

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA
SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**RICOSTRUZIONE DELLE SORGENTI CORTICALI DA
SEGNALI EEG IN TASK DI DISCRIMINAZIONE VISIVA:
EFFETTO DI TRAINING MULTISENSORIALE**

Tesi in
SISTEMI NEURALI LM

Relatore

Prof.ssa Elisa Magosso

Presentata da

Jessica Samogin

Correlatori

Prof. Mauro Ursino

Prof.ssa Caterina Bertini

II Sessione
Anno Accademico 2014-2015

PAROLE CHIAVE

Potenziali Evento Correlati

Integrazione Audio-Visiva

Apprendimento sinaptico

Collicolo Superiore

Corteccia Parietale

INDICE

INTRODUZIONE.....	9
CAPITOLO 1: INTEGRAZIONE MULTISENSORIALE.....	13
<u>I principi alla base dell'integrazione multisensoriale</u>	13
<u>Regioni multisensoriali</u>	17
Regioni multisensoriali della corteccia associativa.....	18
Elaborazioni multisensoriali in aree corticali "unisensoriali".....	19
Regioni multisensoriali sottocorticali.....	20
<u>Training multisensoriale</u>	21
Le capacità multisensoriali come compensazione a deficit unisensoriali.....	21
L'emianopsia: un esempio di deficit unisensoriale.....	22
Il <i>training</i> multisensoriale nei pazienti emianoptici: effetto e ipotesi sui correlati neurali.....	26
Motivazione degli esperimenti di <i>training</i> e dei <i>task</i> visivi oggetto del presente studio.....	28
<u>Aree neurali coinvolte in compiti di discriminazione visiva</u>	29
CAPITOLO 2: MATERIALI E METODI.....	33
<u>Descrizione dell'esperimento e acquisizione dei dati</u>	33
<u>I potenziali evento correlati (<i>Event Related Potentials</i>, ERP)</u>	37
<u>Problema della ricostruzione delle sorgenti corticali</u>	39
<u>sLORETA</u>	45
<u>Test statistici</u>	47
t-test.....	48
ANOVA.....	50

CAPITOLO 3: PROCEDIMENTO E RISULTATI.....	63
<u>Pre-elaborazione con EEGlab</u>	63
<u>Analisi dell'attività sullo scalpo</u>	65
<u>Ricostruzione delle sorgenti e analisi a livello di Aree di Brodmann</u> <u>(Region Of Interest, ROI)</u>	71
<u>Analisi dell'attività in sottostrutture delle ROI</u>	88
CAPITOLO 4: DISCUSSIONE.....	101
CONCLUSIONI.....	111
BIBLIOGRAFIA.....	115

INTRODUZIONE

Gli oggetti e gli eventi nell'ambiente che ci circonda generano tipicamente stimoli *multisensoriali*, ovvero che coinvolgono diverse modalità sensoriali contemporaneamente (ad es. vista, udito, tatto, etc.). Il nostro cervello elabora stimoli di natura sensoriale differente non trattandoli separatamente, ma integrandoli e combinandoli, allo scopo di ottenere una rappresentazione coerente e unitaria della realtà. Tale abilità è nota come *integrazione multisensoriale*. In particolare, diverse aree cerebrali sono caratterizzate da neuroni in grado di rispondere a sollecitazioni di differente natura sensoriale (ad es. sia visivi che acustici), che mostrano una risposta particolarmente elevata quando gli stimoli (ad es. visuo-acustici) sono presentati accoppiati piuttosto che presentati singolarmente (*multisensory enhancement*), a condizione che vengano rispettate regole di congruità spaziale e temporale. Una regione cerebrale multisensoriale che è stata ampiamente studiata è il collicolo superiore, una struttura sottocorticale situata nel mesencefalo che si inserisce nel percorso di elaborazione di stimoli visivi preferibilmente in movimento.

Le abilità di integrazione multisensoriale del nostro cervello diventano particolarmente importanti quando una modalità sensoriale è indebolita, a causa, ad esempio, di un danno alle aree cerebrali deputate all'elaborazione specifica di quella modalità. In tal caso, infatti, la regione multisensoriale, in presenza di uno stimolo che associa sia la modalità debole o deprivata sia quella intatta, risponderà comunque in modo incrementato (*“enhanced”*) rispetto ai segnali applicati singolarmente. In questo modo l'attivazione delle regioni multisensoriali può rappresentare il correlato neurale della compensazione sensoriale, dopo che un sistema è stato lesionato. In particolare, ciò può essere sfruttato ai fini di una compensazione/riabilitazione di un deficit unisensoriale che perduri nel tempo mediante un *training* multisensoriale, che miri a rafforzare collegamenti sinaptici tra aree unimodali e multimodali, sfruttando il noto principio di Hebb di apprendimento sinaptico. In questo modo uno stimolo unisensoriale (es. visivo) che inizialmente veniva percepito con difficoltà, dopo la presentazione ripetuta in

associazione con un altro stimolo (es. uditivo), viene individuato più facilmente grazie al rafforzamento delle connessioni reciproche tra le aree visive residue e le regioni multisensoriali. Studi recenti hanno dimostrato che soggetti emianoptici (ciechi in una parte del campo visivo in seguito a traumi in una regione della corteccia occipitale) sottoposti a *training* audio-visivi, dopo il *training* migliorano le capacità di detezione visiva. L'ipotesi formulata è che tale miglioramento nasca da un rafforzamento dei circuiti che coinvolgono il collicolo superiore, struttura funzionalmente intatta in tali pazienti.

Obiettivo del presente lavoro di tesi, svolto in collaborazione con i ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive di Bologna (sede di Cesena), è la ricerca di possibili evidenze a supporto dell'ipotesi che una stimolazione multisensoriale ripetuta con stimoli audio-visivi coincidenti nello spazio e nel tempo solleciti i neuroni del collicolo superiore e rinforzi i collegamenti sinaptici nei circuiti che coinvolgono tale struttura. A tal fine, i ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive hanno progettato un esperimento nel quale un gruppo di partecipanti sani è stato sottoposto a due *task* diversi di discriminazione visiva (discriminazione di movimento e discriminazione di orientazione), prima e dopo una seduta di *training* audio-visivo spazialmente e temporalmente coincidente. Un diverso gruppo di soggetti è stato utilizzato come controllo, poiché ha eseguito i due stessi *task* pre e post una sessione di *training*, ma con stimolazione audio-visiva spazialmente disparata (che quindi non dovrebbe attivare significativamente le aree multisensoriali).

Durante i compiti di discriminazione sono stati registrati gli elettroencefalogrammi (EEG) di ogni soggetto, che sono stati oggetto delle elaborazioni e delle analisi svolte in questo lavoro di tesi. In particolare, sotto l'ipotesi che i circuiti rafforzati dal *training* audio-visivo coinvolgano il collicolo, ci si aspetta di osservare delle differenze tra i risultati *post-training* e *pre-training* solo per il compito di discriminazione di movimento, che coinvolge maggiormente il collicolo, e non per il compito di discriminazione di orientazione. Inoltre, tali differenze dovrebbero osservarsi solo nei soggetti sottoposti a *training* audio-visivo spazialmente coincidente e non nei soggetti di controllo.

In particolare i segnali EEG, dopo essere stati adeguatamente pre-processati, sono stati elaborati per ricavare dapprima gli ERP (Potenziali Evento Correlati) e quindi per ricostruire le sorgenti corticali che spiegano tali segnali grazie all'uso

combinato dei software sLORETA e MATLAB®. Si sono individuate le aree cerebrali maggiormente attive nell'intervallo di tempo in cui si sviluppa una specifica componente dell'ERP, la N100, e, attraverso l'applicazione di test statistici, si sono identificate le aree in cui le attività prima e dopo il *training* sono statisticamente diverse, così da poter dedurre quali strutture e quali percorsi vengono rafforzati.

Nel primo capitolo, **Integrazione multisensoriale**, viene spiegato cos'è l'integrazione multisensoriale, i principi che la governano a livello di risposte neurali, le regioni cerebrali con caratteristiche multisensoriali, e come le abilità di integrazione multisensoriale possano essere sfruttate sia in soggetti sani che con deficit unisensoriali per potenziare specifici circuiti, illustrando il caso specifico degli emianoptici. Infine viene descritto il percorso dell'informazione visiva distinguendo tra la via dorsale, nota anche come via del *where/how*, e il percorso ventrale, o via del *what*, in relazione ai due tipi di *task* di discriminazione visiva svolti nell'esperimento.

Nel secondo capitolo, **Materiali e metodi**, si descrive nel dettaglio l'esperimento eseguito presso il Centro di Neuroscienze Cognitive; viene inoltre spiegato cos'è un ERP e come si estrae dai segnali EEG, facendo specifico riferimento alla componente N100; inoltre, nel capitolo viene affrontato il complesso problema della ricostruzione delle sorgenti corticali e il metodo attualmente più impiegato per risolverlo, sLORETA. Si parla anche dei test statistici utilizzati nel seguito, il t-test e l'ANOVA, al quale segue un breve accenno ai test Post-Hoc, per eseguire i confronti a coppie a valle di risultati significativi dell'Analisi sulla Varianza.

Il terzo capitolo, **Procedimento e risultati**, illustra in dettaglio i passi svolti nell'elaborazione del segnale EEG, dal *pre-processing* al calcolo dell'ERP, alla ricostruzione delle sorgenti in regioni di interesse (*Region Of Interest*, ROI, corrispondenti alle Aree di Brodmann) e nelle sottostrutture di una specifica ROI particolarmente rilevante, illustrando di volta in volta i risultati ottenuti.

Segue il quarto capitolo, **Discussione**, in cui i risultati presentati nel capitolo precedente vengono puntualmente spiegati e giustificati, per arrivare al modello essenziale che si è giunti a delineare, concordante con le evidenze sperimentali ottenute e a supporto della tesi.

Infine, nelle **Conclusioni**, è riassunto il lavoro svolto e vengono proposti sviluppi futuri, utilizzando metodiche di analisi diverse da quelle qui utilizzate, che possono contribuire a fare ulteriore luce sugli effetti che il *training* multisensoriale ha a livello di circuiti neurali e i percorsi di elaborazione visiva coinvolti nei due *task* esaminati.

INTEGRAZIONE MULTISENSORIALE

1.1 I principi alla base dell'integrazione multisensoriale

Tra gli anni sessanta e gli ottanta del secolo scorso, nel campo delle neuroscienze era diffusa l'idea che stimoli esterni di diversa natura sensoriale (ad es, visivi, acustici, tattili) venissero processati separatamente nel cervello, ovvero in modo unimodale. Secondo questa teoria, un gruppo di neuroni localizzati in una determinata zona è in grado di rispondere solo ad un tipo di sollecitazione (es. visiva, uditiva, tattile), e il percorso dell'informazione segue una logica *feedforward*, ovvero, l'informazione relativa a una certa modalità sensoriale passa da un'area alla successiva per una elaborazione sempre più dettagliata, senza tornare mai indietro e senza interagire con informazioni di natura sensoriale differente.

Questa teoria, basata su una struttura a moduli isolati, è oggi ampiamente superata. Infatti, nella maggior parte delle situazioni della vita quotidiana, i nostri diversi sensi ricevono informazioni correlate dello stesso oggetto o evento (ad es. vediamo un bicchiere che cade a terra e contemporaneamente udiamo il rumore derivante dall'impatto), e queste informazioni devono essere integrate insieme per creare una percezione coerente e unitaria del mondo circostante. Oggi è ormai riconosciuto che la convergenza e l'integrazione di informazioni di natura differente nel cervello (*integrazione multisensoriale*) costituiscono una parte fondamentale del processo percettivo e cognitivo. Questa nuova teoria della percezione, che abbandona il principio di elaborazione isolata delle diverse informazioni sensoriali, è supportata da molti dati sperimentali resi disponibili anche grazie al raffinamento delle tecniche di indagine neurofisiologiche e di *neuroimaging*. Il concetto alla base di tale teoria è che regioni cerebrali dette multimodali si attivano quando vengono sollecitate da segnali di diversa natura coincidenti spazialmente e/o temporalmente e l'uscita che generano è l'integrazione, la combinazione, degli ingressi distinti che ricevono.

I principi alla base dell'integrazione multisensoriale, che vengono utilizzati per identificare queste regioni, sono:

- i neuroni multimodali si attivano particolarmente se sollecitati da almeno due tipi di stimoli diversi e i loro *receptive field* si trovano in posizioni corrispondenti, allineate, nelle diverse modalità a cui rispondono. Il campo recettivo o *receptive field* di un neurone è quella regione di spazio esterno la cui stimolazione ne modifica l'attivazione, ovvero la frequenza di scarica (un esempio è in figura 1.1);

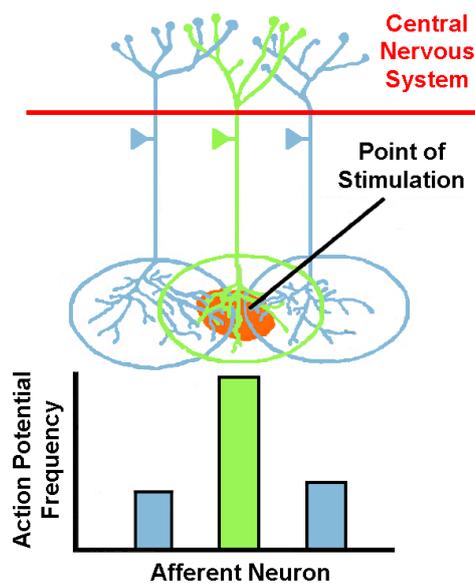


FIGURA 1.1 – Uno stimolo che colpisce in proporzione differente i campi recettivi di tre neuroni ne causa attivazioni di entità diversa

(<http://www.d.umn.edu/~jfitzake/Lectures/DMED/SensoryPhysiology/GeneralPrinciples/LateralInhibition.html>)

- la risposta allo stimolo multimodale è maggiore di quella agli stimoli presi singolarmente (*multisensory enhancement*); in particolare la risposta allo stimolo multimodale può essere *sub-additiva* (se pur essendo maggiore della risposta agli stimoli singoli rimane inferiore alla somma delle due risposte prese singolarmente) o *super-additiva* (se è superiore alla somma delle due singole risposte);
- l'efficacia della combinazione di due modalità sensoriali è tanto maggiore quanto più deboli sono gli stimoli unimodali presentati, purché provengano dalla stessa posizione e/o nello stesso istante (*inverse effectiveness*). Questa caratteristica equivale al passaggio da un comportamento sub-

additivo a uno additivo o super additivo al diminuire dell'efficacia degli stimoli unimodali combinati;

- stimoli contemporanei generati da sorgenti spazialmente diverse danno origine alla *cross-modal depression*, ovvero l'attivazione dei neuroni, pur non scendendo sotto il livello basale, è minore di quella generata dai singoli segnali.^{[1][2][3]}

Affinché ci sia questo tipo di attivazione, i segnali forniti al cervello devono rispettare alcuni requisiti:

- essere anzitutto spazialmente congruenti, per poter essere percepiti come derivanti da un'unica sorgente e attivare i neuroni con *receptive field* allineati;
- essere temporalmente sincronizzati;
- essere eventualmente congruenti semanticamente.

Queste caratteristiche dello stimolo, provocando un'attivazione neuronale (nelle aree multimodali) significativamente aumentata rispetto alla sollecitazione unisensoriale, migliora la soglia per la detezione, quindi la probabilità di sentire lo stimolo, ed aumenta la velocità di risposta, a prescindere dal livello di attenzione fornito dal soggetto.^[6]

Le regioni eteromodali sono considerate tali perché capaci di rispondere a sollecitazioni diverse grazie alla presenza di neuroni bi-trisensoriali, che si attivano in più di una modalità, oppure perché sono connesse con più regioni unimodali.^{[4][5][6]}

I numerosissimi studi sull'integrazione multisensoriale hanno portato anche a rivedere i primi modelli che proponevano un'architettura prettamente gerarchica (o convergente o *feedforward*) alla base delle capacità multisensoriali del nostro cervello: secondo questi modelli, l'integrazione multisensoriale è di competenza esclusiva di aree corticali di alto livello (aree associative), a cui convergono, attraverso uno schema *feedforward*, informazioni da aree di basso livello, puramente unisensoriali, che processano separatamente stimoli di natura diversa (figura 1.2a).

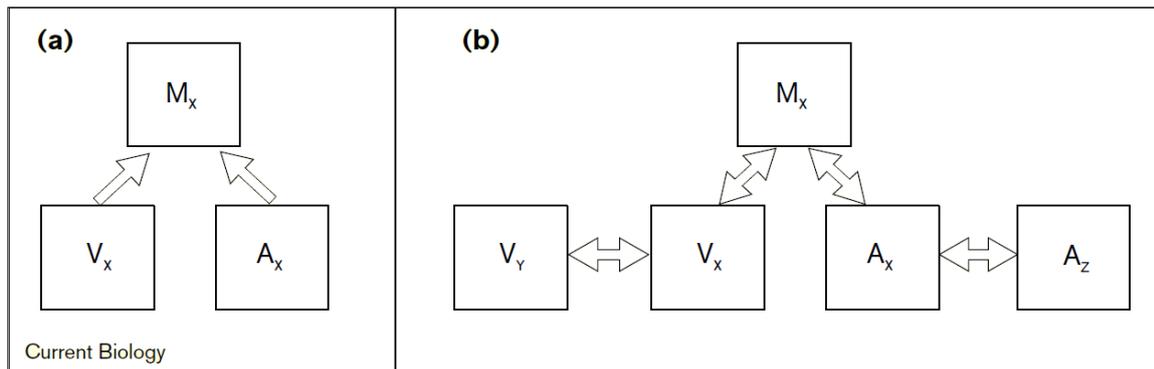


FIGURA 1.2 – a) Collegamento *feedforward*: un'area multisensoriale riceve da due aree prettamente unisensoriali; b) Collegamento bidirezionale (*feedforward* e *feedback*) tra aree unimodali visive (V_x, V_y) e uditive (A_x, A_y) tra loro e con un'area superiore multimodale (M_x)^[1]

Oggi, questa struttura strettamente gerarchica è stata fortemente messa in discussione e i neuroscienziati sono propensi a credere che l'integrazione possa avvenire sia a un primo livello, più basso, che a uno più tardivo, più alto, mediante una rete parallela con connessioni *feedback* e *feedforward* tra le varie regioni, come indicato in figura 1.2b. In questo modo, anche l'attivazione in aree considerate in origine strettamente unisensoriali può essere modulata da stimoli di altre modalità. In funzione degli stimoli e delle variabili (spazio, tempo, corrispondenza tra caratteristiche) processate, le reti neurali svolgono compiti diversi con tempistiche variabili, che dipendono principalmente dalla lunghezza delle connessioni sinaptiche che collegano i diversi *cluster* di neuroni.

Grazie a questa collaborazione tra le diverse aree si ha un flusso di informazione che si muove non più in una sola direzione, ma va dalle zone unimodali, primo stadio di elaborazione, verso quelle multimodali per poi essere riproiettato alle prime con maggiore contenuto informativo. Questa densa comunicazione multisensoriale e la sua ubiquità a diversi livelli di processamento cerebrale è alla base della molteplicità di abilità cross-modali di cui siamo dotati, tra cui il *crossmodal matching*, che permette di capire se una caratteristica è comune a due oggetti diversi; la *crossmodal integration*, mediante la quale si possono associare proprietà di natura diversa a uno stesso oggetto; l'*intermodal invariance* ossia l'individuazione di parametri che non variano con la modalità sensoriale utilizzata per percepire il segnale; la *crossmodal spatial attention*, grazie alla quale la detezione di uno stimolo viene facilitata se precedentemente ne era stato

presentato un altro, diverso ma nella stessa posizione; infine si possono individuare più facilmente segnali deboli, se concomitanti con altri di diversa tipologia, anche dopo aver imparato ad associarli mediante il *crossmodal learning*.^[4]

1.2 Regioni multisensoriali

Per identificare le aree multisensoriali, a partire da una coppia di stimoli, sono stati usati fondamentalmente due approcci:

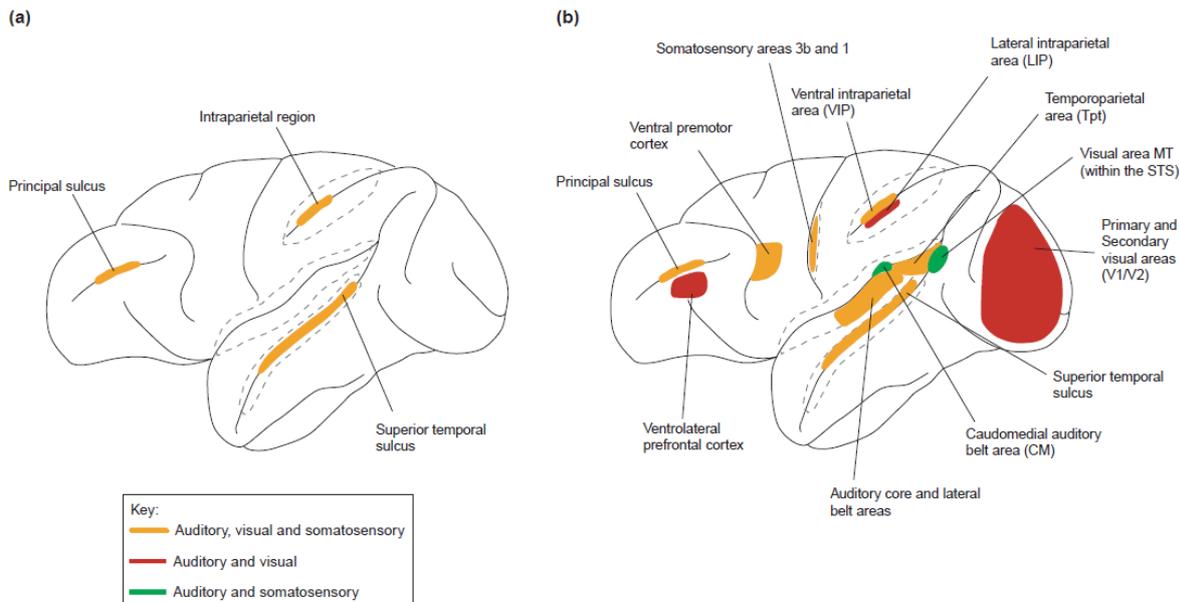
- se ne modificano dei parametri, quali la corrispondenza spaziale o l'intervallo temporale tra di essi, poiché queste sono le caratteristiche base dei segnali che attivano le regioni multisensoriali;
- se ne modifica il livello di intensità per individuare la soglia di percettibilità, che diminuisce secondo il principio dell'*inverse effectiveness*.^[6]

In questo contesto sono state sviluppate tre principali strategie di indagine:

- inizialmente si sono somministrati due diversi stimoli e si sono cercate le aree attive in entrambe le condizioni, tuttavia in questo modo non si poteva verificare né il principio dell'efficacia inversa né quello della risposta super-additiva;
- si è passati quindi a confrontare l'attivazione delle aree che rispondevano sia a stimoli unimodali che bimodali e a selezionare solo quelle che soddisfavano il principio sopraccitato, ma così facendo venivano classificate come aree multisensoriali anche quelle zone dove neuroni unisensoriali coesistono;
- la tecnica che permette la verifica sia dell'*inverse effectiveness* sia della soppressione prevede l'utilizzo di una quarta misura prelevata in condizioni di riposo, da confrontare sia con gli stimoli unimodali che con il bimodale per valutare se, come e quanto l'attività dei neuroni si scosta dalla *baseline*.^[5]

1.2.1 Regioni multisensoriali della corteccia associativa

Grazie a questi metodi sono state individuate alcune aree multimodali (figura 1.3) nella corteccia associativa quali il *Superior Temporal Sulcus (STS)*, l'*Intraparietal Sulcus* (suddiviso in *Lateral Intraparietal Sulcus, LIP*, e *Ventral Intraparietal Sulcus, VIP*) e le cortecce frontali e prefrontali.



TRENDS in Cognitive Sciences

FIGURA 1.3 – Aree multisensoriali del cervello^[5]

Nell'STS sono stati trovati neuroni che rispondono a stimoli sia visivi che uditivi, infatti si attivano in presenza di stimolo visivo in movimento, ma possono essere modulati dalla componente sonora dello stesso a condizione che i due segnali siano congruenti temporalmente, spazialmente e semanticamente. Ad esempio sentire il suono di passi causa un aumento nella risposta neurale data dal solo vedere un uomo che cammina.

Il solco interparietale gestisce la sequenza di movimenti nello spazio che vengono guidati da stimoli multimodali. Questi movimenti sono sovente complessi e l'entità dell'attivazione di una regione dipende fortemente dal compito specifico da eseguire. Il LIP riceve informazioni convergenti sulla posizione degli occhi e segnali audio-visivi, nel VIP, invece, sono presenti neuroni bi-trimodali sensibili a stimoli visivi, uditivi, somatosensoriali e vestibolari, i cui campi recettivi nelle diverse modalità sono sovrapposti.

Anche la giunzione temporo-parietale presenta un comportamento multisensoriale al fine di creare una rappresentazione completa dello spazio peripersonale finalizzata ad orientare la testa nella direzione voluta.

La corteccia prefrontale, è stato dimostrato, contiene neuroni capaci di integrare la componente visiva con quella sonora di segnali vocali dipendentemente dalla congruenza, dal sincronismo delle due. Nella corteccia premotoria *cluster* di neuroni situati in zone polisensoriali possono processare, oltre a input audio-visivi, anche quelli somatosensoriali, apparentemente con obiettivi legati alla difesa del soggetto, ovvero viene aumentata la sensibilità a segnali di pericolo imminente per poter pianificare dei movimenti difensivi.

1.2.2 Elaborazioni multisensoriali in aree corticali “unisensoriali”

Molteplici zone della neocorteccia, nonostante storicamente reputate unisensoriali, sono recettive anche a stimoli di tipologia differente rispetto a quella che gli è convenzionalmente associata.

Nella corteccia uditiva, coppie di stimoli uditivi e visivi oppure uditivi e tattili vengono integrati a livello di singolo neurone. I segnali somatosensoriali che vengono preferenzialmente elaborati provengono da contatti cutanei di testa e collo, quelli visivi servono ad associare le informazioni dei movimenti del volto con il suono della voce; infine anche la posizione degli occhi viene mappata in questa regione.

La corteccia visiva è influenzata da modulazioni provenienti dalla corteccia acustica qualora una coppia di stimoli arrivi dal campo visivo periferico. Per quanto riguarda i segnali somatosensoriali, questi attivano le stesse aree extrastriate richiamate anche da stimoli visivi necessari al riconoscimento di oggetti.

Infine anche nella corteccia somatosensoriale si attivano gli stessi neuroni sia quando vengono create associazioni visuo-aptiche sia audio-aptiche.^[5]

1.2.3 Regioni multisensoriali sottocorticali

I segnali prodotti dalla neocorteccia vengono inviati, tra gli altri, anche al collicolo superiore, una struttura sottocorticale multisensoriale deputata alla generazione e al controllo dei movimenti volti a orientare il capo e lo sguardo verso gli stimoli esterni. A tal fine i neuroni negli strati più superficiali ricevono afferenze dalla corteccia primaria visiva e dalla retina, a cui si aggiungono, scendendo in profondità, quelle dalle cortecce uditive, somatosensoriale e dalle aree visive extrastriate. I campi recettivi dei neuroni dei livelli più profondi sono in registro spaziale con la mappa retinotopica degli strati superiori, in questo modo stimoli di vario tipo e con uguale provenienza, colpiscono neuroni che mappano attraverso i diversi sensi la stessa area extracorporea.

I segnali prodotti in uscita dai neuroni dopo l'integrazione delle informazioni, creano una rappresentazione dell'ambiente circostante arricchita dalle informazioni derivanti dai diversi sensi per poter rispondere, principalmente, in presenza di oggetti in movimento. Tali segnali vengono proiettati sia all'area visiva V5/MT che alle aree parietali, tra cui l'*Inferior Parietal Lobule* (IPL).^{[2][7]} Queste connessioni sono presentate, semplificate, in figura 1.4.

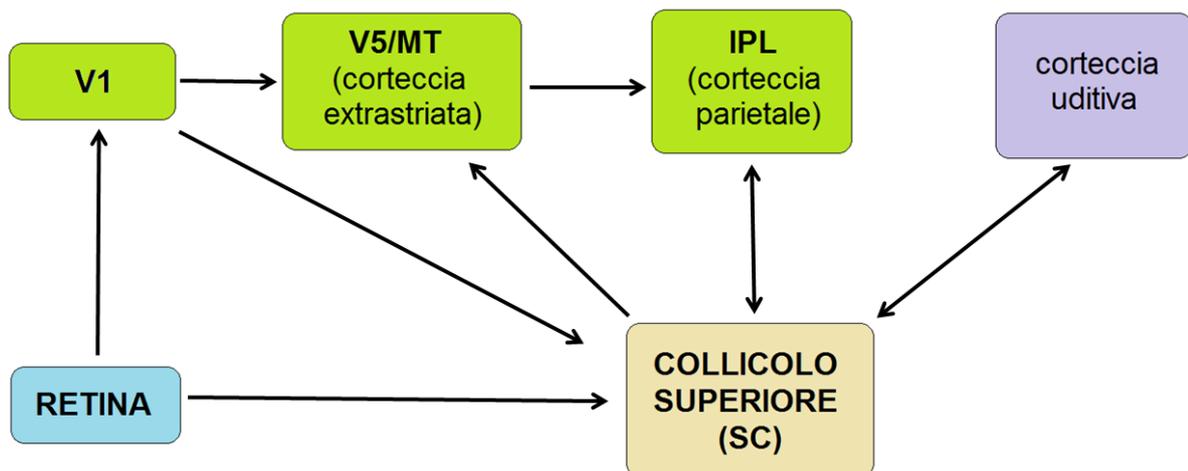


FIGURA 1.4 – Connessioni principali del collicolo superiore

1.3 Training multisensoriale

1.3.1 Le capacità multisensoriali come compensazione a deficit unisensoriali

Grazie alle caratteristiche di *multisensory enhancement* e *inverse effectiveness*, l'integrazione multisensoriale è particolarmente vantaggiosa quando il segnale da una singola modalità è debole o per proprie caratteristiche intrinseche o perché il sistema sensoriale corrispondente è danneggiato (ad es. perché deprivato di un'area cerebrale deputata a quella specifica modalità). In tal caso, infatti, la regione multisensoriale in presenza di uno stimolo che associa sia la modalità debole o deprivata sia quella intatta, risponderà comunque in modo incrementato ("*enhanced*") rispetto ai segnali applicati singolarmente. In questo modo l'attivazione delle regioni multisensoriali può rappresentare il correlato neurale della compensazione sensoriale, dopo che un sistema è stato danneggiato: i pazienti con un deficit unisensoriale possono ancora percepire uno stimolo bimodale anche quando una delle due modalità è stata danneggiata dalla lesione. Questo grazie anche alla presenza di connessioni ricorrenti, reciproche, *feedforward* e *feedback*, tra aree multisensoriale e unisensoriali, così che l'attivazione delle prime, sollecitate dagli stimoli congiunti, può favorire una maggiore attivazione anche delle aree unimodali più deboli. Tale sistema può quindi essere di grande rilevanza per una compensazione temporanea di deficit sensoriali, visivi o acustici, attraverso la presentazione di uno stimolo bimodale.

Di importanza ancora maggiore è la possibilità di sfruttare le capacità di integrazione multisensoriale per una compensazione/riabilitazione di un deficit unisensoriale, che non si verifichi solo immediatamente, in corrispondenza alla presentazione della stimolazione bimodale, ma che perduri nel tempo. Come detto in precedenza, infatti, è possibile insegnare al cervello l'associazione tra due stimoli di diversa natura contemporanei e coincidenti spazialmente mediante un *training* multisensoriale. L'obiettivo del *training* o addestramento multisensoriale è il rafforzamento delle sinapsi che collegano aree unimodali a quella multimodale, sfruttando il noto principio Hebb di apprendimento sinaptico. Le sinapsi, cioè le

connessioni che mettono in comunicazione i neuroni, non hanno un valore costante, ma sono modulabili: la regola di modifica hebbiana è un metodo di apprendimento che gode di evidenze neurofisiologiche, in base al quale se due neuroni, singoli o in *cluster*, collegati tra loro sono ripetutamente attivati contemporaneamente, l'efficacia sinaptica delle connessioni viene rinforzata. In questo modo uno stimolo unisensoriale (es. visivo) che inizialmente veniva percepito con difficoltà, dopo la presentazione ripetuta in associazione con un altro stimolo (es. uditivo), viene individuato più facilmente proprio grazie al rafforzamento delle connessioni reciproche tra i percorsi e le aree visive residue e le regioni multisensoriali. È importante sottolineare che l'applicazione di uno stimolo multisensoriale durante il *training* è cruciale per permettere l'attivazione contemporanea dei percorsi, delle aree unisensoriali residue dopo la lesione e delle zone multisensoriali: infatti lo stimolo unimodale da solo non sarebbe in grado di attivare sufficientemente le aree multimodali, impedendo così il verificarsi della condizione necessaria per un apprendimento hebbiano, ovvero l'attivazione simultanea di tutte queste regioni.

Le potenzialità di tale allenamento sono quindi notevoli per soggetti sani, poiché velocizzano i tempi di risposta e facilitano l'individuazione anche di stimoli appena sopra la soglia di sensibilità, ma sono ancora più evidenti se l'addestramento è inserito in una terapia compensativa rivolta a chi ha un deficit unisensoriale perché, come sopraddetto, per il principio dell'*inverse effectiveness*, se uno dei sensi sollecitati è in grado di produrre al più una debole risposta, qualora accoppiato con un altro con funzionalità normali, presenterà un grande miglioramento.

1.3.2 L'emianopsia: un esempio di deficit unisensoriale

Uno dei casi più esemplificativi è l'emianopsia, un deficit visivo sempre più diffuso che causa cecità in un quadrante o in un emicampo visivo in conseguenza a traumi o ictus che danneggiano la regione occipitale in un emisfero, sede delle aree visive primarie che provvedono a un processamento iniziale degli stimoli visivi provenienti dall'emicampo controlesionale.

Per comprendere più chiaramente qual è il percorso visivo danneggiato nei pazienti emianoptici può essere utile fare riferimento alla figura 1.5 o alla figura 1.6.

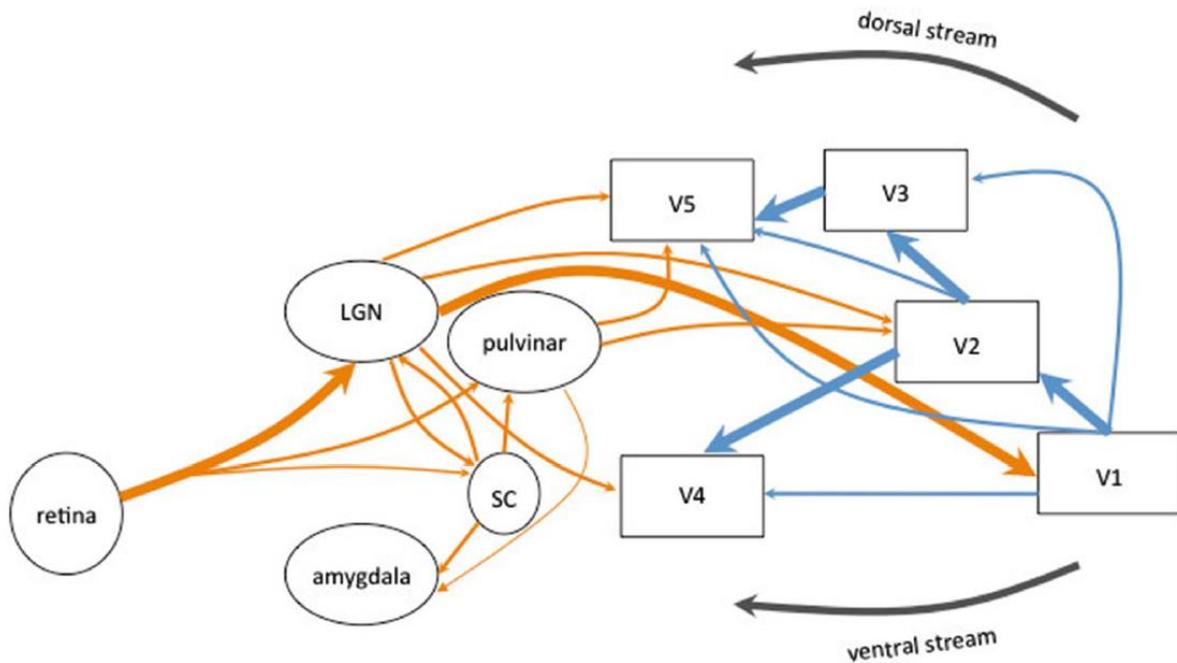
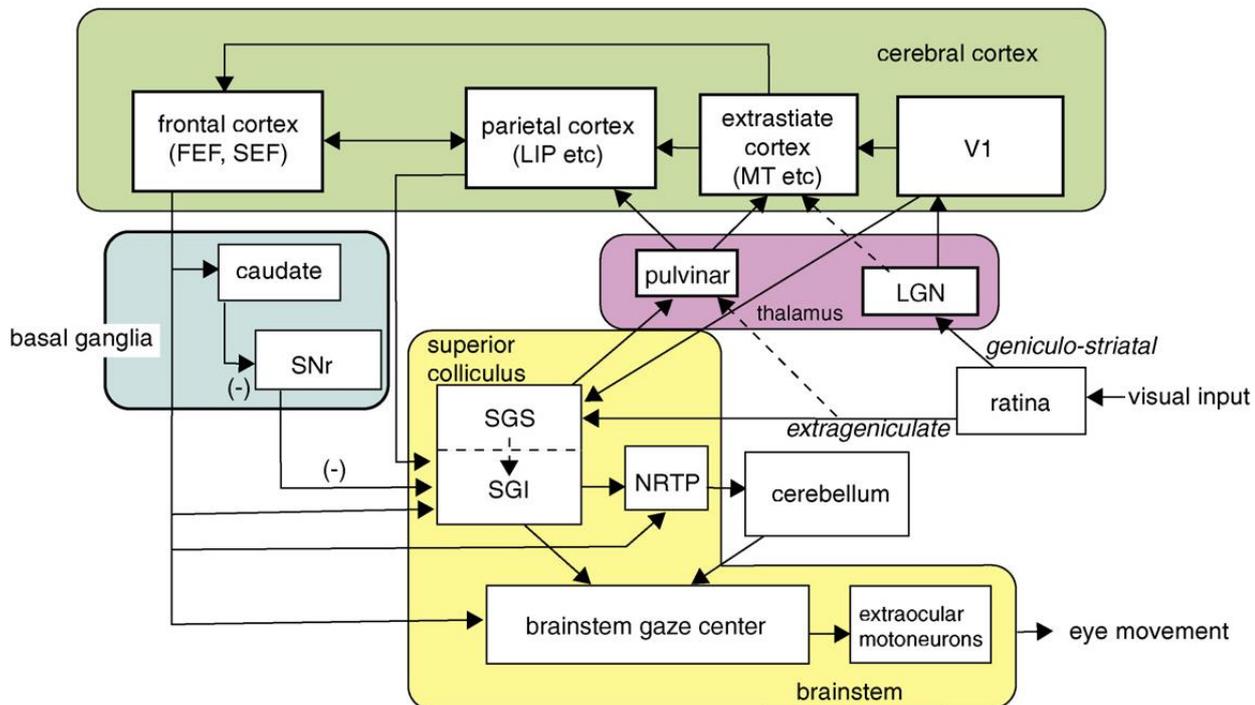


FIGURA 1.5 – Aree coinvolte nel processamento visivo^[8]

In particolare, come indicato nella figura 1.5, esistono due principali percorsi visivi. Uno, detta via retino-geniculo-striata (frecce spesse arancioni e celesti), costituisce il percorso visivo primario che porta i segnali dalla retina al nucleo genicolato laterale (*Lateral Geniculate Nucleus* LGN, una regione del talamo) e da qui alle regioni striate della corteccia occipitale (area V1), che rappresenta il luogo iniziale di processamento delle informazioni visive. Da V1 l'informazione viene trasmessa alle aree extrastriate V2, V3, V4, V5/MT, in cui specifici aspetti degli stimoli visivi vengono elaborati (ad es. il colore in V4 e il movimento in V5/MT).^[9]

L'altro percorso è detto extragenicolato (frecce sottili arancioni), in quanto non include l'LGN né V1 (che rappresenta la regione a cui proietta primariamente il talamo); esso è anche detto retino-collicolo-(pulvinar)-extrastriato in quanto dalla retina alcune connessioni raggiungono direttamente il collicolo e da qui vengono inviate, attraverso il pulvinar (una regione talamica), alle regioni visive extrastriate (in particolare V5/MT) nonché ad alcune regioni della corteccia parietale tra cui la *Lateral Intraparietal Area* (LIP), situata nell'*Inferior Parietal Lobule* (IPL) (figura 1.6).^[8]

In particolare tale regione ha le seguenti proprietà: è connessa reciprocamente con il collicolo, è multisensoriale, è coinvolta nella percezione ed attenzione spaziale (orientamento dell'attenzione verso una regione dello spazio) nonché, insieme al collicolo, nell'integrazione visuo-motoria, ossia nella generazione e controllo di movimenti oculari verso stimoli visivi. [10]



Current Opinion in Neurobiology

FIGURA 1.6 – Aree e circuiti neurali coinvolti nel processamento visivo e nella generazione di saccadi [11]

I pazienti emianoptici, in numero crescente a causa dell'invecchiamento della popolazione e del conseguente aumento di rischio di ictus cerebrale, sono caratterizzati da un danno alla via principale di visione, che dalla retina arriva alla corteccia striata mediante il nucleo genicolato laterale, in cui V1 è danneggiata in un emisfero. Tuttavia, tali pazienti hanno il collicolo superiore funzionalmente intatto in entrambi gli emisferi e di conseguenza mantengono la funzionalità della via retino-collicolo-pulvinar-extrastrriata/parietale (verso V5/MT e verso la corteccia parietale), che by-passa la corteccia lesionata V1.

Da questo punto di vista è di particolare importanza il fatto che alcuni pazienti emianoptici siano in grado di mantenere una capacità visiva residua in risposta a stimoli visivi in movimento che vengono presentati nella scotoma, riuscendo

talvolta anche ad individuarne la direzione. Inoltre, in alcuni casi sono anche in grado di eseguire movimenti oculari verso gli stimoli visivi presentati nel campo "cieco", pur rimanendo inconsapevoli della presenza dello stimolo.

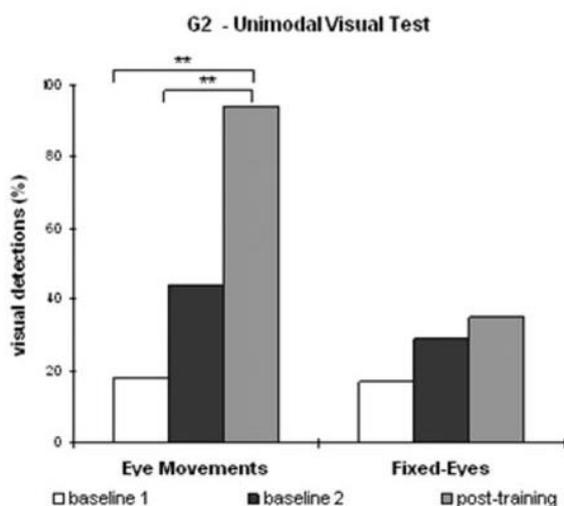
Per spiegare queste capacità residue sono state proposte diverse interpretazioni, come ad esempio un metodo di *feature-tracking*, basato sull'osservazione sperimentale che solo le immagini in cui è possibile identificare con chiarezza il centro di massa o di gravità dell'oggetto presentato vengono meglio individuate dai soggetti emianoptici. Secondo tale teoria, il movimento viene percepito perché il sistema nervoso interpola la traiettoria del centro di massa a partire dalle sue posizioni acquisite in istanti discreti in modo del tutto inconscio.^[12]

Tuttavia la spiegazione che sembra maggiormente plausibile ipotizza che tali abilità residue siano rese possibili grazie all'esistenza del percorso alternativo di processamento delle informazioni visive (retino-collicolo-pulvinar-extrastrinata/parietale) che non coinvolge le aree danneggiate e che, includendo regioni dedite all'elaborazione delle informazioni visive di movimento nonché alla generazione di movimenti oculari (V5/MT, regioni parietali tra cui l'IPL che include il LIP), spiega la capacità di preservare queste specifiche funzionalità.^[12]

È importante sottolineare, però, che non tutti i pazienti emianoptici presentano tali capacità residue, pur essendo tutti caratterizzati dalla presenza di tale percorso integro. Questo può dipendere da una variabilità inter-soggetto che rende tale via più o meno efficace: ad es. a seconda della forza originale delle connessioni sinaptiche in queste regioni, uno stimolo visivo presentato da solo può attivare sufficientemente le varie aree presenti lungo questo percorso (e in tal caso il paziente presenta le abilità residuali sopra descritte) oppure può risultare insufficiente ad attivarle ad un livello adeguato da determinare una risposta percettiva e motoria (e in tal caso il paziente non presenta tali capacità). La minore efficacia della via retino-collicolo-extrastrinata in pazienti sani può essere giustificata dal fatto che si tratta di una via visiva secondaria, la quale, in condizioni fisiologiche intatte e quindi prima del verificarsi della lesione, ha ruolo e contributo inferiori rispetto alla via visiva primaria (retino-genicolo-striata-extrastrinata).

1.3.3 Il *training* multisensoriale nei pazienti emianoptici: effetto e ipotesi sui correlati neurali

Alcuni studi recenti ^{[13][14]} hanno investigato la possibilità di potenziare la via funzionalmente intatta nei pazienti emianoptici, ovvero la via retino-collicolo-(pulvinar)-extrastriata/parietale, attraverso un *training* multisensoriale audiovisivo. Tale allenamento consisteva nel sottoporre i pazienti a sedute ripetute e prolungate di stimolo audio-visivi (flash e click spazialmente e temporalmente coincidenti) della durata di 100 ms. Durante la presentazione di tali stimoli, ai pazienti era richiesto, a partire da un punto di fissazione centrale, di eseguire movimenti oculari rapidi verso lo stimolo visivo, per poterlo rilevare grazie allo spostamento degli occhi e portarlo nel campo visivo sano. Sia prima che al termine del *training*, i pazienti erano sottoposti a test esclusivamente visivi con i quali venivano valutate le capacità dei pazienti di rilevare la presenza dello stimolo, e veniva verificato l'effetto del *training*. Durante il test, gli stimoli venivano applicati nell'emicampo cieco e la capacità di detezione visiva dei pazienti veniva valutata sia in condizioni di occhi fissi (mantenimento di un punto di fissazione centrale) sia in condizioni di occhi in movimento (i pazienti erano liberi di eseguire movimenti oculari spostando lo sguardo dal punto di fissazione centrale). I risultati ottenuti, riportati in figura 1.7, mostravano un effetto non significativo del *training* se il test veniva condotto in condizioni di occhi fissi, mentre mostravano un significativo miglioramento delle



capacità di rilevare lo stimolo visivo dopo il *training* rispetto alla condizione pre-*training* se il test visivo veniva condotto in condizioni di occhi in movimento.

FIGURA 1.7 – Risultati del test visivo unimodale ^[13]

Degno di nota è il fatto che il miglioramento derivante dal *training* non si rifletteva solo nell'esplorazione visiva dello spazio ma si trasferiva anche ad attività di vita quotidiana quali la lettura e l'individuazione di oggetti od ostacoli, e tale miglioramento aveva un carattere duraturo nel tempo.

Infine è importante sottolineare che un *training* eseguito esclusivamente con stimoli visivi, risultava inefficace nel produrre un miglioramento in tali pazienti, suggerendo chiaramente l'importanza dell'integrazione multisensoriale nel mediare l'efficacia dell'allenamento.^[14]

Una possibile interpretazione dei risultati così conseguiti (suggerita anche dai ricercatori che hanno condotto gli studi ^{[13[14]]}) è la seguente: la stimolazione multisensoriale permette di attivare in modo rilevante il collicolo superiore (lo stimolo visivo debole sarebbe trasportato dalla retina direttamente al collicolo, attraverso una via verosimilmente poco efficace, almeno in origine prima del *training*, mentre lo stimolo uditivo sarebbe trasportato attraverso la via intatta dalla corteccia uditiva al collicolo); la forte attivazione del collicolo, resa possibile grazie allo stimolo multisensoriale e al principio di efficacia inversa, permetterebbe di rinforzare, grazie a meccanismi di apprendimento sinaptico, i circuiti neurali in cui è coinvolto il collicolo, ad es. il circuito retino-collicolare, ma anche il circuito che collega il collicolo alle via extrastriate e alle via parietali; dopo il *training*, grazie al rafforzamento di tali circuiti, sarebbe aumentata la capacità di risposta del collicolo allo stimolo visivo da solo (ad es. grazie al rafforzamento della via retino-collicolare) e la capacità dei soggetti di esplorare rapidamente lo spazio grazie al rafforzamento della via collicolo-parietale coinvolta nella generazione dei movimenti oculari.

Pertanto, l'ipotesi fondamentale alla base dell'effetto benefico del *training* nei pazienti emianoptici è un coinvolgimento del collicolo superiore e dei circuiti che lo vedono implicato.

1.3.4 Motivazione degli esperimenti di *training* e dei *task* visivi oggetto del presente studio

Lo studio che ha fornito i dati analizzati in questo lavoro ha utilizzato lo stesso tipo di *training* audio-visivo applicato precedentemente ai pazienti emianoptici nei lavori sopra analizzati.

L'obiettivo di tale esperimento è ottenere possibili evidenze sperimentali a sostegno dell'ipotesi precedentemente formulata che la struttura rafforzata dall'addestramento audio-visivo (spazialmente e temporalmente coincidente) sia effettivamente il collicolo superiore.

Lo studio ha riguardato:

- due gruppi di soggetti, sottoposti a due diversi tipi di *training* audio-visivi: uno costituito da stimoli audio-visivi spazialmente e temporalmente coincidenti e l'altro da stimoli audio-visivi temporalmente coincidenti ma spazialmente disparati. Durante ciascun tipo di addestramento, ai soggetti era richiesto di eseguire un movimento oculare verso lo stimolo visivo.
- due diversi tipi di *task* visivi a cui ciascun gruppo di soggetti è stato sottoposto prima e dopo il *training* audio-visivo: un *task* di discriminazione della direzione di movimento (orizzontale o verticale) di un set di punti luminosi su uno sfondo nero e un *task* di discriminazione dell'orientazione (verso destra o sinistra) di un set di barre.

L'utilizzo dei due tipi differenti di *training* ha lo scopo di verificare se esclusivamente quello che utilizza stimoli spazialmente e temporalmente coincidenti ha un effetto; questo risultato supporterebbe il coinvolgimento di un'area multisensoriale nel mediare l'effetto dell'addestramento, in base al principio di integrazione multisensoriale per cui l'efficacia di uno stimolo bimodale su un'area multisensoriale si verifica solo se gli stimoli rispettano questo determinato vincolo. L'utilizzo dei due tipi di compiti prima e dopo l'allenamento serve a verificare se questo ha un effetto diverso su di essi, aiutando così a identificare se l'area multisensoriale potenzialmente coinvolta è effettivamente il collicolo superiore. In questo caso, infatti, ci si può aspettare un effetto di *enhancement* nel compito di

discriminazione del movimento, dato che il collicolo si inserisce proprio in tale percorso (attraverso il circuito collicolo-pulvinar-V5/MT/corteccia parietale), oltre ad essere esso stesso particolarmente sensibile a stimoli visivi in movimento; al contrario non ci si dovrebbe aspettare un effetto del *training* nel compito di discriminazione dell'orientazione che verosimilmente coinvolge aree e circuiti differenti.

Una descrizione più completa e dettagliata dei soggetti, *training* e *task* visivi è fornita nel capitolo successivo, paragrafo 2.1.

1.4 Aree neurali coinvolte in compiti di discriminazione visiva

Poiché, come descritto nel paragrafo 1.3.4, sono stati utilizzati dati ottenuti durante due *task* differenti di discriminazione visiva (discriminazione di movimento e di orientazione), in questo paragrafo si vuole dare una descrizione dei diversi percorsi di elaborazione visiva.

Due sono le vie principali di elaborazione per gli stimoli visivi: la via ventrale, o “via del *where*”, e la via dorsale, chiamata anche “via del *what*”, schematicamente rappresentate in figura 1.8.

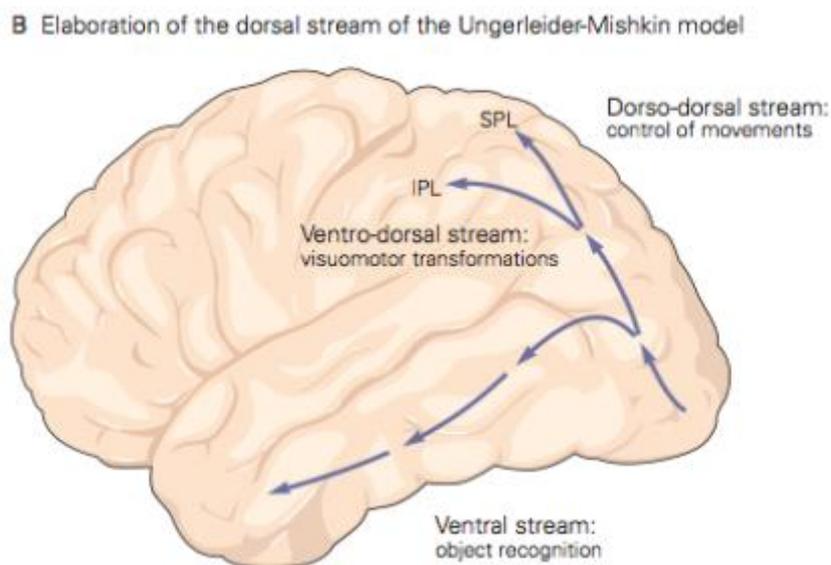


FIGURA 1.8 - Percorso ventrale (*what*) e dorsale (*where*) per segnali visivi

(andpalmieri.wordpress.com/tag/psicologia)

Le due vie hanno origine comune nella corteccia primaria (V1, V2, V3), che invia poi i segnali verso la V5/MT per la via dorsale o verso la V4 per la via ventrale.

La via del *where/how* prosegue dalla MT verso le regioni parietali posteriori e prefrontali ed elabora la componente dello stimolo che riguarda il movimento sia nella parte di percezione (posizione, velocità dell'oggetto) che di pianificazione. Ha infatti come obiettivi la creazione di una mappa sensorimotoria e l'organizzazione delle azioni necessarie a raggiungere un oggetto (*vision for action*) o articolare delle parole.

La via del *what*, invece, dalla V4 procede verso le regioni temporali e prefrontali occupandosi del riconoscimento degli oggetti sia da un punto di vista fisico (contorni, colore, dimensione) sia da un punto di vista semantico, della comprensione del parlato e dell'identificazione degli stimoli visivi o uditivi: difatti nei primi passi del processo viene creata un'immagine a cui verrà associato un nome, una classificazione, dopo essere stata ripulita dai dettagli meno rilevanti (*vision for perception*).^{[15][16][17]}

Queste vie parallele, pur potendo funzionare anche indipendentemente, come è stato dimostrato da studi su pazienti con agnosia percettiva o con lesioni nelle aree occipitali e/o parietali^[18], per poter lavorare nelle migliori condizioni e con la massima efficienza, devono comunicare tra loro o nelle regioni comuni, in cui proiettano entrambi i percorsi, o direttamente, mediante dei collegamenti tra le strutture coinvolte, o con dei *loop feedforward/feedback* che ripropongono agli stadi iniziali le informazioni elaborate da quelli successivi sia entro lo stesso percorso sia tra i due. Quest'ultima sembra essere la teoria meglio dimostrata dalle evidenze sperimentali.^[15]

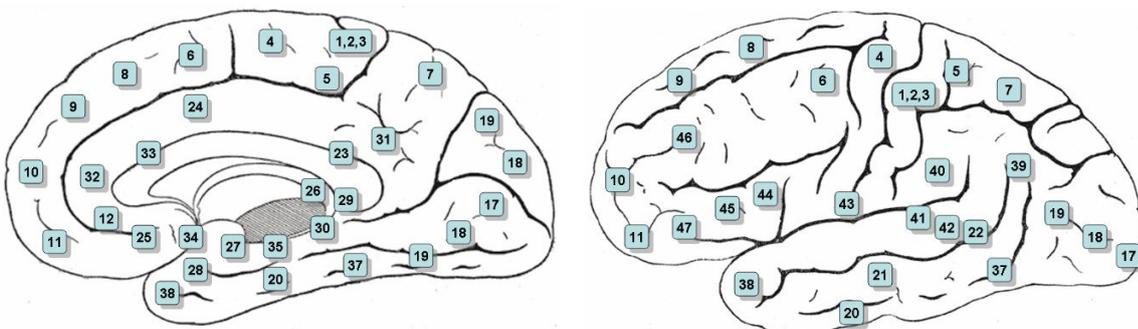
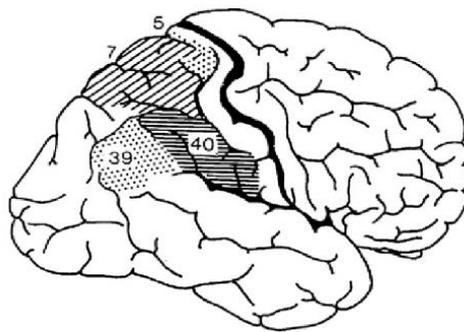


FIGURA 1.9 – Aree di Brodmann (<http://medmedicine.it/>)

Le aree cerebrali vengono distinte sia in base alla funzionalità e alla localizzazione anatomica (ad es. corteccia uditiva primaria piuttosto che A1), sia in base alla citoarchitettura, in questo secondo caso prendono il nome di Aree di Brodmann, dal neurologo tedesco Korbinian Brodmann che le classificò all'inizio del ventesimo secolo. Nel cervello umano queste aree sono 84, 42 in ciascun emisfero, rappresentate in figura 1.9, numerate dalla 1 alla 47 (alcune non sono presenti poiché la classificazione originaria è stata fatta sui primati), in posizione speculare in ogni emisfero, e suddividono l'intero cervello.



Brodman – man

FIGURA 1.10 – Alcune aree parietali del cervello ^[19]

Nel contesto dell'esperimento, alla presentazione dello stimolo in movimento, le aree che dovranno attivarsi maggiormente si troveranno in posizione dorsale, a partire dalle aree visive primarie (Brodman Area 17) ed extrastriate come la V5 (Brodman Area 19), il cui ruolo nell'individuazione ed elaborazione del moto, qualora percepito, è attualmente dimostrato^[20].

Il collicolo superiore risponde a qualsiasi stimolo di movimento, ma non è possibile misurarne direttamente l'attività se non con metodi invasivi. Dato che comunica sia con la V5 che con il Lobulo Parietale Inferiore (IPL) (situato nella Brodmann Area 7) se ne può però capire l'attivazione osservando il comportamento del segnale in queste BA, che rifletterà quello della struttura multisensoriale sottostante. ^{[9][10][21]}

Lo stimolo statico utilizzato nel compito di discriminazione di orientazione, invece, solleciterà maggiormente aree del percorso ventrale. Si inizierà con V1 (Brodman Area 17), in cui le colonne corticali sono specializzate nel distinguere l'orientamento di linee, griglie o pattern di punti classificandole grazie a un'ampia scelta di direzioni codificate, per passare poi a V2 e V3 (Brodman Area 18), dedite

al riconoscimento dei contorni mediante step successivi di integrazione delle informazioni trasmesse dall'area visiva precedente. ^{[16][17][22][23][24][25][26][27]} In questo caso il collicolo superiore non dovrebbe mostrare una particolare attivazione poiché lo stimolo è statico (e in quanto tale sollecitare meno il collicolo) e quindi non coinvolge la via del *where*.

I due compiti hanno in comune due caratteristiche:

- le immagini vengono presentate lateralmente e quindi si attiveranno dei circuiti coinvolti nel reindirizzamento dell'attenzione visuospatiale, che coinvolgono le regioni parietali (Brodmann Area 5 e 7, vedasi figura 1.10), ad esempio il già citato IPL, poiché una delle sue funzioni è l'elaborazione di stimoli visivi periferici al fine di direzionare lo sguardo e l'attenzione verso di essi, in particolare la parte situata nell'emisfero destro, che ha come compiti principali il mantenimento dell'attenzione sull'obiettivo dell'azione da eseguire e l'individuazione di eventi rilevanti^{[10][16][28][29]};
- i compiti richiedono una discriminazione di una direzione di movimento o di orientazione, che viene effettuata a livello di aree più frontali, quali le Aree di Brodmann 10 e 11, almeno nel momento della decisione a livello cosciente e della pianificazione del movimento che ne segue, necessario per fornire fisicamente la risposta richiesta.

capitolo 2

MATERIALI E METODI

2.1 Descrizione dell'esperimento e acquisizione dei dati

Come anticipato nel paragrafo 1.3.4, obiettivo dell'esperimento è verificare quali regioni cerebrali e circuiti neurali vengono potenziati da una stimolazione multisensoriale audio-visiva ripetuta, durante la quale al soggetto è richiesto di volgere lo sguardo verso lo stimolo visivo.

Ipotizzando che venga coinvolta una struttura come il collicolo superiore, sono stati scelti due compiti diversi di discriminazione visiva, uno solo dei quali richiede l'utilizzo di un percorso che coinvolge tale regione. Tali compiti sono stati svolti prima e dopo la fase di stimolazione multisensoriale ripetuta al fine di verificare se e in quale dei due compiti si evidenziano differenze tra le condizioni di pre-stimolazione e post-stimolazione. L'ipotesi è che differenze pre vs. post ascrivibili ad una aumentata attivazione del collicolo superiore si evidenzino solo nel caso del compito che coinvolge tale struttura.

L'esperimento, nella sua interezza (fase di stimolazione e compiti di discriminazione visiva), è stato svolto presso il Centro di Neuroscienze Cognitive dell'Università di Bologna, che ha sede a Cesena.

Nel seguito, la fase di stimolazione audiovisiva ripetuta verrà definita come *training multisensoriale*, mentre i compiti di discriminazione visiva eseguiti per testarne l'effetto verranno definiti *task*.

L'esperimento ha coinvolto 30 volontari sani di età media pari a 23,7 anni, divisi in due gruppi ognuno composto da 15 partecipanti. I due gruppi sono definiti gruppo sperimentale e gruppo di controllo e si differenziano per una caratteristica specifica del *training* multisensoriale a cui sono stati sottoposti. Ad entrambi i gruppi, durante il *training*, vengono ripetutamente presentati uno stimolo luminoso e uno sonoro

(*rumore bianco*) temporalmente coincidenti e della durata di 100 ms. Per il gruppo sperimentale gli stimoli, oltre ad essere temporalmente coincidenti, sono anche spazialmente coincidenti; al contrario, per il gruppo di controllo gli stimoli sono temporalmente coincidenti ma spazialmente disparati.

Prima della presentazione di ogni stimolo audio-visivo, ai soggetti è richiesto di mantenere lo sguardo sul punto di fissazione centrale; quindi, alla presentazione dello stimolo, al soggetto è richiesto di indirizzare lo sguardo verso lo stimolo visivo e segnalarne l'individuazione premendo un tasto. Nella figura 2.1 è mostrato l'apparato utilizzato per eseguire il *training* multisensoriale. Per evitare *bias* nei risultati, a 16 soggetti, 8 sperimentali e 8 controlli, il *training* è stato effettuato nell'emicampo destro, ai restanti 14 nell'emicampo sinistro.

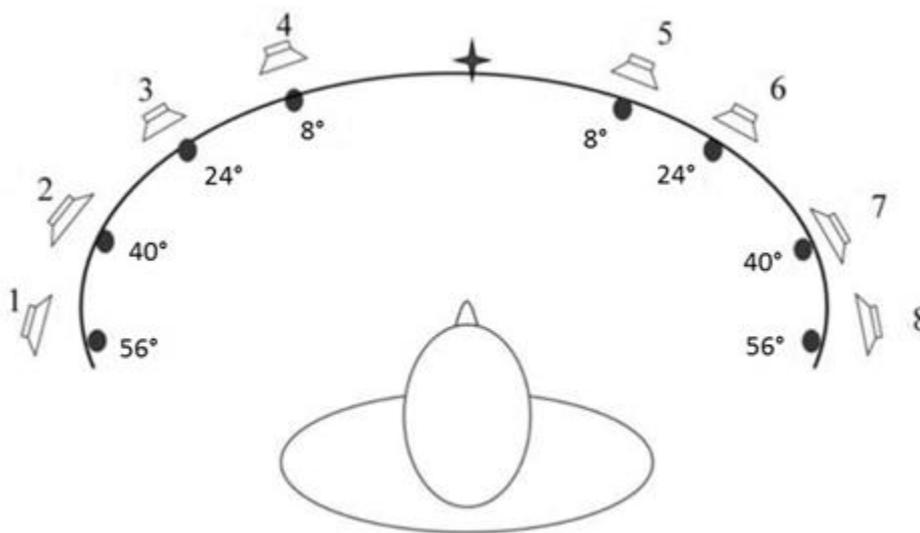


FIGURA 2.1 – Apparato utilizzato per presentare e localizzare gli stimoli audio-visivi durante il *training*

I *task* richiesti prevedono o la discriminazione della direzione di movimento (verticale/orizzontale) di una serie di punti che si muovono coerentemente, o la discriminazione dell'inclinazione di un pattern di Gabor (verso sinistra/destra), attraverso la presentazione di appropriati stimoli visivi (si veda figura 2.2).

Su uno schermo posto davanti al soggetto vengono presentati gli stimoli nella periferia del campo visivo, disposti a 15° a destra o sinistra del punto di fissazione; lo stimolo viene presentato per una durata di 250 ms nel caso del compito di orientazione, e per una durata di 530 ms per il compito di movimento. Per mantenere un buon livello di attenzione, prima di ogni stimolo i soggetti devono

mantenere la fissazione su una X posta al centro per 1000 ms; questo intervallo è seguito da un periodo con schermo vuoto di durata variabile compresa tra 150-300 ms e successivamente compare lo stimolo per il quale è richiesto il compito di discriminazione.

La risposta viene fornita premendo uno tra quattro tasti che corrispondono alle quattro possibili scelte (verticale, orizzontale, destra, sinistra).

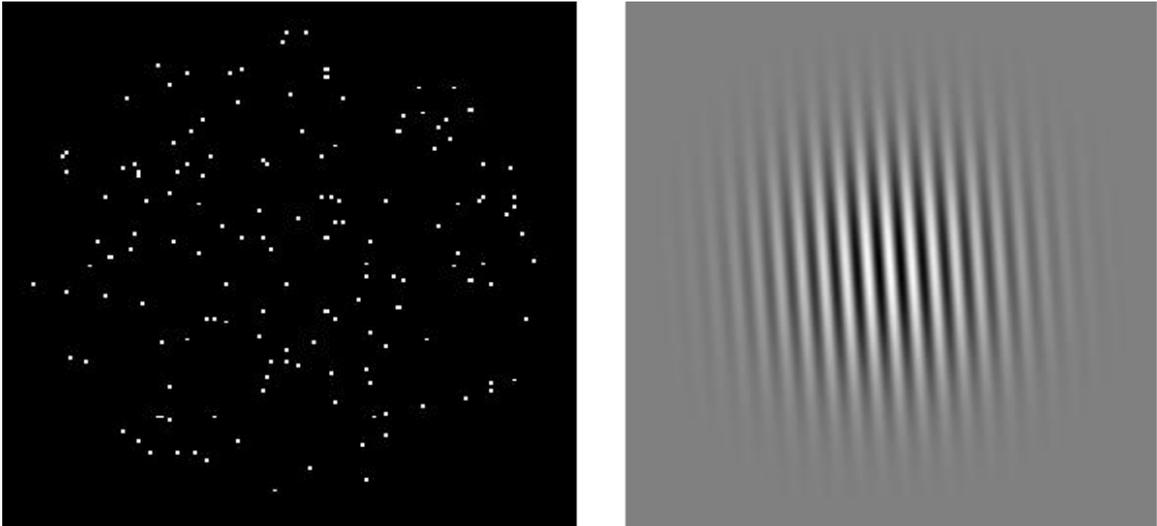


FIGURA 2.2 – Immagini utilizzate come stimoli nel *task* di discriminazione visiva: serie di punti in movimento (sinistra), per la discriminazione del movimento, e *patch* di Gabor (destra), per il *task* di discriminazione di inclinazione

Quando le immagini sono presentate nello stesso emicampo utilizzato per il *training* si ha la condizione definita “lato stimolato”, che va a sollecitare l’emisfero in cui ci si aspetta sia avvenuto un potenziamento in seguito al *training* multisensoriale (emisfero controlaterale all’emicampo utilizzato per la stimolazione audio-visiva durante il *training*). Se invece le immagini appaiono nell’emicampo non utilizzato durante l’allenamento, la condizione è denominata “lato non stimolato” e ci si aspetta che rispondano principalmente le aree dell’emisfero ipsilaterale all’allenamento, che si ipotizza abbiano beneficiato del training in misura minore rispetto all’altro emisfero.

L’esperimento si è svolto complessivamente in due giornate consecutive: nella prima giornata è stata eseguita la calibrazione degli stimoli usati per i *task* di discriminazione visiva, per determinare il livello di difficoltà adeguato per ogni soggetto e sono stati acquisiti i dati prima del *training* (“pre”); nella seconda

giornata, i soggetti sono stati sottoposti a due ore di *training* multisensoriale e successivamente hanno effettuato la sessione denominata “post” con le stesse modalità del giorno precedente.

Durante le sessioni di discriminazione visiva sono stati acquisiti i segnali elettroencefalografici (EEG) di ciascun partecipante mediante una cuffia a 64 elettrodi disposti secondo lo standard internazionale 10/20 (vedasi la figura 2.3). I 64 canali sono stati registrati rispetto a un elettrodo posto sul mastoide sinistro. Quattro di questi canali sono oculari e servono per registrare i movimenti verticali e orizzontali degli occhi; un altro canale è posto sul mastoide destro.

L'elenco dei 59 canali effettivamente posizionati sullo scalpo e utilizzati per registrare l'attività cerebrale è il seguente:

1	Fp1	21	C1	41	P5
2	Fp2	22	C2	42	P6
3	AF3	23	C3	43	P7
4	AF4	24	C4	44	P8
5	AF7	25	C5	45	PO3
6	AF8	26	C6	46	PO4
7	F1	27	T7	47	PO7
8	F2	28	T8	48	PO8
9	F3	29	CP1	49	O1
10	F4	30	CP2	50	O2
11	F7	31	CP3	51	FPz
12	F8	32	CP4	52	AFz
13	FC1	33	CP5	53	Fz
14	FC2	34	CP6	54	FCz
15	FC3	35	TP7	55	Cz
16	FC4	36	TP8	56	CPz
17	FC5	37	P1	57	Pz
18	FC6	38	P2	58	POz
19	FT7	39	P3	59	Oz
20	FT8	40	P4		

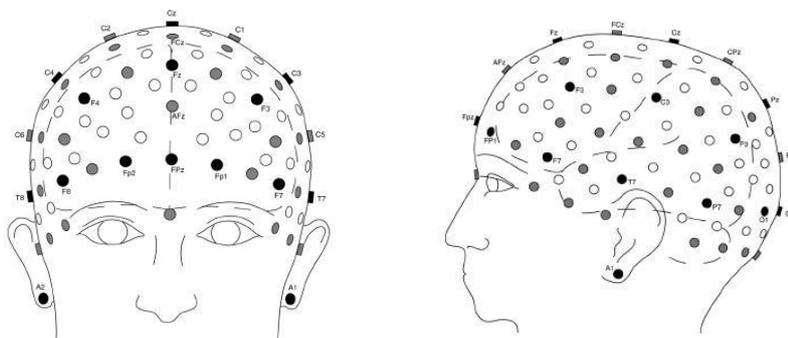


FIGURA 2.3 – posizione degli elettrodi sullo scalpo. (bindcenter.eu)

Dopo l'acquisizione i segnali vengono ri-referenziati off-line usando come riferimento la media dei segnali dei due mastoidi, ripuliti da artefatti dovuti a movimento oculare, battito cardiaco e filtrati a 40Hz per rimuovere anche il disturbo di rete. Infine sono selezionate solo le epoche in cui la risposta è stata data correttamente.

I dati forniti dall'elettroencefalografo sono stati pre-elaborati dai ricercatori del gruppo di Neuroscienze Cognitive con l'utilizzo di EEGlab, una *toolbox* di MATLAB® sviluppata da Makeig et al specificatamente per elaborare segnali elettrofisiologici quali EEG e MEG.^[37] Le operazioni eseguite durante il *pre-processing* sono descritte nel capitolo "Procedimento e risultati" al paragrafo 1.

2.2 I potenziali evento correlati (Event Related Potentials, ERP)

Un Potenziale Evento Correlato (ERP) è la risposta del sistema nervoso a uno stimolo esterno, che attiva una determinata area corticale con ritardo preciso dopo la presentazione dello stimolo e causa una deflessione positiva o negativa del tracciato elettroencefalografico. La base fisiologica sottostante tali potenziali risiede nella modalità di elaborazione corticale delle informazioni portate da un qualsiasi evento. Lo stimolo attiva una sequenza di sorgenti corticali con ordine e ritardo fissati, che causano una altrettanto ben precisa sequenza di deflessioni nell'andamento del potenziale sullo scalpo, la cui distribuzione riflette quella dei generatori sottostanti.

L'ERP si presenta quindi come un picco marcato nell'EEG in cui le caratteristiche distintive sono:

- latenza, ossia il ritardo nella comparsa della risposta specifica rispetto all'istante di presentazione dello stimolo;
- polarità, che dipende dalla posizione dell'elettrodo sullo scalpo e dalla distribuzione di campo elettrico generato dall'area corticale attivata;
- ampiezza, della deflessione rispetto al livello di base;

- posizione sullo scalpo, corrispondente alle aree corticali sottostanti che si attivano.

Dal segnale misurato agli elettrodi non è possibile individuare immediatamente il picco di interesse poiché l'elettroencefalogramma, oltre ad essere di natura molto rumoroso e di ampiezza piccola (μV), è corrotto da artefatti quali il battito cardiaco, i movimenti oculari, muscolari, della testa, dei cavi e disturbi elettrici ambientali, che vengono rilevati e visualizzati anch'essi sotto forma di deflessioni, sovente di ampiezza notevolmente maggiore rispetto all'ERP o all'attività cerebrale basale.

Il primo passaggio da fare è ripulire il segnale da tutto ciò che non è attività neurale mediante rimozione delle epoche o dei tratti contenenti troppo rumore, se questo non causa eccessiva perdita di informazione. In alternativa si possono applicare filtri digitali, se è nota la frequenza dell'artefatto (es. disturbo dato dall'alimentazione a 50 Hz), oppure ci si serve delle misure fatte con gli elettrodi oculari nel caso del *blinking*. Successivamente, per mettere maggiormente in evidenza la risposta desiderata, si passa a mediare il segnale prelevato a ogni elettrodo sui vari *trial*, così da ridurre la varianza, appiattare le parti più rumorose e far risaltare quelle costanti, come si può notare nella figura 2.4. In particolare, le registrazioni vengono acquisite durante delle sessioni in cui viene somministrato ripetutamente e con una determinata cadenza uno stimolo. Quindi, le registrazioni vengono suddivise in epoche *time-locked* allo stimolo, ovvero, prendendo come riferimento per gli istanti iniziale e finale la presentazione dello stimolo (somministrato convenzionalmente all'istante zero), ogni *trial* inizia e termina nella stessa posizione temporale relativa rispetto al tempo zero. In questo modo la variazione dell'attività cerebrale in risposta allo stimolo si trova negli stessi istanti di tempo all'interno di ogni epoca, in altre parole i *trial* sono sincronizzati. Mediando questi segmenti di segnale si aumenta il rapporto segnale/rumore: in particolare le variazioni di fondo dell'EEG tendono a ridursi di un fattore $\frac{1}{\sqrt{N}}$ (N numero di epoche mediate) poiché sono stocastiche e non dipendono dallo stimolo (statisticamente, in parte delle epoche tali variazioni di fondo avranno segno positivo e nelle restanti negativo, quindi sommandosi tenderanno a elidersi e la componente che

rimane è una frazione dell'attività originale), invece le componenti costanti e sincronizzate, come la risposta evocata dallo stimolo, si sommano in fase (essendo tutte con la stessa polarità e segno, non si eliminano) (figura 2.4). Questo processo viene definito *averaging* ed è particolarmente efficace per segnali stocastici in cui la variazione di interesse è di ampiezza notevolmente inferiore rispetto alle variazioni standard, come gli ERP nel segnale EEG.^[30]

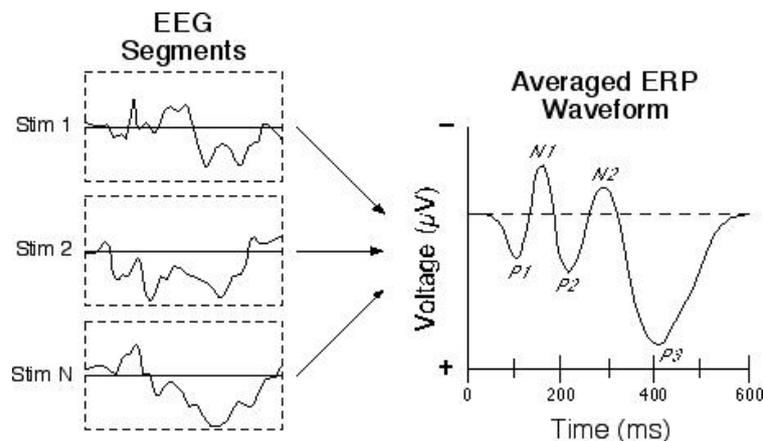


FIGURA 2.4 – Effetto dell'*averaging* su tre epoche: mediando si evidenzia l'ERP e diverse sue componenti (uwaterloo.ca/event-related-potential-lab/about-event-related-potential-lab/our-research)

In questo lavoro ci si è concentrati sulla *visual* N100 (N1), un ampio potenziale che compare in risposta a uno stimolo visivo. Il nome fa riferimento alla polarità, ovvero al picco negativo nell'EEG, e alla latenza, che si aggira sui 100 ms dopo la presentazione dello stimolo raggiungendo il massimo valore tra 150 ms e 200 ms (vedasi figura 2.5).

È generalmente distribuita su tutto lo scalpo, quindi si manifesta anche nelle regioni centrali e parieto-occipitali.

La sua ampiezza è funzione del livello di attenzione del soggetto, infatti l'intervallo in cui compare corrisponde alla fase più cosciente dell'elaborazione visiva, successiva al *pre-processing* iniziale svolto a livello delle aree visive striate ed extrastriate. Concordemente con quest'ultima caratteristica, le sorgenti corticali della N1 sono state individuate nelle aree occipito-parietali, occipito-temporali e frontali.^[31]

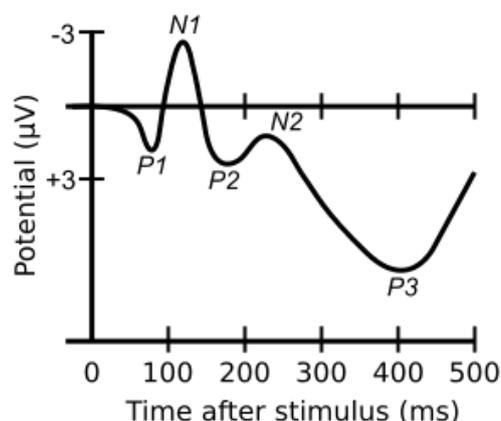


FIGURA 2.5 – ERP con diverse componenti tra cui il picco tipico della N1 ^[31]

2.3 Problema della ricostruzione delle sorgenti corticali

L'elettroencefalogramma permette di visualizzare l'andamento dell'attività cerebrale nel tempo mediante un set di elettrodi posizionati sullo scalpo. Poiché la corteccia cerebrale è la struttura dell'encefalo più prossima allo scalpo, dove i segnali vengono prelevati, i segnali EEG riflettono principalmente l'attività dei neuroni corticali. In particolare, i neuroni corticali che maggiormente contribuiscono all'EEG di superficie sono i neuroni piramidali, grazie alla loro organizzazione spaziale coerente (il dendrite è disposto ortogonalmente alla superficie corticale e parallelamente rispetto agli altri dendriti) e all'elevato sincronismo che caratterizza la loro attivazione. Mentre non è possibile rilevare l'attività di ogni singola cellula se non con misure *single-cell* invasive, l'attività sincrona di molti neuroni piramidali all'interno di un volume cerebrale (che complessivamente si comporta come un dipolo elettrico) produce un potenziale di campo rilevabile in superficie. Naturalmente in ogni istante di tempo sono attivi molti volumi corticali in posizioni diverse della corteccia e ciò che si osserva e registra a livello dello scalpo è la somma, la combinazione di questi molteplici contributi che si mescolano nella loro propagazione dalla corteccia verso lo scalpo.

Se immaginiamo di suddividere il cervello in tanti volumi cubici di uguale dimensione, detti voxel, allora ognuno di questi produrrà un segnale che è la

somma delle attività dei neuroni che contiene. Il segnale prodotto da ogni voxel viene letto dagli elettrodi in modo differente, funzione principalmente della loro posizione relativa poiché maggiore è la distanza, maggiore è l'attenuazione che il segnale subirà nella sua propagazione attraverso il tessuto cerebrale prima di raggiungere lo scalpo. Tuttavia, se sono note le sorgenti corticali è possibile ricavare come vengono mappate sugli elettrodi. Questo passaggio è definito "problema diretto" ed è ben posto, ovvero ha una soluzione che è unica e dipende con continuità dai dati iniziali:

$$\Phi = L * J$$

dove:

- Φ è la matrice delle differenze di potenziale elettrico misurate agli N elettrodi di dimensione $[N \times t]$;
- J è la matrice delle densità di corrente degli n_v voxel di dimensioni $[(3n_v) \times t]$, in cui ad ogni elemento vengono associate le sue tre componenti cartesiane;
- L è la matrice di *lead field* in cui $l_{ij} = [l_{xij} \ l_{yij} \ l_{zij}]$ descrive la relazione tra l'attività del voxel j-esimo e ciò che il sensore i-esimo vede in ingresso; le sue dimensioni sono $[N \times (3n_v)]$ e i valori dipendono da come viene modellata la testa, dalla conduttività anisotropica degli strati, etc.;
- t sono gli istanti di tempo in cui vengono registrate le sorgenti.

Al contrario, il "problema inverso" prevede di ricostruire le sorgenti \hat{J} a partire dai segnali sullo scalpo Φ grazie alla matrice L , che si ricava dal caso precedente:

$$\hat{J} = M_{inv} * \Phi$$

dove \hat{J} deve essere soluzione del problema diretto e M_{inv} corrisponde alla forma inversa generalizzata di L :

$$L * M_{inv} = H_n$$

con $H_n = I_n - \frac{1}{N \cdot 1_n \cdot 1_n^T}$ average reference operator $[N \times N]$

I_n matrice identità $[N \times N]$ e $\mathbf{1}_n$ indica un vettore $[N \times 1]$ con tutti gli elementi pari a '1' e $\mathbf{1}_n^T$ è il suo trasposto.

In questo modo, a livello teorico, si ha:

$$\hat{J} = M_{inv} * L * J = R * J$$

con R , detta *resolution matrix*. Nel caso ideale, R è la matrice identità e la densità di corrente può essere stimata esattamente. La situazione reale è lontana dal caso ideale per le problematiche delineate nel seguito.

Il problema della ricostruzione delle sorgenti è mal posto e non ha soluzione unica poiché il numero di incognite, pari al numero di voxel (qualche migliaia), è notevolmente maggiore rispetto al numero di elettrodi (tra 32 e 128), cioè ai dati che compongono Φ , di conseguenza esistono infinite matrici di inversione M_{inv} , ovvero di configurazioni di sorgenti, che permettono di spiegare il campo superficiale.

Per calcolare la soluzione di un problema mal posto si ricorre a tecniche di regolarizzazione che, ponendo un vincolo, risolvono un problema equivalente ma ben condizionato e che si differenziano tra loro proprio per quest'ulteriore condizione.

Le sorgenti da determinare vengono modellate come dei dipoli elettromagnetici descritti da tre coordinate spaziali e dalle tre componenti del momento di dipolo e possono variare in numero, posizione, orientazione ed intensità. Ad esempio ci sono metodi che utilizzano:

- un solo dipolo in cui posizione e intensità sono variabili e incognite (DipFit);
- un numero finito di dipoli con posizione fissa e incognita, orientamento e intensità variabile;
- un numero fisso di dipoli con posizione nota e fissa, ampiezza e orientazione variabili (LORETA)
- un numero di dipoli variabile ma con un set di vincoli.

Le tecniche proposte per risolvere il problema inverso si dividono in due classi:

- *metodi parametrici* o a sorgenti distribuite; in questi metodi, numerose sorgenti dipolari sono distribuite nell'intero volume cerebrale o nello strato corticale, con posizioni fisse ed eventualmente orientazione fissa, e si calcola l'ampiezza e la direzione dei dipoli qualora necessario. Essendo la posizione dei dipoli nota a priori, il problema è lineare (es. MNE, WMNE, LORETA, VARETA, sLORETA, WROP).
- *metodi non parametrici* o a sorgenti concentrate, che assumono pochi dipoli di cui calcolano posizione, orientamento e intensità. Poiché la posizione dei dipoli non è nota, il problema è non lineare (es. MUSIC, BESA, *nonlinear least-square problem*).^{[32][33][34]}

Ad esempio la MNE (*Minimum Norm Estimates*) calcola la soluzione inversa come una versione vincolata della soluzione del problema diretto:

$$\{\min(J^T W J), \text{ con } \Phi = L * J\} \quad W = I_{3M}$$

in cui viene minimizzato il quadrato della differenza tra il comportamento previsto dal modello e le misure reali. Per ogni matrice W definita positiva di dimensioni $[3M \times 3M]$ la soluzione è:

$$\hat{J} = M_{inv} * \Phi \quad \text{con} \quad M_{inv} = W^{-1} L^T (L W^{-1} L^T)^+$$

Un limite di questo metodo è la tendenza a favorire le sorgenti superficiali, per cui si ricorre alla WMNE (*Weighted Minimum Norm Estimates*) che corregge questo comportamento pesando la matrice W . In questo caso la soluzione precedente risolve il problema:

$$\{\min\{\text{traccia}[(I_{3M} - M_{inv} L) W^{-1} (I_{3M} - M_{inv} L)^T]\}\}$$

con $W = \Omega^2 \otimes I_3$

con I_3 , matrice identità $[3 \times 3]$, legata a Ω dal prodotto di Kronecker. Ω è una matrice diagonale $[n_v \times n_v]$ i cui elementi sulla diagonale principale sono: ^{[32][34]}

$$\Omega_{jj} = \sqrt{\sum_{i=1}^N l_{ij}^T l_{ij}}$$

Altra possibilità è il metodo BESA (*Brain Electric Source Analysis*) a sorgenti concentrate, che assume un numero finito di dipoli di posizione e orientamento variabile e intensità da determinare: ad ogni iterazione se ne fissano le coordinate e si modificano i livelli di attività per cercare di riprodurre la mappa elettroencefalografica sullo scalpo, quindi viene calcolato lo scarto rispetto ai valori misurati, che viene poi utilizzato per aggiustare le localizzazioni dei dipoli.^[33] Un esempio di dipolo calcolato con questo metodo è mostrato in figura 2.6, unitamente alla distribuzione sullo scalpo della sorgente corrispondente.

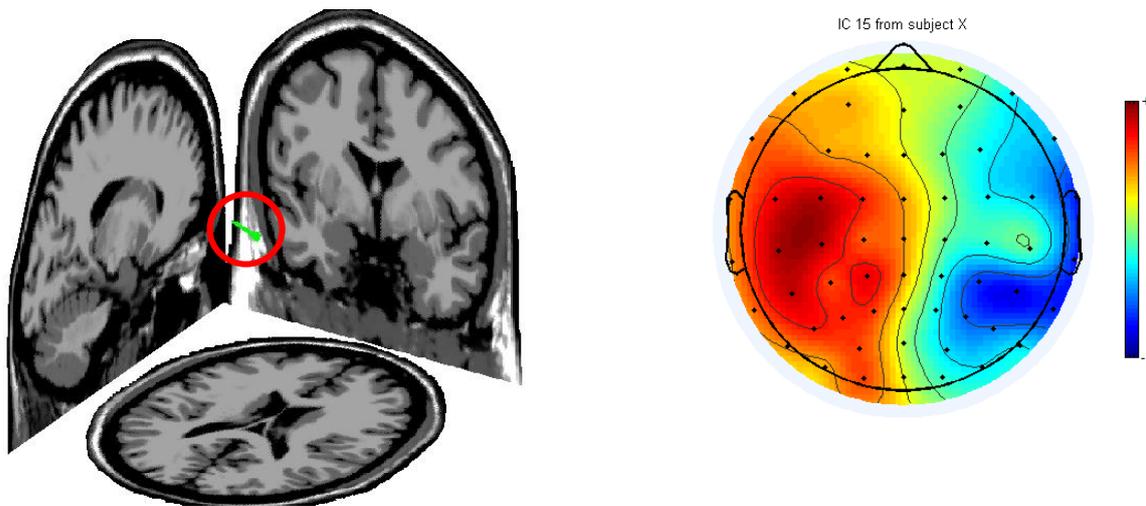


FIGURA 2.6 – Il dipolo a sinistra calcolato con il BESA dà origine alla distribuzione di potenziale sulla corteccia raffigurato a destra

Questi metodi danno buoni risultati in uno spazio 2D, tuttavia solo LORETA riesce a fare una ricostruzione con una accuratezza di localizzazione 3D con errore massimo di 14 mm, inferiore a un voxel.

2.4 sLORETA

Il programma sLORETA (*Standardized Low Resolution Electromagnetic Tomography*) utilizza un algoritmo lineare a sorgenti distribuite che garantisce una localizzazione spaziale molto precisa ma una scarsa risoluzione spaziale a causa della sottodeterminazione nella risoluzione del problema, necessaria per avere una bassissima probabilità d'errore anche in presenza di rumore biologico.

Il principio alla base del metodo LORETA è l'MNE che, come detto in precedenza, cerca la configurazione di dipoli attivi che minimizza l'errore quadratico medio sotto il vincolo di norma minima. La matrice di inversione in questo caso è:

$$M_{inv} = W^{-1}L^T(LW^{-1}L^T)^+$$

con $W = (\Omega \otimes I_3)B^TB(\Omega \otimes I_3)$

dove B è l'operatore Laplaciano spaziale discreto e quindi la sua inversa B^{-1} implementa uno *smoothing* spaziale discreto. Come ulteriore vincolo viene chiesto che popolazioni neuronali vicine si attivino in modo sincrono e simultaneo.

In questo modo la normalizzazione del *lead field* (L), unitamente all'operatore Laplaciano, permette di ottenere una corretta localizzazione anche delle sorgenti più profonde sotto il vincolo di sorgenti distribuite *smoothly*.^{[32][34]}

Data la finestra temporale corrispondente al potenziale di interesse, sLORETA ricostruisce le densità di corrente in ognuno dei 6239 voxel di materia grigia a partire dai potenziali sullo scalpo, calcolando le tre componenti cartesiane di ogni vettore. È poi possibile visualizzare l'attività elettrica standardizzata nel volume cerebrale grazie a diversi tipi di immagini ricostruite dal software (figura 2.7).

Per poter eseguire confronti statistici tra gruppi di soggetti, il programma mette a disposizione delle funzioni per calcolare il t-test con una serie di opzioni (ad

es. è possibile scegliere o meno di randomizzare i campioni o di applicarci una trasformazione logaritmica). I risultati sono visibili su delle mappe di probabilità statistica (SPM), restituite al momento dell'esecuzione del test stesso.

Infine si possono suddividere i voxel in ROI (*Region Of Interest*) in funzione delle Aree di Brodmann costruendo da 1 a 84 gruppi di voxel (raggruppati in base all'appartenenza alle specifiche ROI) di cui calcolare l'attivazione media nel tempo. Il massimo numero di ROI, 84, deriva dal fatto che ogni emisfero include 42 Aree di Brodmann.

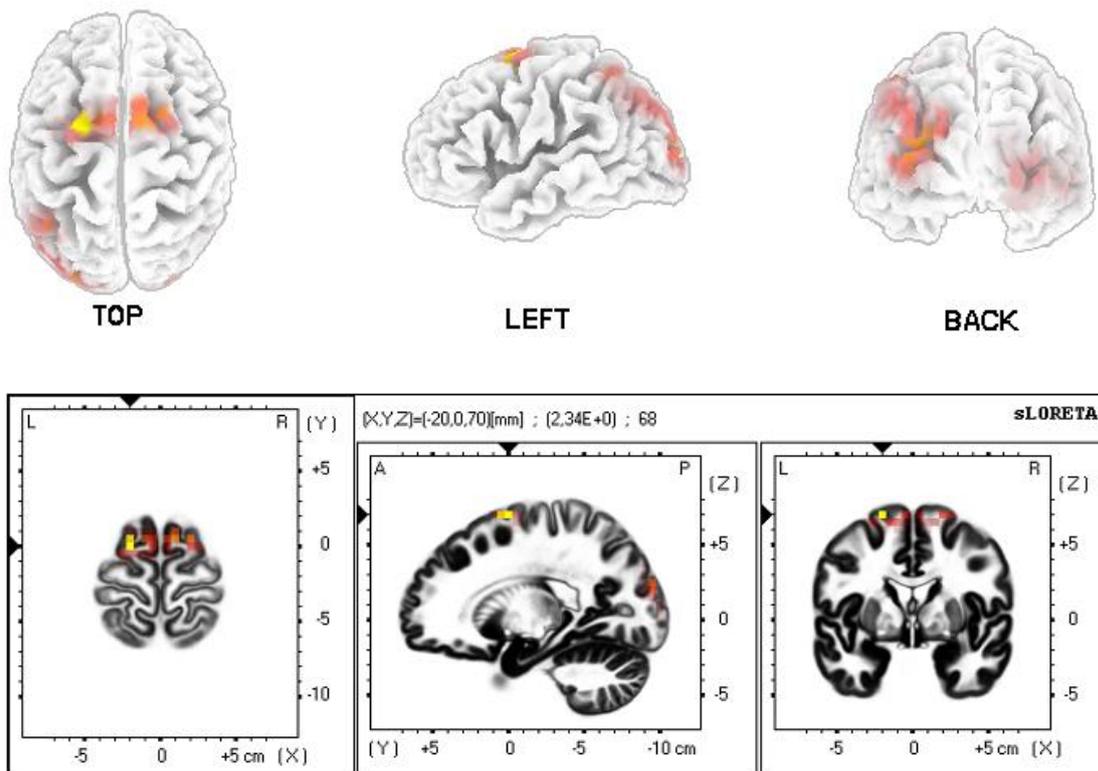


FIGURA 2.7 – Attivazione dei voxel in un istante dell'ERP di un soggetto ottenuta con sLORETA. Immagini in 3D (sopra) o nelle coordinate di Talairach (sotto)

Nel presente lavoro, sLORETA è stato utilizzato per ricavare la matrice di inversione M_{inv} e definire la struttura delle ROI, ovvero definire l'appartenenza di ciascuno dei 6239 voxel a una ROI, intesa come Area di Brodmann. La ricostruzione delle sorgenti è stata realizzata con MATLAB® con un metodo, descritto dettagliatamente nel capitolo successivo, che permette di ottenere gli stessi risultati del software. Nonostante le funzionalità e potenzialità di sLORETA, si è scelto di operare la ricostruzione in ambiente MATLAB® per una

maggior familiarità con tale software e per avere a disposizione dei file in formato compatibile e di struttura nota (ad es. sapere come sono costruite le matrici delle sorgenti ricostruite, cosa è contenuto nelle loro righe e colonne), così da potersene servire agevolmente per realizzare tutti i test e i grafici che il software sLORETA non mette a disposizione.

2.5 Test statistici

Con l'obiettivo di cercare differenze statisticamente significative tra i gruppi di dati raccolti a livello di scalpo e ricostruiti nel volume cerebrale, sono stati eseguiti due tipi di test statistici.

A prescindere dalla specifica analisi, ciò che viene valutato con questi test è se le differenze esistenti tra i gruppi di dati sono dovute al caso o sono legate a un qualche fattore particolare (es. condizioni di stimolazione, tempo, tipo di allenamento, etc.). A tale scopo viene formulata l'ipotesi nulla H_0 , con la quale si assume che non ci siano differenze tra i valori del parametro considerato, ovvero che il fattore considerato non influenzi il risultato. Se tale ipotesi viene accettata, le eventuali diversità osservate sono considerate dovute al caso; al contrario, se si decide di respingerla, la probabilità di commettere un errore viene detta livello di significatività del test (p) e il limite massimo viene deciso a priori, spesso ponendolo pari al 5% o all'1%. In funzione del valore di p vengono individuate la regione di non rifiuto e le regioni di rifiuto; la regione di rifiuto è una se il test è unilaterale, sono due simmetriche se il test è bilaterale.

Il metodo generico calcola una stima del parametro e da questa ricava il valore della Statistica del Test: solo se cade nella regione di non rifiuto H_0 viene accettata.

2.5.1 t-test

Il test di Student confronta la media di un set di dati (m) con quella della popolazione (μ_0) per verificare se la rappresenta. La variabile casuale t viene così calcolata:

$$t = \frac{\text{media del campione} - \text{media della popolazione}}{\text{errore standard del campione}} = \frac{m - \mu_0}{s/\sqrt{n}}$$

dove s è la deviazione standard del set di dati (del campione) e n è la numerosità del campione.

Se si desidera confrontare tra loro due set di dati (due campioni di valori), indipendenti e supposti provenire da popolazioni con distribuzione normale, è possibile confrontarne le medie sia per verificarne la diversità, sia per decidere se una è maggiore/minore dell'altra.

In questo caso viene fatta una distinzione tra *paired* e *unpaired* t-test. Se i campioni provengono da uno stesso gruppo di soggetti misurati in due condizioni differenti, i dati sono detti appaiati (*paired*), ovvero i due campioni hanno la stessa numerosità. In tal caso, l'ipotesi nulla suppone che la media delle differenze individuali (differenza tra i due gruppi soggetto per soggetto) sia nulla poiché le medie dei gruppi sono uguali tra loro e alla media della popolazione. La variabile casuale t viene calcolata così:

$$t = \frac{\text{media delle differenze}}{\text{errore standard delle differenze}} = \frac{m_d}{s/\sqrt{n}}$$

dove s_d è la deviazione standard delle differenze e n è la (stessa) numerosità dei due campioni.

Se si desidera confrontare due gruppi di soggetti diversi, che possono anche avere una diversa numerosità, i dati sono detti non appaiati (*unpaired*), viene stimata la varianza a partire dai campioni utilizzando la varianza comune campionaria, e l'ipotesi nulla da verificare è che le due medie siano uguali tra loro.

In questo caso la variabile t viene calcolata come:

$$t = \frac{\text{media del campione1} - \text{media del campione2}}{s_p / \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

dove s_p è la varianza comune campionaria ed n_1 e n_2 rappresentano la numerosità di ciascuno dei due campioni.

In tutti i casi t segue una distribuzione a campana, rappresentata in figura 2.8, definita completamente dai gradi di libertà (df), dipendenti dalla numerosità n del campione, con deviazione standard σ e integrale unitario:

$$df = n - 1 \quad \sigma = \sqrt{df(df - 1)}$$

(nel caso di campioni *unpaired* $n = n_1 + n_2$ e $df = n - 2$).

Rispetto alla distribuzione normale questa è più schiacciata, quindi ha una minore ampiezza ma una maggiore dispersione.

La regione di non rifiuto è compresa tra i valori $[-p;p]$, quelle di rifiuto sono le code della gaussiana oltre tali valori.

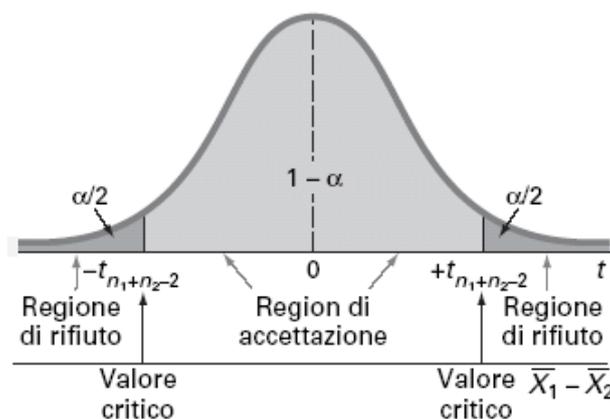


FIGURA 2.8 – Distribuzione t a due code e regioni di rifiuto e non rifiuto dell'ipotesi nulla con livello di significatività $p=\alpha$ ^[35]

2.5.2 ANOVA

L'ANOVA permette di confrontare due o più gruppi di campioni sulla base della variabilità intra-gruppo e inter-gruppo. L'ipotesi nulla in questo test è che i dati abbiano la stessa origine, in particolare che ogni gruppo abbia distribuzione gaussiana con la stessa varianza. Di conseguenza si suppone che le differenze osservate abbiano origine stocastica.

Come detto, la varianza sta alla base del test e ne vengono individuati due tipi, che insieme costituiscono la *varianza globale*:

- *varianza intra-gruppo (within)*: è puramente stocastica poiché determinata sia da variazioni random che dalla variabilità individuale;
- *varianza inter-gruppo (between)*: ha una componente aleatoria, con le stesse sorgenti del caso precedente, e una deterministica legata all'efficacia del parametro in funzione del quale vengono definiti i gruppi.

Anche i fattori di cui viene testata l'efficacia possono a loro volta essere di due tipologie:

- *within subjects*, se utilizzano gli stessi campioni in tutte le condizioni;
- *between subjects*, se utilizzano campioni tra loro indipendenti in tutte le condizioni.

In funzione del numero di fattori vengono definite due tipologie di ANOVA:

- a una via (*one way*), che viene utilizzata quando si ha un solo fattore, ovvero una sola variabile indipendente, a cui corrispondono diverse condizioni; viene testato il solo effetto del fattore attraverso le condizioni;
- a due vie o a molteplici vie (*two way or multiple way*), necessaria quando si hanno due o più fattori, a ognuno dei quali corrispondono molteplici condizioni; vengono testati gli effetti non solo dei singoli fattori, ma anche dell'interazione tra di essi, che si ha quando l'effetto di uno dipende dalla condizione che si ha per l'altro. In questo caso si parla di ANOVA $r \times c$, dove r sono le condizioni del primo fattore e c quelle del secondo (ad es. se i fattori sono temperatura e pressione, ognuno con 2 possibili condizioni, $t_1 t_2$ e $p_1 p_2$, il disegno del test è 2×2 e per valutare l'effetto di un'interazione si studierà il gruppo di dati corrispondenti alla coppia di condizioni $t_i - p_j$, $i, j = 1, 2$).

Per comprendere come viene eseguito il test ANOVA possiamo dapprima fare riferimento a un caso semplice di ANOVA a una via, in cui si confrontano r gruppi (ognuno costituito da n campioni) che dipendono da un solo fattore che assume r livelli. Si supponga di voler confrontare tra loro tre ($r = 3$) catene di produzione $i = 1, 2, 3$, le quali danno luogo a un prodotto orario soggetto a fluttuazioni casuali. La tabella 2.1 riporta un campione casuale di $n = 5$ ore per ciascuna delle tre catene di produzione.

Catena di produzione	Campione di ogni catena di produzione ($n=5$)					Media per riga \bar{x}_i
$i = 1$	$x_{11}=48.4$	$x_{12}= 49.7$	$x_{13}= 48.7$	$x_{14}=48.5$	$x_{15}=47.7$	$\bar{x}_1= 48.6$
$i = 2$	$x_{21}=56.1$	$x_{22}= 56.3$	$x_{23}= 56.9$	$x_{24}=57.6$	$x_{25}=55.1$	$\bar{x}_2= 56.4$
$i = 3$	$x_{31}=52.1$	$x_{32}= 51.1$	$x_{33}= 51.6$	$x_{34}=52.1$	$x_{35}=51.1$	$\bar{x}_3= 51.6$
	(media totale)					$\bar{\bar{x}}= 52.2$

TABELLA 2.1 – I 5 prodotti orari delle tre catene di produzione utilizzate nell'esempio

La domanda che ci poniamo è se le medie campionarie \bar{x}_i differiscono tra loro a causa di una reale differenza tra le medie delle popolazioni da cui provengono o se la differenza tra le \bar{x}_i possa essere ragionevolmente imputata alle sole fluttuazioni casuali.

L'ipotesi nulla H_0 è che il fattore 'catena di produzione' non influenzi il prodotto orario ovvero che di fatto i tre campioni provengano dalla stessa popolazione e che quindi non vi sia nessuna differenza tra le medie delle tre popolazioni:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

L'ipotesi alternativa è che qualcuna delle μ (non necessariamente tutte) siano realmente differenti:

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j, \text{ per qualche } i \text{ e } j$$

Il test si sviluppa calcolando la somma dei quadrati degli scarti (*Sum of Squares, SS*) tra le righe (*between*) ed entro le righe (*within*) e quindi la varianza

(Mean of Squares, MS) tra le righe ed entro le righe. Le Sum of Squares sono calcolate nel seguente modo:

$$SS_{between} = n \cdot \sum_{i=1}^r (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2$$

$$SS_{within} = \sum_{i=1}^r \sum_{k=1}^n (x_{ik} - \bar{x}_i)^2$$

dove, nel caso in esame, $r = 3$ ed $n = 5$.

Si noti, inoltre, che la Sum of Squares totale (SS_{tot}) è definita come:

$$SS_{tot} = \sum_{i=1}^r \sum_{k=1}^n (x_{ik} - \bar{\bar{x}})^2$$

Per determinare la varianza (*between*, *within*, totale) è necessario individuare il numero di gradi di libertà (*Degree Of Freedom*, *df*) di ciascun termine, essendo la varianza calcolata come:

$$MS = \frac{SS}{df}$$

Si ha che:

$$MS_{between} = \frac{SS_{between}}{df_{between}} \quad df_{between} = r - 1$$

$$MS_{within} = \frac{SS_{within}}{df_{within}} \quad df_{within} = r(n - 1)$$

$$MS_{tot} = \frac{SS_{tot}}{df_{tot}} \quad df_{tot} = rn - 1$$

Quindi, possiamo riscrivere:

$$MS_{between} = n \cdot \left(\frac{1}{r-1} \sum_{i=1}^r (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 \right) = n \cdot s_{\bar{x}}^2$$

dove

$$s_{\bar{x}}^2 = \frac{1}{r-1} \sum_{i=1}^r (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2$$

rappresenta la varianza (stimata) della media campionaria (\bar{x});

$$MS_{within} = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \left(\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (x_{ik} - \bar{x}_i)^2 \right) = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r s_i^2 = s_p^2$$

dove

$$s_i^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^{rn} (x_{ik} - \bar{x}_i)^2$$

s_i^2 è la varianza (stimata) del campione i -esimo ed s_p^2 (ovvero MS_{within}) può essere interpretato come il valore medio della varianza dei campioni.

Per stabilire se accettare o meno l'ipotesi nulla, si esamina il valore del rapporto F , definito come:

$$F = \frac{MS_{between}}{MS_{within}} = \frac{n \cdot s_{\bar{x}}^2}{s_p^2}$$

Prima di sviluppare ulteriormente questo test, cerchiamo di interpretare il significato di questo rapporto F . Supponiamo che sia vera l'ipotesi nulla, ovvero che i tre campioni provengano dalla stessa popolazione e che le tre medie siano dunque le stesse. In tal caso, non ha significato la suddivisione dei dati in tre campioni, poiché tutte le osservazioni potrebbero essere considerate come un solo grande campione estratto da una singola popolazione. Valutiamo due modi alternativi di stimare la varianza σ^2 della popolazione:

1. un modo per stimarla consiste nel calcolare la varianza entro ciascun campione e farne la media; tale misura è proprio la s_p^2 (ovvero MS_{within}) che compare al denominatore del rapporto F ;
2. un secondo modo consiste nell'inferire σ^2 a partire dalla varianza osservata delle medie campionarie $s_{\bar{x}}^2$; a tal proposito si ricorda che la media campionaria \bar{x} è una variabile casuale che proviene da una

popolazione normale con varianza $\sigma_{\bar{x}}^2$ pari a σ^2/n . Pertanto si può stimare σ^2 come $n \cdot s_{\bar{x}}^2$ (ovvero $MS_{between}$) che è proprio il termine che compare al numeratore di F.

Pertanto, se H_0 è vera entrambi i metodi costituiscono una stima valida di σ^2 e dovrebbero fornire valori più o meno uguali e il loro rapporto dovrebbe risultare vicino a 1 (da ciò si intuisce anche perché viene introdotto il fattore n in $SS_{between}$). Se invece H_0 non è vera, il termine al denominatore esprimerà ancora delle fluttuazioni dovute al caso, mentre il numeratore costituirà uno sviluppo delle differenze delle medie, dando luogo ad un rapporto F che di conseguenza sarà grande. In sostanza, quindi, il rapporto F confronta la varianza tra le medie con la varianza dovuta al caso (interna ai campioni); se tale rapporto risulta sufficientemente grande, si rifiuta l'ipotesi nulla.

Per eseguire il test formale di H_0 (come nel caso del test t) è necessario conoscere la distribuzione della statistica osservata F nel caso in cui H_0 sia vera. Tale statistica ha una distribuzione a pseudo-campana, caratterizzata da (c-1) gradi di libertà al numeratore e (n-c) al denominatore, con c gruppi in esame e n campioni totali (nel caso specifico 2 e 12): fissato il livello di significatività p, a cui corrisponde un valore critico F_α ricavabile dalle tabelle di Fisher, l'ipotesi nulla viene rigettata se F cade al di fuori della regione individuata da F_α , ossia l'intervallo di valori $F_L \div F_U$ per F. [35] La distribuzione della statistica F (2,12) è rappresentata nella figura 2.9.

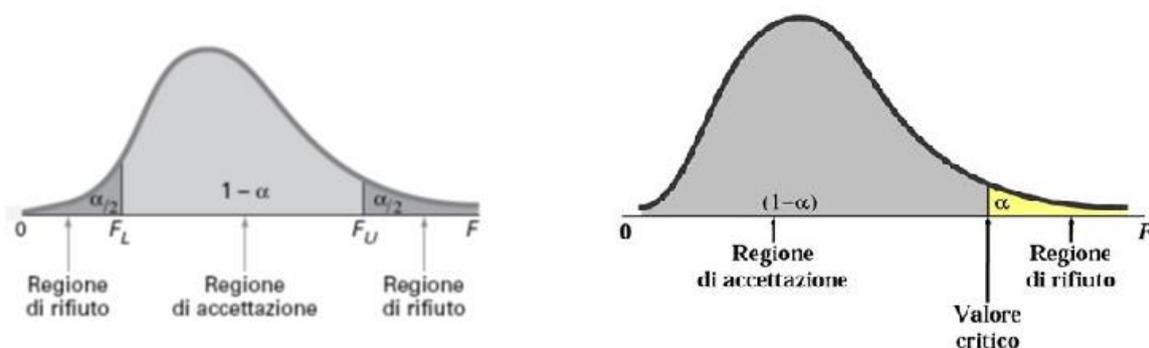


FIGURA 2.9 – distribuzione di Fisher a due code (sinistra) [36] e a una coda (destra) con $p=\alpha$

Si considera il valore critico F_α , (ad es. $\alpha=0.05$) che lascia alla destra solo l' $\alpha\%$ (tipicamente 5%) della probabilità. Pertanto, nel caso in esame, se H_0 fosse

vera si avrebbe solo una probabilità del 5% di osservare un valore del rapporto F maggiore di 3.89; di conseguenza se si ottiene un valore di F superiore a 3.89 si rifiuta l'ipotesi nulla.

I risultati dell'analisi ANOVA ad una via vengono in genere riassunti sotto forma di tabella come rappresentato in tabella 2.2, per il caso in esame:

Fonte di variazione	Sum of Squares SS	Gradi di libertà df	Varianza MS	F (rapporto)	Prob>F
Fattore 1 = catena di produzione (tra le righe, <i>between</i>)	$SS_{between}$ = 154.8	$df_{between}$ = 2	$MS_{between}$ = 77.4	$F=77.4/0.547=$ =141	$4.5 \cdot 10^{-9}$
Fattore 2 = residuo od errore (entro i campioni, <i>within</i>)	SS_{within} = 6.56	df_{within} = 12	MS_{within} = 0.547		
Totale	SS_{tot} = 161.3	$df_{tot} = 14$			

TABELLA 2.2 – Nella *prima colonna* sono riportati i fattori di variazione, ovvero le possibili cause delle differenze che si osservano tra i campioni; la *seconda colonna* contiene le somme dei quadrati degli scarti, calcolate secondo le formule precedentemente descritte; nella *terza colonna* sono segnati i gradi di libertà rispetto ad ogni fattore (per il fattore *between* corrispondono al numero di catene di produzione diverse meno 1; per il fattore *within* sono dati dal numero di campioni totale a cui si sottrae il numero di livelli del fattore *between*, 3); nella *quarta colonna* vengono riportate le varianze dei fattori, ovvero il rapporto tra i valori delle colonne 2 e 3; il rapporto tra le varianze, ovvero il valore F è presente nella *quinta colonna*; nell'*ultima colonna*, infine, si trova la probabilità di ottenere un valore F maggiore di quello trovato, ovvero la probabilità sottesa dalla coda destra della distribuzione di figura 2.9.

In particolare, l'ultima colonna riporta la probabilità di ottenere un valore della statistica maggiore di quello osservato (è la probabilità sottesa dalla distribuzione della statistica F a destra del valore F trovato).

Come indicato nella tabella 2.2, nel caso in esame il rapporto F dà luogo ad un valore che eccede di gran lunga il valore critico $F_{0.05}(2,12) = 3.89$, e quindi l'ipotesi H_0 viene rifiutata; ovvero, in base al risultato del test, esiste una

differenza significativa tra le tre catene di produzione. L'esempio qui illustrato è stato tratto dal testo "Introduzione alla Statistica".^[36]

Passiamo ora ad esaminare il caso di ANOVA a più vie. Per semplicità si farà riferimento all'ANOVA a due vie, e verrà illustrato il procedimento mediante un esempio relativamente semplice con disegno 2x3 (ovvero un fattore, che chiameremo fattore A, che assume due livelli, mentre l'altro fattore, che chiameremo fattore B, che assume 3 livelli). Inoltre si considera il caso in cui tutte le misure sono effettuate su soggetti diversi, quindi tutti i fattori sono *between subjects*.

Si supponga di aver somministrato un test matematico a bambini di età compresa tra 10 e 12 anni, e di genere sia femminile che maschile (l'esempio è stato tratto da <https://www.youtube.com/watch?v=IZFmFuZGQtk>), ed è stato riportato il risultato del test in tabella 2.3. Abbiamo quindi il fattore A (genere, maschio/femmina) riportato sulle righe (r=2) e il fattore B (età, 10 anni/11 anni/12 anni), riportato sulle colonne (c=3). Ogni campione (in ogni cella ad ogni intersezione riga-colonna) è costituito da n = 3 elementi.

		Fattore B		
		10 anni	11 anni	12 anni
Fattore A	maschi	$x_{111} = 4$	$x_{121} = 6$	$x_{131} = 8$
		$x_{112} = 6$	$x_{122} = 6$	$x_{132} = 9$
		$x_{113} = 8$	$x_{123} = 9$	$x_{133} = 13$
	femmine	$x_{211} = 4$	$x_{221} = 7$	$x_{231} = 12$
		$x_{212} = 8$	$x_{222} = 10$	$x_{232} = 14$
		$x_{213} = 9$	$x_{223} = 13$	$x_{233} = 16$

TABELLA 2.3 – risultati del test matematico eseguito da 18 bambini

Vi sono 3 ipotesi nulle:

- H_{01} : il genere non ha alcuna influenza sul risultato del test;
- H_{02} : l'età non ha alcuna influenza sul risultato del test;
- H_{03} : l'interazione genere-età non ha alcuna influenza sul risultato del test.

In modo analogo al caso di ANOVA ad una via, anche in questo caso si confronta la varianza dovuta all'errore (la media della varianza entro ciascun campione) con la varianza tra le righe (spiegata dal fattore A), la varianza tra le colonne (spiegata dal fattore B) e la varianza spiegata dall'interazione tra i due fattori (AB). A questo scopo, è necessario innanzitutto calcolare i valori medi entro ciascuna cella, per righe e per colonne; tali valori sono riportati nella tabella 2.4.

		Fattore B			Media per righe
		10 anni	11 anni	12 anni	
Fattore A	maschi	$\bar{x}_{11} = 6$	$\bar{x}_{12} = 7$	$\bar{x}_{13} = 10$	$\bar{\bar{x}}_{1*} = 7.7$
	femmine	$\bar{x}_{21} = 7$	$\bar{x}_{22} = 10$	$\bar{x}_{23} = 14$	$\bar{\bar{x}}_{2*} = 10.3$
Media per colonne		$\bar{\bar{x}}_{*1} = 6.5$	$\bar{\bar{x}}_{*2} = 8.5$	$\bar{\bar{x}}_{*3} = 12$	$\bar{\bar{\bar{x}}} = 9$

TABELLA 2.4 - valori medi relativi alla Tabella 2.3

Si comincia con il calcolo della *Sum of Squares* (SS), per il fattore A (tra le righe SS_A), per il fattore B (tra le colonne, SS_B), per l'interazione (SS_{AB}) e infine dovuta alle fluttuazioni casuali (residuo o errore, entro i campioni, *within*):

$$SS_A = n \cdot c \cdot \sum_{i=1}^r (\bar{\bar{x}}_{i*} - \bar{\bar{\bar{x}}})^2$$

$$SS_B = n \cdot r \cdot \sum_{j=1}^c (\bar{\bar{x}}_{*j} - \bar{\bar{\bar{x}}})^2$$

$$SS_{AB} = n \cdot \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c ((\bar{x}_{ij} - \bar{\bar{x}}_{*j}) - (\bar{\bar{x}}_{i*} - \bar{\bar{\bar{x}}}))^2$$

$$SS_{within} = SS_{error} = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \sum_{k=1}^n (x_{ijk} - \bar{x}_{ij})^2$$

Inoltre, si noti che la *Sum of Squares* totale (SS_{tot}) è data da:

$$SS_{tot} = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \sum_{k=1}^n (x_{ijk} - \bar{\bar{x}})^2$$

Dalla definizione dei vari SS, si individuano facilmente i gradi di libertà (df) corrispondenti, necessari per calcolare la varianza, ovvero *mean of squares* (MS):

$$MS_A = \frac{SS_A}{df_A} \quad df_A = r - 1 = 1$$

$$MS_B = \frac{SS_B}{df_B} \quad df_B = c - 1 = 2$$

$$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{df_{AB}} \quad df_{AB} = (r - 1)(c - 1) = 2$$

$$MS_{error} = \frac{SS_{error}}{df_{error}} \quad df_{error} = rc(n - 1) = 12$$

$$MS_{tot} = \frac{SS_{tot}}{df_{tot}} \quad df_{tot} = rcn - 1 = 17$$

Quindi, per eseguire formalmente il test sulle ipotesi nulle formulate, si calcolano tre rapporti F, ognuno dei quali confronta la varianza dell'errore (MS_{error}) con la varianza spiegata dal fattore A (MS_A), con la varianza spiegata dal fattore B (MS_B) e con la varianza spiegata dall'interazione tra i due fattori (MS_{AB}). Il valore del rapporto F ottenuto in ciascuno dei tre casi, viene confrontato col valore che nella distribuzione corrispondente della statistica $F(df_{num}, df_{den})$ lascia a destra il 5% di probabilità. In particolare, il valore del rapporto

$$F_A = \frac{MS_A}{MS_{error}}$$

va confrontato con il valore critico (che lascia il 5% di probabilità alla sua destra) della statistica $F(1,12)$. Tale valore critico (che si ricava da tabelle già predisposte) è pari a 4.75.

Il valore del rapporto

$$F_B = \frac{MS_B}{MS_{error}}$$

va confrontato con il valore critico (che lascia il 5% di probabilità alla sua destra) della statistica $F(2,12)$. Tale valore critico è pari a 3.89.

Il valore del rapporto

$$F_{AB} = \frac{MS_{AB}}{MS_{error}}$$

va confrontato con il valore critico (che lascia il 5% di probabilità alla sua destra) della statistica $F(2,12)$. Tale valore critico è pari a 3.89.

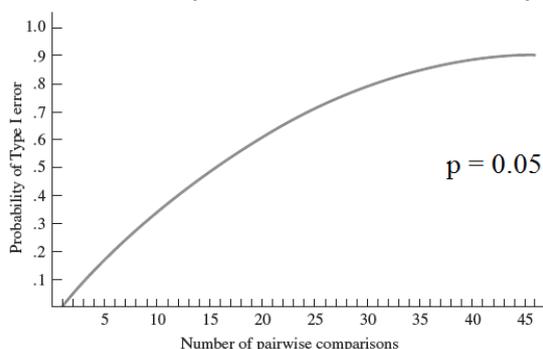
I risultati dell'analisi ANOVA a due vie vengono in genere riassunti sotto forma di tabella come rappresentato in tabella 2.5, per il caso in esame (vedi pagina successiva).

Pertanto, in base ai risultati ottenuti si rifiutano le ipotesi nulle H_{01} ed H_{02} , e si può affermare che l'età e il genere influenzano singolarmente il risultato del test, ma che non vi è un'interazione tra genere ed età.

Fonte di variazione	Sum of Squares SS	Gradi di libertà df	Varianza MS	F (rapporto)	Prob>F
Fattore A (righe, genere)	$SS_A = 32$	$df_A = 1$	$MS_A = 32$	$F_A=32/5.6667=$ $=5.65$	0.035
Fattore B (colonne, età)	$SS_B = 93$	$df_B = 2$	$MS_B = 46.5$	$F_B=46.5/5.6667$ $=8.21$	0.0057
Interazione	$SS_{AB} = 7$	$df_{AB} = 2$	$MS_{AB} = 3.5$	$F_{AB}=3.5/5.6667$ $=0.62$	0.555
Residuo od errore (entro i campioni, <i>within</i>)	SS_{error} $= 68$	df_{error} $= 12$	MS_{error} $= 5.6667$		
Totale	$SS_{tot} = 200$	$df_{tot} = 17$			

TABELLA 2.5 – Nella *prima colonna* sono riportati i fattori di variazione, ovvero le possibili cause delle differenze che si osservano tra i campioni; la *seconda colonna* contiene le somme dei quadrati degli scarti, calcolate secondo le formule precedentemente descritte; nella *terza colonna* sono segnati i gradi di libertà rispetto ad ogni fattore, ovvero i livelli di variazione di ogni fattore; nella *quarta colonna* vengono riportate le varianze dei fattori, ovvero il rapporto tra i valori delle colonne 2 e 3; il rapporto tra le coppie di varianze, ovvero il valore F è presente nella *quinta colonna*; nell'*ultima colonna*, infine, si trova la probabilità di ottenere un valore F maggiore di quello trovato, ovvero la probabilità sottesa dalla coda destra della distribuzione di figura 2.9.

Se il risultato del test statistico rigetta l'ipotesi nulla, ovvero è presente una differenza non imputabile al caso, viene eseguito un test Post-Hoc per approfondire le interazioni tra i fattori. Dal momento che l'ANOVA non specifica che effetto hanno i fattori, per determinarlo è necessario eseguire dei confronti a coppie tra i gruppi in esame, tuttavia questa molteplicità di confronti fa aumentare la probabilità di errori di tipo I, che inizialmente è pari a p e va via



via aumentando con il numero di test eseguiti (figura 2.10).

FIGURA 2.10 – Andamento della probabilità d'errore di tipo I in funzione del numero di confronti a coppie eseguiti

Sono stati pensati molteplici test Post Hoc, ad esempio:

- *Fisher's Least Significant Difference (LSD)*, che esegue un *paired t-test* senza correzioni sull'errore, quindi è adatto nei casi in cui si hanno al massimo tre coppie di gruppi;
- Bonferroni, esegue anch'esso un t-test, ma corregge il livello di significatività p dividendolo per il numero di confronti da fare;
- *Tukey Honestly Significant Difference (HSD)*; Newman-Keuls; Duncan, etc.

3.1 Pre-elaborazione con EEGlab

Come detto nel paragrafo 2.1, il *pre-processing* che verrà di seguito descritto è stato effettuato dai ricercatori del gruppo di Neuroscienze Cognitive di Cesena in ambiente MATLAB® mediante l'uso della *toolbox* EEGlab.

I segnali EEG per un dato soggetto, acquisiti da 64 elettrodi sullo scalpo durante un *task* di discriminazione visiva, contengono un numero elevato (diverse decine) di *trial*, dove ognuno corrisponde alla presentazione di uno stimolo e alla registrazione della successiva eventuale risposta di discriminazione da parte del soggetto. I *trial*, infatti, venivano eseguiti in successione durante un *task*. In tal modo, l'intero tracciato EEG per un dato *task* di un soggetto era caratterizzato da una durata di alcuni minuti.

Anzitutto per ogni *task* e per ogni soggetto i segnali EEG acquisiti alla frequenza di campionamento di 500 Hz, sono state filtrati con un filtro passabanda FIR con finestra di Hamming tra 0 Hz e 40 Hz (figura 3.1) per rimuovere gli artefatti con frequenze al di fuori di questo intervallo.

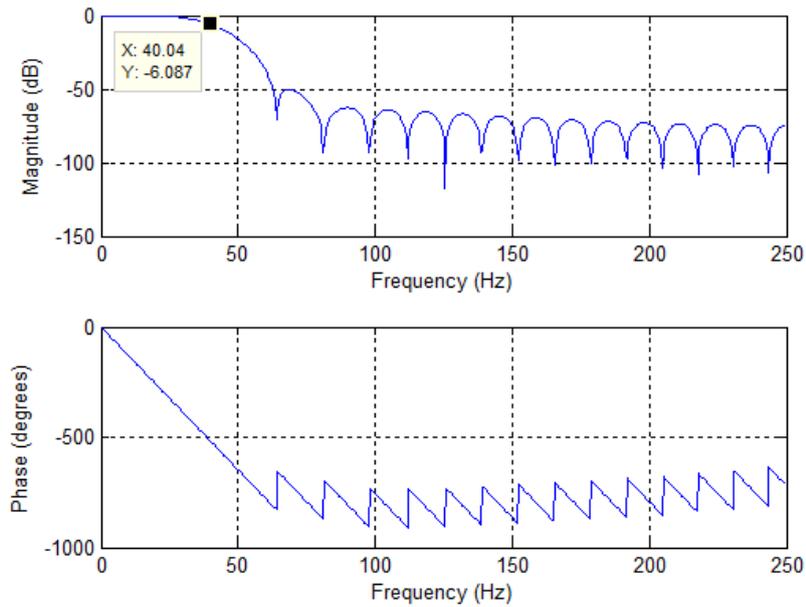


FIGURA 3.1 – Filtro FIR realizzato in EEGLab

In un secondo tempo, l'intero tracciato EEG è stato suddiviso in epoche di 1100 ms iniziando da 200 ms antecedenti allo stimolo (per il compito di discriminazione visiva), che si assume venga somministrato all'istante zero, fino a 900 ms successivi. In questo modo ogni epoca corrisponde a un *trial*, e tutte le epoche sono *time-locked* con lo stimolo. Di queste epoche sono state rimosse quelle in cui era stata data una risposta sbagliata; quelle che presentavano movimenti degli occhi, ovvero attività nell'EOG registrato dagli elettrodi oculari nella finestra di presentazione dello stimolo, poiché i movimenti oculari non erano ammessi durante la presentazione del target; quelle contenenti un livello eccessivo di rumore o di artefatti non rimosibili in altro modo.

Quindi in ogni epoca sono stati eliminati artefatti da EOG (*blinking*, movimenti oculari eseguiti al di fuori della finestra di presentazione dello stimolo) mediante la *least mean square regression*, implementata in EEGLab dal comando "pop_lms_regression".

Infine è stata tolta la *baseline*, ovvero si è sottratto da ogni segnale il rispettivo valore medio calcolato nei 100 ms prestimolo.

Alla fine di questo *pre-processing* ad ogni soggetto sono associati quattro set di segnali per il compito di discriminazione della direzione di movimento e quattro per la determinazione dell'orientamento, a cui si farà riferimento nel seguito con:

- “pre” oppure “post”, in relazione alla sessione in cui sono stati registrati rispetto al *training* multisensoriale;
- “t” oppure “c”, per indicare che il soggetto appartiene rispettivamente al gruppo sperimentale (*training* multisensoriale con stimoli audio-visivi spazialmente coincidenti) o a quello di controllo (*training* multisensoriale con stimoli audio-visivi spazialmente disparati);
- “m” oppure “o”, fa riferimento al compito di discriminazione di movimento, il primo, e di orientazione, il secondo;
- “s” oppure “ns”, indica il lato di presentazione dello stimolo che può essere coincidente con quello utilizzato durante il *training* multisensoriale (“s”), od opposto (“ns”).

Ad esempio, un risultato che nel nome contiene la dicitura “ots_pre” è relativo al compito di discriminazione di orientamento per un soggetto sperimentale (addestrato con stimoli audio-visivi coincidenti spazialmente e temporalmente) quando l'immagine viene presentata dallo stesso lato dell'allenamento prima che questo avvenga.

3.2 Analisi dell'attività sullo scalpo

L'obiettivo di questa analisi è verificare se e in quali condizioni il *training* produce differenze significative a livello di ERP rilevato sullo scalpo.

Le coppie di file, per ogni set di segnali, ottenuti dopo il *pre-processing*, con estensione .set e .fdt, sono stati convertiti in formato compatibile con MATLAB®.

Mediando sui *trial* (ovvero sulle epoche), in numero variabile tra i file a causa dell'eliminazione di alcune epoche, sono stati calcolati gli ERP nel tempo dei 59 canali sullo scalpo in tutte le condizioni di ogni soggetto.

Ovvero, per ogni soggetto (*sogg*) all'interno di ciascun gruppo (sperimentale/controllo) sono stati calcolati i seguenti potenziali medi:

$$\bar{E}_{i,cond,sogg}(t) = \frac{\sum_{r=1}^R E_{i,r,cond,sogg}(t)}{R} = ERP_{i,cond,sogg}(t)$$

dove

- $E_{i,r,cond,sogg}(t)$ rappresenta il potenziale dell'elettrodo *i*-esimo ($i=1, \dots, 59$) all'istante di tempo *t* ($t = -200 \text{ ms} \div 900 \text{ ms}$) durante il *trial* *r*-esimo, registrato nel soggetto *sogg* ($sogg = 1, \dots, 15$, essendovi 15 soggetti sia nel gruppo sperimentale "t" sia nel gruppo di controllo "c"), nella condizione *cond* ($cond = mts_pre, mts_post, mtns_pre, mtns_post, ots_pre, ots_post, otns_pre, otns_post$, se il soggetto appartiene al gruppo sperimentale oppure $cond = mcs_pre, mcs_post, mcns_pre, mcns_post, ocs_pre, ocs_post, ocns_pre, ocns_post$, se il soggetto appartiene al gruppo di controllo);
- *R* è il numero totale di *trial* per il generico soggetto *sogg* nel gruppo sperimentale o controllo nella condizione *cond*;
- $\bar{E}_{i,cond,sogg}(t)$ è il potenziale medio su tutti i *trial* per il soggetto *sogg* appartenente al gruppo sperimentale o al gruppo di controllo nella condizione *cond*.

Analizzando lo spettro dei potenziali medi così calcolati ci si è accorti che molte epoche presentano una notevole componente tra 23 Hz e 33 Hz, non caratteristica del segnale EEG e probabilmente dovuta a movimenti muscolari registrati dagli elettrodi di riferimento. Si è quindi provveduto ad un ulteriore filtraggio dei potenziali ERP con un filtro ellittico passa basso di ordine 7, banda passante fino a 24 Hz e banda attenuata da 28 Hz. Diagramma di ampiezza e di fase del filtro ellittico realizzato in MATLAB® sono mostrati in figura 3.2.

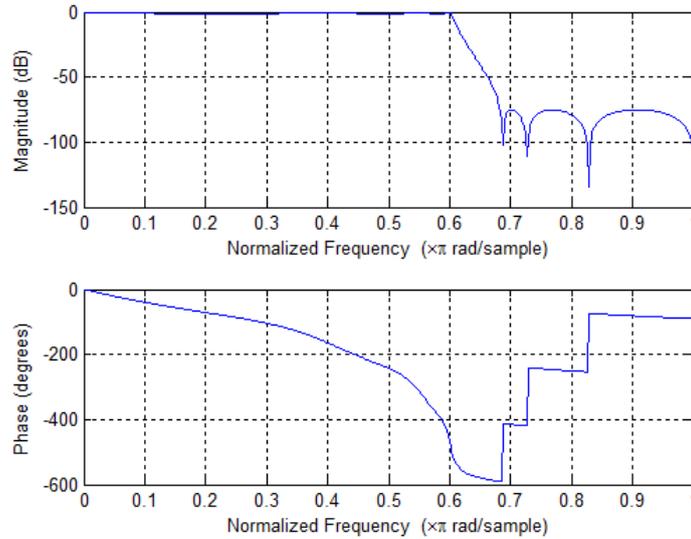


FIGURA 3.2 – Filtro ellittico realizzato in MATLAB®

Di seguito si indicherà con $\bar{E}_{i,cond,sogg}(t)$ il potenziale ERP all'elettrodo i -esimo nel soggetto $sogg$ nella condizione $cond$ filtrato mediante il filtro ellittico appena descritto.

Dopo questo filtraggio, per ogni soggetto e per ogni condizione sono stati mediati gli ERP dei quattro canali centrali (FC_1 FC_2 FC_z C_z) poiché posizionati sopra le regioni in cui l'onda N100 di interesse si manifesta maggiormente.

Ovvero:

$$\bar{E}_{centr,cond,sogg}(t) = \frac{\sum_{i=1}^4 \bar{E}_{i,cond,sogg}(t)}{4} = ERP_{C,cond,sogg}(t)$$

dove

- $\bar{E}_{i,cond,sogg}(t)$ con $i = 1, \dots, 4$, si intende l'ERP su uno dei quattro elettrodi considerati (FC_1 FC_2 FC_z C_z) nel soggetto $sogg$ nella condizione $cond$,
- $\bar{E}_{centr,cond,sogg}(t)$ è il potenziale mediato sui quattro elettrodi centrali nel generico soggetto $sogg$ nella condizione $cond$, che chiameremo ERP Centrale ($ERP_{C,cond,sogg}(t)$).

Infine, di questo ERP Centrale è stata calcolata la *Grand Average* (ovvero la media su tutti i soggetti di ciascun gruppo in ciascuna condizione):

$$\begin{aligned}\bar{E}_{centr,cond}(t) &= \frac{\sum_{sogg=1}^S \bar{E}_{centr,cond,sogg}(t)}{S} = \frac{\sum_{sogg=1}^S ERP_{C,cond,sogg}(t)}{S} \\ &= \overline{ERP}_{C,cond}(t)\end{aligned}$$

dove

- S è il numero di soggetti appartenente a ciascun gruppo (sperimentale/controllo). In entrambi i casi $S = 15$;
- $cond = mts_pre, mts_post, mtns_pre, mtns_post, ots_pre, ots_post, otns_pre, otns_post$, se la media viene calcolata sui soggetti appartenenti al gruppo sperimentale oppure $cond = mcs_pre, mcs_post, mcns_pre, mcns_post, ocs_pre, ocs_post, ocns_pre, ocns_post$, se la media viene calcolata sui soggetti appartenenti al gruppo di controllo;
- $\bar{E}_{centr,cond}(t)$ è la *Grand Average* dell'ERP Centrale su ciascun gruppo di soggetti in ciascuna delle 8 condizioni ($\overline{ERP}_{C,cond}(t)$).

La figura 3.3 mostra la *Grand Average* dell'ERP Centrale calcolata sul gruppo sperimentale nelle 8 condizioni, mentre la figura 3.4 mostra la *Grand Average* dell'ERP Centrale calcolata sul gruppo di controllo nelle 8 condizioni. È evidenziata con una freccia la componente N100 dell'ERP.

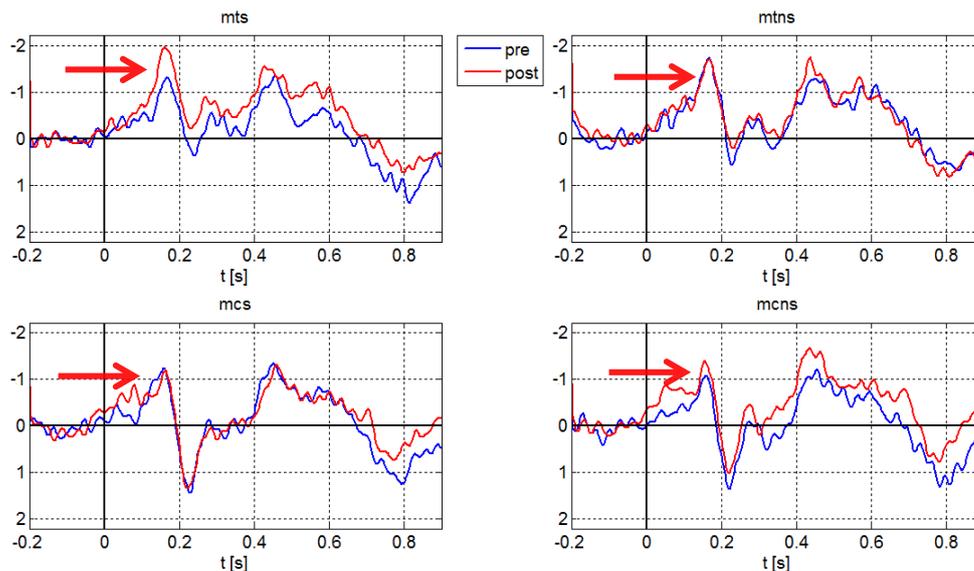


FIGURA 3.3 – *Grand average* delle medie sui quattro canali centrali degli ERP calcolata per il compito di movimento. In blu i valori *pre-training*, in rosso quelli *post*.

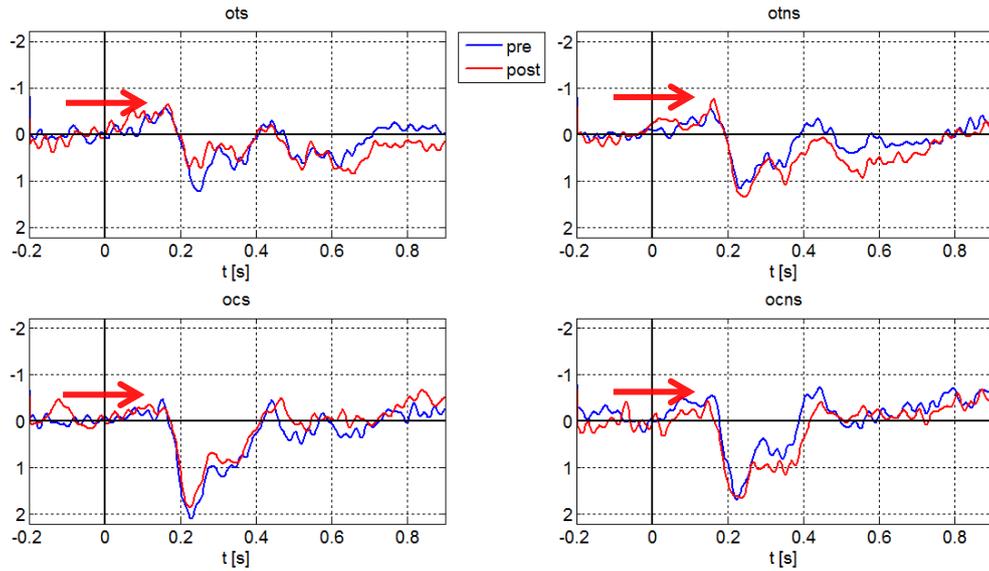


FIGURA 3.4 – *Grand average* delle medie sui quattro canali centrali degli ERP calcolata per il compito di orientazione. In blu i valori *pre-training*, in rosso quelli *post*.

A questo punto si è eseguito un *paired t-test* bilaterale per ogni condizione per verificare se l'allenamento ha un effetto e se questo è emisfero specifico, ovvero se ci sono differenze tra pre e post in particolare nel lato che ha subito il *training*. Considerando il potenziale mediato sui quattro canali (FC₁ FC₂ FC_z C_z), ovvero l'ERP Centrale, i dati utilizzati per i confronti sono costituiti dal valore medio dell'ERP Centrale calcolato su ogni soggetto nell'intervallo T = 140÷180 ms, in cui si presenta la N100 sia secondo dati di letteratura^[31], sia da quanto si evince dalle *Grand Average* (vedi figure 3.3-3.4). Ovvero:

$$ERP_{C,cond,sogg,T} = \frac{\sum_{t=140\text{ ms}}^{180\text{ ms}} ERP_{C,cond,sogg}(t)}{N}$$

dove N = 21 è il numero di campioni nell'intervallo di tempo T considerato.

Per ogni test sono stati creati due gruppi di 15 valori riferiti alla stessa condizione e allo stesso gruppo di soggetti, uno calcolato sulle misure pre allenamento e uno su quelle post (ad es. "mts_pre vs mts_post", "ocns_pre vs ocns_post").

Per un livello di significatività del 5%, i risultati sono mostrati nella tabella 3.1:

- nel compito di orientazione non ci sono differenze statisticamente significative in nessuna condizione; tale risultato suggerisce che il

training non abbia effetto né potenziante né indebolente su nessuna struttura coinvolta in questo *task*;

- nel compito di movimento viene individuata una significatività per i soggetti sperimentali quando lo stimolo è ipsilaterale al *training* (confronto “mts_pre vs mts_post”). In particolare in questa specifica condizione si osserva che l'ampiezza del potenziale è maggiore nella sessione successiva all'addestramento; tale risultato suggerisce che aree multisensoriali coinvolte nel *processing* di discriminazione visiva del movimento abbiano risentito positivamente della stimolazione audio-visiva ripetuta (ovvero che si attivino maggiormente dopo il *training*).

MOVIMENTO pre vs post	H	p
Mts	1	0.0298
Mtns	0	0.9165
Mcs	0	0.6711
Mcns	0	0.1863

ORIENTAZIONE pre vs post	H	p
mts	0	0.8962
mtns	0	0.5238
Mcs	0	0.8849
mcns	0	0.1438

TABELLA 3.1 – Risultati t-test per i due compiti

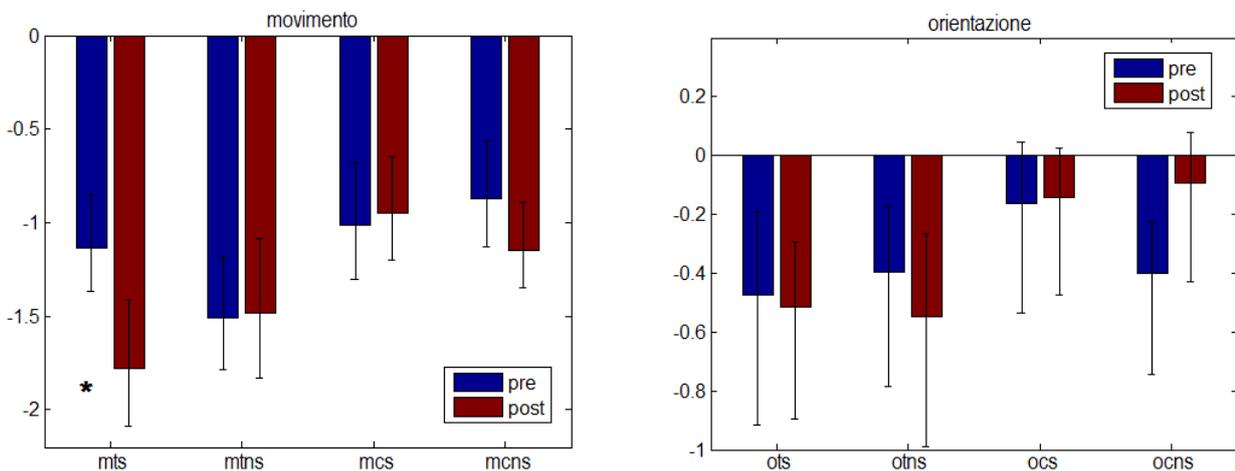


FIGURA 3.5 – Valore medio dell'ERP Centrale (mediato sui soggetti) per i compiti di movimento (sinistra) e orientazione (destra) e risultati del t-test

3.3 Ricostruzione delle sorgenti e analisi a livello di Aree di Brodmann (Region Of Interest, ROI)

Al fine di verificare se i risultati ottenuti sullo scalpo corrispondono a una reale differenza di comportamento delle strutture sottostanti, si è provveduto alla ricostruzione dell'attività corticale nei voxel, che si possono ricavare suddividendo il volume cerebrale con una griglia cubica.

Considerando che un gruppo di neuroni lavora in maniera sincrona per eseguire un determinato compito, ad es. l'estrazione di una *feature* dal segnale, e che l'attività che possiamo rilevare è proprio quella della popolazione neurale piuttosto che del singolo elemento, la ricostruzione è stata fatta su delle regioni di interesse (*Region Of Interest, ROI*) definite per mezzo delle Aree di Brodmann. In questo modo è più immediato confrontare i livelli di attivazione durante l'esperimento di tutte le aree cerebrali. Inoltre, sapendo che ad ognuna di esse corrispondono delle specifiche funzionalità e delle connessioni con altre regioni del cervello, potrà essere più semplice anche l'interpretazione dei risultati, ovvero l'individuazione della sequenza di elaborazioni che avviene nello specifico nell'intervallo di tempo in cui compare la N1 (140÷180 ms).

Come spiegato nel capitolo "Materiali e metodi", la ricostruzione delle sorgenti corticali è un problema che richiede di calcolare l'attività neurale nel volume cerebrale (\hat{J}) a partire da quella misurata sullo scalpo (Φ) mediante la matrice di inversione (M_{inv}):

$$\hat{J} = M_{inv} * \Phi$$

È un problema mal posto poiché il numero di potenziali prelevati sullo scalpo è notevolmente inferiore rispetto alle sorgenti da ricostruire, quindi avremmo un sistema con più incognite che equazioni. Tale sistema è risolvibile solamente ponendo dei vincoli aggiuntivi, che si riflettono nella definizione e nel calcolo della matrice di inversione. In questo lavoro si è utilizzato il software sLORETA, che, grazie al metodo LORETA, lineare e a sorgenti distribuite, esegue la ricostruzione in 6239 voxel con una elevata precisione di localizzazione.

Il software sLORETA esegue, come prima operazione, il calcolo della matrice di inversione M_{inv} , a partire dall'elenco dei canali utilizzati per l'elettroencefalogramma e dalla loro posizione sullo scalpo: nel caso in esame, M_{inv} contiene i coefficienti che descrivono qual è il contributo in ogni elettrodo dell'attività di ogni voxel, rappresentata mediante un vettore con orientamento e intensità variabili. Le righe di M_{inv} sono 6239×3 (si esplicitano le componenti cartesiane del vettore) mentre le colonne sono 59:

$$\begin{array}{cccc}
 m_{x_11} & m_{x_12} & m_{x_13} & \dots \\
 m_{y_11} & m_{y_12} & m_{y_13} & \dots \\
 m_{z_11} & m_{z_12} & m_{z_13} & \dots \\
 \vdots & \vdots & \vdots &
 \end{array}$$

Questa matrice calcolata da sLORETA è stata letta in MATLAB® grazie a un programma appositamente creato che la trasforma dal suo formato originale, poiché .spinv (fornito da sLORETA), in formato .mat.

Successivamente si è creata una matrice di dimensioni $[6239 \times 2]$ (*voxelbelong_sLORETA.mat*) in cui la prima colonna specifica l'Area di Brodmann in cui si trova il voxel della riga corrispondente, mentre la seconda ne indica l'emisfero di appartenenza ("1" per l'emisfero destro e "2" per il sinistro, secondo la convenzione di sLORETA).

A questo punto, sapendo come ricostruire l'attività di ogni voxel nel volume cerebrale a partire dall'attività dello scalpo (M_{inv}) e conoscendo l'Area di Brodmann di appartenenza di ogni voxel (*voxelbelong_sLORETA.mat*), si è passati a ricostruire con uno script file in MATLAB® l'attività di ogni ROI, per ogni soggetto, in tutte le condizioni per l'intera durata delle epoche. In tale programma vengono innanzitutto calcolate le componenti xyz dei 6239 vettori partendo dagli ERP di ogni canale:

$$J_{x_i,cond,sogg}(t) = \sum_{j=1}^{59} m_{x_{ij}} \cdot ERP_{j,cond,sogg}(t)$$

$$J_{y_i,cond,sogg}(t) = \sum_{j=1}^{59} m_{y_{ij}} \cdot ERP_{j,cond,sogg}(t)$$

$$J_{z_i,cond,sogg}(t) = \sum_{j=1}^{59} m_{z_{ij}} \cdot ERP_{j,cond,sogg}(t)$$

per ogni $i = 1, \dots, 6239$.

Quindi si è calcolata la potenza dell' i -esimo voxel sommando i quadrati delle tre componenti:

$$P_{i,cond,sogg}(t) = \left(J_{x_i,cond,sogg}(t) \right)^2 + \left(J_{y_i,cond,sogg}(t) \right)^2 + \left(J_{z_i,cond,sogg}(t) \right)^2$$

Infine, per determinare la potenza, ovvero l'attivazione, della k -esima ROI si è fatta la media dei valori di potenza su tutti i voxel i appartenente a quella ROI:

$$P_{ROIk,cond,sogg}(t) = \frac{\sum_{\forall i \in ROIk} P_{i,cond,sogg}(t)}{\sum i}$$

Nel calcolo della potenza nelle diverse ROI, si possono considerare due casi. In un caso, si considerano 84 ROI, distinguendo tra ROI nell'emisfero destro e sinistro (ad es. ROI1_destra e ROI1_sinistra); a tale scopo si è separato il contributo dei voxel in funzione anche dell'emisfero di appartenenza. Nell'altro caso si considerano 42 ROI, senza distinguere tra i due emisferi; a tale scopo si può operare in due modi differenti, o mediando il valore delle due ROI corrispondenti (ad es. la potenza nella ROI1 è la media delle potenze di ROI1_destra e ROI1_sinistra), o considerando tutti i voxel che appartengono alla ROI a prescindere dall'emisfero in cui sono situati (quindi della matrice *voxelbelong_sLORETA.mat* si valuta solo l'informazione contenuta nella prima colonna).

Per verifica, i valori di potenza in ciascun voxel e in ciascuna ROI ottenuti utilizzando il procedimento sopra descritto in MATLAB® sono stati confrontati

con quelli ricostruiti con sLORETA (restituiti in formato .slor e quindi convertiti in formato leggibile da MATLAB®) e, osservandone l'uguaglianza, si è deciso di procedere con quelli calcolati con il metodo MATLAB® sopra descritto.

Alla potenza in ogni istante di tempo in ciascuna ROI è stata sottratta la rispettiva baseline (media in -100÷0 ms) per riportare a zero il valore medio in ogni ROI prima della somministrazione dello stimolo.

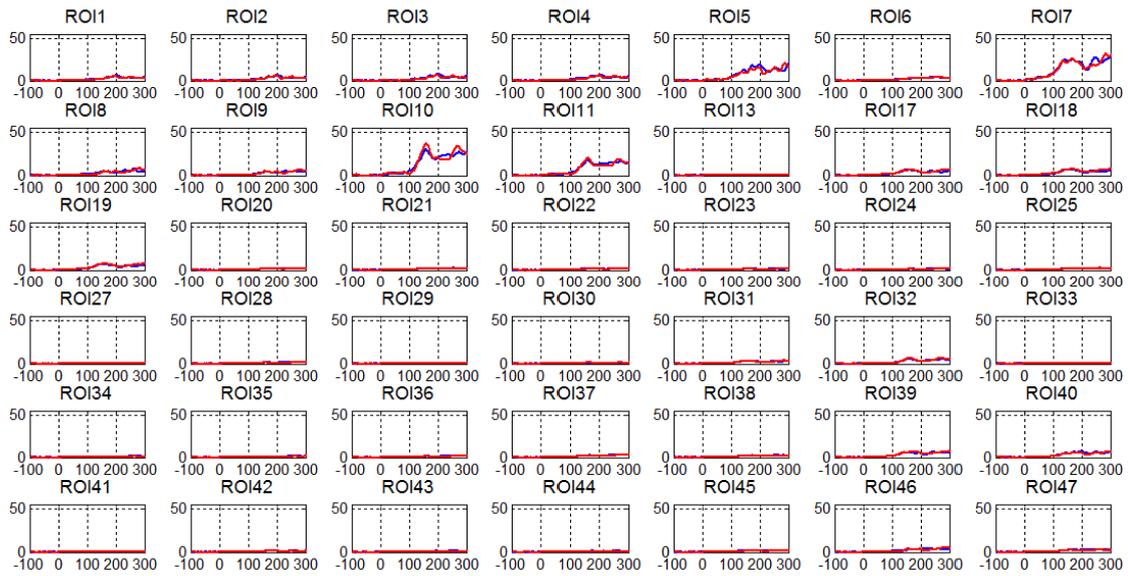
Per ogni ROI e per ogni condizione è stata quindi calcolata la *Grand Average* mediando su tutti i 15 soggetti appartenenti al rispettivo gruppo, sperimentale o controllo:

$$\bar{P}_{ROIk,cond}(t) = \frac{\sum_{s=1}^S P_{ROIk,cond,sogg}(t)}{S}$$

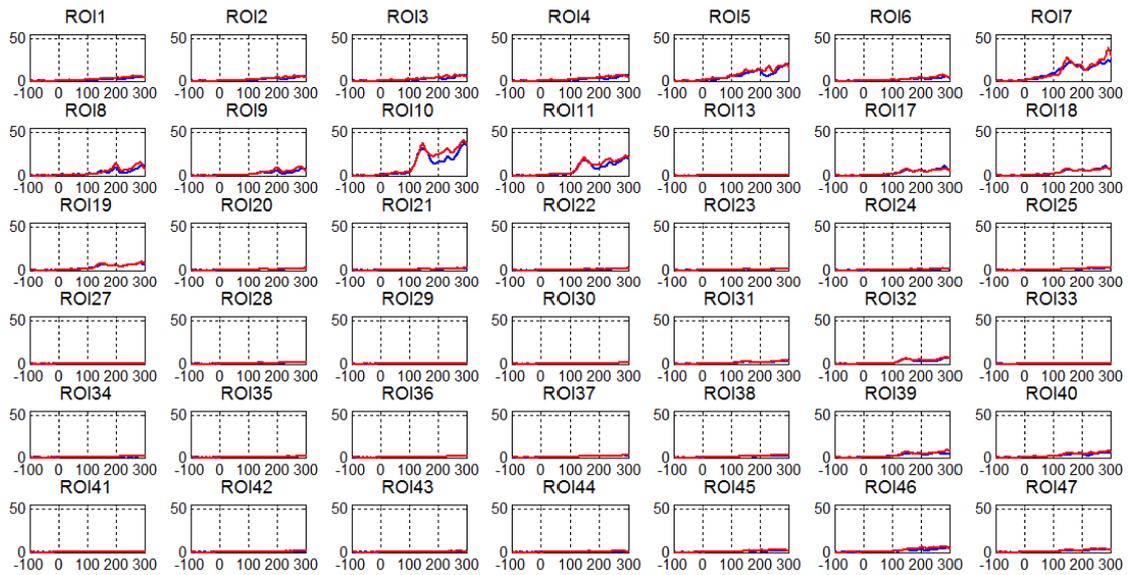
dove $S = 15$ è il numero di soggetti appartenenti al gruppo sperimentale e al gruppo di controllo e *cond* = mts_pre, mts_post, mtns_pre, mtns_post, ots_pre, ots_post, otns_pre, otns_post, se la media viene calcolata sui soggetti appartenenti al gruppo sperimentale oppure *cond* = mcs_pre, mcs_post, mcns_pre, mcns_post, ocs_pre, ocs_post, ocns_pre, ocns_post, se la media viene calcolata sui soggetti appartenenti al gruppo di controllo. Si ottengono, in ogni condizione, 84 o 42 andamenti nel tempo, a seconda che si considerino separatamente o unite le ROI corrispondenti nei due emisferi.

Nelle due figure seguenti (3.6-3.7) sono riportati gli andamenti nel tempo delle *Grand Average* delle potenze nelle 42 ROI ($\bar{P}_{ROIk,cond}(t)$), per il compito di orientazione pre e post-*training* (ots_pre, ots_post, otns_pre, otns_post, ocs_pre, ocs_post, ocns_pre, ocns_post) e per il compito di movimento (mts_pre, mts_post, mtns_pre, mtns_post, mcs_pre, mcs_post, mcns_pre, mcns_post). Si noti che l'intervallo di tempo rappresentato (asse x in ogni grafico) è stato limitato tra -100 ms e 300 ms (che contiene l'intervallo di interesse 140÷180 ms in cui compare la N100) per motivi di visualizzazione. È interessante notare che in tutte le condizioni i risultati mostrano una maggiore attivazione in quattro aree principali: ROI 5, ROI 7, ROI 10, ROI 11.

OTS



OTNS



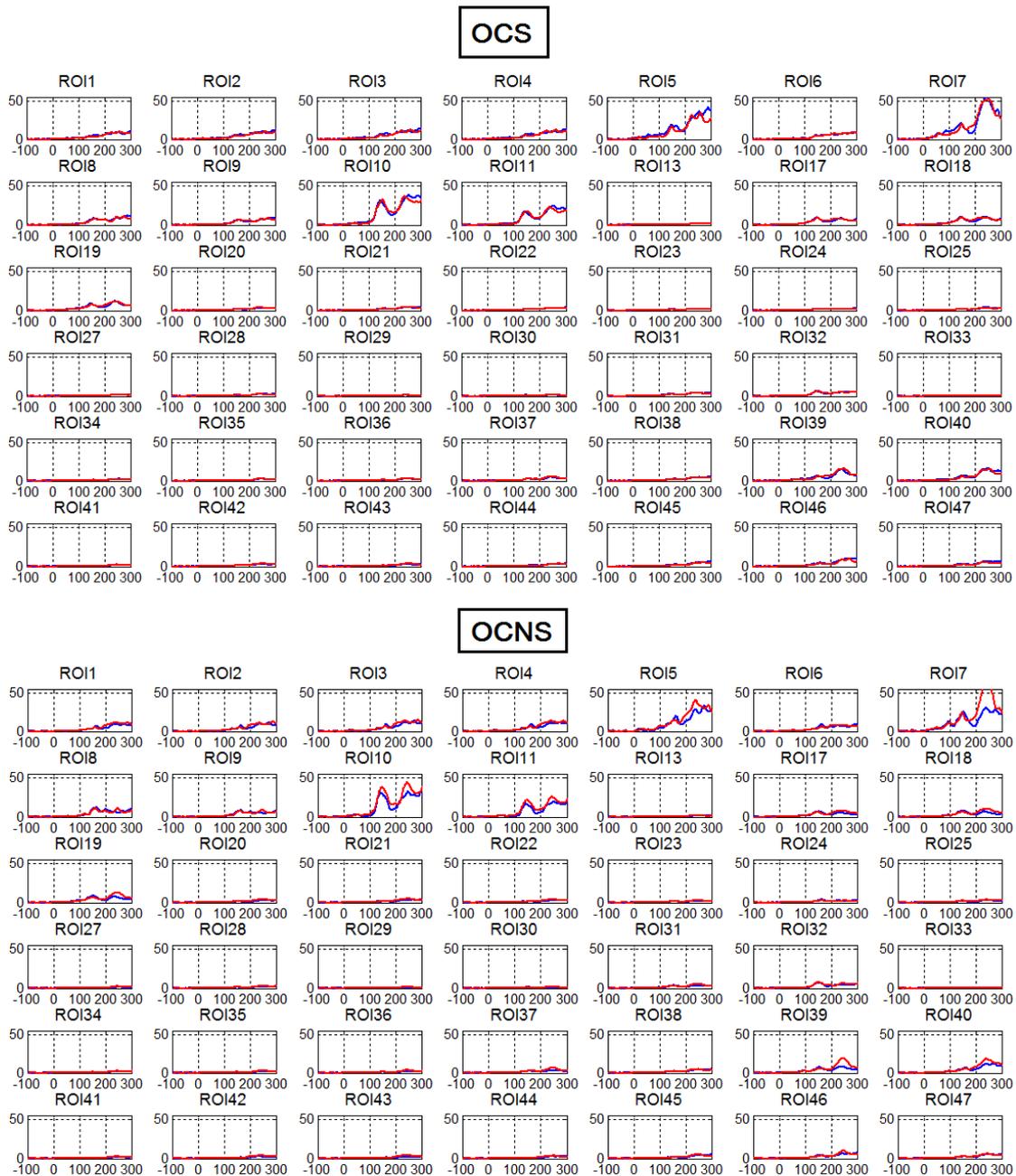
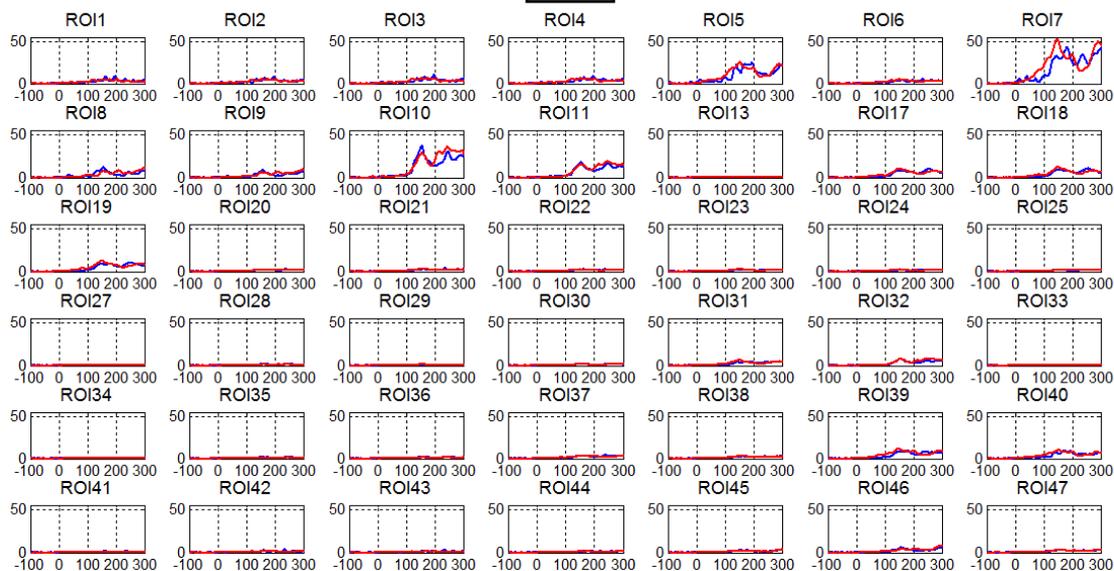
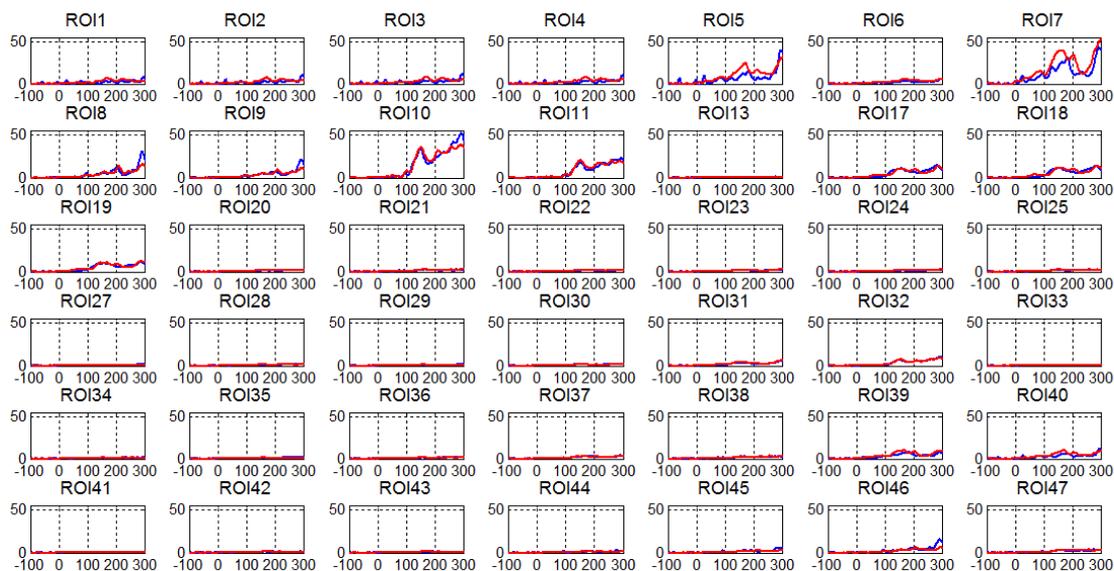


FIGURA 3.6 – Ricostruzione delle potenze nelle 42 ROI del cervello per il compito di orientazione nell'intervallo $-100\div 300$ ms. I dati relativi ai *task pre-training* sono riportati in blu, quelli relativi al *task post-training* in rosso.

MTS



MTNS



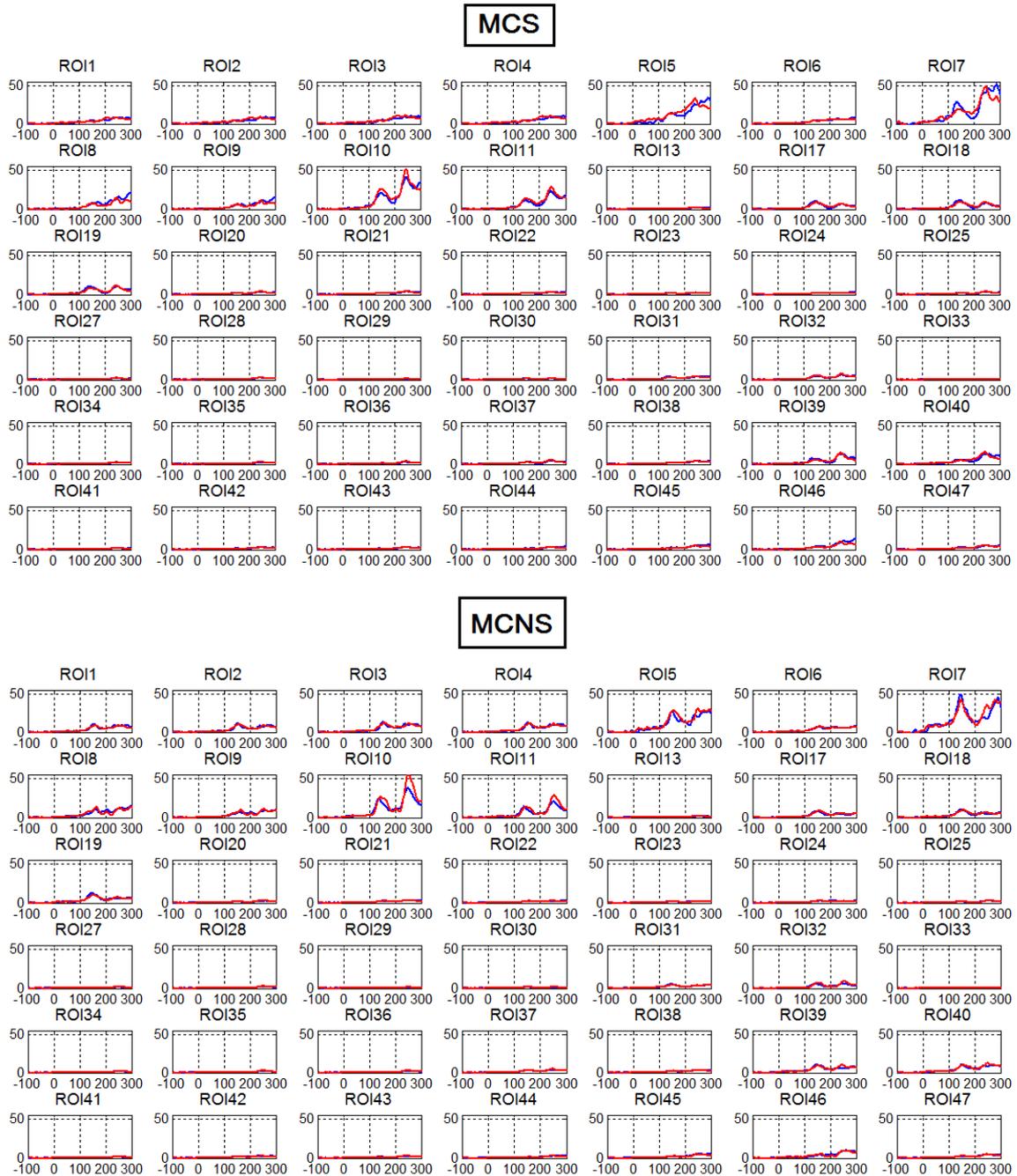


FIGURA 3.7 – Ricostruzione delle potenze nelle 42 ROI del cervello per il compito di movimento nell'intervallo -100÷300 ms. I dati relativi ai *task pre-training* sono riportati in blu, quelli relativi al *task post-training* in rosso.

Per eseguire test di significatività statistica a livello di ROI cerebrali, analogamente a quanto è stato fatto a livello di scalpo, è stato calcolato il valore medio della potenza in ciascuna ROI nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms, per ogni soggetto e per ogni condizione, ovvero:

$$P_{ROIk,cond,sogg,T} = \frac{\sum_{t=140}^{180} P_{ROIk,cond,sogg}(t)}{N}$$

dove $N = 21$ è il numero di campioni nell'intervallo T considerato. In questo modo, per ogni possibile condizione e per ogni ROI, è stato generato un gruppo di 15 valori (uno per soggetto). Si sono fatti dei test ANOVA per verificare se nelle ROI, in particolar modo in ciascuna delle quattro maggiormente attive (ROI 5, ROI 7, ROI 10, ROI 11), ci sono delle differenze statisticamente significative nella potenza media nell'intervallo T tra pre e post-allenamento. Per ciascuna delle quattro ROI esaminate, i test sono stati effettuati con un disegno $2 \times 2 \times 2 \times 2$ ponendo come fattori *within subjects*, ovvero come differenze presenti internamente allo stesso gruppo di soggetti:

- emisferi, destro e sinistro, quindi sono stati utilizzati i dati ricavati dalla ricostruzione separata sui due emisferi della potenza in ciascuna ROI (ad es. nel caso dell'ANOVA sulla ROI5, si distingue tra ROI5_destra e ROI5_sinistra);
- tempo, "pre" e "post";
- condizione, emisfero stimolato ipsilaterale a quello allenato ("s") oppure controlaterale ("ns");

e come fattore *between subject* il gruppo, ovvero il diverso tipo di *training* a cui sono stati sottoposti i soggetti sperimentali e quelli di controllo.

I risultati non ricalcano appieno quelli ottenuti dal test sugli elettrodi, ma questo fatto non deve stupire poiché l'attività sullo scalpo è una combinazione di quelle delle sorgenti corticali e inoltre ogni elettrodo registra segnali prodotti da regioni che possono comprendere più Aree di Brodmann.

L'analisi ANOVA permette di studiare, per ciascuna ROI esaminata, l'effetto di ciascuno di questi quattro fattori nonché la loro interazione. Per lo studio in esame, ci siamo concentrati sull'effetto del fattore "*training*" e sulla sua interazione con altri fattori.

I risultati dell'ANOVA, con livello di significatività del 5%, vengono riportati di seguito sia sotto forma di tabelle che di grafici a barre, e si sottolineano le seguenti differenze significative che emergono.

Compito di discriminazione di orientazione

ROI 10							
emisf sx				emisf dx			
pre		post		pre		post	
s	ns	s	ns	s	ns	s	ns
1,47	1,97	13,10	0,73	1,70	1,96	14,39	0,83
23,54	12,15	23,35	3,55	24,19	14,27	30,43	7,58
86,66	43,62	116,55	38,86	93,70	46,25	127,27	40,48
19,52	8,03	14,01	9,16	23,41	9,19	16,32	10,32
10,41	17,79	15,43	25,30	11,07	19,42	15,89	27,16
4,81	3,69	2,39	4,68	6,25	4,09	2,66	5,82
64,12	95,98	57,82	110,92	66,30	101,97	61,48	117,75
65,27	37,13	59,60	40,06	67,10	37,46	61,79	40,69
0,52	2,24	3,48	1,97	0,65	3,08	4,24	2,11
9,14	55,29	18,12	33,48	10,19	55,69	18,88	35,74
3,60	9,71	0,51	10,58	4,80	11,88	0,60	12,10
19,17	27,33	44,61	31,24	21,72	28,62	47,20	33,81
27,26	36,29	44,34	64,67	28,32	37,70	48,18	67,59
4,76	17,28	5,94	13,46	5,13	18,64	7,20	15,30
25,05	15,78	19,86	35,14	27,01	17,15	21,60	36,77
0,84	3,40	16,10	24,05	16,73	3,16	0,66	23,94
28,39	25,98	24,96	23,94	26,32	28,66	29,80	26,25
12,48	6,72	29,33	12,35	33,21	7,21	13,88	12,90
6,10	2,99	7,60	2,47	7,91	3,17	6,39	2,74
46,41	0,01	33,75	1,27	34,39	-0,21	46,57	1,27
29,31	15,28	14,77	17,84	15,21	15,59	30,33	17,91
3,97	7,53	8,78	6,21	10,42	9,13	4,54	8,38
24,82	35,80	13,92	86,34	15,68	39,84	25,75	92,73
36,35	16,71	64,87	39,97	67,88	17,99	37,35	41,93
33,05	60,22	20,99	45,58	23,32	63,66	33,91	48,09
8,39	36,09	19,07	13,78	19,83	38,50	8,90	15,36
24,68	20,95	44,31	41,18	46,84	23,42	25,62	44,54
7,79	2,01	6,79	11,36	6,46	2,27	8,04	11,12
77,96	72,99	58,51	84,19	58,94	76,83	78,75	86,60
15,76	34,41	17,63	36,40	19,57	36,34	16,95	39,25

TABELLA 3.2 – Valori medi nelle varie condizioni di tutti i soggetti (i primi 15 sono soggetti sperimentali, i restanti 15 sono controlli) per la ROI 10

ROI 11							
emisf sx				emisf dx			
Pre		post		pre		post	
s	ns	s	ns	s	ns	s	ns
0,72	0,94	7,18	0,26	0,76	0,81	8,11	0,42
14,27	6,51	15,12	4,42	13,44	6,96	15,86	3,57
54,54	25,11	65,25	21,76	56,83	26,08	68,04	22,26
13,23	3,78	7,38	4,98	13,15	4,01	7,94	5,48
6,05	7,94	8,56	10,70	5,44	8,25	8,32	11,13
2,78	1,92	1,45	4,92	2,44	2,01	0,84	4,11
40,01	53,87	32,42	62,52	40,04	55,70	34,62	64,80
39,99	26,50	33,96	28,34	40,56	26,02	33,96	28,21
0,43	1,48	1,74	1,24	0,53	1,48	2,21	1,25
5,45	39,37	10,45	22,20	5,82	39,28	11,45	24,15
2,69	6,75	2,10	5,66	2,46	6,95	1,36	6,23
12,46	14,68	25,05	14,56	13,56	15,12	26,23	15,11
13,69	16,54	19,71	30,80	14,40	17,09	21,35	31,89
3,29	9,76	3,44	7,19	3,26	10,29	3,56	6,07
13,03	10,08	10,44	22,21	13,74	10,73	11,17	22,71
0,44	1,21	5,81	11,16	6,14	1,36	0,23	11,62
17,39	13,84	14,67	15,67	14,44	14,79	16,98	16,49
6,21	3,26	14,74	6,52	15,92	2,92	6,56	6,70
2,59	3,91	3,34	1,81	3,10	3,82	2,49	1,98
27,13	0,18	18,83	0,87	17,94	-0,17	26,41	0,77
15,53	7,10	8,54	9,86	8,53	7,80	15,96	10,39
2,55	5,59	4,75	4,61	5,20	5,15	2,66	5,01
11,86	18,20	9,02	48,52	9,46	19,87	12,14	50,79
15,96	9,91	30,25	24,11	32,53	10,20	16,52	24,23
17,29	30,96	12,75	24,08	13,74	31,16	17,79	25,20
5,71	24,36	12,84	8,91	13,34	25,70	6,04	9,17
13,39	10,73	24,09	18,30	25,21	11,43	13,78	19,38
6,41	1,61	7,29	8,15	6,98	1,71	6,27	8,52
41,63	33,35	33,83	44,32	34,13	34,33	42,14	43,27
7,89	16,82	9,25	25,05	9,44	18,09	8,10	24,51

TABELLA 3.3 – Valori medi nelle varie condizioni di tutti i soggetti (i primi 15 sono soggetti sperimentali, i restanti 15 sono controlli) per la ROI 11

Repeated Measures Analysis of Variance (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	174851,9	1	174851,9	44,45887	0,000000
"Var9"	182,3	1	182,3	0,04635	0,831109
Error	110121,0	28	3932,9		
EMISF	169,3	1	169,3	52,41996	0,000000
EMISF**"Var9"	5,3	1	5,3	1,63666	0,211285
Error	90,5	28	3,2		
TIME	842,3	1	842,3	5,94955	0,021315
TIME**"Var9"	7,9	1	7,9	0,05562	0,815281
Error	3964,3	28	141,6		
COND	54,2	1	54,2	0,05434	0,817373
COND**"Var9"	63,4	1	63,4	0,06353	0,802841
Error	27946,3	28	998,1		
EMISF*TIME	6,3	1	6,3	0,11946	0,732208
EMISF*TIME**"Var9"	25,8	1	25,8	0,49239	0,488656
Error	1469,0	28	52,5		
EMISF*COND	0,2	1	0,2	0,09261	0,763135
EMISF*COND**"Var9"	3,8	1	3,8	2,20131	0,149064
Error	47,9	28	1,7		
TIME*COND	92,8	1	92,8	0,60191	0,444354
TIME*COND**"Var9"	369,2	1	369,2	2,39401	0,133030
Error	4318,2	28	154,2		
EMISF*TIME*COND	13,2	1	13,2	0,24378	0,625341
EMISF*TIME*COND**"Var9"	19,0	1	19,0	0,35055	0,558553
Error	1516,8	28	54,2		

TABELLA 3.4 – ANOVA test per la ROI 10

Repeated Measures Analysis of Variance (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	53545,09	1	53545,09	44,42153	0,000000
"Var9"	170,40	1	170,40	0,14137	0,709761
Error	33750,81	28	1205,39		
EMISF	9,26	1	9,26	16,17744	0,000396
EMISF*"Var9"	0,08	1	0,08	0,14264	0,708515
Error	16,04	28	0,57		
TIME	201,89	1	201,89	4,80679	0,036822
TIME*"Var9"	11,91	1	11,91	0,28364	0,598530
Error	1176,04	28	42,00		
COND	16,96	1	16,96	0,05496	0,816354
COND*"Var9"	20,51	1	20,51	0,06646	0,798454
Error	8642,11	28	308,65		
EMISF*TIME	4,83	1	4,83	0,38004	0,542560
EMISF*TIME*"Var9"	9,67	1	9,67	0,76109	0,390407
Error	355,61	28	12,70		
EMISF*COND	0,01	1	0,01	0,04719	0,829599
EMISF*COND*"Var9"	0,30	1	0,30	1,20274	0,282117
Error	6,91	28	0,25		
TIME*COND	67,93	1	67,93	1,23815	0,275290
TIME*COND*"Var9"	109,14	1	109,14	1,98923	0,169435
Error	1536,23	28	54,87		
EMISF*TIME*COND	4,30	1	4,30	0,32818	0,571303
EMISF*TIME*COND*"Var9"	8,77	1	8,77	0,66921	0,420234
Error	367,10	28	13,11		

TABELLA 3.5 – ANOVA test per la ROI 11

Come mostrano le tabelle 3.4 e 3.5, che contengono i risultati ANOVA, nel compito di discriminazione di orientazione viene evidenziato un effetto significativo del tempo per le Aree di Brodmann 10 ($p = 0.0213$) e 11 ($p = 0.0368$), che mostrano una maggiore attivazione dopo il *training*, a prescindere però dal lato di presentazione dello stimolo ("s" o "ns") e dal gruppo ("t" o "c"). Tali risultati sono enfatizzati mediante i grafici a barre riportati in figura 3.8.

Compito di discriminazione di movimento

ROI 7							
emisf sx				emisf dx			
pre		post		pre		post	
s	ns	s	ns	s	ns	s	ns
9,74	13,58	16,21	52,02	11,14	4,88	17,21	40,48
3,72	5,45	0,47	0,95	3,36	4,29	-0,12	1,14
18,36	0,60	4,54	17,42	16,44	1,03	8,15	29,21
112,15	92,74	111,01	104,92	102,42	84,44	91,21	89,73
6,80	7,45	4,18	13,86	5,73	6,44	2,80	9,31
14,48	3,66	29,74	5,72	12,83	5,85	37,41	5,15
129,51	8,58	24,46	27,76	126,38	11,91	19,94	19,11
0,70	0,67	1,49	1,53	1,72	4,11	2,74	2,36
-3,77	3,66	9,37	20,49	-3,93	3,79	9,69	23,98
60,68	18,76	166,24	63,49	64,83	18,66	172,20	62,15
21,45	11,58	118,33	40,68	20,91	13,06	123,10	44,44
4,39	15,20	28,96	19,75	3,98	16,67	29,14	20,76
6,13	8,06	10,72	12,51	5,21	10,09	8,96	12,35
75,85	52,87	63,91	70,62	78,85	57,39	60,31	70,85
53,76	107,38	44,73	118,56	43,95	92,63	33,62	116,17
0,91	11,92	0,14	0,65	1,67	16,41	1,11	0,89
41,99	136,83	41,01	71,16	35,03	128,89	35,77	69,99
25,43	13,72	21,66	52,33	22,79	12,31	20,87	46,20
5,93	2,99	2,35	5,53	8,02	1,13	4,62	3,34
6,35	35,48	12,13	48,67	4,61	28,21	10,40	38,51
3,26	-0,17	8,02	-0,21	3,49	0,44	8,36	-0,20
9,38	65,80	19,67	63,54	9,47	61,85	20,48	61,73
16,95	7,02	9,24	5,53	20,51	7,77	10,42	5,35
36,61	38,60	-6,17	25,06	35,97	29,45	-6,85	22,24
8,24	6,12	6,78	4,72	10,73	8,04	7,82	4,62
12,58	6,05	12,89	10,24	12,80	6,43	13,85	8,45
7,21	1,81	3,72	0,28	5,94	2,77	5,63	1,48
-0,37	6,62	2,12	8,53	4,18	8,25	7,55	9,04
36,70	53,06	71,72	84,29	38,22	52,72	68,02	79,60

TABELLA 3.6 – Valori medi nelle varie condizioni di tutti i soggetti (i primi 15 sono soggetti sperimentali, i restanti 15 sono controlli) per la ROI 7

Repeated Measures Analysis of Variance (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	211153,6	1	211153,6	28,79244	0,000010
"Var9"	4201,5	1	4201,5	0,57290	0,455431
Error	205342,1	28	7333,6		
EMISF	102,4	1	102,4	3,16000	0,086328
EMISF*"Var9"	0,1	1	0,1	0,00247	0,960741
Error	907,8	28	32,4		
TIME	1003,9	1	1003,9	0,89620	0,351902
TIME*"Var9"	3074,8	1	3074,8	2,74505	0,108721
Error	31363,9	28	1120,1		
COND	951,3	1	951,3	0,54155	0,467911
COND*"Var9"	8037,4	1	8037,4	4,57574	0,041289
Error	49182,9	28	1756,5		
EMISF*TIME	0,3	1	0,3	0,03864	0,845577
EMISF*TIME*"Var9"	1,8	1	1,8	0,21396	0,647257
Error	238,9	28	8,5		
EMISF*COND	29,5	1	29,5	3,60109	0,068097
EMISF*COND*"Var9"	29,5	1	29,5	3,61202	0,067704
Error	229,0	28	8,2		
TIME*COND	46,7	1	46,7	0,07400	0,787600
TIME*COND*"Var9"	308,7	1	308,7	0,48955	0,489901
Error	17658,5	28	630,7		
EMISF*TIME*COND	0,0	1	0,0	0,00129	0,971555
EMISF*TIME*COND*"Var9"	2,0	1	2,0	0,40070	0,531863
Error	136,9	28	4,9		

TABELLA 3.7 – ANOVA test per la ROI 7

Come si evidenzia nella tabella 3.7, che riporta i risultati dell'ANOVA, nel compito di discriminazione di movimento è presente una interazione tempo*gruppo vicina alla significatività per la sola ROI7 ($p = 0.1087$). Sviluppando ulteriormente l'analisi mediante un Newman Keuls Post-Hoc test si rivela un aumento quasi significativo dell'attivazione nel post-*training* per i soggetti sperimentali ($p = 0,0764$), ma non per i soggetti controllo ($p = 0.5511$) (Tabella8). Ciò è anche illustrato mediante il grafico a barre di figura 3.9.

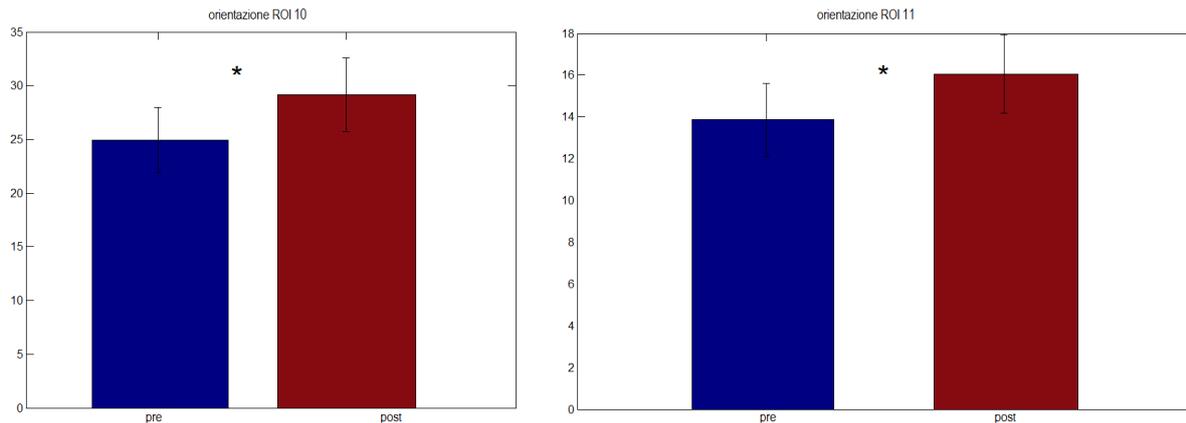


FIGURA 3.8 – Significatività ANOVA per il compito di orientazione nelle ROI 10 e 11

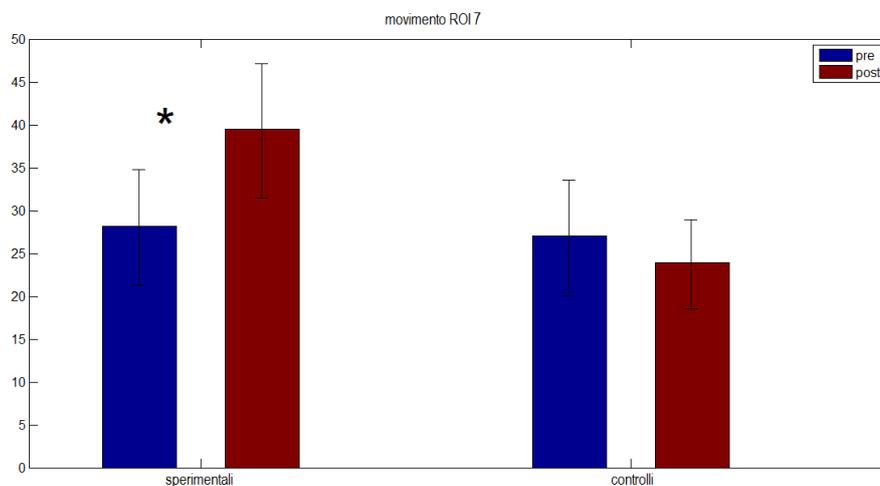


FIGURA 3.9 – Significatività ANOVA e Post Hoc test per il compito di movimento nella ROI 7

Newman-Keuls test; variable DV_1 (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between; Within; Pooled MSE = 1056,7, df = 36,358						
Cell No.	Var9	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}
			28,221	39,470	27,012	23,943
1	1	1		0,076385	0,919519	0,931141
2	1	2	0,076385		0,551059	0,563937
3	2	1	0,919519	0,551059		0,619624
4	2	2	0,931141	0,563937	0,619624	

TABELLA 3.8 – Risultati del Newman Keuls test sviluppato per l'interazione quasi significativa della ROI 7 evidenziata con l'ANOVA

Sintetizzando, nelle ROI 10 e 11 sembra quindi esserci una maggiore attivazione nella sessione successiva al *training*, nel compito di orientazione, indipendentemente dal gruppo di soggetti (sperimentale/controlli) ovvero indipendentemente dal tipo di *training* audio-visivo applicato (spazialmente coincidente o disparato). Una buona rappresentazione di questo si osserva già

considerando la *Grand Average* delle potenze nelle ROI in esame, che vengono nuovamente riportate, ingrandite nelle figure 3.10 e 3.11. Nella ROI 7, si evince una maggiore attivazione *post-training* solo per il compito di movimento e specificamente per quei soggetti che hanno ricevuto una stimolazione audio-visiva spazialmente e temporalmente coincidente, come si osserva già considerando la *Grand Average* della potenza nella ROI 7, come mostrato in figura 3.12.

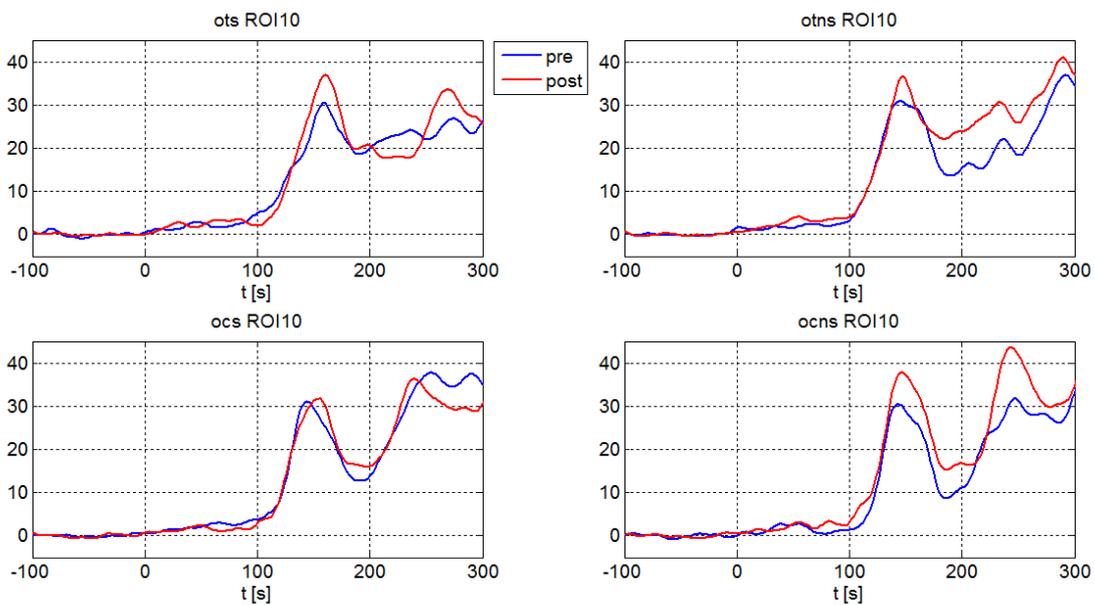


FIGURA 3.10 – ROI 10 nelle diverse condizioni del compito di orientazione nell'intervallo - 100÷300 ms

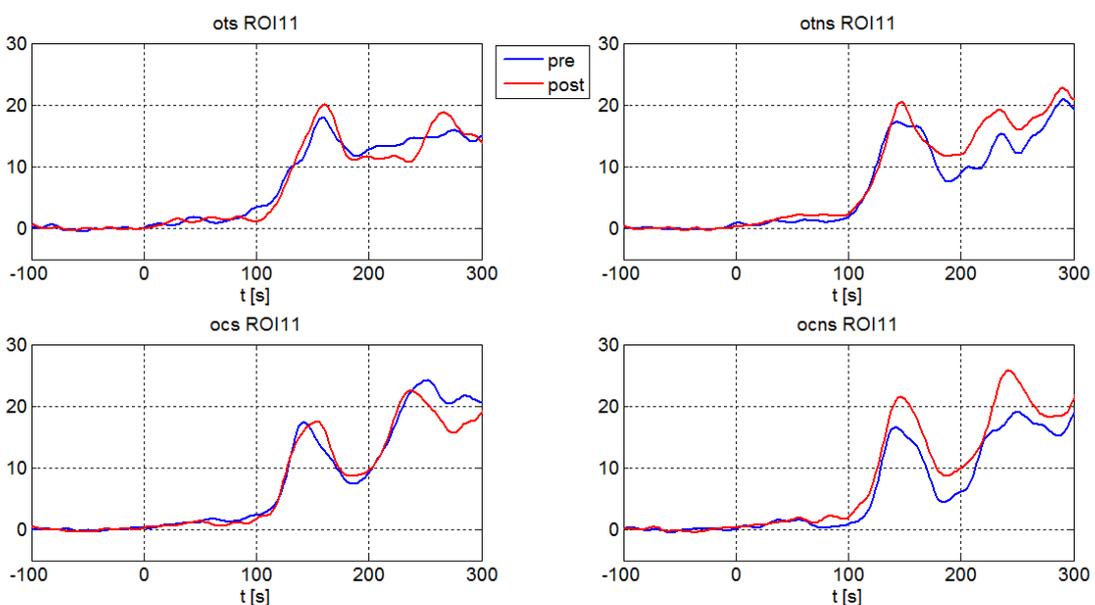


FIGURA 3.11 – ROI 11 nelle diverse condizioni del compito di orientazione nell'intervallo - 100÷300 ms

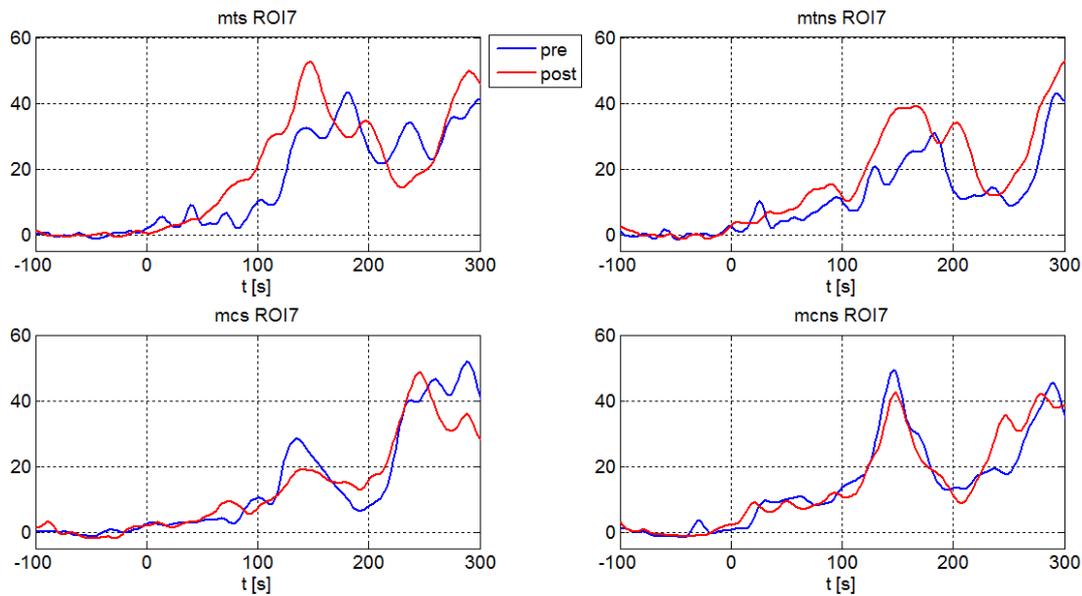


FIGURA 3.12 – ROI 7 nelle diverse condizioni del compito di movimento nell'intervallo -100÷300 ms

3.4 Analisi dell'attività in sottostrutture delle ROI

La ROI 7 è di particolare interesse in questo lavoro poiché diverse ricerche sostengono che sia coinvolta nell'elaborazione di stimoli visivi in movimento. [26][27][28][29][30] Alla luce dei risultati precedentemente forniti dall'ANOVA, si è proceduto con una suddivisione in sottostrutture della ROI7 per cercare di individuare con maggiore precisione la regione d'origine delle differenze statisticamente significative tra le attivazioni ricavate nella sessione prima dell'allenamento e in quella dopo l'allenamento.

In nessuna delle matrici finora utilizzate, M_{inv} di inversione e *voxelbelong_sLORETA.mat* (vedasi paragrafo precedente), è presente l'informazione riguardante la posizione dei voxel all'interno delle sottostrutture che compongono le Aree di Brodmann, è stato quindi necessario ricorrere nuovamente all'ausilio di sLORETA. Una delle funzioni implementate in questo programma permette di creare un file Excel contenente la posizione precisa di ogni voxel, una volta definita la matrice di inversione e il set di ROI che si vuole considerare.

Per ognuno dei 6239 voxel vengono definiti:

- coordinate xyz secondo il sistema MNI (Montreal National Institute);
- lobo di appartenenza;
- sottostruttura di appartenenza;
- Area di Brodmann;
- numero della ROI in cui è stata incluso (pari a zero se non è situato in alcuna ROI).

Un esempio, estratto direttamente dal suddetto file, è il seguente:

-40,-5,-45, Temporal Lobe, Inferior Temporal Gyrus, Brodmann area 20, 16
-40,5,-45, Temporal Lobe, Middle Temporal Gyrus, Brodmann area 38, 33
-25,0,-45, Limbic Lobe, Uncus, Brodmann area 20, 16

Queste informazioni sono state lette in MATLAB® sia per individuare le strutture che compongono l'area di interesse (ROI 7) sia per selezionare e ricatalogare i soli voxel che appartengono a ciascuna sottostruttura. È stato così creato un file con la stessa logica di *voxelbelong_sLORETA.mat* in cui nella prima colonna, anziché inserire il numero della ROI di appartenenza, si è scritto quello della sottostruttura, mentre l'informazione contenuta nella seconda colonna è rimasta inalterata per i soli voxel della ROI 7 (*v_roi.mat*). Tutte le altre celle sono state poste pari a zero.

La tabella 3.9 riporta l'elenco delle sottostrutture contenute nella ROI 7 e il numero di voxel contenuto in ciascuna sottostruttura.

NOME STRUTTURA	NUMERO VOXEL
'Postcentral Gyrus'	16
'Superior Parietal Lobule'	130
'Precuneus'	238
'Cuneus'	15
'Inferior Parietal Lobule'	5
'Sub-Gyral'	5
'Paracentral Lobule'	1
<u>TOT 7 STRUTTURE</u>	<u>TOT 410 VOXEL</u>

TABELLA 3.9 – Elenco delle strutture della ROI 7 e numero di voxel che vi appartengono

La ricostruzione delle sorgenti all'interno delle strutture è stata svolta in modo del tutto analogo a quello spiegato precedentemente per le ROI, calcolando dapprima le componenti cartesiane di ogni momento di dipolo servendosi dei segnali ERP e ricavando poi il modulo al quadrato di tale vettore come somma delle sue componenti al quadrato, corrispondente alla potenza del singolo voxel. Le differenze si presentano nel momento della determinazione dell'attivazione delle strutture poiché si considerano solo i voxel della ROI 7 e li si suddivide in funzione delle sottostrutture (*v_roi.mat*): alla fine della ricostruzione si hanno, per ogni soggetto in tutte le condizioni nei due compiti, sette segnali nel tempo, uno per ogni sottoarea.

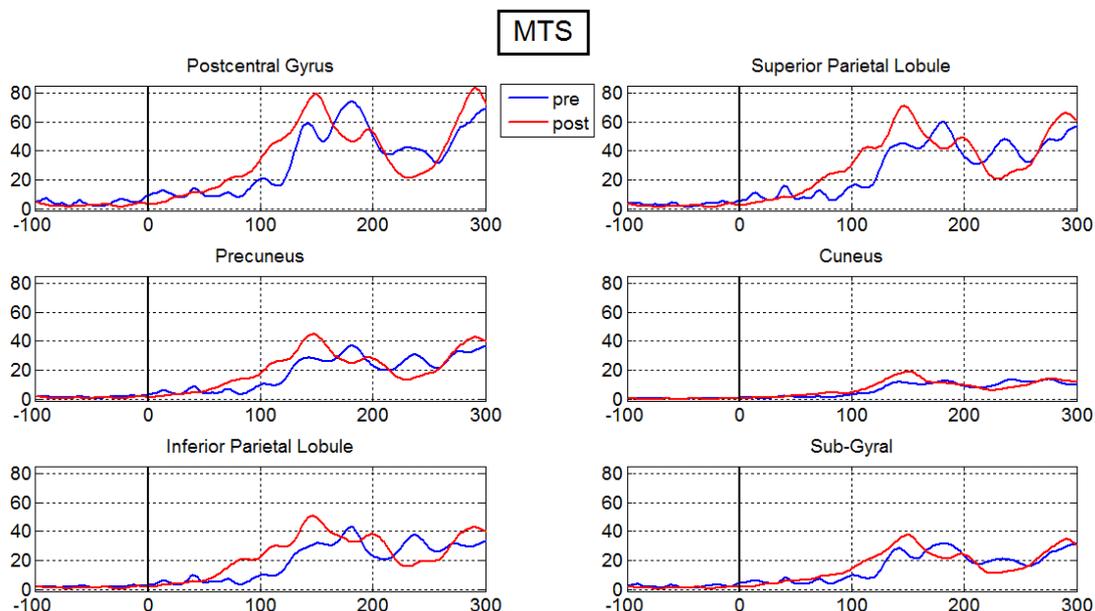


FIGURA 3.13 – Esempio di attivazione delle sottostrutture della ROI 7 nel caso di soggetti sperimentali durante il compito di movimento con presentazione dello stimolo nello stesso emicampo in cui è stato fatto il *training* nell'intervallo -100÷300 ms

Come nelle analisi precedenti, è stato calcolato per ogni soggetto e per ogni condizione il valore medio della potenza nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms, in ciascuna sottostruttura. Sono quindi state eseguite ulteriori analisi ANOVA per confrontare i valori del *pre-training* con quelli del *post-training* in ogni sottostruttura. Di nuovo i test sono stati effettuati con un disegno $2 \times 2 \times 2 \times 2$ ponendo come fattori *within subjects* gli emisferi, il tempo ("pre" e "post") e la condizione ("s" oppure "ns"), e come fattore *between subject* il gruppo ("t" o "c").

Ci siamo quindi concentrati sull'effetto del fattore tempo e sulle sue eventuali interazioni con altri fattori. Ciò che è emerso è:

- per il compito di orientazione, come preannunciato dal test precedente, non emergono differenze significative in nessuna struttura;

IPL							
emisf sx				emisf dx			
pre		post		pre		post	
s	ns	s	ns	s	ns	s	ns
-3,97	3,70	3,88	15,12	-2,12	3,60	8,24	23,63
47,41	17,28	150,09	59,88	44,87	11,39	150,56	48,43
24,02	13,91	100,33	41,18	18,58	11,13	99,34	33,89
3,36	9,64	21,02	11,71	2,39	12,95	17,89	16,02
5,37	8,48	10,65	12,83	2,52	14,07	4,89	12,19
56,15	39,16	74,49	73,25	54,93	43,55	56,45	70,66
73,67	130,30	65,36	133,56	32,41	73,55	21,21	109,90
9,89	18,28	11,59	63,68	13,71	-2,64	9,50	26,46
6,70	7,01	1,31	0,27	4,06	3,42	-0,46	-0,03
18,24	-1,10	1,06	18,15	10,42	-0,19	14,26	60,91
138,56	91,08	159,30	133,05	109,29	66,21	84,79	70,72
8,52	3,99	6,23	5,58	2,73	1,63	1,32	1,24
27,06	0,96	43,86	2,43	24,92	12,47	65,52	5,83
96,70	12,96	22,06	31,88	102,48	29,70	12,83	16,46
1,33	1,62	0,83	0,51	3,30	7,66	3,20	1,47
1,33	11,06	-0,46	2,62	1,10	15,59	2,60	4,13
1,95	7,46	2,62	9,52	0,59	1,01	3,86	-0,01
4,12	-0,67	7,47	0,45	4,45	2,29	6,72	0,60
16,28	7,63	5,89	7,05	25,20	8,75	5,43	5,95
6,03	2,09	3,40	3,73	13,98	6,15	5,95	3,78
5,87	3,75	1,03	0,01	2,62	8,66	3,32	4,83
36,14	51,37	70,06	91,82	33,77	43,71	50,70	71,29
54,90	175,71	48,37	80,29	24,36	108,42	35,16	68,82
28,44	18,94	14,07	48,47	15,70	12,00	10,21	25,54
7,50	15,42	25,41	8,61	6,14	4,83	23,54	12,33
5,86	67,98	11,12	66,45	5,55	50,17	13,96	53,74
44,64	39,64	-8,14	22,88	36,30	16,98	-8,60	7,96
18,46	8,08	12,77	14,06	19,82	11,25	14,69	7,25
0,47	2,56	0,62	5,01	14,25	7,87	18,78	9,15
90,26	233,51	65,81	124,09	70,13	140,58	46,79	96,99

TABELLA 3.10 – Valori medi nelle varie condizioni di tutti i soggetti (i primi 15 sono soggetti sperimentali, i restanti 15 sono controlli) per l'IPL

SPL							
emisf sx				emisf dx			
pre		post		pre		post	
s	ns	s	ns	s	ns	s	ns
-5,10	5,76	10,85	25,43	-5,53	5,67	11,69	31,81
72,13	22,47	205,50	82,51	78,94	21,24	216,66	79,17
20,44	10,64	147,09	52,45	21,87	14,05	158,31	57,58
5,66	19,12	36,59	24,37	4,82	21,71	36,68	26,51
7,70	10,78	14,02	17,46	5,67	15,36	10,47	17,70
90,27	60,53	83,53	86,79	98,69	71,78	78,06	90,40
70,58	133,65	59,95	144,48	52,88	107,44	38,24	147,49
13,73	21,29	19,02	75,54	17,07	2,86	19,53	50,99
5,54	7,54	0,79	0,77	5,01	5,15	-0,20	1,39
24,76	0,75	5,68	24,05	21,63	1,33	12,77	48,35
161,84	127,09	163,47	145,33	146,40	109,81	124,51	113,79
7,76	8,77	5,93	21,19	5,42	6,11	3,01	9,45
25,04	4,98	47,10	8,51	21,94	9,11	64,26	7,29
168,16	7,24	36,88	44,61	167,30	15,48	27,01	26,78
0,51	0,98	1,06	1,70	2,51	7,25	3,72	3,40
0,86	13,62	-0,43	0,92	2,94	26,19	1,93	1,84
6,79	4,33	2,55	4,41	11,89	0,95	7,50	1,15
3,78	-0,25	8,16	-0,27	4,11	1,14	8,54	-0,21
20,01	9,08	11,19	7,68	27,94	10,89	12,68	8,12
10,61	6,36	8,89	5,98	15,75	9,99	10,88	6,03
10,11	3,11	3,63	0,36	6,82	5,43	6,22	2,83
45,41	66,64	91,49	111,84	48,67	66,88	84,53	105,18
52,94	160,55	58,54	94,55	39,03	152,19	48,06	94,60
29,53	17,96	24,86	74,41	21,71	15,32	21,91	63,45
9,55	56,55	19,42	76,78	6,75	39,43	17,15	51,10
11,24	86,26	21,92	81,36	9,89	81,14	22,99	80,41
46,58	56,37	-8,38	32,29	46,45	35,66	-10,50	24,41
20,06	9,42	20,50	13,43	21,09	10,49	22,04	9,25
-0,77	7,38	2,62	12,18	8,05	9,70	13,44	13,44
84,52	230,05	56,31	125,26	85,63	183,79	59,41	123,63

TABELLA 3.11 – Valori medi nelle varie condizioni di tutti i soggetti (i primi 15 sono soggetti sperimentali, i restanti 15 sono controlli) per l'SPL

PRECUNEUS							
emisf sx				emisf dx			
pre		post		pre		post	
s	ns	s	ns	s	ns	s	ns
-3,09	2,37	7,62	16,41	-3,02	2,52	7,59	17,64
55,17	17,54	141,88	53,65	57,37	18,09	143,62	53,38
21,71	11,97	101,35	32,97	20,64	12,50	101,99	35,54
3,60	11,77	23,76	16,09	3,47	12,45	23,75	16,36
5,54	6,37	9,16	9,24	5,16	6,79	8,45	8,68
68,41	49,02	53,01	61,72	68,33	50,19	49,79	58,97
46,13	95,36	37,35	107,35	40,81	86,67	32,51	101,56
6,80	8,95	14,50	41,02	6,88	5,57	16,12	36,53
2,81	4,33	0,29	1,09	2,55	3,85	-0,05	1,07
15,08	0,46	3,99	12,36	13,86	0,91	5,89	16,19
86,79	74,64	84,58	83,94	79,00	70,26	74,43	76,55
6,16	6,54	2,68	8,51	5,83	6,32	2,22	7,89
8,85	2,11	21,00	3,56	7,68	3,13	22,95	3,35
98,98	10,13	18,12	19,32	92,92	10,22	16,65	15,64
0,76	0,47	1,66	1,29	1,31	2,37	2,26	1,61
0,87	11,54	0,36	0,62	1,02	11,93	0,55	0,45
4,61	2,71	1,68	6,18	4,84	1,84	2,17	4,85
3,06	-0,11	7,80	-0,40	3,26	0,02	8,07	-0,47
15,00	5,73	8,00	4,04	15,83	5,82	8,89	3,41
5,97	6,10	4,80	3,82	6,63	6,98	5,09	3,75
5,64	0,96	3,77	0,12	5,42	1,26	5,39	0,59
31,36	43,72	59,97	65,96	31,65	42,98	57,67	61,92
37,42	130,29	33,31	62,04	33,99	121,76	30,35	59,50
24,13	12,09	20,32	42,37	24,06	11,25	20,68	38,97
3,95	23,29	8,22	27,33	2,74	21,67	6,28	25,94
6,85	57,17	16,31	55,26	7,52	53,58	16,64	52,47
31,03	30,36	-5,29	22,53	29,76	27,51	-5,00	22,62
9,20	3,99	8,98	8,93	8,75	3,85	9,64	8,40
-0,43	5,83	0,84	5,55	1,68	7,04	2,97	5,41
56,11	144,13	39,49	92,57	51,57	125,89	36,21	83,90

TABELLA 3.12 – Valori medi nelle varie condizioni di tutti i soggetti (i primi 15 sono soggetti sperimentali, i restanti 15 sono controlli) per il Precuneus

CUNEUS							
emisf sx				emisf dx			
pre		post		pre		post	
s	ns	s	ns	s	ns	s	ns
-0,23	-0,30	2,91	7,36	-0,09	-0,02	3,38	8,18
32,86	11,54	66,19	19,05	32,62	11,88	68,71	21,30
31,43	19,71	38,00	15,42	25,97	15,76	38,63	15,32
1,03	4,11	5,38	3,85	1,47	4,09	5,96	4,26
2,84	1,13	5,23	0,70	3,06	1,29	5,78	0,86
20,93	24,26	18,04	26,38	18,31	20,09	19,33	27,38
27,27	75,08	21,30	69,91	26,01	72,52	21,11	65,68
1,32	6,41	11,33	22,52	1,10	6,96	11,92	23,07
2,07	3,98	1,04	1,67	1,61	3,73	0,76	1,41
4,95	-0,66	1,52	0,74	4,53	-0,50	2,77	2,60
21,44	17,12	29,28	25,02	22,49	21,51	27,79	27,73
7,01	6,52	5,73	5,24	6,55	7,25	4,78	6,10
1,22	1,62	3,93	1,40	1,05	2,04	3,43	2,08
7,86	15,47	9,39	10,06	10,80	15,41	9,63	11,10
2,45	0,70	2,86	1,37	2,00	0,39	2,23	0,73
0,38	2,99	0,14	0,53	0,59	1,73	0,15	0,43
2,52	4,62	2,14	13,32	2,01	4,00	1,86	11,84
2,34	0,01	8,61	-0,03	2,53	0,02	8,52	-0,03
7,83	3,63	3,99	1,07	7,25	3,20	4,48	0,45
0,58	2,18	0,09	1,11	1,01	1,97	0,31	1,26
4,10	0,09	3,68	0,32	4,13	0,13	4,14	0,33
18,89	21,60	28,37	28,93	17,83	20,67	29,68	28,80
19,70	80,81	13,92	30,64	19,00	71,16	15,64	31,00
22,09	7,11	17,22	13,79	23,99	6,95	17,48	13,67
-0,22	3,94	2,73	3,29	-0,14	5,39	2,39	5,22
2,85	17,57	5,09	18,74	2,82	18,67	6,07	18,54
21,64	15,11	1,92	13,46	19,51	16,58	1,83	14,71
1,56	0,46	0,29	10,31	2,05	0,64	0,45	10,69
0,16	6,18	-0,52	2,44	0,45	7,53	-0,14	4,03
31,03	48,79	24,69	34,92	25,15	49,26	16,29	32,29

TABELLA 3.13 – Valori medi nelle varie condizioni di tutti i soggetti (i primi 15 sono soggetti sperimentali, i restanti 15 sono controlli) per il Cuneus

- nel compito di movimento, invece, nell'*Inferior Parietal Lobule* (IPL) si nota una interazione significativa tempo*gruppo ($p = 0.0379$) (Tabella 3.14), che se sviluppata, mostra un aumento di attività significativo solo per il gruppo sperimentale ($p = 0,0519$) ma non per quello di controllo ($p = 0,3881$) (Tabella 3.18). Un trend simile lo mostrano anche il *Superior Parietal Lobule* (SPL, $p = 0,0966$), il *Precuneus* ($p = 0,0971$) e il *Cuneus* ($p = 0,0752$) (Tabelle 3.15, 3.16, 3.17), senza tuttavia raggiungere la significatività.

Repeated Measures Analysis of Variance (Spreadsheet1)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	200409,4	1	200409,4	24,96368	0,000028
"Var9"	3199,0	1	3199,0	0,39847	0,532998
Error	224785,1	28	8028,0		
EMISF	2530,3	1	2530,3	5,52132	0,026068
EMISF*"Var9"	0,3	1	0,3	0,00075	0,978319
Error	12831,7	28	458,3		
TIME	702,9	1	702,9	0,70309	0,408849
TIME*"Var9"	4749,6	1	4749,6	4,75072	0,037855
Error	27993,3	28	999,8		
COND	800,6	1	800,6	0,46848	0,499314
COND*"Var9"	6649,3	1	6649,3	3,89088	0,058498
Error	47850,4	28	1708,9		
EMISF*TIME	8,2	1	8,2	0,07071	0,792255
EMISF*TIME*"Var9"	143,3	1	143,3	1,23807	0,275306
Error	3240,5	28	115,7		
EMISF*COND	178,3	1	178,3	2,99142	0,094718
EMISF*COND*"Var9"	328,3	1	328,3	5,50781	0,026235
Error	1669,1	28	59,6		
TIME*COND	9,9	1	9,9	0,01782	0,894769
TIME*COND*"Var9"	358,4	1	358,4	0,64734	0,427844
Error	15504,3	28	553,7		
EMISF*TIME*COND	20,2	1	20,2	0,45128	0,507233
EMISF*TIME*COND*"Var9"	23,2	1	23,2	0,51810	0,477620
Error	1255,7	28	44,8		

TABELLA 3.14 – ANOVA test per l'IPL

Repeated Measures Analysis of Variance (Spreadsheet1)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	355594,5	1	355594,5	29,41434	0,000009
"Var9"	7260,0	1	7260,0	0,60054	0,444868
Error	338496,3	28	12089,2		
EMISF	261,7	1	261,7	2,32521	0,138510
EMISF**"Var9"	0,1	1	0,1	0,00069	0,979157
Error	3151,0	28	112,5		
TIME	2219,5	1	2219,5	1,19062	0,284505
TIME**"Var9"	5510,1	1	5510,1	2,95582	0,096607
Error	52196,2	28	1864,1		
COND	1572,9	1	1572,9	0,55407	0,462861
COND**"Var9"	14720,0	1	14720,0	5,18542	0,030616
Error	79484,3	28	2838,7		
EMISF*TIME	0,0	1	0,0	0,00038	0,984513
EMISF*TIME**"Var9"	9,0	1	9,0	0,23333	0,632819
Error	1078,4	28	38,5		
EMISF*COND	104,6	1	104,6	2,77193	0,107083
EMISF*COND**"Var9"	72,6	1	72,6	1,92451	0,176304
Error	1056,3	28	37,7		
TIME*COND	154,2	1	154,2	0,14254	0,708611
TIME*COND**"Var9"	580,2	1	580,2	0,53630	0,470057
Error	30289,9	28	1081,8		
EMISF*TIME*COND	0,9	1	0,9	0,03929	0,844317
EMISF*TIME*COND**"Var9"	3,7	1	3,7	0,16062	0,691626
Error	645,7	28	23,1		

TABELLA 3.15 – ANOVA test per l'SPL

Repeated Measures Analysis of Variance (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	146840,1	1	146840,1	26,97640	0,000016
"Var9"	2677,1	1	2677,1	0,49181	0,488908
Error	152411,8	28	5443,3		
EMISF	70,4	1	70,4	5,48650	0,026502
EMISF**"Var9"	0,2	1	0,2	0,01675	0,897941
Error	359,4	28	12,8		
TIME	444,0	1	444,0	0,58893	0,449258
TIME**"Var9"	2221,3	1	2221,3	2,94658	0,097104
Error	21107,7	28	753,8		
COND	920,0	1	920,0	0,69720	0,410794
COND**"Var9"	5552,9	1	5552,9	4,20806	0,049693
Error	36948,4	28	1319,6		
EMISF*TIME	0,7	1	0,7	0,42816	0,518233
EMISF*TIME**"Var9"	0,5	1	0,5	0,32504	0,573143
Error	46,9	28	1,7		
EMISF*COND	8,3	1	8,3	3,48636	0,072379
EMISF*COND**"Var9"	13,3	1	13,3	5,57027	0,025469
Error	66,9	28	2,4		
TIME*COND	1,6	1	1,6	0,00397	0,950201
TIME*COND**"Var9"	213,1	1	213,1	0,52165	0,476130
Error	11435,9	28	408,4		
EMISF*TIME*COND	0,4	1	0,4	0,38779	0,538502
EMISF*TIME*COND**"Var9"	1,9	1	1,9	2,05834	0,162451
Error	26,4	28	0,9		

TABELLA 3.16 – ANOVA test per il Precuneus

Repeated Measures Analysis of Variance (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	33183,90	1	33183,90	24,91994	0,000028
"Var9"	410,01	1	410,01	0,30791	0,583374
Error	37285,37	28	1331,62		
EMISF	1,25	1	1,25	0,44035	0,512378
EMISF**"Var9"	1,25	1	1,25	0,43883	0,513105
Error	79,63	28	2,84		
TIME	18,50	1	18,50	0,16323	0,689267
TIME**"Var9"	387,10	1	387,10	3,41500	0,075196
Error	3173,87	28	113,35		
COND	403,72	1	403,72	1,02044	0,321064
COND**"Var9"	274,34	1	274,34	0,69343	0,412046
Error	11077,65	28	395,63		
EMISF*TIME	4,84	1	4,84	2,71965	0,110296
EMISF*TIME**"Var9"	0,48	1	0,48	0,27019	0,607292
Error	49,87	28	1,78		
EMISF*COND	0,37	1	0,37	0,19866	0,659230
EMISF*COND**"Var9"	0,02	1	0,02	0,00964	0,922484
Error	51,93	28	1,85		
TIME*COND	43,13	1	43,13	0,72385	0,402102
TIME*COND**"Var9"	4,32	1	4,32	0,07244	0,789785
Error	1668,20	28	59,58		
EMISF*TIME*COND	0,06	1	0,06	0,12427	0,727084
EMISF*TIME*COND**"Var9"	0,04	1	0,04	0,08378	0,774378
Error	13,85	28	0,49		

TABELLA 3.17 – ANOVA test per il Cuneus

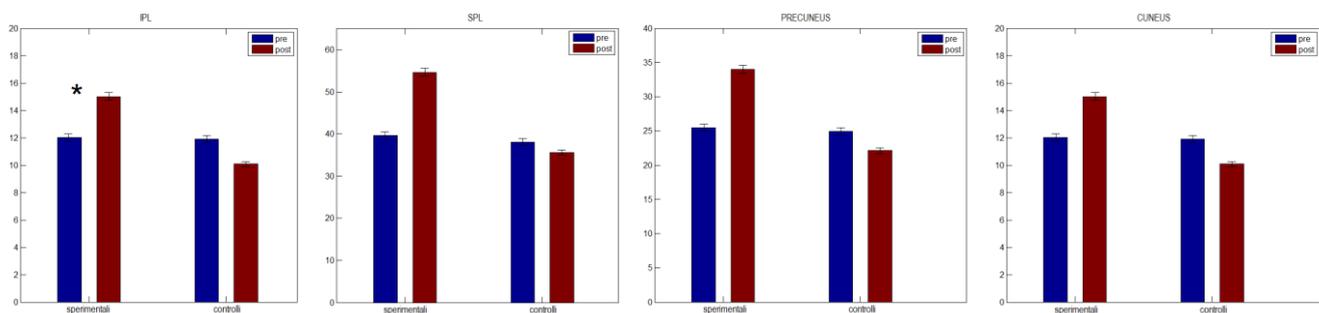


FIGURA 3.14 – Significatività ANOVA e Post Hoc per il compito di movimento delle strutture IPL, SPL, Precuneus e Cuneus

Duncan test; variable DV_1 (Spreadsheet1)						
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests						
Error: Between; Within; Pooled MSE = 1128,5, df = 34,867						
Cell No.	Var9	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}
			26,388	38,708	27,983	22,509
1	1	1		0,051922	0,897372	0,753842
2	1	2	0,051922		0,388094	0,237377
3	2	1	0,897372	0,388094		0,379497
4	2	2	0,753842	0,237377	0,379497	

TABELLA 3.18 – Risultati del Duncan test per la struttura IPL

Della ROI 7, quindi, la struttura che mostra un comportamento maggiormente diverso in conseguenza al *training* audio-visivo solo se effettuato con stimoli contemporanei e spazialmente coincidenti, è l'IPL. L'andamento della *Grand Average* della potenza nell'IPL per le quattro condizioni di movimento è mostrata in figura 3.15.

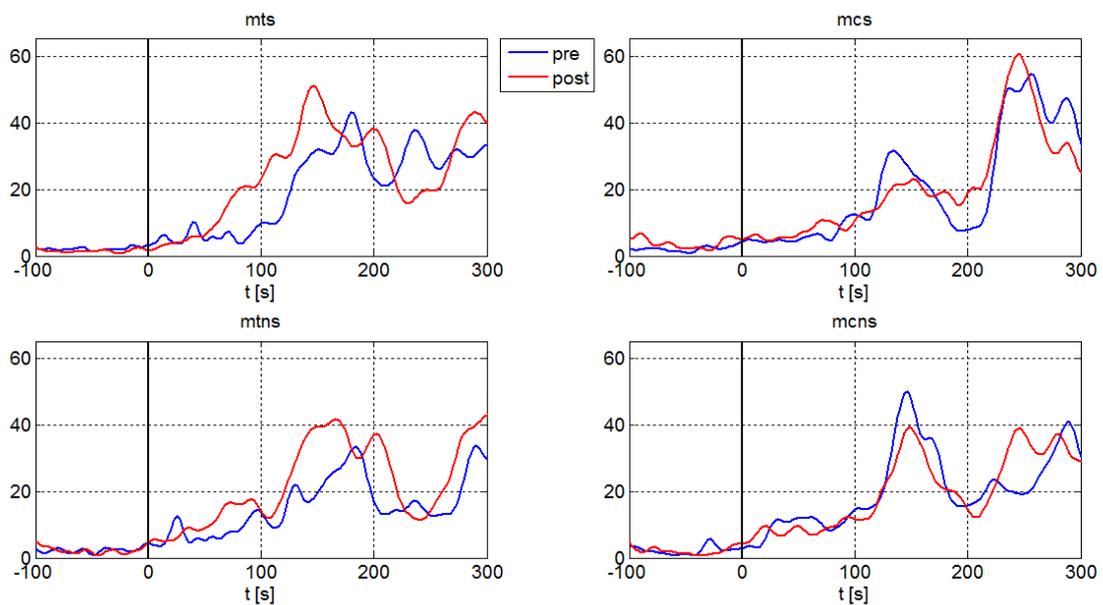


FIGURA 3.15 – IPL nelle diverse condizioni del compito di movimento

I risultati ottenuti verranno discussi nel dettaglio nel capitolo che segue.

capitolo 4

DISCUSSIONE

Obiettivo dell'esperimento che ha fornito i dati analizzati in questo lavoro è ottenere possibili evidenze sperimentali a sostegno dell'ipotesi che la struttura rafforzata dall'addestramento audio-visivo (spazialmente e temporalmente coincidente) sia effettivamente il collicolo superiore. Poiché il collicolo è una struttura sottocorticale, situata in profondità (nel mesencefalo), la stima diretta della sua attivazione non è possibile attraverso gli algoritmi oggi disponibili per la ricostruzione dell'attività corticale a partire da potenziali elettrici sullo scalpo. Tuttavia, un rafforzamento della risposta collicolare nonché delle vie sinaptiche tra collicolo e corteccia può essere evidenziata dalla stima dell'attività di quelle aree corticali che sono appunto in comunicazione con il collicolo. In particolare, è noto che alcune di queste aree sono parietali, situate in posizione dorsale (si veda capitolo 1 figura 1.4), e, oltre ad essere coinvolte in funzioni più generali di allocazione dell'attenzione spaziale, fanno parte specificamente di percorsi cerebrali dedicati al riconoscimento del movimento (per maggiori dettagli si faccia riferimento al capitolo 1 e al paragrafo 2.1). Pertanto, oltre al *training multisensoriale*, sono stati utilizzati due diversi *task* di discriminazione visiva, uno che richiede l'individuazione della direzione di movimento di un set di punti, che dovrebbe coinvolgere maggiormente il collicolo (particolarmente responsivo a stimoli visivi in movimento) e la sua comunicazione con aree delle regioni dorsali nel lobo parietale; l'altro, di determinazione dell'orientamento di una griglia, che dovrebbe stimolare le aree della via ventrale e coinvolgere in misura minore il collicolo e il circuito di comunicazione collicolo-parietale.

I segnali elettroencefalografici raccolti durante le sessioni di discriminazione visiva sono stati elaborati al fine di ottenere delle informazioni riguardanti l'attivazione delle aree cerebrali nell'intervallo temporale in cui si presenta la N100 (140÷180 ms post-stimolo), la componente dell'ERP di interesse in questo studio, in particolare per capire in che aree l'attività è maggiore e se

presenta delle differenze statisticamente significative dopo il *training*. Dapprima si sono calcolati gli ERP sullo scalpo, dai segnali misurati dagli elettrodi, concentrandosi sui 4 elettrodi fronto-centrali (FC_z, C_z, FC₁, FC₂) di cui è stata fatta la media ottenendo un ERP, detto ERP Centrale. Si è provveduto quindi a confrontare il valore medio di tale ERP Centrale nell'intervallo 140÷180 ms con un *paired t-test*. Il test effettuato ha fatto emergere una differenza significativa tra le sessioni pre e post-allenamento solo per il compito di discriminazione di movimento per i soggetti sperimentali, ovvero quelli che hanno ricevuto una stimolazione multisensoriale audio-visiva con stimoli coincidenti spazialmente e temporalmente; tale differenza emerge solo nella condizione in cui gli stimoli visivi sono stati presentati nello stesso emicampo utilizzato per il *training* (condizione "mts"). Per maggiore chiarezza i risultati, già mostrati nel capitolo 3, figura 3.5, sono riportati qui in figura 4.1.

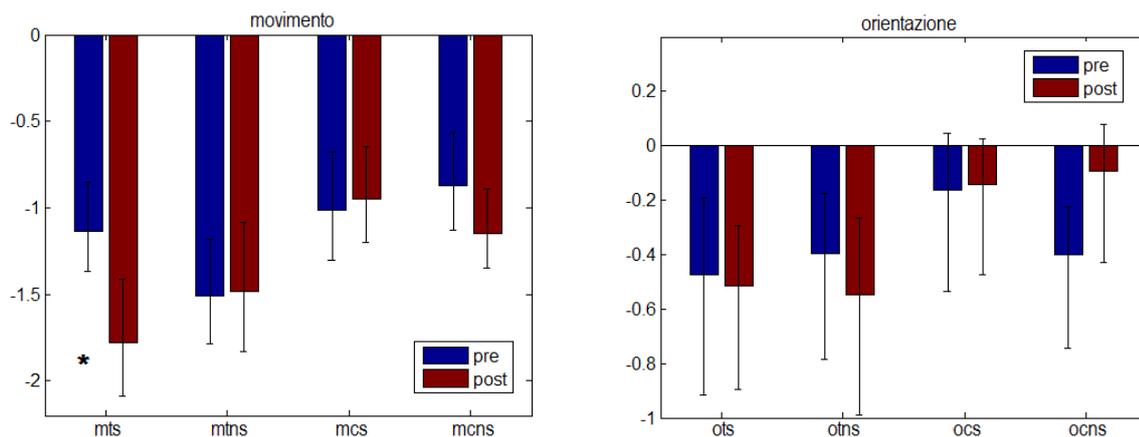


FIGURA 4.1 – Valore medio dell'ERP Centrale (mediato sui soggetti) per i compiti di movimento (sinistra) e orientazione (destra) e risultati del t-test

Questo primo risultato rappresenta un supporto all'ipotesi formulata che prevede il collicolo superiore come principale struttura rafforzata dal *training* multisensoriale, essendo proprio il collicolo coinvolto prevalentemente nell'elaborazione di stimoli visivi in movimento (set di punti) piuttosto che di immagini statiche, come la griglia di Gabor utilizzata per il compito sull'orientamento. Anche il fatto che la significatività si abbia solo per i soggetti sperimentali è un risultato in accordo con l'ipotesi. Infatti la coincidenza spazio-temporale degli stimoli è un requisito fondamentale per ottenere nelle regioni

multisensoriali (quindi anche nel collicolo) attivate durante il *training* gli effetti positivi dell'utilizzo di una combinazione di segnali (in particolare il *multisensory enhancement*, descritto nel paragrafo 1.1), che potrebbe consentire un'attivazione sufficiente ad innescare meccanismi di plasticità sinaptica. Infine, il fatto che le informazioni visive vengano elaborate dall'emisfero controlaterale all'emicampo di presentazione, giustifica la specificità del risultato del test, limitata al solo caso in cui lo stimolo visivo per il *task* di discriminazione viene presentato nello stesso lato utilizzato per il *training*. Già a livello di scalpo, quindi, si possono misurare differenze dovute al *training* che concordano con l'ipotesi che la struttura che si potenzia sia una regione multisensoriale coinvolta principalmente nell'elaborazione del movimento.

Il passaggio successivo è stata la ricostruzione delle sorgenti corticali che originano i segnali registrabili sullo scalpo, ricostruzione effettuata in 6239 voxel poi raggruppati nelle 84 ROI (42 per emisfero) coincidenti con le Aree di Brodmann. Ciò che è subito emerso è stata la maggiore attivazione (espressa come potenza) delle ROI 5, 7, 10 e 11 durante l'intero esperimento, ma in particolar modo nell'intervallo corrispondente alla N100 dell'ERP. Il fatto che nei due compiti le aree più attive siano le stesse potrebbe sembrare una contraddizione con quanto riportato nel capitolo 1 (paragrafo 1.4) e all'inizio del presente capitolo, ovvero che i due compiti coinvolgono vie diverse. In realtà è importante osservare che l'intervallo 140÷180 ms è già successivo alla fase iniziale (di più basso livello) di elaborazione dello stimolo, che presumibilmente segue due percorsi differenti (*what* per l'orientamento, cioè da V1, V2, V3 verso V4, e *where* per il movimento, cioè da V1, V2, V3 verso V5/MT); tale intervallo corrisponde invece a un *processing* di più alto livello, comune a entrambi i compiti, in cui l'informazione raggiunge il livello più consapevole e il soggetto deve volgere l'attenzione verso lo stimolo, posto lateralmente rispetto il punto di fissazione centrale **X**, e prendere una decisione circa la direzione di movimento del set di punti piuttosto che l'orientamento della griglia, e quindi pianificare la risposta da dare. Inoltre è da sottolineare che, benché queste aree siano notevolmente più attive delle altre in tutte le condizioni sperimentali esaminate, l'andamento della loro potenza differisce per il compito di movimento rispetto all'orientamento.

L'attivazione nelle ROI 10 e 11 è giustificata proprio dal fatto che il soggetto deve eseguire un compito di discriminazione e quindi prendere una decisione, azioni che attivano circuiti neurali posti nelle regioni cognitive frontali corrispondenti a queste Aree di Brodmann (figura 4.2).^[42]

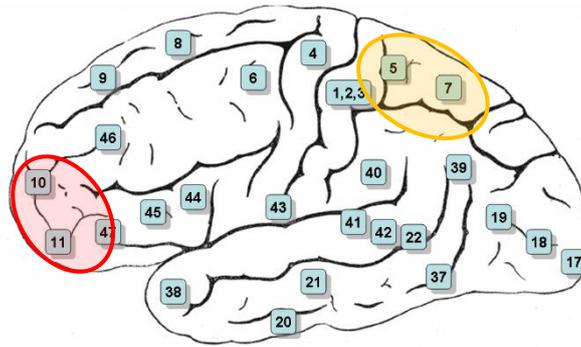


FIGURA 4.2 – Aree di Brodmann 10 e 11 (in rosso), Aree di Brodmann 5 e 7 (in giallo).

Le ROI e Aree di Brodmann 5 e 7 (figura 4.2), invece, fanno parte di un circuito attentivo visuo-spaziale e vengono coinvolte quando viene richiesto uno *shift* dell'attenzione verso lo stimolo, come accade sia nel *training*, in cui gli stimoli congiunti provengono da diverse angolazioni del campo visivo ma non dal punto centrale, sia durante i *task* di discriminazione, in cui le immagini vengono presentate lateralmente, a 15° a destra o sinistra rispetto alla **X** centrale.

L'ANOVA a più vie eseguita sui segnali corrispondenti all'attività delle ROI ha mostrato un effetto significativo del tempo ("pre vs post" *training*) nelle ROI 10 e 11 per il solo compito di orientazione, in tutti i soggetti ("t" e "c") e in tutte le condizioni di stimolazione ("s" e "ns"), come già mostrato nel capitolo precedente (figura 3.8) e riportato nuovamente qui per chiarezza in figura 4.3. Poiché il test non ha individuato un effetto significativo del fattore gruppo, ovvero non ha evidenziato differenze dovute al tipo di *training* eseguito, una possibile spiegazione del risultato in queste regioni può essere trovata con riferimento a due effetti, che non sono però dipendenti dall'addestramento: uno potrebbe essere un *practice effect*, ovvero il soggetto, ripetendo l'esercizio di discriminazione nella sessione post, risulta in parte "allenato" a riconoscere le figure già presentate nella sessione pre svolta il giorno precedente, prima del

training; un'altra spiegazione può essere legata al fatto che la griglia di Gabor rappresenta uno stimolo più complesso, che richiede maggiore attenzione per determinarne l'orientamento, e che potrebbe quindi sottoporre le aree frontali a uno sforzo maggiore rispetto al compito di movimento. Tale fatica, *effort*, viene amplificata se si considera che prima di svolgere la seconda sessione di discriminazione, i soggetti devono eseguire due ore di *training* in cui è richiesto di individuare e segnalare la presenza dello stimolo visivo, compito che coinvolge nuovamente le ROI 10 e 11.

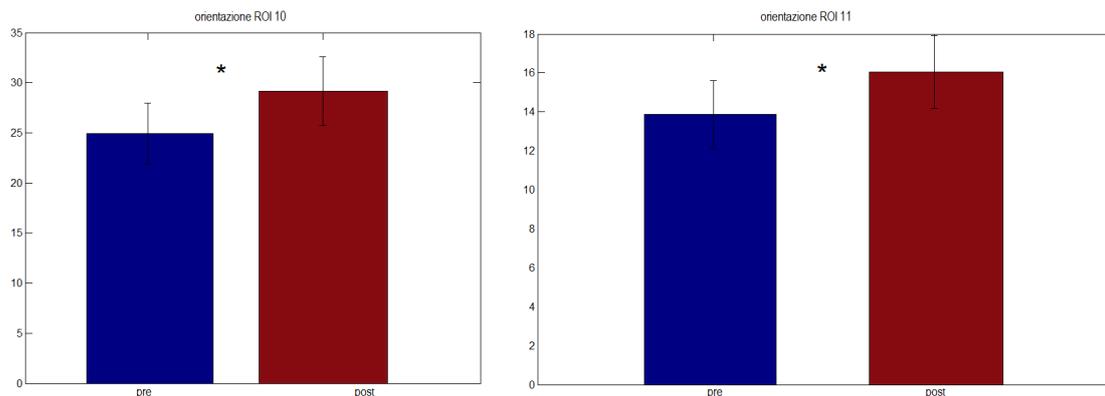


FIGURA 4.3 – Risultati dell’ANOVA per il compito di orientazione per le ROI 10 e 11 per le quali si evidenzia una differenza significativa rispetto al fattore tempo (“pre vs post”)

Il risultato del test effettuato sullo scalpo per il compito di orientazione, che non evidenzia differenze statisticamente significative per effetto del *training*, viene quindi riprodotto anche a livello di sorgenti corticali, a riprova del fatto che l’effetto del *training* sull’area multisensoriale non è visibile in un *task* che utilizza immagini statiche. Le differenze riscontrate nelle aree 10 e 11 non sono imputabili al *training* poiché la significatività risultante dall’ANOVA riguarda esclusivamente il fattore tempo (includendo sia i soggetti sperimentali che quelli di controllo) e non l’interazione tra i fattori tempo e gruppo (“t” e “c”), che invece considera sia l’effetto dei due diversi allenamenti (stimoli spazialmente coincidenti, per i soggetti “t”, o spazialmente disparati, per i soggetti “c”) sia l’effetto del *training* (“pre” e “post”).

L’analisi eseguita sulle stesse ROI ma con riferimento al compito di movimento mostra una interazione quasi significativa tempo*gruppo nella ROI 7 che, se sviluppata con un test Post-Hoc dimostra un aumento dell’attivazione dopo

l'allenamento vicino alla significatività per i soggetti sperimentali, ma non per il gruppo di controllo (risultati in figura 4.4).

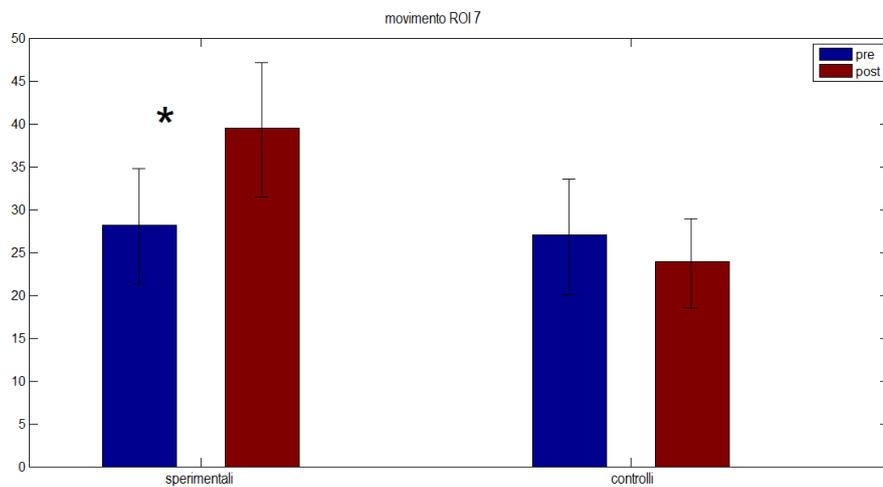


Figura 4.4 – Risultati del test Post-Hoc per il compito di movimento nella ROI 7

Questo risultato tende a supportare l'ipotesi alla base dell'esperimento poiché, come già spiegato per il t-test sugli ERP sullo scalpo, solo con la *training* svolto dai soggetti sperimentali, ovvero con stimoli audio-visivi spazialmente coincidenti, è presumibile che l'area multisensoriale si attivi sufficientemente da favorire il rafforzamento delle sue sinapsi e che quindi si possa osservare un aumento della risposta in questa regione e nelle regioni in comunicazione con essa nella sessione successiva al *training*. A livello della corteccia, però, sparisce la lateralizzazione dell'effetto, ovvero sia quando lo stimolo visivo viene presentato nello stesso emicampo utilizzato per l'addestramento sia quando è controlaterale, si ha una attivazione significativamente differente; è presumibile quindi che venga rafforzata una via di comunicazione tra più aree che coinvolge la ROI 7 in entrambi gli emisferi.

Poiché l'Area di Brodmann 7 è ampia e contiene diverse sottostrutture, per comprendere meglio quali strutture al suo interno si comportano diversamente in seguito al *training* si è provveduto a ricostruire il segnale proveniente da ognuna di queste (*Inferior Parietal Lobule* (IPL), *Superior Parietal Lobule* (SPL), *Precuneus*, *Cuneus*, *Postcentral Gyrus*, *Sub-Gyral* e *Paracentral Lobule*). Successivamente si è eseguita un'ANOVA a più vie, con lo stesso disegno delle

precedenti, che ha individuato una interazione tempo*gruppo significativa nell'IPL e vicina alla significatività in SPL, *Precuneus* e *Cuneus*. Sviluppando con un test Post-Hoc l'interazione significativa dell'IPL è riemerso il comportamento già trovato per l'intera ROI 7, ovvero un aumento dell'attivazione nel solo gruppo sperimentale dopo l'allenamento (figura 4.5).

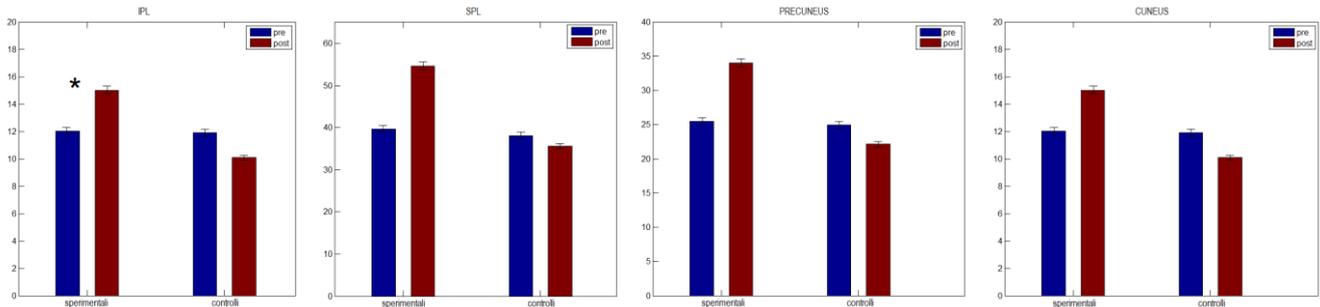


FIGURA 4.5 - Risultati del test Post-Hoc per il compito di movimento nelle strutture (quasi) significative della ROI 7 (IPL, SPL, *Precuneus*, *Cuneus*)

Può valere la pena commentare in particolare l'attivazione del Lobulo Parietale Inferiore per la molteplicità di funzioni, non ancora tutte ben definite, in cui è coinvolta tale struttura. In alcuni studi è stato scoperto che l'IPL contiene delle regioni che rispondono a stimoli di movimento complessi in cui la caratteristica che dà l'idea del moto è la salienza, ovvero quanto l'oggetto si fa notare, spicca, rispetto al resto della figura (ad es. un papavero in un campo verde). Questo tipo di stimoli di movimento non sono interpretabili in modo esaustivo dalle aree visive primarie, che si occupano preferibilmente di stimoli visivi di primo ordine (immagini in cui il moto viene reso variando nel tempo la luminanza, ovvero il rapporto tra l'intensità luminosa, la luce, emessa dall'oggetto e la superficie emittente dell'oggetto stesso che l'osservatore può vedere) o di secondo ordine (immagini in cui l'idea di movimento deriva dalla modulazione nel tempo di una caratteristica diversa dalla luminanza).^{[28][38][39][40]} Secondo alcuni modelli (Rizzolati e Mattelli, Corbetta e Shulman), l'IPL è situata nella componente della via dorsale che si occupa di individuare eventi salienti, significativi a livello comportamentale, che accadono nell'ambiente, come pure stimoli improvvisi, ad esempio il flash utilizzato durante il *training* o le immagini di movimento e orientazione. Questo avviene anche quando non è richiesta l'individuazione spaziale dello stimolo, ovvero si è in una condizione di occhi fissi, come nelle

sessioni di discriminazione. Il ruolo importante che questa struttura ricopre nella riconfigurazione dei processi cerebrali, che avviene quando nell'esperimento vengono presentati alternativamente due *task* diversi, ^[29] aiuta a comprendere meglio l'elevata attività della ROI 7 in tutti i casi analizzati ("ms", "mns", "os", "ons"), unitamente al fatto che nel "semplice" processo di elaborazione visiva, le informazioni portate dalla via ventrale e da quella dorsale vengono molto probabilmente integrate proprio nell'IPL. ^[29]

Il risultato statistico relativo alle sottostrutture della ROI 7 sembra supportare l'ipotesi che il *training* rinforzi una struttura multisensoriale attiva principalmente in *task* di discriminazione di movimento, in particolare, dato che la struttura che presenta le differenze maggiormente significative è il Lobulo Parietale Inferiore, è verosimile che l'area multimodale stimolata in questione sia il collicolo superiore. Numerosi studi, infatti, riportano l'esistenza di interazioni disinaptiche tra collicolo superiore e IPL: dagli strati superficiali del collicolo, in cui sono presenti neuroni visivi con disposizione retinotopica, partono le proiezioni verso l'IPL mentre negli strati intermedi arrivano i segnali provenienti da tale struttura.^{[25][27]} Inoltre, sia il collicolo che il Lobulo Parietale Inferiore sono strutture che rispondono maggiormente in presenza di movimento reale, apparente o percepibile ^{[28][41]}, entrambe coinvolte nei compiti che richiedono attenzione spaziale, controllo oculomotorio e integrazione multisensoriale^[25], attive quindi durante il *training* eseguito in questo esperimento sia per la loro natura multimodale, sia perché era richiesto lo spostamento dell'attenzione e dello sguardo verso lo stimolo. Va anche ricordato che l'IPL riceve afferenze dall'area V5/MT attraverso strutture intermedie (MST, PIC)^[38], e le informazioni che da questa riceve riguardano stimoli in moto, quindi l'amplificazione sarà visibile dopo il *training* per i segnali derivanti dal compito di discriminazione di movimento piuttosto che di orientazione.

Sulla base dei risultati ottenuti e qui discussi è possibile formulare la conclusione che il *training* audio-visivo con stimoli spazialmente e temporalmente coincidenti rinforzi la via di comunicazione, le sinapsi, tra il collicolo superiore e il Lobulo Parietale Inferiore, e conseguentemente anche i

collegamenti con le aree contigue quali le altre strutture dell'area 7 vicine all'IPL (SPL, *Precuneus* e *Cuneus*).

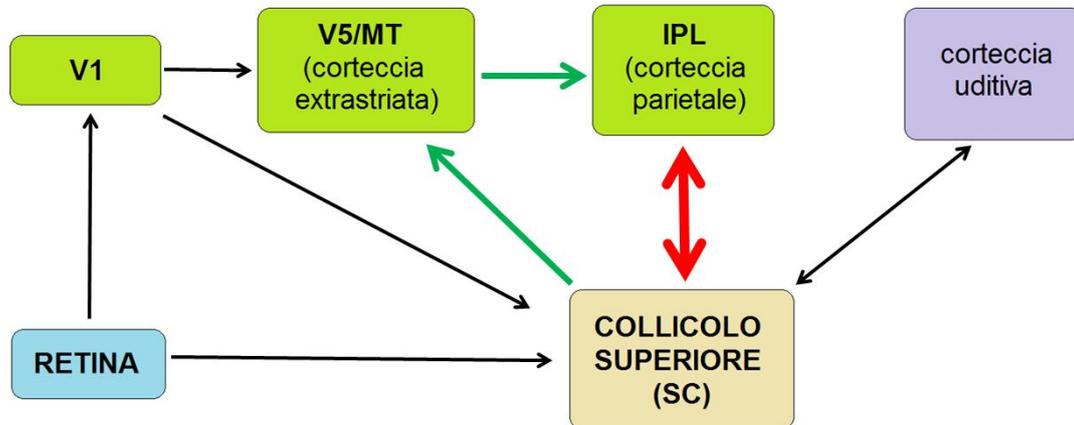


FIGURA 4.6 – Schema dei collegamenti tra le aree coinvolte nel *training* multisensoriale

Facendo riferimento alla figura 4.6, il collegamento disinaptico tra SC e IPL (in rosso) è il principale bersaglio della stimolazione multisensoriale applicata sui soggetti sperimentali, di conseguenza dopo il *training* i segnali prodotti in uscita da tali aree sono superiori (in termini di intensità, ampiezza) rispetto a quelli prodotti in condizioni di base (prima del *training*) poiché a parità di stimolo la risposta viene amplificata grazie alla maggiore forza delle sinapsi, che durante l'allenamento si sono addestrate secondo le regole dell'apprendimento hebbiano.

Secondo questo modello semplificato, quindi, durante il compito di movimento al collicolo superiore arriva l'informazione visiva direttamente dalla retina nonché dalle aree visive primarie e/o extrastriate, la processa e la invia all'IPL e alla V5/MT, che la processa e a sua volta la invia all'IPL (in verde), di cui vediamo l'attivazione nella ROI 7. Come precedentemente detto, il collicolo e il Lobulo Parietale Inferiore vengono sollecitati anche durante il *training* poiché sono aree multisensoriali sensibili sia a stimoli visivi che acustici e operano il reindirizzamento dello sguardo per cercare lo stimolo presentato. Dopo l'allenamento, il segnale in uscita dal collicolo è più forte, viene proiettato in altre aree (in particolare all'IPL) attraverso vie che sono state rinforzate e quindi rispondono amplificando ulteriormente il segnale. Questo processo si riflette in

una maggiore attivazione della ROI 7 dopo l'addestramento per il solo gruppo di soggetti che aveva svolto un *training* con stimoli spazialmente coincidenti. Nel compito di discriminazione di orientazione, invece, il segnale in arrivo dalle aree visive non attiva, o attiva in misura inferiore, il collicolo superiore poiché non contiene informazioni riguardanti il movimento; quindi la via collicolo-IPL, pur essendo comunque più forte dopo l'allenamento, non viene coinvolta durante quello specifico *task*. Da questo potrebbe derivare la mancanza di differenze statisticamente significative sia a livello di scalpo che a livello di ROI 7, che si attiva comunque ma per ragioni indipendenti dal tipo di allenamento praticato.

CONCLUSIONI

Il lavoro sviluppato in questo studio ha riguardato l'analisi di segnali EEG acquisiti su soggetti sani durante *task* visivi di discriminazione di movimento e *task* visivi di discriminazione di orientazione, eseguiti prima ("pre") e dopo ("post") un *training* di stimolazione multisensoriale (audio-visivo). Il *training* multisensoriale a cui ciascun partecipante è stato sottoposto poteva essere costituito o da stimoli spazialmente e temporalmente coincidenti (in tal caso si trattava di un soggetto definito "sperimentale") oppure temporalmente coincidenti ma spazialmente disparati (in tal caso il soggetto rientrava nel gruppo di controllo).

L'analisi svolta è finalizzata ad identificare evidenze a supporto dell'ipotesi che un *training* multisensoriale (audio-visivo) con stimoli sia spazialmente che temporalmente coincidenti potenzi una regione multisensoriale quale il collicolo superiore. Infatti, il collicolo è collocato all'interno di uno dei percorsi neurali che elaborano le informazioni visive, in particolare di movimento, e strettamente connesso con molteplici aree (ad es. V1, V5, ma anche regioni parietali quali l'Area di Brodmann 7 e più nello specifico l'*Inferior Parietal Lobule*); pertanto, qualora l'ipotesi formulata sia fondata, è ragionevole aspettarsi un effetto del *training* solo per il compito di discriminazione di movimento, che coinvolge maggiormente il collicolo superiore, e solo per il *training* audio-visivo congruente, che rispetta cioè i requisiti di coincidenza spaziale e temporale necessari per attivare efficacemente un'area multisensoriale. Inoltre, poiché il collicolo è una struttura sottocorticale profonda, la cui attivazione non partecipa direttamente all'EEG sullo scalpo né è possibile stimarla con metodi di ricostruzione di sorgenti corticali, l'eventuale coinvolgimento del collicolo durante il *training* e il rafforzamento dei circuiti neurali che lo coinvolgono può essere testato solo esaminando l'attivazione di strutture corticali ad esso connesse.

L'analisi è stata eseguita sia a livello di ERP sullo scalpo che a livello di attività di aree corticali di interesse (ROI, corrispondenti alle Aree di Brodmann)

ricostruita mediante tecniche di localizzazione di sorgenti corticali a partire da potenziali di elettrodo.

I risultati ottenuti analizzando la differente risposta specifica del cervello a stimoli visivi statici (*task* di discriminazione di orientazione) e in movimento (*task* di discriminazione di movimento), ossia la componente dell'ERP nota come N100, sembrano supportare l'ipotesi formulata. I test statistici eseguiti dapprima sui segnali ERP dello scalpo, successivamente sui segnali di attività ricostruiti a livello di sorgenti corticali, sia nelle Aree di Brodmann sia nelle sottostrutture che compongono l'area parietale 7, suggeriscono che il *training* sopra descritto rinforza le sinapsi dei neuroni di un'area multisensoriale che processa preferenzialmente stimoli visivi in movimento e che è in comunicazione con la regione IPL dell'area 7. Infatti, solo per il *task* di discriminazione di movimento, confrontando le condizioni pre-post, si verifica una differenza significativa di attivazione nella ROI 7, e più in dettaglio nella sottostruttura IPL, significatività che è specifica per il *training* effettuato con stimoli audio-visivi spazialmente e temporalmente coincidenti.

Ovvero, per i soggetti di controllo, che sono stati sottoposti all'allenamento con stimoli temporalmente coincidenti ma spazialmente disparati, non emerge tale differenza pre-post-*training* a livello di ROI 7 e IPL nel compito di discriminazione di movimento, indicando la necessità di rispettare la regola di congruenza spazio-temporale per innescare un effetto del *training*. Poiché il collicolo è una struttura multisensoriale la cui attivazione è efficacemente prodotta se tale regola viene rispettata, particolarmente responsiva a stimoli visivi in movimento e in diretta comunicazione con l'IPL, tali risultati rendono plausibile l'ipotesi che la struttura multisensoriale interessata dal *training* sia il collicolo superiore.

Nel compito di orientamento non si sono trovate differenze significative tra le sessioni pre e post-*training*, fatta eccezione per le ROI 10 e 11; tuttavia tale significatività si osserva indistintamente per il gruppi sperimentale e controllo. Ciò fa supporre che la differenza sia da imputarsi a un *practice effect* e/o a un *major effort* dovuto al pattern più complesso utilizzato in questo caso. Questo risultato suggerisce che l'area multisensoriale coinvolta dal *training* sia poco attiva in presenza di stimoli statici, supportando ulteriormente l'ipotesi che si

tratti del collicolo superiore, e che quindi non emerga l'effetto del *training* nel compito di orientazione.

L'assunzione che la regione rafforzata sia il collicolo superiore trova conferma in molteplici studi che dimostrano la sua responsività al movimento ma non a stimoli visivi fermi; i suoi collegamenti con aree visive che fanno parte della via del *where*, in particolare con il Lobulo Parietale Inferiore, la struttura che mostra le differenze maggiormente significative in seguito all'allenamento; il ruolo rilevante che ha nel direzionare lo sguardo verso lo stimolo esterno che cattura l'attenzione del soggetto, compito esplicitamente richiesto durante il *training*.

Nonostante l'analisi svolta abbia contribuito a far luce sulle possibili principali strutture coinvolte, ancora molto si può fare per indagare più a fondo le tempistiche, le modalità, le aree in gioco durante il *training* multisensoriale e nelle diverse fasi dei processi di elaborazione visiva. Di seguito vengono riportati alcuni spunti per elaborazioni ed approfondimenti futuri.

- Una possibilità è data dall'utilizzo dell'Analisi alle Componenti Indipendenti (ICA) che permette di separare i segnali EEG acquisiti sullo scalpo nelle loro componenti indipendenti, verosimilmente originate da distinte regioni compatte di corteccia attive. Le mappe sullo scalpo delle componenti indipendenti, la loro forma d'onda nel tempo e il contenuto frequenziale potrebbero aiutare a selezionare le principali componenti che danno origine alla N100. Quindi, ricostruendo i segnali ripuliti da tutti i contributi di rumore o non legati alla componente ERP-specifica, si possono ripetere i passaggi già descritti in questo elaborato ed eseguire l'analisi statistica su dati che potrebbero rappresentare più chiaramente l'effetto del *training*.
- Un'altra analisi potrebbe focalizzare l'attenzione su un primo intervallo di tempo che segue la presentazione dello stimolo visivo (65÷135 ms, intervalli caratteristici delle *visual* C1 e P1). Identificando le aree corticali più attive in tale periodo si può fare luce sul pattern temporale con cui le varie aree si trasmettono le informazioni e/o identificare se i due tipi di

immagini (set di punti e griglia di Gabor) utilizzate per i due *task* vengono elaborate in vie diverse, rispettivamente nella via dorsale e ventrale.

- Infine potrà essere certamente di interesse un'analisi modellistica, realizzata sviluppando un modello di rete neurale che descriva le regioni attive durante il *training* (collicolo superiore, IPL) e le connessioni con le aree da cui ricevono o a cui inviano segnali per cercare di riprodurre i risultati sperimentali ottenuti. Qualora il modello dovesse funzionare, ovvero riuscisse a simulare il comportamento di queste strutture, potrebbe essere impiegato per stimare gli esiti di altre tipologie di allenamento multisensoriale o, se incluso in una rete neurale più complessa, la risposta a *task* visivi diversi da quelli impiegati in questo esperimento.

BIBLIOGRAFIA

1. Jon Driver, Charles Spence, **Multisensory perception: Beyond modularity and convergence**, *Current Biology* (2000), R731-R735
2. Mauro Ursino, Cristiano Cuppini, Elisa Magosso, Andrea Serino, Giuseppe di Pellegrino, **Multisensory integration in the superior colliculus: a neural network model**, *Journal of Computational Neuroscience* (2009), 26:55-73
3. Elisa Magosso, Cristiano Cuppini, Mauro Ursino, **A Neural Network Model Of Ventriloquism Effect And Aftereffect**, *PLoS ONE* (Aug. 2012), vol. 7, issue 8
4. Gemma A. Calvert, **Crossmodal Processing in the Human Brain: Insights from Functional Neuroimaging Studies**, *Cerebral Cortex* (Dec. 2001), Oxford University Press, 11:1110-1123
5. Asif A. Ghazanfar, Charles E. Schroeder, **Is neocortex essentially multisensory?**, *TRENDS in Cognitive Sciences* (June 2006), vol. 10 No. 6, 278-285
6. Gemma A. Calvert, Thomas Thesen, **Multisensory integration: methodological approaches and emerging principles in the human brain**, *Journal of Physiology* (2004), 191-205
7. Ursula C. Dräger, David H. Hubel, **Responses to Visual Stimulation and Relationship Between Visual, Auditory, and Somatosensory Inputs in Mouse Superior Colliculus**, *Harvard Medical School, Department of Neurobiology* (Oct. 1974), 690-713
8. Marika Urbanski, Olivier A. Coubard, Clémence Bourlon, **Visualizing the blind brain: brain imaging of visual field defects from early recovery to rehabilitation techniques**, *Frontiers in Integrative Neuroscience* (Sept. 2014), vol. 8, article 74

9. S. Zeki, J. D. G. Watson, C. J. Lueck, K. J. Friston, C. Kennard, R. S. J. Frackowiak, **A Direct Demonstration of Functional Specialization in Human Visual Cortex**, *The Journal of Neuroscience* (March 1991), 11(3):641-649

10. Dottie M. Clower, Robert A. West, James C. Lynch, Peter L. Strick, **The Inferior Parietal Lobule Is the Target of Output from the Superior Colliculus, Hippocampus, and Cerebellum**, *The Journal of Neuroscience* (Aug. 2001), 21(16):6283-6291

11. Isa Tadashi, Yoshida Masatoshi, **Saccade control after V1 lesion revisited**, *Current Opinion in Neurobiology* (2009), 19:608-64

12. Paul Azzopardi, Alan Cowey, **Motion discrimination in cortically blind patients**, *Brain* (2001), 124, 30-46

13. Nadia Bolognini, Fabrizio Rasi, Michela Coccia, Elisabetta Làdavvas, **Visual search improvement in hemianoptic patients after audio-visual stimulation**, *Brain* (2005), 128, 2830-2842

14. Claudia Passamonti, Caterina Bertini, Elisabetta Làdavvas, **Audio-visual stimulation improves oculomotor patterns in patients with hemianopia**, *Neuropsychologia* (2009), 546-555

15. Lauren L. Cloutman, **Interaction between dorsal and ventral processing streams: Where, when and how?**, *Brain & Language* (2013), 251-263

16. HughR. Wilson, Frances Wilkinson, **From orientations to objects: Configural processing in the ventral stream**, *Journal of Vision* (2015), 15(7):4, 1-10

17. Geoffrey M. Boynton, Eva M. Finney, **Orientation-Specific Adaptation in Human Visual Cortex**, *The Journal of Neuroscience* (Sept. 2003), 23(25):8781-8787

18. Robert L. Whitwell, A. David Milner, Melvyn A. Goodale, **The two visual systems hypothesis: new challenges and insights from visual agnostic patient DF**, *frontiers in neurology* (Dec. 2014), vol. 5, article 255

19. Victoria Singh-Curry, Masud Husain, **The functional role of the inferior parietal lobe in the dorsal and ventral stream dichotomy**, *Neuropsychologia* (2009), 1434-1448
20. Hauke Kolster, Ronald Peeters, Guy A. Orban, **The Retinotopic Organization of the Human Middle Temporal Area MT/V5 and Its Cortical Neighbors**, *The Journal of Neuroscience* (July 2010), 30(29):9801-9820
21. Roger B. H. Tootell, John B. Reppas, Kenneth K. Kwong, Rafael Malach, Richard T. Born, Thomas J. Brady, Bruce R. Rosen, John W. Belliveau, **Functional Analysis of Human MT and Related Visual Cortical Areas Using Magnetic Resonance Imaging**, *The Journal of Neuroscience* (April 1995), 15(4):3215-3230
22. Robert Shapley, Michael Hawken, Dario L. Ringach, **Dynamics of Orientation Selectivity in the Primary Visual Cortex and the Importance of Cortical Inhibition**, *Neuron* (June 2003), vol. 38, 689-699
23. Essa Yacoub, Noam Harel, Kâmil Uğurbil, **High-field fMRI unveils orientation columns in humans**, *PNAS* (July 2008), vol. 105 No. 30, 10607-10612
24. Jascha D. Swisher, J. Christopher Gatenby, John C. Gore, Benjamin A. Wolfe, Chan-Hong Moon, Seong-Gi Kim, Frank Tong, **Multiscale Pattern Analysis of Orientation-Selective Activity in the Primary Visual Cortex**, *The Journal of Neuroscience* (Jan. 2010), 30(1):325-330
25. Frank Tong, Stephenie A. Harrison, John A. Dewey, Yukiyasu Kamitani, **Relationship between BOLD amplitude and pattern classification of orientation-selective activity in the human visual cortex**, *Neuroimage* (Nov. 2012), 63(3):1212-1222
26. Scott O. Murray, Cheryl A. Olman, Daniel Kersten, **Spatially Specific fMRI Repetition Effects in Human Visual Cortex**, *J. Neurophysiol* (April 2006), vol. 95, 2439-2445
27. Fang Fang, Scott O. Murray, Daniel Kersten, Sheng He, **Orientation-Tuned fMRI Adaptation in Human Visual Cortex**, *J. Neurophysiol* (Aug. 2005), vol. 94, 4188-4195

28. Andrea Federspiel, Umberto Volpe, Helge Horn, Thomas Dierks, Anders Franck, Patrizia Vannini, Lars-Olof Wahlund, Silvana Galderisi, Mario Maj, **Motion Standstill Leads to Activation of Inferior Parietal Lobule**, *Human Brain Mappin* (2006), 27:340-349
29. Victoria Singh-Curry, Masud Husain, **The functional role of the inferior parietal lobe in the dorsal and ventral stream dichotomy**, *Neuropsychologia* (Apr. 2009), 1434-1448
30. Scott Makeig, Julie Onton, **ERP Features and EEG Dynamics: An ICA Perspective**, *Oxford Handbook of Event-Related Potential Components* (2009)
31. https://en.wikipedia.org/wiki/Visual_N1
32. Roberto Domingo Pascual-Marqui, **Review of Methods for Solving the EEG Inverse Problem**, *International Journal of Bioelectromagnetism*(1999), vol. 1 No. 1, 75-86
33. Veronica Forcelli, **Elaborazione di segnali elettroencefalografici per lo studio di potenziali evocati durante compiti di apprendimento associativo**, cap. 2, 42-53
34. Elisa Barzotti, **Stimolazione magnetica transcranica: analisi dell'elettroencefalogramma e ricostruzione delle sorgenti sulla corteccia**, cap. 3, 29-42
35. http://static.gest.unipd.it/~livio/PDF/PDF_CIVILE/Fondamenti%20inferenza.pdf
36. T. H. Wonnacott, R. J. Wonnacott, **Introduzione alla statistica**, *Franco Angeli*
37. http://sccn.ucsd.edu/wiki/EEGLAB_Wiki
38. Kristl G. Claeys, Delwin T. Lindsey, Erik De Schutter, Guy A. Orban, **A Higher Order Motion Region in Human Inferior Parietal Lobule: Evidence from fMRI**, *Neuron* (Oct. 2003), vol.40, 631-642

39. Yasuki Noguchi, Yoshiki Kaneoke, Ryusuke Kakigi, Hiroki C. Tanabe, Norihiro Sadato, **Role of the Superior Temporal Region in Human Visual Motion Perception**, *Cerebral Cortex* (Oct. 2005), 15:1592-1601
40. Kang Cheng, Hideaki Fujita, Iwao Kanno, Shuichi Miura, Keiji Tanaka, **Human Cortical Regions Activated by Wide-Field Visual Motion: An H₂¹⁵O PET Study**, *Journal of Neurophysiology* (July 1995), vol. 74 No. 1, 413-427
41. G. Wiest, M.A. Amorim, D. Mayer, S. Schick, L. Deecke, W. Lang, **Cortical responses to object-motion and visually-induced self-motion perception**, *Cognitive Brain Research* (2001), 167-170
42. Robert D. Rogers, Adrian M. Owen, Hugh C. Middleton, Emma J. Williams, John D. Pickard, Barbara J. Sahakian, Trevor W. Robbins, **Choosing between Small, Likely Rewards and Large, Unlikely Rewards Activates Inferior and Orbital Prefrontal Cortex**, *The Journal Neuroscience* (Oct. 1999), 20(19):9029-9038