UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN PSICOBIOLOGIA E NEUROSCIENZE COGNITIVE

La codifica dei ''vitality forms'' attraverso l'ascolto dei suoni provenienti da azioni: il ruolo dell'insula

Relatore:

Chiar.mo Prof. FOGASSI LEONARDO

Correlatore:

Dott.. DI CESARE GIUSEPPE

Laureanda:

SIMONA PATIERNO

ANNO ACCADEMICO 2016/2017

Indice

Riassunto **5**

1 Introduzione **6**

1.1 Il meccanismo specchio .....

1.1.1 Esecuzione ed osservazione dell'azione .....

1.1.2 What: la codifica dello scopo .....

1.1.3 Why: la comprensione dell'azione .....

1.2 Estensione del meccanismo specchio.....

1.2.1 Il vitality form .....

1.3 Scopo dello studio .....

2 Materiali e Metodi **29**

2.1 Studio comportamentale .....

2.1.1 Partecipanti .....

2.1.2 Stimoli e disegno sperimentale .....

2.1.3 Paradigma sperimentale.....

2.2 Studio fMRI .....

2.2.1 Partecipanti .....

2.2.2 Disegno sperimentale .....

2.2.3 Stimoli sperimentali .....

2.2.4 Paradigma sperimentale .....

3 Apparati e strumenti **35**

3.1 Caratterisrtiche della macchina di risonanza .....

3.2 Preparazione allo scanner .....

3.3 Sequenza di acquisizione delle immagini .....

3.4 Risonanza magnetica funzionale .....

3.4.1 Il segnale fMRI .....

3.4.2 Il rumore .....

3.4.3 Pre-processing dei dati fMRI.....

4 **Analisi Statistica** **50**

5 **Risultati** **51**

5.1.1 Studio comportamentale.....

5.1.2 Studio fMRI .....

6 **Discussione** **56**

7 **Conclusione** **61**

Bibliografia..... **62**

Ringraziamenti..... **72**

"Per capire sé stesso l'uomo ha bisogno

di essere capito dall'altro.

Per essere capito dall'altro l'uomo ha bisogno

di capire l'altro"

(Jorge Luis Borges)

Riassunto

Osservare le dinamiche con cui le azioni vengono eseguite dagli altri permette all'osservatore di ottenere importanti informazioni riguardanti i loro comportamenti. La dinamica dell'azione indica "come" (lo stile) un'azione è eseguita. Questo nuovo concetto è stato recentemente definito "*Vitality form*" e rappresenta la relazione affettiva/comunicativa tra il contenuto dell'azione e il suo esecutore, la quale influenza il rapporto tra l'agente e il ricevente dell'azione stessa (Stern 2010). Ad esempio, osservare un'azione eseguita in modo sgarbato o gentile permette di capire lo stato interno dell'agente (calma, irrequietezza). Dunque, la capacità di esprimere e comprendere i *vitality forms* rappresenta un elemento fondamentale nelle relazioni interpersonali.

In questa tesi, utilizzando la Risonanza Magnetica funzionale per Immagini (fMRI), sono stati studiati i correlati neurali dei *vitality forms* durante l'ascolto di suoni provenienti da azioni quotidiane, quali mescolare il caffè, chiudere la porta, sfogliare la pagina di un libro, strappare un foglio e bussare alla porta. Lo studio fMRI è stato condotto su 16 soggetti adulti e destrimani presso l'Ospedale Maggiore di Parma.

Durante l'esperimento i partecipanti ascoltavano suoni di azioni quotidiane, eseguite con due diversi *vitality forms* (gentile o rude). In aggiunta veniva presentato uno stimolo di controllo in cui gli stessi suoni erano mascherati mediante l'utilizzo di un filtro di distorsione che annullava lo stile dell'azione.

Il compito dei partecipanti era quello di porre attenzione al tipo di azione eseguita e talvolta (25% dei casi) indicare esplicitamente (mediante una *response box*) quale fosse l'ultima azione ascoltata.

I risultati hanno evidenziato che l'ascolto dei suoni delle azioni, indipendentemente dal fatto che lo stile fosse mascherato, ha determinato l'attivazione del circuito parieto-frontale classicamente coinvolto nella percezione e nell'esecuzione di atti motori. Tuttavia, confrontando le attivazioni relative alle due condizioni, con e senza il filtro di distorsione, risulta che solo le azioni in cui lo stile è chiaramente distinguibile attivano selettivamente il settore dorso-centrale (DCI) dell'insula nell'emisfero di sinistra.

I risultati ottenuti confermano che la parte centrale dell'insula ha un ruolo chiave nella codifica dello stile dell'azione permettendo la comprensione automatica dello stato interno (*mood attitude*) dell'agente.

1. INTRODUZIONE

1.1 Il meccanismo specchio

Comprendere le azioni degli altri e le intenzioni che ne sono alla base è una caratteristica tipica della nostra specie. Iniziamo con un esempio. Luigi osserva Maria che afferra una tazzina da caffè. Luigi capisce cosa sta facendo Maria, e capisce anche perché lo sta facendo. La tazzina è piena di caffè. Dopo averla afferrata, quasi certamente, Maria porterà la tazzina alla bocca e lo berrà. Luigi è in grado di comprendere *immediatamente* che cosa sta accadendo. La domanda è: come fa Luigi a comprendere l'azione di Maria e perché la sta compiendo? L'ipotesi più accreditata è la seguente: Luigi conosce le conseguenze del suo atto motorio, per esempio quello dell'afferrare. Quindi, quando guarda Maria che afferra un oggetto, Luigi immediatamente comprende che Maria sta afferrando qualche cosa, senza aver bisogno di pensarci troppo.

È indubbio che per comprendere alcune situazioni siano necessarie operazioni inferenziali, specialmente quando il comportamento osservato è complesso o ambiguo. Tuttavia, una scoperta fatta all'inizio degli anni '90, ha mostrato che c'è un altro meccanismo che può aiutarci nella comprensione delle azioni e delle intenzioni in un modo più semplice ed immediato. Questo meccanismo è basato su uno specifico tipo di neuroni chiamati 'neuroni specchio' (G. Rizzolatti, 2004).

I neuroni specchio furono scoperti, per la prima volta, nella corteccia premotoria del cervello del macaco (area F5) e rappresentano una classe eterogenea di neuroni che hanno la peculiarità di rispondere sia quando un individuo compie un atto motorio finalizzato, come afferrare oggetti con la mano o con la bocca, che quando si osserva un altro individuo eseguire atti motori analoghi (di Pellegrino et al. 1992, Gallese et al., 1996; Rizzolatti et al. 1996).

La figura 1 illustra il comportamento di un tipico neurone specchio. Nella situazione A la scimmia osserva lo sperimentatore prendere un pezzo di cibo su un vassoio. Il neurone comincia a scaricare non appena la mano dello sperimentatore si avvicina all'oggetto e prefigura la presa, restando attivo finché quest'ultima non si realizza. Nella situazione B è l'animale ad afferrare il cibo e anche in questo caso la scarica del neurone è correlata alla prefigurazione della mano.

Dal punto di vista delle proprietà motorie, i neuroni specchio sono indistinguibili dagli altri neuroni di F5, in quanto anch'essi si attivano selettivamente durante l'esecuzione di specifici atti motori orofaringei e brachi manuali. Le cose cambiano invece, per quanto riguarda le proprietà visive.

La risposta visiva dei neuroni specchio può essere evocata solo se lo stimolo osservato è costituito da una mano o una bocca che interagisce in modo finalistico con un oggetto (ad es. per prenderlo, tenerlo, o romperlo, ecc).

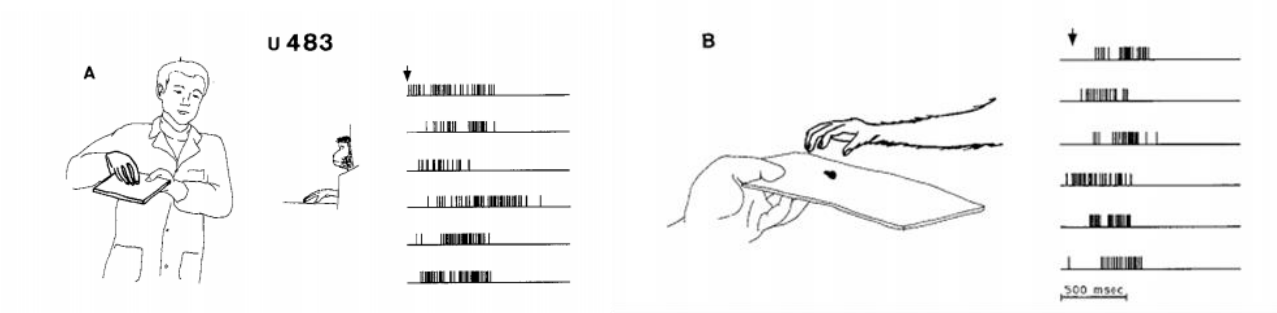

Figura 1. Risposte visive (A) e motorie (B) di un neurone specchio [di Pellegrino et al.,1992].

Una serie di esperimenti di controllo ha dimostrato che né la visione isolata dell'agente né quella dell'oggetto riescono ad evocare una risposta. Similmente inefficace, o molto meno efficace, è l'osservazione di un atto motorio mimato senza oggetto (Gallese et al. 1996). Inoltre, questi neuroni sono in grado di rispondere indipendentemente dalla distanza e dalla localizzazione spaziale dell'atto osservato, benché in alcuni casi siano modulati dalla direzione dei movimenti visti o dalla mano (destra o sinistra) usata dallo sperimentatore per eseguire l'azione. Parte dei neuroni specchio sono specifici per l'esecuzione/osservazione di atti motori singoli, altri invece sono meno specifici, rispondendo all'esecuzione e all'osservazione di due o più atti motori. In circa un terzo dei neuroni specchio l'atto motorio eseguito e quello osservato per evocare la risposta, devono essere strettamente congruenti sia in termini di scopo che in termini di modalità specifica in cui quest'ultimo viene conseguito. Nella restante parte di neuroni si è riscontrato un rapporto di congruenza di ordine più generale, cioè gli atti motori efficaci eseguiti ed osservati corrispondono in termini di scopo (ad es. afferrare) indipendentemente dal tipo di prensione rispettivamente impiegato ed osservato dalla scimmia. Questo tipo di neuroni specchio è particolarmente interessante perché sembra rispondere allo scopo dell'atto motorio indipendentemente dai vari modi possibili di conseguirlo e ciò potrebbe consentire un livello più astratto di categorizzazione dell'azione. La congruenza tra risposta visiva e risposta motoria è importante perché suggerisce come lo stesso neurone sia in grado di confrontare ciò che la scimmia *fa* con ciò che la scimmia *vede fare*. In termini più generali quindi i neuroni specchio costituiscono un sistema neuronale che mette in relazione le azioni esterne eseguite da altri con il repertorio interno di azioni dell'osservatore e si

configurano come un meccanismo che consente una comprensione implicita di ciò che viene osservato. Successivamente, neuroni con queste stesse proprietà, sono stati rinvenuti anche in molte altre aree cerebrali del macaco ma anche di varie altre specie, compreso l'uomo.

La scoperta che un gran numero di aree corticali che sono coinvolte nella produzione di determinati comportamenti motori, rispondono selettivamente a tali comportamenti indipendentemente dal fatto che vengano eseguiti o osservati, indica che il meccanismo specchio, lungi da essere una caratteristica specifica della corteccia premotoria, è invece un principio di base del funzionamento del cervello. Questa dichiarazione diventa meno sorprendente una volta riconosciuto che il cervello agisce, prima di tutto, come una sistema di controllo e pianificazione per organismi il cui compito principale è esplorare il mondo circostante e affrontare le sue sfide, cercando di cogliere le opportunità positive e sfuggire alle minacce. (Rizzolatti & Sinigaglia, 2006.)

1.1.1 Esecuzione ed osservazione dell'azione

A seguito della scoperta dei neuroni specchio nell'area F5 della scimmia, si è constatato che una rete di aree corticali risulta attiva durante l'osservazione dell'azione sia nelle scimmie che negli uomini. Studi di risonanza magnetica funzionale nelle scimmie (fMRI) (Nelissen et al.,2005; 2011) hanno dimostrato che l'azione osservata attiva sia la parte dorsale che quella ventrale del solco temporale superiore(STS), al cui interno sono collocate aree visive di alto ordine, in genere coinvolte nell'elaborazione del movimento. Quest'area è anatomicamente connessa con il lobulo parietale inferiore (IPL) che, a sua volta, proietta a differenti sezioni dell'area premotoria ventrale, F5 (fig. 2).

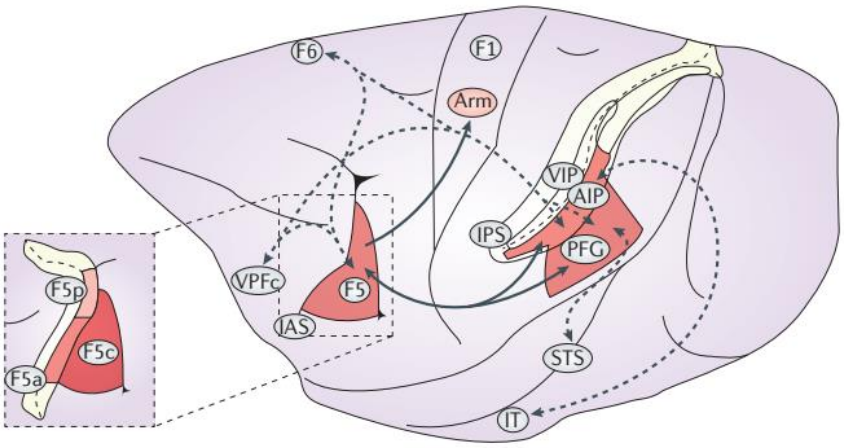

Figura.2 Il circuito specchio parietofrontale per le azioni di raggiungimento-afferramento nel macaco [Rizzolatti & Sinigaglia,2016]

Diversamente dai neuroni specchio di F5, i neuroni di STS sono neuroni puramente visivi che non si attivano durante i movimenti compiuti dall'animale. Sono privi, pertanto, di quel meccanismo di accoppiamento visuo-motorio che è la caratteristica essenziale dei neuroni specchio. Tuttavia, questi neuroni sono molto interessanti, non solo per le loro proprietà funzionali ma anche perché ci permettono di capire come sia stata possibile la comparsa di neuroni complessi come quelli specchio. Essi ci mostrano, infatti, come la codifica di movimenti biologici compiuti da altri avvenga in un sistema specifico e come il processo di identificazione di tali movimenti cominci nel sistema visivo. È facile pensare che per la genesi dei neuroni specchio, l'informazione visiva sia inviata, anche se indirettamente, alle aree motorie, assumendo il formato motorio tipico di queste ultime. Ma come arriva l'informazione da STS a F5? Dal punto di vista anatomico, l'area STS non proietta direttamente alla corteccia premotoria ventrale. Essa è invece fortemente connessa con il lobo parietale inferiore e con settori del lobo prefrontale (Seltzer & Pandya, 1994).

Il lobulo parietale inferiore (LPI) costituisce la parte laterale della corteccia parietale posteriore ed è separato dal lobulo parietale superiore mediante il solco intraparietale. La parte esposta del LPI è suddivisa in quattro aree citoarchitettonicamente diverse. Andando in senso rostro-caudale esse sono state denominate PF, PFG, PG e Opt. Il LPI è ricco di neuroni con risposte somatosensoriali, visive e motorie, già dimostrate dagli studi classici Mountcastle et al. 1975; Hyvärinen 1982). Recentemente si è visto che nel lobulo vi è una codifica di azioni eseguite con differenti effettori rispettivamente, andando in senso rostro-caudale, la bocca, la mano, il braccio e gli occhi (Ferrari et al. 2003a). Le risposte visive e somatosensoriali sono in buon'accordo con la rappresentazione motoria del lobulo, nel senso che le informazioni somatosensoriali e visive possono essere utilizzate per vari processi di integrazione sensorimotoria, come ad es. l'organizzazione dei movimenti del braccio o degli occhi nello spazio. Tra i neuroni con risposte visive sono stati scoperti neuroni specchio, localizzati nella regione di rappresentazione della mano e in quella di sovrapposizione tra la rappresentazione della mano e quella della bocca (Gallese et al. 2002; Fogassi et al. 2005).

L'informazione visiva relativa alle azioni osservate, quindi, può raggiungere F5 tramite questa via indiretta che collega STS a F5 attraverso il lobo parietale: sappiamo infatti che le connessioni tra F5 e i settori del lobo prefrontale che ricevono proiezioni da STS non sono molto ricche; di contro, F5 ha connessioni ricchissime con la parte rostrale del lobo parietale inferiore, formata dalle aree PF e PFG (Petrides, M., Pandya, D.N, 1984; Matelli et al.,1986).

Alcune azioni dirette su oggetti sono caratteristicamente accompagnate da un rumore. Manipolare un mazzo di chiavi produce un rumore tipico, dal quale è possibile riconoscere l'azione anche senza vederla. Un recente studio ha chiarito i meccanismi nervosi alla base della capacità di riconoscere le azioni dal loro rumore tipico. I neuroni specchio dell'area F5 della scimmia sono stati registrati durante 4 differenti condizioni sperimentali: quando la scimmia eseguiva atti motori rumorosi (ad es. rompere una nocciolina); quando la scimmia vedeva e sentiva l'atto motorio eseguito dallo sperimentatore; e infine quando la scimmia vedeva soltanto o udiva soltanto lo stesso atto motorio. I risultati hanno dimostrato che una consistente percentuale di neuroni specchio si attiva sia quando la scimmia esegue l'atto motorio, sia quando la scimmia ne ascolta il rumore o osserva lo stesso atto motorio in assenza del rumore caratteristico. Tali neuroni sono stati definiti "neuroni specchio audio-visivi" (Kohler et al. 2002). Questi dati dimostrano che il sistema dei neuroni specchio, mappando gli atti motori osservati o ascoltati sugli stessi circuiti nervosi che ne controllano l'esecuzione, mette in essere delle simulazioni motorie che vengono utilizzate non solo per il controllo esecutivo, ma anche per comprenderne il significato di questi atti motori, indipendentemente dalla modalità sensoriale (visiva o acustica) con cui ne facciamo esperienza.

Recentemente, sono stati trovati neuroni del tratto piramidale (PTNs) proveniente dall'area premotoria ventrale (F5), che rispondono all'osservazione di atti motori (Kraskov et al.,2009) e, cosa ancor più interessante, si è visto che parte di questi neuroni sono attivi durante l'esecuzione ma sopprimono la loro scarica durante l'osservazione dell'azione. Questa inibizione, potrebbe avere un ruolo chiave nel prevenire la produzione del movimento mentre si osserva l'esecuzione di un atto motorio. Simili risultati sono stati anche riportati per i neuroni del tratto piramidale che origina dalla corteccia motoria primaria (F1): gran parte di questi aumentano la frequenza di scarica durante l'osservazione, mentre altri la inibiscono (Vigneswaran et al., 2013). Inoltre, comparando tra loro questi dati, si è visto che la risposta visiva è molto più debole per i neuroni del tratto piramidale proveniente da F1 rispetto ai neuroni del tratto piramidale proveniente da F5 e questo potrebbe rappresentare il motivo per cui, tipicamente, in studi di fMRI l'attivazione di F1 non è riportata.

Sorprendentemente, neuroni specchio sono stati riportati anche nella corteccia prefrontale laterale (Falcone et al.,2015). Si tratta di neuroni che rispondono selettivamente non soltanto durante l'osservazione dell'azione presente ma anche di azioni appena eseguite o non ancora svolte dall'agente, sulla base di una rappresentazione predittiva che faciliterebbe in tal modo il coordinamento sociale.

Infine, prove sostanziali del fatto che l'osservazione delle azioni altrui recluti un pattern di aree corticali attive durante l'esecuzione in prima persona delle stesse azioni, sono state rintracciate anche nell'uomo. La prima dimostrazione dell'esistenza del sistema specchio nell'uomo è venuta da un esperimento di stimolazione magnetica transcranica (TMS) (Fadiga et al. 1995). La TMS permette, mediante l'applicazione di uno stimolo magnetico sulla regione frontale della testa di un soggetto, di evocare delle risposte muscolari registrabili a livello periferico mediante elettromiografia. In questo studio, i partecipanti venivano istruiti ad osservare atti motori (una mano che afferra degli oggetti) eseguiti da uno sperimentatore. Durante l'osservazione, uno stimolo magnetico di bassa intensità veniva somministrato in corrispondenza dell'area di rappresentazione dei movimenti della mano nell'area motoria primaria. L'esperimento ha dimostrato (fig. 3) che la risposta elettromiografica registrata da alcuni muscoli della mano era molto più ampia quando il soggetto osservava gli atti di afferramento rispetto a quando era a riposo o quando osservava passivamente degli oggetti. Ciò significa che l'osservazione di un atto motorio eseguito dalla mano di un altro individuo attiva le regioni motorie dell'osservatore, aumentandone la responsività allo stimolo magnetico. È interessante notare che le risposte muscolari facilitate si ottenevano in maniera specifica da quegli stessi muscoli che il soggetto attivava quando doveva a sua volta eseguire le azioni osservate. Ciò dimostra che anche nell'uomo il sistema motorio mappa in modo specifico le azioni osservate sul repertorio di azioni potenzialmente eseguibili dall'osservatore.

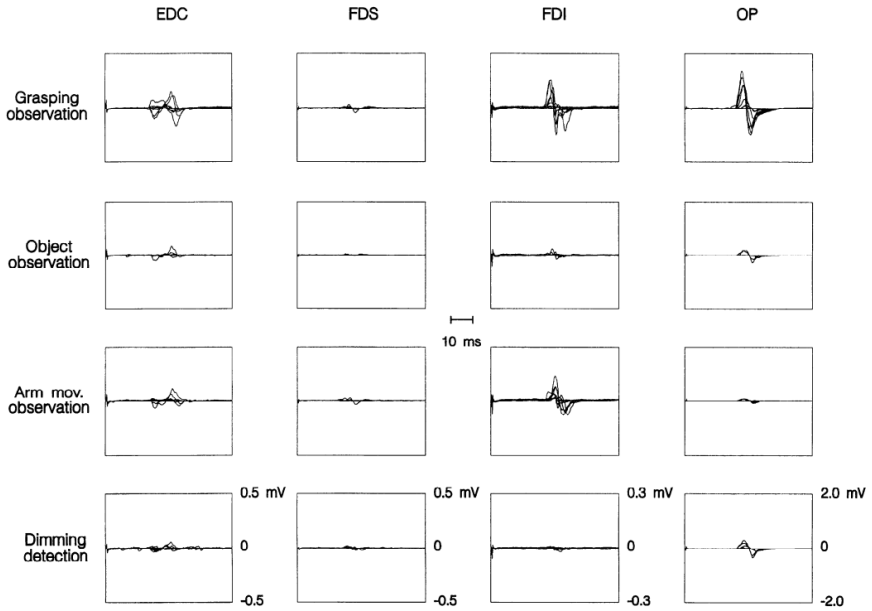

Figura 3: effetto dell'osservazione dei movimenti della mano e del braccio sul potenziale magnetico evocato. Ogni pannello mostra le risposte evocate dal muscolo indicato: estensore comune delle dita (EDC), flessore superficiale delle dita (FDS), primo interosseo dorsale (FDI) e opponente del pollice (OP) [Fadiga et al.,2005].

La localizzazione anatomica del sistema specchio nell'uomo è stata rivelata mediante le tecniche della tomografia ad emissione di positroni (PET) e della risonanza magnetica funzionale (fMRI), che permettono di rivelare la distribuzione differenziale del flusso sanguigno cerebrale durante l'esecuzione di compiti sensoriali-percettivi, motori, o cognitivi. Le aree coinvolte in uno specifico compito hanno un metabolismo maggiore e quindi richiamano una maggiore quantità di sangue.

Come dimostrato da uno studio di meta-analisi (Caspers et al.,2010; Grosbras et al., 2012; Molenbergh et al., 2012), l'osservazione di atti motori di prensione produce l'attivazione (fig. 4) del settore caudale del giro frontale inferiore, della corteccia premotoria ventrale e dorsale, del lobulo parietale inferiore e superiore, del solco temporale superiore. Attivazioni aggiuntive, sono state riportate anche nel cingolo medio e nelle aree somatosensoriali (Rizzolatti et al., 2014; Keysers et al., 2010), nella corteccia presupplementare motoria e nell'ippocampo.

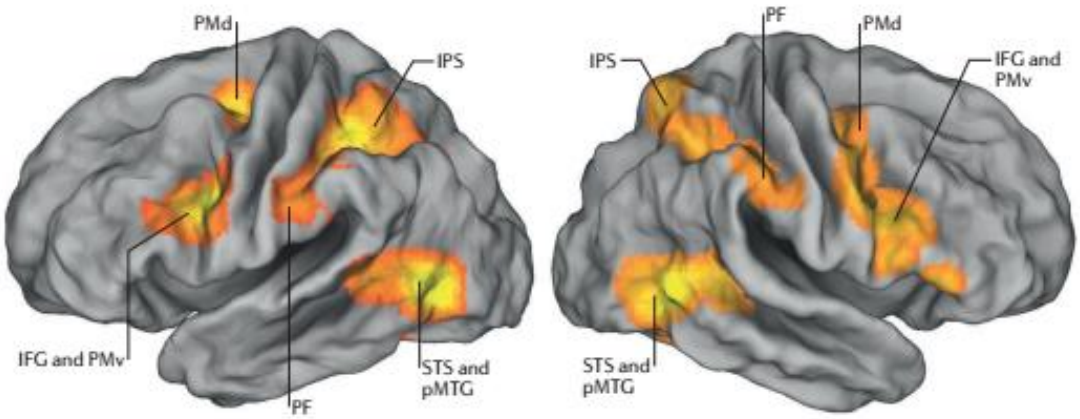

Figura 4: Rappresentazione delle le aree corticali del sistema specchio parieto-frontale nell'uomo, implicato nell'osservazione di atti motori eseguiti con diversi effettori: IFG, giro frontale inferiore; IPS, solco intraparietale; PMd,corteccia premotoria dorsale; pMTG, giro temporale medio posteriore; PMv, corteccia preotoria ventrale; PF, area parietale F; STS, solco temporale superiore [Rizzolatti & Sinigaglia.,2016]

1.1.2 What: la codifica dello scopo

Che cosa codificano i neuroni specchio durante l'osservazione dell'azione? I primi studi su singole cellule condotti sui neuroni specchio della corteccia parieto-frontale, hanno mostrato che questi neuroni codificano lo scopo dell'atto motorio e non solo contrazioni muscolari o movimenti congiunti (Rizzolatti, Fogassi & Gallese,2001). Da allora, questa scoperta è stata supportata da un gran numero di studi condotti sia nelle scimmie che nell'uomo (Rizzolatti, Cattaneo, Fabbri-Destro & Rozzi,2014). Ma come prima cosa è necessario disambiguare la nozione di "scopo dell'azione" che ha rappresentato una fonte di confusione negli studiosi dei neuroni specchio (Kilner, 2011; Cook & Bird, 2013). Quando parliamo di scopo dell'azione facciamo riferimento al risultato che intendiamo ottenere con una determinata sequenza di movimenti (ad esempio, prendere un pezzo di cibo per portarlo alla bocca o per spostarlo) piuttosto che allo stato interno dell'agente (inteso come rappresentazione mentale del risultato dell'azione). Premesso ciò, come possiamo essere certi del fatto che i neuroni specchio codifichino gli scopi dell'azione piuttosto che semplici movimenti corporei? Un test molto intuitivo per rispondere a questo dubbio, potrebbe essere quello di vedere cosa succede mantenendo costante lo scopo dell'azione ma variando i movimenti necessari per raggiungerlo e viceversa. Proprio in merito a questo, vi è evidenza del fatto che i neuroni specchio parieto-frontali rispondono selettivamente allo scopo di un'azione, come l'afferrare un pezzo di cibo, anche quando questa azione è eseguita con diversi effettori (mano o bocca) (Gallese, Fadiga, Fogassi & Rizzolatti, 1996; Ferrari, Rozzi & Fogassi, 2005) oppure diversi strumenti, quali una pinza normale o invertita che richiede sequenze opposte di movimenti delle dita (Rochat et al.,2010) (fig. 5).

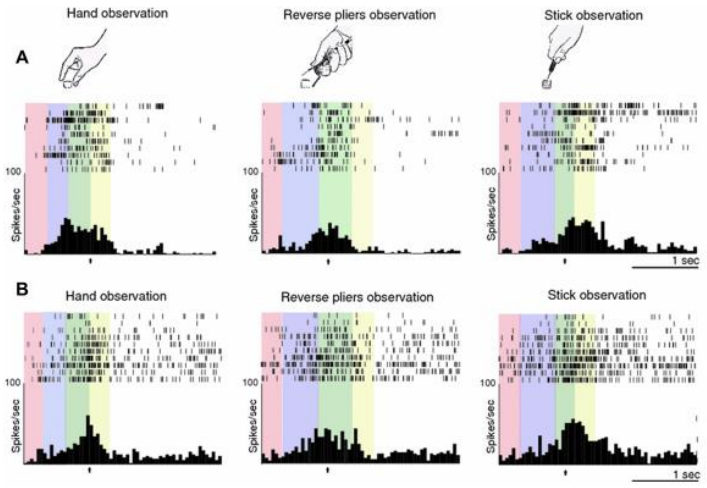

Figura 5: Risposta di due tipi di neuroni specchio (riga A e B) durante l'osservazione un atto di afferramento con le dita, con le pinze invertite e con un bastoncino. [Rochat et al.,2010]

Al contrario, è stato dimostrato che l'attività dei neuroni specchio si modifica quando si eseguono movimenti del braccio simili ma diretti a differenti scopi motori, ad esempio quando si afferra un pezzo di cibo per mangiarlo o per posizionarlo (Fogassi et al.,2005).

Un altro modo possibile per verificare la capacità di codifica dello scopo di questi neuroni consiste nel variare le informazioni sensoriali mantenendo costante lo scopo dell'azione. In tal senso, è stato condotto uno studio interessante in cui è stato dimostrato che i neuroni specchio di F5 sono in grado di rispondere selettivamente allo scopo di un'azione come, nello specifico, rompere il guscio di una nocciolina, indipendentemente dal fatto che l'azione sia vista, vista e ascoltata o solo ascoltata (Kohler et al.,2002). Risultati simili sono, poi, stati riscontrati anche negli studi sull'uomo. In particolare, uno studio di fMRI (Gazzola, Aziz-Zadeh & Keysers, 2006) ha mostrato l'esistenza di un circuito cerebrale temporo-parieto-premotorio di sinistra che si attiva sia durante l'esecuzione motoria, sia durante l'ascolto del suono di un'azione eseguita con lo stesso effettore. Nella corteccia premotoria sinistra, è stato osservato anche un pattern somatotopico di attivazione: una porzione dorsale era più coinvolta durante l'ascolto e l'esecuzione di azioni manuali, e un cluster ventrale era più coinvolto durante l'ascolto e l'esecuzione delle azioni della bocca. La maggior parte di questo sistema sembra essere multimodale perché risponde anche alla vista di azioni simili. Un altro studio di risonanza magnetica funzionale (Lewis et al.,2005) suggerisce che l'elaborazione e il riconoscimento di alcuni suoni coinvolge un meccanismo di rispecchiamento, evocato automaticamente quando si ascoltano suoni derivanti dalla manipolazione di strumenti con le mani, che associa in maniera efficace la dinamica dell'azione motoria necessaria per produrre quel particolare suono.

La capacità di codifica selettiva dello scopo dell'azione risulta essere presente anche in neuroni motori dell'area PFG e AIP (Bonini et al.,2012), a dimostrazione del fatto che il meccanismo specchio non fa altro che estendere la stessa organizzazione funzionale relativa all'obiettivo dall'esecuzione dell'azione anche all'osservazione della stessa. È interessante citare un recente studio sui singoli neuroni che ha analizzato le risposte motorie e visive quando le scimmie dovevano astenersi dal raggiungere uno specifico scopo motorio, come la presa di un oggetto. I risultati dello studio hanno mostrato che, mentre la maggior parte dei neuroni motori e specchio di F5 erano silenziosi nella condizione di esecuzione, alcuni di loro si attivavano quando la scimmia o lo sperimentatore afferrava un oggetto e anche quando si sono astenuti dal farlo (Bonini et al.,2014). Ciò indica che la codifica degli obiettivi potrebbe verificarsi non solo quando è necessario eseguire un'azione, ma anche quando occorre inibirla.

Risultati analoghi sono stati ottenuti anche sull'uomo in studi di *imaging* funzionale ed elettrofisiologici. Ad esempio, un recente studio di fMRI ha confrontato l'osservazione di diverse azioni (come arrampicata, camminata e manipolazione di oggetti) e la scoperta principale è stata che l'osservazione di un'azione come l'arrampicata non attiva il nodo parietale del circuito di afferramento con la mano ma la parte rostrale del lobo parietale superiore, seppure l'azione osservata mostrava una mano che afferra (Abdollahi et al.,2012). Di contro, uno studio di stimolazione magnetica transcranica (TMS) ha investigato la codifica dello scopo dell'azione, comparando l'attività della corteccia premotoria ventrale (PMv) e il lobo parietale inferiore (IPL) con quella del solco temporale posteriore (pSTS) (Cattaneo et al., 2010; Silvanto et al.,2008). Ai partecipanti venivamo mostrati filmati di azioni svolte con mani o piedi e veniva chiesto loro di provare ad abbinare immagini che mostrano la stessa azione o un'azione diversa, eseguita con lo stesso o con un altro effettore. Durante l'esecuzione del compito cognitivo veniva erogata la stimolazione magnetica su specifiche aree corticali, quali IPL, PMV e STS. Gli impulsi magnetici forniti a PMV e a IPL hanno provocato una riduzione dei tempi di reazione alle azioni, indipendentemente dagli effettori con cui venivano eseguite, cosa che invece non accadeva per il solco temporale superiore posteriore. Queste evidenze indicano che la corteccia premotoria ventrale (PMV) e il lobulo parietale inferiore (IPL) hanno un ruolo chiave nella codifica dello scopo delle azioni degli altri. È interessante notare che, sebbene sia il PMV che l'IPL siano in grado di codificare lo scopo, questa codifica risulta essere organizzata in modo diverso nelle due aree. Infatti, confrontando le attivazioni durante l'osservazione di azioni simili eseguite con diversi effettori, uno studio fMRI ha dimostrato che in PMV la codifica degli obiettivi tendeva a essere principalmente mappata in modo somatotopico, mentre in IPL tendeva a essere mappata principalmente in base al significato positivo o negativo dell'azione osservata (Jastorff et al.,2010).

1.1.3 Why: la comprensione dell'azione

Far riferimento alla comprensione del comportamento altrui, vuol dire parlare di qualcosa di molto complesso. Quotidianamente noi non ci limitiamo ad avere una comprensione automatica di quello che sta facendo l'altro ma cerchiamo di capire anche perché lo sta facendo, ovvero di capire le sue intenzioni. Dal punto di vista neurofisiologico il problema dell'intenzione è stato affrontato soprattutto in merito alla preparazione di atti motori e di movimenti. Partiamo dal fatto che l'azione ha un suo scopo finale ed è composta da una sequenza di atti motori, ognuno dei quali è sua volta

finalizzato. Ogni singolo scopo motorio della sequenza di atti, viene realizzato attraverso dei movimenti (ad esempio la contrazione delle dita) che a loro volta vengono resi esecutivi dalla contrazione del muscolo coinvolto. Questo schema ripercorre dei passaggi gerarchici che partono dalla corteccia e finiscono nel midollo spinale. A tal proposito, c'è da capire se oltre all'atto motorio, a livello corticale, venga rappresentata anche l'azione intenzionale che è finalizzata al raggiungimento di uno scopo finale. Questo aspetto dell'organizzazione motoria è stato recentemente esaminato da alcuni studiosi (Fogassi et al.,2005; Bonini et al.,2010) che hanno registrato una serie di neuroni specchio parietali (PFG) che si attivavano quando la scimmia afferrava un oggetto, studiandone le risposte in un paradigma sperimentale (fig. 6) che prevedeva due diverse situazioni. Nella prima, la scimmia muovendo la mano da una posizione di partenza doveva raggiungere e afferrare un pezzo di cibo posto di fronte a lei, per poi portarlo alla bocca. Nella seconda, partendo sempre dalla stessa posizione, la scimmia doveva afferrare un pezzo di cibo o un oggetto e portarlo alla bocca.

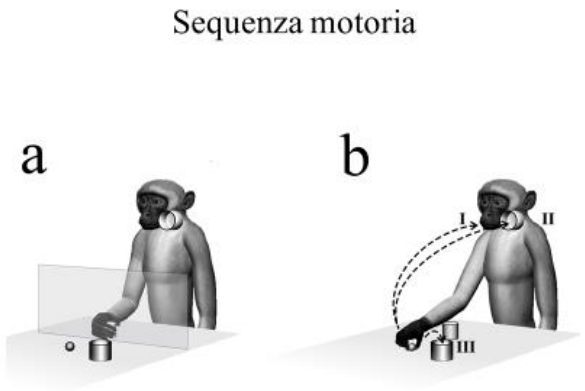

Figura 6: Paradigma sperimentale. Il contenitore poteva essere posto vicino al cibo o sulla spalla, vicino alla bocca. Dato che la cinematica del movimento è influenzata dall'atto motorio successivo, variando la posizione del contenitore si poteva discriminare se la selettività neurale fosse dovuta allo scopo dell'azione piuttosto che alla cinematica, come poi è stato dimostrato. [Fogassi et al.,2005; Bonini et al.,2010]

I risultati mostrano che la maggior parte di neuroni si attivava in maniera diversa a seconda che l'atto motorio successivo all'afferramento dell'oggetto consistesse nel portare alla bocca o nel mettere nel contenitore. La figura 7 mostra l'attività di tre tipologie neuroni: due di esse si attivano in maniera chiaramente diversa se l'afferramento è eseguito per portare alla bocca o per mettere nel contenitore, mentre la terza tipologia codifica l'afferramento indipendentemente dall'intenzione con cui è compiuto.

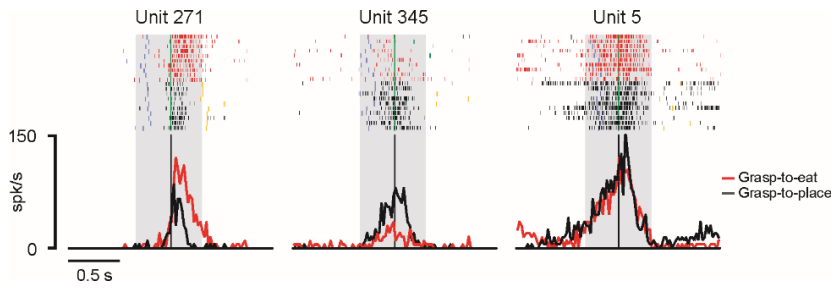

Figura 7: attività di tre tipi di neuroni dell'area PFG durante l'esecuzione dell'afferrare per portare alla bocca e dell'afferrare per mettere nel contenitore. [Bonini et al.,2010]

Di solito, secondo il concetto di atto motorio visto finora, i neuroni avrebbero dovuto attivarsi ugualmente in entrambe le condizioni, in realtà vediamo che quando l'atto motorio appartiene ad azioni differenti, si ha una scarica differenziale che sembra riflettere proprio l'intenzione dell'agente. Sono stati, poi, condotti una serie di controlli in cui veniva esaminato se il tipo di oggetto afferrato (cibo o non cibo) o la forza con cui veniva afferrato potessero spiegare la specificità dei neuroni per una certa azione (portare alla bocca o mettere) e i risultati ottenuti sono stati negativi, consentendo di scartare queste spiegazioni. Così anche lo studio della cinematica (velocità, accelerazione, ecc) dei movimenti di raggiungimento e prensione ha dimostrato che non sono i parametri motori a fare la differenza ma è il tipo di azione richiesta ad esprimere una attivazione differenziale. L'aspetto ancora più interessante di questi studi è che una specificità analoga a quella appena descritta si riscontrava anche quando la scimmia vedeva lo sperimentatore eseguire le medesime sequenze di atti motori. Anche in questo caso i neuroni si attivavano diversamente a seconda del tipo di azione a cui apparteneva l'atto motorio codificato, mostrando una chiara congruenza tra le risposte motorie e quelle visive (fig. 8).

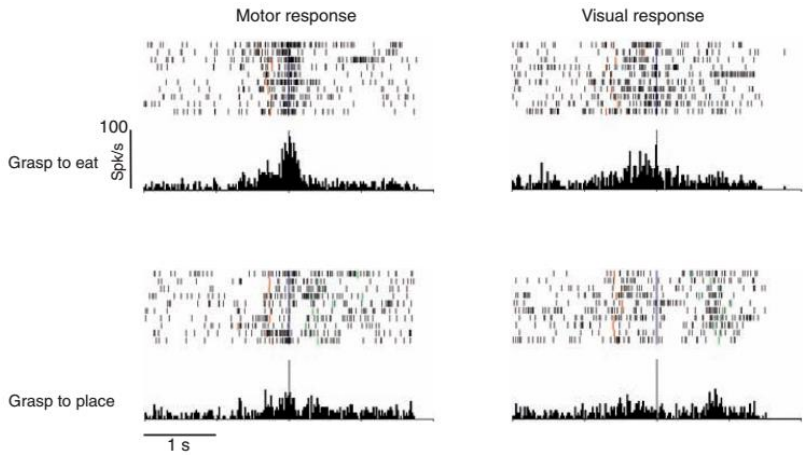

Figura 8: congruenza delle risposte visive e motorie di neuroni specchio della corteccia parietale che scaricano più intensamente durante l'afferrare per mangiare sia in esecuzione che in osservazione. [Fogassi et al.,2005]

È bene sottolineare che sia durante l'esecuzione dell'azione da parte della scimmia che durante l'osservazione dell'azione svolta dall'esaminatore, i neuroni rispondevano nel momento in cui la mano (della scimmia o dello sperimentatore) prefigurava la prensione del cibo o dell'oggetto. Il fatto che i neuroni siano in grado si codificare l'intenzione dell'azione durante la sua esecuzione sin dal primo movimento compiuto, non sorprende: quando la scimmia dirige la mano verso il cibo, ha già chiaro in mente quale sarà l'atto motorio successivo. Questa tesi è avvalorata dal fatto che vi sono molti neuroni parietali che rispondono alla flessione passiva dell'avambraccio e rispondono anche ad atti motori, quali afferrare con la bocca. Sembra che questi neuroni riescano a facilitare l'apertura della bocca quando un oggetto è raggiunto o afferrato dalla mano della scimmia (Yokochi et al.,2003). Quando, invece, l'intenzione corrispondente allo scopo finale dell'azione non è della scimmia ma dello sperimentatore la situazione è un po' diversa: il neurone scarica quando l'atto successivo non si è ancora compiuto e questa scarica differenziale non fa altro che predire l'intenzione dell'agente che la scimmia sta osservando. Ma qual è in questo caso il meccanismo ingaggiato? Per prima cosa, non vi è connessione con la corteccia motoria primaria (F1) perché appunto durante l'osservazione la scimmia non esegue alcun movimento. Poi, se è vero che esistono catene di neuroni intenzionali, ognuna delle quali esprime uno scopo finale preciso, quando si osserva, all'interno di un certo contesto, il primo atto motorio di un'azione compiuta da un altro, si è già in grado di selezionare la catena motoria che si sceglierebbe per eseguire un'azione di quel tipo. Ancora una volta, per capire l'intenzione altrui, si deve accedere ad una rappresentazione interna che normalmente serve per lo svolgimento di quell'azione. Un ruolo importante in questo meccanismo, potrebbe essere quello della corteccia prefrontale che interviene nel riconoscimento, nella scelta e nella programmazione delle azioni. Tutto questo non fa che confermare l'importanza di quella conoscenza motoria che è risultata essere decisiva già nella comprensione di singoli atti altrui, estendendone ruolo e capacità. Tanto gli studi di elettrofisiologia quanto quelli di neuroimaging hanno confermato l'ipotesi che anche nell'uomo esistono meccanismi di "risonanza" simili a quelli individuati nella scimmia. Così come nella scimmia anche nell'uomo il sistema specchio assolve ad un compito di primaria importanza, come la comprensione del significato delle azioni altrui. Uno studio molto esplicativo in tal senso è quello di Iacoboni e colleghi (Iacoboni et al.,2005), in cui venivamo mostrati a dei soggetti volontari, tre diversi tipi di video. Nella prima condizione (definita "contesto") venivano mostrati alcuni oggetti disposti come se qualcuno si stesse accingendo a bere un tè o avesse appena finito di farlo. Nella seconda condizione (definita "azione") viene mostrata una mano che afferra una tazza da tè con due differenti tipi di presa, una di precisione e l'altra di forza. Nell'ultima condizione (definita "intenzione") i partecipanti vedono la

stessa mano che afferra la tazza con forza o precisione della seconda condizione ma nei contesti rappresentati nella prima condizione, in modo da suggerire l'intenzione di prendere la tazza per bere o di prenderla per spostarla e mettere in ordine (fig. 9).

Figura 9: Ogni colonna corrisponde a una delle condizioni sperimentali utilizzate. Da sinistra a destra: contesto, azione e intenzione. [Iacoboni et. al., 2005]

Andando a confrontare le attivazioni cerebrali relative all'osservazione delle tre condizioni con l'attivazione cerebrale di base (registrata durante le pause) si nota che: l'osservazione delle azioni all'interno del proprio contesto rispetto alle altre due condizioni, ha determinato un significativo incremento dell'attività della parte posteriore del giro frontale inferiore e del settore adiacente della corteccia premotoria ventrale dove sono rappresentate le azioni manuali. (fig. 10).

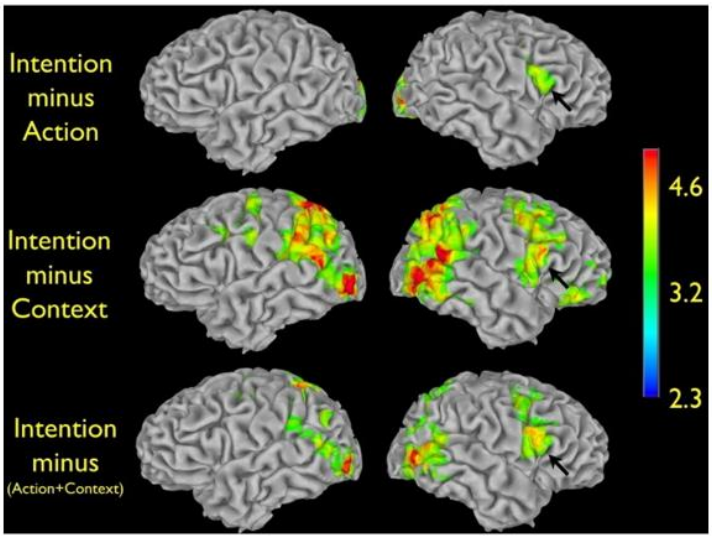

Figura 10: Aree corticali che risultano selettive per la codifica dell'intenzione, sottraendo le attivazioni corticali relative alle condizioni "azione" e "contesto". La freccia nera indica l'unica area che mostra un aumento del segnale nei vari confronti: settore dorsale del giro frontale inferiore, dove sono state ripetutamente osservate proprietà specchio [Iacoboni et. al,2005]

Un altro risultato interessante dello studio è che le aree-specchio premotorie si attivano indipendentemente dal fatto che i soggetti debbano o meno determinare esplicitamente l'intenzione delle azioni osservate. Ciò dimostra che queste aree che risultano attive durante l'esecuzione e durante l'osservazione di un atto motorio, sono coinvolte anche nella comprensione del "perché" dell'azione, cioè dell'intenzione che l'ha promossa, verosimilmente utilizzando un meccanismo neurofisiologico non dissimile da quello scoperto da Fogassi et al. (2005) nei neuroni specchio parietali della scimmia.

Ovviamente come per i singoli atti motori anche per le intenzioni il meccanismo di risonanza motoria attraverso il sistema specchio non rappresenta l'unico modo di comprendere l'agire altrui ma sicuramente permette di catturare a livello corticale quella dimensione pragmatica dell'esperienza che per Merleau-Ponty ci consente di "accedere in modo originario all'oggetto e alle intenzioni altrui come se le l'altro abitasse il mio corpo e io il suo". (Merleau-Ponty, 1945).

Un altro filone di studi interessante per capire come avviene la comprensione delle intenzioni delle azioni degli altri è quello basato sul ruolo cruciale dell'esperienza motoria. Un gran numero di studi comportamentali e di *imaging* cerebrale, dimostrano che persone con una ricca esperienza motoria hanno una maggiore sensibilità del meccanismo specchio per le azioni altrui e una migliore capacità di identificare lo scopo a cui saranno dirette quelle azioni. È stato condotto uno studio su due gruppi di danzatori professionisti: ballerini esperti di Capoeira, una danza brasiliana, e ballerini esperti di danza classica ai quali venivano mostrati filmati di entrambi gli stili di danza. I risultati hanno mostrato che il sistema specchio si attivava maggiormente quando i soggetti osservarono i filmati che mostravano lo stile di danza di cui erano esperti (Calvo-Merino et al.,2005. Fig. 11).

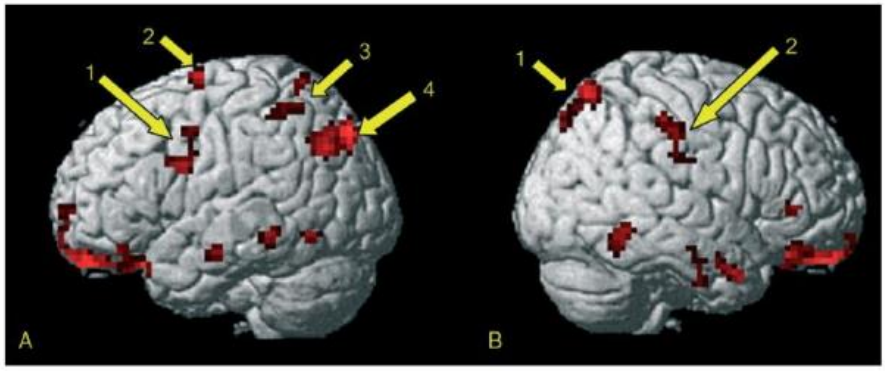

Figura 11: Effetti dell'esperienza motoria sulle risposte cerebrali all'osservazione dell'azione. Le proiezioni dei focolai di attivazione sono rappresentate sulla superficie di un cervello standard (Montreal Neurological Institute, MNI). Le attivazioni significative a P <0,001 non corrette sono mostrate in rosso. Le frecce indicano le aree con attivazioni significative a P <0,05 nell'emisfero di sinistra (A): (1) corteccia premotoria ventrale, (2) premotoria dorsale, (3) solco intraparietale (IPS) e (4) solco temporale posteriore superiore (pSTS). Nell'emisfero destro (B) mostriamo le attivazioni nel (1) lobulo parietale superiore (SPL) e (2) nel solco intraparietale (IPS) [Calvo-Merino et al.,2005].

Molti altri studi hanno mostrato anche che il sistema specchio nell'uomo è alla base dell'apprendimento imitativo sia di semplici movimenti che di complesse sequenze motorie, come ad esempio imparare gli accordi di una chitarra (Buccino et al. 2004b).

1.2 Estensione del meccanismo specchio

Finora abbiamo considerato le azioni compiute o percepite in cotesti scevri da una connotazione emotiva. Eppure, gran parte della nostra vita è regolata ed accompagnata dalle emozioni che ci permettono di valutare nell'immediato i cambiamenti più o meno improvvisi dell'ambiente e di rispondervi in maniera tempestiva e vantaggiosa. È raro che le cose ci appaiano semplicemente come raggiungibili o irraggiungibili, afferrabili con la mano o con la bocca, con quella o questa presa: il più delle volte gli oggetti con cui entriamo in contatto generano in noi una emozione di repulsione o attrazione, di dolore o piacere, di disgusto o di interesse. E questo vale anche per le persone di cui facciamo esperienza quotidianamente: i loro comportamenti non sono ascrivibili solo in termini di atti motori finalizzati ad uno scopo ma spesso provocano in noi emozioni di rabbia, invidia, compassione, ammirazione, speranza ecc. La maggior parte delle nostre interazioni con l'ambiente e dei nostri stessi comportamenti emotivi derivano dalla capacità di percepire e di comprendere le emozioni altrui. E questa forma di risonanza emotiva ha diversi vantaggi adattativi fin dai primi mesi di vita, rendendo possibile la formazione di legami interindividuali tra il neonato e la madre.
Qualche anno dopo la scoperta del meccanismo di rispecchiamento per le azioni, si ipotizzò che i neuroni specchio potessero essere la punta di un iceberg molto più grande, esteso ai domini delle emozioni e delle sensazioni (Goldman & Gallese, 2000). Il più esplicito e intuitivo di questi meccanismi riguarda la mimica facciale: quando osserviamo gli altri esprimere una certa emozione con l'espressione visiva, i muscoli del volto dell'osservatore si attivano in maniera congruente, con una intensità proporzionale alla sua natura empatica (Sestito et. al, 2013). Quando osserviamo l'espressione facciale di qualcuno, non ne comprendiamo il significato solo grazie ad un'esplicita inferenza per analogia. L'emozione di un altro è prima di tutto costituita e direttamente compresa attraverso la nostra esperienza in prima persona di quella data emozione. E l'intero sistema sensori-motorio è cruciale per il riconoscimento delle emozioni manifestate dagli altri (Adholfs et al.,2000), perché aiuta a ricostruire cosa proveremmo nel caso di una particolare emozione, mediante la simulazione del relativo stato corporeo.

L'esistenza di un presunto terreno neuronale comune per sperimentare e osservare le emozioni ha suggerito che centri corticali implicati nel processamento emotivo come l'insula anteriore (AI) o la corteccia cingolata anteriore (ACC) potrebbero essere dotati con un meccanismo specchio (Gallese, Keysers & Rizzolatti, 2004; Goldman & Sripada, 2005; Niedenthal et al., 2007).

Di conseguenza, l'osservazione di un'espressione emotiva, quale ad esempio il disgusto, susciterebbe processi visceromotori e rappresentazionali nel cervello dell'osservatore che sono simili a quei processi e rappresentazioni che egli stesso utilizzerebbe se stesse vivendo in prima persona quella emozione. Le prove a sostegno di quest'ipotesi vengono da diversi studi. Uno studio di fMRI ha affrontato questa questione, studiando l'attività di soggetti volontari durante l'esperienza soggettiva del disgusto, indotta dall'inalazione di odori disgustosi, e durante l'osservazione di video che mostravano un attore mentre esprimeva la stessa emozione con la propria espressione facciale (fig.12).

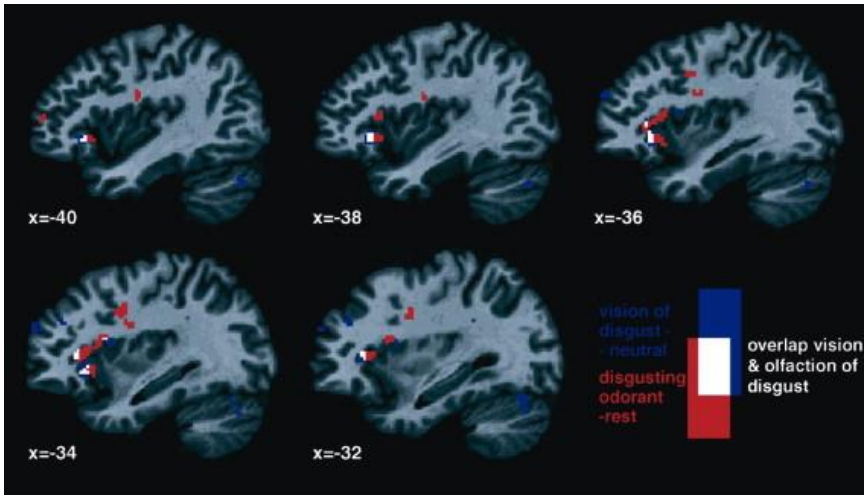

Figura 12: Sezioni parasagittali che mostrano la sovrapposizione (bianca) tra l'attivazione del cervello durante l'osservazione (blu) e l'esperienza soggettiva (rosso) del disgusto. [Wicher et al.,2003]

Assistere alla espressione del disgusto altrui attiva la stessa porzione dell'insula anteriore sinistra che viene attivata durante l'esperienza soggettiva in prima persona del disgusto (Wicker et al.,2003). Questo risultato è ancora più interessante se consideriamo gli studi su lesioni dell'insula. Di grande interesse è il caso di un paziente che, a seguito di una lesione dell'insula sinistra, ha mostrato un deficit consistente e ampiamente selettivo nel riconoscere il disgusto sul volto degli altri, i suoni emozionali non verbali e la prosodia emotiva (Calder et al.,2000). È interessante notare come il deficit di riconoscimento per il disgusto altrui era rispecchiato anche da un deficit equivalente nell' esperienza soggettiva del paziente di quella stessa emozione.

Una chiave di lettura per spiegare questo fenomeno è quella della cosiddetta “simulazione incarnata”, un meccanismo funzionale di base del nostro cervello grazie al quale riusiamo parte delle nostre risorse neurali, che normalmente utilizziamo per interagire con il mondo, modellando i rapporti e le relazioni che con essi stabiliamo, mettendole al servizio della sua percezione e immaginazione. Comprendiamo, quindi, il senso di molti dei comportamenti ed esperienze altrui grazie al riuso degli stessi circuiti neurali su cui si fondono le nostre esperienze agentive, emozionali e sensoriali in prima persona. Riutilizziamo i nostri stati o processi mentali in formato corporeo per attribuirli funzionalmente ad altri. La simulazione incarnata fornisce, dunque, un quadro integrato e neurobiologicamente plausibile di una varietà di fenomeni intersoggettivi (Gallese 2003,2005,2011; Gallese & Sinigaglia, 2011).

1.2.1 I Vitality forms

Oltre allo scopo (*what*) e all’intenzione (*why*), un altro rilevante aspetto che caratterizza l’azione è il modo in cui questa viene eseguita (*how*). Una presa, ad esempio, può essere "vigorosa" o "delicata", una carezza può essere "gentile" o "frettolosa", e persino un'emozione di base come la rabbia può "esplodere" o rimanere “fredda”. L'attenzione a questi aspetti dell’azione possono fornire informazioni importanti sugli stati affettivi, sugli stati d'animo, sugli atteggiamenti e persino sui tratti caratteriali dell’agente. Lo stile delle azioni, ovvero il modo in cui queste vengono eseguite (*how*), è stato concepito con diverse accezioni da diversi ricercatori (Trevarthen, 1998; Stern, 1985, 2010). Daniel N. Stern, psicologo e psichiatra statunitense, fu il primo a coniare il termine “*vitality forms*”, per sottolineare che queste “forme vitali” sono alla base delle nostre più basilari interazioni sociali, modellando profondamente la nostra esperienza di noi stessi e degli altri (Stern ,1985). Secondo la visione di Stern, le azioni e le emozioni non possono essere vissute senza un determinato stile. In effetti, ciò che stiamo facendo o sentendo dà contenuto alla nostra esperienza, mentre i vitality forms forniscono a questi contenuti una forma, che caratterizza il modo in cui le azioni e le emozioni vengono osservate e vissute.

Nonostante la loro pervasività nella nostra vita e il loro ruolo cruciale nelle relazioni interpersonali, i *vitality forms* sono stati raramente studiati da un punto di vista neuroscientifico. Poco o nulla si sa ancora dei loro substrati neuronali. Come e dove viene codificato a livello cerebrale lo stile di un’azione? Cosa succede quando le azioni vengono eseguite con differenti stili? E cosa si verifica quando le azioni con diverse forme vitali vengono osservate nell’altro piuttosto che eseguite in

prima persona? In uno studio fMRI che ha studiato le basi neurali dei *vitality forms* (Di Cesare et al.,2015) è stato chiesto ai partecipanti di eseguire, immaginare e osservare azioni compiute in modi differenti. Ad esempio, nella condizione di esecuzione, i partecipanti dovevano spostare un oggetto, un pacchetto di cracker, come se volessero offrirlo ad un altro individuo in modo gentile o rude. Nella condizione di immaginazione, dovevano, invece, immaginare di passare un oggetto a qualcun altro in modo gentile o rude. Nella condizione di semplice osservazione, i partecipanti dovevano osservare passivamente un attore che eseguiva la medesima azione con i due diversi stili delle altre condizioni sperimentali. I risultati hanno mostrato, durante l'esecuzione, la presenza di un'attivazione bilaterale della corteccia premotoria e parietale, oltre a una forte attivazione della corteccia somatosensoriale di sinistra e di quella motoria. Nella condizione di osservazione, vi era un'attivazione bilaterale del lobo occipitale, della premotoria dorsale (PMd) e del lobo parietale superiore (SPL) che si estendeva anteriormente nell'IPL. La condizione di immaginazione ha prodotto un pattern simile ma con un'attivazione fortemente ridotta delle aree occipitali. Un'analisi congiunta delle attivazioni relative a tutte e tre le condizioni ha rivelato, poi, un aumento del segnale bilaterale nelle aree temporali MT / V5, nella corteccia parietale posteriore e nella premotoria dorsale (PMd), così come nella parte dorsale del cervelletto. L'aspetto più interessante di questa analisi, è la presenza di un'attivazione selettiva della parte dorso-centrale dell'insula (DCI) quando viene eseguita, immaginata ed osservata un'azione con uno specifico stile (fig. 13).

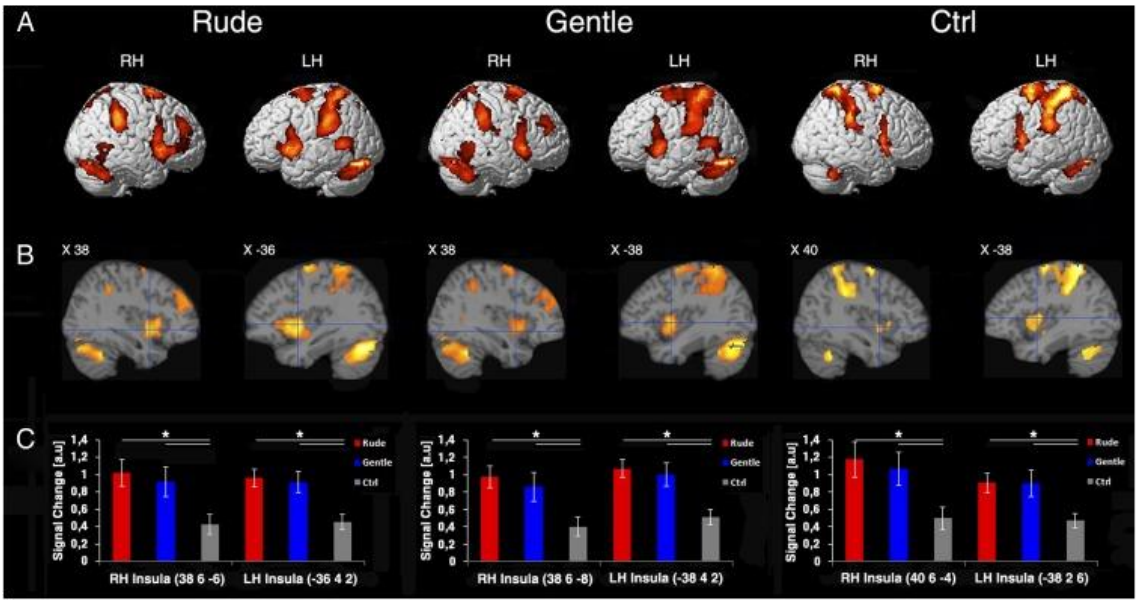

Figura 13: Sovrapposizione di aree attive durante i tre diversi compiti (OBS, IMA e EXE). (A) Viste laterali degli emisferi destro e sinistro. Le attivazioni nelle tre condizioni (rude, gentile e controllo) ottenute con un'analisi di congiunzione sono rese su un modello di cervello standard dell'istituto neurologico di Montreal (PFWE <0,05 a livello di cluster). (B) sezioni sagittali che mostrano le attivazioni insulari in due emisferi nelle tre condizioni. (C) Cambiamenti di segnale in

sei ROI create sull'insula centrale. Tutte le ROI sono state definite centrando una sfera (radio 10 mm) attorno ai massimi delle mappe funzionali risultanti dall'analisi congiunta delle attività OBS, IMA e EXE. Le linee orizzontali sopra le colonne indicano i confronti tra le condizioni. LH, emisfero sinistro; RH, emisfero destro. *differenze significative per $P < 0.05$ (Bonferroni corretto). [Di Cesare et al.,2015]

Queste aree fanno parte del circuito coinvolto nell'organizzazione e nel controllo dei movimenti del braccio nelle scimmie (fig. 14). Risultati simili sono stati evinti nell'uomo: in uno studio la stimolazione elettrica transcorticale dei giri corti, medi e posteriori dell'insula (che corrispondono alla DCI nella scimmia) ha elicitato una risposta nel giro precentrale e nel lobo parietale inferiore (IPL) (Almashaikhi et al.,2014), suggerendo che la porzione dorso-centrale dell'insula svolge un ruolo cruciale nella produzione e nel controllo dei *vitality forms,* attraverso la modulazione del controllo motorio a livello corticale. È bene sottolineare, però, che questa modulazione è diversa da quella operata dall'insula anteriore (AI), che è in genere coinvolta nel controllo del comportamento emozionale.

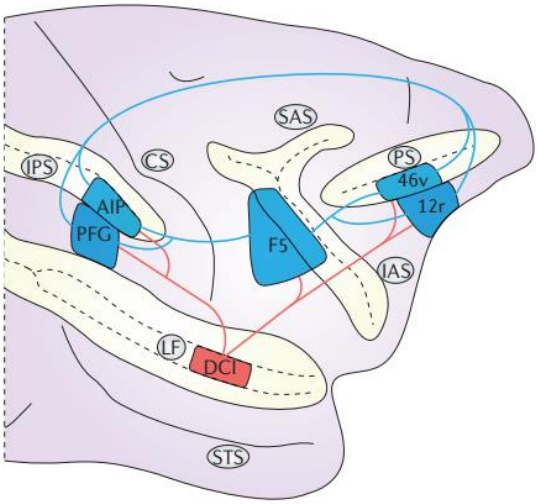

Figura 14: Connessioni insulari (rosso) con il circuito parieto-frontale di afferramento nella scimmia (blu) [Rizzolatti & Sinigaglia, 2016]

Come dimostrato dalle evidenze sperimentali finora citate, la porzione dorso-centrale dell'insula, si attiva sia durante l'esecuzione di un'azione con un determinato stile, sia durante l'osservazione di un'azione con il medesimo stile ma eseguita da un altro. Questo potrebbe subito far pensare ad una probabile proprietà specchio di quest'area anche se, di per sé, non vi è prova certa del fatto che esista un terreno comune per l'esecuzione e l'osservazione dello stile di un'azione. Tuttavia, considerando anche i dati sperimentali relativi alle proprietà anatomico-funzionali di questa sezione dell'insula e il suo ruolo nell'immaginazione motoria, possiamo considerare plausibile l'ipotesi che

la DCI abbia proprietà specchio che permettono di tradurre le informazioni sensoriali relative allo stile dell'azione compiuta da un altro in rappresentazioni motorie di quella medesima forma vitale. Questo si traduce nella possibilità dell'osservatore di comprendere lo stile delle azioni altrui, mappandole sui propri processi motori e sulle relative rappresentazioni.

Il ruolo specifico della DCI nel riconoscimento dello stile dell'azione è stato dimostrato in uno studio di fMRI in cui ai partecipanti venivano presentati coppie di video consecutivi nei quali due attori eseguivano la stessa azione o un'azione diversa, con il medesimo stile o con uno stile differente (Di Cesare et al., 2014). I compiti richiesti erano due: nel "*what task*" si chiedeva ai partecipanti di giudicare se le azioni osservate avessero o meno lo stesso scopo, indipendentemente dal modo in cui erano eseguite; nel "*how task*" il compito era, invece, quello di valutare se lo stile delle azioni fosse lo stesso, indipendentemente dallo scopo. I risultati ottenuti hanno mostrato un'attivazione del circuito parieto-frontale in entrambi i compiti. È interessante notare che il confronto tra i due compiti (fig. 15) ha rivelato un'attivazione significativa di un'area sensorimotoria situata nella DCI, suggerendo quindi che questo settore dell'insula è coinvolto selettivamente non solo nel modulare lo stile delle proprie azioni ma anche nel comprendere lo stile delle azioni degli altri.

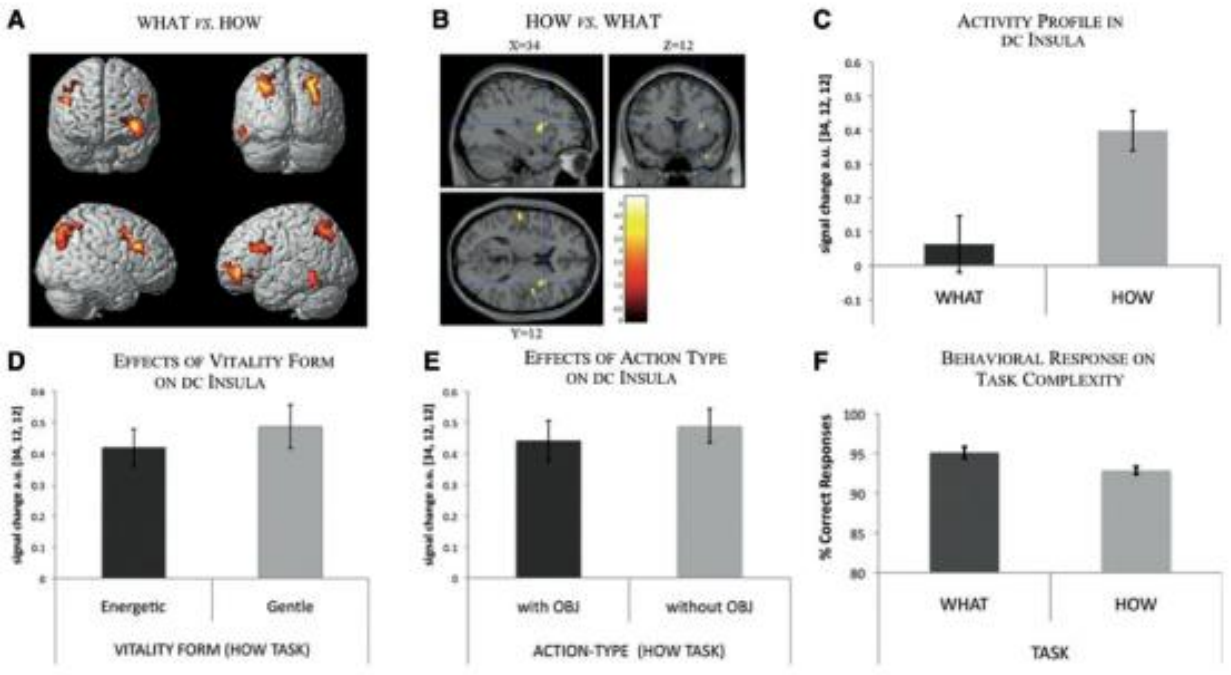

Figura 15: Attivazioni cerebrali derivanti dal contrasto diretto tra (A) "what" vs "how" task e (B) "how" vs "what" task. Il grafico C mostra la differenza di segnale nelle due condizioni sperimentali. In D ed E sono rappresentate, rispettivamente, la differenza di segnale tra i due vitality forms (gentle ed energetic) e tra i tipi di azioni osservate (with object e without object) nell'"how"task. In E è mostrata la percentuale di accuratezza nelle risposte fornite di soggetti nei due compiti [Di Cesare et al., 2014].

Una possibile spiegazione interpretativa dell'attivazione della DCI potrebbe essere ascrivibile molto più semplicemente alla cinematica dell'azione. Infatti, sarebbe plausibile ipotizzare che la percezione dei parametri fisici che caratterizzano lo stile (modalità visiva: velocità, traiettoria, modalità uditiva: intonazione, intensità) possa influenzare la risposta dell'osservatore e quindi l'attivazione dell'insula centrale (DCI). Sulla base dei risultati di uno studio successivo di Di Cesare et al. (2016a), possiamo escludere questa possibilità. In particolare, gli autori hanno dimostrato una dissociazione tra la velocità e la percezione dello stile dell'azione a livello comportamentale e neurale. In questo studio, ai partecipanti erano presentati videoclip che mostravano diverse azioni sociali (ad esempio, il passaggio di una bottiglia, una lattina o un barattolo) eseguite con velocità differenti (da bassa a alta velocità) e veniva chiesto loro di prestare attenzione e di valutare la velocità o lo stile dell'azione. I risultati hanno mostrato che, sebbene gli stimoli presentati nei due compiti fossero identici, c'era una differenza significativa nel giudizio dei soggetti in base al fatto che le azioni osservate dovessero essere valutate per lo stile o per la velocità. Questo dovrebbe già indicare che velocità e stile dell'azione rappresentino due diversi costrutti percettivi. In accordo a ciò, anche i risultati relativi ai tempi di reazione indicando che l'elaborazione della velocità è significativamente più veloce rispetto alla elaborazione dello stile (velocità → media RT: 800 ms; *vitality* → media RT: 980 ms, fig. 16) Inoltre, i dati funzionali hanno dimostrato che nell'insula dorso-centrale c'erano voxel che discriminavano selettivamente la percezione dello stile ma non la velocità.

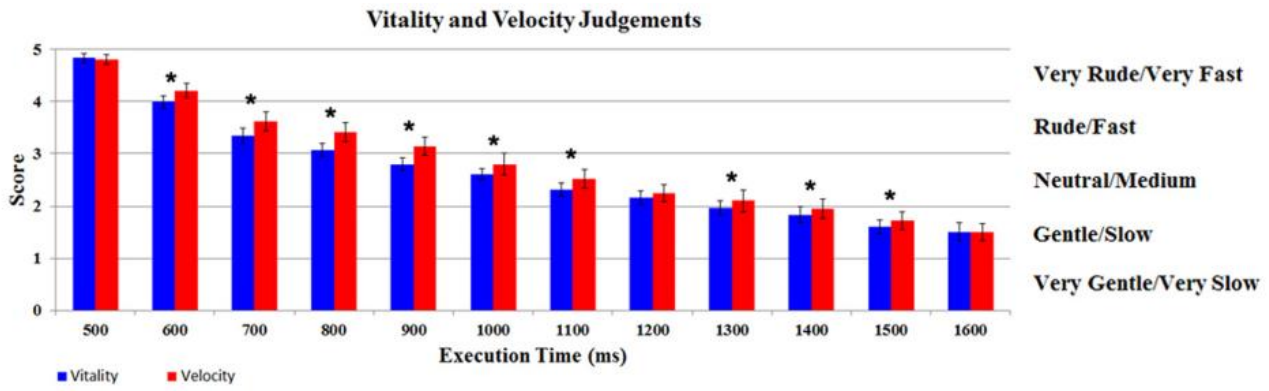

Figura16: Giudizio dei partecipanti relativo ai compiti di riconoscimento dello stile o della velocità dell'azione osservata. * Indica il confronto significativo tra le attività relative all'analisi post hoc dell'interazione *Compito* × *Tempi di esecuzione* ($p < 0.05$ Newman Keuls corretto). Le barre indicano la deviazione standard (SD).

In un altro studio Di Cesare et al. (2016b) hanno dimostrato che anche per la modalità uditiva, il solo il volume degli stimoli non è sufficiente per spiegare la percezione delle dell'azione. Nel complesso, questi dati suggeriscono che lo stile viene processato separatamente dai profili cinematici

dell'azione, seppure esso sia caratterizzato da una combinazione di parametri fisici che determinano "come" le azioni vengono espresse.

Quindi, oltre ad esserci prova del fatto che lo scopo e lo stile dell'azione sono elaborati in modo diverso a livello cerebrale, abbiamo evidenze di come, anche il riconoscimento di questi aspetti dell'azione avvenga in maniera dissociata. A conferma di ciò, uno studio comportamentale ha mostrato una compromissione selettiva nel riconoscimento dello stile dell'azione in soggetti con disturbo autistico(ASD), i quali riuscivano, tuttavia, a riconoscere abbastanza efficacemente quale fosse lo scopo dell'azione osservata (Rochat et al.,2013). In uno studio di fMRI simile a quello menzionato pocanzi, ad un gruppo soggetti con ASD e ad un gruppo di controlli sani sono stati presentati coppie di video che mostravano due attori eseguire due azioni uguali o diverse tra loro, con lo stesso stile o con uno stile divergente. I risultati hanno mostrato una chiara dissociazione tra i due compiti: mentre le prestazioni nel riconoscimento dello scopo dell'azione altrui, erano simili tra soggetti con autismo e controlli (Boria et al.,2009; Hamilton et al.,2007), nel riconoscimento dello stile, i soggetti con ASD mostravano chiare difficoltà. Questi risultati sono in linea con una serie di studi che dimostrano la presenza di evidenti deficit nei soggetti con ASD nell'imitazione di movimenti eseguiti con differenti profili di prestazione o diversi stili (Hobson, 1999, 2008). In particolare, i soggetti con e senza ASD mostrano capacità similari nell'imitazione di azioni dirette ad uno scopo (Gizzonio et al.,2015; MacNeil et al.,2012), ma gli autistici sono significativamente peggiori nell'imitazione dello stile delle azioni osservate, specialmente quando la comprensione dello stile non era indispensabile per il conseguimento dello scopo dell'azione.

1.3 Scopo dello studio

Un aspetto importante non ancora indagato nello studio dei *vitality form*, riguarda il ruolo del suono caratteristico di un'azione eseguita con un determinato stile (rude, gentile), attraverso cui siamo in grado di riconoscere lo stato affettivo/comunicativo dell'agente. L'obiettivo di questa tesi è quello di studiare, mediante l'utilizzo della Risonanza Magnetica funzionale per Immagini (fMRI), i correlati neurali dei *vitality forms* durante l'ascolto di suoni provenienti da azioni di vita quotidiana, quali mescolare il caffè, chiudere la porta, sfogliare la pagina di un libro, strappare un foglio e bussare alla porta. L'ipotesi da confermare è che il suono prodotto da un'azione, sia in grado di attivare attivare selettivamente la porzione dorso-centrale dell'insula la quale è coinvolta nella codifica dello stile sia durante l'osservazione sia durante l'esecuzione delle azioni.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Studio comportamentale

2.1.1 Partecipanti

Allo studio comportamentale hanno partecipato 23 volontari di nazionalità italiana, sani e destrimani (età media = 23,5 anni; DS = 1,85; range = 21-26). Tutti i volontari avevano acuità visiva normale e non riportavano anamnesi psichiatrica o di disordini neurologici. I volontari hanno dato consenso scritto informato a partecipare alla procedura sperimentale. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Locale (Parma).

2.1.2 Stimoli e disegno sperimentale

Ai partecipanti dell'esperimento, venivano presentati stimoli audio relativi a suoni di azioni quotidiane. Nello specifico, le azioni presentate erano 5: mescolare il caffè nella tazzina, sfogliare la pagina di un libro, strappare un foglio, chiudere la porta e bussare; ogni azione poteva essere eseguita in maniera rude (RD) o gentile (GT) oppure poteva essere mascherata con un filtro di distorsione che ne annullava lo stile (CTRL). Ogni suono aveva durata di 3 secondi per un totale di 150 stimoli presentati (5 stimoli (TZ, SF, ST, BS, PT) x 3 condizioni (GT, RD, CTRL) x 10 ripetizioni). Il disegno sperimentale era un fattoriale 3 x 2, con 3 fattori (GT, RD, CTRL) e 2 livelli del compito (WHAT e HOW).

Tutti gli stimoli sono stati registrati utilizzando un microfono a condensatore cardioide (RODE NT1) posizionato a 30 cm dall'agente, in modo tale da mantenere intatto il volume ecologico caratteristico di ciascuna azione; in seguito sono stati digitalizzati con un modulo convertitore A /D (M-AUDIO M-TRACK) ed editati con i software Audacity e Cool Edit Pro, apportando una rimozione del rumore. In aggiunta, sono stati creati degli stimoli di controllo andando prima a sovrapporre tra loro gli stili (rude e gentile) di ogni suono e poi ad applicare un filtro di distorsione (software Cool Edit Pro: Effects/Delay effects/Echo/Stereo Vocals 1) che ne annullasse la percezione dello stile.

Le caratteristiche fisiche di tutti gli stimoli audio presentati sono state valutate usando MATLAB (The Mathworks, Natick, MA). Di ogni singolo suono (fig. 17), è stata stimata l'ampiezza dell'onda sonora, l'intensità e lo spettro di frequenza, per tutte e tre le condizioni (GT, RD, CTRL). Sempre mediante MATLAB, sono stati equalizzati tra loro tutti i suoni gentili e tutti i suoni rudi in modo che avessero lo stesso volume; mentre, per i controlli è stato impostato un volume intermedio tra gentile e rude.

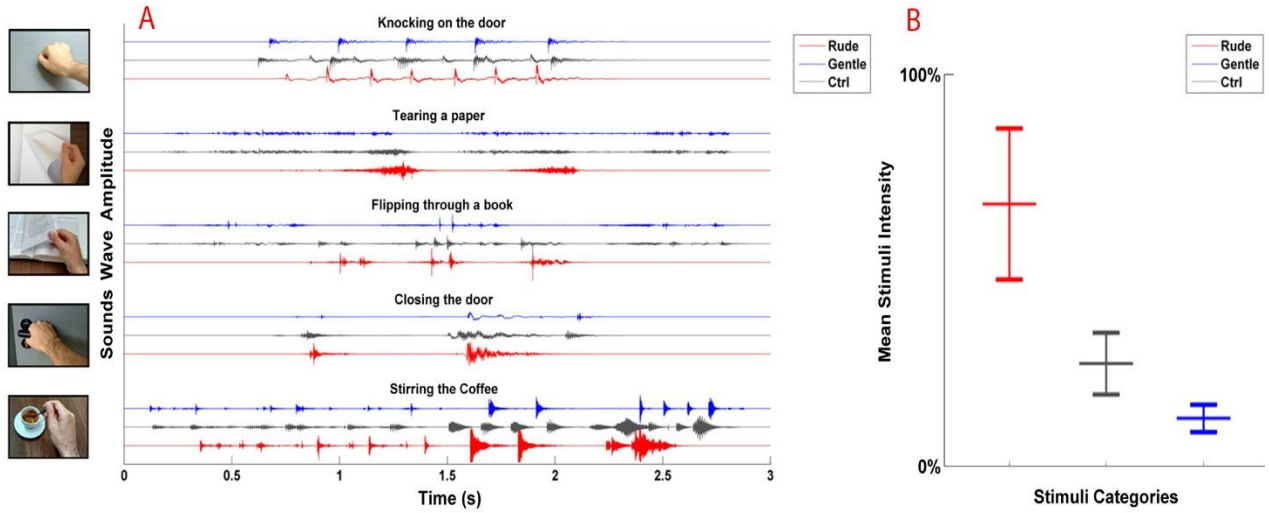

Figura 17: Proprietà fisiche degli stimoli. I grafici mostrano l'ampiezza (A) e l'intensità (B) di ciascun suono per ogni condizione (rude, gentile e controllo)

2.1.3 Paradigma

L'esperimento consisteva in due sessioni sperimentali, nelle quali ai partecipanti veniva chiesto di riconoscere ed indicare il tipo di azione ascoltata ("*what task*") oppure lo stile col quale veniva eseguita ("*how task*"). In particolare, nella prima sessione ai partecipanti era chiesto di ascoltare i suoni delle azioni e indicare quale fosse l'ultima azione ascoltata, (mescolare il caffè, sfogliare, strappare, bussare e chiudere la porta), utilizzando una *likert scale* (fig. 18) a 5 punti ("what task"). Nella seconda sessione, ai partecipanti veniva, invece, chiesto di valutare lo stile dell'ultima azione ascoltata ("gentile", "confuso" o "rude") usando una *likert scale* (fig. 19) a 3 punti ("*how task*"). Per evitare possibili influenze del compito relativo al riconoscimento dello stile ("*how task*"), abbiamo presentato prima il compito relativo al riconoscimento del tipo di azione appena ascoltata ("*what task").* Prima di ciascuna sessione, era prevista una fase di *training* con gli stessi stimoli della fase sperimentale, per permettere ai partecipanti di familiarizzare con le procedure e con i compiti richiesti.

Usando il software E-Prime, sono stati presentati un totale di 150 stimoli per entrambi i compiti, "*what task*" e "*how task*" (5 azioni x 3 modalità differenti x 10 ripetizioni). Ogni azione è stata presentata 10 volte per sessione. Ogni sessione sperimentale consisteva in 75 stimoli della durata di 3 secondi ciascuno, presentati in ordine casuale. Ciascuna sessione aveva durata di circa 10 minuti, mentre l'intero esperimento era della durata di circa 20 minuti.

Figura 18: esempio di likert scale a 5 punti nel "*what task*". Ai partecipanti era chiesto di indicare quale fosse il tipo di azione appena ascoltata, selezionando con un cursore, una tra le 5 possibili risposte.

Figura 19: esempio di likert scale a 3 punti nel "*how task*". Ai partecipanti era chiesto di indicare quale fosse lo stile dell'azione appena ascoltata, selezionando con un cursore, una tra le 3 possibili risposte.

2.2 Studio fMRI

2.2.1 Partecipanti

Hanno partecipato allo studio quindici soggetti volontari sani di nazionalità italiana [7 femmine (età media =23,5, DS= 2,14, range=21-27; 8 maschi (età media=26,13, DS=3,40, range=22-32)].

I volontari sono stati reclutati da diverse facoltà, quali medicina, psicologia ed economia. Tutti i volontari avevano acuità visiva normale e non riportavano anamnesi psichiatrica o di disordini neurologici. I volontari hanno dato consenso scritto informato a partecipare alla procedura sperimentale. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Locale (Parma).

2.2.2 Disegno sperimentale

Per l'esperimento è stato utilizzato un disegno fattoriale 3 x 1 (3 livelli x 1 fattore), in cui il fattore task presentava come unico livello il riconoscimento del tipo di azione ascoltata, mentre il fattore condizione presentava 3 livelli relativi allo stile gentile, rude e controllo. Per l'acquisizione dei dati fMRI è stato utilizzato un disegno sperimentale a blocchi (fig.20) chiamato *sparse model* (Van Atteveldt et al., 2004; Gazzola et al., 2006).

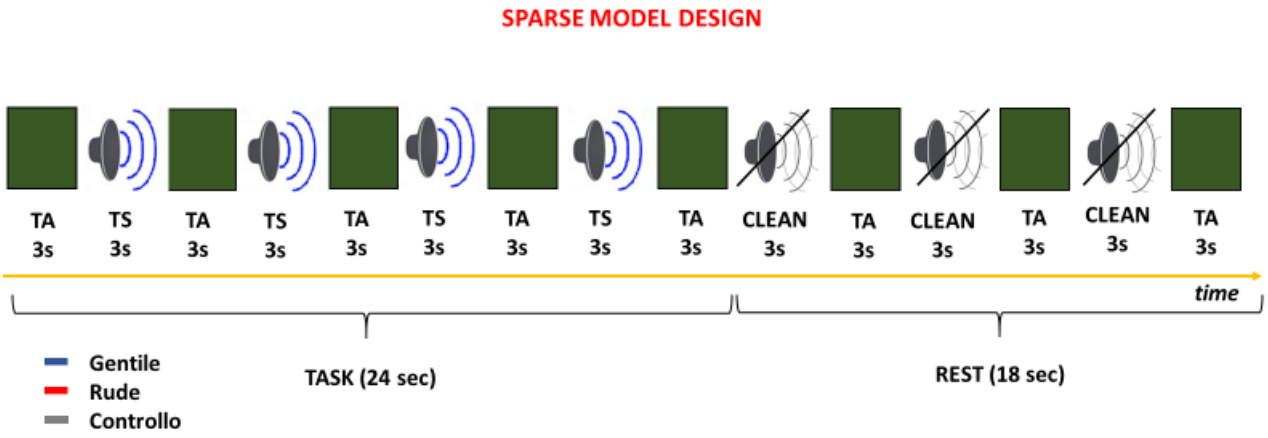

Figura 20: descrizione schematica del disegno sperimentale utilizzato per il compito sperimentale

In particolare, le immagini funzionali sono state acquisite in 3 sec (TA, tempo di acquisizione) e gli stimoli acustici veniva presentati durante il periodo di silenzio (TS, tempo di stimolazione), in blocchi di 4 stimoli consecutivi appartenenti alle diverse condizioni (GT, RD, CTRL). In seguito, seguiva un periodo di *rest* costituito da 3 eventi in cui non era presentato alcuno stimolo (*clean*).

2.2.3 Stimoli sperimentali

L'obiettivo dell'esperimento è stato quello di valutare quali fossero le aree cerebrali coinvolte nella codifica dello stile dell'azione durante l'ascolto di azioni quotidiane eseguite con *vitality forms* differenti (rude, gentile). Per questo fine sono state utilizzate 3 condizioni sperimentali: *vitality form* gentile (VIT_GT), *vitality form* rude (VIT_RD) e controllo (CTRL).

Durante il compito, ai partecipanti venivano presentati suoni provenienti da azioni quotidiane (fig. 21), come mescolare il caffè, strappare un foglio, sfogliare un libro, bussare e chiudere la porta. Queste azioni che potevano essere rudi, gentili oppure mascherate, laddove lo stile dell'azione compiuta non era più chiaramente riconoscibile. Il compito dei partecipanti era quello di porre massima attenzione agli stimoli e di riconoscere il tipo di azione appena ascoltata. Tutti gli stimoli sperimentali sono stati validati da un precedente esperimento comportamentale. Ogni suono aveva una durata di 3 secondi per un totale di 15 stimoli presentati (5 azioni x 3 condizioni). Il tempo di scansione per ogni singolo volume (TR: 6 sec) comprendeva l'acquisizione di 37 *slices* sequenziali (spessore della *slice*=3.0, *gap* interlinea= 0.5mm) con un tempo di acquisizione di 3 s (TA: 3 sec), seguito da un periodo di silenzio della durata di 3 s (TS: 3 sec). Gli stimoli sperimentali sono stati presentati durante i periodi di silenzio.

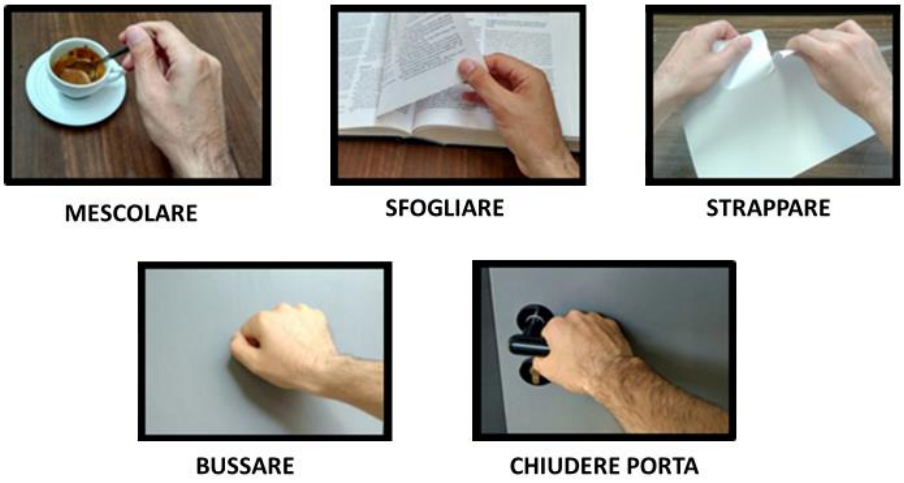

Figura 21: stimoli acustici sperimentali provenienti da azioni di vita quotidiana

2.2.4 Paradigma sperimentale

I partecipanti sono stati posti in posizione supina all''interno dello scanner, in un ambiente poco illuminato. Gli stimoli sono stati presentati attraverso un sistema audio digitale mediante delle cuffie (40 Hz-40 kHz con 30 dB noise attenuating; VisuaSTIM). Il software E-Prime 2 Professional

(Psychology Software Tools, Inc., Pittsburgh, USA, http://www.pstnet.com), è stato usato sia per la presentazione degli stimoli che per la registrazione delle risposte dei partecipanti. Prima dell'esperimento, i partecipanti sono stati sottoposti ad una sessione di training in risonanza, dimostrando di essere in grado di riconoscere i suoni relativi alle azioni (mediamente nel 98% dei casi). Gli stimoli sperimentali sono stati presentati in blocchi di 4 per ciascuna condizione [*vitality* gentile (VIT_GT), *vitality* rude (VIT_RD) e controllo (CTRL)]. Tra 2 blocchi consecutivi era presente un periodo di *rest* di 18 sec in cui non veniva presentato alcun suono. Durante la presentazione dello stimolo, ai partecipanti è stato chiesto di fissare una croce di fissazione su schermo nero e di porre massima attenzione agli stimoli audio. Nel 25 % dei casi ai partecipanti era chiesto di rispondere esplicitamente ad una domanda (*catch trial*), attraverso l'uso di una manopola posta all'interno dello scanner, indicando quale fosse l'ultima azione ascoltata. Le domande sono state presentate in modo casuale e avevano una durata di 3 sec. L'esperimento presentava due sessioni funzionali per un totale di 8 blocchi per condizione (32 trial per condizione), presentati in ordine casuale. Ogni sessione funzionale durava circa 10 minuti (fig.22).

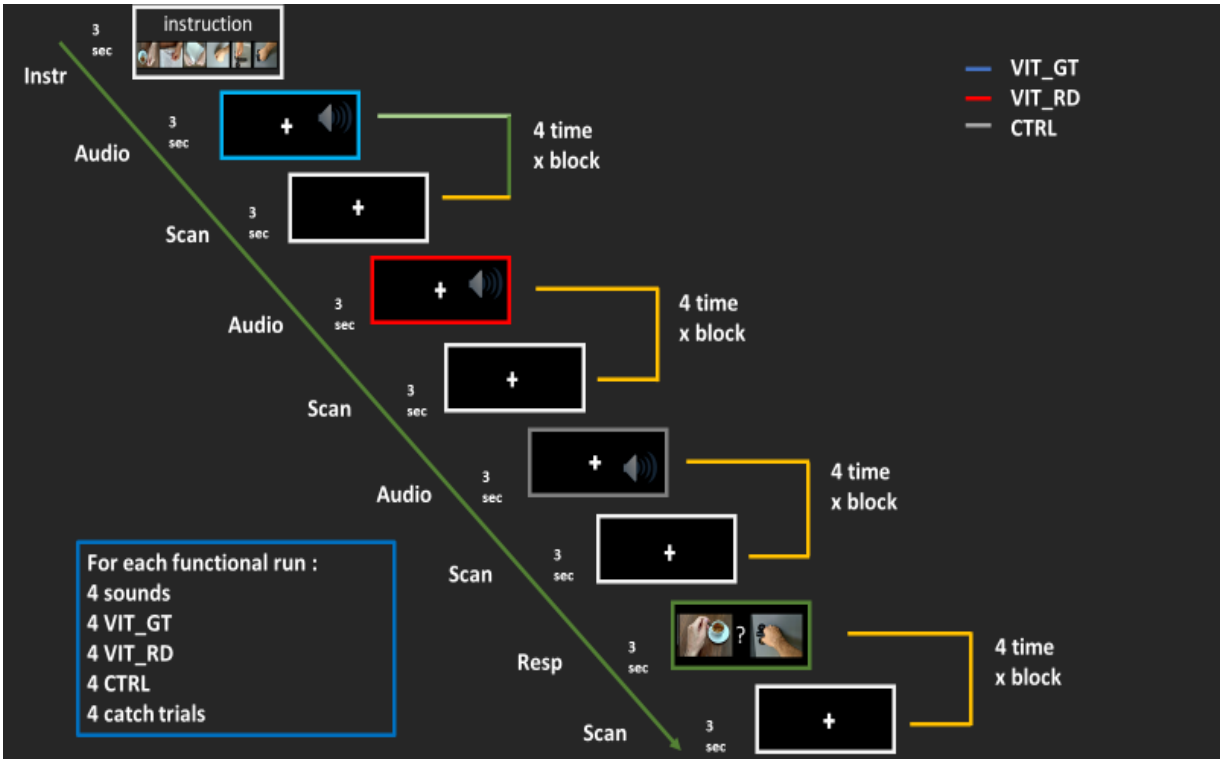

Figura 22: Lo schema mostra il disegno sperimentale utilizzato. Il TR è stato composto da 37 slices sequenziali acquisite in 3s (TA) seguito da un periodo di silenzio della durata di 3s (TR=6s). Gli stimoli sperimentali sono stati presentati durante i periodi di silenzi

3. APPARATI E STRUMENTI

3.1 Caratteristiche tecniche della macchina di risonanza

Per l'esperimento argomentato in questa tesi, è stata utilizzata l'apparecchiatura di risonanza collocata presso l'ospedale Maggiore di Parma. La macchina è una MR 750 General Electrics (fig. 23), che genera un campo magnetico permanente di 3 Tesla, grazie al quale è possibile ottenere immagini sia funzionali che anatomiche aventi una qualità superiore rispetto quella ottenibile con Tomografi standard (a 1,5T).

Figura 23: macchina MR 750 GE utilizzata per l'esperimento, collocata presso l'ospedale Maggiore di Parma.

La stanza dove è presente la macchina ha una temperatura costante di 18° C ed è completamente schermata mediante una gabbia di faraday, dalle onde elettromagnetiche provenienti dall'ambiente esterno, che comprometterebbero il processo di formazione dell'immagine. Il campo magnetico è generato da una corrente superconduttrice presente all'interno dell'anello visibile in foto (fig. 23, punto1) il quale, per permettere alla corrente stessa di sussistere, deve essere tenuto alla temperatura di 4°K, mediante camere ad elio liquido. Il campo magnetico generato ha le linee di campo parallele al lettino (fig. 23, punto 2) sul quale viene adagiato il soggetto. Il segnale di radiofrequenza di eccitazione è prodotto dalla body-coil (fig. 24) contenuta all'interno del tunnel, al contrario la head-coil è il ricevitore che cattura il segnale RM (fig. 23 punto 3). Intorno alla body-coil, internamente all'anello in cui circola la corrente superconduttrice, sono presenti 3 bobine di gradiente denominate gradient coils (fig. 24). Queste bobine, attraverso il controllo della corrente

elettrica al loro interno, hanno lo scopo di modificare l'intensità del campo magnetico lungo i tre assi x,y,z per permettere la decodifica spaziale del segnale elettromagnetico emesso dai protoni dei tessuti presenti in diverse posizioni all'interno della bobina ricevente (la caratteristica principale è la loro capacità di generare campi magnetici che variano linearmente di intensità lungo una direzione, e sono uniformi rispetto alle altre due; fig. 24). Il segnale raccolto è costituito dall'insieme dei segnali aventi differente frequenza e fase e provenienti da punti differenti del cervello. Tale segnale viene inviato al computer di ricostruzione dell'immagine, il quale, attraverso un procedimento matematico basato sulla trasformata di Fourier, analizza l'intensità del segnale rispettivamente in funzione della frequenza e della fase, assegnando in questo modo ad ogni punto da cui proviene il segnale le sue corrette coordinate spaziali. Infine, a ciascun punto viene assegnato un valore preciso di luminosità direttamente proporzionale all'intensità del segnale.

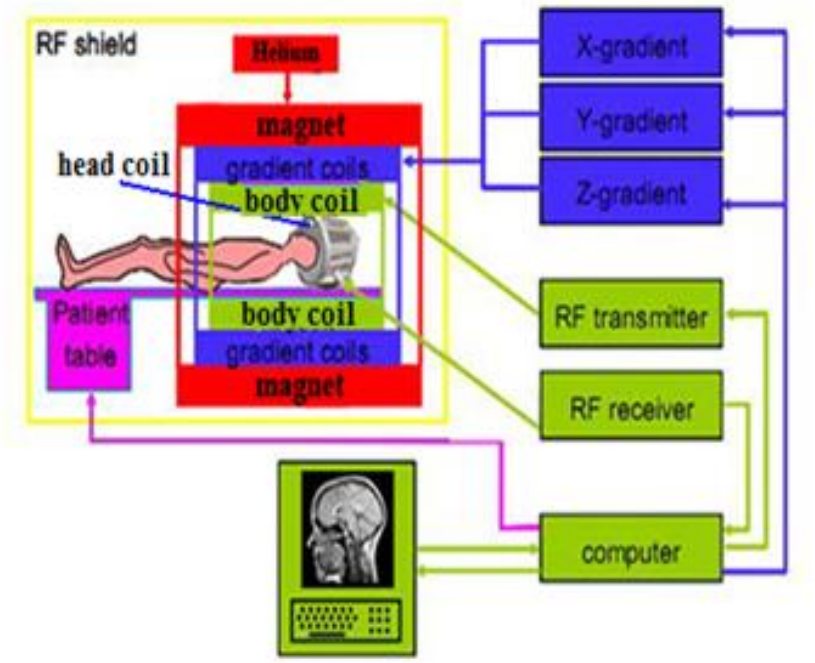

Figura 24: schema illustrativo delle componenti che costituiscono una macchina di risonanza. RF shield indica il perimetro della stanza che risulta essere completamente schermata mediante una gabbia di Faraday; la body coil è il trasmettitore (RF transmitter), il quale invia gli impulsi di radiofrequenza; l'head coil è il ricevitore che cattura il segnale di risonanza e lo invia al computer il quale ricostruisce l'immagine; le gradient coils sono le bobine di gradiente che attraverso il controllo della corrente al loro interno modificano l'intensità del campo magnetico lungo i tre assi X-Y-Z; intorno alle bobine di gradiente è presente il grande magnete che genera un campo magnetico di 3 Tesla.

3.2 La preparazione allo scanning

Quando è stato effettuato lo scanning, il soggetto dopo essere stato privato di qualsiasi oggetto metallico è stato accompagnato nella stanza di risonanza, è stato adagiato sul lettino, è stato munito di cuffie per attutire il rumore intenso che la macchia emette. Questo rumore intenso è causato

dalle vibrazioni meccaniche che si manifestano all'interno della macchina per la repentina variazione di campi magnetici nelle gradient-coils. A questo punto la testa è stata posta nella head-coil (fig. 24) ed è stata fermata grazie all'utilizzo di piccoli cuscini. È di fondamentale importanza che la testa sia completamente ferma durante l'intero scanning. Il soggetto è stato munito di una pompetta antipanico che doveva essere schiacciata solo in caso di malore o di un eventuale attacco di panico. La centratura del paziente all'interno della macchina è stata eseguita poco sopra il vertex grazie all'utilizzo di tre laser luminosi di centratura. Il soggetto da questo momento in poi è stato introdotto completamente all'interno della macchina dove è restato per tutta la durata dell'esperimento. Dopo aver settato dalla console centrale alcuni parametri richiesti dalla macchina, siamo partiti con lo scanning.

3.3 Sequenza di acquisizione delle immagini

Per il presente esperimento abbiamo creato un nuovo protocollo a cui è stato assegnato il nome di VITALITY_ACTION_SOUNDS. Esso comprendeva le seguenti sequenze:

1) Localizer durata 12 sec
2) Calibration durata 5 sec
3) Run (x 2) durata 10 min
3) Sag 3D BRAVO durata 4.08 min

Le prime due sequenze hanno una durata brevissima, la Localizer è utilizzata dalla macchina per localizzare spazialmente il cervello del volontario, la Calibration è utilizzata per impostare i campi di vista (FOV) sui tre assi (x,y,z) che andremo ad utilizzare nella sequenza successiva (Run). In pochi secondi la Localizer ci permette di ottenere le prime tre immagini anatomiche poco definite, ovvero l'immagine coronale, sagittale e trasversale. Con la sequenza indicata con il nome Sag 3D BRAVO, della durata di 4.08 minuti, otteniamo le immagini anatomiche reali in 3D del cervello. Prima di iniziare il primo scanning sperimentale (Run _01, figura 25) bisogna impostare alcuni parametri che resteranno costanti per tutte le sessioni sperimentali (run), di seguito sono indicati i valori relativi al nostro esperimento:

1) nr slices: 37
2) TR (tempo di ripetizione): 3000 ms
3) numero volumi: 106
4) TE: 30ms
5) slice- tickness: 3 mm

6) flip angle: 90°

7) FOV: 205mm

8) matrice di acquisizione: 96x96

9) BW: 250KHz

1) Le **slices** rappresentano il numero di sezioni in cui vogliamo dividere il cervello, nel nostro caso abbiamo deciso di ottenere 37 immagini funzionali per ogni volume. Utilizzando le immagini anatomiche ottenute possiamo calibrare la griglia costituita da 37 segmenti che indicano il numero di slices. La griglia deve coprire totalmente il cervello come dimostra l'immagine 7a.

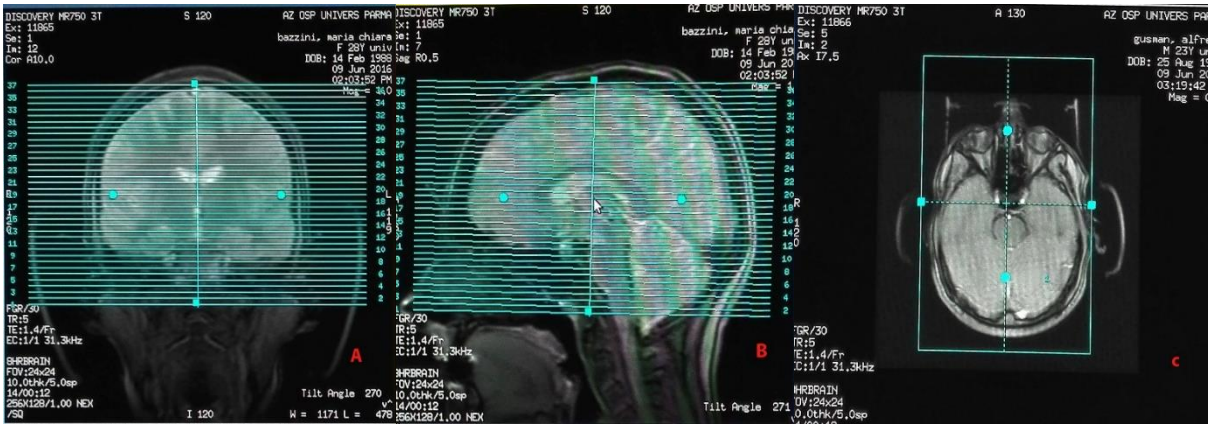

Figura 25: Immagini anatomiche reali fornite durante una scansione dalla sequenza Run_01. In alto a sinistra abbiamo l'immagine della sezione coronale, l'immagine b rappresenta la sezione sagittale, ed infine in basso l'immagine c raffigura la sezione trasversale del cervello. Da notare in fig.B il numero di slices (37), effettuato per avere una copertura totale del cervello ed un'acquisizione ottimale.

2) Il **TR** è il tempo che impiega la macchina ad acquisire le 37 sezioni, iniziando l'acquisizione in modo ascending (nel nostro caso) ovvero dal basso verso l'alto in modo sequenziale (slice aquisition 1,2,3,4…37). Il TR viene calcolato dal computer in base al numero di slices scelto, maggiore è il numero di slices che vogliamo ottenere da ciascun volume maggiore sarà il tempo impiegato dalla macchina per effettuare lo scanning su quel volume.

3) Il **volume** rappresenta l'unità anatomica sulla quale vogliamo effettuare lo scanning. Conoscendo il tempo di stimolazione di ciascuna sessione sperimentale (run), possiamo calcolare il numero di volumi necessari da acquisire durante lo scanning, tenendo conto del tempo TR:

numero volumi = (Tstim / TR)

Nel nostro caso avendo un tempo di stimolazione pari a 636 sec per ciascuna Run, il calcolo è il seguente:

numero volumi = 636 sec / 6 sec = 106 volumi

4) Il **TE** è il tempo che intercorre tra l'eccitazione di una slice e la ricezione del segnale emesso dalle molecole d'acqua presenti in essa.
5) Lo **slice-tickness** indica lo spessore della fetta impostato.
6) Il **flip angle** è l'angolo di rotazione indotto sulla magnetizzazione dei protoni attraverso gli impulsi di radiofrequenza. Il valore 90° è quello che in generale assicura più segnale.
7) Il **FOV** (field of view) indica la dimensione spaziale della slice nel piano.
8) La **matrice di acquisizione** impostata indica il n° di campionamenti effettuati lungo gli assi x,y.
9) **BW** (bandwidth) è la banda in Hz che il ricevitore è in grado di rilevare.

3.4 La risonanza magnetica funzionale

La risonanza magnetica funzionale (fMRI) è una metodica di recente introduzione nel campo dell'imaging. La sua comparsa risale ai primi anni novanta quando K.Thulborn e S.Ogawa, sfruttando l'effetto BOLD descritto molti anni prima da L.Pauling, ottennero immagini MR contenenti informazioni sull'attività cerebrale.
La risonanza magnetica funzionale, oggi, è uno strumento d'indagine fondamentale in campo neurologico. È una tecnica completamente non invasiva che permette di localizzare l'attività cerebrale con una buona accuratezza temporale, ma soprattutto con una risoluzione spaziale millimetrica; questo è il principale vantaggio rispetto alle altre metodiche funzionali ovvero alla magneto/elettro-fisiologia (EEG e MEG) ed alla medicina nucleare (PET e SPECT). Sebbene la fMRI non possa competere con le tecniche magnetoelettrofisiologiche in termini di risoluzione temporale, da questo punto di vista essa supera di gran lunga la medicina nucleare. Inoltre, rispetto alla PET, la fMRI consente nella medesima sessione d'esame di acquisire immagini sia anatomiche che funzionali e non fa uso di radiazioni ionizzanti. È una delle tecniche non invasive e più sofisticate che sfruttano le variazioni emodinamiche prodotte dall'attività neuronale per identificare le aree attivate del cervello. Questo metodo di indagine si basa sul cambiamento del segnale MRI, in seguito alla risposta emodinamica e metabolica in una regione in cui si ha un'attivazione neuronale indotta da stimoli interni o esterni. L'fMRI misura infatti, la variazione dell'ossigenazione sanguigna nel tempo (segnale BOLD, Blood Oxygenation Level Dependent), legata all'attività neuronale che viene generata in uno specifico contesto sperimentale. Non è una misura diretta, ma permette di misurare

cambiamenti di segnale cerebrali causati da variazioni dell'attività neurale di un individuo, in risposta ai vari task sensoriali, motori o cognitivi ai quali è sottoposto.
Sebbene sia anche utilizzata in ambito clinico, l'fMRI è una tecnica principalmente utilizzata nel mondo della ricerca. Lo scopo principale degli esperimenti di fMRI è quello di individuare, sia in soggetti normali che in soggetti patologici, le aree del cervello attivate durante task di stimolazione predefiniti, in maniera facilmente interpretabile e riproducibile, attraverso la generazione di mappe di attivazione che mostrino quali aree cerebrali sono coinvolte nel particolare task scelto. L'fMRI sfrutta come misura i cambiamenti di magnetizzazione che si registrano tra il flusso ematico povero di ossigeno ed il flusso ematico ricco di ossigeno, e si basa sulle tecnologie di scansione MRI sviluppatesi in tempi precedenti alla sua nascita.

3.4.1 Il segnale fMRI

I cambiamenti dell'attività neurale del cervello sono associati ai cambiamenti delle richieste energetiche: quanto maggiore è l'attività funzionale di un distretto cerebrale, tanto maggiore sarà il suo metabolismo e conseguentemente, le sue richieste energetiche aumenteranno.
L'aumento dell'attività elettrica neuronale ha come conseguenza una maggiore richiesta da parte dei neuroni di energia con conseguente maggior necessità di ossigeno. Questo fenomeno causa una variazione del segnale MRI attorno ai vasi che irrorano la corteccia. Durante un aumento dell'attività cerebrale, quindi, si ha un aumento localizzato del flusso sanguigno, con conseguente aumento locale della quantità di ossigeno. La molecola trasportatrice dell'ossigeno è l'emoglobina (Hb). Nello stato inattivo, le cellule nervose prelevano una certa quantità di ossigeno dall'emoglobina ossigenata (ossiemoglobina, HbO2), che quindi diviene emoglobina deossigenata (deossiemoglobina, Hbr). Nello stato attivo la richiesta, da parte dei neuroni, di ossigeno aumenta e quindi il flusso sanguigno porterà una quantità di emoglobina ossigenata maggiore (fig. 26) rispetto allo stato inattivo. Nelle aree attivate, quindi, ci sarà un netto aumento della concentrazione di ossiemoglobina.
Sebbene l'aumento regionale del flusso sanguigno sia un indicatore dell'aumento dell'attività elettrica cerebrale, non è ancora chiaro il meccanismo legato al controllo della richiesta di un maggiore flusso sanguigno. Le ipotesi più probabili sono:

- il rilascio di fattori chimici come l'ossido nitrico, l'adenosina, gli ioni idrogeno o potassio;
- una stimolazione nervosa diretta della muscolatura vascolare.

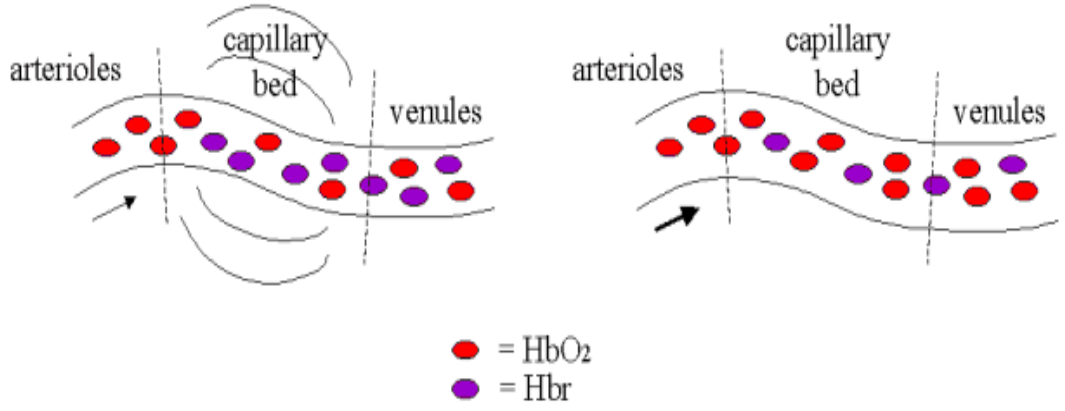

Figura 26: aumento regionale del flusso sanguigno dovuto ad un aumento dell'attività neuronale-sinaptica regionale, con conseguente aumento locale della concentrazione di ossiemoglobina (risposta emodinamica).

Stato basale:

- Flusso normale;
- Livello basale [Hbr];
- Volume del sangue (CBV) basale;
- Segnale MRI normale;

Stato attivato:

- Aumento del flusso;
- Diminuzione di [Hbr];
- Aumento di CBV;
- Aumento del segnale MRI

L'emoglobina ossigenata e la non ossigenata hanno proprietà magnetiche diverse, in particolare l'ossiemoglobina è diamagnetica e la deossiemoglobina è paramagnetica. La presenza della Hbr paramagnetica causa la distorsione del campo magnetico statico B0; gli spins in un campo magnetico non uniforme (disomogeneo) precessano a frequenze diverse causando una maggiore dispersione di fase e perciò un decadimento trasversale più rapido del segnale MRI. Questo effetto, responsabile delle variazioni dei segnali MRI, è detto BOLD [Ogawa, 1998] (blood oxygenation level dependent).

La variazione dell'ossigenazione nel sangue causa una variazione del parametro T2* (costante di tempo che tiene conto del decadimento trasversale della magnetizzazione dovuta sia al campo magnetico non omogeneo che all'interazione spin-spin) che a sua volta porta ad una variazione dell'intensità dell'immagine T2*-*weighted* (fig. 27).

La fMRI non produce immagini dirette di quello che avviene nel cervello. Questo succede non solo perché queste immagini raffigurano un effetto indiretto (risposta emodinamica) dell'attività neuronale (che è molto più rapida), ma anche perché, più che delle istantanee, sono in realtà delle mappe di distribuzione statistica di questo effetto indiretto su tutto il cervello.

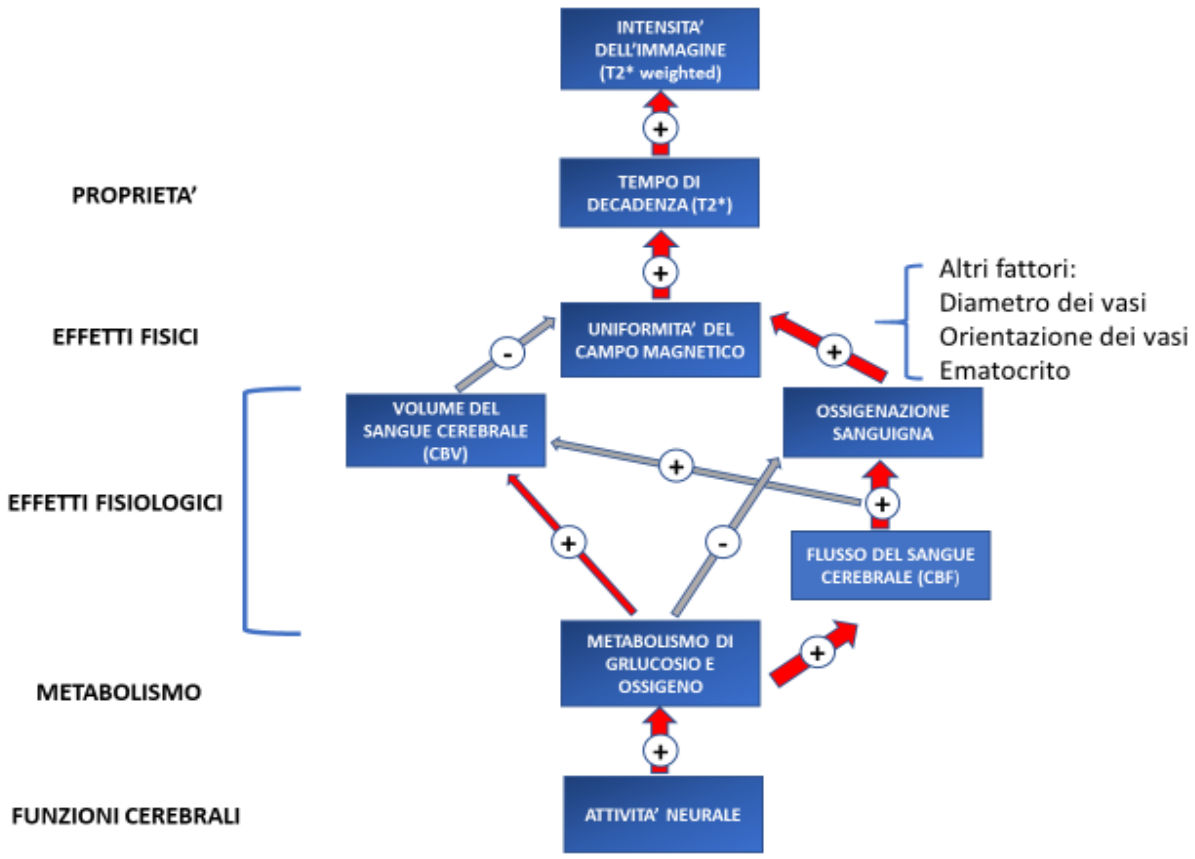

Figura 27: rappresentazione grafica dell'effetto BOLD.

In un esperimento di fMRI con un campo di 3 T, l'effetto BOLD (fig. 28) determina, infatti, una variazione del segnale dell'ordine del 5-8%, ancora troppo debole perché si possa essere sicuri di riconoscerlo nell'evento singolo (il segnale BOLD non fornisce una misurazione assoluta dell'attività neurale, ma relativa).

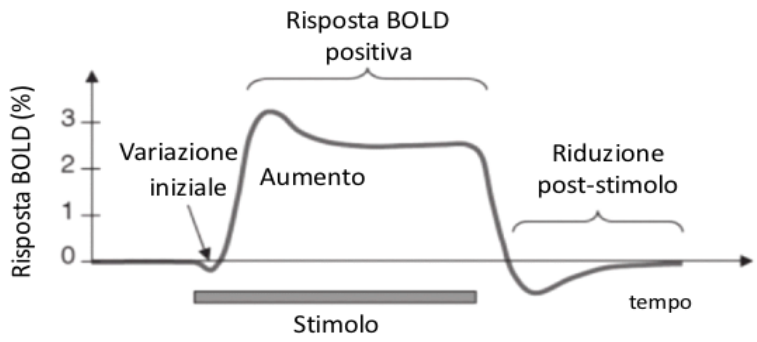

Figura 28: andamento temporale del segnale BOLD.

Durante una sessione d'esame, perciò, vengono acquisite immagini funzionali in assenza di stimoli, che serviranno come immagini di confronto (livello basale, di riposo del segnale BOLD); inoltre, durante il periodo di acquisizione, vengono presentati degli stimoli che possono essere: sensoriali, motori o task cognitivi. Lo stesso task viene ripetuto periodicamente in modo da fare una media

statistica di tutti i valori delle immagini relativi all'attivazione. L'immagine finale si ottiene facendo una sottrazione mediata tra l'immagine acquisita durante l'assenza di stimoli e l'immagine acquisita durante la presentazione dello stimolo. In questo modo si ottiene un'immagine statistica parametrica, che va poi sovrapposta all'immagine anatomica (fig. 29).

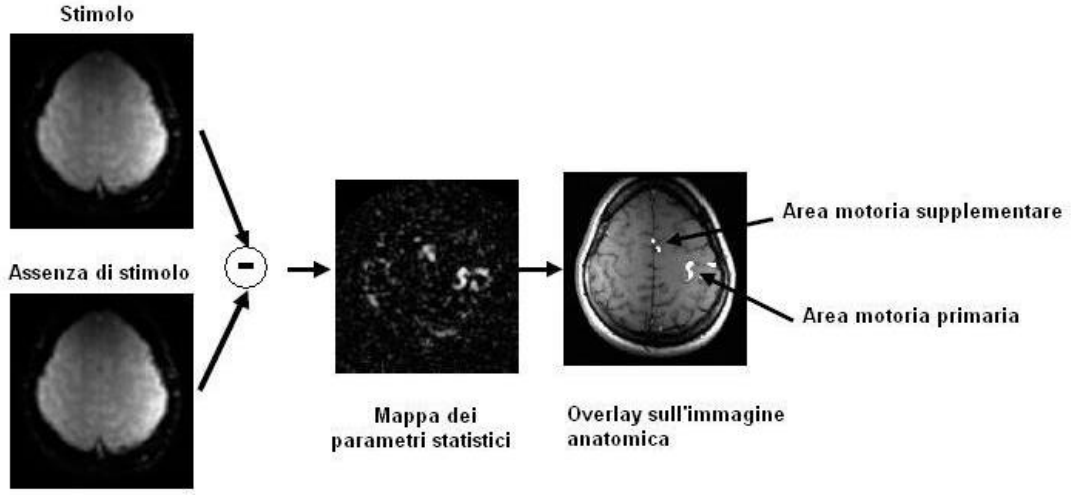

Figura 29: rappresentazione grafica di come si ottiene la mappa dei parametri statistici, cioè l'immagine statistica parametrica (sottrazione mediata tra l'immagine acquisita durante l'assenza di stimoli e l'immagine acquisita durante la presentazione dello stimolo), che viene poi sovrapposta all'immagine anatomica per ricavare l'immagine finale.

3.4.2 Il rumore

La differenza di suscettibilità magnetica tra il sangue totalmente ossigenato e quello deossigenato è molto piccola (circa 0.002 10-6 unità cgs), di conseguenza, nella tecnica BOLD, i cambiamenti di intensità sono generalmente piccoli. Le prove sperimentali hanno dimostrato che la variazione nel tasso di rilassamento T2*, associato alla diminuzione del segnale, aumenta all'aumentare del campo magnetico statico dello scanner. Da ciò si deduce che sarebbe conveniente aumentare il campo magnetico statico per una migliore visualizzazione e per migliorare il rapporto segnale rumore (SNR) che è direttamente proporzionale all'intensità del campo statico.

Il rumore nelle immagini fMRI è dovuto a diversi fattori quali:

- il rumore termico dovuto al soggetto;
- le bobine di ricezione;
- i pre-amplificatori e gli altri componenti elettronici;
- il rumore di quantizzazione nel convertitore A/D;
- il ciclo cardiaco e respiratorio;
- i movimenti della testa;

- eventi neuronali spontanei e incontrollati.

Le soluzioni hardware per ridurre il rumore sono:

1. usare speciali bobine di ricezione, ad esempio realizzate per ricevere segnali da parti specifiche del cervello;
2. usare alti campi magnetici statici, che aumentano la magnetizzazione e di conseguenza aumentano la non uniformità del campo dovuta all'effetto paramagnetico della deossiemoglobina.

Per minimizzare gli effetti indesiderati del ciclo cardiaco, respiratorio e dei movimenti della testa si usa una tecnica di acquisizione rapida come l'echo-planar imaging (EPI) [Bandettini, 1992]; l'immagine rapida permette di "congelare" i movimenti fisiologici: in questo modo il loro contributo sull'immagine diventa inconsistente.

L'imaging echo planare è una tecnica di imaging di risonanza magnetica "ultra veloce" in grado di produrre immagini tomografiche a frequenza video (da 15 a 30 immagini al secondo). La sequenza EPI permette di acquisire delle immagini molto velocemente e richiede macchine sofisticate in grado di applicare i tre gradienti di impulso descritti sopra in successione molto rapida consentendo una scansione molto veloce con TE molto basso: l'intero volume, infatti, è acquisito in circa 50-100 ms. Il prezzo da pagare per questa rapidità di scansione e la presenza di artefatti, legati al movimento, al tempo e alle disomogeneità del campo che necessitano di essere aboliti durante la postproduzione delle immagini.

L'EPI consiste nell'acquisizione di una successione di Gradient Echo tra loro contigui e con differente codifica in fase, allo scopo di campionare l'intero spazio K (e quindi ricostruire un'immagine), sfruttando la magnetizzazione generata da un singolo impulso RF. La durata caratteristica di un'acquisizione EPI è T2*. Nell'echo planare si ottengono molti echi con la tecnica dell'echo di gradiente. Il vantaggio è dato dal minor tempo necessario a creare un'echo col gradiente (e quindi si possono collezionare più echi in unico TR). Lo svantaggio è dato dalla maggior sensibilità alle disomogeneità di campo.

In figura 30 è mostrato il diagramma temporale della sequenza EPI: l'impulso a RF a 90°, viene applicato insieme ad un gradiente di selezione della fetta. Successivamente, viene applicato un gradiente di defasamento sull'asse della lettura contemporaneamente al gradiente di codifica di fase per posizionare gli spin nell'angolo del k- spazio. Dopo questi due gradienti, viene applicato il primo gradiente di lettura e si genera un echo corrispondente ad una riga posta all'estremità del k spazio.

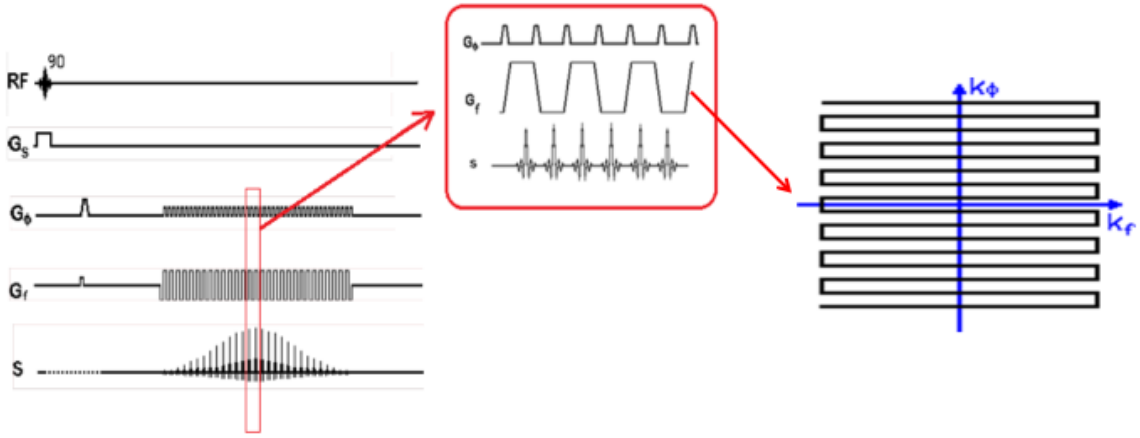

Figura30: Diagramma temporale e riempimento del k-spazio in una sequenza EPI.

Finito il gradiente di lettura viene applicato un piccolo gradiente di codifica di fase (blip), seguito da un altro gradiente di lettura a polarità invertita. Questo secondo gradiente leggerà la riga successiva del k-spazio, in direzione opposta, come mostrato in figura.

3.4.3 Preprocessing dei dati Fmri

Dal momento che il segnale BOLD di attivazione è relativamente debole, è di fondamentale importanza che tutte le fonti di disturbo e di errore nei dati acquisiti siano minimizzate. Questo comporta la messa a punto di una serie di pre-elaborazioni sulle immagini acquisite prima che l'analisi statistica per la ricerca delle aree di attivazione correlate al *task* possa effettivamente iniziare. Lo scanner di acquisizione genera un volume 3D della testa del soggetto ogni TR. Questo volume consiste di una matrice 3D di voxel, ognuno dei quali caratterizzato dal proprio valore di intensità. I voxel sono disposti uno dopo l'altro come in un array monodimensionale, sviluppandosi la struttura 3D in una singola linea. Diversi volumi 3D di una sessi one sono uniti insieme per formare un vo lume 4D (x,y,z,t) corrispondente ad un'acquisizione. Questo volume 4D è il punto di partenza per i successivi steps di elaborazione (fig. 31)

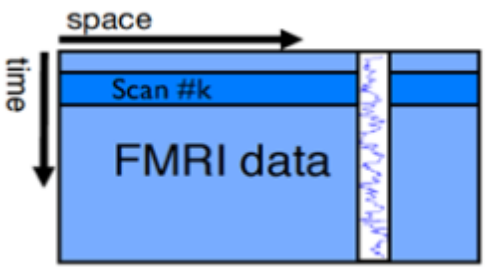

Figura 31: Volume 4D dei dati fMRI acquisiti

Slice timing correction

Il primo step di preprocessing consiste nella correzione temporale delle varie fette acquisite. Particolarmente importante nel caso di un design event-related, questa procedura consiste nel corretto trattamento delle differenze temporali in cui le singole fette (o slices) sono acquisite. Questa problematica deriva dal fatto che un volume funzionale non viene coperto in una sola volta, ma attraverso una serie di fette 2D acquisite in rapida successione. Quello che si realizza nella maggior parte dei casi consiste nello *shifting* temporale dei dati di ogni fetta allo stesso istante temporale in cui la "fetta di riferimento" è stata acquisita. Questa operazione modifica i dati facendo sembrare l'intero volume 3D acquisito nello stesso istante temporale. Questo tipo di approccio data-shifting comporta una futura interpolazione che può essere lineare, oppure far uso di spline o funzioni since la cui accuratezza è inversamente proporzionale al TR. Affinché tale operazione vada a buon fine è necessario conoscere l'ordine con cui le singole fette sono acquisite: a parte il normale ordine crescente o decrescente, le fette sono spesso acquisite in modalità intervallata, vale a dire che per prime vengono registrate le fette dispari, quindi sono registrate le fette di numerazione pari. La figura seguente (fig. 32) mostra un esempio scansione crescente (in alto) e di scansione intervallata (in basso).

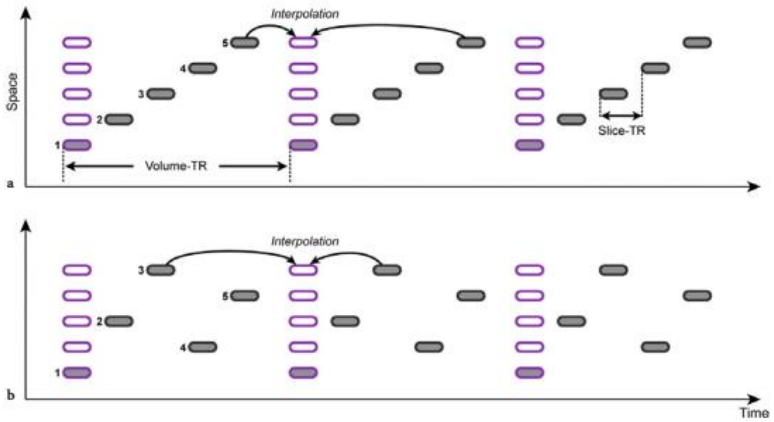

Figura 32: Procedura di slice timing correction per una scansione crescente (alto) o intervallata (basso)

Realign (Head motion correction)

La correzione dei movimenti della testa è forse la procedura di *preprocessing* principale, dato che cerca di limita la fonte principale degli errori di acquisizione. Quando il soggetto muove la testa, infatti, i neuroni appartenenti ad un certo voxel si spostano dalla posizione di riferimento iniziale e quindi il *timecourse* associato a quel voxel non è più rappresentativo di quel particolare gruppo di

neuroni, ma è affetto dalla presenza di altri neuroni indesiderati. Quindi è come se il *timecourse* di qualche altro neurone fosse effettivamente "tagliato e incollato" dalla locazione giusta in una locazione sbagliata. Esistono diversi sistemi di immobilizzazione della testa, tuttavia ciò spesso non è sufficiente ad eliminare totalmente il movimento (specie quello involontario). La procedura di correzione del movimento opera scegliendo un volume funzionale dell'acquisizione come volume di riferimento, al quale sono allineati tutti gli altri volumi. La maggior parte degli algoritmi descrive i movimenti della testa attraverso 6 parametri, 3 di traslazione e 3 di rotazione, atti a caratterizzare il moto dei corpi rigidi nello spazio 3D. Questi 6 parametri vengono stimati iterativamente calcolando di volta in volta come il volume sorgente debba essere traslato e ruotato per meglio allinearsi al volume di riferimento, minimizzando una qualche funzione costo (fig. 33). Una volta stimati i parametri finali della trasformazione, questi possono essere applicati al volume sorgente per produrre un nuovo volume - sostitutivo del volume originale - che andrà a far parte del nuovo dataset *riallineato*. La creazione del nuovo volume corretto comporta una procedura di interpolazione spaziale, attraverso operatori lineari oppure funzioni *sinc o spline*.

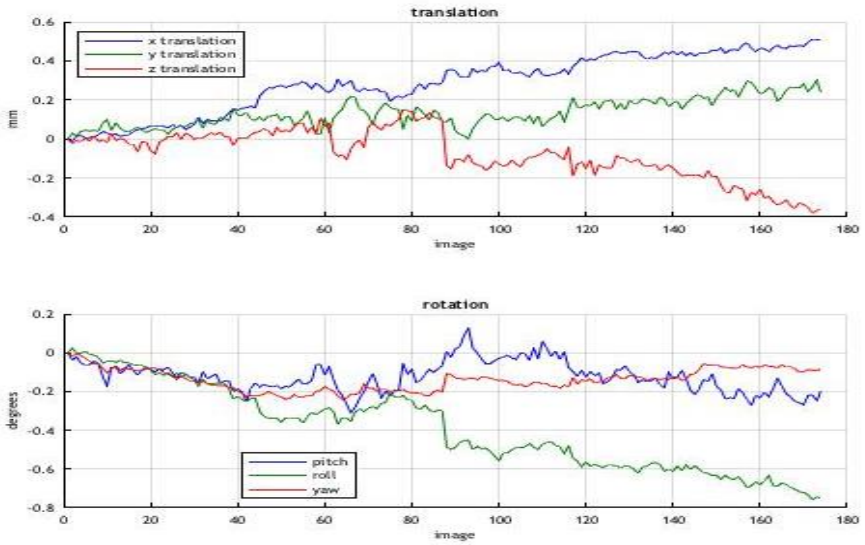

Figura 33: Stima iterativa dei parametri per la correzione del movimento

Coregistration

In generale, gli studi fMRI prevedono l'acquisizione di molte immagini funzionali accompagnate ad un'immagine strutturale. L'immagine strutturale è infatti a maggiore risoluzione spaziale e dipende da un segnale diverso, ovvero il processo di rilassamento longitudinale caratterizzato dalla costante temporale T1. Per delimitare e riconoscere con precisione le regioni di interesse all'interno

dell'immagine funziona le (quindi ai fini di interpretare i risultati e capire di quali regioni cerebrali i voxel attivi fanno parte), è necessario allinearla con quella strutturale pesata T1. Ciò viene fatto con un algoritmo di coregistrazione, che funziona in maniera simile a quello usato per la correzione del movimento, salvo il fatto che in questo caso le risoluzioni in gioco sono differenti, ed i valori di intensità non sono direttamente paragonabili in quanto il segnale di generazione dell'immagine è differente (fig. 34).

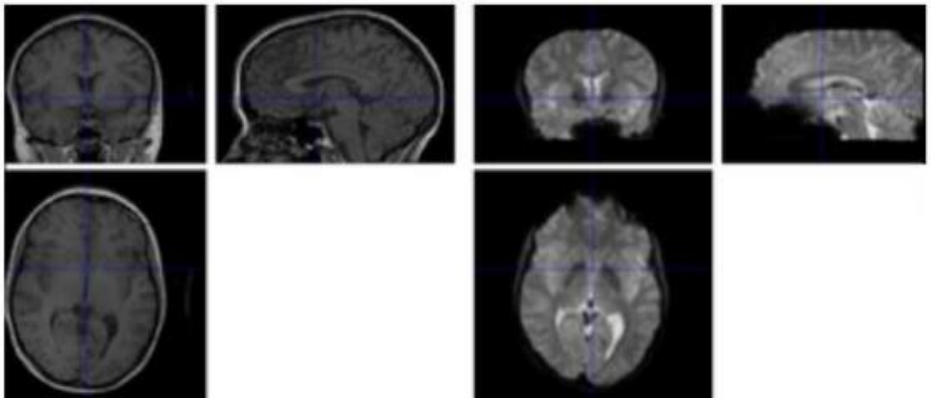

Figura 34: Immagine anatomica ad alta risoluzione (sx) ed immagine funzionale a bassa risoluzione (dx)

Spatial Normalization

Normalmente, gli studi di fMRI comportano l'acquisizione di un certo numero di soggetti diversi. Il cervello umano si differenzia da un soggetto all'altro sia per le dimensioni che per la forma; l'obbiettivo della normalizzazione spaziale è quello di deformare le singole acquisizioni in modo da far sì che una locazione nella scansione di un soggetto corrisponda alla medesima locazione nella scansione di un altro soggetto, in modo da rendere più facilmente integrabili e confrontabili i risultati. È prassi abituale quella di utilizzare un atlante comune del cervello umano, allineando tutte le acquisizioni previste allo specifico atlante. Gli atlanti comunemente usati sono l'atlante di Talairach - creato da Jean Talairach basandosi sul cervello del cadavere di una donna 60enne - e l'atlante del Montreal Neurological Institute (MNI), creato basandosi sull'acquisizione di molti soggetti normali di controllo (tutti destrimani). L'atlante MNI è leggermente più grande di quello di Talairach. Sebbene questa procedura sia concettualmente simile alla correzione del movimento, non sono più sufficienti i 6 parametri caratterizzanti il moto di un corpo rigido nello spazio 3D, essendo necessari parametri aggiuntivi caratterizzanti il complessivo campo di deformazioni (ammettendo quindi compressioni e allungamenti).

Gli indubbi vantaggi della normalizzazione derivano, quindi, dalla possibilità di:

- generalizzare i risultati su una popolazione più grande di soggetti
- migliorare il confronto tra studi diversi
- condurre un processo di *averaging* tra i vari soggetti.
-

Spatial smoothing

La procedura di *smoothing* spaziale viene eseguita allo scopo di mediare i valori dei voxel tra loro vicini; questa operazione ha l'effetto di un filtraggio passa-basso, e viene comunemente messa a punto negli studi fMRI in quanto i valori di intensità dei voxel vicini mostrano intrinseche correlazioni spaziali a causa delle analogie funzionali delle regioni cerebrali adiacenti. La procedura standard di *smoothing* spaziale è messa a punto attraverso la convoluzione del segnale fMRI con un *kernel* gaussiano, avente la forma di una curva di distribuzione normale. La dimensione del kernel definisce la larghezza della curva che determina a sua volta la quantità di dati che vengono *smoothati*. La larghezza non è espressa in termini di deviazione standard σ, come consuetudine in statistica, ma con il parametro FWHM (*Full Widht at Half Maximum*).

4. ANALISI STATISTICA

L'analisi dei dati è stata eseguita con SPM12 (Statistical Parametric Mapping software; The Welcome Department of Imaging Neuroscience, London, Uk; http://www.fil.ion.ucl.ac.uk), avviato su MATLAB R2013 (The Mathworks, Inc., Natick, MA). I primi quattro volumi EPI di ciascuna serie funzionale sono stati scartati per consentire gli effetti di equilibrio T1. Per ogni partecipante, tutti i volumi, sono stati spazialmente riallineati al primo volume della prima sessione ed è stata creata un'immagine media. Una correzione del *Time slicing* è stata applicata secondo l'*acquisition sparse imaging* (acquisition time, TA= 3000ms). Tutti i volumi sono stati normalizzati usando un template creato dal Montreal Neurological Institute (MNI) SPM EPI (MNI space) e spazialmente omogeneizzati con un kernel isotropico Gaussiano 6mm (2 x 2 x 2) *full-width half-maximum*, per l'analisi di gruppo.

Le mappe statistiche sono state generate usando un modello *random-effect* (Friston et al., 1999), implementato su una procedura a due livelli. Nell'analisi di primo livello, le risposte fMRI di ciascun soggetto sono state modellate usando il Modello Generale Lineare (GLM) per una matrice che ha compreso gli *onsets* (tempi di presentazione di ciascun evento) e la durata di ciascun evento per ciascuna sessione sperimentale. Il modello GLM utilizzato ha incluso quattro regressori: *vitality gentle* (VIT_GT), *vitality rude* (VIT_RD), controllo (CTRL) e risposta (Resp). Gli stimoli audio sono stati presentati in blocchi contenenti 4 stimoli consecutivi, appartenenti ad ognuna condizione (gentile, rude e controllo). All'interno di ogni blocco, gli stimoli sono stati modellati come un singolo evento della durata di 3s. Anche la risposta è stata modellizzata come un singolo evento della durata di 15s (risposta 3s + *cleaning* 12s). Nell'analisi di secondo livello (analisi di gruppo), le immagini del primo livello per ogni partecipante, con il loro contrasto corrispondente, sono state inserite in una ANOVA *flexible* con correzione della sfericità per misure ripetute (Friston et al., 2002). Questo modello composto da 3 regressori ha considerato i *patterns* di attivazione ottenuti per ciascun regressore verso baseline (VIT_GT, VIT_RD, CTRL) e i contrasti diretti tra le condizioni (VIT_GT vs CTRL, VIT_RD vs. CTRL). Le attivazioni funzionali sono state localizzate nello spazio stereotassico del sistema di coordinate MNI. Infine, è stata eseguita un'analisi di congiunzione al fine di evidenziare le aree comuni attivate sia nel contrasto VIT_GT vs CTRL, che nel contrasto VIT_RD vs CTRL.

Per testare il livello attenzionale e dimostrare che i risultati ottenuti siano legati effettivamente al compito richiesto, è stata effettuata un'ulteriore analisi, basata sulle risposte date dai partecipanti durante i *catch trials* nelle sessioni di scansione. Si tratta di prove in cui era richiesto ai soggetti di dare una risposta esplicita, indicando che tipo di azione avessero appena ascoltato attraverso l'utilizzo di una *response box*. Sono state registrate un totale di otto risposte per ogni partecipante,

quattro per sessione funzionale. Le variabili considerate sono la percentuale di risposte corrette ('hits') e relativi tempi di reazione a cui sono stati applicati parametri parametrici e non (Siegel e Castellan, 1988; Hollander e Wolfe, 1999).

5. RISULTATI

5.1 STUDIO COMPORTAMENTALE

I giudizi dei partecipanti ottenuti durante i due compiti, uno di riconoscimento del tipo di azione ("*what task*") e l'altro di riconoscimento dello stile dell'azione ("*how task*"), sono stati automaticamente convertiti dal software E-Prime in punteggi numerici a seconda della *scala likert* a 5 punti (tipi di azione: 1= bussare, 2= sfogliare, 3= strappare, 4= bussare, 5= chiudere) o a 3 punti (stili dell'azione: 1= gentile, 2= confuso, 3= aggressivo) utilizzata per ciascun compito.
I punteggi sono stati modellizzati attraverso un General Linear Model (GLM) con lo scopo di descrivere la relazione esistente tra un particolare stimolo e i dati osservati.

What task

I risultati dell'analisi statistica indicano la presenza di differenze nell'accuratezza di risposta nelle 3 condizioni (GT, RD, CTRL) dei due compiti. Nello specifico (fig. 35A), notiamo che, per quanto riguarda il riconoscimento del tipo di azione eseguita, l'accuratezza di riposta è in media del 96% (GT: 96%; SD: 5,4%; RD: 97,2%, SD: 3,3%; CTRL: 95,5%, SD: 11%) e non significativamente diversa ($p>0,05$) nelle 3 condizioni sperimentali. Questo dimostra che il tipo di azione viene sempre riconosciuta, anche nella condizione di controllo dove i suoni sono stati mascherati (CTRL). Allo stesso modo, l'analisi dei tempi di risposta (RT) non rileva delle differenze significative tra le condizioni sperimentali, poiché i soggetti impiegano mediamente lo stesso tempo nel riconoscere il tipo di azione ascoltata (1347ms), indipendentemente dal fatto che il suono sia o meno mascherato (GT: 1359ms, SD: 204ms; RD: 1307ms, SD: 209ms; CTRL: 1377ms, SD: 319ms).

How task

Nel compito in cui i partecipanti dovevano riconoscere il modo in cui veniva eseguita l'azione l'accuratezza delle risposte è significativamente differente ($p<0,05$) tra le due condizioni in cui lo stile è chiaramente percepibile (GT e RD) e la condizione di controllo (CTRL). In particolare,

l'accuratezza per le azioni rudi e gentili è in media del 80% (GT: 92,5%, SD: 10,5%; RD: 96%, SD: 21,9%) e non significativamente differente (p>0,05); mentre per i suoni di controllo (CTRL: 47,6%, SD: 32,4%) l'accuratezza cala notevolmente e in maniera significativa rispetto sia alla condizione "GT" (p=0,001), sia alla condizione "RD" (p=0,001). Non riuscendo a riconoscere uno stile, nella condizione di controllo, i soggetti tendono a dare risposte casuali, indicando l'azione talora come confusa (CTRL: 42,1%; SD: 6,4%), talora come gentile (GT:29,1%; SD: 4,89%) e talora come rude (RD: 28,8%; SD: 5,27%). Questi dati mostrano come, mascherando lo stile, i soggetti non riescono a riconoscere se l'azione appena ascoltata è eseguita in maniera rude o gentile (Fig.35 B). I tempi di reazione risultano essere significativamente (p<0,05) diversi tra le condizioni sperimentali "GT" (mean: 957,4 ms) e "RD" (mean: 1231,7 ms) e la condizione di controllo "CTRL" (mean: 1332,2 ms). I soggetti sono molto più rapidi nel riconoscere le azioni eseguite in maniera gentile sia rispetto alle azioni rudi (p=0,001) che ai controlli (p=0,001). Altresì dicasi, per il riconoscimento delle azioni eseguite in maniera rude per le quali i soggetti impiegano più tempo rispetto a quelle gentili ma significativamente meno tempo rispetto ai controlli (p=0,02) (fig.35 B).

Presi insieme, questi dati dimostrano che le azioni selezionate per gli stimoli sono sempre distinguibili anche nella condizione di controllo e che lo stile mascherato rende effettivamente incomprensibile il modo in cui l'azione viene eseguita, attestando la validità dei nostri stimoli sperimentali.

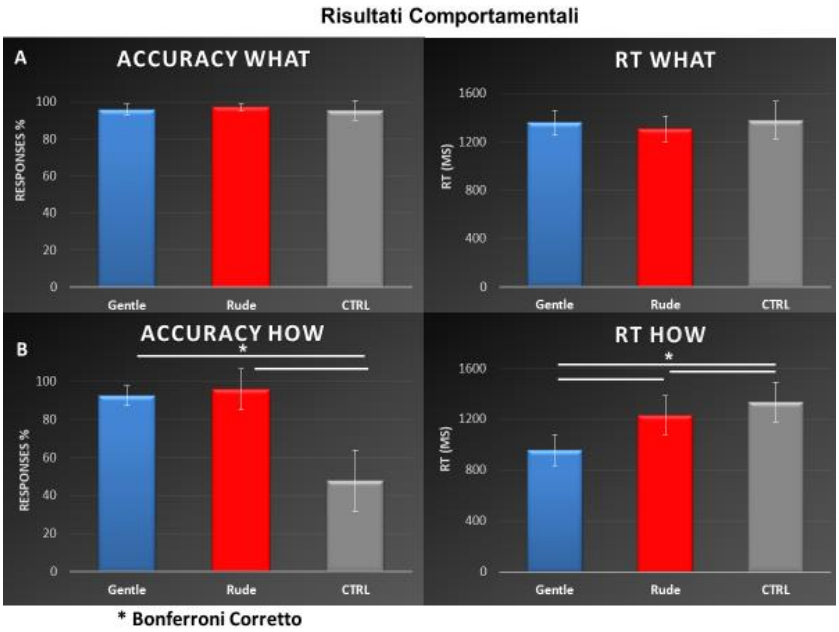

Figura 35: Accuratezza di risposta e tempi di reazione dei partecipanti nei compiti di riconoscimento del tipo di azione ("WHAT task", riga A) e dello stile dell'azione ("HOW task", riga B). *indica il confronto significativo tra le condizioni nei due compiti, relative alle analisi *post hoc*.

5.2 STUDIO fMRI

Accuratezza del compito: What task

Queste analisi sono basate sulle risposte dei partecipanti *(catch trials*) emesse nello scanner, previo utilizzo di una *response box,* durante l'esecuzione del *task* relativo al riconoscimento del tipo di azione. Per lo svolgimento delle analisi, sono stati utilizzati il numero delle risposte corrette dei partecipanti e i relativi tempi di reazione, come variabili necessarie a testare l'attenzione vigile di ciascun soggetto durante l'ascolto delle azioni. È stato applicato un test statistico parametrico (*test di Student*) per verificare se il valore medio delle distribuzioni delle risposte corrette emesse e dei relativi tempi di reazione, differisca significativamente nelle due sessioni sperimentali del compito. I risultati non rilevano la presenza di una differenza significativa ($p>0,05$) tra le percentuali di accuratezza nelle due sessioni (1° e 2° run), con una media di risposte corrette pari a 93%. Anche i tempi di reazione registrati non mostrano differenze significative ($p>0,05$).

Vitality forms vs. Baseline

L'ascolto dei suoni provenienti da azioni con stile rude o gentile, rispetto alla baseline (croce di fissazione), ha prodotto l'attivazione bilaterale del lobo temporale superiore, del lobulo parietale inferiore, della corteccia premotoria che si estende fino al giro frontale inferiore. Un pattern di attivazione maggiore è presente nell'emisfero sinistro (PFWE<0.05 voxel level; fig. 36A). Da notare, che le medesime aree sono risultate attive anche durante l'ascolto delle azioni mascherate (CTRL, fig. 36B).

Vitality forms vs. Controllo: Gentle vs. Ctrl, Rude vs. Ctrl

Il risultato dell'analisi relativa al contrasto diretto tra i *vitality forms* (GENTLE vs CTRL, fig. 37A; RUDE vs CTRL, fig. 37B) e la condizione di controllo ha evidenziato l'attivazione del settore dorso-centrale dell'insula nell'emisfero sinistro (PFWE<0.05 cluster level; fig. 37). Inoltre, altre differenze tra le due condizioni sono state evidenziate nella porzione media del cingolo, bilateralmente.

Analisi di congiunzione: Vitality All vs. Ctrl

L'analisi di congiunzione effettuata tra lo stile rude e gentile rispetto ai relativi controlli (VIT_GT vs CTRL & VIT_RUDE vs. CTRL, fig. 37C) ha prodotto l'attivazione comune del settore dorso centrale dell'insula (PFWE<0.05 cluster level; fig. 37C). Inoltre, è emersa l'attivazione bilaterale della corteccia cingolata mediale.

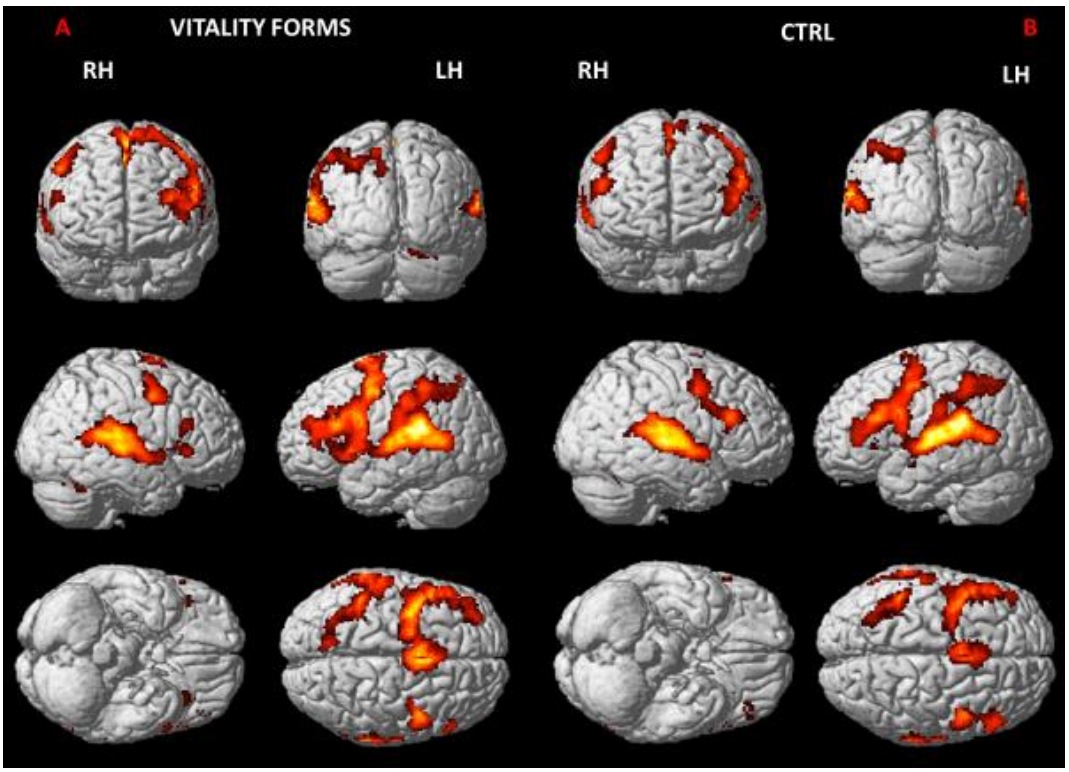

Figura 36: Attivazioni cerebrali nell'emisfero destro e sinistro, ottenute nelle condizioni due condizioni sperimentali (VIT_GT e VIT_AG) e nel controllo (CTRL). Queste attivazioni sono state rappresentate su un template standard Montreal Neurological Institute brain (PFWE <0.05 voxel level).

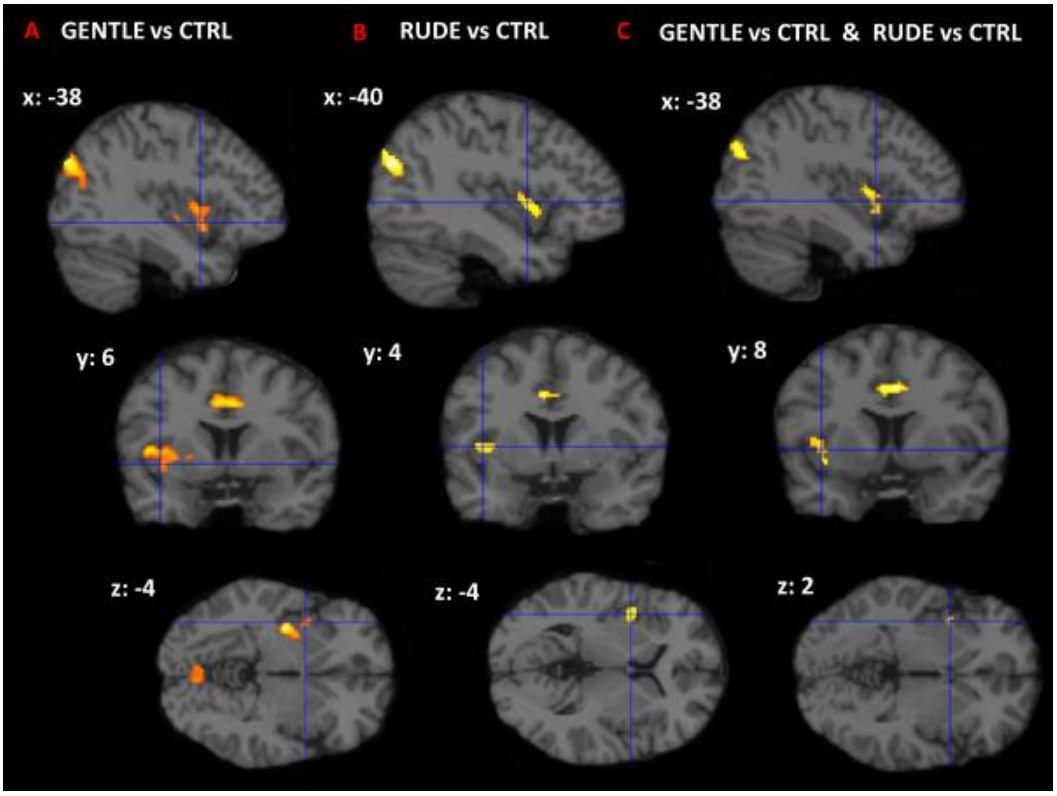

Figura 37: L'attivazione delle aree cerebrali coinvolte nell'ascolto di suoni rudi e gentili, è mostrata nell'*overlap* di entrambi i contrasti. Queste attivazioni sono state visualizzate su un template standard MNI (PFWE <0.05 cluster level)

Anatomical region	Left Hemisphere				Right Hemisphere			
	X	y	Z	Z-score	x	Y	Z	Z-score
Stimulus Type vs. Silence (PFWE-COR VXL LEVEL= <.05)								
A. Vitality (GT & RD) vs. Baseline								
Inferior Frontal Gyrus	-40	26	10	7.65	40	28	4	4.07
Middle Frontal Gyrus	-42	0	54	6.29	34	-4	54	3.69
Superior Temporal Gyrus	-52	-26	6	6.83	62	-34	12	6.93
Precentral Gyrus	-42	0	44	6.91	52	4	50	7.54
Inferior Parietal Lobule	-30	-52	40	5.81				
Insula	-38	14	4	4.47	40	22	6	4.05
Cerebellum					28	-64	26	4.92
B. CTRL vs. Baseline								
Inferior Frontal Gyrus	-54	-16	6	Inf				
Precentral Gyrus	-42	0	44	6.37	52	2	50	5.64
Superior Parietal Lobule	-30	-60	44	5.89				
Inferior Parietal Lobule	-44	-44	42	5.73				
Superior Temporal Gyrus	-54	-16	6	I nf	66	-24	4	7.82
C. VIT_GT vs. CTRL								
Inferior Frontal Gyrus	-46	6	6	4.39				
Superior Parietal Lobule	-22	-48	62	4.25				
Postcentral Gyrus					16	-30	60	5.13
Superior midde Gyrus	-2	54	4	4.47				
Middle Occipital Gyrus					48	-70	24	4.33
Middle Temporal Gyrus					52	-64	22	4.17
Posterior Cingulate Cortex	-6	-92	8	4.31	6	22	28	5.14
Middle Cingulate Cortex	-2	10	40	5.21				
Insula	-34	8	-2	5.27				
Putamen	-30	-2	2	5.10				
D. VIT_RD vs CTRL								
Anterior Cingulate Cortex	0	24	28	4.29	6	20	28	4.67
Middle Cingulate Cortex	-2	12	36	4.48	6	14	38	4.53
Middle Occipital Gyrus	-42	-76	28	4.66				
Middle Superior Gyrus	-6	24	42	4.20				
Precentral Gyrus	-42	0	44	6.91				
Inferior Parietal Lobule	-42	-44	48	5.79				
Insula	-38	8	2	5.27				
Precuneus					6	-44	58	4.46

6. DISCUSSIONE

Un aspetto importante della esperienza quotidiana è il senso di vitalità che caratterizza le nostre relazioni sociali. Stern ha coniato il termine "*vitality form*" per evidenziare come lo stile delle azioni possa assumere forme diverse e fornirci informazioni inerenti agli stati affettivi degli altri anche semplicemente attraverso l'osservazione dei loro gesti. Ad esempio, un gesto comune quale una carezza può essere dolce o frettoloso, così come una stretta di mano può essere delicata o vigorosa. Quotidianamente, le persone producono azioni volontarie caratterizzate da forme vitali differenti, dimostrando come queste siano aspetti basilari delle nostre interazioni sociali che modellano e condizionano la nostra esperienza. Capire lo stile di un'azione permette di catturare il modo in cui essa viene eseguita piuttosto che il suo contenuto ("cosa", lo scopo dell'azione) o l'intenzione motoria che la caratterizza ("perché", l'intenzione dell'azione). Nonostante i *vitality forms* caratterizzino le relazioni sociali, questo aspetto dell'azione è ancora poco conosciuto. L'intento dello studio fMRI esposto in questa tesi è quello di indagare alcuni aspetti legati alla componente acustica dei *vitality forms* durante l'ascolto di suoni provenienti da azioni. A tal fine, ai partecipanti dello studio sono stati presentati suoni provenienti da azioni comuni all'esperienza quotidiana di ognuno, come mescolare il caffè, chiudere la porta, bussare, sfogliare le pagine di un libro, strappare un foglio di carta. Ciascuna di queste azioni poteva essere eseguita con due *vitality forms* differenti: rude o gentile. In aggiunta, lo studio ha previsto una seconda condizione (controllo) nella quale venivano presentati i medesimi suoni ma con *vitality* mascherato. Il compito dei soggetti era semplicemente quello di prestare massima attenzione all' ascolto al tipo di azione eseguita e, talvolta (25% de casi), indicare esplicitamente quale fosse l'ultima azione ascoltata. Come emerso dalle analisi generali (VIT_GT vs Baseline, VIT_RD vs Baseline) l'ascolto dei suoni provenienti da azioni, indipendentemente dal modo in cui erano eseguite, determinava l'attivazione delle aree del circuito parieto-frontale classicamente coinvolte nel riconoscimento del goal dell'azione, ovvero il lobo parietale inferiore, la corteccia premotoria, il giro frontale inferiore e l'insula. Un aspetto importante da evidenziare come l'ascolto degli stimoli di controllo (CTRL vs Baseline) ha prodotto lo stesso pattern di attivazione, eccetto l'insula. Nello specifico, i risultati relativi al confronto tra le condizioni sperimentali ed il controllo (VIT_GT vs CTRL, VIT_RD vs CTRL) mostrano un'attivazione selettiva della porzione dorso centrale dell'insula nell'emisfero di sinistra. Questa attivazione è maggiore per l'ascolto di suoni provenienti da azioni eseguite in maniera gentile rispetto a quella relativa ai suoni delle azioni rudi.

L'attivazione del settore dorso centrale dell'insula sinistra in risposta a stimoli acustici rudi o gentili, è in accordo con i risultati ottenuti in uno studio fMRI precedente (Di Cesare et al., 2016b). Nello specifico, in questo studio ai partecipanti era richiesto di ascoltare verbi d'azione (es: prendi, dammi) pronunciati da una voce umana con stile rude o gentile oppure pronunciati da un robot senza alcuna prosodia (controllo). Inoltre, in questo studio, gli autori utilizzano una seconda condizione di controllo (*scrambled*) per escludere la possibilità che l'attivazione dell'insula fosse dovuta alla mera codifica dei parametri fisici del suono quali ad esempio l'intensità o la frequenza. I risultati ottenuti hanno mostrato come solo l'ascolto dei verbi pronunciati dalla voce umana in modo rude o gentile producesse l'attivazione selettiva dell'insula centrale di sinistra. In aggiunta, sebbene le proprietà fisiche degli stimoli *scrambled* fossero simili a quelle dei *vitality forms*, l'ascolto degli stimoli di controllo non produceva l'attivazione dell'insula dimostrando che la codifica dei *vitality forms* non è meramente ascrivibile alle proprietà fisiche dello stimolo ascoltato.

È importante sottolineare come l'attivazione della porzione dorso-centrale sia legata alla codifica dello stile dell'azione indipendentemente dalla modalità sensoriale attraverso la quale questi sono espressi. Infatti, uno studio precedente inerente all' osservazione, pianificazione ed esecuzione di azioni eseguite con differenti *vitality forms* (Di Cesare et al., 2015), ha messo in evidenza come, in ognuna di queste condizioni, ci fosse una attivazione pressoché sovrapponibile dei giri brevi dell'insula (medio, posteriore). L'attivazione specifica dell'insula durante questi tre *tasks* indica che il settore dorso-centrale dell'insula ha un ruolo fondamentale nel determinare sia la comprensione che l'espressione dei *vitality forms*, lasciando supporre la presenza di un meccanismo *mirror* insulare che permetterebbe di esprimere il proprio stato interno e di comprendere quello altrui.

Questa ipotesi è confermata dalle evidenze di un altro studio fMRI (Di Cesare et al., 2017b), il quale aveva lo scopo di valutare se ascoltare (percezione) o immaginare di pronunciare verbi d'azione (espressione) con differenti *vitality forms* (rude e gentile) potesse produrre l'attivazione della stessa porzione dell'insula. I risultati hanno effettivamente confermato che il settore dorso-centrale dell'insula si attiva sia quando i partecipanti dovevano ascoltare verbi d'azione pronunciati in maniera rude o gentile, che quando dovevano immaginare di pronunciare internamente gli stessi verbi d'azione con analogo *vitality form*. Inoltre, nello stesso esperimento gli autori dimostrano il ruolo multimodale dell'insula nella codifica dei *vitality forms*, andando a verificare se l'attivazione della porzione di insula implicata nella modulazione dello stile del linguaggio parlato (s*peech*) fosse sovrapponibile a quella ottenuta dall'osservazione delle azioni (*action*) con lo stesso *vitality form*. Nello specifico, gli autori hanno investigato se ascoltare un verbo d'azione come "apri" pronunciato in maniera rude o gentile e osservare l'esecuzione di un'azione quale "aprire un barattolo" eseguito

con i medesimi *vitality forms*, avrebbe attivato gli stessi voxels dell'insula. I risultati hanno mostrato che l'osservazione e l'espressione di *vitality forms* legati alle azioni, l'ascolto e la pronuncia di *vitality forms* legati, invece, alla comunicazione verbale, determinano l'attivazione della porzione dorso-centrale insula. Nonostante queste attivazioni siano pressoché sovrapponibili, la percezione dello stile nel linguaggio, coinvolge una porzione di insula più ventrale rispetto alla percezione dello stile nell'azione. Questo aspetto è stato confermato da un'analisi di interazione psicofisiologica (PPI), condotta successivamente, che ha mostrato come l'insula centrale sia funzionalmente connessa con differenti aree, alcune delle quali coinvolte nel processamento dell'azione, altre coinvolte nel processamento linguistico. In particolare, la porzione dell'insula selettiva per le azioni sarebbe funzionalmente connessa con il lobo parietale inferiore e il giro frontale inferiore dell'emisfero sinistro, diversamente la porzione dell'insula selettiva per il linguaggio sarebbe funzionalmente connessa con il giro temporale superiore e il giro precentrale dell'emisfero destro. Nel complesso questi risultati, avvalorano l'ipotesi secondo cui l'insula centrale rappresenti un'area d'integrazione multimodale con proprietà specchio, implicata tanto nell'azione, modulando l'attività del circuito specchio parieto-frontale durante l'osservazione e l'esecuzione di un'azione, quanto nel linguaggio, interagendo con la corteccia premotoria e il giro temporale superiore di destra durante l'ascolto e la produzione di verbi d'azione.

Le evidenze scientifiche finora riportate, sono in linea con i dati anatomo-funzionali rinvenuti nell'uomo e nei primati non umani. Per quanto concerne i dati anatomici, studi classici di stimolazione intracorticale eseguiti sulla scimmia, hanno mostrato che il settore dorso centrale dell'insula è connesso con le aree parietali e frontali che formano il circuito corticale coinvolto nell'organizzazione dei movimenti manuali (Jeannerod et al., 1995; Nelissen e Vanduffel 2011), nonché la porzione anteriore dell'area intraparietale AIP (Borra et al. 2008), l'area premotoria F5 (Gerbella et al., 2011) e l'area prefrontale 12r (Borra et al., 2011). Da notare che anche nell'uomo è presente un circuito parieto-frontale omologo a quello della scimmia che è alla base dell'organizzazione di atti motori eseguiti con gli arti superiori e diretti ad uno scopo (Iacoboni 2009; Caspers et al., 2010; Grosbras et al. 2012; Molenberghs et al. 2012; Rizzolatti et al. 2014). Inoltre, Almashaikhi et al. (2014) hanno recentemente dimostrato che in pazienti epilettici la stimolazione elettrica dei giri brevi dell'insula (medio e posteriore) determina la nascita di potenziali evocati nel lobo parietale e nel giro frontale inferiore.

Per quanto concerne il ruolo funzionale dell'insula, studi classici di stimolazione intracorticale hanno dimostrato che nella scimmia, l'insula è suddivisa in diversi settori dotati di specifiche proprietà. In particolare, la stimolazione del settore rostro-dorsale dell'insula determina un comportamento

ingestivo positivo (deglutizione), mentre la stimolazione del settore rostro-ventrale produce un comportamento ingestivo negativo (disgusto) (Jezzini et al., 2012). Al contrario, la stimolazione del settore dorso-centrale dell'insula induce movimenti che coinvolgono viso, bocca e arti inferiori e superiori. Negli umani, Kurth et al. (2010) sulla base di una meta-analisi eseguita su 1768 studi di neuroimaging funzionale, hanno riportato un'organizzazione insulare simile a quella osservata nella scimmia. Nello specifico, gli autori dimostrano che nell'uomo l'insula consiste di 4 distinti settori funzionali: il settore cognitivo, quello sensomotorio, quello olfatto-gustativo e quello socio-emotivo. Il settore sensori-motorio sembra corrispondere strettamente al settore centrale dell'insula coinvolto nell'elaborazione dello stile dell'azione. Infine, uno studio di trattografia comparata uomo-scimmia, ha mostrato che l'insula dorso-centrale è anatomicamente connessa con la parte rostrale del lobo parietale inferiore (IPL), la corteccia premotoria ventrale (area F5) e l'area prefrontale 46, ovvero aree del circuito corticale coinvolto nel controllo di gesti manuali. Gli stessi risultati sono stati ottenuti anche nell'uomo, evidenziando la presenza delle connessioni anatomiche tra l'insula dorso centrale e il lobo parietale inferiore (IPL), la corteccia premotoria ventrale (PMv) e corteccia prefrontale dorso-laterale (area 46) (Di Cesare et al., in revisione).

Quali implicazioni quotidiane potrebbe avere il riconoscimento dei *vitality forms*? La porzione centrale dell'insula risulta essere collegata con molte aree corticali e sottocorticali (Mesalum & Mufsun, 1982) e riceve informazioni di varia natura che in essa vengono elaborate ed integrate. In particolare, il settore dorso-centrale è coinvolto nella codifica automatica dello stile delle azioni permettendo di esprimere la componente comunicativa delle stesse attraverso la modulazione del circuito parieto-frontale, implicato, tra l'altro, in quel meccanismo di rispecchiamento che ci permette di comprendere l'agire altrui. Dunque, durante una interazione sociale, l'attività dell'insula permetterebbe di esprimere il proprio stato interno e di capire quello degli altri senza ricorrere a nessun tipo di comunicazione esplicita. È quindi l'attivazione di un meccanismo neurale condiviso dall'osservatore e dall'osservato che permette la comprensione esperienziale diretta di un vissuto emotivo interno espresso nell'azione.

Il ruolo fondamentale dei *vitality forms* nelle interazioni sociali è stato dimostrato in un recentissimo studio di cinematica (Di Cesare et al. 2017c). In particolare, gli autori hanno dimostrato che lo stile con cui viene eseguita una richiesta sociale (dammi, prendi), indipendentemente dalla modalità sensoriale utilizzata (visiva, acustica, visuo-acustica) modula i parametri cinematici di risposta del ricevente. In questo studio, i partecipanti dovevano rispondere all'osservazione e all'ascolto di un gesto di offerta (prendi) o di richiesta (dammi) compiuto in maniera gentile o rude da un attore e da un'attrice. I risultati ottenuti dall'analisi cinematica inerente alle fasi di raggiungimento (*reaching*) e

afferramento (*grasping*) dei partecipanti (richiesta attori: dammi, prendi; azione dei partecipanti: afferro l'oggetto per portarlo a me, afferro l'oggetto per offrirlo a te) dimostrano come la percezione dello stile moduli i parametri temporali (accelerazione e velocità) e spaziali (traiettoria) delle risposte emesse. In particolare, la percezione di uno stile rude rispetto a quello gentile, determina una traiettoria più ampia e una velocità maggiore durante la fase di *reaching*, un'apertura massima delle dita e una accelerazione finale della chiusura durante la fase di *grasping*. Dunque, i *vitality forms* eseguiti dall'agente modulano l'output motorio del ricevente in modo del tutto automatico, sottolineando come questi siano un elemento cardine delle nostre interazioni quotidiane.

Questa capacità di percepire "come" un'azione viene eseguita è un'abilità sociale essenziale, che supporta il sapere relazionale implicito (cioè la capacità di sapere implicitamente come comportarsi con gli altri, Stern, 1985, Lyons-Ruth et al., 1998), il comportamento imitativo (Hobson and Lee, 1999; Hobson and Hobson, 2008), la percezione delle differenze individuali basate sul movimento (Loula et al., 2005) e l'adattamento ai cambiamenti on-line nei contesti sociali (Thelen e Smith, 1994). Data la loro rilevanza sociale, è stata analizzata la percezione dei *vitality forms* nei bambini con disturbi dello spettro autistico (ASD), in cui vi è una compromissione del normale sviluppo della competenza sociale nelle interazioni quotidiane. Evidenze scientifiche di studi relativi all'esecuzione di movimenti di raggiungimento/afferramento e alla pianificazione motoria intenzionale in bambini autistici, lasciano ipotizzare che i problemi motori, spesso descritti nell'eziologia dell'ASD, possano avere un impatto sulla capacità di prevedere e dare un senso alle azioni altrui in termini di intenzione motoria (Hughes, 1996; Fabbri-Destro et al., 2009; Forti et al., 2011; Sparaci et al., 2015). Ad esempio, sono state riscontrate difficoltà specifiche nella comprensione dell'intenzione nei bambini con ASD rispetto a controlli della stessa età cronologica, a controlli della stessa età mentale e rispetto a bambini con altri disordini del neurosviluppo che interessano il dominio sociale (cioè la sindrome di Williams) (Boria et al., 2009; Sparaci et al., 2012, 2014).

Alcuni studi comportamentali, hanno infatti mostrato che i bambini con disturbi dello spettro autistico (ASD) mostrano delle difficoltà nel riconoscimento dello stile dell'azione rispetto ai bambini a sviluppo tipico (TD) seppure risulti essere preservato il riconoscimento dello scopo dell'azione. (Hobson & Lee 1999; Rochat et al.,2013). In un recente studio (Di Cesare et al., 2017a) a bambini autistici di diversa fascia d'età venivano mostrati videoclips di azioni eseguite con differenti stili e veniva chiesto, poi, loro di indicare verbalmente quale fosse lo stile dell'azione appena osservata, attraverso una scala *likert* a 5 punti. I risultati mostrano come questi bambini siano in grado di rilevare azioni molto gentili o molto rudi ma hanno difficoltà nel percepire sfumature di stile meno nette ma molto più comuni nella vita quotidiana.

Sulla base delle scoperte neurofisiologiche è plausibile ipotizzare che i deficit osservati nei bambini con ASD durante il riconoscimento dello stile dell'azione possano essere ascrivibili ad un malfunzionamento dell'insula dorso-centrale o delle aree corticali funzionalmente connesse con essa. In linea con questa ipotesi, vari studi hanno riportato alterazioni strutturali e funzionali nell'insula in soggetti con ASD, riscontrando, nello specifico, variazioni del volume di materia grigia e una ridotta connettività funzionale con altre regioni del cervello tra cui l'amigdala e la corteccia somatosensoriale (Ebisch et al., 2011; Di Martino et al., 2014).

7. CONCLUSIONE

In conclusione, lo studio descritto in questa tesi avvalora l'ipotesi secondo cui il settore dorso-centrale dell'insula sia un'area cardine nel processamento multimodale dei *vitality forms*. Durante le interazioni quotidiane, quest'area viene attivata dalle proprietà fisiche di un'azione (osservata, ascoltata o pronunciata) comunicando un costrutto comunicativo-affettivo che permette all'agente di veicolare il proprio stato interno e al ricevente di comprenderlo, attraverso una risonanza interna della medesima circuteria nervosa. Si tratta, dunque, di un meccanismo di rispecchiamento primario ed evolutivamente adattativo mediante il quale comunichiamo con l'altro senza ricorrere a nessuna forma di inferenza o introspezione ma semplicemente con una riproduzione automatica, non consapevole e preriflessiva del suo "agire" e del suo "sentire".

Bibliografia

Adolphs, R., Damasio, H., Tranel, D., Cooper, G., & Damasio, A. R. (2000). A role for somatosensory cortices in the visual recognition of emotion as revealed by three-dimensional lesion mapping. *Journal of neuroscience*, *20*(7), 2683-2690.

Almashaikhi, T., Rheims, S., Jung, J., Ostrowsky-Coste, K., Montavont, A., De Bellescize, J., ... & Ryvlin, P. (2014). Functional connectivity of insular efferences. *Human brain mapping*, *35*(10), 5279-5294.

Bandettini, P. A., Wong, E. C., Hinks, R. S., Tikofsky, R. S., & Hyde, J. S. (1992). Time course EPI of human brain function during task activation. *Magnetic resonance in medicine*, *25*(2), 390-397.

Bonini, L., Rozzi, S., Serventi, F. U., Simone, L., Ferrari, P. F., & Fogassi, L. (2010). Ventral premotor and inferior parietal cortices make distinct contribution to action organization and intention understanding. *Cerebral Cortex*, *20*(6), 1372-1385.

Bonini, L., Maranesi, M., Livi, A., Fogassi, L., & Rizzolatti, G. (2014). Ventral premotor neurons encoding representations of action during self and others' inaction. *Current Biology*, *24*(14), 1611-1614.

Bonini, L., Ugolotti Serventi, F., Bruni, S., Maranesi, M., Bimbi, M., Simone, L., ... & Fogassi, L. (2012). Selectivity for grip type and action goal in macaque inferior parietal and ventral premotor grasping neurons. *Journal of Neurophysiology*, *108*(6), 1607-1619.

Boria, S., Fabbri-Destro, M., Cattaneo, L., Sparaci, L., Sinigaglia, C., Santelli, E., ... & Rizzolatti, G. (2009). Intention understanding in autism. *PloS one*, *4*(5), e5596.

Borra, E., Belmalih, A., Calzavara, R., Gerbella, M., Murata, A., Rozzi, S., & Luppino, G. (2007). Cortical connections of the macaque anterior intraparietal (AIP) area. *Cerebral Cortex*, *18*(5), 1094-1111.

Borra, E., Gerbella, M., Rozzi, S., & Luppino, G. (2011). Anatomical evidence for the involvement of the macaque ventrolateral prefrontal area 12r in controlling goal-directed actions. *Journal of Neuroscience*, *31*(34), 12351-12363.

Buccino, G., Vogt, S., Ritzl, A., Fink, G. R., Zilles, K., Freund, H. J., & Rizzolatti, G. (2004). Neural circuits underlying imitation learning of hand actions: an event-related fMRI study. *Neuron*, *42*(2), 323-334.

Calder, A. J., Keane, J., Manes, F., Antoun, N., & Young, A. W. (2000). Impaired recognition and experience of disgust following brain injury. *Nature neuroscience*, *3*(11), 1077.

Calvo-Merino, B., Glaser, D. E., Grèzes, J., Passingham, R. E., & Haggard, P. (2004). Action observation and acquired motor skills: an FMRI study with expert dancers. *Cerebral cortex*, *15*(8), 1243-1249.

Caspers, S., Zilles, K., Laird, A. R., & Eickhoff, S. B. (2010). ALE meta-analysis of action observation and imitation in the human brain. *Neuroimage*, *50*(3), 1148-1167.

Cattaneo, L., & Rizzolatti, G. (2009). The mirror neuron system. *Archives of neurology*, *66*(5), 557-560.

Cattaneo, L., Sandrini, M., & Schwarzbach, J. (2010). State-dependent TMS reveals a hierarchical representation of observed acts in the temporal, parietal, and premotor cortices. *Cerebral cortex*, *20*(9), 2252-2258.

Cook, R., & Bird, G. (2013). Do mirror neurons really mirror and do they really code for action goals? *Cortex*, *49*(10), 2944-2945.

Di Cesare, G., Di Dio, C., Marchi, M., & Rizzolatti, G. (2015). Expressing our internal states and understanding those of others. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(33), 10331-10335.

Di Cesare, G., Fasano, F., Errante, A., Marchi, M., & Rizzolatti, G. (2016b). Understanding the internal states of others by listening to action verbs. *Neuropsychologia*, *89*, 172-179.

Di Cesare, G., Valente, G., Di Dio, C., Ruffaldi, E., Bergamasco, M., Goebel, R., & Rizzolatti, G. (2016a). Vitality forms processing in the insula during action observation: a multivoxel pattern analysis. *Frontiers in human neuroscience*, *10*, 267.

Di Cesare, G., Sparaci, L., Pelosi, A., Mazzone, L., Giovagnoli, G., Menghini, D., ... & Vicari, S. (2017a). Differences in action style recognition in children with autism spectrum disorders. *Frontiers in psychology*, *8*, 1456.

Di Cesare, G., Marchi, M., Errante, A., Fasano, F., & Rizzolatti, G. (2017b). Mirroring the social aspects of speech and actions: the role of the insula. *Cerebral Cortex*, 1-10.

Di Cesare, G., De Stefani, E., Gentilucci, M., & De Marco, D. (2017c). Vitality forms expressed by others modulate our own motor response: a kinematic study. *Frontiers in human neuroscience*, *11*, 565.

Di Martino, A., Yan, C. G., Li, Q., Denio, E., Castellanos, F. X., Alaerts, K., ... & Deen, B. (2014). The autism brain imaging data exchange: towards a large-scale evaluation of the intrinsic brain architecture in autism. *Molecular psychiatry*, *19*(6), 659.

Di Pellegrino, G., Fadiga, L., Fogassi, L., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (1992). Understanding motor events: a neurophysiological study. *Experimental brain research*, *91*(1), 176-180.

Ebisch, S. J., Gallese, V., Willems, R. M., Mantini, D., Groen, W. B., Romani, G. L., ... & Bekkering, H. (2011). Altered intrinsic functional connectivity of anterior and posterior insula regions in high-functioning participants with autism spectrum disorder. *Human brain mapping*, *32*(7), 1013-1028.

Fabbri-Destro, M., Cattaneo, L., Boria, S., & Rizzolatti, G. (2009). Planning actions in autism. *Experimental Brain Research*, *192*(3), 521-525.

Fadiga, L., Fogassi, L., Pavesi, G., & Rizzolatti, G. (1995). Motor facilitation during action observation: a magnetic stimulation study. *Journal of neurophysiology*, *73*(6), 2608-2611.

Falcone, R., Brunamonti, E., Ferraina, S., & Genovesio, A. (2015). Neural encoding of self and another agent's goal in the primate prefrontal cortex: human–monkey interactions. *Cerebral Cortex*, *26*(12), 4613-4622.

Ferrari, P. F., Gregoriou, G., Rozzi, S., Pagliara, S., Rizzolatti, G., & Fogassi, L. (2003). Functional organization of the inferior parietal lobule of the macaque monkey. In *Soc Neurosci Abstr* (Vol. 919).

Fogassi, L., Ferrari, P. F., Gesierich, B., Rozzi, S., Chersi, F., & Rizzolatti, G. (2005). Parietal lobe: from action organization to intention understanding. *Science*, *308*(5722), 662-667.

Forti, S., Valli, A., Perego, P., Nobile, M., Crippa, A., & Molteni, M. (2011). Motor planning and control in autism. A kinematic analysis of preschool children. *Research in Autism Spectrum Disorders*, *5*(2), 834-842.

Friston, K. J., Holmes, A. P., & Worsley, K. J. (1999). How many subjects constitute a study?

Friston, K. J., Glaser, D. E., Henson, R. N., Kiebel, S., Phillips, C., & Ashburner, J. (2002). Classical and bayesian inference in neuroimaging: applications. *Neuroimage*, *16*(2), 484-512.

Gallese, V., Fogassi, L., Fadiga, L., and Rizzolatti, G. (2002). Action representation and the inferior parietal lobule. In W. Prinz, & B. Hommel (Eds.), Attention & Performance XIX. Common mechanisms in perception and action (pp. 334-355). Oxford, U.K.: Oxford University Press

Gallese, V. (2003). The roots of empathy: the shared manifold hypothesis and the neural basis of intersubjectivity. *Psychopathology*, *36*(4), 171-180.

Gallese, V. (2005). Embodied simulation: From neurons to phenomenal experience. *Phenomenology and the cognitive sciences*, *4*(1), 23-48.

Gallese, V. (2011). Neuroscience and phenomenology. *Phenomenology and mind*, (1), 28-39.

Gallese, V., & Sinigaglia, C. (2011). What is so special about embodied simulation? *Trends in cognitive sciences*, *15*(11), 512-519.

Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L., & Rizzolatti, G. (2009). Action recognition in the premotor cortex. *Brain*, *132*, 1685-1689.

Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L., & Rizzolatti, G. (2002). 17 Action representation and the inferior parietal lobule.

Gallese, V., Keysers, C., & Rizzolatti, G. (2004). A unifying view of the basis of social cognition. *Trends in cognitive sciences*, *8*(9), 396-403.

Gazzola, V., Aziz-Zadeh, L., & Keysers, C. (2006). Empathy and the somatotopic auditory mirror system in humans. *Current biology*, *16*(18), 1824-1829.

Gerbella, M., Belmalih, A., Borra, E., Rozzi, S., & Luppino, G. (2011). Cortical connections of the anterior (F5a) subdivision of the macaque ventral premotor area F5. *Brain Structure and Function*, *216*(1), 43-65.

Gizzonio, V., Avanzini, P., Campi, C., Orivoli, S., Piccolo, B., Cantalupo, G., ... & Fabbri-Destro, M. (2015). Failure in pantomime action execution correlates with the severity of social behavior deficits in children with autism: a praxis study. *Journal of autism and developmental disorders*, *45*(10), 3085-3097.

Goldman, A. I., & Sripada, C. S. (2005). Simulationist models of face-based emotion recognition. *Cognition*, *94*(3), 193-213.

Goldman, A., & Gallese, V. (2000). Reply to Schulkin. *Trends in cognitive sciences*, *4*(7), 255-256.

Grosbras, M. H., Beaton, S., & Eickhoff, S. B. (2012). Brain regions involved in human movement perception: A quantitative voxel-based meta-analysis. *Human brain mapping*, *33*(2), 431-454.

Hamilton, A. F. D. C., Brindley, R. M., & Frith, U. (2007). Imitation and action understanding in autistic spectrum disorders: how valid is the hypothesis of a deficit in the mirror neuron system? *Neuropsychologia*, *45*(8), 1859-1868.

Hobson, R. P., & Hobson, J. A. (2008). Dissociable aspects of imitation: A study in autism. *Journal of experimental child psychology*, *101*(3), 170-185.

Hobson, R. P., & Lee, A. (1999). Imitation and identification in autism. *The Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, *40*(4), 649-659.

Hughes, C. (1996). Brief report: Planning problems in autism at the level of motor control. *Journal of autism and developmental disorders*, *26*(1), 99-107.

Hyva, J. (1981). Regional distribution of functions in parietal association area 7 of the monkey. *Brain research*, *206*(2), 287-303.

Iacoboni, M. (2009). Imitation, empathy, and mirror neurons. *Annual review of psychology*, *60*, 653-670.

Iacoboni, M., Molnar-Szakacs, I., Gallese, V., Buccino, G., Mazziotta, J. C., & Rizzolatti, G. (2005). Grasping the intentions of others with one's own mirror neuron system. *PLoS biology*, *3*(3), e79.

Jastorff, J., Begliomini, C., Fabbri-Destro, M., Rizzolatti, G., & Orban, G. A. (2010). Coding observed motor acts: different organizational principles in the parietal and premotor cortex of humans. *Journal of neurophysiology*, *104*(1), 128-140.

Jeannerod, M., Arbib, M. A., Rizzolatti, G., & Sakata, H. (1995). Grasping objects: the cortical mechanisms of visuomotor transformation. *Trends in neurosciences*, *18*(7), 314-320.

Jezzini, A., Caruana, F., Stoianov, I., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (2012). Functional organization of the insula and inner perisylvian regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(25), 10077-10082.

Keysers, C., Kaas, J. H., & Gazzola, V. (2010). Somatosensation in social perception. *Nature Reviews Neuroscience*, *11*(6), 417.

Kilner, J. M. (2011). More than one pathway to action understanding. *Trends in cognitive sciences*, *15*(8), 352-357.

Kohler, E., Keysers, C., Umilta, M. A., Fogassi, L., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (2002). Hearing sounds, understanding actions: action representation in mirror neurons. *Science*, *297*(5582), 846-848.

Kraskov, A., Dancause, N., Quallo, M. M., Shepherd, S., & Lemon, R. N. (2009). Corticospinal neurons in macaque ventral premotor cortex with mirror properties: a potential mechanism for action suppression? *Neuron*, *64*(6), 922-930.

Kurth, F., Zilles, K., Fox, P. T., Laird, A. R., & Eickhoff, S. B. (2010). A link between the systems: functional differentiation and integration within the human insula revealed by meta-analysis. *Brain Structure and Function*, *214*(5-6), 519-534.

Lewis, J. W., Brefczynski, J. A., Phinney, R. E., Janik, J. J., & DeYoe, E. A. (2005). Distinct cortical pathways for processing tool versus animal sounds. *Journal of Neuroscience*, *25*(21), 5148-5158.

Loula, F., Prasad, S., Harber, K., & Shiffrar, M. (2005). Recognizing people from their movement. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, *31*(1), 210.

Lyons-Ruth, K., Bruschweiler-Stern, N., Harrison, A. M., Morgan, A. C., Nahum, J. P., Sander, L., ... & Tronick, E. Z. (1998). Implicit relational knowing: Its role in development and psychoanalytic treatment. *Infant mental health journal*, *19*(3), 282-289.

MacNeil, L. K., & Mostofsky, S. H. (2012). Specificity of dyspraxia in children with autism. *Neuropsychology*, *26*(2), 165.

Matelli, M., Camarda, R., Glickstein, M., & Rizzolatti, G. (1986). Afferent and efferent projections of the inferior area 6 in the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology*, *251*(3), 281-298.

Merleau-Ponty, M. (1996). *Phenomenology of perception*. Motilal Banarsidass Publishe.

Mesulam, M., & Mufson, E. J. (1982). Insula of the old world monkey. III: Efferent cortical output and comments on function. *Journal of Comparative Neurology*, *212*(1), 38-52.

Molenberghs, P., Cunnington, R., & Mattingley, J. B. (2012). Brain regions with mirror properties: a meta-analysis of 125 human fMRI studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *36*(1), 341-349.

Mountcastle, V. B., Lynch, J. C., Georgopoulos, A., Sakata, H., & Acuna, C. (1975). Posterior parietal association cortex of the monkey: command functions for operations within extrapersonal space. *Journal of neurophysiology*, *38*(4), 871-908.

Nelissen, K., & Vanduffel, W. (2011). Grasping-related functional magnetic resonance imaging brain responses in the macaque monkey. *Journal of Neuroscience*, *31*(22), 8220-8229.

Nelissen, K., Borra, E., Gerbella, M., Rozzi, S., Luppino, G., Vanduffel, W., ... & Orban, G. A. (2011). Action observation circuits in the macaque monkey cortex. *Journal of Neuroscience*, *31*(10), 3743-3756.

Nelissen, K., Luppino, G., Vanduffel, W., Rizzolatti, G., & Orban, G. A. (2005). Observing others: multiple action representation in the frontal lobe. *Science*, *310*(5746), 332-336.

Niedenthal, P. M. (2007). Embodying emotion. *science*, *316*(5827), 1002-1005.

Petrides, M., & Pandya, D. N. (1984). Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey. *Journal of Comparative neurology*, *228*(1), 105-116.

Rizzolatti, G., & Craighero, L. (2004). The mirror-neuron system. *Annu. Rev. Neurosci.*, *27*, 169-192.

Rizzolatti, G., & Sinigaglia, C. (2006). *So quel che fai: il cervello che agisce ei neuroni specchio*. R. Cortina ed.

Rizzolatti, G., Cattaneo, L., Fabbri-Destro, M., & Rozzi, S. (2014). Cortical mechanisms underlying the organization of goal-directed actions and mirror neuron-based action understanding. *Physiological reviews*, *94*(2), 655-706.

Rizzolatti, G., Fadiga, L., Gallese, V. & Fogassi, L. (1996). Premotor cortex and the recognition of motor actions. Cogn. *Brain Res*. 3, 131–141

Rizzolatti, G., Fogassi, L., & Gallese, V. (2001). Neurophysiological mechanisms underlying the understanding and imitation of action. *Nature reviews neuroscience*, *2*(9), 661.

Rochat, M. J., Caruana, F., Jezzini, A., Intskirveli, I., Grammont, F., Gallese, V., ... & Umiltà, M. A. (2010). Responses of mirror neurons in area F5 to hand and tool grasping observation. *Experimental brain research*, *204*(4), 605-616.

Rochat, M. J., Veroni, V., Bruschweiler-Stern, N., Pieraccini, C., Bonnet-Brilhault, F., Barthélémy, C., ... & Rizzolatti, G. (2013). Impaired vitality form recognition in autism. *Neuropsychologia*, *51*(10), 1918-1924.

Seltzer, B., & Pandya, D. N. (1994). Parietal, temporal, and occipita projections to cortex of the superior temporal sulcus in the rhesus monkey: A retrograde tracer study. *Journal of Comparative Neurology*, *343*(3), 445-463.

Sestito, M., Umiltà, M. A., De Paola, G., Fortunati, R., Raballo, A., Leuci, E., ... & Gallese, V. (2013). Facial reactions in response to dynamic emotional stimuli in different modalities in patients suffering from schizophrenia: a behavioral and EMG study. *Frontiers in human neuroscience*, *7*, 368.

Silvanto, J., Muggleton, N., & Walsh, V. (2008). State-dependency in brain stimulation studies of perception and cognition. *Trends in cognitive sciences*, *12*(12), 447-454.

Sparaci, L., Formica, D., Lasorsa, F. R., Mazzone, L., Valeri, G., & Vicari, S. (2015). Untrivial pursuit: measuring motor procedures learning in children with autism. *Autism Research*, *8*(4), 398-411.

Sparaci, L., Stefanini, S., D'Elia, L., Vicari, S., & Rizzolatti, G. (2014). What and why understanding in autism spectrum disorders and Williams syndrome: Similarities and differences. *Autism Research*, *7*(4), 421-432.

Sparaci, L., Stefanini, S., Marotta, L., Vicari, S., & Rizzolatti, G. (2012). Understanding motor acts and motor intentions in Williams syndrome. *Neuropsychologia*, *50*(7), 1639-1649.

Stern, D. N. (2010). *Forms of vitality: Exploring dynamic experience in psychology, the arts, psychotherapy, and development*. Oxford University Press.

Stern, D. N. (1985). *The interpersonal world of the infant: A view from psychoanalysis and developmental psychology*. Karnac Books.

Thelen, E., & Smith, L. B. (1996). *A dynamic systems approach to the development of cognition and action*. MIT press.

Trevarthen, C. (1998). The concept and foundations of infant intersubjectivity. *Intersubjective communication and emotion in early ontogeny*, 15-46.

Van Atteveldt, N., Formisano, E., Goebel, R., & Blomert, L. (2004). Integration of letters and speech sounds in the human brain. *Neuron*, *43*(2), 271-282.

Vigneswaran, G., Philipp, R., Lemon, R. N., & Kraskov, A. (2013). M1 corticospinal mirror neurons and their role in movement suppression during action observation. *Current Biology*, *23*(3), 236-243.

Wicker, B., Keysers, C., Plailly, J., Royet, J. P., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (2003). Both of us disgusted in My insula: the common neural basis of seeing and feeling disgust. *Neuron*, *40*(3), 655-664.

Yokochi, H., Tanaka, M., Kumashiro, M., & Iriki, A. (2003). Inferior parietal somatosensory neurons coding face-hand coordination in Japanese macaques. *Somatosensory & motor research*, *20*(2), 115-125.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il mio relatore, il prof. Leornardo Fogassi per la gentilezza, la competenza e la disponibilità con la quale mi ha accompagnata in questo percorso di tesi.

Ringrazio il mio tutor, Giuseppe di Cesare per essersi preso carico con pazienza e dedizione della mia formazione, per avermi spronato giorno dopo giorno a coltivare lo spirito critico, la curiosità e la passione per la ricerca, ponendomi sempre di fronte a nuovi sfide e difficoltà da affrontare insieme.

Ringrazio tutti gli altri membri del laboratorio di risonanza magnetica funzionale, in particolare Antonino Errante e Chiara Pinardi per essersi mostrati sempre disponibili con me e per aver reso la mia permanenza nel laboratorio non solo profondamente istruttiva ma anche piacevolmente formativa dal punto di vista umano.

Ringrazio voi, mamma e papà, per avermi permesso di realizzare tutto questo; per aver creduto in me, per avermi supportato e sostenuto ogni giorno, nonostante la distanza e la nostalgia. Tu, papà, da instancabile lavoratore quale sei, mi hai dato l'esempio e la forza di non mollare, di resistere nei momenti di difficoltà e di perseguire ogni obiettivo con forza e tenacia, cercando di dare il massimo, sempre. E tu mamma che hai fatto fatica ad accettare il distacco, la partenza e i mesi trascorsi senza potermi vedere, ma che hai sofferto in silenzio pur di non farmi mai mancare la tua presenza e il tuo amore. Questo traguardo lo dedico soprattutto a voi.

Manu, ringrazio anche te, perché noi abbiamo sempre parlato con i "silenzi", eppure in quei silenzi io ho sempre trovato la certezza di un legame indissolubile, come solo quello tra fratello e sorella sa essere. Spero, oggi, di averti reso orgoglioso di me.

Ringrazio te Giulia. Sai bene da quanta diffidenza sia io costernata ma tu hai saputo non fermarti alle apparenze, hai saputo abbattere tutti i muri e scandagliare a fondo lati di me che davvero in pochi sono riusciti a raggiungere. Sei stata una delle cose più belle che mi sia capitata in questi due anni e spero, di cuore, che questo legame continui .

Ringrazio te, Nunzio che sei stato un compagno leale, fedele, amorevole e sempre presente. Hai colmato ogni mia insicurezza e ogni mia paura. Sei stato paziente e comprensivo con me ogni giorno. Da te ho imparato ad affrontare le difficoltà con la filosofia che da sempre ti contraddistingue, perché alla fine, come dici tu, "tutto andrà per il meglio". E tu di quel meglio, ne fai parte.

Ringrazio le mie amiche storiche, le mie rocce, i miei punti fermi. Ringrazio te Debora, che sei da anni ormai la mia parte mancante, l'altra metà della mela, il mio alter ego, la mia persona. Ringrazio te Silvia, che soprattutto in questi ultimi anni non sei solo stata una conferma ma una felice "riscoperta" perché hai saputo ascoltarmi, comprendermi e spronarmi a credere di più in me stessa senza sentirmi sempre sbagliata. Ringrazio te Oriana, che per me sei stata esempio di come nella vita bisogna imparare a coltivare e seguire le proprie passioni e i propri ideali. E ringrazio te, Valentina che ora più che mai mi dimostri quanta forza serva per costruire sé stessi e trovare la strada giusta, imparando dai propri errori.