

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

Sviluppo di un test computerizzato per la valutazione
degli effetti della tDCS sulle funzioni cognitive

Elaborato in

Laboratorio di Strumentazione Biomedica

Relatore

Prof. Maurizio Lannocca

Presentato da

Arianna Tanguenza

Correlatore

Dott.ssa Anna Lisa Mangia

II° sessione

Anno Accademico 2015-2016

Indice

INDICE.....	II
INDICE DELLE FIGURE	III
1. INTRODUZIONE.....	1
2. FUNZIONI COGNITIVE.....	3
2.1 GENERALITÀ	3
2.2 TRAINING COGNITIVO CON TEST COMPUTERIZZATO.....	3
2.3 TDCS E FUNZIONI COGNITIVE	5
2.4 FUNZIONI ESECUTIVE: STRUTTURA E AREE CEREBRALI INTERESSATE	7
3. VALUTAZIONE DELLE FUNZIONI ESECUTIVE ATTRAVERSO TEST COGNITIVO: TEMPI DI REAZIONE COMPLESSI	10
3.1 DESCRIZIONE DEL TEST	10
3.2 IMPLEMENTAZIONE IN AMBIENTE LABVIEW	12
4. ATTIVITÀ SPERIMENTALE	20
4.1 OBIETTIVI.....	20
4.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE	20
4.3 PARAMETRI DI STIMOLAZIONE	21
4.4 METODI PER L'ELABORAZIONE DEI RISULTATI	23
5. RISULTATI E DISCUSSIONE	25
5.1 TEMPI DI REAZIONE	25
5.2 FALSI ALLARMI, OMISSIONI, RISPOSTE VALIDE.....	27
6. CONCLUSIONI.....	31
BIBLIOGRAFIA.....	33

Indice delle figure

Figura 3.1: Schermata tipo della fase di test: a destra stimolo distrattore, a sinistra stimolo target	12
Figura 3.2: Schermata tipo della fase di training: a destra stimolo target, a sinistra stimolo distrattore	12
Figura 3.3: Codice di implementazione di scelta e visualizzazione.....	14
Figura 3.4: Codice per bilanciamento delle visualizzazioni in base a tipologia e colore....	15
Figura 3.5: Codice per l'evento Timeout.....	16
Figura 3.6: Codice per l'evento Key Down.....	17
Figura 3.7: Codice per il controllo della pressione del tasto corretto	17
Figura 3.8: Codice per il riconoscimento eventi (in questo caso pressione valida con lettera blu).....	18
Figura 4.1: Andamento della corrente per stimolazione normale e sham.....	22
Figura 4.2: Posizionamento degli elettrodi secondo il Sistema Internazionale 10-20	23
Figura 5.1: Risultati del test di Kruskal-Wallis sui tempi di reazione	25
Figura 5.2: Distribuzione dei valori per la classificazione delle risposte.....	27
Figura 5.3: Andamento complessivo dei risultati - Falsi allarmi	29
Figura 5.4: Andamento complessivo dei risultati – Omissioni	29
Figura 5.5: Andamento complessivo dei risultati - Risposte valide.....	30

1. Introduzione

Nelle situazioni che richiedono concentrazione ed attenzione prolungata, se il comportamento che si decide di assumere è diretto ad uno scopo ben preciso, è necessario attivare una serie di processi mentali particolari che nel loro insieme prendono il nome di funzioni esecutive. Queste sono una particolare declinazione delle funzioni cognitive, ovvero di quei meccanismi cerebrali che permettono di relazionarsi con l'ambiente esterno in base agli stimoli recepiti. Le funzioni esecutive risultano deficitarie in un numero elevato di patologie a carico del sistema nervoso, dalla depressione al morbo di Parkinson, con conseguenze che possono essere molto debilitanti per chi ne soffre. La valutazione neuropsicologica e l'utilizzo di test specifici permettono di evidenziare questo tipo di deficit, per stabilire un percorso terapeutico/riabilitativo adatto.

In questo campo la stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS) rappresenta uno strumento di neuromodulazione non invasivo e a costo contenuto che permette di modificare l'attivazione di particolari aree cerebrali tramite l'applicazione di piccole correnti sullo scalpo. La tDCS può essere utilizzata sia per ottenere un potenziamento cognitivo (*neuroenhancement*), se applicata in soggetti sani, sia per la riabilitazione dei soggetti patologici.

Questo elaborato si pone lo scopo di valutare quali possano essere gli effetti della tDCS sulla performance cognitiva di soggetti sani. Lo studio, condotto presso il Laboratorio di Ingegneria Biomedica di Cesena, ha coinvolto dieci soggetti, che sono stati valutati considerando i risultati di un test computerizzato prima e dopo essere stati sottoposti alla tDCS. Il test è stato progettato e sviluppato con il software LabVIEW: la scelta di un'interfaccia computerizzata ha il vantaggio di garantire una migliore accuratezza dei dati acquisiti, oltre che quello di permettere la personalizzazione in base all'ambito di applicazione del test.

Il capitolo 2 dell'elaborato affronta le basi teoriche dello studio effettuato. In particolare viene discusso il ruolo dei processi cognitivi nella vita quotidiana e le patologie causate da deficit a carico delle aree cerebrali coinvolte. Per questo motivo si considera la possibilità di valutare le capacità cognitive di soggetti sani e patologici tramite test con

interfaccia computerizzata, con una breve analisi dello stato dell'arte per quanto riguarda le batterie di test cognitivi computerizzati disponibili. In seguito viene introdotta la tDCS come strumento di potenziamento delle funzioni esecutive. Viene fornita dunque una panoramica sulle aree cerebrali coinvolte in questi meccanismi cognitivi e sui parametri ideali da utilizzare per ottenere l'effetto desiderato, supportati da esempi presi da studi presenti in letteratura.

Nel capitolo 3 viene descritta nel suo complesso la struttura del test che è stato sviluppato per la valutazione delle funzioni esecutive, a partire da un test sui tempi di reazione complessi presente nella batteria TAP-M dell'azienda PsyTest. Il test è stato implementato utilizzando il software LabVIEW: in questa sezione dell'elaborato si analizzano le funzioni e le strutture utilizzate per il corretto svolgimento del test e la raccolta dei dati di interesse.

Il capitolo 4 contiene la descrizione del set-up sperimentale adottato, in particolare riguardo le modalità di stimolazione, il posizionamento degli elettrodi e la struttura dell'esperimento. Vengono introdotti inoltre i metodi statistici per l'elaborazione dei risultati, eseguita in MATLAB.

Nel capitolo 5 vengono riportati i risultati ottenuti negli esperimenti: l'analisi è condotta separatamente per i tempi di reazione e per la classificazione delle risposte del test, utilizzando gli strumenti descritti nel capitolo 4. Combinando le due analisi vengono poi evidenziati i risultati generali sulla performance cognitiva del campione considerato.

Il capitolo finale è dedicato ad una discussione generale dei risultati ottenuti, agli aspetti che possono essere migliorati in questo tipo di approccio ed alla possibilità di sviluppi futuri della metodologia analizzata.

2. Funzioni cognitive

2.1 Generalità

Le funzioni cognitive sono un complesso di meccanismi cerebrali di alto livello che permettono di relazionarsi con l'ambiente circostante ed adattare il proprio comportamento in risposta agli stimoli esterni. Questa categoria include un insieme eterogeneo di processi, come comprensione e uso della lingua, abilità di calcolo, attenzione, memoria, apprendimento, comportamento emozionale (Rif. [1]).

A livello cerebrale si tratta di processi che avvengono nelle corteccie associative, parti del telencefalo che ricevono afferenze da diverse modalità sensoriali (elaborate in prima istanza dalle corteccie specifiche) e le integrano in modo da generare percezione. In questo modo la realtà può essere interpretata sulla base di esperienze pregresse e in vista di situazioni future. Sono responsabili per le funzioni cognitive le aree associative nei lobi frontale, parietale e temporale, ed è in parte coinvolto il cervelletto: infatti lesioni di varia entità che colpiscano queste aree sono alla base di deficit funzionali che compromettono la qualità della vita. In particolare sono coinvolti una serie di disturbi neuropsichiatrici come quelli del comportamento (depressione, disturbo bipolare), schizofrenia, disturbo ossessivo-compulsivo, deficit di attenzione, fino a patologie neurodegenerative che interessano sia il movimento - come il morbo di Parkinson - sia i processi mnemonici, come demenza e malattia di Alzheimer (Rif. [2]).

2.2 Training cognitivo con test computerizzato

Per limitare la perdita progressiva delle capacità cognitive o potenziarle è possibile ricorrere al training cognitivo. Con questo strumento è infatti possibile sfruttare l'elevata plasticità del cervello umano - ovvero la sua capacità di adattare la propria struttura e le connessioni in base all'esperienza - per facilitare la riorganizzazione dei circuiti neuronali responsabili dei processi cognitivi. Nonostante questo tipo di meccanismi abbia la sua massima evidenza nei bambini e fino alla tarda adolescenza, è possibile sfruttare la plasticità neuronale anche in età adulta.

Nel caso in cui si vogliono migliorare le performance cognitive l'allenamento può risultare utile a quei soggetti che svolgano attività che prevedono elevata accuratezza, velocità di esecuzione e attenzione sostenuta. Ne sono un esempio le operazioni di sorveglianza e sicurezza, soprattutto a livello militare, ma anche azioni quotidiane come la guida o lo studio prolungato.

La valutazione cognitiva permette in prima battuta la misura del funzionamento delle componenti cognitive, tramite la somministrazione di batterie di test, per la determinazione del profilo neuropsicologico e di eventuali patologie a carico del sistema nervoso (Rif. [6]). Test cognitivi dello stesso tipo possono essere utilizzati su soggetti sani per valutare e potenziare le loro capacità; in questo senso può risultare vantaggioso l'utilizzo di interfacce computerizzate per la progettazione e l'esecuzione dei test.

I test computerizzati sono particolarmente efficaci rispetto ai test tradizionali "carta e matita" perché hanno una grande versatilità per la scelta del supporto da utilizzare: come dispositivi di input possono essere utilizzate tastiere personalizzate, penne compatibili con i *touch screen*, una *work-station* specifica (come avviene nei software Vienna Test System e Computerized Neurocognitive Assessment Software), un'interfaccia personalizzata e semplificata nel caso di utilizzo con soggetti in età scolare o prescolare. La compagnia tedesca Psytest ha sviluppato una serie di batterie di test per l'analisi dell'attenzione (Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung, TAP) con tre prodotti principali, destinati ai bambini tra i 6 e i 10 anni (Ki-TAP) e agli adulti. Per gli adulti sono disponibili sia una versione standard del test (TAP) sia una specifica per la prova dell'idoneità alla guida (TAP-M). All'interno delle batterie si trovano una serie di test standard mirati a comprendere i diversi aspetti dell'attenzione, come ad esempio l'attenzione divisa, l'attenzione sostenuta, la flessibilità cognitiva, la vigilanza (Rif. [7]).

Con un'interfaccia informatizzata si ottiene l'acquisizione immediata dei dati di interesse, non più operatore-dipendente e più precisa: se si vogliono misurare ad esempio dei tempi di reazione ad uno stimolo si può ottenere un'accuratezza dell'ordine dei millisecondi, precisione questa non percettibile manualmente.

I dati ottenuti possono poi essere archiviati e sono facilmente reperibili per elaborazioni, analisi successive o confronti nel follow-up dei singoli pazienti.

2.3 tDCS e funzioni cognitive

Il potenziamento delle funzioni cognitive può basarsi sia sul trattamento farmacologico sia sulla neurostimolazione (Rif. [2] [4]). Considerato il cattivo rapporto tra benefici ed effetti collaterali della prima metodologia, la ricerca e l'applicazione clinica si sono sempre più dirette verso le tecniche di stimolazione cerebrale diretta. Le tipologie di stimolazione più conosciute sono la DBS (Deep Brain Stimulation) e la TMS (Transcranial Magnetic Stimulation): la prima prevede l'impianto di elettrodi nel subtalamo per l'eccitazione diretta dei neuroni, mentre la seconda utilizza correnti variabili in una bobina di materiale ferromagnetico per indurre direttamente correnti a livello corticale e generare potenziali d'azione (Rif. [8]). La stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS, Transcranial Direct Current Stimulation) rappresenta un'alternativa altrettanto valida, non invasiva e a basso costo, che permette di modificare l'attività neuronale con la somministrazione di basse intensità di corrente.

La corrente viene applicata direttamente sullo scalpo tramite due o più elettrodi, un anodo (carica positiva) e un catodo (carica negativa): esistono tuttavia tecniche che utilizzano un numero superiore di elettrodi, come la tDCS ad alta definizione, che permette di ottenere una focalizzazione migliore della stimolazione con l'utilizzo di un montaggio a quattro elettrodi. Poiché le correnti applicate hanno intensità tra 1 e 2 mA, utilizzando un montaggio standard con elettrodi di 35 cm² la densità di corrente che attraversa lo scalpo si trova nell'intervallo [0.26÷0.57] A/m².

Riducendo la dimensione degli elettrodi è possibile garantire una migliore focalizzazione dello stimolo, ottenendo per contro un aumento della dispersione della corrente a livello del cuoio capelluto e della cute; in base al risultato che si vuole ottenere è quindi necessario arrivare ad un compromesso tra dispersione e focalizzazione della corrente nella scelta dei parametri di stimolazione. (Rif. [8])

L'applicazione di piccole correnti sulla corteccia si riflette in un effetto neuromodulatorio: il potenziale di membrana viene modificato attraverso potenziali elettrotonici, che hanno effetti diversi a seconda del tipo di stimolazione applicato e quindi del campo elettrico che si crea tra i due elettrodi.

Sono infatti possibili due modalità di stimolazione:

1. tDCS anodica: genera un innalzamento del potenziale di membrana, di conseguenza una facilitazione per la depolarizzazione delle cellule nervose dell'area interessata poiché viene abbassata la soglia di attivazione;
2. tDCS catodica: i potenziali elettrotonici tendono ad iperpolarizzare le cellule coinvolte nella stimolazione (nell'area sotto al catodo), con effetto inibitorio sulla funzione associata a tale area cerebrale.

Una volta scelta la modalità uno degli elettrodi funziona da stimolatore e l'altro da riferimento: quest'ultimo può essere posizionato sia sullo scalpo (riferimento cefalico) sia su un'area distante da esso, solitamente l'arto superiore (riferimento extra cefalico). Il montaggio deve in ogni caso garantire che la distanza tra gli elettrodi sia tale da evitare l'influenza reciproca dei due elettrodi sull'attivazione corticale. Il posizionamento degli elettrodi è un aspetto critico poiché da questo dipende la direzione del flusso di corrente; dovendo attraversare il cuoio capelluto e il cranio, è necessario modulare la corrente in modo che una quantità sufficiente raggiunga l'area da stimolare (Rif. [8] [9]).

La stimolazione diretta di aree cerebrali specifiche, in particolare quella anodica, consente di incrementare l'attività correlata a tale zona: le applicazioni della tDCS includono la sfera motoria, somatosensitiva, visiva, cognitiva, oltre alla riabilitazione di traumi a livello cerebrale e la terapia del dolore e di alcune dipendenze (Rif. [9]). Per quanto riguarda i deficit cognitivi, ad esempio, questi possono essere associati ad una lesione dell'area cerebrale coinvolta in un particolare processo.

Diverse aree cerebrali partecipano alle funzioni cognitive (Rif. [10]):

- La corteccia prefrontale, situata nella regione anteriore del lobo frontale, partecipa alla pianificazione e attuazione dei comportamenti ed è coinvolta nelle funzioni esecutive;
- I gangli della base cooperano con la corteccia prefrontale dorsolaterale nel controllo delle funzioni esecutive e nei processi di memoria a breve termine;
- La corteccia associativa parieto-temporo-occipitale, situata nel lobo parietale, prende parte ai processi attentivi (nell'emisfero destro) e di elaborazione del linguaggio (nell'emisfero sinistro);

- Il sistema limbico ha un ruolo nel consolidamento della memoria e nei processi di apprendimento, elaborazione, memoria legati alle emozioni ed alla motivazione;
- Il cervelletto partecipa alla comprensione del linguaggio, all'osservazione dei movimenti altrui e alla pianificazione del movimento.

2.4 Funzioni esecutive: struttura e aree cerebrali interessate

Tra le funzioni cognitive assumono particolare importanza – anche per la possibilità di essere valutate tramite l'esecuzione di semplici test, come discusso nel paragrafo precedente – le funzioni esecutive. Queste, dette anche controllo cognitivo o controllo esecutivo, sono un insieme di processi mentali coinvolti nelle situazioni che richiedono concentrazione e attenzione, nel caso in cui sia evidente che processi istintivi o automatici non sarebbero sufficienti a raggiungere il risultato sperato (Rif. [3]). In questi contesti i processi cognitivi attivati cooperano per il raggiungimento di uno scopo nel breve termine, per la pianificazione e la correzione di azioni intraprese e per l'adattamento a nuovi ambienti.

La letteratura (Rif. [3]) distingue tre funzioni esecutive di base:

- **Controllo inibitorio:** include i processi, come l'attenzione selettiva, che consentono di scegliere a quali stimoli fornire più importanza rispetto ad altri nell'esecuzione di un compito, l'autocontrollo, l'inibizione comportamentale e cognitiva;
- **Memoria di lavoro (*working memory*):** distinguibile in verbale e visuo-spaziale, permette di immagazzinare informazioni e manipolarle in modo da mettere in relazione avvenimenti precedenti e attuali. Si tratta di una funzione strettamente correlata alla precedente, poiché la buona riuscita di un ragionamento è supportata dalla soppressione degli stimoli esterni;
- **Flessibilità cognitiva:** coinvolge sia la memoria di lavoro che il controllo inibitorio e permette il cambio di prospettiva sia dal punto di vista puramente orientativo che personale.

L'area cerebrale deputata allo svolgimento di tali funzioni è la corteccia prefrontale, in particolare nell'area dorsolaterale, situata subito davanti alla corteccia motoria primaria. La zona caudale della DLPFC (*Dorsolateral Prefrontal Cortex*) è coinvolta nella selezione tra stimoli alternativi e quella mediale nella working memory.

Il potenziamento delle funzioni esecutive deve essere quindi mirato ad aumentare e specializzare l'attività di queste aree cerebrali: gli effetti su popolazioni sane sono stati verificati con la combinazione di test cognitivi e stimolazione con parametri differenti.

A titolo di esempio si considerano gli studi di Nelson, Hoy e Fregni, che mostrano quali siano gli aspetti chiave dell'utilizzo della tDCS nel potenziamento e nella valutazione cognitiva.

Nello studio di Nelson è stato testato un gruppo di militari su un task di vigilanza e attenzione sostenuta: con la somministrazione di 1 mA di corrente sulla corteccia prefrontale destra e sinistra (in due prove), si è ottenuto un miglioramento del riconoscimento dei target in entrambe le condizioni. I risultati migliori sono stati ottenuti nel caso di stimolazione della corteccia prefrontale sinistra (Rif. [11])

Nello studio di Hoy si è invece analizzata la dipendenza tra intensità di corrente somministrata alla corteccia prefrontale sinistra ed effetti della stimolazione all'interno di un gruppo di soggetti sani. Questo studio, correlato da un *n-back test*, ha evidenziato come un aumento dell'intensità da 1 mA a 2 mA non produca miglioramenti significativi riguardanti accuratezza e attivazione neurologica ma anzi i tempi di reazione siano migliori nella prima condizione (Rif. [12])

Lo studio di Fregni evidenzia l'importanza della scelta della regione da stimolare: sono stati infatti effettuati esperimenti su un *n-back test* con stimolazione anodica sulla corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra, sulla regione sopraorbitale e sulla corteccia motoria primaria. Gli effetti significativi hanno riguardato in questo caso solamente la stimolazione della DLPFC sinistra, mentre non si sono registrati risultati migliorativi nelle altre condizioni (Rif. [13]).

Poiché la strumentazione necessaria consiste in uno stimolatore di dimensioni ridotte, tali da poter essere trasportato e facilmente utilizzato dai pazienti che ricevano questo tipo di trattamento, e gli effetti collaterali sono di entità trascurabile è quindi auspicabile che la

tDCS sia utilizzata per il potenziamento cognitivo, in combinazione con l'esecuzione di test specifici.

Questo elaborato si concentra sullo sviluppo di un test cognitivo che prevede di valutare diversi aspetti legati all'attenzione sostenuta, in particolare flessibilità ed inibizione cognitiva, memoria di lavoro e attenzione visiva selettiva. L'analisi della performance cognitiva viene eseguita tramite un test sui tempi di reazione complessi, misurando quindi la velocità di scelta e riconoscimento di più stimoli visivi in sequenze che comprendono stimoli neutrali e target. Avendo analizzato una popolazione sana, il test ha una media difficoltà dal punto di vista esecutivo (Rif. [14]).

3. Valutazione delle funzioni esecutive attraverso test cognitivo: tempi di reazione complessi

3.1 Descrizione del test

Per la valutazione delle funzioni esecutive è stato progettato un test cognitivo sui tempi di reazione complessi. Nell'esecuzione di questo compito è richiesto il riconoscimento e la scelta di uno stimolo (visivo o uditivo) all'interno di una sequenza che comprende stimoli bersaglio (target) e neutrali. I tempi di reazione complessi si distinguono dai tempi di reazione semplici perché questi ultimi richiedono il solo riconoscimento di uno stimolo target.

Il test considerato è incluso all'interno di una batteria ideata dalla PsyTest per la valutazione del mantenimento dell'attenzione, in particolare del software TAP-M: come già discusso, questa batteria comprende test mirati alla valutazione dell'idoneità alla guida. Il mantenimento dell'attenzione è infatti un processo cognitivo indispensabile in azioni quotidiane come la guida di un'automobile, fortemente inibito nelle condizioni patologiche legate a traumi, lesioni o degenerazione del sistema nervoso.

Il test prevede che al centro dello schermo del computer appaia una sequenza di simboli: questi possono essere numeri o lettere, di colore indifferentemente rosso o blu. Il soggetto sottoposto al test dovrà riconoscere, il più velocemente possibile, i **numeri rossi** premendo il tasto 1 e le **lettere blu** premendo il tasto 8 della tastiera.

Per ogni test effettuato si registrano:

- Tempi di reazione, con media e deviazione standard;
- Risposte valide: pressioni del tasto associato allo stimolo target visualizzato entro i tempi previsti;
- Omissioni: mancate o tardive pressioni del tasto di risposta in corrispondenza di uno stimolo target;
- Falsi allarmi: pressioni di uno dei due tasti di risposta alla visualizzazione di uno stimolo distrattore o doppi clic alla visualizzazione di uno stimolo target.

Per rendere i soggetti abili nell'esecuzione di questo task è stato incluso a monte del test una fase di training, che replica le condizioni del test ma non prevede la registrazione dei tempi di reazione.

Dal punto di vista cognitivo questo test coinvolge un insieme di funzioni esecutive:

- *Memoria di lavoro* per il mantenimento delle informazioni relative all'associazione tra stimolo target e risposta corretta, ovvero “numero rosso-tasto 1” e “lettera blu-tasto 8”. Devono essere memorizzate quindi due caratteristiche dello stimolo, tipologia e colore, e richiamate simultaneamente quando questo viene analizzato.
- *Attenzione divisa*: durante l'esecuzione del test l'attenzione deve essere diretta a due caratteristiche diverse dello stimolo.
- *Flessibilità mentale* nella distinzione tra stimoli target e distrattori in base alla combinazione delle caratteristiche dello stimolo.
- *Attenzione visiva selettiva*, concentrata nell'unico punto di visualizzazione degli stimoli (il centro dello schermo)
- *Reazione alla scelta*: è necessario associare un'azione motoria alla visione dello stimolo.
- *Inibizione*: vanno evitate reazioni sbagliate indotte dal colore dello stimolo nel caso di vista di uno stimolo distrattore.

La durata del test è di circa 3' 20"; in questo intervallo di tempo sono mostrati 80 stimoli, 40 dei quali sono target (Rif. [15]). La fase di training, precedente al test vero e proprio, prevede la visualizzazione di 12 stimoli, 6 dei quali target. In entrambe le situazioni c'è bilanciamento nel tipo di stimoli visualizzati: la sequenza contiene quindi in percentuali uguali numeri rossi, lettere rosse, numeri blu, lettere blu.

In Figura 3.1 e Figura 3.2 sono mostrate le diverse interfacce ottenute rispettivamente per il test e per il training, con stimoli target e distrattori.

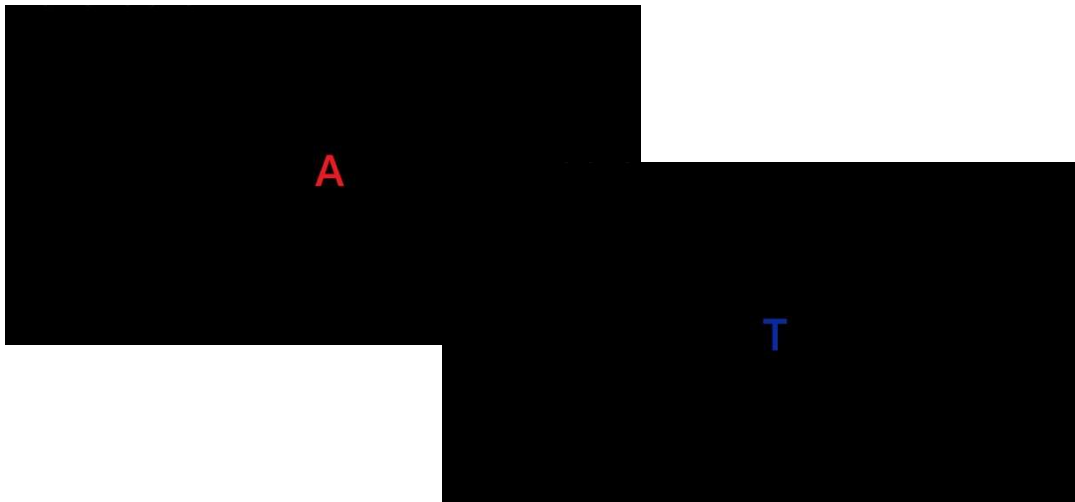


Figura 3.1: Schermata tipo della fase di test: a destra stimolo distrattore, a sinistra stimolo target

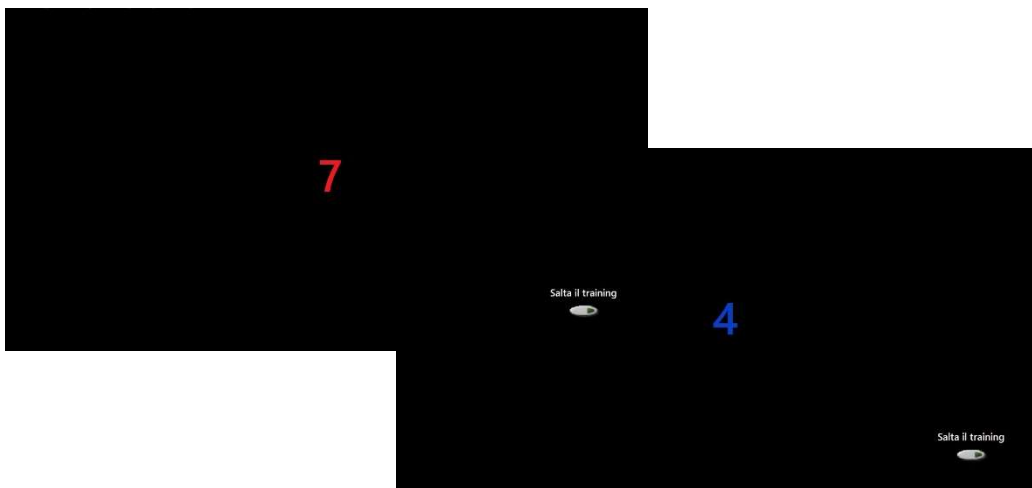


Figura 3.2: Schermata tipo della fase di training: a destra stimolo target, a sinistra stimolo distrattore

3.2 Implementazione in ambiente LabVIEW

Per l'implementazione del test è stato utilizzato il software LabVIEW. LabVIEW è un ambiente di sviluppo integrato che sfrutta un linguaggio di programmazione grafica (G – Graphical Programming Language) ed utilizza un modello a flusso di dati invece di linee sequenziali di codice testuale, come invece avviene per i linguaggi di programmazione più comuni (come C o Java). Il layout grafico ottenuto è simile a quello di un diagramma di flusso, che permette una facile lettura del codice da parte dell'utente (Rif. [16]).

LabVIEW consente di creare degli strumenti virtuali (*virtual instruments* o più semplicemente VI, file *.vi) che consentono, oltre all'elaborazione dei dati, anche di effettuare acquisizioni e misure da schede o supporti di input sia interni che esterni.

Ogni VI contiene due sezioni:

- *Front panel*: interfaccia utente personalizzabile, sulla quale possono essere visualizzati gli output (che vengono definiti Indicatori) o regolati gli ingressi al sistema durante l'esecuzione attraverso Controlli;
- *Block diagram*: contiene il codice di programmazione in forma grafica; i blocchi vengono eseguiti in sequenza una volta che tutti i dati sono disponibili in ingresso.

All'interno del VI i blocchi sono collegati da fili: questi trasportano i tipi di dati disponibili, distinti da un codice colore:

- I booleani sono rappresentati in verde;
- I numeri a precisione doppia (*double*) sono rappresentati in arancio;
- I numeri interi sono rappresentati in blu;
- I caratteri sono rappresentati in magenta.

È possibile inserire all'interno di un VI – che opera come il “*main program*” – dei sottoprogrammi (*subVI*) che contengono parte di codice che deve essere eseguito più volte all'interno dello stesso programma o che se inserito in forma estesa potrebbe rendere più difficile la lettura del codice. Esistono dei subVI *built-in* di LabVIEW, ad esempio, per il calcolo di media e deviazione standard di un campione di dati, o per l'elaborazione dei dati provenienti da una scheda di acquisizione.

Gli aspetti critici del test sopra descritto dal punto di vista implementativo sono:

- a. La visualizzazione degli stimoli, bilanciata in base a tipologia, colore e alla percentuale di stimoli target;
- b. Il riconoscimento della pressione di un tasto e la registrazione del tempo di risposta se la pressione segue la visualizzazione di un target;
- c. L'aggiornamento dei contatori in base allo stimolo visualizzato e all'eventuale pressione del tasto.

La struttura *Flat Sequence* permette di eseguire in sequenza, da sinistra verso destra, dei blocchi di istruzioni separati, non iniziando il frame successivo finché tutti gli output del precedente non sono disponibili. Nel codice considerato il primo frame contiene la parte di caricamento dei dati e scelta del tipo di stimolo da visualizzare, nel secondo vengono prima gestiti in parallelo la visualizzazione e il riconoscimento degli eventi, poi si verifica

quali output debbano essere aggiornati. Questa sequenza è inserita all'interno di un *While Loop* avente come condizione di uscita il raggiungimento delle 80 visualizzazioni, memorizzate da un contatore. Nel VI che gestisce la fase di training, al contrario, è possibile interrompere l'esecuzione attraverso un pulsante visibile sul Front panel.

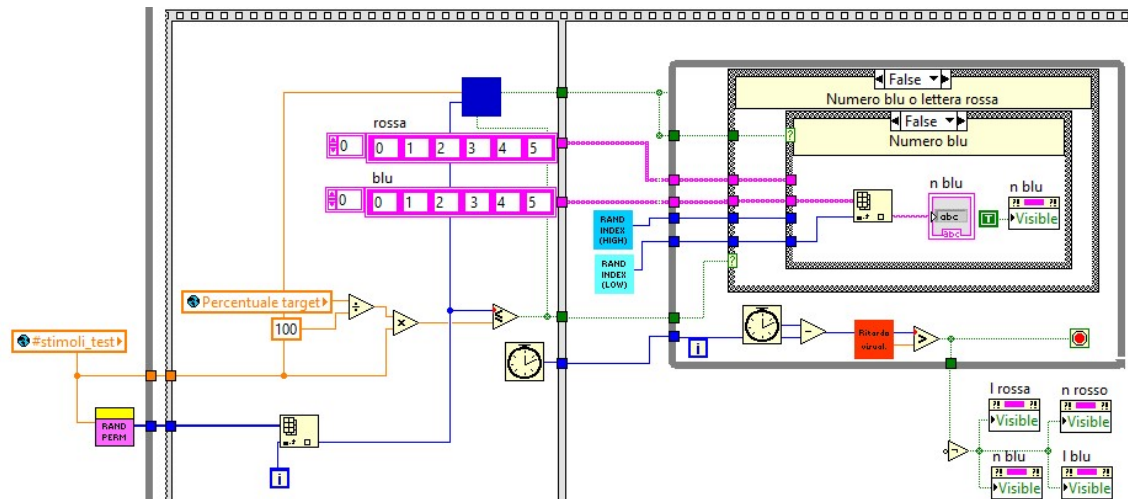


Figura 3.3: Codice di implementazione di scelta e visualizzazione

In Figura 3.3 è mostrata la parte di codice che gestisce la scelta e la visualizzazione dello stimolo. In base al numero di stimoli (variabile globale impostata dall'esterno, in questo caso 80 per il test e 12 per il training) si crea un vettore di indici costruito con la permutazione dei numeri tra 1 e il numero totale degli stimoli (subVI randperm.vi); ad ogni ciclo il vettore viene scorso e in base alla percentuale di stimoli target (impostata al 50%) si estrae un booleano che determina se lo stimolo da visualizzare è target (*true*) o distrattore (*false*).

Il subVI che gestisce il bilanciamento delle visualizzazioni – rappresentato in Figura 3.3 dal blocco blu e in forma estesa nella Figura 3.4– divide l'intervallo tra 1 e il numero di stimoli totali in quattro sotto intervalli, verificando l'appartenenza dell'indice estratto dal vettore ad uno di essi. In questo modo si determina il colore rosso o blu dello stimolo da visualizzare: anche il colore viene controllato attraverso un booleano, *true* per il colore rosso e *false* per il colore blu.

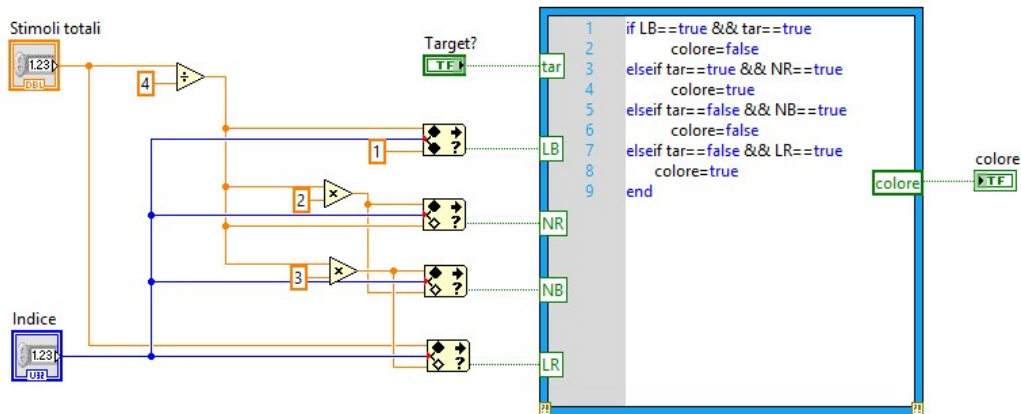


Figura 3.4: Codice per bilanciamento delle visualizzazioni in base a tipologia e colore

La scelta del colore in base all'appartenenza dell'indice ad uno degli intervalli in combinazione con l'informazione sul tipo di stimolo (target o distrattore) è stata inserita all'interno di un *MathScript Node*. Questa componente di LabVIEW esegue codice testuale, scritto in linguaggio MathScript; è possibile creare gli script sia nella *MathScript Window* apposita, sia direttamente scrivendo all'interno della finestra del nodo, sia utilizzando script creati in MATLAB.

Ottenute le informazioni riguardanti la caratteristica (target o distrattore) e il colore (rosso o blu) in forma di booleani queste guidano la scelta nella *Case Structure* che si trova nel frame successivo secondo la seguente tabella delle verità:

	T (target)	F (distrattore)
T (rosso)	Numero rosso	Lettera rossa
F (blu)	Lettera blu	Numero blu

Tabella 3.1: Scelta dello stimolo da visualizzare in base alle caratteristiche

In base a questa combinazione viene reso visibile uno dei quattro indicatori presenti nel Front Panel; al suo interno viene inserita una delle 26 lettere o delle 10 cifre scelte in maniera random da un vettore di caratteri attraverso i subVIs *rand index (high)* per le cifre e *rand index (low)* per le lettere.

La visualizzazione ha una durata variabile, compresa tra 450 e 560ms: tale durata gestisce l'uscita dal ciclo *While* di visualizzazione e rende di conseguenza non visibili gli indicatori dei simboli sul Front Panel. Così facendo per ogni ciclo si ha la visualizzazione dello stimolo seguita da un intervallo di "nero".

Il riconoscimento della pressione dei tasti viene eseguito attraverso la funzione *Event Structure*, mostrata in Figura 3.5 e Figura 3.6: questa serve a rilevare l'evento *Key Down* oppure a registrare una mancata pressione (evento *Timeout*).

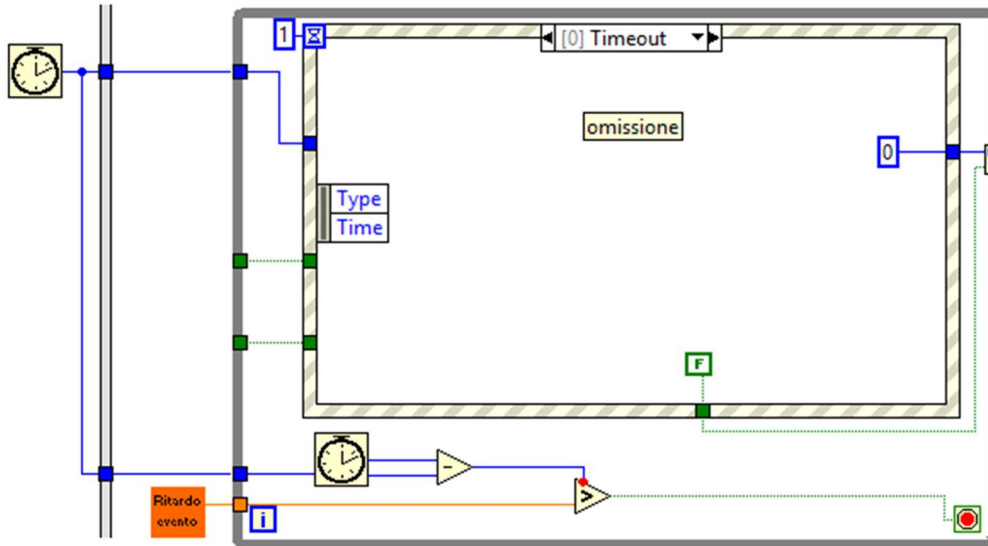


Figura 3.5: Codice per l'evento Timeout

Questa parte di codice controlla a intervalli regolari (1 ms) l'avvenuta pressione di un tasto; la durata totale della verifica è gestita dal subVI Ritardo evento, che definisce una durata del complesso “visualizzazione+nero” tra un minimo di 1.4 ed un massimo di 3 secondi, costante per tutta la durata del test. Nel caso non venga premuto nessun tasto in questo intervallo si esce dal ciclo While senza registrare alcun tempo di reazione; l'uscita di dati da questo ciclo è infatti condizionata dall'interno, in modo che vengano registrati solamente i tempi di reazione in caso di visualizzazione di uno stimolo target.

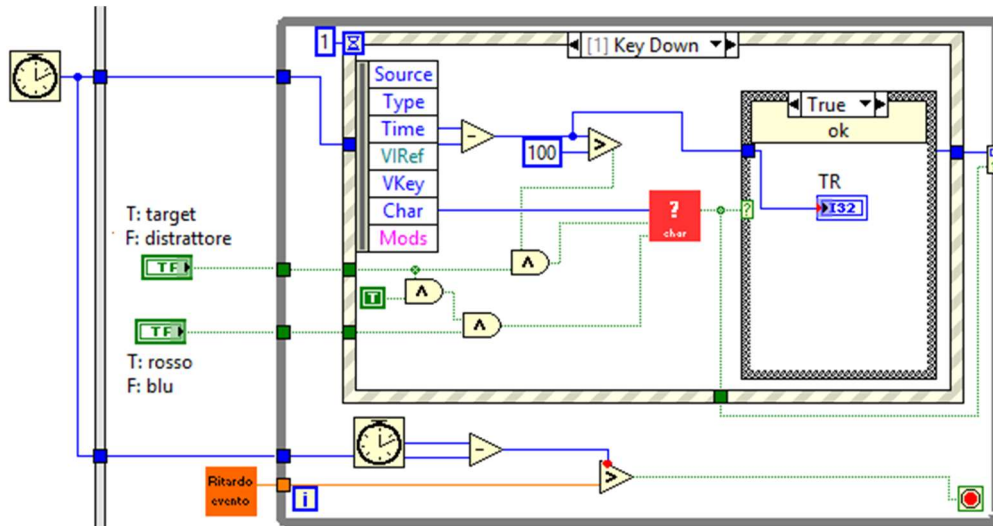


Figura 3.6: Codice per l'evento Key Down

Quando al contrario si verifica la pressione di un tasto, all'interno del blocco evento viene inserita una parte di codice che controlla la corrispondenza tra stimolo (in base a tipologia e colore, attraverso i due booleani) e tasto premuto, individuato dall'intero *Char* creato in automatico dalla struttura. Il controllo viene realizzato dal subVI *Controllopressione.vi*, indicato in figura dal blocco rosso: questo restituisce in uscita un booleano che controlla la *Case Structure*, in modo da registrare il tempo di risposta solo nel caso di riconoscimento corretto degli stimoli target. In questo caso, inoltre, il tempo di risposta è visibile all'esterno del blocco per le elaborazioni successive. Anche il subVI appena descritto utilizza un *MathScript Node*: il codice completo è mostrato in Figura 3.7.

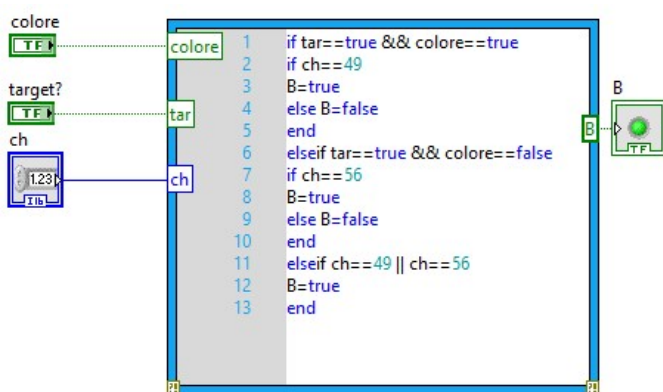


Figura 3.7: Codice per il controllo della pressione del tasto corretto

L'ultima parte del codice si occupa del riconoscimento e della classificazione degli eventi, in modo da poter aggiornare i contatori che classificano le risposte del test:

- Falsi allarmi: vengono conteggiati nel caso di doppia pressione del tasto di risposta o di pressione del tasto in risposta ad uno stimolo distrattore;
- Omissioni: vengono conteggiati per mancata o tardiva pressione del tasto in corrispondenza di uno stimolo target. La risposta viene considerata tardiva se viene data dopo 1400ms;
- Validi: vengono conteggiate le risposte date correttamente in seguito a stimoli target;
- Tempi di reazione: vengono salvati in un file di testo per l'elaborazione successiva.

Per ottenere questo comportamento state costruite quattro *Case Structure* annidate che sono guidate da altrettante variabili booleane:

- B1: *true* per stimolo target, *false* per distrattore;
- B2: *true* per stimolo rosso, *false* per stimolo blu;
- B3: *true* per risposta mancante o tardiva, *false* altrimenti;
- B4: *true* per clic singolo, *false* per doppio clic.

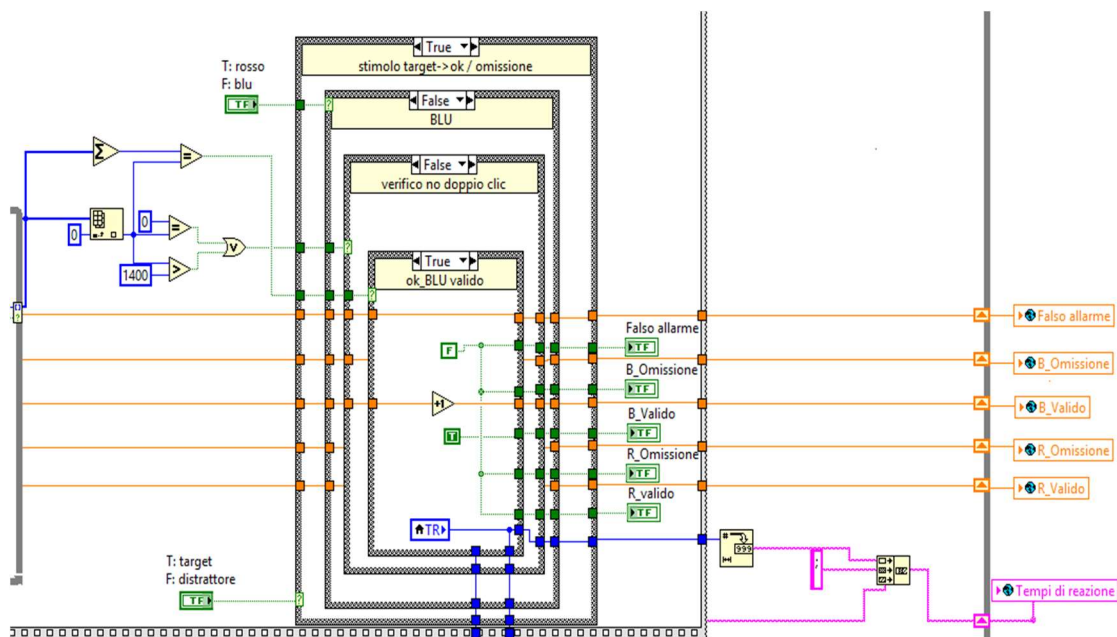


Figura 3.8: Codice per il riconoscimento eventi (in questo caso pressione valida con lettera blu)

In base agli eventi possibili le quattro variabili booleane assumono valori diversi, permettendo la classificazione corretta degli eventi. I risultati ottenibili sono riassunti

nella tabella 3.2: tra parentesi vengono indicati i valori assunti dalle variabili che tuttavia non sono considerati dal software nel riconoscimento dell'evento.

	B1	B2	B3	B4	Evento
Lettera rossa:					
Pressione	False	(True)	False	(True)	Falso allarme
Pressione mancata o tardiva	False	(True)	True	(True)	Nulla di fatto
Doppio clic	False	(True)	False	(False)	Nulla di fatto
Numero rosso:					
Pressione	True	True	False	True	Valido
Pressione mancata o tardiva	True	True	True	(True)	Omissione
Doppio clic	True	True	False	False	Falso allarme
Numero blu:					
Pressione	False	(False)	False	(True)	Falso allarme
Pressione mancata o tardiva	False	(False)	True	(True)	Nulla di fatto
Doppio clic	False	(False)	False	(False)	Nulla di fatto
Lettera blu:					
Pressione	True	False	False	True	Valido
Pressione mancata o tardiva	True	False	True	(True)	Omissione
Doppio clic	True	False	False	False	Falso allarme

Tabella 3.2: Modalità di riconoscimento degli eventi

Al completamento del test i dati ottenuti sono temporaneamente disponibili come indicatori all'interno di VI separati da quello che implementa il test stesso e vengono salvati all'interno di file di testo. Il percorso per il salvataggio è scelto dall'utente prima dell'inizio del test.

4. Attività sperimentale

4.1 Obiettivi

L'obiettivo del presente studio è di verificare se la stimolazione della corteccia prefrontale tramite la tDCS possa determinare una modifica significativa della performance cognitiva. Basandosi sui risultati ottenuti da studi precedenti si è scelto di valutare la possibilità di potenziamento delle funzioni esecutive con l'utilizzo della modalità anodica; la performance prima e dopo la stimolazione è stata monitorata attraverso i risultati del test sui tempi di reazione complessi discusso nel capitolo precedente.

4.2 Protocollo sperimentale

Hanno partecipato allo studio 10 giovani adulti destrimani che non presentavano condizioni patologiche tali da influenzare i risultati della stimolazione. Il campione, composto da 2 maschi ed 8 femmine di età compresa tra i 22 e i 25 anni (età media pari a 23.4 ± 1.0 anni), è stato suddiviso in due gruppi:

- Un gruppo di cinque soggetti è stato sottoposto nella prima fase a stimolazione sham e nella seconda a stimolazione anodica, a distanza di una settimana;
- Il secondo gruppo, composto anch'esso di cinque soggetti, è stato sottoposto nella prima fase a stimolazione anodica e nella seconda a stimolazione sham, a distanza di una settimana.

La stimolazione sham è una condizione di controllo che viene utilizzata per valutare la reale efficacia della stimolazione sulla performance: la corrente utilizzata ha intensità minore e viene mantenuta costante per una durata tale da non creare condizioni di reale neuromodulazione. Tuttavia anche in questa condizione l'esperimento comincia in maniera simile a quello in modalità anodica, così che i soggetti avvertano sensazioni fisiche simili a quelle della stimolazione "reale" (Rif. [17]).

Si è ritenuta necessaria una divisione di questo tipo in modo da evitare che l'effetto di apprendimento dato dall'esecuzione del primo test influenzasse i risultati del secondo e avere quindi uniformità delle condizioni di stimolazione.

In entrambi i casi l'esperimento ha previsto l'esecuzione del test cognitivo in condizioni normali (*baseline*), seguita dalla stimolazione e dalla ripetizione dello stesso test nelle nuove condizioni (*post stimolazione*). Per permettere il corretto svolgimento del task ad ogni soggetto è stata data la possibilità di effettuare una fase di training prima del test vero e proprio.

Per ogni test sono stati ricavati i risultati in termini di tempi di reazione e della loro classificazione, così come sono estraibili dal programma: tempi di reazione complessivi (con media e deviazione standard), numero di falsi allarmi, omissioni e risposte valide.

Nella tabella 4.1 viene riassunto il protocollo seguito per i due gruppi:

Gruppo 1 (Anodica – Sham, 5 soggetti)			
Fase 1	Esecuzione test (baseline anodica)	tDCS anodica (15')	Esecuzione test (post-anodica)
Fase 2	Esecuzione test (baseline sham)	tDCS sham (15')	Esecuzione test (post-sham)
Gruppo 2 (Sham – Anodica, 5 soggetti)			
Fase 1	Esecuzione test (baseline sham)	tDCS sham (15')	Esecuzione test (post-sham)
Fase 2	Esecuzione test (baseline anodica)	tDCS anodica (15')	Esecuzione test (post-anodica)

Tabella 4.1: Protocollo sperimentale

4.3 Parametri di stimolazione

La tDCS è stata applicata utilizzando lo stimolatore NeuroConn, abilitando il Restricted mode. Questa modalità viene utilizzata nel caso in cui si desideri effettuare la stimolazione in condizioni esterne da quelle cliniche: l'interfaccia è semplificata e consente di scegliere quattro regolazioni, che sono impostate in un momento precedente agli esperimenti e non sono modificabili (Rif. [18]).

Utilizzando questa configurazione è possibile inoltre impostare una delle quattro regolazioni come stimolazione in modalità sham, non mettendo a conoscenza i soggetti delle due diverse condizioni di stimolazione.

I parametri di stimolazione sono stati quindi regolati per le due diverse modalità:

- Stimolazione anodica:
 - Intensità: 1500 μA
 - Durata: 15 min
 - Fade in: 25 s
 - Fade out: 20 s
- Stimolazione sham (parametri standard):
 - Intensità: 500 μA
 - Durata: 15 min
 - Fade in: 8 s
 - Fade out: 5 s

Nel caso della stimolazione anodica nei 15 minuti la corrente viene mantenuta ad intensità costante, mentre durante la stimolazione sham la corrente mantiene l'intensità per soli 30 s. Nei restanti minuti della stimolazione viene effettuato solo il controllo dell'impedenza ad intervalli regolari, utilizzando un picco di corrente di 110 μA ogni 550 ms. I due diversi andamenti sono mostrati nella Figura 4.1.

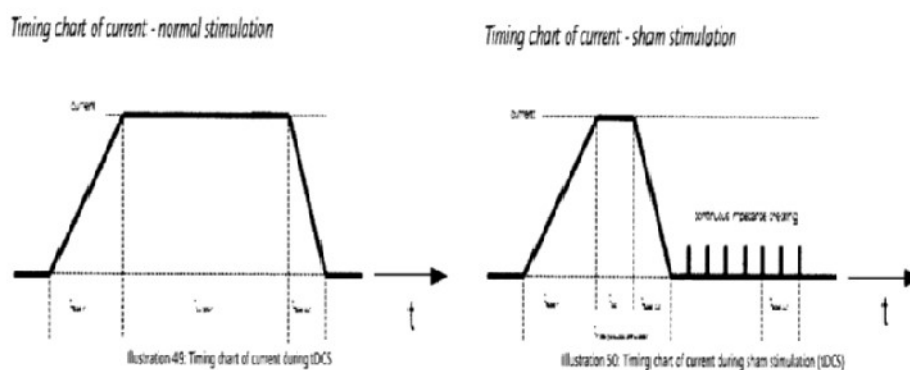


Figura 4.1: Andamento della corrente per stimolazione normale e sham

In entrambe le condizioni se l'impedenza totale supera i 55.5 $\text{k}\Omega$ la stimolazione viene interrotta; per diminuire l'impedenza rappresentata dalla cute e dai capelli è stato utilizzato gel elettrolitico non salino. Gli elettrodi utilizzati sono di gomma per evitare effetto di polarizzazione e vengono inseriti in spugne imbevute di gel. La dimensione scelta è di 35 cm^2 (5x7 cm) in modo che la densità di corrente totale che attraversa lo scalpo sia di circa 0.43 A/m^2 : questo permette di avere un compromesso tra focalizzazione dello stimolo e profondità raggiunta.

Gli elettrodi sono stati posizionati seguendo lo standard 10-20 che assicura una denominazione coerente degli elettrodi tra i vari studi. Il cranio è delimitato dai suoi punti di repere anatomici - inion, nasion, meati acustici esterni – in modo da fornire una copertura adeguata di tutte le regioni del cervello. Le distanze tra i punti di repere vengono divise in parti corrispondenti al 10% o al 20% della distanza complessiva, creando una griglia nella quale i punti sono caratterizzati da una lettera e un numero.

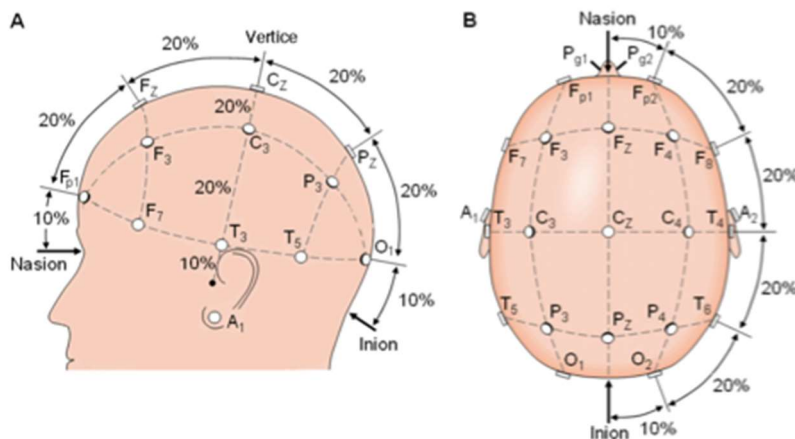


Figura 4.2: Posizionamento degli elettrodi secondo il Sistema Internazionale 10-20

In particolare la lettera indica il lobo (F: frontale, P: parietale, T: temporale, O: occipitale), i numeri pari l'emisfero destro, quelli dispari l'emisfero sinistro, la lettera Z il solco tra i due emisferi (Rif. [19]34).

L'elettrodo utilizzato come anodo è stato posizionato in corrispondenza della corteccia prefrontale: la posizione F3 è stata individuata grazie all'utilizzo di una cuffia per EEG, che è stata utilizzata anche per mantenere l'elettrodo in posizione. L'elettrodo di riferimento è stato posto sul braccio destro, assicurato dall'apposita banda. La scelta di un riferimento extracefalico è stata dettata dalla necessità di non tenere a distanza troppo ravvicinata tra loro gli elettrodi: questo infatti avrebbe potuto inficiare sui risultati effettivi della stimolazione.

4.4 Metodi per l'elaborazione dei risultati

I risultati ottenuti sono stati raccolti in due file di testo separati, uno contenente i tempi di reazione e l'altro la classificazione delle risposte (falsi allarmi, omissioni, risposte valide).

Per l'elaborazione dei risultati è stato utilizzato il software MATLAB R2016b (Rif. [20]): in particolare è stata effettuata un'analisi statistica per confrontare i dati dopo la stimolazione anodica e dopo la stimolazione sham, verificando la significatività delle differenze tra le due condizioni.

Avendo a disposizione un numero esiguo di dati sono stati utilizzati dei test non parametrici, disponibili all'interno della Statistic and Machine Learning Toolbox:

- Il test di Kolmogorov-Smirnov (*kstest*) verifica se i dati appartengono a una distribuzione gaussiana;
- Il test di Kruskal-Wallis (*kruskalwallis*) confronta le mediane di due gruppi di dati con distribuzione continua per verificare se provengono dalla stessa distribuzione (o in modo equivalente da distribuzioni diverse con la stessa mediana);
- Il test U di Mann-Whitney (*ranksum*) verifica se i dati provengono dalla stessa distribuzione partendo da valori ordinali (dei quali, in una sequenza ordinata, è possibile stabilire un confronto valore per valore) e con una distribuzione continua.

5. Risultati e discussione

5.1 Tempi di reazione

Dai dati complessivi sui tempi di reazione sono stati dapprima tolti quelli relativi ad omissioni (registrate con un -10), falsi allarmi (registrati con un -1) ed i valori nulli, sia per le due baseline sia per i tempi post stimolazione.

Una volta ottenuti questi dati i tempi di reazione post-anodica e post-sham sono stati normalizzati rispetto alla media dei tempi di reazione delle baseline corrispondenti. In questo modo la performance ottenuta dopo la stimolazione viene confrontata con la performance dello stesso giorno dell'esperimento.

È stato in seguito verificato se i dati avessero distribuzione normale attraverso il test di Kolmogorov-Smirnov, in modo da scegliere il test delle ipotesi da utilizzare. I dati sono risultati a distribuzione non normale ($p\text{-value}<1\%$), così si è scelto di utilizzare il test di Kruskal-Wallis; i risultati del test sono mostrati in Figura 5.1.

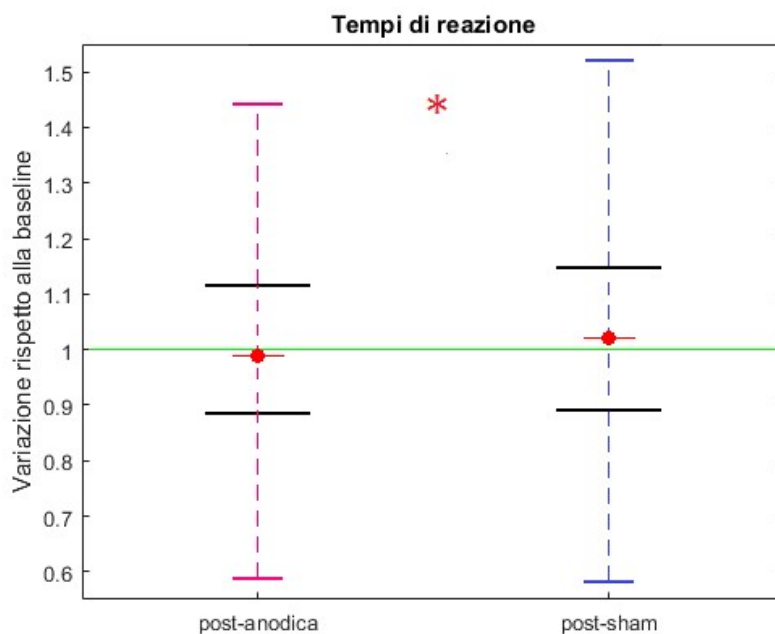


Figura 5.1: Risultati del test di Kruskal-Wallis sui tempi di reazione

In Figura 5.1 è mostrato il *boxplot* dei dati analizzati: con la linea rossa si evidenzia la mediana, le linee orizzontali blu superiore ed inferiore rappresentano il 25° ed il 75° percentile rispettivamente; non sono stati considerati gli *Outlier values*, quei valori numericamente distanti dal resto dei dati raccolti. Con la linea verde è stato evidenziato il punto nel quale non si ha variazione rispetto alla baseline.

Poiché il *p-value* è di 0.0305 risulta esserci differenza statisticamente significativa tra i tempi di reazione dopo la stimolazione anodica rispetto a quelli registrati dopo la stimolazione sham.

In particolare la mediana dei tempi di reazione registrati, considerati tutti i soggetti, è di 612 ms per la baseline anodica e di 604 ms per la baseline sham. Questi tempi sono coerenti con quanto riportato in letteratura, in base alla fascia d'età del campione analizzato e alla tipologia di task richiesta (Rif. [21]).

Dopo la stimolazione anodica la mediana rispetto alla baseline è dello 0.98%, dopo la stimolazione sham è dell'1.02%. Da un punto di vista quantitativo si può ricavare che complessivamente dopo la stimolazione anodica i tempi di reazione si sono ridotti di circa 7 ms, mentre dopo la stimolazione sham si è registrato un aumento di circa 12 ms.

La tDCS ha quindi permesso ai dieci soggetti presi in esame di poter migliorare la propria velocità di risposta. Questo risultato è coerente con le aspettative: la modalità anodica, infatti, stimola l'attivazione delle aree cerebrali coinvolte nelle funzioni esecutive. In modalità sham, al contrario, nonostante possa intervenire il meccanismo di apprendimento, questo non è tale da permettere lo stesso tipo di miglioramento.

Va evidenziato inoltre come i tempi di reazione ottenuti dipendano sia direttamente dal controllo esecutivo sia - in parte quasi equivalente - dal controllo motorio, che permette di rendere effettiva l'azione programmata. Essendo focalizzata sulla corteccia prefrontale la stimolazione permette di migliorare solo la parte del tempo di reazione relativa al controllo esecutivo (circa 300 ms).

5.2 Falsi allarmi, omissioni, risposte valide

Per quanto riguarda la classificazione delle risposte, a causa della particolare natura dei dati, si sono considerate le variazioni rispetto alla baseline effettuando la differenza tra risultati dopo la stimolazione e in baseline. In questo caso si otterranno dati positivi in caso di miglioramento della prestazione assoluta e negativi altrimenti.

Con questi dati è stato effettuato un test di Kruskal-Wallis: data la numerosità del campione, le differenze evidenziate tra la stimolazione anodica e sham non hanno significatività statistica.

Nella Figura 5.2 sono mostrate le distribuzioni dei valori ottenuti nei due gruppi: in questo caso il valore corrispondente all'assenza di variazione rispetto alla baseline è lo zero, evidenziato dalla linea verde.

Sulla sinistra del grafico, indicate in magenta, le distribuzioni delle risposte fornite dopo la stimolazione anodica; sulla destra, indicate in blu, le distribuzioni dopo la stimolazione sham. Per ogni tipologia di risposta viene evidenziata con il cerchio la mediana e con le linee più marcate il 25° e il 75° percentile; i quartili sono stati indicati con il viola per i falsi allarmi, con il rosso per le omissioni e con il verde per le risposte valide.

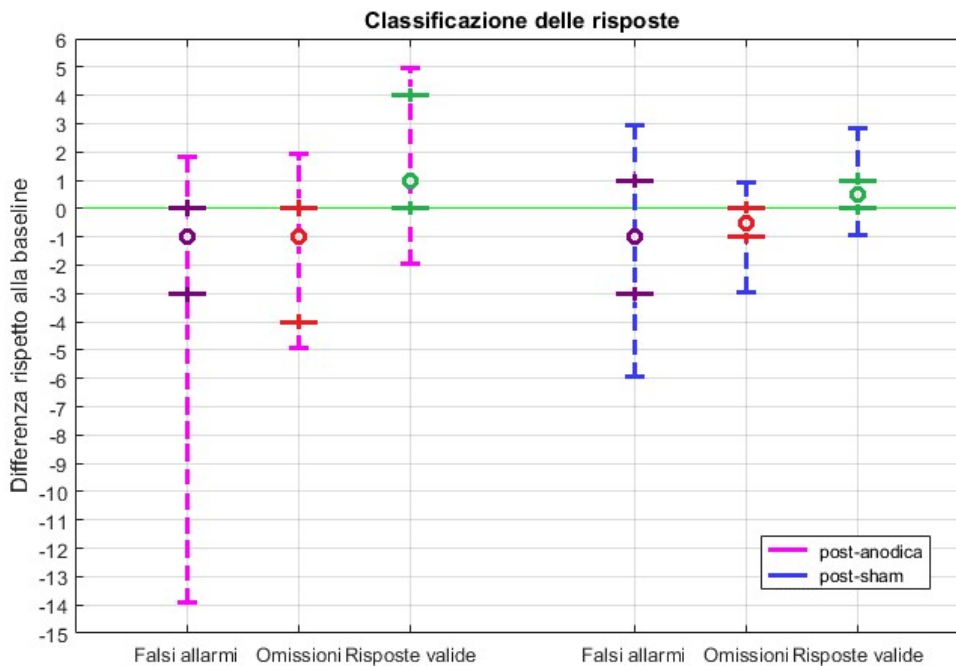


Figura 5.2: Distribuzione dei valori per la classificazione delle risposte

I *p-value* ottenuti con il test di Kruskal-Wallis non garantiscono la significatività statistica delle differenze che risultano tra i due gruppi. È interessante però notare che, per quanto riguarda omissioni e risposte valide, ci siano stati miglioramenti evidenti dopo la stimolazione anodica per alcuni soggetti, mentre la distribuzione dei valori dopo la sham si mantiene in un range di variabilità più ristretto.

Analizzando la mediana dei due gruppi si nota che:

- I falsi allarmi hanno mediana pari a -1 in entrambi i gruppi: la pressione di un tasto in corrispondenza di stimoli neutrali diminuisce per merito dell'apprendimento del task da eseguire;
- Le omissioni hanno mediana pari a -1 nel gruppo post-anodica e a -0.5 nel gruppo post-sham: con la stimolazione si hanno meno errori sugli stimoli target;
- Le risposte valide hanno mediana pari a +1 nel gruppo post-anodica e pari a +0.5 nel gruppo post-sham: oltre all'effetto dell'apprendimento il miglioramento può essere attribuibile alla stimolazione.

Avendo raccolto risultati relativi a punteggi di un test, i dati dei due gruppi sono stati confrontati anche con un test di Mann-Whitney: per nessuna delle tre tipologie di risposta (falsi allarmi, omissioni, risposte valide) si sono ottenute differenze statisticamente significative tra anodica e sham.

Per quanto riguarda i dati osservati questi risultano non avere una rilevanza dal punto di vista statistico: questo è probabilmente dovuto alla numerosità dei campioni, che non permette di effettuare un'analisi attendibile. Un'altra ipotesi è quella della forte dipendenza dell'efficacia della tDCS dalle caratteristiche anatomiche soggettive, come confermato da altri studi (Rif. [22]). La differente struttura della scatola cranica porta infatti ad una particolare distribuzione della corrente a livello corticale, che per alcuni soggetti può essere risultata insufficiente ad ottenere un potenziamento effettivo delle funzioni esecutive.

Una visione globale della classificazione delle risposte ottenute dai test su dieci soggetti, relativamente al secondo approccio di elaborazione dei punteggi del test – calcolo delle differenze rispetto alla baseline - è mostrata nei grafici nelle Figure Figura 5.3, Figura 5.4, Figura 5.5

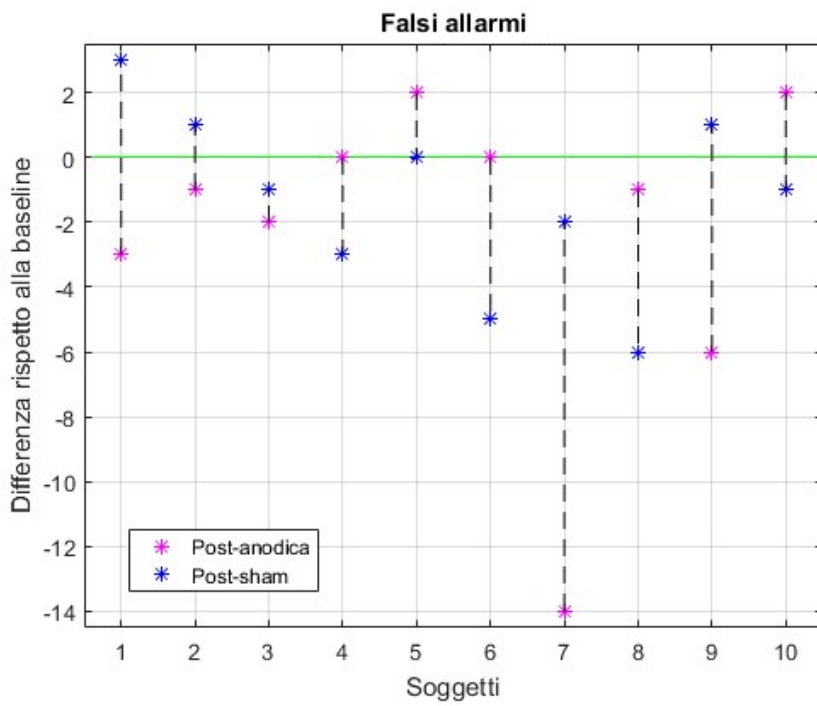


Figura 5.3: Andamento complessivo dei risultati - Falsi allarmi

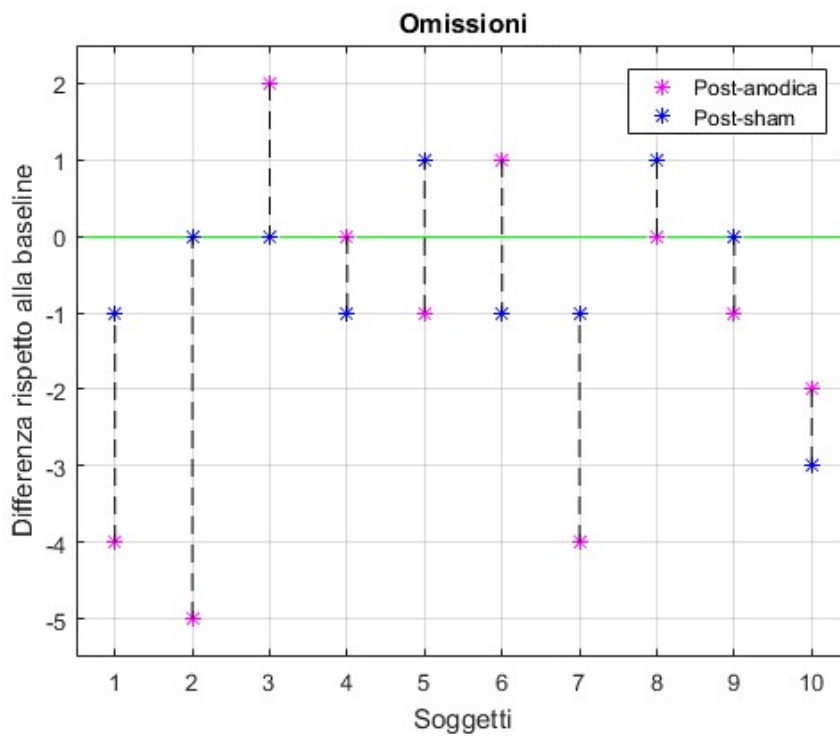


Figura 5.4: Andamento complessivo dei risultati – Omissioni

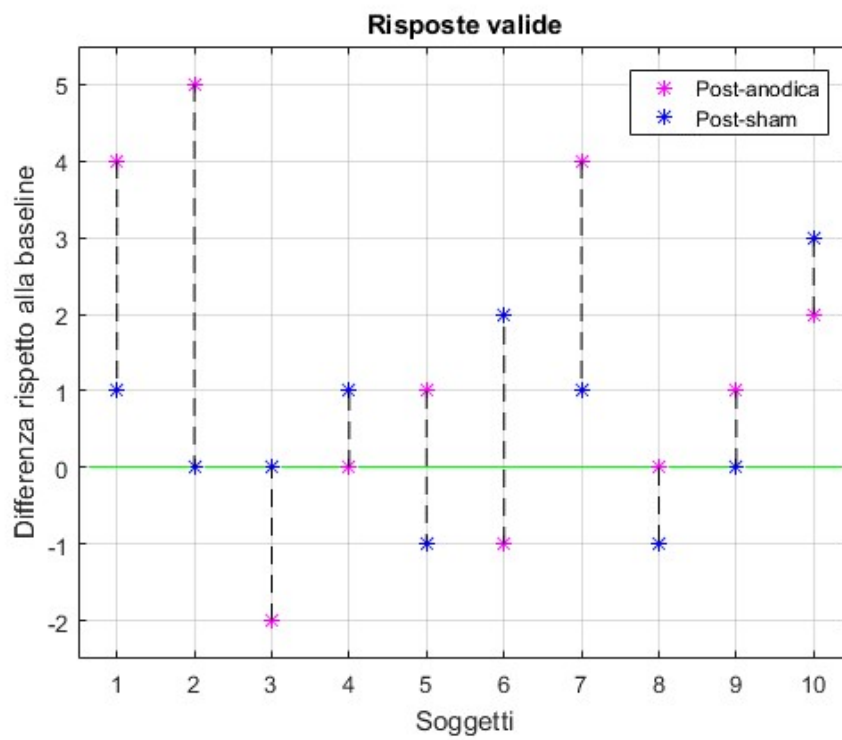


Figura 5.5: Andamento complessivo dei risultati - Risposte valide

6. Conclusioni

Lo scopo di questo elaborato è stato di verificare sperimentalmente quali effetti possa avere la stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS) sulle funzioni esecutive. A tale proposito è stato sviluppato in ambiente LabVIEW un test sui tempi di reazione complessi, in modo da poter valutare la performance cognitiva di dieci soggetti prima e dopo la stimolazione. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a due esperimenti, che hanno previsto l'utilizzo delle modalità anodica e sham per la stimolazione della corteccia prefrontale sinistra. La prima modalità è stata scelta con l'obiettivo di migliorare la performance, la seconda per garantire una condizione di controllo e valutare l'entità dell'effetto "placebo" e dell'effetto di apprendimento del task sul risultato del test dopo la stimolazione.

Sono stati confrontati i risultati ottenuti dopo la stimolazione anodica e dopo la sham, facendo riferimento alle performance prima della stimolazione: in base ai risultati dell'analisi statistica condotta è possibile rilevare che

- Per quanto riguarda i tempi di reazione nel loro complesso si ha un significativo miglioramento dopo la stimolazione anodica rispetto a quello evidenziato dopo la stimolazione sham;
- Per quanto riguarda la classificazione delle risposte l'analisi non permette di dare risultati significativi a causa soprattutto della numerosità del campione analizzato: è emerso in ogni caso che
 - I falsi allarmi - pressioni del tasto di risposta in corrispondenza di uno stimolo neutrale – non subiscono variazioni nella mediana nei due esperimenti;
 - Le omissioni – mancate o tardive pressioni in corrispondenza di uno stimolo target – subiscono una lieve diminuzione nel caso della stimolazione anodica;
 - Le risposte valide – pressioni del tasto di risposta corretto in corrispondenza di uno stimolo target – subiscono un lieve aumento dopo la stimolazione anodica.

Nel complesso dopo la stimolazione anodica i soggetti sono stati in grado di dare risposte più rapide e con un'accuratezza migliore: il primo aspetto è supportato anche da significatività statistica, mentre lo stesso non è affermabile per quanto riguarda la precisione delle risposte.

L'entità del miglioramento dei tempi di reazione dopo la stimolazione anodica è minima da un punto di vista quantitativo poiché sono stati analizzati soggetti sani. L'applicazione dello stesso protocollo di valutazione e stimolazione su soggetti patologici o anziani potrebbe fornire margini di miglioramento più ampi.

Esistono quindi delle buone potenzialità per l'applicazione di questa tecnica di neuromodulazione nel caso in cui si vogliano migliorare le performance cognitive di soggetti sani. Va evidenziata però la necessità di ripetere esperimenti - con condizioni simili - su un campione più ampio in modo da provare la reale efficacia di questa tecnica sulle funzioni esecutive. Un ulteriore miglioramento dei risultati può essere ottenuto combinando la tDCS con registrazioni EEG che permettano di monitorare l'attivazione della corteccia cerebrale o con tecniche di neuroimaging o neuronavigazione che diano la possibilità di ovviare alle differenze anatomiche dei soggetti e di garantire un più accurato posizionamento degli elettrodi.

Una volta effettuato questo tipo di validazione del test in combinazione alla tDCS un'ulteriore prospettiva è rappresentata dalla possibilità di verificare in soggetti patologici la possibilità di utilizzare questo test per la riabilitazione delle funzioni esecutive in caso di deficit. Questo ultimo aspetto è supportato dal fatto che con la tDCS sia possibile ottenere effetti sul lungo termine semplicemente variando le condizioni di stimolazione.

Bibliografia

- [1]. C. Di Giulio, E. Esposito, T. M. Florio, L. Fogassi, M. Oliveri, V. Perciavalle, G. Zoccoli, **Fondamenti Anatomofisiologici della Psiche**, Poletto Editore, 1 ed, 2008
- [2]. R. A. Sarkis, N. Kaur, J. A. Camprodon, **Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): Modulation of Executive Function in Health and Disease**, in *Current Behavioral Neuroscience Reports* (2014); 1:74-85
- [3]. A. Diamond, **Executive Functions**, *Annual Review of Psychology*. (2013); 64: 135–168.
- [4]. R. Parasuraman, R. A. McKinley, **Using Noninvasive Brain Stimulation to Accelerate Learning and Enhance Human Performance**, in *Human Factors* (2014) Vol. 56, No.5, pp. 816-824
- [5]. M. Bodganov, L. Schwabe, **Transcranial Stimulation of the Dorsolateral Prefrontal Cortex Prevents Stress-Induced Working Memory Deficits**, in *The Journal of Neuroscience* (2016), 36(4):1429-1437
- [6]. Anna Lisa Mangia, **Sviluppo di una piattaforma hardware e software per la teleriabilitazione cognitiva**, 2010
- [7]. **Psytest – Produkte**, Psychologische Testsysteme, https://www.psytest.net/index.php?page=Produkte&hl=de_DE
- [8]. Margherita Pecorelli, **Effetti della tDCS sui pattern ERS/ERD indotti da immaginazione motoria: stato dell'arte**, 2016
- [9]. M. A. Nitsche, L. G. Cohen, E. M. Wassermann, A. Priori, N. Lang, A. Antal, W. Paulus, F. Hummel, P. S. Boggio, F. Fregni, A. Pascual-Leone, **Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008**, in *Brain Stimulation* (2008) 1, 206-223
- [10]. M. S. Gazzaniga, R. B. Ivry, G. R. Mangun, **Neuroscienze Cognitive**, Zanichelli, I ed. 2005
- [11]. J. T. Nelson, R. A. McKinley, E. J. Golob, J. S. Warm, R. Parasuraman, **Enhancing vigilance in operators with prefrontal cortex transcranial direct current stimulation (tDCS)**, in *Neuroimage* (2014) 85:909-917

- [12]. K. E. Hoy, M. R. L. Emonson, S. L. Arnold, R. H. Thomson, Z. J. Daskalakis, P. B. Fitzgerald, **Testing the limits: Investigating the effects of tDCS dose on working memory enhancement in healthy controls**, in *Neuropsychologia* (2013) 51:1777-1784
- [13]. F. Fregni, P. S. Boggio, M. Nitsche, F. Berman, A. Antal, E. Feredoes, M. A. Marcolin, S. P. Rigonatti, M. T. A. Silva, W. Paulus, A. Pascual-Leone, **Anodal transcranial direct current stimulation of prefrontal cortex enhances working memory**, in *Experimental Brain Research* (2005) 166:23-30
- [14]. **Executive Kontrolle**, Psychologische Testsysteme, www.psytest.net/index.php?page=Exekutive-Kontrolle&hl=de_DE
- [15]. P. Zimmermann, B. Fimm, **Test for Attentional Performance (Mobility Version), Version 1.0**, Vera Fimm Psychologische Testsysteme (2005)
- [16]. **LabVIEW Professional Development System (Service Pack 1)**, National Instruments (2015)
- [17]. A. J. Woods, A. Antal, M. Bikson, P. S. Boggio, A. R. Brunoni, P. Celnik, L. G. Cohen, F. Fregni, C. S. Herrmann, E. S. Kappenman, H. Knotkova, D. Liebetanz, C. Miniussi, P. C. Miranda, W. Paulus, A. Priori, D. Reato, C. Stagg, N. Wenderoth, M. A. Nitsche, **A technical guide to tDCS, and relative non-invasive brain stimulation tools**, in *Clinical Neurophysiology* (2016) 127:1031-1048
- [18]. **DC-Stimulator (PLUS version) User's manual**, NeuroConn (2012)
- [19]. A. F. DaSilva, M. S. Volz, M. Bikson, F. Fregni, **Electrode Positioning and Montage in Transcranial Direct Current Stimulation**, in *Journal of Visualized Experiments* (2011), 51:1-11
- [20]. **MATLAB R2016b (Version 9.1)**, The MathWorks Inc. (2016)
- [21]. G. Der, I. J. Deary, **Age and sex differences in reaction time in adulthood: Results from the United Kingdom Health and Lifestyle Survey**, in *Psychology and Aging* (2006), vol. 21,1:62-73
- [22]. J. H. Kim, D. W. Kim, W. H. Chang, Y. H. Kim, K. Kim, C. H. Im, **Inconsistent outcomes of transcranial direct current stimulation may originate from anatomical differences among individuals: Electric field simulation using individual MRI data**, in *Neuroscience Letters* (2014) 564:6-10