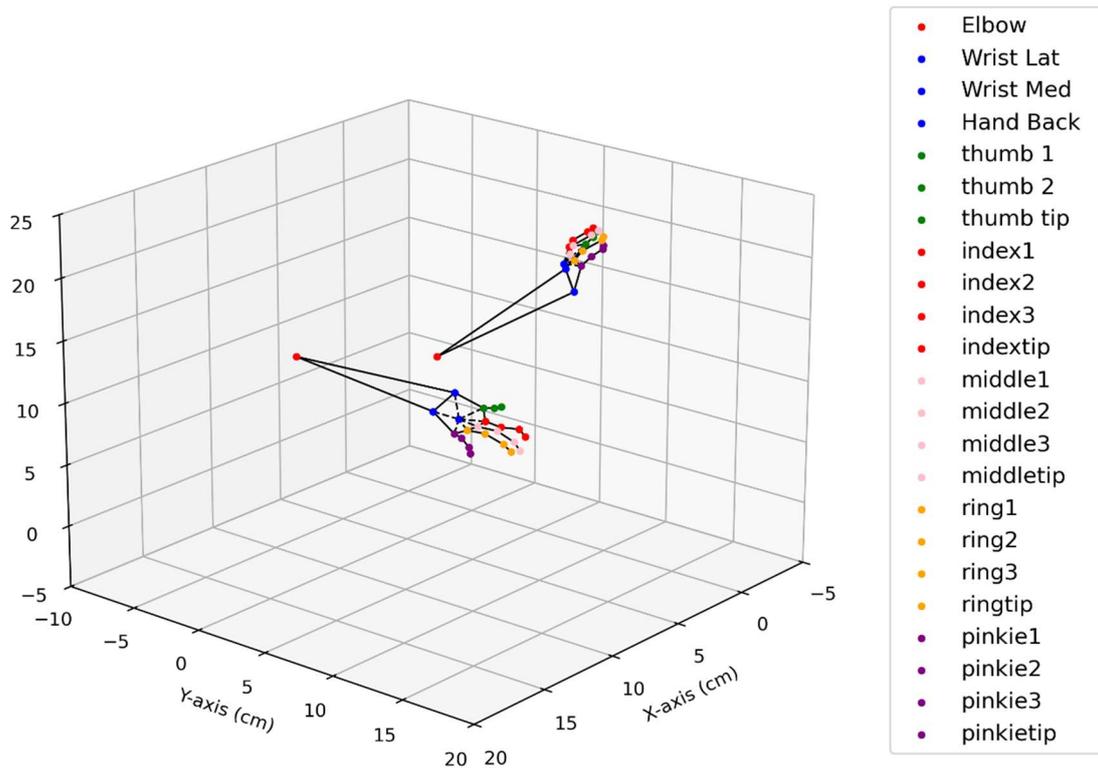


Figura 12. Configurazione articolare iniziale (*Home Button*) e finale (*target*).

Successivamente, per contestualizzare la traiettoria all'interno del compito motorio, sono stati plottati anche i punti di partenza e arrivo del movimento, ovvero il pulsante iniziale (*Home Button*) e i nove target di contatto. Come mostrato in Figura 13, questi target sono disposti in una griglia tridimensionale formata da tre livelli di profondità (*Near*, *Intermediate*, *Far*) e tre direzioni orizzontali (*Left*, *Central*, *Right*), rispettando le condizioni sperimentali. Le posizioni appaiono ben distribuite e coerenti con le coordinate teoriche definite nel setup.

Una proiezione sul piano X-Y delle stesse posizioni è mostrata in Figura 14, dove la struttura planimetrica della disposizione target risulta ulteriormente visibile, evidenziando la simmetria laterale e l'aumento di distanza rispetto all'origine rappresentata dal *Home Button*.

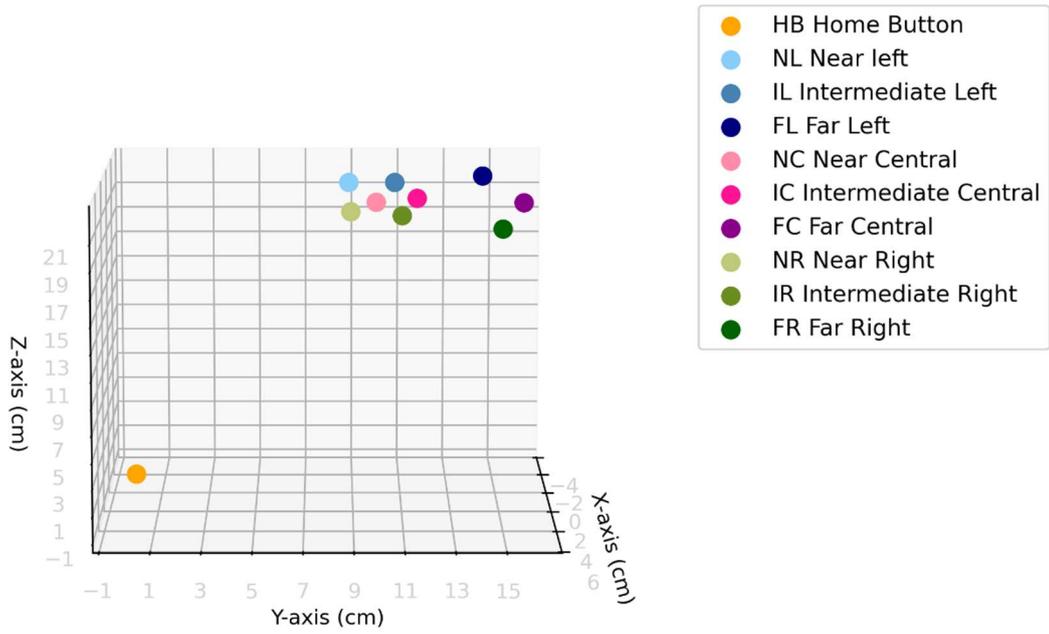


Figura 13. *Raffigurazione tridimensionale delle posizioni target e di Home Button nello spazio.*

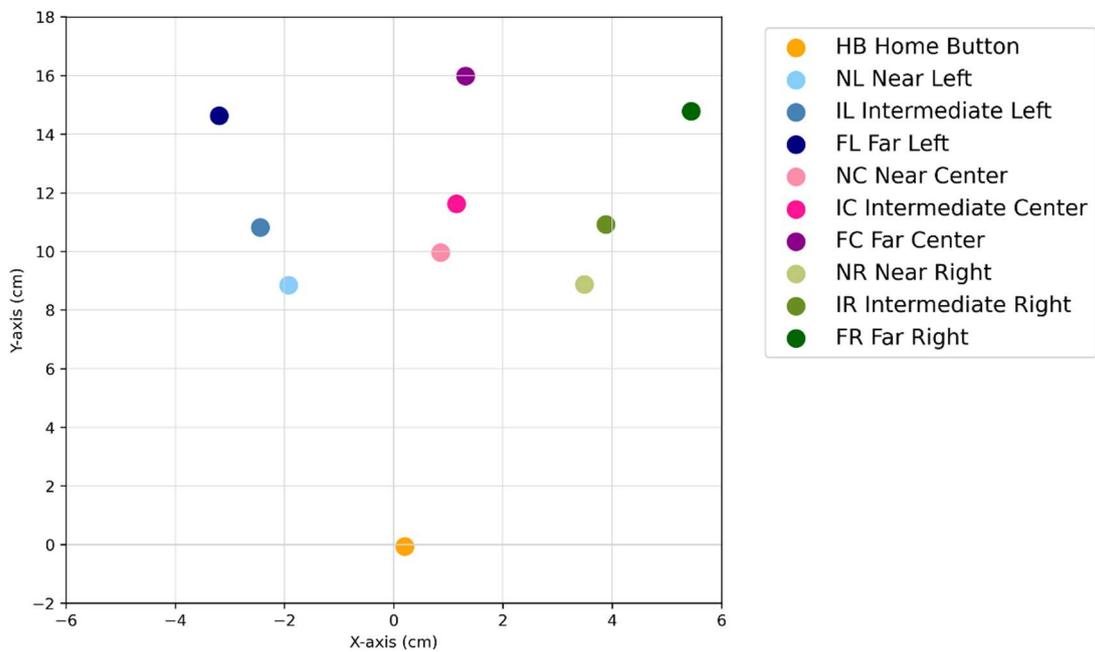


Figura 14. *Raffigurazione bidimensionale della posizioni target e di Home Button nello spazio.*

Dopo questa fase esplorativa, i dati spaziali dei marker sono stati utilizzati come input per la modellazione biomeccanica in OpenSim. Il modello virtuale dell'arto superiore del macaco, opportunamente scalato, ha consentito la trasformazione delle traiettorie spaziali in parametri articolari e muscolari (vedi paragrafo 3.3). Questo passaggio ha permesso di ottenere una rappresentazione biomeccanica realistica e dettagliata del movimento.

Per visualizzare la ricostruzione biomeccanica del movimento dell'arto superiore, sono state esportate alcune immagini rappresentative del modello implementato in ambiente OpenSim.

In Figura 15, viene mostrato il modello in posizione statica di default, prima dell'inserimento dei dati cinematici. I muscoli appaiono in rosso, indicando assenza di attivazione. Il modello è composto da una struttura scheletrica (bianca), giunzioni articolari (azzurre), muscoli (rossi o viola, a seconda dello stato di attivazione) e dai marker virtuali (sfere rosa).

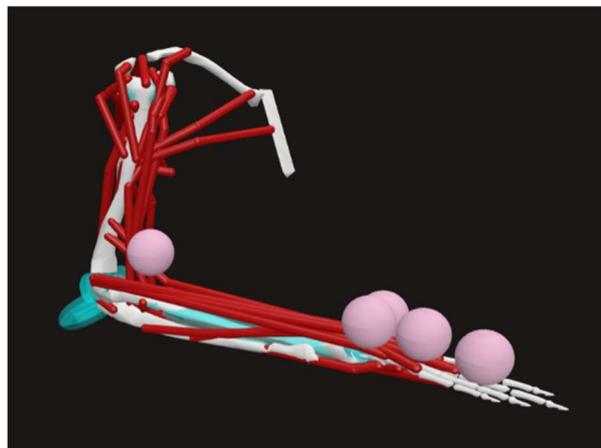


Figura 15. *Modello biomeccanico statico dell'arto superiore in OpenSim.*

Dopo l'inserimento delle traiettorie cinematiche, i muscoli coinvolti nel gesto motorio vengono attivati, e sono evidenziati in viola.

In Figura 16, il modello è rappresentato nella posizione iniziale del compito (Home Button), mentre in Figura 17 si osserva la configurazione articolare finale in fase di raggiungimento e presa del target.

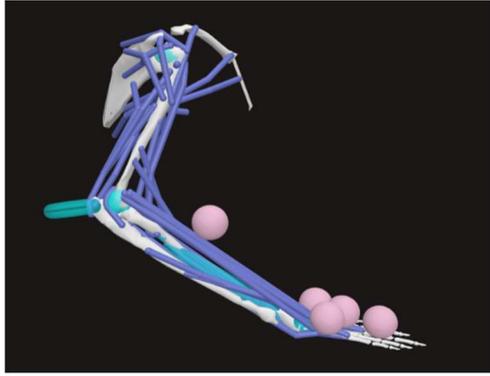


Figura 16. *Configurazione articolare in posizione iniziale (Home Button).*

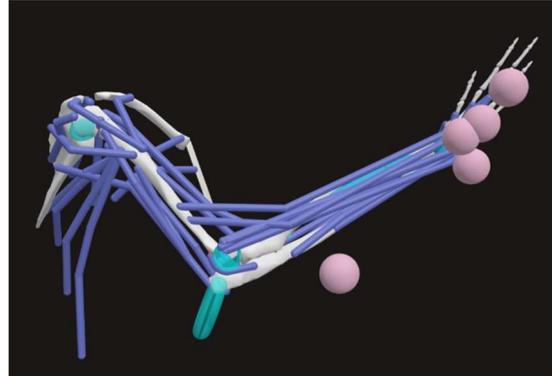


Figura 17. *Configurazione articolare finale in posizione di presa del target.*

È importante sottolineare che il software OpenSim non consente la modifica del diametro dei marker virtuali, i quali appaiono quindi sovradimensionati rispetto alla scala reale. Inoltre, i marker sono stati posizionati manualmente e in modo approssimativo, mantenendoli distanziati dalla superficie del modello per tenere conto della presenza dei tessuti molli interposti, che nella realtà separano i marker visibili in video dalle strutture ossee interne.

Infine, si segnala che, nella posizione finale di reaching del target, la mano nel modello biomeccanico non mostra un gesto di afferramento, a differenza di quanto osservato nella ricostruzione tridimensionale dei marker (Figura 11), dove le dita si chiudono attorno al target. Questa differenza è dovuta al fatto che il modello utilizzato in OpenSim non prevede gradi di libertà per le articolazioni delle dita, come era già stato spiegato nel paragrafo 3.3.2, e quindi non consente di simulare il movimento della prensione.

4.2 Accuratezza del modello LSTM con input differenti

In questa fase dell'analisi, il modello LSTM è stato addestrato e testato per predire diversi tipi di variabili biomeccaniche e cinematiche legate al movimento dell'arto superiore. In particolare sono state considerate cinque categorie di parametri: coordinate spaziali, angoli articolari, velocità articolari, accelerazioni articolari e lunghezze muscolari.

L'addestramento è stato eseguito con validazione incrociata su 9 fold indipendenti, ciascuno costituito da combinazioni diverse di trial per le fasi di training, validazione e

test. Questo approccio ha permesso di valutare la robustezza del modello rispetto alla variabilità interna al soggetto.

Una sintesi quantitativa delle performance ottenute nei cinque esperimenti è riportata nella Figura 18, che mostra la tabella con il numero di epoche totali di training e i valori medi di R^2 calcolati per ciascuna delle tre componenti (x, y, z) per ogni categoria di variabili. La tabella in figura offre una panoramica comparativa utile a comprendere le differenze generali di accuratezza tra i diversi tipi di output.

Nel primo caso, il modello è stato addestrato per predire le coordinate spaziali (x, y, z) del marker posto lateralmente sul polso (WristLat). Il numero di epoche necessarie per il training ha variato tra i diversi fold, con un range compreso tra 118 e 154 epoche. In tutti i casi, il training è stato interrotto tramite early stopping, attivato automaticamente quando la validazione non mostrava più miglioramenti per un numero di epoche consecutivo. Il minimo della validation loss è stato generalmente raggiunto nelle prime 40 epoche (in media tra la 18^a e la 42^a), segno che il modello converge rapidamente verso una soluzione ottimale, evitando fenomeni di overfitting. Le componenti y (antero-posteriore) e z (verticale) hanno ottenuto valori medi elevati di R^2 , rispettivamente tra 0.88 e 0.94 per y e tra 0.97 e 0.99 per z, dimostrando elevata accuratezza. Al contrario, la componente x (mediolaterale) ha mostrato prestazioni inferiori, con valori medi di R^2 compresi tra 0.16 e 0.41, riflettendo probabilmente una minore ampiezza del movimento lungo quest'asse o una minore informazione neurale associata. Il R^2 medio totale si attesta intorno a 0.74 ± 0.31 .

La rete LSTM è stata poi addestrata a predire l'evoluzione temporale degli angoli articolari relativi al movimento del braccio: adduzione della spalla (x), flessione della spalla (y) e flessione del gomito (z). Si precisa che la notazione x, y, z è mantenuta unicamente per comodità di rappresentazione grafica e non corrisponde a coordinate cartesiane reali.

Il numero di epoche necessarie per il training è risultato relativamente contenuto, con un massimo di 121 epoche e un minimo di 102, segno che la rete ha raggiunto una convergenza rapida. L'epoca ottimale, cioè quella con la validation loss minima, è stata spesso rilevata entro le prime 6 epoche in diversi fold, suggerendo che l'early stopping ha avuto un ruolo centrale nel prevenire overfitting precoce. La componente z (flessione del gomito) ha ottenuto i risultati più elevati e stabili, con R^2 tra 0.29 e 0.61, suggerendo

una ricostruzione sufficientemente affidabile. La componente y (flessione della spalla) ha mostrato un'accuratezza variabile, con R^2 compresi tra 0.25 e 0.78, mentre la componente x (adduzione della spalla) ha evidenziato le maggiori difficoltà, con valori compresi tra -0.70 e 0.36, in alcuni casi inferiori allo zero, indicando che la rete non è riuscita a superare la varianza media dei dati reali in quella direzione.

Successivamente, il modello ha predetto l'andamento temporale delle velocità articolari, riferite ai tre gradi di libertà di adduzione della spalla (x), flessione della spalla (y) e flessione del gomito (z). La durata dell'addestramento è risultata più variabile rispetto agli esperimenti precedenti, con un numero di epoche compreso tra 108 e 170. L'early stopping è stato attivato generalmente entro le prime 70 epoche, indicando una discreta rapidità di convergenza, anche se meno stabile rispetto ai modelli precedenti. L'accuratezza predittiva ha mostrato che la componente z (velocità di flessione del gomito) ha ottenuto i risultati più costanti, con R^2 tra 0.52 e 0.72, suggerendo che questo parametro è rappresentato in modo relativamente robusto a livello neurale. La componente y (flessione della spalla) ha mostrato valori elevati in alcuni fold (fino a 0.75), ma anche maggior variabilità (minimo di 0.45), mentre la componente x (adduzione della spalla) è risultata la meno accurata, con valori medi tra -1.19 e 0.45 a indicare una rappresentazione neurale più debole.

Nel quarto caso, la rete LSTM ha stimato le accelerazioni articolari, con riferimento alle tre articolazioni di adduzione della spalla (x), flessione della spalla (y) e flessione del gomito (z). Il numero di epoche di training è risultato piuttosto vario, con un minimo di 121 e un massimo di 156 epoche, riflettendo una convergenza più lenta e irregolare rispetto agli altri modelli. In alcuni fold, il minimo della validation loss è stato raggiunto in epoche precoci (ad esempio 18), mentre in altri è servito un numero maggiore di iterazioni.

I risultati mostrano una predizione meno accurata rispetto agli altri parametri cinematici, specialmente per la componente x: R^2 x (adduzione spalla) presenta valori compresi tra -0.40 e 0.17, con valori prossimi allo zero o addirittura negativi in molti fold, segnalando una scarsa informatività neurale per questo parametro. R^2 y (flessione spalla) registra valori compresi tra 0.13 e 0.69, quindi con prestazioni più variabili ma ancora utili, mentre R^2 z (flessione gomito) si mostra come la componente meglio predetta, con valori tra 0.21 e 0.70, a conferma di una maggiore stabilità nella sua rappresentazione.

Nel quinto e ultimo caso, la rete LSTM è stata addestrata per stimare l'andamento temporale delle lunghezze di tre muscoli dell'arto superiore: bicipite brachiale (x), deltoide anteriore (y) e grande rotondo (z). Il numero di epoche di training è stato più elevato rispetto agli altri modelli, con valori che raggiungono le 179 epoche. Questo suggerisce che il modello ha richiesto più tempo per apprendere la relazione tra attività neurale e stato muscolare, probabilmente a causa della natura indiretta e complessa di questo legame. Le performance medie ottenute nei primi 5 fold mostrano un risultato sorprendentemente buono, soprattutto per due dei tre muscoli considerati: la componente y (deltoide anteriore) ha ottenuto i valori di R^2 più elevati, compresi tra 0.79 e 0.87, con una predizione molto coerente tra i fold. Anche la componente z (grande rotondo) mostra un'ottima accuratezza, con R^2 tra 0.50 e 0.77, segnalando che la rete riesce a estrarre efficacemente informazioni rilevanti per questo muscolo. La componente x (bicipite brachiale) è leggermente meno precisa ma comunque ben predetta, con R^2 tra 0.28 e 0.61, mantenendo una certa stabilità tra i fold.

	Fold	Num_epochs	R2x_medio	R2y_medio	R2z_medio
WristLat	0	118	0.370766949	0.88639237	0.938887288
	1	142	0.405438028	0.93960704	0.993034507
	2	134	0.306391791	0.88304925	0.971091045
	3	127	0.213103937	0.92205827	0.991249606
	4	122	0.16590082	0.93552869	0.994435246
	5	108	0.429473148	0.9049	0.938844444
	6	115	0.267697391	0.9294	0.989630435
	7	112	0.452274107	0.90592768	0.99149375
	8	126	0.435181746	0.93762778	0.976420635
	9	154	0.162401299	0.93869545	0.981642208
Angoliarticolari	0	104	0.244044231	0.24796538	0.496880769
	1	102	-0.156063725	0.64358137	0.524785294
	2	106	0.256416038	0.4174717	0.294507547
	3	117	0.251464103	0.40232479	0.501937607
	4	104	0.359281731	0.59343365	0.513458654
	5	121	0.360882645	0.69094793	0.41805124
	6	111	-0.556294595	0.67776396	0.529537838
	7	109	0.233389908	0.36137064	0.446005505
	8	116	-0.698781034	0.78147328	0.605434483
	9	102	-0.030514706	0.70075588	0.597190196
Velocitàarticolari	0	108	0.320474074	0.59272778	0.72182037
	1	162	0.091940741	0.74685864	0.711111728
	2	129	0.452554264	0.67527287	0.54326124
	3	126	0.165392063	0.45685714	0.535048413
	4	170	0.408754706	0.74234824	0.637301176
	5	125	0.202356	0.626988	0.6669048
	6	169	-0.013342012	0.64693254	0.519550296
	7	147	0.437236735	0.69084966	0.524401361
	8	109	-1.195047706	0.70630734	0.566731193
	9	112	0.071092857	0.74411429	0.6774
Accelerazioniarticolari	0	137	0.017450365	0.51084088	0.487486861
	1	121	-0.087702479	0.58341653	0.695780992
	2	156	0.16956859	0.58063397	0.510923718
	3	135	0.046054074	0.12913259	0.2177
	4	139	0.147194964	0.57186403	0.564752518
	5	125	-0.037028	0.4507744	0.4599816
	6	129	-0.063049612	0.49705349	0.422772868
	7	200	0.1035865	0.438492	0.4626205
	8	134	-0.403241045	0.6947709	0.575419403
	9	177	-0.069720904	0.57267571	0.527259322
Muscoli	0	133	0.37721203	0.80070526	0.622643609
	1	129	0.574856589	0.82550775	0.667456589
	2	142	0.431426056	0.81884437	0.645728169
	3	108	0.395708333	0.79747315	0.598414815
	4	179	0.612358101	0.86974581	0.766943575
	5	208	0.407260577	0.86926683	0.727972115
	6	124	0.497929032	0.78464032	0.677824194
	7	115	0.275966087	0.8169687	0.498681739
	8	122	0.574754098	0.90048033	0.771343443
	9	124	0.620979839	0.86883306	0.724509677

Figura 18. Tabella delle performance della rete LSTM nei cinque esperimenti.

La Figura 19 sintetizza visivamente i risultati ottenuti nelle diverse condizioni di inferenza. Per ciascun tipo di output, sono mostrati i valori medi del coefficiente R^2 calcolati sui nove fold, separati per le tre componenti spaziali (x, y, z), con le relative deviazioni standard.

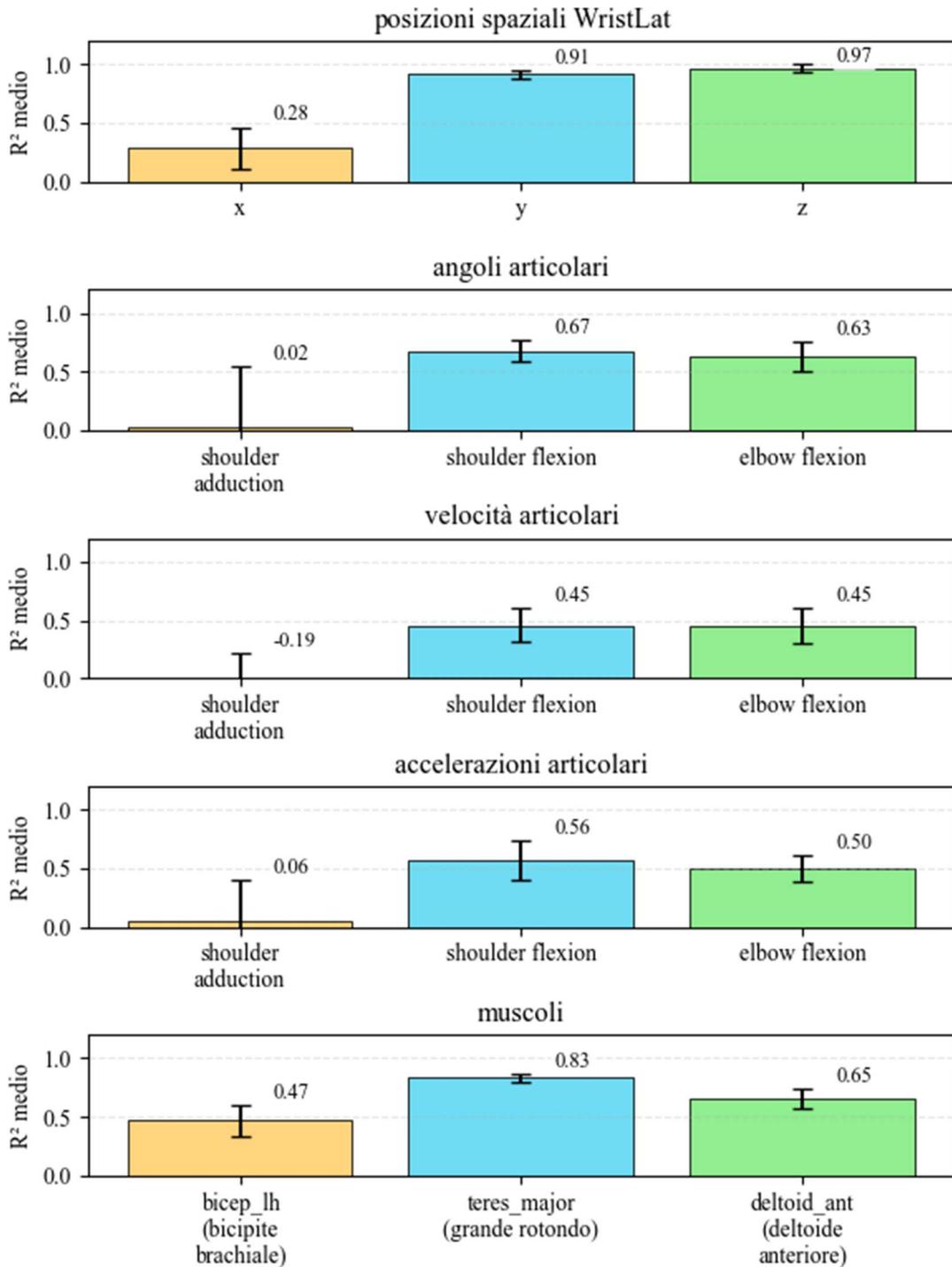


Figura 19. Risultati dell'inferenza della rete LSTM sulle diverse variabili biomeccaniche e cinematiche.

Dal grafico si osserva che le coordinate spaziali sono le variabili meglio predette, in particolare nelle componenti y e z, che raggiungono valori molto elevati e stabili di R^2 . Seguono i parametri muscolari, con ottime prestazioni per il grande rotondo e risultati comunque positivi per bicipite brachiale e deltoide anteriore. Gli angoli articolari mostrano un'accuratezza discreta ma più variabile, mentre velocità e accelerazioni articolari si attestano sui livelli più bassi, risultando le più difficili da stimare, soprattutto lungo l'asse x.

5. DISCUSSIONE

5.1 Differenze tra coordinate spaziali e altri parametri

Come emerso dalle analisi dei dati riportate nel paragrafo 4.2, il modello LSTM ha mostrato prestazioni differenti a seconda della tipologia di variabili da predire. Le cinque categorie considerate hanno evidenziato comportamenti distinti in termini di accuratezza, stabilità e capacità di generalizzazione tra i fold di validazione.

L'analisi comparativa mostra che, nonostante la variazione delle traiettorie lungo gli assi x e y risulti simile ($\Delta x \approx 16.2$ cm; $\Delta y \approx 17.4$ cm), la predizione della componente x da parte della rete LSTM è stata meno accurata rispetto alle altre due direzioni. Questo suggerisce che la differenza non dipende tanto dall'ampiezza del movimento, quanto piuttosto da un diverso grado di rappresentazione neurale delle coordinate spaziali.

In particolare, l'area F2 sembra codificare in modo più dettagliato la profondità (asse y) e la componente verticale (asse z), mentre la direzione mediolaterale (asse x) risulta meno rappresentata. Tale risultato è coerente con l'ipotesi che F2 privilegi una codifica estrinseca legata al raggiungimento nello spazio, piuttosto che alle variazioni laterali di traiettoria.

La codifica neurale degli angoli articolari risulta più debole rispetto a quella delle traiettorie spaziali, con una maggiore dispersione dei risultati tra i fold. Tuttavia, la rete ha comunque mostrato una certa coerenza nella predizione della flessione del gomito e della flessione della spalla, probabilmente perché si tratta di movimenti più marcati e caratteristici nel compito motorio, e quindi più facilmente codificati dall'attività neurale.

La predizione delle velocità articolari risulta la più critica, rispetto a quella degli angoli articolari o delle coordinate spaziali. Tuttavia, la rete ha mantenuto una discreta coerenza nel predire l'andamento delle accelerazioni del gomito e della spalla, lasciando intendere che solo alcune componenti dinamiche siano esplicitamente codificate a livello neurale.

I risultati relativi alle accelerazioni articolari mostrano un andamento simile a quello degli angoli, ma con una maggiore stabilità per i movimenti che coinvolgono l'articolazione del gomito e la flessione della spalla. La variabilità della prima componente indica che i segnali neurali registrati non contengono abbastanza informazioni per permettere al modello di ricostruire con precisione quel parametro.

Gli esiti relativi alle lunghezze muscolari hanno fornito risultati soddisfacenti per la predizione. Sebbene si tratti di parametri più astratti dal punto di vista biomeccanico, la rete ha mostrato una notevole capacità di predizione, evidenziando che l'attività neurale motoria contiene tracce sufficienti per inferenze anche a livello muscolare.

5.2 Interpretazione dei risultati

I risultati discussi mostrano che l'attività neuronale registrata nell'area F2 della corteccia premotoria dorsale codifica in modo differenziale le diverse rappresentazioni del movimento. In particolare, la rete neurale LSTM ha dimostrato una maggiore capacità di predizione per le coordinate spaziali del movimento dell'effettore rispetto ai parametri articolari (angoli, velocità, accelerazioni), mentre i parametri muscolari (variazioni di lunghezze dei muscoli) si sono rivelati sorprendentemente ben predetti, in alcuni casi con accuratezze superiori anche alle coordinate spaziali stesse.

Questo pattern di risultati solleva questioni rilevanti sulla natura delle rappresentazioni motorie nell'area F2. Il fatto che le coordinate spaziali siano predette con maggior precisione rispetto agli angoli articolari suggerisce che l'informazione motoria codificata nella PMd, almeno per quanto riguarda i neuroni analizzati, abbia una componente estrinseca predominante. Questa osservazione è coerente con i precedenti studi (Fogassi *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 2023; Borgognon *et al.*, 2025) trattati nei paragrafi 1.3 e 1.4, secondo cui molti neuroni nelle aree premotorie, e in particolare in F2, sembrano codificare informazioni spaziali sul movimento, piuttosto che dettagli biomeccanici della postura articolare.

Tuttavia, un aspetto di notevole interesse emerso in questo lavoro è la buona predizione dei parametri muscolari, in particolare delle lunghezze di muscoli selezionati. Questo risultato non era scontato, considerando che la lunghezza muscolare è un parametro intrinseco e, nel presente dataset, computazionalmente derivato tramite modello biomeccanico, quindi più complesso e meno direttamente osservabile rispetto alla posizione spaziale.

Nel cervello tali informazioni sono naturalmente accessibili attraverso le afferenze propriocettive, che raggiungono F2 grazie alle connessioni con aree parietali posteriori come PE, dotata di una ricca rappresentazione somatomotoria, e con la corteccia somatosensoriale primaria (S1), che fornisce un'elaborazione dettagliata degli input sensoriali.

L'accuratezza nella stima di questi parametri suggerisce che l'attività neuronale in F2 contenga anche informazioni accessorie o indirette sulla biomeccanica articolare, potenzialmente implicata nella preparazione e regolazione del movimento.

I risultati relativi agli angoli articolari sono stati invece più modesti. In particolare, si osservano prestazioni inferiori e una maggiore variabilità tra i fold, soprattutto per la componente di adduzione della spalla (x). Questo esito può dipendere da diversi fattori. Da un lato, è possibile che la cinematica inversa non riesca a stimare con sufficiente precisione il movimento di questa articolazione, magari a causa di piccole incertezze nel modello biomeccanico o nella posizione dei marker. Dall'altro lato, è plausibile che l'attività neurale registrata in F2 non rappresenti in modo diretto questo grado di libertà, forse perché non è particolarmente rilevante per il compito motorio svolto, e quindi viene codificato in modo più distribuito.

Anche le velocità e accelerazioni articolari mostrano una predizione meno accurata rispetto a coordinate e muscoli, il che può suggerire che F2 codifichi in modo più stabile lo stato finale desiderato (ad esempio posizione o configurazione target) piuttosto che i dettagli dinamici del movimento. Questa osservazione supporta l'ipotesi che F2 sia coinvolta nella pianificazione e rappresentazione dell'obiettivo del gesto, piuttosto che nell'esecuzione o nella generazione delle forze articolari, funzioni più strettamente associate a M1 e S1 (Borgognon *et al.*, 2025; Rizzolatti *et al.*, 1998; Luppino *et al.*, 1991; Cisek & Kalaska, 2004).

Infine, la buona generalizzazione della rete LSTM su più fold e condizioni, unita alla differente accuratezza tra le variabili, rafforza l'idea che il contenuto informativo dell'attività neurale non sia uniforme, ma che alcune componenti del movimento

(traiettoria spaziale o stato muscolare) siano più direttamente rappresentate di altre (accelerazione, velocità o angoli complessi).

5.3 Implicazioni per la neuroscienza del movimento e le BCI

I risultati ottenuti hanno implicazioni significative sia per la comprensione dei meccanismi neurali del controllo motorio, sia per lo sviluppo di tecnologie di interfaccia cervello-computer (BCI). Le BCI più correlate potrebbero essere quelle orientate al controllo di effettori artificiali, come bracci robotici o protesi mioelettriche.

Dal punto di vista neuroscientifico, il lavoro supporta l'idea che l'area F2 opera come nodo intermedio nella gerarchia sensorimotoria, trasformando informazioni contestuali e visuo-spaziali in rappresentazioni motorie astratte, piuttosto che in comandi articolari specifici. Questa ipotesi è coerente con il ruolo attribuito a F2 nella selezione dell'azione, nella pianificazione contestuale e nella trasformazione sensori-motoria (Takahara *et al.*, 2012; Rizzolatti *et al.*, 1998). In questo senso, F2 sembra più coinvolta nel "cosa fare" e "dove arrivare" piuttosto che nel "come farlo" in termini biomeccanici.

La presenza di un contenuto muscolare informativo nei segnali neurali analizzati suggerisce inoltre che l'attività di F2 potrebbe non essere completamente agnostica alla biomeccanica, ma includere informazioni utili alla corretta selezione dei gesti. La coesistenza di segnali estrinseci (coordinate spaziali) e intrinseci (lunghezze muscolari) potrebbe indicare una rappresentazione ibrida, in cui l'area F2 contribuisce sia alla definizione dello scopo motorio, sia alla decisione dei pattern muscolari necessari, senza però codificarli in modo analitico.

Dal punto di vista applicativo, questi risultati offrono indicazioni utili per il design di sistemi di decoding neurale più efficaci. In particolare, la maggiore accuratezza nella predizione delle coordinate spaziali e dei parametri muscolari suggerisce che, quando si utilizza l'area F2 come fonte di segnale neurale, sia preferibile progettare decoder orientati alla traiettoria e allo stato dell'effettore, piuttosto che alle singole configurazioni articolari. Questo ci porta verso l'adozione di architetture decoder gerarchiche, in cui le aree premotorie forniscono input globali o intenzionali, che vengono poi tradotti da moduli secondari (ad esempio, reti biomeccaniche o modelli cinematici inversi) in comandi articolari dettagliati o attivazioni muscolari.

Inoltre, l'accuratezza ottenuta nella predizione di parametri muscolari apre a nuove possibilità nel controllo protesico. Se il contenuto muscolare è effettivamente rappresentato a livello premotorio, decoder progettati per estrarre e ricostruire stati muscolari potrebbero fornire un livello di controllo più fluido e naturale in protesi robotiche, integrando la volontà motoria dell'utente con modelli biomeccanici di muscolatura artificiale. Questo potrebbe risultare particolarmente utile per sistemi in cui si desidera fornire feedback di forza, contrazione o tensione all'utente, simulando il comportamento dei muscoli biologici. Protesi con feedback muscolare richiedono non solo di sapere dove muoversi, ma anche quali muscoli attivare e con quale intensità, per ottenere un'azione fluida e realistica.

Le interfacce cervello-computer potrebbero quindi trarre vantaggio da un'architettura ibrida che combini modelli dinamici biomeccanici e modelli neurali ricorrenti, come quello LSTM utilizzato in questo lavoro.

I dati di questo studio, infatti, suggeriscono che esiste un ponte informativo tra ciò che il cervello codifica e ciò che il corpo esegue.

Questa visione si allinea con un paradigma emergente nelle neuroscienze applicate, secondo cui la funzione della BCI non è tanto imitare in dettaglio il sistema motorio biologico, quanto intercettare e amplificare le intenzioni dell'utente, lasciando che sia il decoder a completare e rifinire l'esecuzione tramite modelli intelligenti e adattivi.

5.4 Limiti dello studio e prospettive future

Sebbene il presente lavoro offra risultati significativi, è importante riconoscerne anche i limiti metodologici e concettuali, al fine di guidare sviluppi futuri.

Uno dei principali limiti riguarda la semplificazione del modello biomeccanico, in particolare nella rappresentazione della mano, trattata come segmento rigido e non articolato. Questa scelta, sebbene giustificata dal compito motorio e dalla mancanza di gradi di libertà nel modello OpenSim utilizzato, esclude dal modello componenti motorie potenzialmente informative, specialmente per azioni di presa fine o manipolazione del target.

Un ulteriore elemento critico da considerare riguarda l'affidabilità del modello biomeccanico utilizzato per stimare i parametri articolari e muscolari. Il modello di OpenSim è stato adattato tramite uno scaling basato su misure estratte da marker virtuali,

ottenuti a loro volta da un tracciamento video markerless. Questo approccio, seppur avanzato e molto flessibile, introduce inevitabilmente un margine di approssimazione strutturale. Le dimensioni segmentali dell'animale non sono state misurate direttamente ma ricavate indirettamente da distanze tra marker stimati, il che può aver influito sulla precisione dello scaling. Di conseguenza, il modello potrebbe non rappresentare fedelmente la morfologia reale dell'individuo, specialmente per quanto riguarda lunghezze ossee, inserzioni muscolari e ampiezze articolari.

Inoltre, va sottolineato che i dati cinematici utilizzati per alimentare il modello biomeccanico derivano da un sistema markerless. Sebbene DeepLabCut e Anipose rappresentino strumenti molto avanzati, l'assenza di marcatori fisici introduce inevitabilmente una certa variabilità nei dati cinematici, soprattutto in presenza di occlusioni o movimenti rapidi. Inoltre, i marker virtuali non sono sempre collocati esattamente sulle strutture ossee, il che può influenzare la precisione della ricostruzione articolare. Di conseguenza, il modello biomeccanico ha potuto ricostruire i movimenti osservati in modo plausibile ma non necessariamente fedele alla realtà del gesto motorio eseguito. L'algoritmo di Inverse Kinematics in OpenSim infatti non "vede" il movimento reale, ma cerca la configurazione articolare che minimizza l'errore tra i marker virtuali acquisiti e quelli previsti dal modello, indipendentemente dal fatto che tale configurazione corrisponda a un movimento fisiologicamente verosimile.

In altre parole, la ricostruzione articolare non è un dato oggettivo, ma il risultato di un processo di ottimizzazione vincolata, guidato dalla struttura del modello e dalla posizione dei marker virtuali. Questo significa che alcuni movimenti complessi potrebbero essere stati "interpretati" dal modello, in modo da adattarli alla sua struttura articolare, generando una rappresentazione coerente ma non necessariamente corrispondente al movimento realmente eseguito dal soggetto. Questo fenomeno è particolarmente critico per le articolazioni con maggiore libertà di movimento o per i segmenti più soggetti a variazioni posturali (ad esempio la spalla), dove anche piccole imprecisioni possono tradursi in grandi deviazioni negli angoli articolari stimati.

Di conseguenza, le prestazioni relativamente inferiori osservate nella predizione di angoli articolari e accelerazioni potrebbero non riflettere esclusivamente un limite della codifica neurale o una carenza del modello LSTM, ma anche una incoerenza tra la realtà del movimento e la rappresentazione biomeccanica generata artificialmente. Il modello, pur essendo utile per stimare parametri biomeccanici altrimenti non accessibili, introduce un livello di astrazione che può distorcere le caratteristiche cinematiche del movimento.

Questo aspetto apre anche una riflessione metodologica più ampia: quando si utilizzano modelli biomeccanici derivati da dati markerless per studiare la relazione tra attività neurale e movimento, è fondamentale essere consapevoli che non si sta misurando il movimento reale, ma una sua ricostruzione modellata, il cui grado di fedeltà dipende dalla qualità dei dati di input e dalla capacità del modello di adattarsi all'individuo specifico. In questo contesto, i risultati ottenuti non vanno interpretati come verità assolute, ma come stime informative, soggette a incertezza strutturale. È proprio per questo motivo che nel presente lavoro è stato adottato un approccio comparativo: confrontare direttamente coordinate spaziali, angoli articolari, velocità, accelerazioni e lunghezze muscolari permette di mitigare i bias assoluti del modello, focalizzandosi invece su quali rappresentazioni siano più strettamente associate all'attività neurale registrata.

A livello neurale, un limite importante è che l'intera analisi di decoding è stata condotta a partire da registrazioni effettuate esclusivamente nell'area F2 della corteccia premotoria dorsale, utilizzando un numero relativamente contenuto di neuroni isolati. Sebbene F2 rappresenti un target privilegiato per studi sulla codifica dell'intenzione motoria e della pianificazione dell'azione, limitarsi a un'unica regione riduce inevitabilmente la capacità di generalizzare i risultati all'intero sistema sensorimotorio.

Il controllo del movimento nel primate non è dovuto ad un'area singola, ma emerge da un'attività coordinata e distribuita tra molteplici aree corticali. Per esempio, la corteccia motoria primaria (M1) è implicata più direttamente nella generazione dei comandi muscolari e potrebbe quindi codificare con maggiore precisione i parametri articolari e le accelerazioni osservati nel movimento. La corteccia somatosensoriale primaria (S1), invece, integra informazioni propriocettive che potrebbero riflettersi nella codifica di stati articolari e tensioni muscolari. Analogamente, aree posteriori come V6A o PEC svolgono un ruolo cruciale nell'integrazione visuo-motoria e nella rappresentazione spaziale, con possibili implicazioni per la codifica delle coordinate estrinseche. Studi già menzionati nel paragrafo 1.3 (Borgognon *et al.*, 2025; Zhang *et al.*, 2023) evidenziano una specializzazione funzionale tra aree corticali, dove la natura delle informazioni codificate varia in base al ruolo funzionale dell'area.

Limitare la registrazione a F2 può quindi portare a una visione parziale e possibilmente distorta del contenuto informativo realmente disponibile nel cervello durante l'esecuzione del compito. Alcune variabili che nel presente lavoro risultano meno accuratamente predette potrebbero in realtà essere codificate altrove in maniera più esplicita.

Inoltre, va considerato che anche all'interno di una singola area come F2, la codifica neurale può essere estremamente eterogenea.

Alla luce di queste considerazioni, uno sviluppo futuro di questo lavoro sarebbe l'estensione dell'analisi a registrazioni multi-area e multi-unità, in cui l'attività neurale viene acquisita simultaneamente da più regioni corticali, integrando informazioni da F2, M1, S1, V6A, P_{Ec} e aree parietali posteriori. Un simile approccio permetterebbe di confrontare in modo diretto la distribuzione dell'informazione motoria nelle diverse regioni, chiarendo in quale sede si trovano le rappresentazioni più esplicite di ciascuna categoria di parametro (spaziale, articolare, muscolare).

In sintesi, i risultati ottenuti in questo studio rappresentano una fotografia parziale ma significativa di come l'area F2 contribuisca alla codifica del movimento. Per ottenere una comprensione più completa e per validare le osservazioni fatte, sarà però necessario integrare questi dati in un quadro più ampio, che includa più aree corticali, un numero maggiore di neuroni, e idealmente anche una dimensione temporale più estesa, per catturare anche le dinamiche a lungo termine della pianificazione ed esecuzione del gesto motorio.

6. CONCLUSIONE

Il presente lavoro si è concentrato sul modo in cui l'attività neuronale dell'area F2 della corteccia premotoria dorsale codifica i parametri legati al movimento dell'arto superiore del primate durante compiti di reaching verso target spaziali. Sono state confrontate in modo sistematico rappresentazioni estrinseche, come le coordinate spaziali delle traiettorie, e rappresentazioni intrinseche, come gli angoli articolari e le stime muscolari. Grazie ad un approccio integrato di tecnologie di tracciamento markerless, modellazione biomeccanica e reti neurali ricorrenti LSTM, è stato possibile quantificare la predittività di ciascuna rappresentazione sulla base dell'attività neuronale intracorticale.

I risultati hanno mostrato una maggiore accuratezza nella predizione delle coordinate spaziali e delle lunghezze muscolari, suggerendo che l'area F2 rappresenti meglio informazioni estrinseche legate allo scopo motorio, pur contenendo anche tracce informative relative allo stato muscolare. Al contrario, i parametri articolari (angoli,

velocità, accelerazioni) sono stati predetti in modo meno accurato, indicando una codifica meno diretta di elementi biomeccanici da parte della popolazione neurale analizzata.

Questi dati supportano l'ipotesi che l'area F2 contribuisca principalmente alla pianificazione contestuale e spaziale del movimento, più che alla generazione dei comandi articolari. Questo è coerente con il ruolo funzionale attribuito a F2 nella letteratura, argomentato nell'introduzione del presente lavoro come nodo intermedio nella trasformazione sensori-motoria e nella selezione delle azioni volontarie.

Da queste considerazioni possono nascere prospettive applicative nell'ambito delle interfacce cervello-computer. L'accuratezza con cui le coordinate spaziali dell'effettore sono predette a partire dall'attività di F2 suggerisce che questa regione possa essere impiegata come sorgente neurale per il controllo diretto di effettori robotici nello spazio tridimensionale, come bracci artificiali o dispositivi di assistenza, senza la necessità di una ricostruzione articolare esplicita. Questa impostazione consentirebbe di progettare decoder orientati allo scopo motorio, capaci di interpretare l'intenzione spaziale del soggetto e tradurla in un movimento fluido e intuitivo del dispositivo esterno.

Inoltre, la capacità della rete neurale di predire le lunghezze muscolari indica che F2 contiene anche informazioni utilizzabili per il controllo di sistemi protesici muscolo-centrici. Decoder neurali potrebbero quindi essere integrati con modelli biomeccanici per generare attivazioni artificiali che simulano il comportamento contrattile dei muscoli, rendendo possibile il controllo di dispositivi dotati di feedback somatosensoriale basato su stimoli relativi allo stato muscolare previsto. Questo approccio potrebbe risultare efficace nella realizzazione di interfacce neurali che non si limitino a ricostruire la traiettoria, ma forniscano anche una stima dello sforzo muscolare desiderato, migliorando così la naturalezza e l'efficacia del controllo motorio artificiale.

I dati ottenuti supportano anche lo sviluppo di architetture decoder gerarchiche, in cui le aree premotorie come F2 forniscano una rappresentazione ad alto livello dell'intenzione, da rifinire successivamente con moduli secondari basati su cinematiche inverse o modelli muscolo-scheletrici. In questo schema, F2 contribuirebbe a definire il "cosa" e il "dove" dell'azione, mentre altri livelli computazionali si occuperebbero del "come".

Un ulteriore sbocco futuro può riguardare l'impiego di F2 nel contesto di BCI predittive per la riabilitazione, in grado di anticipare l'intenzione di movimento e facilitare il recupero motorio in pazienti con lesioni corticali. Decoder basati su questa area potrebbero rilevare l'obiettivo dell'azione anche in assenza di esecuzione muscolare,

attivando così stimolatori prima ancora che il comando motorio raggiunga le aree esecutive.

Infine, l'integrazione tra rappresentazioni spaziali e muscolari decodificate da F2 potrebbe aprire la strada a sistemi neuro-robotici adattivi, in cui l'intenzione motoria venga interpretata in tempo reale e tradotta in azioni il più possibili naturali con modelli biomeccanici in grado di simulare il comportamento del sistema muscolare. Questo tipo di architettura potrebbe trovare applicazione non solo in ambito clinico, ma anche nella realtà virtuale o in dispositivi di interazione uomo-macchina avanzata, in cui il contenuto neurale premotorio venga sfruttato per attivare movimenti o selezionare opzioni.

In sintesi, l'area F2 si conferma una regione strategica per la decodifica dell'intenzione motoria, e il presente lavoro contribuisce a delineare un quadro più chiaro del tipo di informazione accessibile da questa sede corticale. Le evidenze raccolte incoraggiano una visione integrata e modulare della BCI del futuro, capace di combinare segnali neurali con modelli biomeccanici adattivi, al fine di generare movimenti naturali, efficaci e personalizzati.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Ahrens, J., Geveci, B., & Law, C. (2005). ParaView: An end-user tool for large data visualization. In C. D. Hansen & C. R. Johnson (Eds.), *Visualization handbook* (pp. 717–731).
2. Borgognon, S., Macellari, N., Hickey, A. M., Perich, M. G., *et al.* (2025). Regional specialization of movement encoding across the primate sensorimotor cortex. *Nature Communications*, *16*, 5729.
3. Chan, S. S., & Moran, D. W. (2006). Computational model of a primate arm: from hand position to joint angles, joint torques and muscle forces. *Journal of neural engineering*, *3*(4), 327–337.
4. Cisek, P., & Kalaska, J. F. (2004). Neural correlates of mental rehearsal in dorsal premotor cortex. *Nature*, *431*(7011), 993–996.
5. Delp, S. L., Anderson, F. C., Arnold, A. S., Loan, P., Habib, A., John, C. T., Guendelman, E., & Thelen, D. G. (2007). OpenSim: Open-source software to create

- and analyze dynamic simulations of movement. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 54(11), 1940–1950.
6. Deng, J., Dong, W., Socher, R., Li, L.-J., Li, K., & Fei-Fei, L. (2009). ImageNet: A large-scale hierarchical image database. *IEEE Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*.
 7. De Vitis, M., Filippini, M., Hadjidimitrakis, K., Vaccari, F. E., Diomedì, S., Gamberini, M., Gori, M., Testa, M., Galletti, C., & Fattori, P. (2025). The medial fronto-parietal network of the macaque: Different specializations for spatial parameters of reaching?. *NeuroImage*, 318, 121387.
 8. Felzenszwalb, P. F., & Huttenlocher, D. P. (2005). Pictorial structures for object recognition. *International Journal of Computer Vision*, 61, 55–79.
 9. Fogassi, L., Gallese, V., Di Pellegrino, G., Fadiga, L., Gentilucci, M., & Rizzolatti, G. (1992). Space coding by premotor cortex neurons. *Experimental Brain Research*, 89(3), 686–690.
 10. Glaser, J. I., Benjamin, A. S., Chowdhury, R. H., Perich, M. G., Miller, L. E., & Kording, K. P. (2020). Machine learning for neural decoding. *eNeuro*, 7(4), ENEURO.0506-19.2020.
 11. Hoshi, E., & Tanji, J. (2007). Distinctions between dorsal and ventral premotor areas: anatomical connectivity and functional properties. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 17, 234–242.
 12. Insafutdinov, E., Pishchulin, L., Andres, B., Andriluka, M., & Schiele, B. (2016). DeeperCut: A deeper, stronger, and faster multi-person pose estimation model. *Computer Vision – ECCV 2016*, 9910, 34-50.
 13. Karashchuk, P., Rupp, K. L., Dickinson, E. S., Walling-Bell, S., Sanders, E., Azim, E., Brunton, B. W., & Tuthill, J. C. (2021). Anipose: A toolkit for robust markerless 3D pose estimation. *Cell Reports*, 36(13), 109730.
 14. Kewley, A., Beesel, J., & Seth, A. (2025). *OpenSim Creator (Version 0.5.25)* [Computer software]. Zenodo.
 15. Krizhevsky, A., Sutskever, I., & Hinton, G. E. (2012). ImageNet classification with deep convolutional neural networks. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 25, 1097–1105.
 16. Lauer, J., Zhou, M., Ye, S. *et al.* (2022). Stima, identificazione e tracciamento di pose multi-animale con DeepLabCut. *Metodi Nat*, 19, 496–504.

17. Liu, F., Meamardoost, S., Gunawan, R., Komiyama, T., Mewes, C., Zhang, Y., Hwang, E., & Wang, L. (2022). Deep learning for neural decoding in motor cortex. *Journal of Neural Engineering*, *19*(5), 056021.
18. Luppino, G., Matelli, M., Camarda, R., Gallese, V., & Rizzolatti, G., (1991). Multiple representations of body movements in mesial area 6 and the adjacent cingulate cortex: an intracortical microstimulation study. *Journal of Comparative Neurology* , *311*, 463–482.
19. Luppino, G., Rozzi, S., Calzavara, R., & Matelli, M. (2003). Prefrontal and agranular cingulate projections to the dorsal premotor areas F2 and F7 in the macaque monkey. *European Journal of Neuroscience*, *17*(3), 559–578.
20. Matelli, M., Luppino, G., & Rizzolatti, G. (1991). Architecture of superior and mesial area 6 and of the adjacent cingulate cortex. *Journal of Comparative Neurology*, *311*, 445–462.
21. Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K.M. *et al.* (2018). DeepLabCut: stima della posa senza marcatori di parti del corpo definite dall'utente con deep learning. *Nat Neurosci*, *21*, 1281–1289.
22. The MathWorks Inc. (2022). *MATLAB version: 9.13.0 (R2022b)*, Natick, Massachusetts: The MathWorks Inc.
23. Mridha, M. F., Das, S. C., Kabir, M. M., Lima, A. A., Islam, M. R., & Watanobe, Y. (2021). Brain-computer interface: advancement and challenges. *Sensors*, *21*, 5746.
24. Nath, T., Mathis, A., Chen, A.C. *et al.* (2019). Utilizzo di DeepLabCut per la stima 3D delle pose senza marcatori tra specie e comportamenti. *Nat Protoc*, *14*, 2152–2176.
25. Rizzolatti G., & Sinigaglia C. (2006). *So quel che fai. Il cervello che agisce e i neuroni specchio*. Milano: Raffaello Cortina Editore.
26. Rizzolatti, G., Luppino, G., & Matelli, M. (1998). The organization of the cortical motor system: New concepts. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/ Electromyography and Motor Control*, *106*(4), 283–296.
27. Rizzolatti, G., Luppino, G., & Matelli, M. (2002). Motor and cognitive functions of the ventral premotor cortex. *Current Opinion in Neurobiology*, *12*(2), 149–154.
28. Rouzitalab, A., Boulay, C. B., Park, J., & Sachs, A. J. (2023). Intracortical brain-computer interfaces in primates: a review and outlook. *Biomedical Engineering Letters*, *13*, 375–390.

29. Seth, A., Hicks J.L., Uchida, T.K., Habib, A., Dembia, C.L., Dunne, J.J., Ong, C.F., DeMers, M.S., Rajagopal, A., Millard, M., Hamner, S.R., Arnold, E.M., Yong, J.R., Lakshmikanth, S.K., Sherman, M.A., Ku, J.P., Delp, S.L. (2018). OpenSim: Simulating musculoskeletal dynamics and neuromuscular control to study human and animal movement. *PLoS Computational Biology*, *14*(7), e1006223.
30. Shima, K., & Tanji, J. (1998). Role for cingulate motor area cells in voluntary movement selection based on reward. *Science*, *282*, 1335–1338.
31. Takahara, D., Inoue, K., Hirata, Y., Miyachi, S., Nambu, A., Takada, M., & Hoshi, E. (2012). Multisynaptic projections from the ventrolateral prefrontal cortex to the dorsal premotor cortex in macaques: anatomical substrate for conditional visuomotor behavior. *European Journal of Neuroscience*, *36*(10), 3365–3375.
32. Uhlmann, V., Ramdya, P., Delgado-Gonzalo, R., Benton, R., & Unser, M. (2017). FlyLimbTracker: An active contour based approach for leg segment tracking in unmarked, freely behaving *Drosophila*. *PLoS One*, *12*, e0173433.
33. Vargas-Irwin, C. E., Shakhnarovich, G., Yadollahpour, P., Mislow, J. M., Black, M. J., & Donoghue, J. P. (2010). Decoding complete reach and grasp actions from local primary motor cortex populations. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *30*(29), 9659–9669.
34. Wise, S. P., Boussaoud, D., Johnson, P. B., & Caminiti, R. (1997). Premotor and parietal cortex: Corticocortical connectivity and combinatorial computations. *Annual Review of Neuroscience*, *20*, 25–42.
35. Zhang, X., Leavitt, M. L., Churchland, M. M., & Shenoy, K. V. (2023). Neural population dynamics during complex reach and grasp movements. *eLife*, *12*, e83196.
36. Zimnik, A. J., & Churchland, M. M. (2021). Independent generation of sequence elements by motor cortex. *Nature Neuroscience*, *24*, 412–424.

