

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA
SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**ANALISI TEMPO-FREQUENZA E ANALISI ALLE
COMPONENTI INDIPENDENTI DI RISPOSTE EEG
EVENTO-CORRELATE IN UN COMPITO DI
DISCRIMINAZIONE VISIVA**

Tesi in
SISTEMI NEURALI LM

Relatore

Prof.ssa Elisa Magosso

Presentata da

Erica Manzecchi

Correlatore

Prof.ssa Caterina Bertini

III Sessione
Anno Accademico 2017-2018

PAROLE CHIAVE

Elettroencefalografia

Potenziali evento-correlati

Event-related synchronization/desynchronization

Banda alpha

Trasformata Wavelet Continua

Componenti indipendenti e localizzazione delle sorgenti

Indice

Introduzione.....	6
Capitolo 1: Il segnale Elettroencefalografico e i Potenziali Evento-Correlati.....	11
1.1 Cenni di neurofisiologia del Sistema Nervoso Centrale.....	12
1.1.1 La corteccia e i neuroni corticali.....	13
1.2 L'elettroencefalografia.....	15
1.2.1 Elettrodi in un dispositivo elettroencefalografico.....	16
1.2.2 Posizionamento degli elettrodi.....	18
1.2.3 Registrazione dell'EEG.....	19
1.2.4 Il segnale EEG.....	21
1.3 I Potenziali Evento-Correlati.....	22
1.3.1 Le componenti ERP.....	24
1.3.2 Estrapolazione dei potenziali ERP: tecnica dell'averaging.....	27
1.3.3 Limiti della tecnica dell'averaging per lo studio di risposte evento-correlate.....	29
Capitolo 2: Analisi delle risposte evento-correlate nel dominio tempo-frequenza e mediante analisi alle componenti indipendenti.....	32
2.1 Sincronizzazione e Desincronizzazione Evento-Correlata.....	32
2.2 Reset di Fase Evento-Correlato.....	33
2.3 Metodi alternativi per lo studio di risposte evento-correlate.....	35
2.3.1 La Short Time Fourier Transform.....	35
2.3.2 La Trasformata Wavelet Continua.....	39
2.3.3 Rappresentazione tempo-frequenza della Potenza evento-correlata.....	47
2.3.4 Coerenza di fase inter-trial.....	49
2.4 Analisi alle Componenti Indipendenti.....	51
Capitolo 3: Materiali e Metodi.....	59
3.1 Integrazione multisensoriale.....	60
3.2 Esperimento, acquisizione dei segnali e analisi dei segnali svolti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive.....	61

3.2.1	Descrizione dell'esperimento e acquisizione dei segnali.....	61
3.2.2	Pre-elaborazione dei segnali con EEGLAB.....	66
3.2.3	Analisi dell'attività sullo scalpo.....	68
3.3	Analisi dei segnali nel dominio del tempo.....	70
3.4	Analisi dei segnali nel dominio tempo-frequenza.....	73
3.4.1	Calcolo della Trasformata Wavelet Continua.....	73
3.4.2	Rappresentazione tempo-frequenza della Potenza evento-correlata.....	76
3.4.3	Coerenza di fase inter-trial.....	83
3.4.4	Test Statistici.....	84
3.5	Analisi alle componenti indipendenti e localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalente.....	88
Capitolo 4:	Risultati dell'analisi dei segnali nel dominio del tempo e nel dominio tempo-frequenza.....	99
4.1	Analisi dei segnali nel dominio del tempo.....	99
4.2	Analisi dei segnali nel dominio tempo-frequenza.....	104
4.2.1	Potenza evento-correlata.....	105
4.2.2	Coerenza di fase inter-trial.....	115
4.3	Sintesi e breve discussione dei risultati.....	117
Capitolo 5:	Risultati dell'analisi alle componenti indipendenti e della localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalente.....	120
5.1	Analisi alle componenti indipendenti.....	120
5.2	Localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalente.....	124
5.3	Discussione dei risultati ottenuti.....	136
Conclusioni.....		138
Bibliografia.....		142

Introduzione

L'attività elettrica cerebrale può essere registrata tramite l'elettroencefalografia (EEG) mediante elettrodi posizionati sullo scalpo. Eventi sensoriali, motori e cognitivi possono provocare cambiamenti transitori dell'attività elettrica spontanea, definiti risposte evento-correlate. Esse sono time-locked allo stimolo, poiché si presentano a latenza fissa rispetto allo stimolo che le ha provocate e sono in genere di piccola ampiezza, quindi non distinguibili dal segnale EEG di fondo a cui si sovrappongono. Per poterle individuare e studiare, le registrazioni EEG vengono acquisite somministrando ripetutamente uno stimolo al soggetto. Successivamente le registrazioni vengono suddivise in segmenti temporali, chiamati epoche (o trial), time-locked allo stimolo. Ovvero, l'inizio di ogni epoca viene fatto coincidere con l'istante di somministrazione dello stimolo (posto convenzionalmente a 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. Una volta ottenute le epoche EEG, l'approccio più semplice e classico per analizzarle è basato sulla media nel dominio del tempo delle epoche. Questa procedura permette di estrapolare i potenziali evento-correlati (Event Related Potentials, ERP), che sono forme d'onda caratterizzate da una sequenza di deflessioni positive o negative, definite componenti, incorporate nell'EEG di fondo in risposta ad uno stimolo esterno. Mediando le epoche EEG, le fluttuazioni dell'EEG di fondo tendono così ad elidersi poiché casuali e scorrelate tra loro, mentre le componenti ERP, costanti e sincronizzate tra le epoche, si sommano in fase. Così facendo, si ottengono le componenti ERP ripulite dal segnale EEG di fondo sovrapposto. La tecnica di media temporale è però cieca rispetto ad una frazione significativa dell'attività cerebrale e consente solo un'analisi limitata. Innanzitutto, i potenziali evento-correlati, che emergono nella media temporale, sono risposte di tipo phase-locked allo stimolo (oltre che time-locked) ovvero presentano una stazionarietà di fase attraverso le epoche. Essi, infatti, possono proprio nascere come una riorganizzazione transitoria (o "reset") della fase delle oscillazioni dell'EEG di fondo, le quali diventano temporaneamente phase-locked allo stimolo; si parla in tal caso di reset di fase evento-correlato (Event Related Phase Resetting, ERPR). Queste però non sono l'unica risposta del sistema nervoso ad uno stimolo esterno (o anche interno) in quanto eventi sensoriali, motori e cognitivi possono provocare altri tipi di risposte come la desincronizzazione / sincronizzazione evento-correlata (Event Related Desynchronization / Synchronization, ERD/ERS). L'ERD e l'ERS consistono in temporanee modulazioni in determinati range di frequenza dell'ampiezza dell'attività oscillatoria dell'EEG di fondo, ma dal momento che la fase di tali oscillazioni non è stazionaria tra un'epoca e l'altra, i cambiamenti relativi a queste oscillazioni non phase-locked sono in gran parte

annullate dalla media nel dominio del tempo, nonostante esse siano time-locked allo stimolo. Il processo di media nel dominio del tempo pertanto non è in grado di evidenziare risposte di tipo non phase-locked quali ERD/ERS, e comunque, anche per quanto riguarda le risposte di tipo phase-locked, ne permette un'analisi solo nel dominio del tempo. Da qui la necessità di utilizzare altri approcci, non prettamente nel dominio del tempo, basati su strumenti di analisi nel dominio tempo-frequenza. Questi metodi di analisi si basano sulla stima, all'interno di ogni singola epoca, della potenza del segnale EEG in funzione sia del tempo che della frequenza. Questa stima è un'espressione tempo-variante della potenza delle oscillazioni a prescindere dalla loro fase, pertanto la media di tutte le singole stime tra le varie epoche evidenzia sia le modulazioni del segnale phase-locked, sia quelle non phase-locked (cancellate invece dalla media temporale), purché queste modulazioni siano entrambe time-locked all'inizio dello stimolo. Inoltre, alcuni di questi metodi consentono di stimare la fase del segnale e quindi di valutare la coerenza di fase (ovvero il grado di sincronizzazione di fase) tra le epoche, sempre nel dominio tempo-frequenza. In particolare, il metodo di decomposizione tempo-frequenza approfondito ed applicato in questo lavoro di tesi è la Trasformata Wavelet Continua (CWT), che risulta estremamente efficiente quando si ha a che fare con segnali non stazionari, come il segnale EEG.

Tuttavia, entrambe le analisi dei segnali EEG sullo scalpo nel dominio del tempo e nel dominio tempo-frequenza, non consentono una localizzazione delle sorgenti cerebrali del segnale EEG di superficie, il quale riflette l'attività di molteplici generatori distribuiti all'interno del tessuto cerebrale in regioni funzionalmente e spazialmente distinte. Per separare i segnali EEG acquisiti sullo scalpo nei loro contributi indipendenti (che possono riflettere processi cerebrali indipendenti generati in regioni diverse del tessuto cerebrale) si può applicare un'Analisi alle Componenti Indipendenti (ICA), che consiste nel separare un insieme di segnali indipendenti a partire dall'osservazione di una loro miscela. Una volta ottenute le componenti indipendenti, è possibile per ciascuna di esse, a partire dalla sua distribuzione sullo scalpo, stimare la localizzazione del suo generatore neurale; ciò è ottenuto attraverso un metodo di fitting che individua quella specifica localizzazione del generatore, all'interno del tessuto cerebrale, che meglio approssima quella particolare mappa sullo scalpo e che quindi, potenzialmente, è responsabile di quella specifica componente indipendente.

Scopo principale del presente lavoro di tesi è stata l'implementazione e l'applicazione dei metodi di analisi tempo-frequenza basati sulla Trasformata Wavelet Continua e dei metodi di Analisi alle Componenti Indipendenti (comprensiva della stima della loro localizzazione) a segnali EEG registrati su 15 soggetti durante la presentazione ripetuta di uno stimolo visivo associata ad un compito di discriminazione visiva. Per l'implementazione e l'applicazione di tali metodi ci si è serviti del software MATLAB® e del toolbox EEGLAB. L'utilità di questo lavoro è stata duplice; da una parte

ha permesso l'apprendimento di nuovi e avanzati metodi di analisi, dall'altra ha permesso di evidenziare risultati potenzialmente interessanti nei dati esaminati.

Nello specifico, i dati EEG utilizzati sono stati raccolti in passato dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive dell'Università di Bologna (Campus di Cesena). Tali segnali EEG sono stati acquisiti su 15 volontari sani durante un compito di discriminazione visiva di movimento (il soggetto doveva identificare la direzione di movimento di un set di punti luminosi su sfondo nero). Tale compito si ritiene coinvolga principalmente il percorso cerebrale comprendente il Collicolo Superiore (una regione sottocorticale, all'interno del tronco encefalico) e l'area visiva dorsale extrastriata MT/V5. Questo compito di discriminazione è stato eseguito dai soggetti prima e dopo uno specifico training multisensoriale, caratterizzato dalla somministrazione ripetuta di stimoli audio-visivi spazialmente e temporalmente coincidenti. L'ipotesi che ha motivato l'esperimento è che la stimolazione multisensoriale potesse sollecitare le stesse regioni (il Collicolo Superiore e le regioni dorsali) coinvolte nel compito di discriminazione del movimento e che pertanto, dopo il training, si potesse osservare un miglioramento di performance, eventualmente associato a variazioni nelle risposte cerebrali evento-correlate (cioè indotte dalla presentazione dello stimolo visivo di discriminazione). L'analisi svolta dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive, oltre a evidenziare effettivamente un miglioramento di performance nel compito dopo il training, si è concentrata esclusivamente sul segnale ERP (cioè la media delle epoche nel tempo) rilevando una differenza significativa dopo il training di una specifica deflessione (N1) nell'ERP, relativamente ai canali EEG fronto-centrali. In questo lavoro, a questi segnali EEG – con particolare riferimento ai segnali EEG fronto-centrali – è stata applicata la trasformazione wavelet (epoca per epoca) per ottenere una rappresentazione tempo-frequenza della potenza totale evento-correlata (che contiene sia l'attività phase-locked ossia ERP e ERPR, sia quella non phase-locked ossia ERD e ERS) e informazioni circa la coerenza di fase tra le epoche. Inoltre, attraverso l'analisi alle componenti indipendenti i segnali acquisiti sullo scalpo sono stati separati in componenti indipendenti e, modellando le sorgenti cerebrali come dei singoli dipoli equivalenti di corrente, è stata stimata la localizzazione all'interno del tessuto cerebrale delle componenti indipendenti maggiormente responsabili della deflessione N1. L'applicazione di tali metodi a questi segnali EEG è servita innanzitutto come banco di prova per l'implementazione e l'uso di tali metodiche di analisi e, in secondo luogo, per evidenziare eventuali ulteriori effetti del training.

Il presente elaborato è strutturato in cinque capitoli.

Nel primo Capitolo “**Il segnale Elettroencefalografico e i Potenziali Evento-Correlati**” vengono illustrate le principali caratteristiche del segnale elettroencefalografico (EEG) descrivendone la sua

natura fisiologica e le modalità di acquisizione. Vengono trattati i potenziali evento-correlati (ERP), facendo riferimento alle principali componenti (ovvero deflessioni positive o negative) che si manifestano nelle risposte ERP e viene presentata la metodica di media nel dominio del tempo per la loro estrazione dal segnale EEG di fondo.

Il secondo Capitolo “**Analisi delle risposte evento-correlate nel dominio tempo-frequenza e mediante analisi alle componenti indipendenti**” è dedicato alla descrizione dei fenomeni di desincronizzazione / sincronizzazione evento-correlata (ERD/ERS) e al reset di fase evento-correlato (ERPR). Vengono espone nel dettaglio tecniche alternative alla media nel dominio del tempo per il rilevamento, oltre che di risposte phase-locked, anche di risposte evento-correlate non phase-locked (ERD/ERS). Nello specifico vengono approfonditi i metodi di analisi del segnale EEG nel dominio tempo-frequenza basati sulla Trasformata Wavelet Continua (con funzione wavelet complessa). Successivamente, viene introdotto il problema generale del *Blind Source Separation* (BSS), vengono delineate le basi teoriche fondamentali del metodo di Analisi alle Componenti Indipendenti (ICA) e le caratteristiche principali dell’algoritmo Infomax. Nel capitolo viene inoltre affrontato il problema della localizzazione cerebrale delle componenti indipendenti mediante dipoli equivalenti.

Il terzo Capitolo “**Materiali e Metodi**” illustra dapprima nel dettaglio l’esperimento eseguito presso il Centro di Neuroscienze Cognitive dell’Università di Bologna (Campus di Cesena) e i passi preliminarmente svolti nell’elaborazione dei segnali EEG da parte dei ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive. Quindi, con riferimento ai metodi implementati nel presente lavoro, si descrive: l’estrazione dell’ERP; l’implementazione del metodo di analisi tempo-frequenza basato sulla Trasformata Wavelet Continua con wavelet complessa per l’ottenimento delle rappresentazioni tempo-frequenza della potenza evento-correlata e della sincronizzazione di fase evento-correlata; l’implementazione dell’analisi alle componenti indipendenti e della loro localizzazione all’interno del tessuto cerebrale.

Il quarto Capitolo “**Risultati dell’analisi dei segnali nel dominio del tempo e nel dominio tempo-frequenza**” innanzitutto mostra i risultati relativi all’analisi dei dati EEG nel dominio del tempo (ERP), quindi presenta i risultati relativi alle rappresentazioni tempo-frequenza della potenza evento-correlata e dei valori di coerenza di fase tra le epoche, relativamente ai canali fronto-centrali. Inoltre, vengono mostrati i risultati di test statistici applicati a valori di potenza e di coerenza di fase per il confronto tra la condizione di pre-training e quella di post-training, focalizzandosi sull’intervallo di tempo in cui si manifesta la componente N1 dell’ERP e sulla banda di frequenze alpha (8÷14 Hz).

Nel quinto Capitolo “**Risultati dell’analisi alle componenti indipendenti e della localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalente**” vengono riportati e discussi i risultati relativi alla ricerca tesa ad individuare quali siano e dove siano localizzate le sorgenti cerebrali che principalmente contribuiscono alla deflessione N1 dell’ERP fronto-centrale.

Infine, nelle “**Conclusioni**” è riassunto il lavoro svolto e i risultati ottenuti, i quali vengono commentati in base alle conoscenze neurofisiologiche attuali e vengono delineati possibili approfondimenti futuri.

Capitolo 1

Il segnale Elettroencefalografico e i Potenziali Evento-Correlati

Il cervello è l'organo del corpo umano che gestisce i più importanti processi vitali. Numerosi studi hanno ormai dimostrato che alla base del controllo cerebrale c'è una complessa attività elettrica. I primi dati sperimentali riguardanti l'elettrofisiologia risalgono agli studi condotti nel XVIII secolo da Luigi Galvani e Alessandro Volta, responsabili di aver gettato le basi necessarie alla comprensione delle proprietà elettriche di tessuti come quelli nervoso e muscolare. Nel 1875 il medico di Liverpool Richard Caton fu protagonista della prima osservazione di attività elettrica spontanea nel cervello di alcuni animali da laboratorio. Diversi anni dopo, nel 1924, il medico tedesco Hans Berger, durante un intervento chirurgico su un ragazzo, registrò per primo l'attività elettrica del cervello umano utilizzando degli aghi di acciaio bagnati di zinco inseriti nel tessuto sottocutaneo dello scalpo. Durante i suoi studi Berger osservò che le varie forme d'onda dei segnali registrati erano differenti, sia a seconda della posizione di registrazione sullo scalpo, sia tra soggetti sani o patologici e che le varie forme d'onda erano dipendenti dallo stato mentale del soggetto (attenzione, rilassamento, sonno). L'esperimento di Berger gettò le basi dell'attuale *elettroencefalografia* (EEG), una delle tecniche più largamente utilizzate per la registrazione dell'attività elettrica cerebrale.

La prima definizione di elettroencefalogramma, data proprio da Berger, fu la seguente ^[1]:

“The electroencephalogram represents a continuous curve with continuous oscillations in which [...] one can distinguish larger first order waves with an average duration of 90 milliseconds and smaller second order waves of an average duration of 35 milliseconds”.

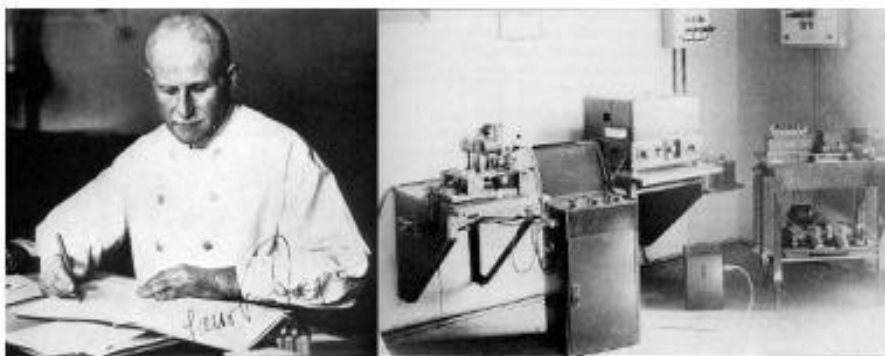


Figura 1.1 – Hans Berger e la sua apparecchiatura per registrare EEG risalente al 1926. ^[2]

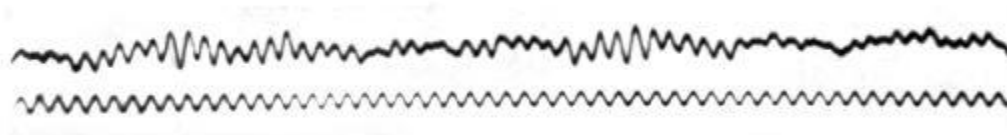


Figura 1.2 – Uno dei primissimi tracciati EEG registrati su cervello umano da Berger e pubblicato nel suo primo articolo. Il tracciato superiore rappresenta l'EEG, mentre quello inferiore un segnale di riferimento a 10 Hz. ^[3]

Gli elettrodi primitivi utilizzati dal medico tedesco si rivelarono però inadeguati a causa della loro invasività e dell'alta impedenza che si veniva a creare tra elettrodo e cute. Fu così che, grazie alle pubblicazioni e alle esperienze di Berger, la tecnica venne gradualmente migliorata fino a permettere la registrazione simultanea di segnali provenienti da aree cerebrali diverse. Le primissime apparecchiature EEG comparirono sul mercato intorno alla metà degli anni trenta: si trattava solo di un esordio destinato a spalancare le porte ad un lungo processo di evoluzione ed ottimizzazione sotto tutti i punti di vista: praticità, affidabilità delle misure, minore invasività dell'esame. La strumentazione elettroencefalografica ad esempio, dapprima basata sull'utilizzo di valvole termoioniche, progredì con l'utilizzo di transistor e soprattutto di circuiti integrati digitali, in grado di consentire non solo la registrazione dell'attività cerebrale, ma anche la sua elaborazione a posteriori e la successiva memorizzazione su supporti fissi.

1.1 Cenni di neurofisiologia del Sistema Nervoso Centrale

Il sistema nervoso centrale (SNC) è costituito da un complesso di organi e tessuti specializzati, la cui funzione principale è quella di ricevere e riconoscere stimoli provenienti dall'ambiente esterno o interno dell'organismo e successivamente di elaborare risposte coordinate e sincronizzate, volontarie o involontarie. Il SNC, schematicamente illustrato in Figura 1.3, è costituito dall'encefalo, contenuto nella cavità cranica, e dal midollo spinale, ospitato all'interno del canale vertebrale. ^[4]

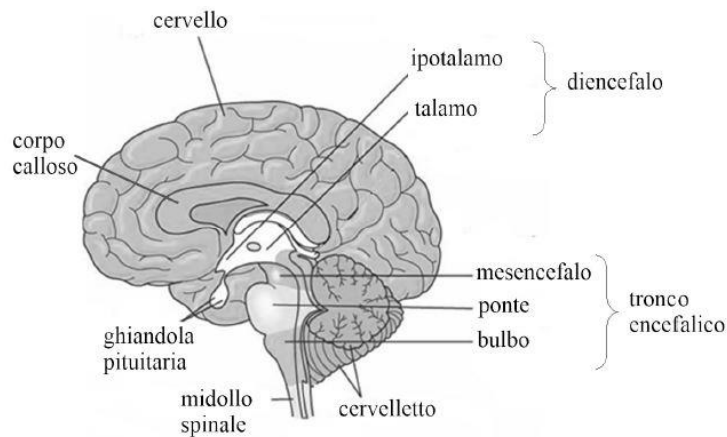


Figura 1.3 – Struttura del sistema nervoso centrale. ^[5]

L'encefalo è anatomicamente composto dal tronco encefalico, dal cervelletto e dal cervello. Il tronco encefalico include mesencefalo, ponte e bulbo (o midollo allungato). Il cervello è formato da diencefalo e telencefalo. Il diencefalo comprende il talamo e l'ipotalamo. Il telencefalo è la parte più voluminosa dell'encefalo, risulta diviso in due emisferi cerebrali (destro e sinistro) uniti da fasci di fibre nervose che formano un nucleo di sostanza bianca, chiamato corpo calloso. Gli emisferi sono completamente ricoperti dalla corteccia cerebrale, costituita dalla materia grigia. ^[4]

1.1.1 La corteccia e i neuroni corticali

La corteccia cerebrale è considerata la struttura più evoluta e complessa del sistema nervoso centrale e le diverse regioni che la compongono sono responsabili delle nostre capacità sensoriali, motorie, percettive e delle cosiddette funzioni nervose superiori, quali apprendimento, memoria, linguaggio, coscienza, astrazione. Essa è suddivisa in quattro lobi principali (vedasi la Figura 1.4): il lobo frontale, il lobo parietale, il lobo temporale e il lobo occipitale, all'interno delle quali si identificano diverse aree funzionali. Il lobo frontale contiene le aree funzionali preposte alla programmazione dei movimenti, delle azioni, delle parole quindi alla capacità linguistica e all'elaborazione del pensiero. Il lobo parietale è sede della percezione somatosensoriale e della percezione gustativa. Il lobo temporale presiede alla percezione uditiva, olfattiva, all'apprendimento e alla memoria dichiarativa. Nel lobo occipitale si localizza l'area per l'elaborazione delle informazioni visive.

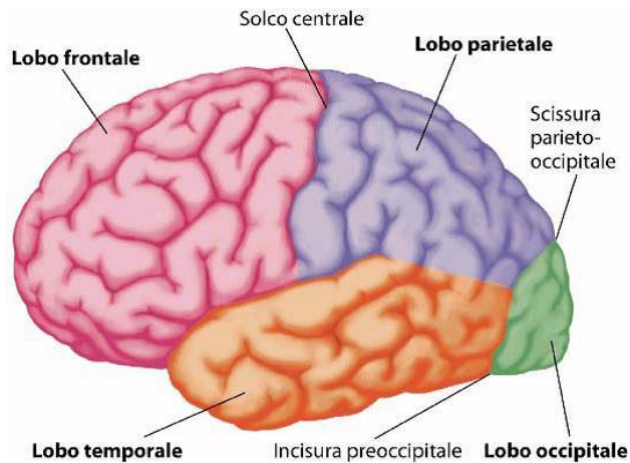


Figura 1.4 – *Suddivisione in lobi della corteccia cerebrale.* ^[5]

La corteccia cerebrale è caratterizzata da numerosi giri e solchi che ne incrementano così la superficie. In media è composta da 10^{10} cellule nervose: i neuroni corticali. I neuroni sono un particolare tipo di cellula eccitabile in grado di ricevere, elaborare e trasmettere informazioni alle cellule adiacenti per mezzo di impulsi elettrici, meglio denominati potenziali d'azione. Strutturalmente i neuroni presentano un corpo cellulare (o soma) da cui dipartono dei filamenti citoplasmatici, i dendriti e l'assone (Figura 1.5). I punti di giunzione, attraverso i quali è possibile trasferire i segnali elettrici da un neurone all'altro, prendono il nome di sinapsi.

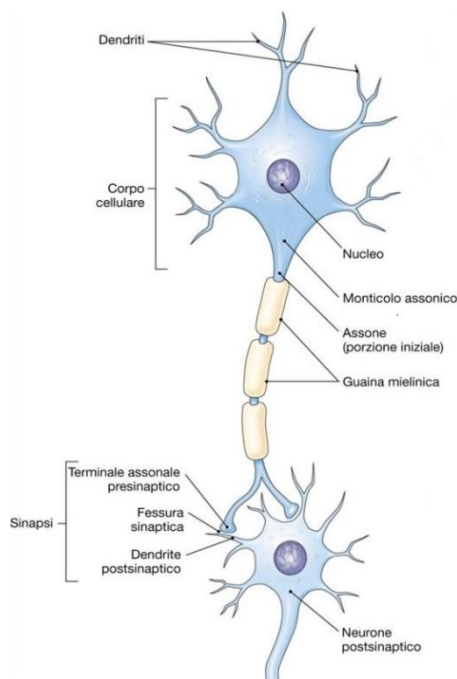


Figura 1.5 – *Struttura del neurone.* ^[4]

I neuroni sono fortemente interconnessi tra loro, tant'è che la superficie di ognuno di essi può essere ricoperta da 10^4 a 10^5 sinapsi. Gli input sinaptici verso un neurone possono essere di due tipi: quelli

che producono potenziali postsinaptici eccitatori (PPSE) e quelli che inducono potenziali postsinaptici inibitori (PPSI). I primi, provocano una depolarizzazione nella membrana del neurone postsinaptico, aumentando così la probabilità che venga generato un potenziale d'azione; i secondi agiscono in modo contrario, iperpolarizzando la membrana del neurone postsinaptico e abbassando così la probabilità che quest'ultimo scarichi un potenziale d'azione. Ogni neurone è raggiunto sia da terminazioni eccitatorie che inibitorie, pertanto la somma temporale e spaziale di tutti i PPSE e PPSI determina se l'effetto finale sarà eccitatorio o inibitorio. I neuroni corticali possono essere classificati in due principali categorie: cellule piramidali e cellule non piramidali. Le cellule piramidali costituiscono la parte preponderante della corteccia cerebrale e giocano un ruolo fondamentale nella generazione del segnale EEG. Esse proiettano sia lunghi assoni ad altre regioni, sia all'interno dell'area tramite collaterali assoniche che decorrono anche per molti millimetri in piani paralleli agli strati corticali. La caratteristica principale di queste cellule che, grazie alla loro morfologia, concorrono alla buona integrazione dei segnali afferenti, è dovuta all'orientazione perpendicolare alla corteccia dei loro dendriti. Le cellule non piramidali sono caratterizzate da forma ovale e in genere i loro assoni non lasciano la corteccia, ma terminano su neuroni vicini. L'orientamento spaziale dei loro dendriti rispetto alla corteccia non è ordinato come per le cellule piramidali: essi sono corti e orientati in tutte le direzioni, pertanto non partecipano in modo importante alla generazione dell'EEG di superficie.

1.2 L'elettroencefalografia

L'elettroencefalografia è una metodologia strumentale elettrofisiologica concepita per monitorare e registrare i potenziali elettrici che hanno sede sulla superficie dell'encefalo, generati in prevalenza dalla materia grigia (ovvero dalla corteccia cerebrale), trasformandone l'andamento temporale in una forma grafica. Il tracciato elettroencefalografico nasce dal contributo della corrente extracellulare generata dall'attività di un elevato numero di neuroni disposti in corrispondenza dell'area corticale sottostante l'elettrodo considerato. Per elettroencefalogramma si intende infatti la differenza di potenziale elettrico tra un elettrodo attivo, posizionato di solito superficialmente al sito del quale si vuole monitorare l'attività, e un elettrodo indifferente che funge da riferimento, collocato ad una certa distanza dal primo in corrispondenza di una regione elettricamente inerte o non dotata di attività elettrica propria (nuovamente sullo scalpo se si tratta di riferimento cefalico, oppure in altri distretti corporei quali mastoidi, lobi auricolari, dorsi delle mani nel caso di riferimento non-cefalico).

Essendo l'apporto di ogni neurone davvero molto ridotto e, considerando che il potenziale generato deve propagarsi attraverso diversi strati di tessuto non neurale (fluidi, ossa, pelle) interposti tra la sorgente (la corteccia) e l'area di rilevazione (l'elettrodo), il contributo elettrico del singolo neurone corticale non può essere misurato sullo scalpo. Il segnale EEG perciò riflette la somma delle attività di milioni e milioni di cellule nervose, in particolare dei *neuroni corticali piramidali*, che grazie alla loro organizzazione corticale e alla loro struttura intrinseca, se attivati simultaneamente, generano campi elettrici aperti che, se sincroni, si sommano generando un segnale più intenso e rilevabile dagli elettrodi sullo scalpo. Le attività elettriche descritte dai tracciati EEG derivano quasi totalmente da potenziali postsinaptici (eccitatori e inibitori) e non da potenziali d'azione, sebbene quest'ultimi siano i più ampi potenziali generati dai neuroni. Questo è dovuto alla loro breve durata, dell'ordine di 1 millisecondo, a differenza dei potenziali postsinaptici che nonostante la loro minore ampiezza, sono più lenti e, tenendo conto del fatto che l'interfaccia tra il tessuto osseo del cranio e lo scalpo agisce come filtro passa-basso, il segnale elettrico deve cambiare in modo relativamente lento nel tempo per poter essere rilevato sullo scalpo. Infatti, per registrare componenti EEG ad alta frequenza si rendono necessarie misurazioni intracorticali. [6]

1.2.1 Elettrodi in un dispositivo elettroencefalografico

L'interfaccia tra cervello e apparecchiature di rilevamento del segnale è costituita da elettrodi in oro o argento, in grado di rilevare le variazioni del potenziale elettrico. Gli elettrodi sono realizzati in modo da assicurare un contatto stabile e prolungato con la cute, aderire ad una superficie circoscritta al fine di evitare dispersioni ed essere non polarizzabili (ossia possedere una resistenza minima tale da ostacolare quanto meno possibile il passaggio della corrente da rilevare). Il numero di elettrodi utilizzati varia comunemente tra 8 e 64; in particolare, se non c'è l'esigenza di avere una risoluzione spaziale elevata questo numero può limitarsi a poche unità (8 o 16 elettrodi, come avviene nella pratica clinica di routine), mentre per indagini più dettagliate ed avanzate e spesso nella ricerca scientifica si utilizzano sistemi a 32 o più canali.

Esistono diverse tipologie di elettrodi:

- Elettrodi fissati sullo scalpo: realizzati generalmente in stagno, oro o più comunemente argento rivestito di cloruro d'argento con una forma a coppa di diametro variabile da 0.1 a 1 cm. Per fissare gli elettrodi è necessario ripulire la zona di interesse, applicare un gel

conduttivo con lo scopo di diminuire l'impedenza naturale della pelle, la quale ha caratteristiche di isolante, migliorando così la conduttività.



Figura 1.6 – Elettrodi a coppetta. [7]

- Cuffia con elettrodi premontati: il tipo di elettrodo è analogo a quello del punto precedente, ma gli elettrodi sono mantenuti in posizione tramite una cuffia elasticizzata che si adatta facilmente alla fisionomia cranica del paziente. Questa soluzione risulta particolarmente adatta nel caso in cui si abbia la necessità di effettuare registrazioni in un numero consistente di punti dello scalpo. I tempi dilatati di montaggio vengono in questo modo drasticamente ridotti dato che gli elettrodi sono già incorporati e predisposti, a discapito però della minore stabilità meccanica degli elettrodi.



Figura 1.7 – Elettrodi premontati su cuffia. [5]

- Elettrodi ad ago ipodermici: consistono in aghi di acciaio o platino non clorurati di lunghezza variabile da 1 a 2 cm, di diametro pari a circa 1 mm, ed eventualmente ricurvi ad uncino. Vengono inseriti direttamente sottocute, ma a causa della loro invasività vengono utilizzati quasi esclusivamente in caso di interventi chirurgici o pazienti in stato di coma.



Figura 1.8 – Elettrodi ad ago ipodermici. [7]

1.2.2 Posizionamento degli elettrodi

Per rendere le misurazioni confrontabili è stato definito uno schema standard per il posizionamento degli elettrodi, chiamato *Sistema Internazionale 10-20*. Secondo questo schema i punti di contatto elettrodo-scalpo corrispondono a distanze pari al 10% e al 20% della lunghezza di linee ideali di riferimento che congiungono punti predefiniti del cranio e si incontrano nel punto immaginario detto *vertex* (si veda la Figura 1.9). Tali punti di repere anatomico sono: *nasion* ed *inion* in direzione sagittale ed *auricolare destro* e *sinistro* in direzione trasversale. [8]

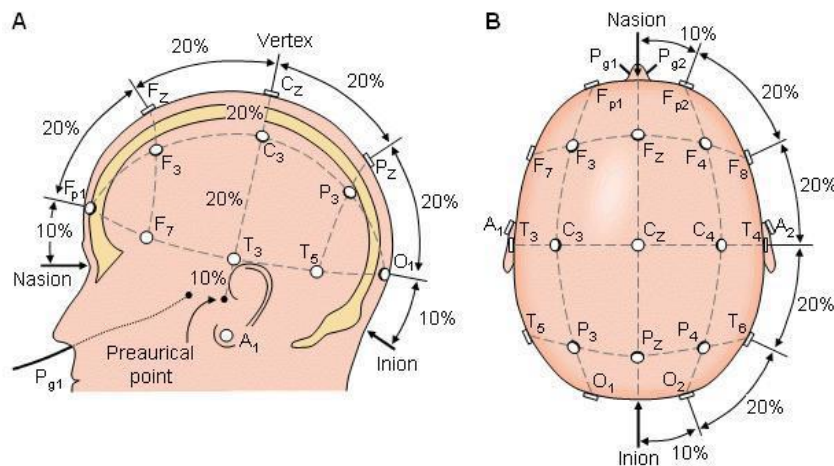


Figura 1.9 – Sistema Internazionale 10-20, vista laterale (A) e superiore (B). [8]

Secondo questo standard ogni elettrodo viene identificato da una lettera maiuscola: ‘F’ se è posizionato sull’area frontale, ‘C’ su quella centrale, ‘P’ su quella parietale, ‘T’ su quella temporale e infine ‘O’ su quella occipitale. La lettera è seguita da un numero pari se l’elettrodo si trova nell’emisfero destro, dispari se si trova in quello sinistro, oppure dalla lettera ‘z’ se l’elettrodo è

collocato in posizione mediana, come illustrato nelle Figure 1.9 e 1.10. Grazie a questa standardizzazione è possibile catalogare i segnali provenienti da specifiche aree cerebrali di interesse in base alla regione di rilevamento.

Inizialmente il sistema standard di posizionamento degli elettrodi prevedeva un numero relativamente basso di elettrodi (21, compresi i due elettrodi auricolari (Figura 1.9). Successivamente lo standard si è esteso per includere fino a 75 elettrodi, comprendendo ulteriori elettrodi in posizioni intermedie rispetto a quello originali (Figura 1.10). Recentemente il sistema si è esteso ulteriormente definendo oltre 300 posizioni standard.

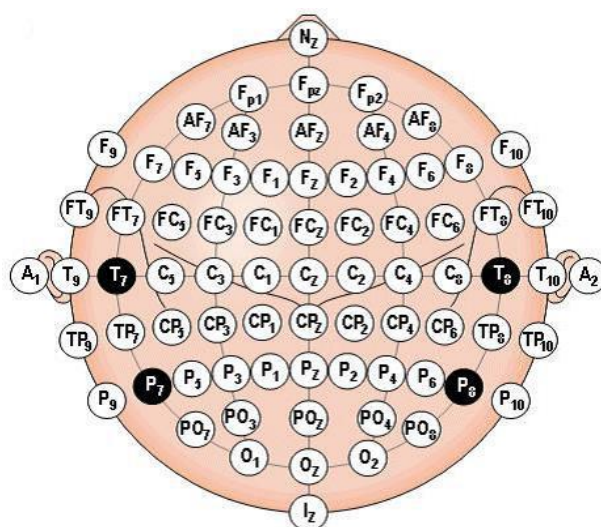


Figura 1.10 – Nomenclatura degli elettrodi del Sistema Internazionale 10-20 con 32 elettrodi in ogni emisfero e 11 elettrodi lungo la linea mediana per un totale di 75 elettrodi. ^[8]

1.2.3 Registrazione dell'EEG

In base al tipo di segnale che si vuole mettere in evidenza, esistono due diversi approcci alla registrazione EEG: *monopolare* e *bipolare* (Figura 1.11). Nella registrazione monopolare l'attività rilevata da ogni elettrodo viene riferita ad un comune elettrodo passivo oppure ad una coppia di elettrodi (di cui viene fatta la media) localizzati a livello dei lobi auricolari e la misurazione di ogni elettrodo viene effettuata per differenza rispetto al riferimento, in termini di potenziale rilevato. Nella registrazione bipolare viene invece registrata la differenza di potenziale tra coppie relativamente vicine di elettrodi.

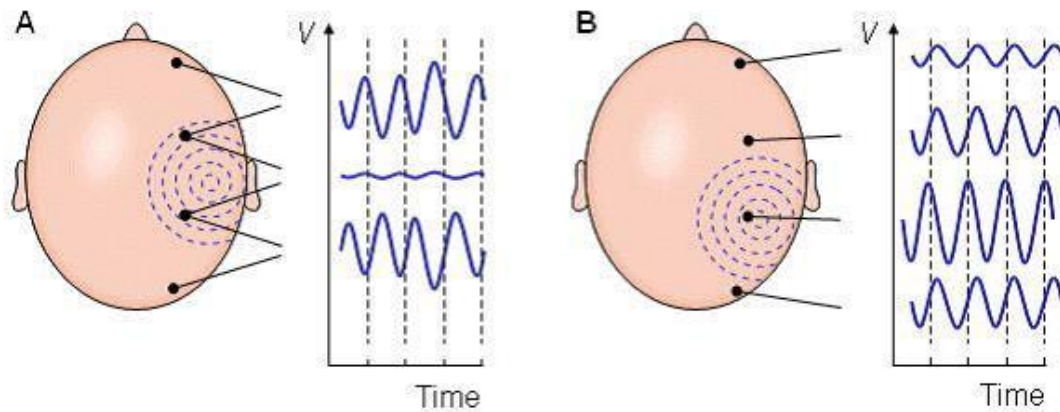


Figura 1.11 – Esempio di misure bipolari (A) e monopolari (B). ^[8]

Il segnale registrato sullo scalpo viene dapprima amplificato e filtrato, quindi attraversa un ulteriore stadio di amplificazione, e infine viene digitalizzato per mezzo di un convertitore analogico digitale (Analog to Digital Converter, ADC) per essere memorizzato, visualizzato ed eventualmente elaborato (Figura 1.12). La sezione di acquisizione si interfaccia con un computer (desktop, laptop, netbook e soluzioni tecnologiche sempre più portabili e performanti) ed esistono un gran numero di software di gestione del protocollo di registrazione, dedicati alla memorizzazione e alla successiva elaborazione ed analisi dei dati raccolti, come il *toolbox* di MATLAB[®] denominato EEGLAB. Le informazioni vengono trasmesse tramite comuni fili elettrici, cavi ottici, oppure via connessione wireless (Wi-Fi, Bluetooth). Quest’ultima soluzione deve ancora affermarsi, prevalentemente a causa del fattore economico e del tempo che necessita da sempre ogni soluzione prima di irrompere definitivamente e in modo convincente in ambito clinico.

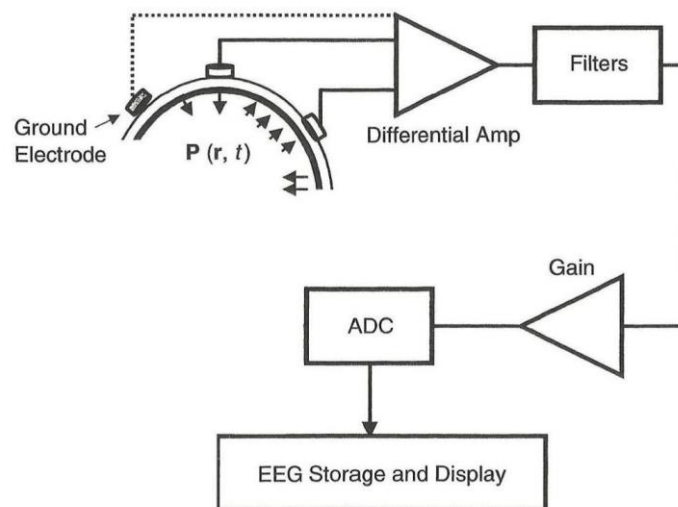


Figura 1.12 – Schema a blocchi di un elettroencefalografo che illustra la catena di acquisizione del segnale EEG. ^[9]

1.2.4 Il segnale EEG

Il segnale EEG rileva l'attività spontanea del cervello. I segnali EEG sono caratterizzati da un'ampiezza che è normalmente compresa tra poche unità di μV e $500 \mu\text{V}$ (suddivisa in bassa se $< 30 \mu\text{V}$, media se compresa tra 30 e $70 \mu\text{V}$ e alta se $> 70 \mu\text{V}$), e una frequenza variabile nel range 0.5 - 100 Hz. Una importante caratteristica del segnale EEG è la presenza di oscillazioni a diversa frequenza. Esse sono definite come “ritmi EEG”, ognuno dei quali corrisponde ad una determinata banda spettrale del segnale (Figura 1.13). Le prime oscillazioni ad essere individuate furono quelle di frequenza compresa tra 8 e 14 Hz. Esse furono denominate da Berger “*onde alpha*”, proprio in riferimento alla prima lettera dell'alfabeto greco, e sono rilevate soprattutto nelle registrazioni effettuate sulle regioni posteriori del cervello di un adulto a riposo con gli occhi chiusi. L'attenuazione delle onde alpha sembra essere correlata ad una maggiore disponibilità a ricevere uno stimolo sensoriale o motorio. Coerentemente, Berger coniò il termine “*onde beta*” per riferirsi al range di frequenze 12 ÷ 30 Hz. Il ritmo beta viene rilevato quando un paziente è ad occhi aperti e impegnato in un'attività cerebrale qualsiasi, in condizioni di attenzione e concentrazione quando le aree corticali sono attive. Le oscillazioni a 40 Hz, battezzate con il nome di “*onde gamma*”, sono localizzate nelle regioni frontali e, come le onde beta, vengono rilevate in condizioni di attenzione e concentrazione e sono più evidenti in attività cognitive di alto livello che richiedono di integrare informazioni elaborate in aree cerebrali differenti. Le oscillazioni nella banda da 1 a 4 Hz prendono il nome di “*onde delta*” svincolandosi dall'ordinamento sequenziale poiché la loro scoperta è più recente e si rilevano nei periodi di sonno più profondo. Le oscillazioni nella banda da 4 a 8 Hz sono dette “*onde theta*” la cui lettera è riferita alla loro presumibile regione di provenienza: il talamo. Sono onde tipicamente localizzate nella regione temporo-parietale e sono di particolare interesse scientifico poiché associate a processi di memoria e di apprendimento.

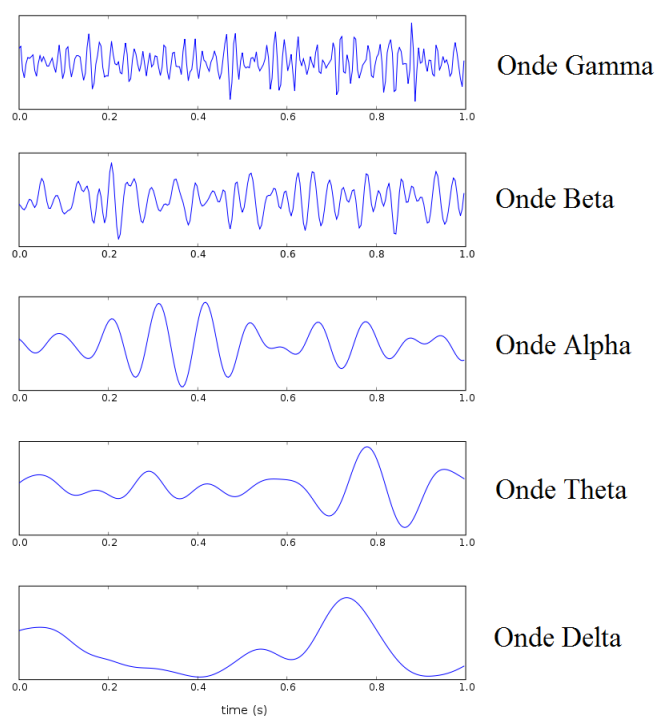


Figura 1.13 – Ritmi EEG. ^[10]

L'EEG costituisce un esame fondamentale in ambito neurologico poiché consente di integrare la diagnosi di tumori, epilessie, ischemie ed alterazioni delle capacità cognitive ed attentive che si ripercuotono sull'attività elettrica del cervello alterandola in modo rilevante. Già attraverso l'ispezione visiva è infatti possibile comprendere modificazioni significative del tracciato EEG e inferire conclusioni coerenti sullo stato neurologico e clinico del soggetto.

1.3 I Potenziali Evento-Correlati

Oltre ad indagare l'attività neurale spontanea, risulta interessante studiare le peculiarità dell'EEG in conseguenza di un particolare stimolo esterno o interno. La risposta del sistema nervoso così suscitata è chiamata *potenziale evento-correlato* (Event Related Potential, ERP); essa 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 spaziale riflette quella dei generatori sottostanti. Ciascuna di queste deflessioni, sia essa positiva o

negativa, prende il nome di *picco/componente ERP* ed è riconducibile a potenziali postsinaptici (eccitatori o inibitori) che risultano sincroni in un insieme sufficientemente ampio di neuroni corticali tale da rendere tali potenziali rilevabili in superficie.

Le componenti ERP possono essere suddivise in due macro categorie: componenti esogene e componenti endogene. Le prime sono deflessioni che raggiungono un picco nei primi 100 millisecondi post-stimolo e dipendono per la maggior parte dalle caratteristiche fisiche e sensoriali dello stimolo utilizzato (visivo, uditivo, motorio). Le seconde invece sono componenti più tardive e riflettono processi di più alto livello, come ad esempio accesso alla memoria, attenzione selettiva e il “significato” che il soggetto attribuisce allo stimolo stesso. ^[11] Le componenti ERP sono quindi un riflesso neurofisiologico esplicativo del flusso di informazione cerebrale, in quanto capaci di veicolare i dettagli riguardanti la ricezione e il processamento a basso livello degli stimoli sensoriali, così come le elaborazioni che si pongono ad un livello più alto.

Il segnale ERP, come descritto dettagliatamente nel paragrafo 1.3.2, richiede di eseguire un particolare processing sul segnale EEG per essere estrapolato ed evidenziato. Una volta estrapolato, l'ERP si presenta sotto forma di una sequenza di deflessioni le cui caratteristiche distintive sono:

- latenza, ossia il ritardo nella comparsa della risposta specifica rispetto all'istante di presentazione dello stimolo;
- polarità, che definisce se si tratta di una componente con segno positivo o negativo e dipende dalla posizione dell'elettrodo sullo scalpo e dalla distribuzione del campo elettrico generato dall'area corticale attivata;
- ampiezza, della deflessione rispetto al livello di base (valore a riposo in assenza di stimoli o eventi standard);
- posizione sullo scalpo, posizione della superficie cranica dove è localizzata la massima ampiezza della componente.

Le diverse componenti sono identificate attraverso una lettera maiuscola, P oppure N, che indica la polarità e da un numero che indica la latenza del picco, espressa in millisecondi. Ad esempio, la componente P100 indica una deflessione con polarità positiva che si verifica ad una latenza prossima ai 100 ms dalla presentazione dello stimolo. Esiste anche una notazione abbreviata che prevede la rinuncia ai due zeri finali dei nomi classici; usando tale notazione, ad esempio, la componente P100 è denominata P1 (Figura 1.14) dove il numero 1 indica i 100 ms di latenza del picco. Come si osserva in Figura 1.14, la convenzione comunemente adottata in clinica visualizza i picchi positivi come deflessioni verso il basso e viceversa.

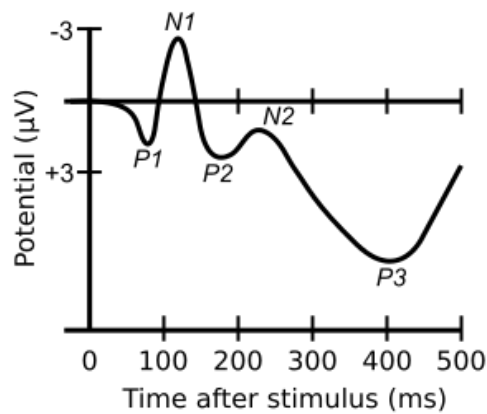


Figura 1.14 – Forma d'onda che illustra diverse componenti caratteristiche degli ERP. L'istante $t = 0$ ms sull'asse delle ascisse corrisponde all'istante di applicazione dello stimolo. E' interessante notare come l'asse delle ordinate risulti invertito, in accordo con la convenzione tipicamente diffusa nella pratica clinica. ^[12]

1.3.1 Le componenti ERP

Nel seguito vengono brevemente illustrate le principali componenti ERP in relazione alla loro localizzazione sullo scalpo e al loro possibile significato funzionale.

- **P100**: è rappresentata da un picco positivo, non sempre facilmente identificabile, posticipato di 50 ms o 100 ms circa rispetto allo stimolo a seconda che esso sia uditivo o visivo rispettivamente. Mentre nel caso di stimolo uditivo questa componente si propaga dalla zona posteriore dello scalpo raggiungendo la sua massima ampiezza nelle regioni centrale e frontale, nella condizione di stimolo visivo la P100 raggiunge la massima ampiezza nelle regioni occipitali. In generale, la componente P100 è interpretata come un indicatore neurofisiologico dell'attenzione allo stimolo sensoriale proposto e dà informazioni sull'integrità del canale sensoriale utilizzato per la stimolazione. ^{[11][13]}
- **N100**: è una deflessione negativa che segue l'onda P100 e che viene rilevata con una latenza tra i 150-200 ms nel caso di stimoli visivi e con una latenza tra gli 80-120 ms nel caso di stimoli uditivi. La massima ampiezza in caso di stimoli visivi si può rilevare posteriormente o anche nelle regioni centrali dello scalpo ^[14], diminuendo di intensità se gli stimoli sono presentati a brevi intervalli di tempo l'uno dall'altro. Per gli stimoli uditivi invece la massima ampiezza si rileva nelle zone frontali e centrali, in particolare nell'elettrodo Cz e per questo è anche definita "potenziale di vertice". La componente N100, pur essendo una componente

precoce e quindi esogena, che riflette il normale svolgimento della risposta sensoriale a una stimolazione esterna, è influenzata da processi attentivi e sembra essere amplificata quando il soggetto compie task di discriminazione di stimoli rispetto a semplici task di rilevamento di stimoli. ^{[11][13]}

- P200: il picco è caratterizzato da polarità positiva e latenza di circa 200 ms. Come la N100 e P100, anche la P200 è una componente che si ritiene associata alla risposta sensoriale, ma è anche studiata in relazione a processi di attenzione selettiva o di memoria a breve termine. Per quanto riguarda la P200 uditiva, essa si presenta spesso conglobata nella N100, condividendone anche molte delle caratteristiche. La sua localizzazione sullo scalpo è meno circoscritta e l'ampiezza massima è registrata in prossimità delle regioni frontali. La tipologia di stimolo uditivo (suono ad alta o bassa frequenza) influenza la morfologia di questa componente, così come l'incremento di intensità dello stimolo stesso ne determina l'aumento in ampiezza. Relativamente alla P200 provocata da uno stimolo visivo, essa si manifesta con ampiezza maggiore in corrispondenza della zona frontale, con uno shift della latenza tra 150 e 275 ms. La sua ampiezza cresce all'aumentare della complessità dello stimolo visivo o del task da portare a termine. ^{[11][13]}
- N200: è una deflessione negativa che raggiunge un picco circa 200 ms dopo la presentazione dello stimolo. È contraddistinta da una bassa ripetibilità poiché varia in modo sostanziale da individuo a individuo. La sua interpretazione psicologica verte essenzialmente su fattori quali la discriminazione dello stimolo, la selezione del target e l'orientamento della risposta. La sua durata si accorcia e la sua ampiezza diminuisce se gli intervalli inter-stimolo sono più brevi. La N200 si manifesta con maggiore ampiezza in corrispondenza della regione fronto-centrale. È formata da tre sottocomponenti:
 - N200a: anche definita *Mismatch negativity* (MMN), è una componente negativa avente latenza piuttosto variabile, tra 100 e 250 ms, che viene individuata in corrispondenza di paradigmi con una sequenza di stimoli variabili, diversi tra loro. La MMN si manifesta quando viene individuata automaticamente dal soggetto una differenza tra lo stimolo precedente, del quale la memoria sensoriale ha tenuto traccia, e quello corrente.
 - N200b: è leggermente più tardiva rispetto all'N200a e appare quando i cambiamenti nelle proprietà fisiche dello stimolo sono rilevanti per il compito.
 - N200c: è suscitata quando è necessaria una classificazione e discriminazione di stimoli disparati. ^[15]

- P300: consiste in un ampio e vasto picco positivo che si presenta a circa 300 ms di latenza e costituisce senza dubbio la componente ad oggi più studiata. È una componente endogena e si manifesta in risposta a stimoli rari, denominati target, riflettendo quindi processi mentali più complessi come l'aggiornamento della memoria di lavoro, la discriminazione di un evento target da uno non target, l'attenzione e concentrazione del soggetto allo stimolo presentato. È rilevata principalmente in aree centro-parieto-occipitali mediane e la sua ampiezza è direttamente dipendente dalla rarità dello stimolo e dalla distanza tra uno stimolo target e il successivo. La latenza invece discrimina l'avvenuto riconoscimento del target presentato e l'attenzione selettiva allo stimolo.
- N400: questa componente raggiunge il picco a circa 400 ms dopo l'inizio dello stimolo, con una negatività che può essere osservata in una finestra temporale compresa tra 250 e 500 ms. Si presenta principalmente in situazioni in cui viene rilevata un'incongruenza nel tipo di evento proposto e la sua ampiezza può variare da -5 a 5 microvolt. Più nel dettaglio la N400 fu identificata dai ricercatori Kutas e Hillyard nel 1980 durante un paradigma semantico nel quale le parole di una frase vengono presentate sotto forma di testo, una ad una, ad intervalli regolari. ^[16] Essi notarono che inserendo come parole finali della frase due termini non congrui dal punto di vista del significato (e non della sintassi) rispetto al resto, al posto di una forma d'onda positiva tra 200 e 600 ms si manifestava una significativa componente di ampiezza negativa. La distribuzione, sebbene possa variare leggermente a seconda dello stimolo di elicitazione, è massima rispetto ai siti dell'elettrodo centro-parietale ed è leggermente più elevata sul lato sinistro dello scalpo per stimoli di tipo visivo.
- P600: è una componente positiva avente l'onset a circa 500 ms e che raggiunge il suo picco massimo intorno ai 600 ms. Interpreta due fenomeni diversi tra loro: i processi di memoria e i processi associati al linguaggio. Può essere elicitata mediante task sia visivi che uditivi, somministrando al soggetto tipologie di stimoli che presentano errori grammaticali o sintattici, anomalie semantiche o musicali. Le più diffuse interpretazioni collegano questa componente a: processi di revisione (correzione della frase che deve essere interpretata e processata), processi di rianalisi (riarrangiamento coerente della struttura della frase), tempo e sforzo cognitivo necessari per portare a termine l'esercizio. Esiste anche l'ipotesi che la P600 sia in un certo senso simile alla P300, ovvero in relazione non tanto con i processi linguistici in senso stretto, quanto piuttosto con stimoli improbabili o inaspettati (dal momento che errori come quelli elencati sono rari in natura).

1.3.2 Estrapolazione dei potenziali ERP: tecnica dell'averaging

Dal segnale misurato agli elettrodi non è possibile individuare immediatamente il picco di interesse. 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 da 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 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*.

Nel contesto dell'estrazione dei potenziali evento-correlati l'EEG di background è assimilato a rumore, in quanto segnale indesiderato sovrapposto alla componente di interesse. Il rapporto segnale/rumore (SNR, Signal to Noise Ratio) tra ERP ed EEG risulta piuttosto basso in quanto l'EEG presenta ampiezza maggiore rispetto all'ERP (decine di μV contro μV), e purtroppo ha contenuto in frequenza in comune con quest'ultimo. Si rivela di conseguenza improponibile un filtraggio in frequenza ove l'obiettivo sia quello di isolare il segnale ERP dall'EEG di fondo. L'approccio più semplice e classico per lo studio e l'individuazione dei potenziali evento-correlati e delle componenti di interesse presenti negli ERP stessi è quello basato sulla *time-domain averaging*, ovvero sul calcolo della media dei segmenti temporali di interesse dell'EEG, chiamati *epoche* o *trial*. 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 $1/\sqrt{N}$ (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 1.15). La media $y_m(t)$ delle N epoche $y_i(t)$ acquisite risulta dunque:

$$y_m(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N y_i(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (u_i(t) + v_i(t)) = u(t) + \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N v_i(t)$$

Dove con $u_i(t)$ si intende l'ERP contenuto nell' i -esima epoca, con $v_i(t)$ il rumore EEG di background (a valore medio nullo) sovrapposto all'ERP di interesse, e con $u(t)$ l'ERP deterministico, assunto uguale in tutte le epoche. $y_m(t)$ può essere concepita come una stima non polarizzata dell'ERP, poiché fornisce in media il potenziale evento-correlato di interesse. Il calcolo del suo valore atteso conduce infatti:

$$E[y_m(t)] = E[u(t)] + \frac{1}{N} E \left[\sum_{i=1}^N v_i(t) \right] = u(t)$$

Questo processo 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. [17]

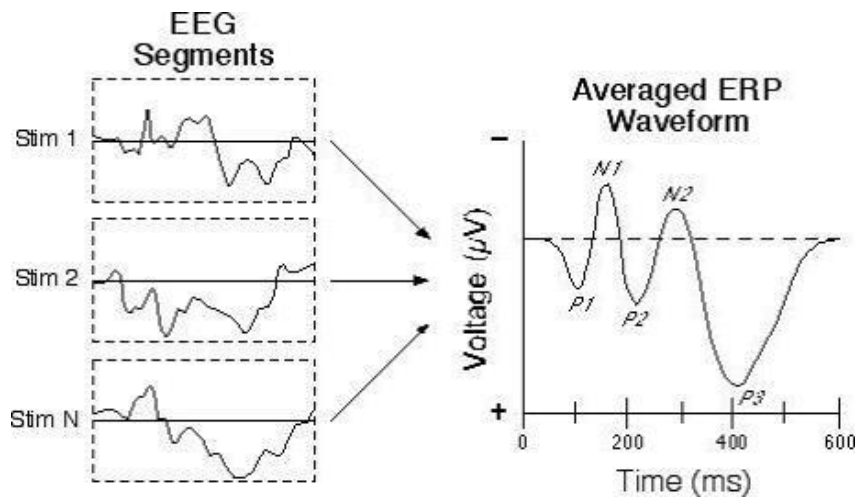


Figura 1.15 – Effetto dell'averaging su tre epoche: mediando si evidenzia l'ERP e diverse sue componenti. [13]

1.3.3 Limiti della tecnica dell'averaging per lo studio di risposte evento-correlate

La tecnica di averaging è basata sull'ipotesi che le forme d'onda ERP siano stazionarie tra un trial e l'altro, che si presentino più o meno sempre con la stessa ampiezza e, cosa ancora più fondamentale, sempre con la stessa latenza dallo stimolo che le ha originate, a meno di piccolissime variazioni in fase. Per ogni componente ogni picco deve trovarsi alla stessa latenza del picco della stessa componente all'epoca precedente. Tuttavia quest'ipotesi è ragionevole soltanto in alcune circostanze e in molti casi gli ERP risultano lungi dall'essere stazionari e quindi perfettamente correlati allo stimolo che li provoca. Costano invece di componenti multiple la cui ampiezza e latenza possono variare indipendentemente l'una dall'altra da trial a trial, a causa sia dei diversi processi che separano il verificarsi dell'evento dalla generazione della risposta corticale, sia a causa del fenomeno di abitudine e ciò può portare ad una distorsione importante dell'ERP mediato. Se varia l'ampiezza il valore medio dell'ERP corrisponderà ad una stima non distorta, ma al più attenuata, della media della distribuzione dei singoli trial; se invece varia la latenza (ovvero se si verifica un rilevante *jitter in latenza*), la stima finale dell'ERP potrà risultare fortemente distorta e di ampiezza ridotta e, nel peggiore dei casi, renderà l'ERP non rilevabile (Figura 1.16).^[6]

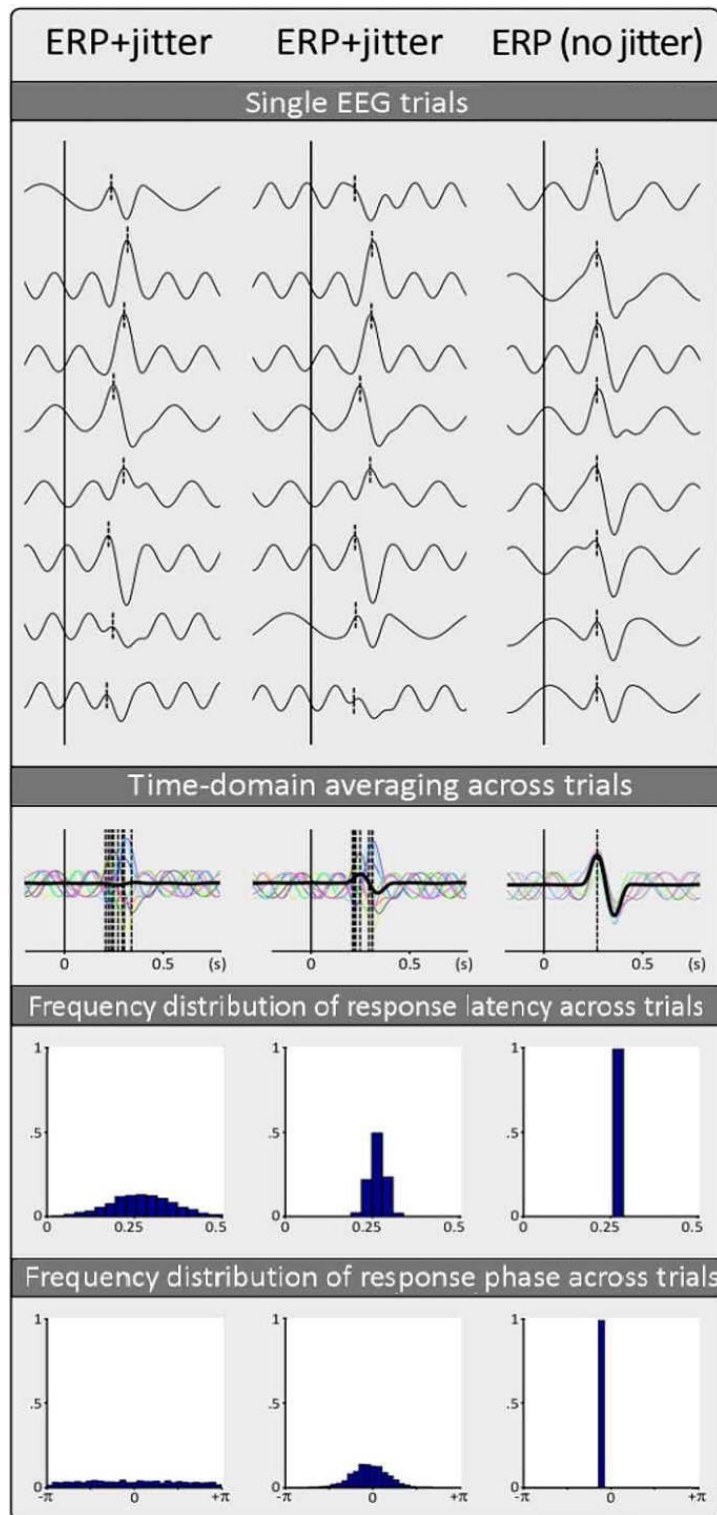


Figura 1.16 – Effetto dell'averaging nel dominio del tempo su vari trial: a sinistra la latenza delle risposte rispetto allo stimolo è stata variata da un trial all'altro usando un jitter significativo, al centro un jitter moderato e a destra nessun jitter. In alto sono mostrati i singoli trial non mediati con la rispettiva latenza dell'attività correlata all'evento rappresentata da una linea verticale tratteggiata. Il risultato della media temporale attraverso i vari trial è mostrato nella parte centrale della Figura, sovrapposto alle forme d'onda dei singoli trial rappresentate a colori. Si può notare come la procedura di averaging migliora il rapporto segnale / rumore degli ERP quando non è presente alcun jitter, ma produce un ERP distorto o quasi assente quando è presente jitter in latenza. Gli istogrammi nella parte inferiore della Figura rappresentano le distribuzioni di frequenza della latenza delle risposte e la distribuzione della fase delle risposte dei vari singoli trial. ^[6]

Questa procedura è inoltre cieca rispetto ad una frazione significativa dell'attività corticale. I potenziali evento-correlati (ERP), infatti, non sono l'unica risposta del sistema nervoso ad uno stimolo esterno in quanto diversi eventi sensoriali, motori e cognitivi provocano altri tipi di risposte:

- desincronizzazione / sincronizzazione evento-correlata (Event Related Desynchronization / Synchronization, ERD/ERS);
- reset di fase evento-correlato (Event Related Phase Resetting, ERPR).

La necessità di caratterizzare questi fenomeni per i quali non sono adatti approcci nel dominio del tempo ha portato all'utilizzo di diversi strumenti di analisi, prima nel dominio della frequenza (come la trasformata di Fourier) e successivamente, nel dominio tempo-frequenza (come la Short Time Fourier Transform e le Wavelets). Dei fenomeni precedenti (ERD/ERS, ERPR), così come dei metodi accennati si tratterà estesamente nel Capitolo seguente, dove si approfondirà anche come la media nel dominio del tempo non sia in grado di rilevare ERS e ERD e possa erroneamente identificare ERPR come ERP.

Capitolo 2

Analisi delle risposte evento-correlate nel dominio tempo-frequenza e mediante analisi alle componenti indipendenti

2.1 Sincronizzazione e Desincronizzazione Evento-Correlata

Sin dalle prime registrazioni EEG descritte da Hans Berger nel 1929 è noto che, come anticipato al paragrafo 1.3.3, gli eventi sensoriali, motori e cognitivi, oltre a provocare i potenziali evento-correlati (ERP), possono anche indurre temporanee modulazioni in determinati range di frequenza dell'attività oscillatoria dell'EEG di fondo. Questi fenomeni consistono in un aumento o decremento della potenza in una data banda di frequenza e vengono definiti rispettivamente *sincronizzazione evento-correlata* (Event Related Synchronization, ERS) e *desincronizzazione evento-correlata* (Event Related Desynchronization, ERD). I termini “sincronizzazione” e “desincronizzazione” riflettono il fatto che, l'aumento o riduzione della potenza delle oscillazioni dell'EEG, sono dovuti ad un aumento o decremento nella sincronia di una popolazione di neuroni e non ad un aumento o diminuzione dell'attività del singolo neurone. ^[6]

È importante sottolineare che il significato funzionale dell'ERS e ERD dipende dalla banda di frequenza che si considera. Ad esempio la desincronizzazione del ritmo alpha (8÷14 Hz) è legata a compiti motori e all'elaborazione cognitiva e, generalmente, viene associata alla maggiore eccitabilità nei sistemi talamo-corticali durante l'elaborazione dell'informazione. La sincronizzazione del ritmo alpha inizialmente si pensava che fosse indice di ridotta attività di elaborazione dell'informazione, oggi la si associa invece ad uno stato di *inibizione*. Il concetto di inibizione venne introdotto in seguito all'osservazione di sincronizzazione alpha in casi in cui l'informazione imparata andava trattenuta e in corrispondenza di regioni non rilevanti ai fini del compito. ^{[1][18]} Altre bande presentano comportamenti diversi, ad esempio la banda beta (12÷30 Hz) è caratterizzata da un aumento dell'attività subito dopo lo svolgimento di un compito motorio (a cui ci si riferisce con *Post Movement Beta Synchronization*, PMBS). Tale fenomeno è relativamente robusto: in quasi tutti i soggetti, si manifesta con aumento della sincronizzazione che raggiunge il suo massimo circa 600 millisecondi dopo aver svolto il compito motorio. Ciascun soggetto ha le proprie specifiche componenti di frequenza beta reattive. L'ERS in banda gamma (attorno a 40 Hz) sembra svolgere un ruolo importante nella sincronizzazione di processi corticali che si verificano in aree diverse del cervello,

fornendo i collegamenti spaziali e temporali necessari per l'integrazione delle diverse caratteristiche degli input sensoriali in una percezione coerente e significativa.

Oltre alla banda di frequenza interessata, l'ERS e ERD sono caratterizzate dalla loro latenza relativamente all'inizio dell'evento, dalla loro distribuzione sullo scalpo e i loro valori vengono espressi come variazione della potenza rispetto ad un intervallo di riferimento, detto *baseline*.

Dal momento che le fluttuazioni dell'EEG di background risultano non correlate allo stimolo, la loro fase non è stazionaria tra un trial e l'altro e, pertanto, anche i cambiamenti di segnale relativi a queste oscillazioni *non phase-locked* sono in gran parte annullate dalla media nel dominio del tempo, descritta dettagliatamente al paragrafo 1.3.2. Per questo motivo la tecnica di averaging non è in grado di rilevare tali modulazioni temporanee della potenza evento-correlate, nonostante esse siano *time-locked* allo stimolo (Figura 2.1).^[6]

2.2 Reset di Fase Evento-Correlato

Oltre agli ERP, ERS e ERD, recentemente alcuni ricercatori hanno ipotizzato che alcuni eventi potrebbero innescare anche una riorganizzazione transitoria (o "ripristino") della fase delle oscillazioni dell'EEG di fondo, definita *reset di fase evento-correlato* (Event Related Phase Resetting, ERPR). In particolare si è portato all'attenzione che alcune risposte che appaiono come ERP nella forma d'onda ottenuta dalla media del segnale EEG nel dominio del tempo potrebbero, almeno in alcuni casi, essere spiegate da un reset di fase correlato all'evento. Infatti, se a una data latenza un evento ripristina la fase dell'EEG di background, le oscillazioni diventeranno temporaneamente *phase-locked* allo stimolo e quindi saranno rese visibili dalla tecnica di averaging. L'ERPR può pertanto produrre delle deflessioni del tutto simili a quella prodotte da un ERP e la tecnica di averaging nel dominio del tempo non è in grado di distinguere tra questi due tipi di risposte cerebrali (Figura 2.1).^[6]

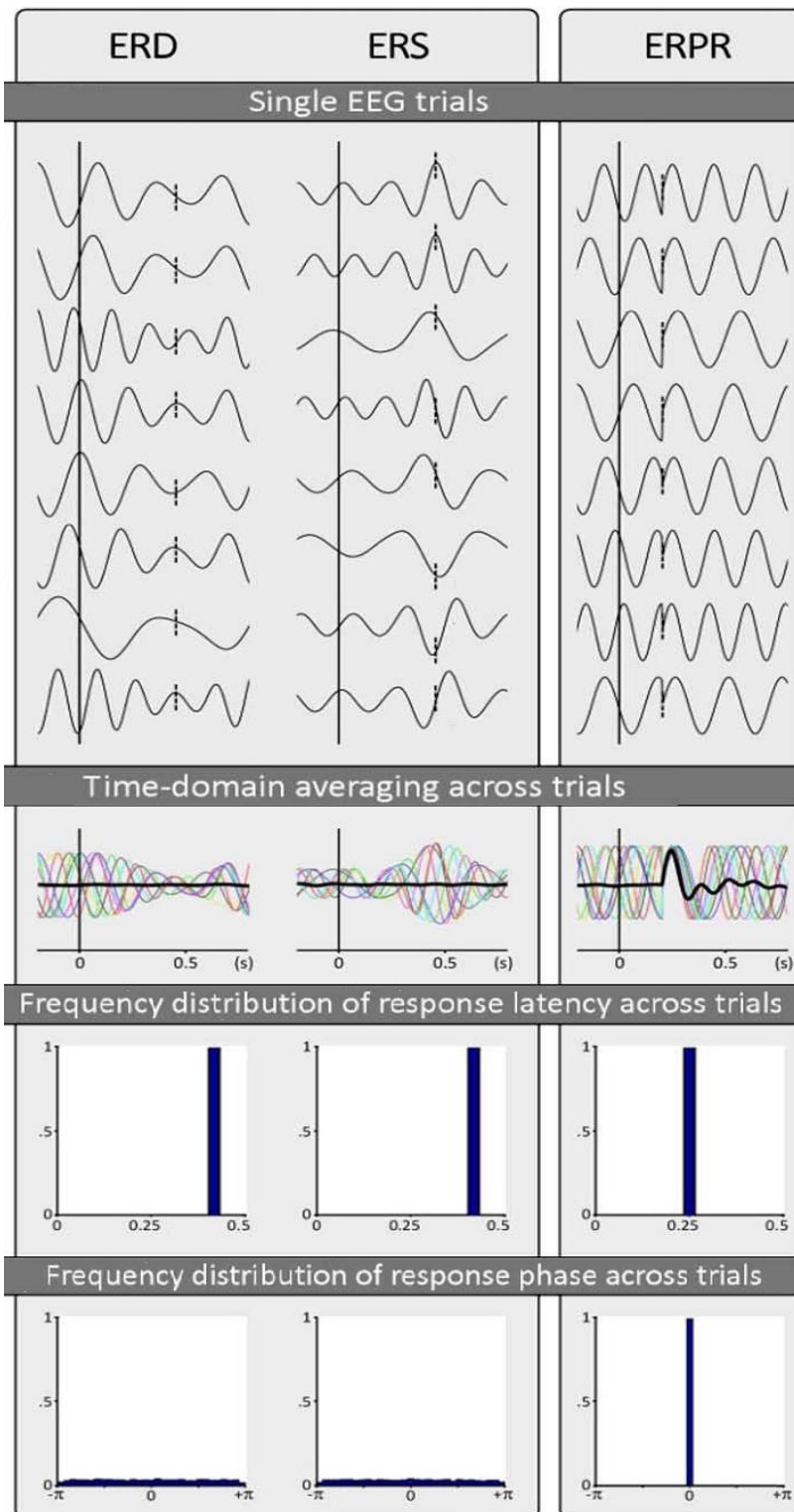


Figura 2.1 – Effetto dell’averaging nel dominio del tempo su diverse risposte evento-correlate: a sinistra ERD, al centro ERS e a destra ERPR. In alto sono mostrati i singoli trial non mediati con la rispettiva latenza dell’attività correlata all’evento rappresentata da una linea verticale tratteggiata. Il risultato della media temporale attraverso i vari trial è mostrato nella parte centrale della Figura (linea nera spessa), sovrapposto alle forme d’onda dei singoli trial rappresentate a colori. Si può notare come la procedura di averaging annulla completamente le oscillazioni non phase-locked sottostanti l’ERD e l’ERS e rappresenta l’ERPR come una deflessione transitoria che potrebbe essere interpretata come un ERP. Gli istogrammi nella parte inferiore della Figura rappresentano le distribuzioni di frequenza della latenza delle risposte e la distribuzione della fase delle risposte dei vari singoli trial. ^[6]

2.3 Metodi alternativi per lo studio di risposte evento-correlate

Per rilevare e caratterizzare le risposte evento-correlate che non sono osservabili applicando la tecnica di averaging nel dominio del tempo sono stati proposti diversi strumenti matematici alternativi. Questi metodi di analisi sono tutti basati sulla stima, all'interno di ogni singolo trial, dell'ampiezza dell'attività oscillatoria del segnale EEG in funzione sia del tempo che della frequenza. Questa stima è un'espressione *tempo-variante* dell'ampiezza delle oscillazioni a prescindere dalla loro fase, pertanto la media di tutte le singole stime tra i vari trial evidenzia sia le modulazioni del segnale *phase-locked*, sia quelle *non phase-locked* (cancellate invece dalla media temporale), purché queste modulazioni siano entrambe *time-locked* all'inizio dello stimolo e coerenti in frequenza (cioè la latenza e la frequenza a cui si verificano devono essere costanti tra le varie epoche).^[6] Di seguito si illustreranno nel dettaglio questi metodi di analisi.

2.3.1 La Short Time Fourier Transform

La *Trasformata di Fourier* (Fourier Transform, FT) è probabilmente lo strumento di elaborazione del segnale più utilizzato nella scienza e nell'ingegneria. Questa tecnica, sviluppata dal matematico francese Joseph Fourier nel primo ventennio dell'800, consente di estrarre la composizione spettrale di un segnale $x(t)$, trasformandolo dal dominio del tempo al dominio della frequenza e viene espressa come:

$$X(f) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \cdot e^{-j2\pi ft} dt \quad (2.1)$$

Tuttavia la Trasformata di Fourier ci permette di ottenere informazioni soltanto su quali frequenze sono contenute all'interno del segnale, ma non fornisce informazioni su come le componenti di frequenza evolvono nel tempo e quindi sulla loro localizzazione temporale. Poiché il segnale EEG è non stazionario, cioè con caratteristiche variabili nel tempo, la Trasformata di Fourier non è adatta per analizzare questo tipo di segnale, ma occorre inserire nella trasformazione una dipendenza dal tempo.

Una soluzione a questo limite fu introdotta da Dennis Gabor nel 1946 e consiste nel suddividere il segnale in segmenti (all'interno dei quali il segnale viene assunto approssimativamente stazionario) e nell'applicare a ciascun segmento la Trasformata di Fourier, eseguendo così una FT localizzata nel tempo: la *Short Time Fourier Transform* (STFT). A tale scopo viene scelta una funzione finestra $w(t)$

di larghezza $\Delta\tau$ che viene, di volta in volta, fatta scorrere di un tempo τ lungo il segnale. Per uno specifico τ , viene calcolata la Trasformata di Fourier del segnale all'interno della finestra, successivamente la finestra viene spostata di τ lungo l'asse dei tempi e un'altra Trasformata di Fourier viene calcolata. Questa procedura viene iterata fino a coprire l'intero segnale, secondo la formula qui riportata:

$$STFT(\tau, f) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \cdot w(t - \tau) \cdot e^{-j2\pi ft} dt \quad (2.2)$$

dove $x(t)$ è il segnale originale. Come espresso dalla formula (2.2), per ogni tempo τ e per ogni frequenza f viene calcolato un nuovo coefficiente. In questo modo la STFT trasforma un segnale nel dominio dei tempi in una rappresentazione 2D tempo-frequenza (Figura 2.2).

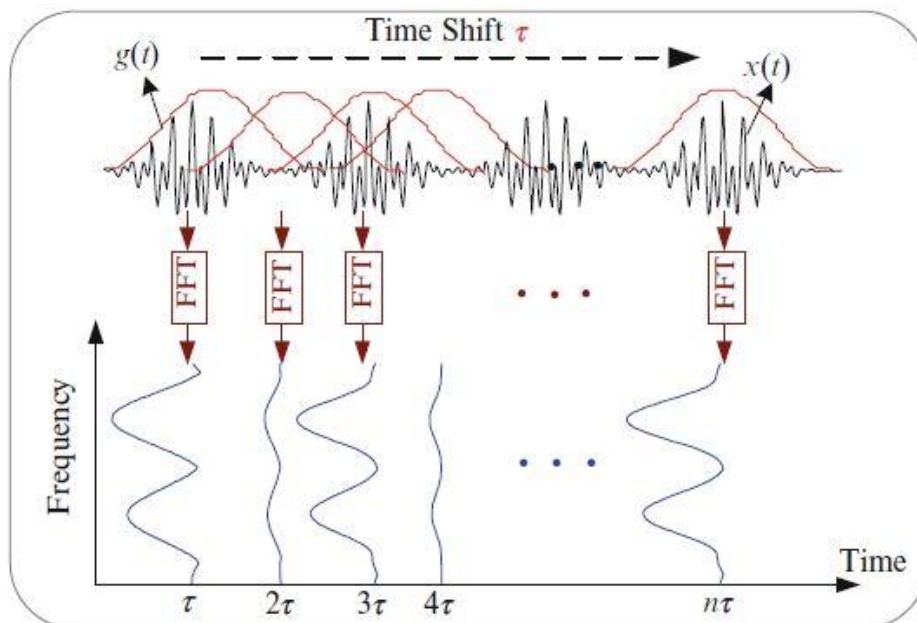


Figura 2.2 – Illustrazione della STFT applicata ad un segnale test $x(t)$, con $g(t)$ corrispondente alla funzione finestra. ^[19]

Negli ultimi decenni sono state proposte diverse funzioni finestra (rettangolare, gaussiana, Hamming, Barlett, ecc.), ognuna delle quali presenta caratteristiche specifiche che la rendono più adatta ad una particolare applicazione. Infatti, al variare del tipo di finestra utilizzata, anche a parità di durata temporale della stessa, la forma dello spettro tempo-variante può modificarsi sensibilmente.

L'utilizzo di una finestra temporale di una determinata durata introduce però un limite che risiede nel compromesso tra risoluzione nel tempo e risoluzione in frequenza: in particolare, per il *principio di Indeterminazione* di Heisenberg, non è possibile stabilire contemporaneamente a piacere la risoluzione nel tempo e la risoluzione in frequenza di una funzione. Con riferimento alla funzione

finestra, non è possibile sceglierla arbitrariamente stretta nel tempo e nella frequenza. Infatti, l'estensione nel tempo $\Delta\tau$ e l'estensione in frequenza Δf di una funzione $w(t)$ non sono indipendenti, ma sono legate tra loro dalla relazione:

$$\Delta\tau \cdot \Delta f \geq \frac{1}{4\pi} = c, \text{ costante} \quad (2.3)$$

La misura di dispersione nel tempo $\Delta\tau$ è definita nel modo seguente:

$$\Delta\tau^2 = \frac{\int t^2 \cdot |w(t)|^2 dt}{\int |w(t)|^2 dt} \quad (2.4)$$

Interpretando $|w(t)|^2 / \int |w(t)|^2 dt$ come una funzione densità di probabilità, la misura sopra riportata può infatti essere interpretata come una varianza e la sua radice quadrata come una deviazione standard, ovvero come una dispersione nel tempo.

Analogamente, la misura di dispersione in frequenza Δf è definita nel seguente modo:

$$\Delta f^2 = \frac{\int f^2 \cdot |W(f)|^2 df}{\int |W(f)|^2 df} \quad (2.5)$$

dove $W(f)$ è la Trasformata di Fourier della funzione finestra $w(t)$ e $|W(f)|^2 / \int |W(f)|^2 df$ va anche in questo caso interpretata come una funzione densità di probabilità.

Il principio di Indeterminazione nel piano tempo-frequenza è illustrato graficamente nella Figura 2.3, in cui il prodotto $\Delta\tau \cdot \Delta f$ di una funzione finestra gaussiana (indicata con $g(t)$ nella Figura anziché con $w(t)$) è rappresentato dall'area di rettangoli di larghezza $\Delta\tau$ e altezza Δf . Come si osserva, dovendo rimanere costante l'area del rettangolo, una migliore risoluzione in frequenza è associata ad una peggiore risoluzione nel tempo (pannello a sinistra), mentre una migliore risoluzione nel tempo è associata ad una peggiore risoluzione in frequenza (pannello a destra).

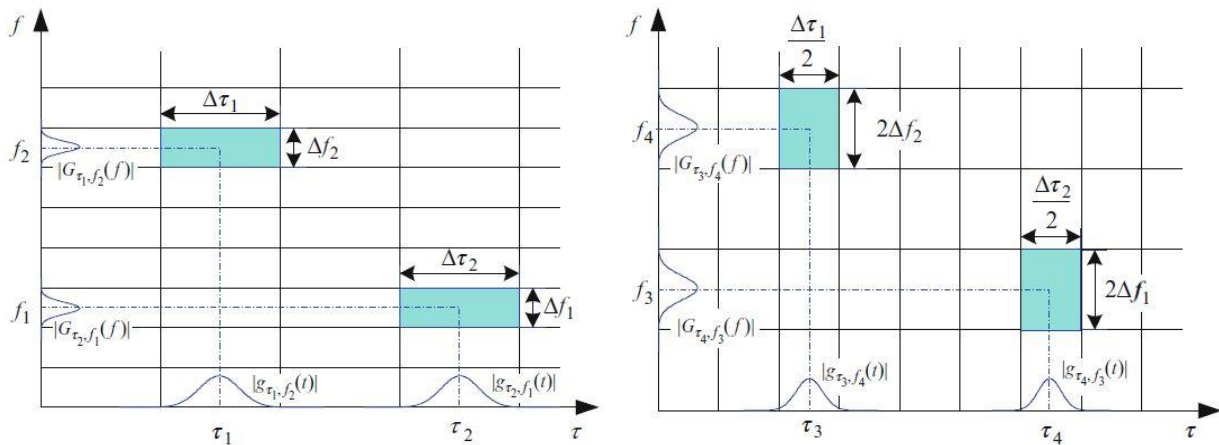


Figura 2.3 – Risoluzione tempo-frequenza nella STFT. I due grafici mostrano il principio di Indeterminazione nel piano tempo-frequenza, con riferimento a una funzione finestra gaussiana (indicata con $g(t)$): il pannello a sinistra si riferisce ad una finestra con risoluzione nel tempo $\Delta\tau = \Delta\tau_1 = \Delta\tau_2$ e risoluzione in frequenza $\Delta f = \Delta f_1 = \Delta f_2$; il pannello a destra si riferisce ad una finestra con risoluzione nel tempo $\Delta\tau/2$ e risoluzione in frequenza $2 \cdot \Delta f$. Si può notare quindi che un incremento della risoluzione nel tempo comporta una diminuzione della risoluzione in frequenza e viceversa. Inoltre, in ogni caso, la risoluzione nel tempo è costante lungo tutto l'asse delle frequenze e la risoluzione in frequenza è costante lungo tutto l'asse dei tempi. ^[19]

In conclusione, finestre con supporto temporale stretto offrono un'alta risoluzione temporale (vale a dire che sarà possibile risolvere due eventi che accadono vicini nel tempo), ma una scarsa risoluzione in frequenza (cioè, non sarà possibile risolvere due eventi che accadono in frequenze vicine). Viceversa, finestre con supporto temporale ampio forniscono una buona risoluzione in frequenza, ma una limitata risoluzione temporale; inoltre, ampie finestre possono violare le condizioni di stazionarietà.

Il problema principale della Short Time Fourier Transform è dato dal fatto che utilizza una funzione finestra di larghezza fissa per l'intera analisi, dando origine ad una risoluzione nel tempo costante per tutte le frequenze e una risoluzione in frequenza costante per tutto l'asse dei tempi. Tuttavia, si può osservare che quando si analizzano basse frequenze si può essere maggiormente interessati ad una elevata risoluzione in frequenza, mentre in generale si può accettare una minore risoluzione temporale, dato che oscillazioni a bassa frequenza si sviluppano su intervalli di tempo più lunghi. Al contrario, quando si analizzano alte frequenze, si può essere meno interessati ad una elevata risoluzione in frequenza, mentre diventa importante una maggiore risoluzione nel tempo, in quanto oscillazioni ad alta frequenza possono comparire transitoriamente su intervalli molto brevi. ^{[6][19][20]}

2.3.2 La Trasformata Wavelet Continua

La *Trasformata Wavelet Continua* (Continuous Wavelet Transform, CWT) offre un compromesso ottimale tra la risoluzione nel tempo e la risoluzione nella frequenza e risulta estremamente efficiente quando si ha a che fare con segnali non stazionari, come il segnale EEG. A differenza della STFT che utilizza una funzione finestra di dimensione fissata, la CWT adotta finestre di dimensione variabile nell'analizzare componenti frequenziali differenti all'interno di un segnale. In tal modo garantisce una buona risoluzione temporale ad alte frequenze del segnale e una buona risoluzione in frequenza a basse frequenze del segnale. Infatti, quando si esaminano basse frequenze, la CWT usa una finestra ampia, fornendo una bassa risoluzione temporale ma un'alta risoluzione in frequenza. Al contrario, quando si valutano alte frequenze, la CWT utilizza una finestra stretta, con conseguente alta risoluzione temporale e bassa risoluzione in frequenza. Quindi, il principale vantaggio della CWT rispetto alla STFT è quello di adattare la risoluzione alle componenti in esame.

Per ottenere un'analisi a risoluzione variabile occorre far in modo che all'aumentare della frequenza la dispersione in frequenza Δf aumenti in modo proporzionale. A tale riguardo viene in aiuto una proprietà fondamentale della Trasformata di Fourier: comprimendo nel tempo una funzione si ottiene una espansione in frequenza. Matematicamente questa proprietà è così espressa:

$$F \left\{ x \left(\frac{t}{s} \right) \right\} = |s| \cdot X(sf) \quad (2.6)$$

dove $F \left\{ x \left(\frac{t}{s} \right) \right\}$ è la Trasformata di Fourier del segnale $x \left(\frac{t}{s} \right)$. Da questa considerazione nasce l'idea di eseguire un'operazione di *scalamento*, sostituendola all'operazione di *modulazione* della STFT (equazione (2.2)). Quindi anziché moltiplicare scalarmente il segnale $x(t)$ con la funzione finestra $w(t)$ ad ampiezza temporale costante e modulata con $e^{j2\pi ft}$, si svolge il prodotto scalare del segnale $x(t)$ con un insieme di funzioni base $\psi_{\tau,s}(t)$, chiamate *wavelet*, ottenute scalando (cioè dilatando o contraendo) e traslando lungo l'asse dei tempi un'unica funzione prototipo $\psi(t)$, detta *mother wavelet*:

$$\psi_{\tau,s}(t) = \frac{1}{\sqrt{|s|}} \psi \left(\frac{t-\tau}{s} \right) \quad (2.7)$$

Il parametro τ ha le dimensioni di un tempo e indica la posizione della funzione wavelet lungo il segnale, il parametro s (con $s > 0$, adimensionale) è il fattore di scala: $s < 1$ corrisponde a una contrazione della wavelet madre, mentre $s > 1$ coincide con una dilatazione della wavelet madre. La moltiplicazione per $\frac{1}{\sqrt{|s|}}$ serve a garantire che ogni versione scalata della wavelet abbia stesso

contenuto energetico. La denominazione wavelet deriva dal fatto che, graficamente, il prototipo è una funzione che oscilla e si smorza come una piccola onda. Un esempio di mother wavelet e della sua corrispondente versione compressa e espansa è riportato in Figura 2.4.

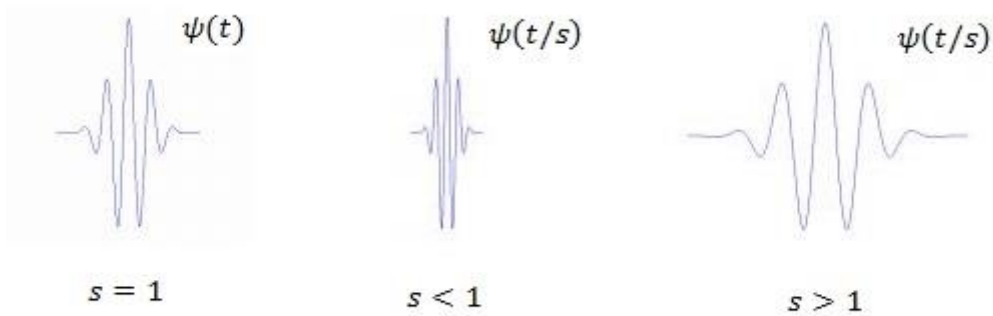


Figura 2.4 – Esempio di wavelet per diversi valori del fattore di scala s . Il fattore di scala determina la compressione ($s < 1$) o l'espansione ($s > 1$) della wavelet.

A partire dalla wavelet madre è possibile definire la Trasformata Wavelet Continua del segnale $x(t)$:

$$CWT_x^\psi(\tau, s) = \frac{1}{\sqrt{|s|}} \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \cdot \psi^* \left(\frac{t-\tau}{s} \right) dt \quad (2.8)$$

dove il simbolo $*$ indica il complesso coniugato. Per ogni coppia di valori s e τ , il coefficiente $CWT_x^\psi(\tau, s)$ fornisce il grado di correlazione tra il segnale e la wavelet scalata e traslata.

Tra la scala s e la frequenza f vi è un rapporto di proporzionalità inversa, ovvero $s \propto \frac{1}{f}$: valori piccoli di s (basse scale) significano wavelet compresse nel tempo e quindi contenenti armoniche ad alta frequenza, mentre valori elevati di s (alte scale) comportano wavelet lentamente variabili, coincidenti con basse frequenze. Pertanto, come si osserva in Figura 2.5, basse frequenze (corrispondenti ad alte scale) sono estratte ed analizzate con wavelet dilatate (largo supporto temporale, stretto supporto in frequenza), mentre alte frequenze (corrispondenti a basse scale) sono estratte ed analizzate con wavelet contratte (stretto supporto temporale, largo supporto in frequenza).

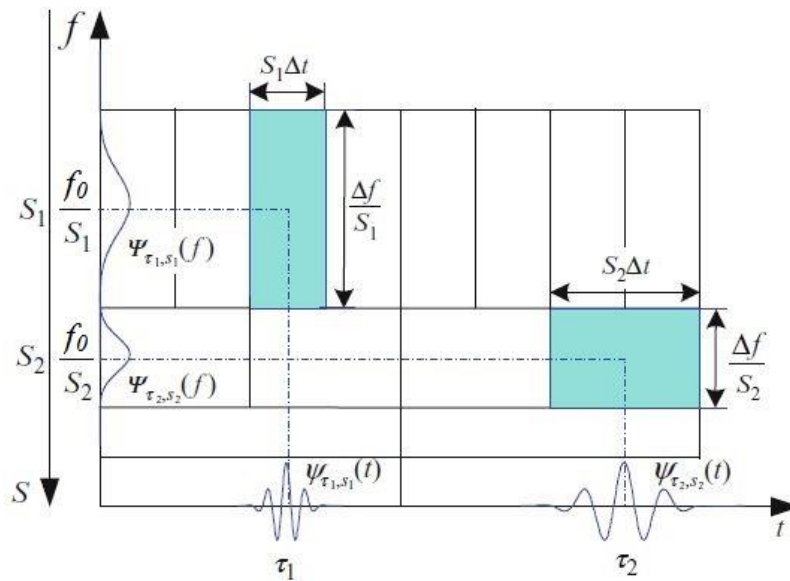


Figura 2.5 – Risoluzione tempo-frequenza nella trasformazione wavelet. Nel grafico sono rappresentate due wavelet con due diversi valori del parametro di scala ($s_1 < s_2$, quindi $f_1 > f_2$). La wavelet più compressa (scala s_1), che estrae frequenze più alte del segnale, ha uno stretto supporto temporale e un più largo supporto in frequenza; viceversa la wavelet più dilatata (scala s_2), che estrae le basse frequenze, ha un supporto temporale più largo e un supporto in frequenza più stretto. Si può notare come la CWT ha una buona risoluzione nel tempo e bassa risoluzione in frequenza alle alte frequenze, mentre ha una alta risoluzione in frequenza e scarsa risoluzione temporale a basse frequenze. L'asse delle ordinate mostra la relazione di proporzionalità inversa tra frequenza e scala: $f = f_0/s$, dove f_0 è la frequenza centrale della wavelet. ^[19]

Di seguito verrà meglio illustrato il procedimento per la trasformazione wavelet, rappresentato schematicamente in Figura 2.6. Una volta scelta la wavelet madre, questa viene dapprima posizionata all'inizio del segnale ($\tau = 0$ s) e viene calcolato il coefficiente $CWT_x^\psi(\tau, s)$ in base all'equazione (2.8). Successivamente la wavelet viene traslata verso destra della quantità τ e viene ricalcolato il coefficiente $CWT_x^\psi(\tau, s)$. Questa procedura viene ripetuta fino a quando la wavelet non raggiunge la fine del segnale, quindi essa viene scalata, aumentando o diminuendo il valore di s . Il processo viene replicato per tutte le scale.

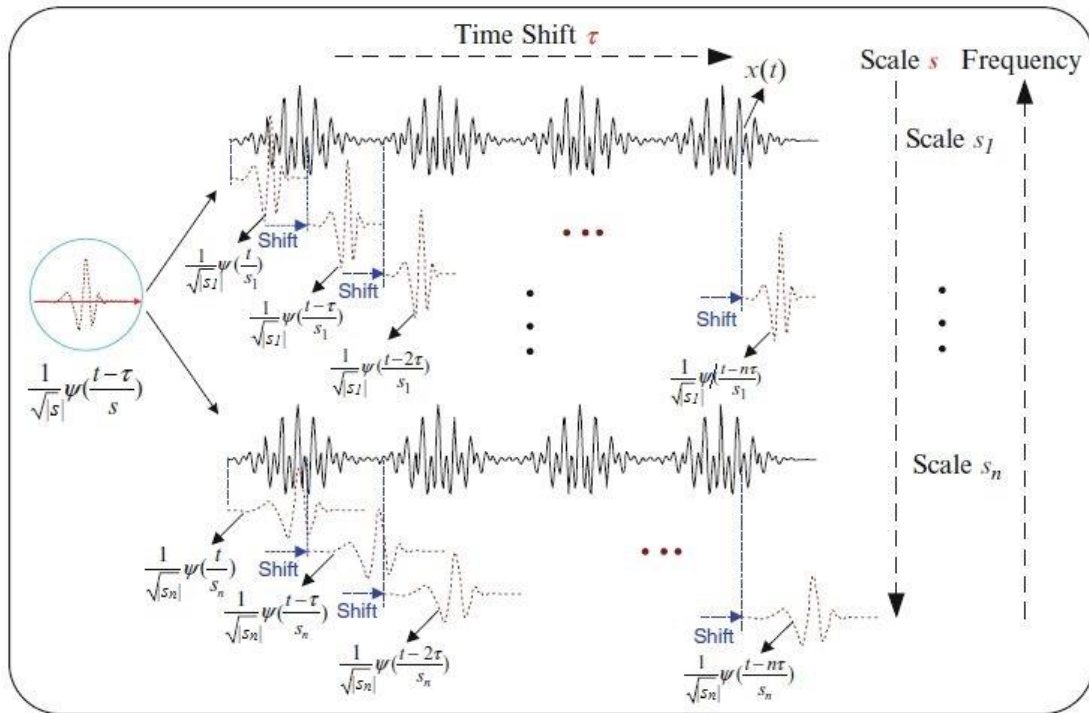


Figura 2.6 – Illustrazione schematica della Trasformata Wavelet Continua. Ogni versione scalata e traslata della mother wavelet: $\left(\frac{1}{\sqrt{|s|}} \psi\left(\frac{t-\tau}{s}\right)\right)$ viene confrontata con la corrispondente sezione di segnale, per calcolarne la somiglianza. La Figura mostra anche il rapporto di reciprocità inversa tra scala e frequenza: scale più alte ($s_n > s_1$) corrispondono a frequenze più basse ($f_1 > f_n$). [19]

Dopo aver eseguito queste operazioni si otterranno, dalle diverse sezioni del segnale, i coefficienti $CWT_x^\psi(\tau, s)$ prodotti a differenti scale. Se al tempo τ il segnale ha una componente spettrale corrispondente al valore di s , ovvero è simile alla wavelet con scala s , il coefficiente $CWT_x^\psi(\tau, s)$ assume un valore relativamente grande. Mentre, se la componente spettrale non è presente nel segnale, il valore di $CWT_x^\psi(\tau, s)$ sarà relativamente piccolo, o pari zero. La Trasformata Wavelet così definita fornisce un'analisi tempo-scala, tuttavia si può ottenere anche una rappresentazione tempo-frequenza convertendo la scala in frequenza attraverso la relazione: $s = f_0/f$, dove f_0 è la frequenza centrale della mother wavelet, definita come la frequenza in corrispondenza della quale è massimo il modulo della sua Trasformata di Fourier.

Come sopra descritto, il coefficiente $CWT_x^\psi(\tau, s)$ rappresenta una misura di somiglianza tra il segnale e la wavelet per quei parametri di scala s e traslazione τ ; più è grande e più sono simili la wavelet e la sezione del segnale su cui essa è posizionata. Per questo motivo è necessario scegliere una wavelet madre il cui andamento corrisponda alle caratteristiche che si vogliono rilevare del segnale analizzato. Nel caso di segnali EEG, la funzione Morlet è la famiglia di wavelet più utilizzata [6], in quanto in grado di descrivere opportunamente l'attività oscillatoria dell'EEG. In particolare in questo lavoro si

farà riferimento alla *wavelet Morlet complessa* (Figura 2.7), la quale è composta da un esponenziale complesso modulato da un involuppo gaussiano ed è definita dalla seguente espressione:

$$\psi(t) = A \cdot e^{\left(-\frac{t^2}{2\sigma_t^2}\right)} \cdot e^{(j2\pi f_0 t)} \quad (2.9)$$

Questa funzione presenta una distribuzione gaussiana sia nel dominio del tempo (con deviazione standard σ_t) che nel dominio della frequenza (con deviazione standard $\sigma_f = \frac{1}{2\pi\sigma_t}$), f_0 è la sua frequenza centrale e A è un fattore di normalizzazione introdotto per avere wavelet con energia totale unitaria, definito come:

$$A = \frac{1}{\sqrt{\sigma_t \sqrt{\pi}}} \quad (2.10)$$

I due parametri σ_t e σ_f esprimono la dispersione della Morlet nei due domini ^[6], la scelta del loro valore è quindi di primaria importanza. Un ulteriore parametro che caratterizza la funzione è il numero di cicli della wavelet ed è così espresso:

$$cicli = \frac{f_0}{\sigma_f} \quad (2.11)$$

Tale parametro è un numero reale e positivo.

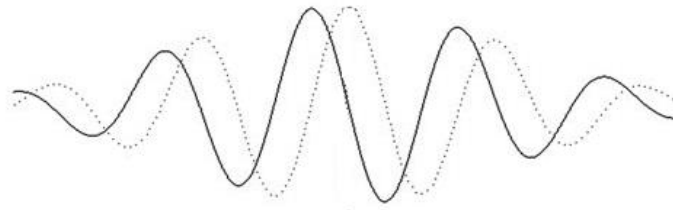


Figura 2.7 – Esempio di wavelet Morlet complessa: contiene sia la componente d'onda reale (linea continua), sia la componente d'onda immaginaria (linea tratteggiata). ^[20]

Trasformando il segnale EEG attraverso la wavelet Morlet complessa si ottengono dei coefficienti $CWT_x^\psi(\tau, s)$ che sono anch'essi *complessi*, ovvero numeri formati da una parte reale e da una parte immaginaria. I numeri complessi possono essere rappresentati dalla somma di un numero reale a e di un numero reale b moltiplicato per l'unità immaginaria, indicata con la lettera j : $a + jb$. Essi vengono visualizzati come punti di coordinata (a, b) nel piano complesso, dove l'asse x corrisponde alla componente reale e l'asse y corrisponde alla componente immaginaria. Tracciando una linea

dall'origine del piano complesso $(0,0)$ al punto (a, b) si possono ricavare il modulo e l'argomento del numero complesso; il modulo coincide con la lunghezza del vettore che congiunge le coordinate del numero complesso con l'origine del piano, mentre l'argomento è l'angolo formato dal vettore e l'asse x . Queste due grandezze sono delle stime, rispettivamente, dell'*ampiezza* (ovvero la radice quadrata della potenza) e della *fase istantanea* delle oscillazioni dell'EEG in quel determinato istante di tempo τ e scala s . Un esempio di applicazione della Trasformata Wavelet Continua al segnale EEG è illustrato in Figura 2.8. In particolare, nell'esempio la Trasformata Wavelet con wavelet Morlet complessa è applicata a cinque diversi trial, ad uno stesso specifico istante di tempo in ogni trial (corrispondente ad una specifica latenza $\tau = 100$ ms dallo stimolo) e per una specifica scala s della wavelet Morlet complessa. I singoli trial (colonna A) sono convoluti con la wavelet (colonna B) per produrre un singolo numero complesso corrispondente ad un singolo punto nel piano complesso (colonna C), dove l'asse reale è denotata con r e l'asse immaginario con i . Per svolgere questa convoluzione il centro della wavelet, evidenziato dalla linea verticale tratteggiata in grigio chiaro nella colonna B, viene sovrapposto al segnale EEG di ciascun singolo trial in corrispondenza dell'istante $\tau = 100$ ms indicato dalla linea verticale tratteggiata in grigio chiaro nella colonna A.

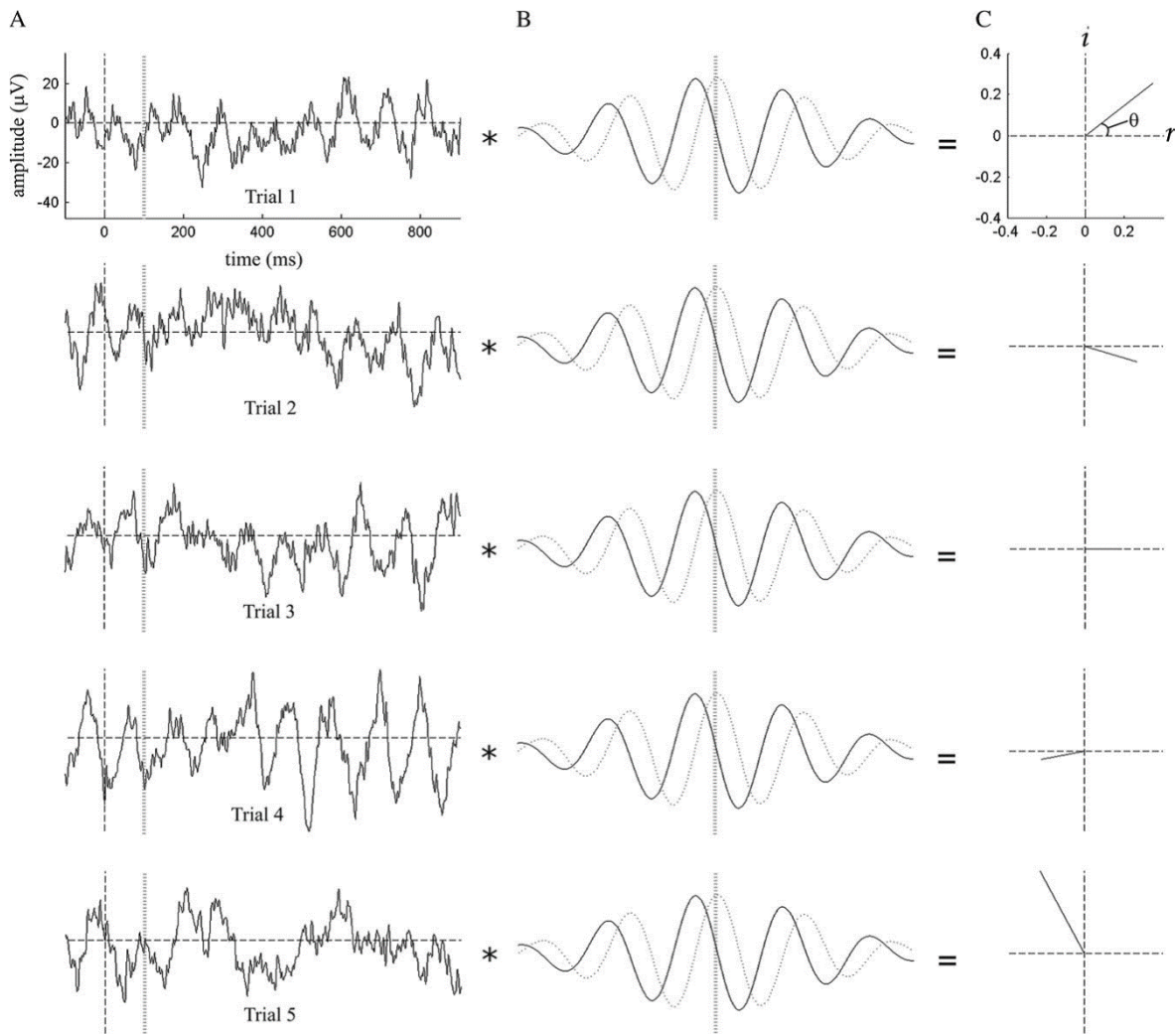


Figura 2.8 – Esempio di CWT applicata a cinque diversi trial EEG, per un singolo istante di tempo τ ($= 100$ ms post-stimolo) e per una specifica scala della wavelet. I singoli trial EEG (colonna A) sono convoluti con una wavelet Morlet complessa (colonna B), contenente entrambe le componenti d'onda reale (linea continua) e immaginaria (linea tratteggiata), per produrre un singolo coefficiente complesso (colonna C) composto da una parte reale (asse x , denotata con r) e da una parte immaginaria (asse y , denotata con i). La lunghezza del vettore che congiunge l'origine $(0,0)$ al punto individuato dal coefficiente complesso rappresenta l'ampiezza del segnale EEG in corrispondenza della latenza di 100 millisecondi post-stimolo e l'angolo che questo vettore forma con l'asse x rappresenta la fase istantanea (θ) del segnale EEG nel medesimo istante di tempo. Per eseguire questa convoluzione il punto centrale della wavelet (linea verticale tratteggiata in grigio chiaro, colonna B) è sovrapposto al punto di ciascun singolo trial del segnale EEG nel dominio del tempo in corrispondenza di 100 millisecondi (linea verticale tratteggiata in grigio chiaro, colonna A). ^[20]

Dopo aver svolto questo procedimento per tutti i singoli trial, si ottiene una serie di coefficienti complessi, relativi a quell'istante di tempo τ e alla scala s , da cui è possibile isolare l'informazione di ampiezza e l'informazione di fase, come illustrato in Figura 2.9 e successivamente approfondito nei paragrafi seguenti. Una volta estratte le distinte caratteristiche di ampiezza e di fase delle oscillazioni EEG per ogni istante di tempo e per ogni scala (ovvero frequenza), queste possono essere quantificate per chiarire diversi aspetti sulla dinamica delle funzioni cerebrali e sulla sincronia neurale. ^[20]

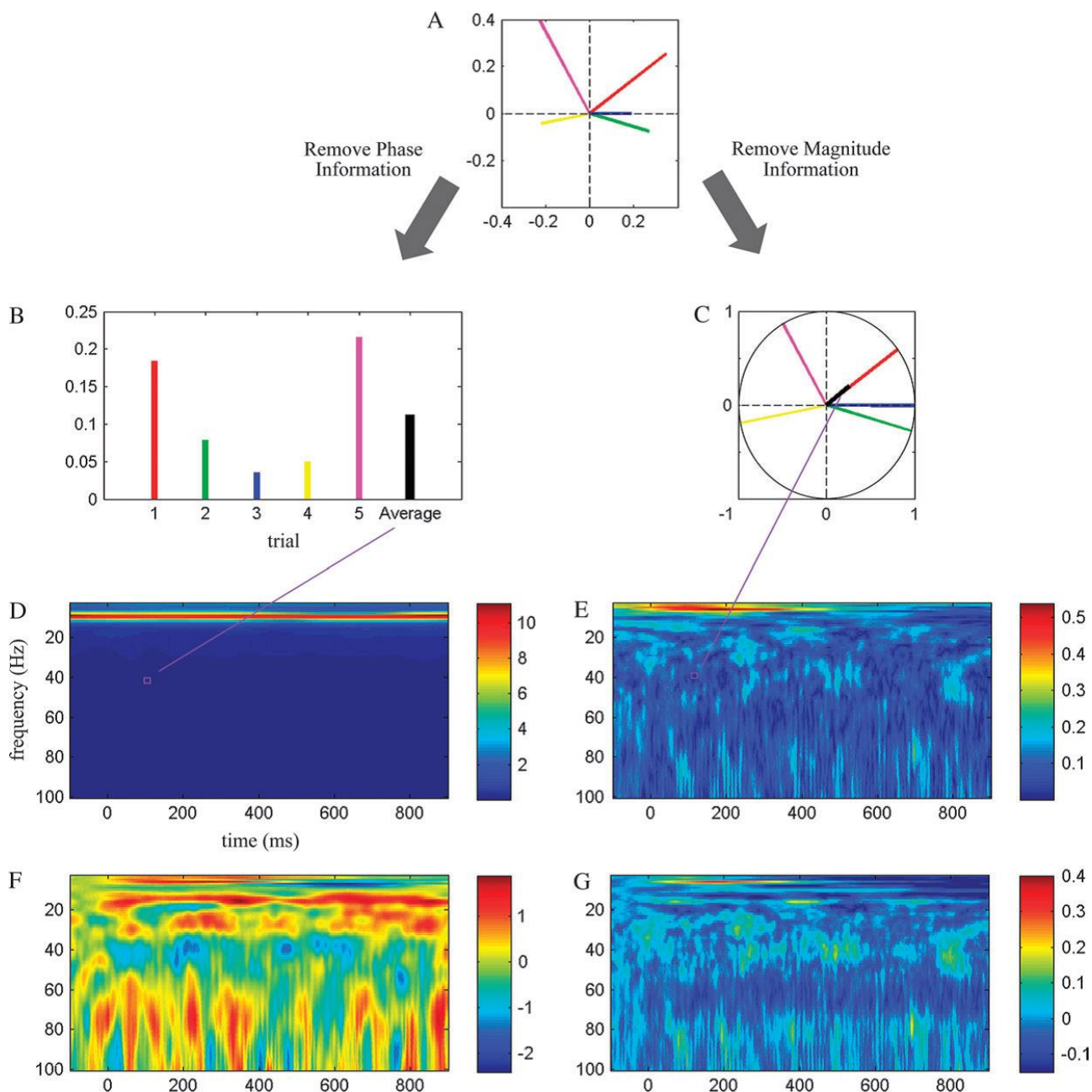


Figura 2.9 – Procedura di isolamento dell'informazione di ampiezza (a sinistra) e di fase (a destra). **A:** mostra nel piano complesso i vettori individuati dai coefficienti complessi ottenuti da 5 diversi trial di un soggetto (ciascuno mostrato in colori diversi) per la frequenza di 40 Hz e 100 ms di latenza dall'inizio dello stimolo. **B:** dopo aver rimosso l'informazione di fase dai coefficienti complessi, si calcola il quadrato dei valori di ampiezza restanti, che vengono mediati (linea nera), fornendo una stima della potenza media a 40 Hz e 100 ms. **C:** dopo aver rimosso l'informazione di ampiezza dai coefficienti complessi, i vettori restanti risultano della stessa lunghezza (unitaria), vengono mediati, ottenendo il Phase Locking Factor PLF (lunghezza del vettore nero). Si ripetono i passaggi B e C per ogni trial, per ogni istante di tempo e per ogni frequenza, in questo modo si produce una matrice tempo-frequenza di valori di potenza (**D**) e valori di PLF (**E**). Si possono rilevare maggiori informazioni sugli eventi-correlati normalizzando i valori di potenza e di PLF con la baseline, ovvero un valore medio calcolato in un certo intervallo di tempo prima dell'applicazione dello stimolo (**F**, **G**). [20]

2.3.3 Rappresentazione tempo-frequenza della Potenza evento-correlata

L'esempio di applicazione della Trasformata Wavelet Continua (con wavelet complessa) illustrato in Figura 2.8, permette di comprendere come si ottengono le rappresentazioni tempo-frequenza di risposte EEG evento-correlate sia in ampiezza (potenza) che in fase. Questa procedura è ben illustrata in Figura 2.9. In questo paragrafo si chiarisce come si ottiene la rappresentazione tempo-frequenza della potenza evento-correlata (percorso A-B-D-F in Figura 2.9).

Nello specifico, una volta ricavati i coefficienti complessi relativi ad un determinato istante di tempo e ad una determinata frequenza per i vari trial (Figura 2.9 pannello A), si procede attraverso l'estrazione del modulo dei coefficienti complessi (ovvero la lunghezza dei vettori individuati dai coefficienti nel piano complesso), isolando così l'informazione di ampiezza. Quindi, calcolandone il quadrato e mediando rispetto ai vari trial si ricava la *potenza media* delle oscillazioni EEG per una data frequenza (ovvero scala) in un determinato istante (Figura 2.9, pannello B):

$$P(\tau, s) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N |CWT_x^\psi(\tau, s)_k|^2 \quad (2.12)$$

dove N è il numero di trial mediati. Ripetendo questa procedura, per ogni istante di tempo τ e scala s , si può costruire una matrice bidimensionale di valori nel piano tempo-frequenza (ricordando la relazione $s = f_0/f$) che esprimono una stima della potenza media delle oscillazioni EEG in funzione del tempo e della frequenza (Figura 2.9, pannello D). Per completezza, il pannello F di Figura 2.9 mostra come le informazioni circa le variazioni di potenza correlate allo stimolo possano emergere in maniera più evidente, normalizzando i valori di potenza ottenuti rispetto ad una baseline pre-stimolo.

È importante sottolineare che nel tipo di analisi sopra descritto, la CWT viene quindi applicata ad ogni singola epoca (o trial), precedentemente al calcolo della media nel tempo sui trial. In tal modo si supera il limite della tecnica di averaging, la quale, mediando sui trial nel dominio del tempo, cancella l'attività non phase-locked evento-correlata, nonostante essa sia time-locked allo stimolo. Infatti, una volta eseguita la trasformazione wavelet, vengono calcolati i quadrati del modulo dei coefficienti e si ottengono così solo valori positivi, che non si possono elidere reciprocamente. Mediando dunque le rappresentazioni tempo-frequenza ottenute sui singoli trial, si ottiene una rappresentazione dell'attività *totale* evento-correlata. Per ogni frequenza (ovvero ciascuna riga della matrice) la procedura di calcolo della media nel dominio tempo-frequenza preserva sia le fluttuazioni di ampiezza del segnale phase-locked allo stimolo (ovvero ERP e ERPR), ma anche quelle non phase-locked (ovvero ERS, ERD e ERP con jitter in latenza).^[20]

Per chiarire ancora meglio questo concetto, la Figura 2.10 mostra la differenza tra i risultati ottenuti applicando due diverse tecniche. In un caso, i risultati sono ottenuti applicando dapprima la tecnica di averaging direttamente ai segnali EEG di singoli trial nel dominio del tempo e in un secondo momento applicando la trasformazione wavelet ai segnali già mediati sui trial; questa tecnica è denominata nella Figura 2.10 CWT-AVERAGE. Nell'altro caso, i risultati sono ottenuti applicando dapprima la trasformazione wavelet ai singoli trial e in un secondo momento applicando l'operazione di media; questa tecnica è denominata nella Figura 2.10 CWT-SINGLE e corrisponde alla procedura di Figura 2.9 A-B-D, ovvero all'ottenimento della rappresentazione tempo-frequenza della potenza mediante la (2.12). Si può notare come nel primo caso sono conservate solo le attività phase-locked allo stimolo, mentre nel secondo caso è visibile l'attività totale evento-correlata. [6]

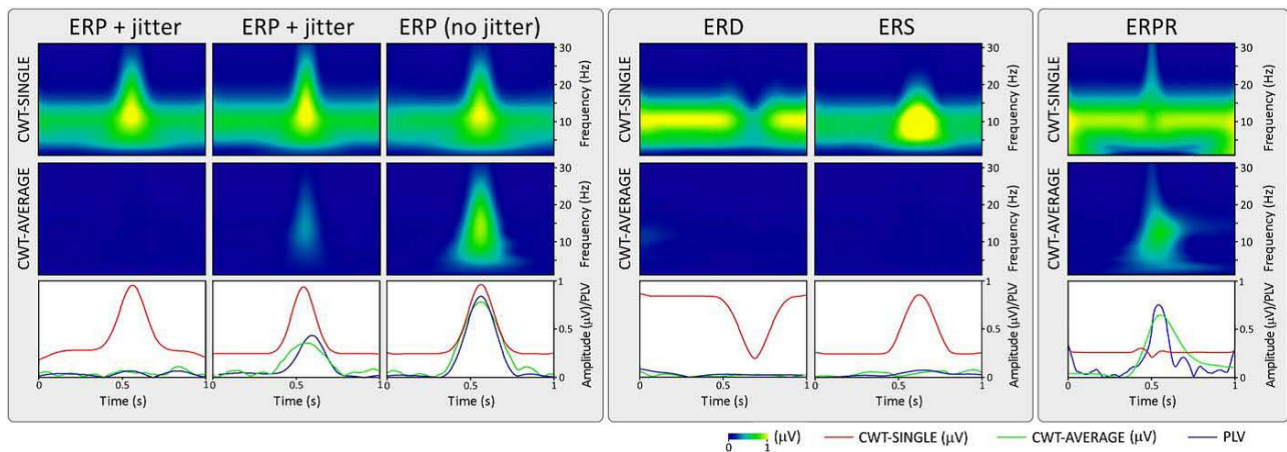


Figura 2.10 – Nella prima riga è applicata la **CWT-SINGLE**: la decomposizione tempo-frequenza è eseguita su ogni singola epoca (trial), l'ampiezza risultante viene poi mediata tra le epoche. Questa procedura rileva sia le risposte evento-correlate phase-locked allo stimolo (ERP, ERPR), sia le risposte evento-correlate non phase-locked allo stimolo (ERD, ERS, ERP con jitter in latenza), ovvero rileva le risposte evento-correlate nella loro totalità. Si può notare la presenza di un'attività continua centrata attorno a 10 Hz in tutti i grafici, corrispondente all'EEG di background. Nella seconda riga è applicata la **CWT-AVERAGE**: la decomposizione tempo-frequenza è eseguita sulla forma d'onda risultante dalla media delle singole epoche nel dominio del tempo. Questa procedura rileva solo gli ERP privi di jitter in latenza e gli ERPR. Nella terza riga sono rappresentati, in funzione del tempo, i valori di ampiezza delle oscillazioni a 10 Hz ottenuti dalla CWT-SINGLE (forma d'onda rossa) e dalla CWT-AVERAGE (forma d'onda verde) e il loro Phase Locking Value (PLV, forma d'onda blu). Il PLV, detto anche Inter-Trial Coherence, si veda paragrafo 2.3.4, è una misura della sincronia di fase tra i vari trial relativamente alle oscillazioni ad una specifica frequenza, 10 Hz in questo caso. Si può notare come il PLV e CWT-AVERAGE seguono lo stesso andamento, evidenziando che la media nel dominio del tempo è in grado di conservare solo le attività phase-locked allo stimolo. [6]

Come sottolineato precedentemente, la tecnica denominata in Figura 2.10 CWT-AVERAGE permette di evidenziare solo la potenza di eventi phase-locked allo stimolo. Nei testi scientifici, questa potenza è anche denominata **potenza evocata evento-correlata (evoked event-related power)**. [20] Essa si ottiene appunto calcolando dapprima l'ERP (media di tutti i trial nel tempo), applicando la trasformazione tempo-frequenza all'ERP ed elevando al quadrato i valori di ampiezza associati ad ogni punto tempo-frequenza.

Viceversa, la tecnica denominata in Figura 2.10 CWT-SINGLE, permette di evidenziare sia la potenza di eventi phase-locked allo stimolo sia di eventi non phase-locked allo stimolo. Quest'ultima (potenza non phase-locked), nei testi scientifici, è denominata **potenza indotta evento-correlata** (*induced event-related power*).^[20] Questa tecnica – che come detto applica la scomposizione tempo-frequenza ad ogni trial EEG e quindi media sui trial il quadrato delle informazioni di ampiezza di ciascuna scomposizione – misura la **potenza totale evento-correlata**, che contiene sia quella evocata (phase-locked) che quella indotta (non phase-locked). Nel toolbox EEGLAB, la potenza totale calcolata con questa tecnica viene denominata Event Related Spectral Perturbation (ERSP).^[21] È utile osservare che è anche possibile ottenere una rappresentazione della sola potenza indotta (non phase-locked) rimuovendo la potenza evocata dalla potenza totale. Un modo per ottenere ciò consiste nel sottrarre ad ogni singolo trial il segnale ERP (ottenuto mediando tutti i trial nel tempo e quindi contenente solo attività phase-locked); dopo questa sottrazione, resta la sola attività non phase-locked per ogni singolo trial. A questo punto, applicando la scomposizione tempo-frequenza ad ogni trial contenente solo attività non phase-locked, e successivamente mediando sui trial il quadrato delle ampiezze delle singole scomposizioni, si ottiene una rappresentazione della sola potenza indotta (non phase-locked).^[22]

2.3.4 Coerenza di fase inter-trial

Nel paragrafo precedente abbiamo esaminato come, sfruttando le ampiezze dei coefficienti complessi derivanti dalla scomposizione wavelet, sia possibile ottenere una rappresentazione tempo-frequenza della potenza (totale, evocata o indotta). In questo paragrafo, si descrive come l'informazione circa la fase di ciascun coefficiente wavelet complesso, possa essere sfruttata per ottenere informazioni circa la consistenza (o sincronizzazione) di fase evento-correlata (percorso A-C-E-G in Figura 2.9). Nello specifico, una volta ricavati i coefficienti complessi relativi ad un determinato istante di tempo e ad una determinata frequenza per i vari trial (Figura 2.9 pannello A), si procede dividendo ciascun coefficiente per la sua ampiezza corrispondente; in tal modo, si genera una nuova serie di coefficienti complessi di uguale ampiezza (normalizzata a 1), ma che conservano l'informazione di fase. Mediando questi valori, si ottiene una misura della sincronia di fase tra i trial, ad una particolare latenza dallo stimolo e scala (Figura 2.9, pannello C). Questa misura è stata introdotta da Tallon-Baudry et al. (1996) e definita *Phase Locking Factor* (PLF) o *coerenza di fase inter-trial* (Inter-Trial Phase Coherence, ITPC).^[21] L'ITPC è espressa nel seguente modo:

$$ITPC(\tau, s) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \frac{CWT_x^\psi(\tau, s)_k}{|CWT_x^\psi(\tau, s)_k|} \quad (2.13)$$

Come per la potenza, compiendo questa procedura per ogni istante di tempo τ e scala s , si può costruire una matrice bidimensionale di valori nel piano tempo-frequenza (ricordando la relazione $s = f_0/f$) che esprimono la coerenza di fase inter-trial delle oscillazioni EEG in funzione del tempo e della frequenza (Figura 2.9, pannello E). Nello specifico, ogni valore di questa matrice è un numero complesso, di cui viene calcolato il valore assoluto per ottenere un numero reale. Questo numero è compreso tra 0 e 1: il valore 0 riflette una distribuzione completamente casuale della fase tra le epoche, mentre il valore 1 corrisponde ad una perfetta sincronizzazione di fase tra i trial ad una determinata latenza dallo stimolo e ad una determinata frequenza. Per completezza, il pannello G di Figura 2.9 mostra come la normalizzazione rispetto alla baseline della ITPC lasci sostanzialmente inalterata la rappresentazione, a differenza di quello che avviene per la potenza. Infatti, i valori di ITPC non vengono in genere normalizzati rispetto alla baseline.

Sulla base di quanto descritto, l'ITPC esprime quindi una misura di quanto è phase-locked il segnale EEG attraverso i trial, ovvero di quanto è stazionario il segnale EEG. Pertanto, se ad una particolare latenza e frequenza, il segnale è principalmente costituito da una risposta evento-correlata phase-locked allo stimolo (cioè, un ERP o un ERPR) l'ITPC tenderà a 1. Al contrario, se a quella latenza e frequenza, il segnale è principalmente costituito da oscillazioni EEG non phase-locked allo stimolo (ossia, un ERD, un ERS o un ERP con jitter in latenza), l'ITPC tenderà verso 0 (Figura 2.10, terza riga). In altre parole, possiamo dire che esiste un'intima relazione tra l'ITPC e l'ERP; in particolare, il verificarsi di un picco ERP significativo richiede il verificarsi di una elevata ITPC ad una o più frequenze in corrispondenza a quell'istante di tempo.

È importante sottolineare che, nonostante l'ITPC sia ottenuta esclusivamente da una stima della fase del segnale EEG e non dall'ampiezza del segnale, questa misura può essere ancora fortemente influenzata dal rapporto tra l'ampiezza della risposta EEG esplorata (cioè, la risposta evento-correlata) e l'ampiezza dell'attività di background. Infatti, se il rapporto segnale/rumore di un ERP perfettamente phase-locked allo stimolo è basso, l'ITPC assumerà un valore basso, perché la stima della fase istantanea rifletterà principalmente quella dell'EEG di sfondo e non dell'attività phase-locked. Invece, se il rapporto segnale/rumore di quel ERP è alto, allora l'ITPC acquisterà un valore elevato, poiché la fase istantanea stimata rispecchierà soprattutto l'attività phase-locked. Per questo motivo quando si interpreta la differenza di ITPC ricavati in condizioni sperimentali diverse, è doveroso accertarsi che la differenza osservata non sia semplicemente il risultato di una differenza nel rapporto segnale/rumore tra attività phase-locked e non phase-locked. ^{[6][20][21]}

2.4 Analisi alle Componenti Indipendenti

L'elettroencefalografia è riconosciuta come una delle migliori tecniche di registrazione dell'attività cerebrale dal punto di vista della risoluzione temporale (vengono rilevate deflessioni dell'ordine dei millisecondi), ma, per quanto riguarda la sua risoluzione spaziale, è fortemente limitata e non consente una corretta localizzazione delle sorgenti elettriche del segnale EEG. Gli elettrodi rilevano esclusivamente la corrente che giunge alla superficie del cranio, la quale riflette l'attività di *molteplici generatori* non necessariamente localizzati nelle regioni sottostanti agli elettrodi, ma spazialmente distribuiti all'interno del tessuto cerebrale. Ciascun generatore è costituito da un insieme di neuroni che mostrano attività sincrona e producono in tal modo un potenziale elettrico sufficientemente elevato da poter essere registrato in superficie. Esso si propaga attraverso il volume conduttore cerebrale, ossia attraverso tutti gli strati che un potenziale di origine cerebrale deve percorrere per raggiungere lo scalpo. Poiché, in ogni istante di tempo, sono attivi più generatori in posizioni diverse, i potenziali che si originano si propagano verso lo scalpo mescolandosi tra loro. Di conseguenza, ciò che si osserva e si registra da un singolo elettrodo è la combinazione di numerosi contributi, che risultano però indistinguibili nel segnale EEG.

Per questo motivo, anche i potenziali evento-correlati registrati sullo scalpo riflettono le risposte evento-correlate di diverse sorgenti cerebrali che sono attive simultaneamente, ma si trovano in regioni funzionalmente e spazialmente distinte del tessuto cerebrale. ^[6]

Separare i segnali EEG acquisiti sullo scalpo nelle loro *componenti indipendenti* (presumibilmente originate da distinte regioni cerebrali compatte attive) basandosi sulla sola informazione EEG risulta un problema complesso, la cui soluzione è importante per ottenere una corretta interpretazione funzionale delle risposte cerebrali registrate. La problematica va sotto il nome di *separazione alla cieca di sorgenti* (Blind Source Separation, BSS) e consiste nel recuperare un insieme di segnali sorgente a partire dall'osservazione di loro miscele, senza avere nessuna informazione a priori né sulle sorgenti originarie né su come esse siano state miscelate (da qui il termine "alla cieca").

In generale, consideriamo m segnali originali (sorgenti) $s_1(t), s_2(t), \dots, s_m(t)$ e assumiamo che siano disponibili n sensori ($n \geq m$) che acquisiscono i segnali $x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)$ che sono una combinazione lineare dei segnali sorgente:

$$\vec{x}(t) = A \cdot \vec{s}(t) \quad (2.14)$$

$$\begin{cases} \vec{x}(t) = [x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)]^T \\ \vec{s}(t) = [s_1(t), s_2(t), \dots, s_m(t)]^T \end{cases}$$

dove A è una matrice chiamata *matrice di mixing* e contiene i coefficienti della combinazione lineare. A partire dai segnali $x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)$ (che sono le misure) il problema BSS consta nello stimare i segnali $s_1(t), s_2(t), \dots, s_m(t)$ (che sono le sorgenti), senza che sia nota la matrice A . Se A fosse quadrata e nota, ma in generale non accade mai, il problema sarebbe risolto semplicemente per via algebrica:

$$\vec{s}(t) = W \cdot \vec{x}(t) \quad (2.15)$$

in cui $W = A^{-1}$ è una matrice detta *matrice di demixing*. La mancanza di conoscenza della matrice A rende il problema molto più complesso.

L'esempio classico che illustra il BSS è il cosiddetto *Cocktail Party Problem* (Figura 2.11); con questa espressione si indica la situazione in cui all'interno di una stanza sono presenti due soggetti che emettono i segnali $s_1(t)$ e $s_2(t)$ e si dispone di due microfoni, posti in posizioni diverse, i quali forniscono due segnali $x_1(t)$ e $x_2(t)$, che vengono registrati nell'istante di tempo t . Ciascuno di questi segnali registrati è la somma dei segnali emessi dalle due persone e questa relazione può essere espressa con un sistema di equazioni lineari:

$$\begin{cases} x_1(t) = a_{11}s_1(t) + a_{12}s_2(t) \\ x_2(t) = a_{21}s_1(t) + a_{22}s_2(t) \end{cases} \quad (2.16)$$

Dove $a_{11}, a_{12}, a_{21}, a_{22}$ sono parametri che dipendono dalla distanza dei microfoni dalle due persone. Il Cocktail Party Problem consiste nello stimare i due segnali originali $s_1(t)$ e $s_2(t)$ a partire solo dai segnali registrati $x_1(t)$ e $x_2(t)$. Solo nel caso in cui si conoscano i parametri a_{ij} tale problema può essere risolto in modo semplice, ma nel caso essi non siano noti il problema è molto più complesso.

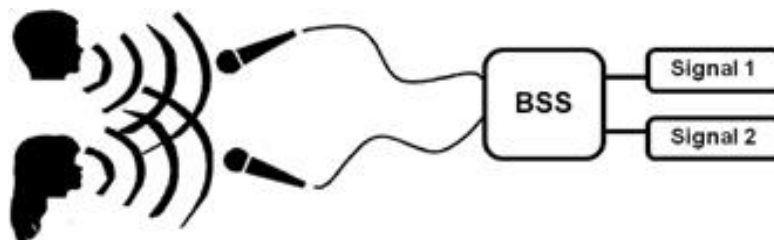


Figura 2.11 – *Cocktail Party Problem*

Una tecnica utilizzata per risolvere problemi di BSS è l'*analisi alle componenti indipendenti* (ICA), che fu introdotta nei primi anni 80 da Jeanny Hérault e Christian Jutten e fu proposta in maniera più completa da Pierre Comon nel 1994. Essa permette, facendo alcune ipotesi sulle proprietà statistiche delle sorgenti (in particolare che esse siano indipendenti), di stimare gli a_{ij} e, in tal modo, consente

di ricavare una stima dei segnali sorgenti $s_1(t), s_2(t), \dots, s_m(t)$ a partire dalle loro miscele $x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)$.^[23]

Se si considera ogni campione del segnale $x_j(t)$ come la realizzazione di una variabile aleatoria \underline{x}_j anziché un segnale temporale, si può eliminare la dipendenza da t ed alleggerire la notazione; stessa cosa vale per $s(t)$. Allora il modello su cui si basa l'ICA, denominato *modello generativo dei dati*, è così espresso:

$$\underline{\vec{x}} = A \cdot \underline{\vec{s}} \quad (2.17)$$

dove $\underline{\vec{x}}$ è il vettore colonna casuale con elementi $\underline{x}_1, \underline{x}_2, \dots, \underline{x}_n$, $\underline{\vec{s}}$ è il vettore colonna casuale con elementi $\underline{s}_1, \underline{s}_2, \dots, \underline{s}_n$ e A è la matrice con elementi a_{ij} . Esso è detto modello generativo in quanto descrive come i dati osservati si assumono generati da un processo di miscelazione delle componenti indipendenti \underline{s}_j . In tale modello la matrice di mixing è sconosciuta, le componenti indipendenti sono variabili latenti, cioè non possono essere osservate direttamente, e l'unica grandezza osservabile è il vettore $\underline{\vec{x}}$, a partire dal quale si devono stimare sia la matrice A che il vettore $\underline{\vec{s}}$. Il modello generativo dei dati dell'equazione (2.17) ci dice che, nel caso in cui la matrice A sia invertibile, le sorgenti latenti possono essere espresse a partire da $\underline{\vec{x}}$ come:

$$\underline{\vec{s}} = A^{-1} \cdot \underline{\vec{x}} \quad (2.18)$$

La (2.18) indica che le sorgenti possono essere stimate come combinazioni lineari delle variabili osservate $\underline{\vec{x}}$. Quindi, l'analisi alle componenti indipendenti di un vettore di n variabili $\underline{\vec{x}}$ consiste nel trovare la *matrice di demixing* $W = A^{-1}$ che trasforma le variabili $\underline{x}_1, \underline{x}_2, \dots, \underline{x}_n$ in un set di variabili $\underline{y}_1, \underline{y}_2, \dots, \underline{y}_n$ che siano *massimamente indipendenti*, nel senso di ottimizzare una qualche funzione $F(\cdot)$ che misura la loro indipendenza:

$$\underline{\vec{y}} = W \cdot \underline{\vec{x}} \quad (2.19)$$

Si ha allora che $\underline{\vec{y}}$ è una stima di $\underline{\vec{s}}$ e W è una stima di A^{-1} .

Perché il modello dell'ICA sia identificabile, cioè affinché si possa stimare la matrice W , è necessario introdurre alcuni vincoli, definiti *vincoli di identificabilità delle componenti indipendenti*:

- le sorgenti devono essere statisticamente indipendenti;
- le sorgenti devono presentare una distribuzione non gaussiana (questo perché le statistiche di ordine superiore, di cui fa uso l'ICA, sono nulle per variabili gaussiane);
- il numero delle sorgenti deve essere uguale al numero di sensori (cioè si deve avere una matrice di mixing quadrata);

- la matrice A quadrata deve essere invertibile;
- i segnali acquisiti dai sensori sono combinazioni lineari istantanee delle sorgenti, quindi si ipotizza nullo ogni ritardo temporale eventualmente presente nel mescolamento.

Oltre ai vincoli precedenti è necessario fare un'ulteriore assunzione che serve per rimuovere una ambiguità intrinseca nel modello ICA. Poiché infatti sia $\underline{\underline{s}}$ che A sono sconosciuti, sia le colonne della matrice A sia le sorgenti \underline{s}_j possono essere stimate solo a meno di un fattore moltiplicativo (un fattore moltiplicativo α_i in una delle sorgenti \underline{s}_j può essere compensato dividendo la corrispondente colonna α_i di A per il medesimo scalare α_i). Ciò significa che le sorgenti possono essere stimate solo a meno di un fattore moltiplicativo o fattore di scala; in altre parole la varianza delle sorgenti è indeterminata. Per rimuovere questa ambiguità, è necessario fissare arbitrariamente un fattore di scala per le sorgenti stimate. Molti algoritmi impongono che le sorgenti stimate siano a varianza unitaria $E\{\underline{s}_i^2\} = 1$ (ciò significa che in questi algoritmi la matrice W viene adattata per soddisfare questo vincolo). Si può osservare che, fissando la varianza delle sorgenti, si elimina l'ambiguità sul fattore di scala ma non sul segno delle sorgenti, infatti si può sempre moltiplicare la generica componente indipendente per (-1) e la colonna corrispondente di A per (-1) senza alterare il modello. Questa ambiguità sul segno non viene rimossa, ma la stessa risulta tuttavia irrilevante.

Esistono diversi algoritmi per stimare il modello dell'ICA, che si basano sull'utilizzo di diverse funzioni costo. Nel presente lavoro si farà riferimento all'*algoritmo Infomax*, proposto da Bell e Sejnowski nel 1995, che è una formalizzazione fondata su una rete neurale, disponibile nel toolbox EEGLAB di MATLAB®. Secondo il principio Infomax una determinazione del modello può essere ottenuta massimizzando l'*entropia congiunta* (e quindi la quantità di informazione) in uscita da una rete neurale. L'entropia di una variabile aleatoria è una quantità statistica interpretabile come una misura dell'informazione acquisita a seguito di ogni osservazione della variabile stessa; qualitativamente si può affermare che l'entropia di una variabile è tanto maggiore quanto più essa è casuale o imprevedibile. L'entropia congiunta può essere interpretata come una misura dell'imprevedibilità legata all'osservazione congiunta di n variabili. Si può dimostrare che trovare la matrice W che massimizza l'entropia congiunta in uscita dalla rete equivale a trovare la matrice W che minimizza la *mutua informazione* tra le variabili \underline{y}_i ; dal momento che visto che la mutua informazione tra variabili è nulla se e solo se le variabili sono statisticamente indipendenti, ciò significa trovare la matrice W che rende le \underline{y}_i massimamente indipendenti. [23]

Quando l'analisi alle componenti indipendenti è applicata al segnale EEG, il suo obiettivo è quello di separare le registrazioni multicanale acquisite sullo scalpo in una combinazione lineare di componenti indipendenti, aventi corso temporale massimamente indipendente (cioè pattern temporali

massimamente distinti uno dall'altro) e una distribuzione fissa sullo scalpo (ovvero le proiezioni di ciascuna componente indipendente ad ogni sensore sullo scalpo sono fisse). ^{[6][17]} I potenziali multicanale registrati sullo scalpo in n diversi istanti di tempo e da p diversi elettrodi sullo scalpo costituiscono la matrice X dei segnali osservati, avente p righe e n colonne.

L'algoritmo di ICA ottimizza una matrice di demixing W che separa linearmente X in:

$$Y = W \cdot X \quad (2.20)$$

dove Y è la matrice delle componenti indipendenti, contenente p segnali sorgenti aventi corso temporale massimamente indipendente e aventi ciascuno una distribuzione fissa sullo scalpo. Y è anche detta *matrice delle attivazioni*, poiché ogni sua riga rappresenta l'andamento temporale di una componente indipendente. Ogni componente è una combinazione lineare (tramite una serie di pesi) delle forme d'onda registrate agli elettrodi. Le colonne della inversa della matrice di demixing, ovvero W^{-1} , sono le intensità delle proiezioni (i pesi) delle rispettive componenti ad ogni sensore dello scalpo e forniscono quindi la *topografia* di ogni componente indipendente sullo scalpo. I segnali EEG ricostruiti possono essere ottenuti riproiettando le componenti indipendenti sullo scalpo (processo di *back-projection*):

$$X = W^{-1} \cdot Y \quad (2.21)$$

I precedenti concetti sono illustrati e sintetizzati nella Figura 2.12.

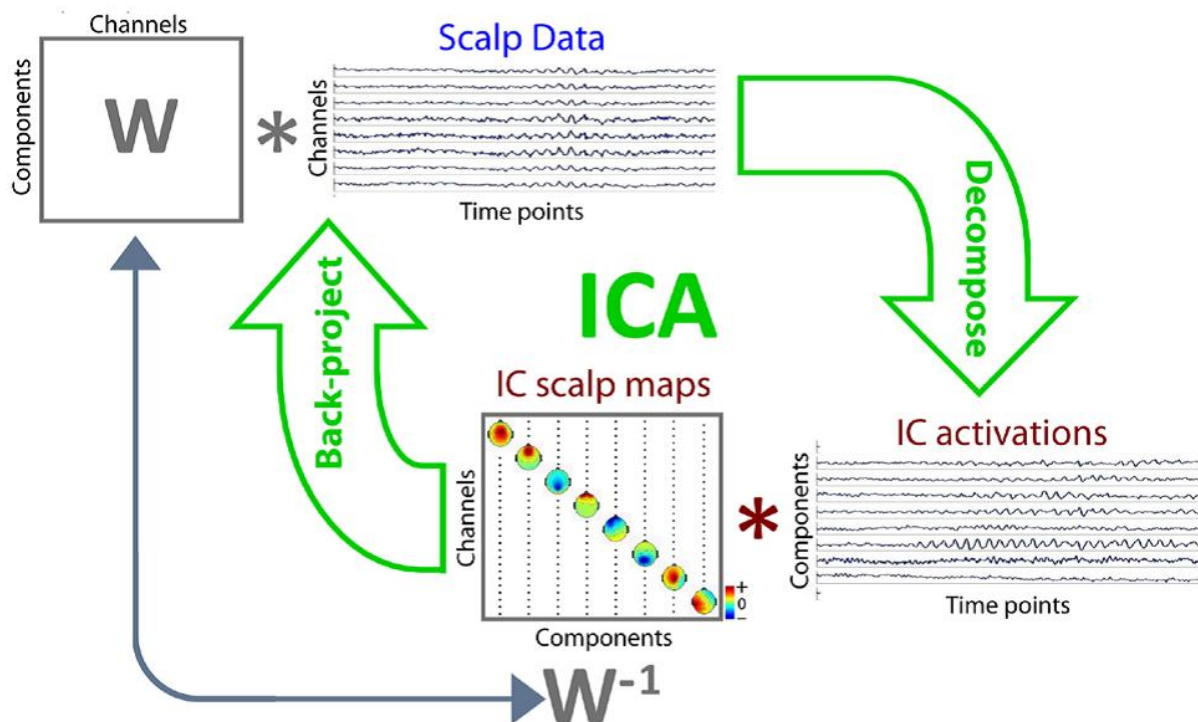


Figura 2.12 – Diagramma schematico della scomposizione alle componenti indipendenti (ICA) dei segnali EEG e della back-projection. L'ICA applicata ad una matrice di dati EEG sullo scalpo (contenente tante righe quanti sono gli elettrodi e tante colonne quanti sono gli istanti di tempo di acquisizione, in alto al centro) trova i pesi di una matrice di demixing W (contenente tante righe quante sono le componenti indipendenti e tante colonne quanti sono i canali, in alto a sinistra) che, quando moltiplicata per la matrice dei dati EEG, fornisce una matrice delle forme d'onda di attivazione delle componenti indipendenti IC (in basso a destra). Questo è il processo di decomposizione ICA (freccia verde verso il basso) dei dati EEG in segnali massimamente indipendenti nel tempo, ciascuno con il proprio distinto corso temporale e una mappa sullo scalpo fissa. Il processo di back-projection (retroproiezione) (freccia verde verso l'alto) ricostruisce i dati EEG originali acquisiti sullo scalpo moltiplicando la matrice delle attivazioni delle componenti IC (in basso a destra) per la matrice delle mappe delle componenti indipendenti sullo scalpo (centro in basso), le cui colonne forniscono i pesi delle proiezioni di ciascuna componente su ciascun canale dello scalpo. La matrice delle mappe delle IC sullo scalpo, o matrice di mixing W^{-1} , è l'inversa della matrice di demixing W . In forma matriciale, se la matrice dei dati EEG dello scalpo è indicata con X e la matrice delle attivazioni delle componenti IC con Y , allora risulta: $WX = Y$ e $X = W^{-1}Y$. [17]

Il metodo ICA applicato alle registrazioni EEG multicanale si è dimostrato molto efficace nell'isolare e nel rimuovere artefatti non neurali che influenzano l'EEG acquisito. Alcune delle componenti indipendenti risultanti, infatti, rappresentano segnali di origine cerebrale mentre altre componenti rappresentano segnali di origine extracerebrale, cioè artefatti. Una volta separate le componenti di artefatto, queste possono essere eliminate dai segnali originali, ottenendo in tal modo segnali ripuliti. L'uso della ICA per la rimozione di artefatti dal segnale EEG è certamente di elevato valore; tuttavia, utilizzare la ICA solo per la rimozione di artefatti, non sfrutta appieno le potenzialità di questo tipo di tecnica. In particolare, una importante potenzialità della ICA è quella di permettere di separare attività di componenti cerebrali individuali che contribuiscono ai dati sullo scalpo e che possono essere ciascuna responsabile di specifiche caratteristiche e pattern osservati nei dati di scalpo.

Sotto questo aspetto, l'ICA applicata alle epoche EEG mediate nel dominio del tempo e, più recentemente, applicata alle epoche EEG non mediate ma concatenate tra loro, ha permesso la separazione di ERP in costituenti distinti e indipendenti. Le mappe sullo scalpo delle componenti indipendenti, la loro forma d'onda nel tempo e il contenuto frequenziale permettono di selezionare le principali componenti che danno origine ai picchi/componenti dell'ERP. ^[6] Un esempio è mostrato in Figura 2.13.

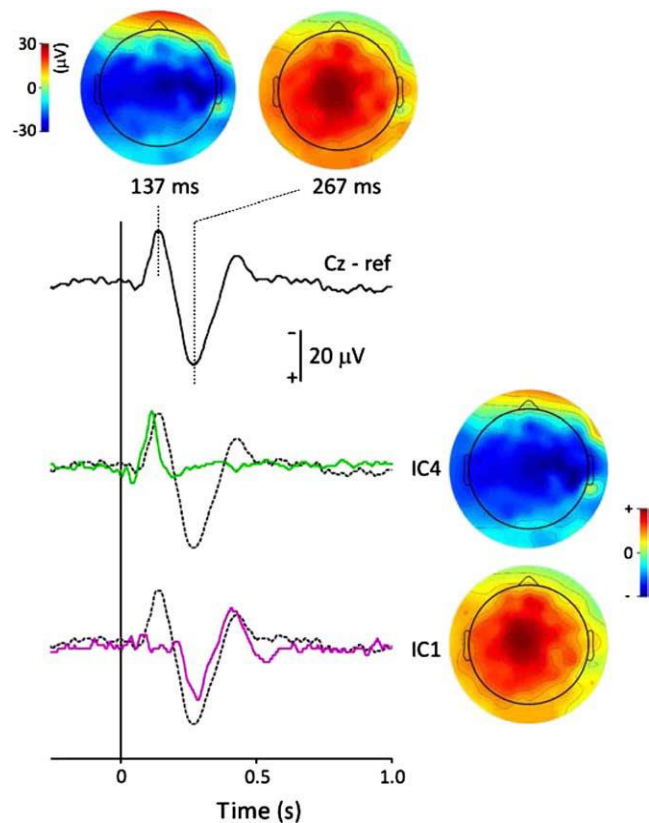


Figura 2.13 – Blind source separation di un ERP usando l'ICA. Gli ERP somatosensoriali sono stati elicitati tramite la stimolazione elettrica del nervo radiale destro e registrati usando 124 elettrodi sullo scalpo. La forma d'onda in alto mostra il risultato della media tra le epoche EEG nel dominio del tempo. Il potenziale evento-correlato ottenuto consiste in una deflessione negativa con picco a 137 ms, seguito da una deflessione positiva con picco a 267 ms. La distribuzione sullo scalpo di entrambi i picchi è mostrata nelle mappe dello scalpo in alto. Nei grafici inferiori sono illustrati i pattern temporali delle due componenti indipendenti che contribuiscono maggiormente rispettivamente alla deflessione negativa (IC4: forma d'onda verde) e alla deflessione positiva (IC1: forma d'onda viola), insieme alle loro corrispondenti distribuzioni sullo scalpo. Si può notare come l'ICA sia in grado di separare efficacemente entrambi i picchi in componenti distinte. ^[6]

Una volta ottenute le componenti indipendenti che maggiormente contribuiscono all'ERP, a partire dalla loro distribuzione sullo scalpo, è possibile stimare la localizzazione cerebrale di queste componenti, ovvero la localizzazione all'interno del tessuto cerebrale delle sorgenti che originano quella particolare mappa sullo scalpo e quindi responsabili di quella specifica componente indipendente. L'identificazione di una configurazione di sorgenti cerebrali a partire da una mappa topografica sullo scalpo richiede di identificare la soluzione di un *problema inverso mal posto* (non

presenta un'unica soluzione). Infatti, il numero di incognite (sorgenti cerebrali) è notevolmente maggiore rispetto al numero di elettrodi, cioè rispetto al set di misure dei potenziali registrati sullo scalpo. Di conseguenza esistono infinite differenti configurazioni delle sorgenti che possono dare luogo a medesimi campi elettrici esterni. 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. Il metodo che verrà approfondito in questo lavoro è il DIPFIT, il quale utilizza un solo dipolo nel quale posizione e intensità sono variabili e incognite. La scelta di stimare un singolo dipolo equivalente cerebrale per spiegare la mappa topografica di una componente indipendente è ben giustificata dal fatto che le mappe topografiche delle componenti indipendenti risultano essere significativamente più “dipole-like” rispetto alla mappa istantanea del segnale EEG grezzo o del segnale ERP in un qualunque istante di tempo. Molte componenti indipendenti stimate dal segnale EEG hanno mappe sullo scalpo che si adattano quasi perfettamente alla proiezione di un singolo dipolo equivalente cerebrale. Questo è coerente con la presunta generazione di tali componenti indipendenti come processi di sincronizzazione parziale dell'attività neuronale all'interno di un dominio connesso di tessuto cerebrale. È importante osservare che, una volta definito un modello di testa, cioè un modello capace di descrivere la distribuzione di potenziale sullo scalpo dovuta ad una corrente di dipolo intracerebrale (problema questo noto come *problema diretto*), il problema di trovare la locazione di un singolo dipolo equivalente, che genera una data mappa “dipole-like” sullo scalpo, è un problema ben posto. ^{[24][25]}

Le tecniche sopra analizzate sono state applicate a dati forniti dal Centro di Neuroscienze Cognitive dell'Università di Bologna, con sede a Cesena. Nel successivo Capitolo verrà descritto nel dettaglio l'esperimento con cui i dati sono stati ottenuti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive e a seguire verrà illustrata l'implementazione dei metodi di analisi delle risposte evento-correlate nel dominio del tempo, nel dominio tempo-frequenza e i metodi di analisi alle componenti indipendenti utilizzati per esaminare tali dati.

Capitolo 3

Materiali e Metodi

Per questo lavoro di tesi sono stati utilizzati i dati EEG raccolti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive dell'Università di Bologna (Campus di Cesena). Tali segnali EEG sono stati acquisiti su volontari sani durante due diversi compiti di discriminazione visiva: un compito di discriminazione di movimento (il soggetto doveva identificare la direzione di movimento di un set di punti luminosi su sfondo nero) e un compito di discriminazione di orientazione (il soggetto doveva identificare l'orientazione di un set di barre parallele). Il primo compito (discriminazione di movimento) si ritiene coinvolga principalmente il percorso cerebrale comprendente il Collicolo Superiore e l'area dorsale extrastriata MT/V5; l'altro compito (discriminazione di orientazione) si ritiene coinvolga principalmente l'attività della corteccia striata (V1) e della corteccia extrastriata ventrale. Questi due compiti di discriminazione sono stati eseguiti prima e dopo uno specifico training consistente in una stimolazione multisensoriale audio-visiva. L'ipotesi alla base dell'esperimento svolto dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive è che una stimolazione multisensoriale ripetuta attraverso stimoli audio-visivi coincidenti nello spazio e nel tempo solleciti i neuroni del Collicolo Superiore e delle regioni dorsali (infatti, sia il Collicolo Superiore che le regioni dorsali, specialmente quelle parietali posteriori, sono siti di convergenza di stimoli audio-visivi), rinforzando così i collegamenti sinaptici nei circuiti che coinvolgono tali strutture. Sulla base di tale ipotesi i ricercatori si aspettavano quindi di osservare un miglioramento, dopo il training, nel processo di discriminazione del movimento, che sembra coinvolgere proprio le strutture stimulate durante il training, ma non un miglioramento del compito di discriminazione di orientazione che sembra coinvolgere percorsi differenti. ^[14] Nel seguito viene dapprima meglio descritto l'esperimento svolto dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive e i risultati da loro ottenuti; quindi, sulla base dei risultati da loro ottenuti, viene chiarito quali sono i segnali EEG che sono stati selezionati come materiale per il presente lavoro, per poi procedere alla descrizione dei metodi di elaborazione applicati ai segnali così selezionati.

3.1 Integrazione multisensoriale

Si ritiene utile, per chiarire le ipotesi alla base dell'esperimento svolto dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive, fare alcuni cenni circa i meccanismi e i fenomeni di integrazione multisensoriale.

Gli oggetti presenti e gli eventi che si manifestano nell'ambiente che ci circonda generano tipicamente stimoli multisensoriali, ossia che coinvolgono diverse modalità sensoriali contemporaneamente (ad esempio vista, udito, tatto, ecc.). Il nostro cervello elabora gli 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*. Nello specifico, diverse aree cerebrali sono caratterizzate da neuroni in grado di rispondere a sollecitazioni di differente natura sensoriale (ad esempio sia visivi che acustici). Essi mostrano una risposta particolarmente elevata quando gli stimoli (ad esempio visuo-acustici) sono presentati accoppiati piuttosto che presentati singolarmente (*multisensory enhancement*), ciò 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 degli stimoli visivi preferibilmente in *movimento*.^[26]

In particolare, è possibile stimolare i fenomeni di multisensory enhancement attraverso un *training multisensoriale*, consistente nella presentazione ripetuta di stimoli di diversa natura (ad esempio uno stimolo visivo e uno stimolo acustico) spazialmente e temporalmente coincidenti. L'obiettivo del training multisensoriale è il rafforzamento delle sinapsi che collegano aree unimodali e multimodali lungo il percorso cerebrale attivato durante il training, 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, ad esempio, uno stimolo unisensoriale (ad esempio visivo) che inizialmente veniva percepito con difficoltà, dopo la presentazione ripetuta in associazione con un altro stimolo (ad esempio uditivo), viene individuato più facilmente grazie al rafforzamento delle connessioni reciproche tra aree unisensoriali e regioni multisensoriali lungo il percorso stimolato durante il training. Le potenzialità di tale training sono 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 il training è inserito in una terapia compensativa

rivolta a chi ha un deficit unisensoriale perché, se uno dei sensi sollecitati è in grado di produrre al più una debole risposta, qualora accoppiato con un altro con funzionalità normali, potrà essere suscettibile di notevoli miglioramenti.

3.2 Esperimento, acquisizione dei segnali e analisi dei segnali svolti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive

Questa sezione 3.2 è dedicata alla descrizione dell'esperimento e dei segnali acquisiti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive, nonché alla descrizione delle analisi da loro svolte e dei risultati da loro ottenuti, che rappresentano il punto di partenza per le successive analisi specificamente svolte nel presente elaborato e descritte nelle sezioni 3.3 e 3.4.

3.2.1 Descrizione dell'esperimento e acquisizione dei segnali

Lo studio dei ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive di Bologna ha coinvolto 30 volontari sani di età media pari a 23,7 anni, divisi in due gruppi ognuno dei quali composto da 15 partecipanti, definiti gruppo *sperimentale* e gruppo di *controllo*. L'esperimento ha riguardato:

- **due diversi tipi di *training* audio-visivi:** uno costituito da stimoli audio-visivi spazialmente e temporalmente coincidenti a cui è stato sottoposto il gruppo sperimentale di soggetti e l'altro costituito da stimoli audio-visivi temporalmente coincidenti ma spazialmente disparati a cui è stato sottoposto il gruppo di controllo. Prima della presentazione di ogni stimolo audio-visivo ai soggetti era richiesto di mantenere lo sguardo sul punto di fissazione centrale; quindi, alla presentazione dello stimolo, ai soggetti era richiesto di indirizzare lo sguardo verso lo stimolo visivo e segnalarne l'individuazione premendo un tasto. Nella Figura 3.1 è mostrato l'apparato utilizzato per eseguire il training multisensoriale. Per evitare *bias* nei risultati a 16 soggetti, 8 del gruppo sperimentale e 8 del gruppo di controllo, il training è stato effettuato nell'emicampo destro, mentre ai restanti 14 volontari nell'emicampo sinistro.

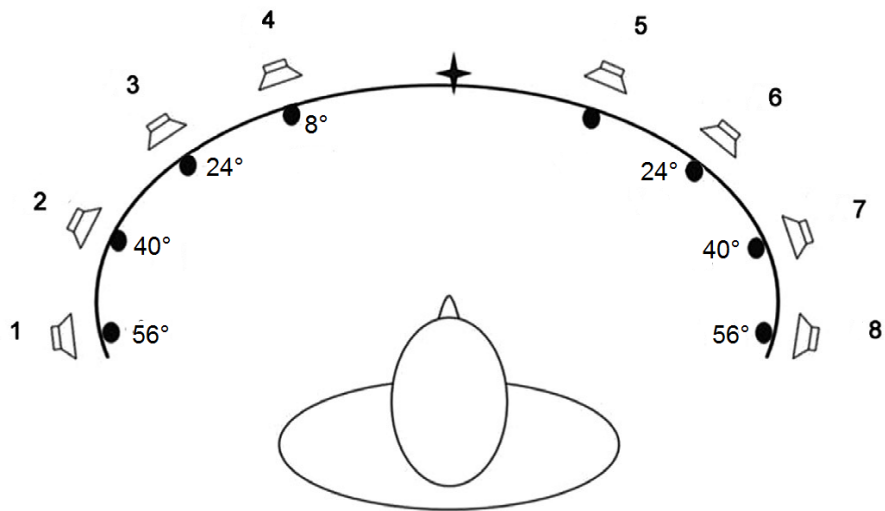
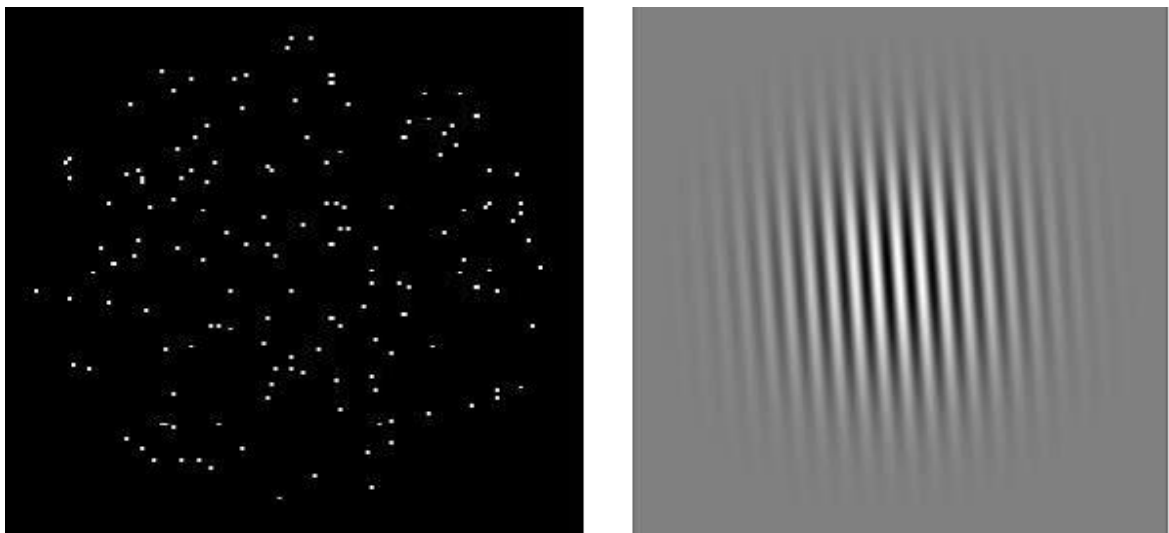


Figura 3.1 – Apparato utilizzato per presentare e localizzare gli stimoli audio-visivi durante il training. ^[14]

- **due diversi tipi di *task* visivi**, mostrati in Figura 3.2, a cui entrambi i gruppi di soggetti sono stati sottoposti prima e dopo il training audio-visivo: un *task* di discriminazione della direzione di *movimento* (orizzontale o verticale) di un set di punti luminosi che si muovono su uno sfondo nero e un *task* di discriminazione dell'*orientazione* (verso destra o sinistra) di un set di barre (pattern di Gabor).



*Figura 3.2 – 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 orientazione.*

Entrambi i compiti consistevano di trial ripetuti. In ogni trial, lo stimolo era presentato su uno schermo posto davanti al soggetto nella periferia del campo visivo, disposto a 15° a destra o sinistra del punto di fissazione; lo stimolo era 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. Nel

compito di discriminazione del movimento, i punti si muovevano in una delle quattro direzioni cardinali con una coerenza corrispondente a circa il 60% di accuratezza di ciascun soggetto (coerenza media = 15.8%, i punti con movimento non coerente si muovevano con moto Browniano) e ai soggetti era richiesto di identificare la direzione verticale o orizzontale del moto. ^[14] Nel compito di discriminazione di orientazione, le barre erano inclinate in verso orario o antiorario rispetto alla verticale con una inclinazione corrispondente a circa il 60% di accuratezza di ciascun soggetto (inclinazione media = 1°) e ai soggetti era richiesto di discriminare il verso di inclinazione. ^[14] Per mantenere un buon livello di attenzione, prima di ogni stimolo i soggetti dovevano mantenere la fissazione su una X posta al centro per 1000 ms; questo intervallo era seguito da un periodo con schermo vuoto di durata variabile compresa tra 150-300 ms e successivamente compariva lo stimolo per il quale è richiesto il compito di discriminazione. Al termine della presentazione dello stimolo, compariva nuovamente uno schermo vuoto in attesa della risposta del soggetto (massima durata del tempo di risposta = 2000 ms). La risposta era fornita premendo uno tra due tasti corrispondenti alle due possibili scelte (moto verticale o orizzontale, inclinazione oraria o antioraria). ^[14] La Figura 3.3 riporta la timeline di ciascun trial nel compito di discriminazione del movimento (pannello A) e nel compito di discriminazione di orientazione (pannello B).

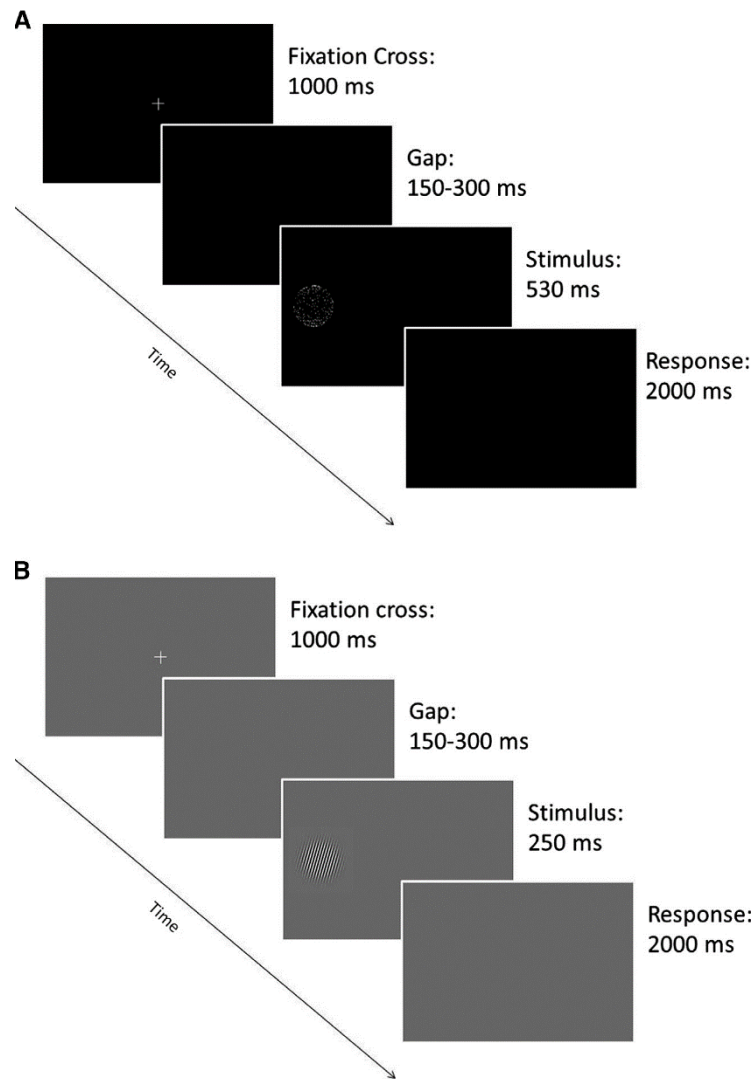


Figura 3.3 – **A:** presentazione del task di discriminazione del movimento. **B:** presentazione del task di discriminazione dell'orientazione. ^[14]

L'utilizzo dei due tipi differenti di training ha lo scopo di verificare se produca un effetto solo quello che utilizza stimoli spazialmente e temporalmente coincidenti; questo risultato supporterebbe l'ipotesi del coinvolgimento di aree multisensoriali nel mediare l'effetto del training, in base al principio di integrazione multisensoriale, secondo il quale l'efficacia di uno stimolo bimodale su aree multisensoriali si verifica solo se gli stimoli rispettano questo determinato vincolo. L'utilizzo dei due tipi di compiti prima e dopo il training serve a verificare se il training ha un effetto diverso su di essi, supportando così l'ipotesi che il training multisensoriale influenzi in modo selettivo le regioni multisensoriali implicate nel compito di discriminazione di movimento (ovvero in particolare il Collicolo Superiore oltre a regioni dorsali coinvolti in processi multisensoriali) ma non le regioni implicate nel compito di discriminazione di orientazione (regioni più prettamente unisensoriali). 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 agli 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.

Inoltre, quando gli stimoli visivi del compito di discriminazione sono presentati 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 gli stimoli visivi del compito di discriminazione appaiono nell'emicampo non utilizzato durante il training, la condizione è denominata "lato non stimolato" e ci si aspetta che rispondano principalmente le aree dell'emisfero ipsilaterale al training, che si ipotizza abbiano beneficiato del training in misura minore rispetto all'altro emisfero.

L'esperimento si è svolto in due giornate consecutive: nella prima giornata è stata eseguita la calibrazione degli stimoli usati per i task di discriminazione visiva e ciò per determinare, per ogni soggetto, l'adeguato livello di difficoltà 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 registrati i segnali elettroencefalografici di ciascun partecipante, che sono stati oggetto delle elaborazioni e delle analisi svolte in questo lavoro di tesi. I segnali sono stati acquisiti mediante una cuffia a 64 elettrodi disposti secondo lo standard internazionale 10/20, 59 sullo scalpo, 4 oculari che servono per registrare i movimenti verticali e orizzontali degli occhi e uno sulla mastoide destra. I 64 canali sono stati acquisiti rispetto a un elettrodo posto sulla mastoide sinistra. Dopo l'acquisizione i segnali sono stati ri-referenziati off-line usando come riferimento la media dei segnali delle due mastoidi. ^[14] L'elenco dei 59 canali 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		

3.2.2 Pre-elaborazione dei segnali con EEGLAB

I segnali acquisiti dall'elettroencefalografo sono stati pre-elaborati dai ricercatori del gruppo di Neuroscienze Cognitive con l'utilizzo del toolbox EEGLAB, sviluppato da Makeig et al specificatamente per elaborare segnali elettrofisiologici quali EEG e MEG. ^[21] Esso incorpora diverse modalità di visualizzazione dei dati, consente di effettuare il filtraggio dei dati, di condurre analisi nei domini del tempo, della frequenza, del tempo-frequenza, di estrarre informazioni dai dati e di visualizzarne l'average o i singoli trial, di effettuare analisi alle componenti indipendenti e di eseguire test statistici. EEGLAB dispone di un'*interfaccia grafica utente* (Graphical User Interface, GUI) che permette agli utenti di elaborare in modo flessibile e interattivo i segnali. ^[24]

Di seguito verranno descritte le operazioni eseguite durante il *pre-processing* dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive. I segnali EEG per un dato soggetto, acquisiti dai 59 elettrodi sullo scalpo durante un task di discriminazione visiva, contengono un numero elevato (diverse decine) di trial, dove ognuno comprende la porzione di segnali precedente lo stimolo, la porzione corrispondente alla presentazione dello stimolo e alla registrazione della successiva eventuale risposta di discriminazione da parte del soggetto (si veda Figura 3.3). I trial, infatti, sono stati eseguiti in successione durante un task. In tal modo, l'intero tracciato EEG per un dato task di un soggetto è 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 stati filtrati con un filtro passabanda FIR con finestra di Hamming tra 0 Hz e 40 Hz (Figura 3.4) al fine di rimuovere gli artefatti con frequenze al di fuori di questo intervallo.

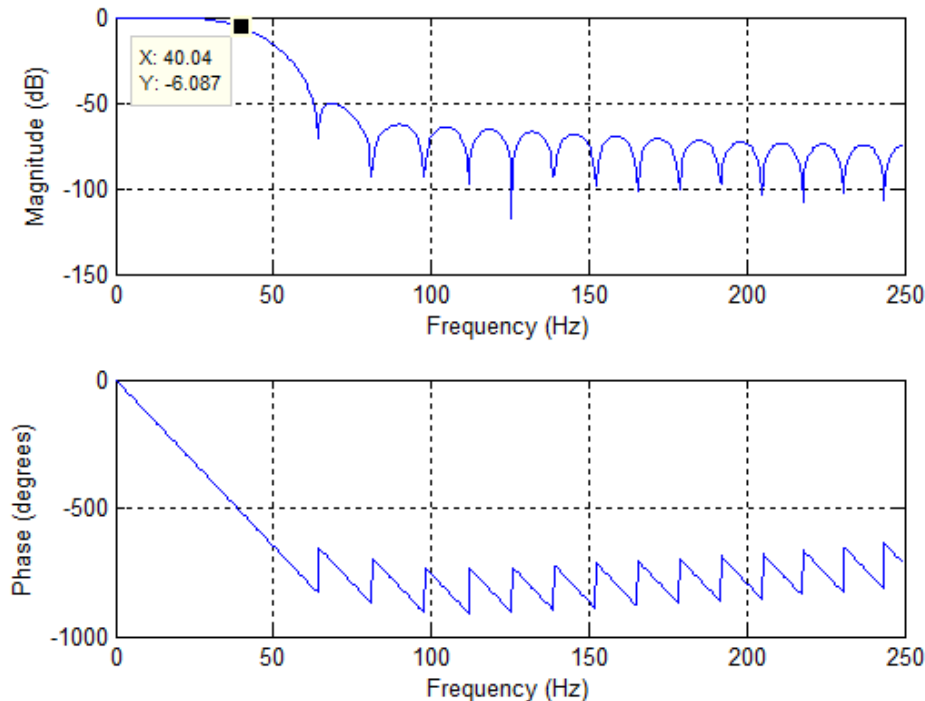


Figura 3.4 – Filtro FIR realizzato con EEGLAB.

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 tutte le epoche sono time-locked con lo stimolo. Si noti che ogni epoca consta di 550 campioni di cui 100 campioni nella porzione di epoca antecedente la presentazione dello stimolo e 450 campioni nella porzione di epoca successiva alla presentazione dello 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 rimovibili 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 pre-stimolo. ^[14]

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'orientazione, 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 se 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”, per riferirsi al compito di discriminazione di movimento, il primo, e di orientazione, il secondo;
- “s” oppure “ns”, per indicare il lato di presentazione dello stimolo che può essere coincidente con quello sollecitato durante il training multisensoriale (“s”) od opposto (“ns”).

Ad esempio, un risultato che nel nome contiene la dicitura “mts_pre” significa che è relativo al compito di discriminazione di movimento per un soggetto sperimentale (addestrato con stimoli audio-visivi coincidenti spazialmente e temporalmente) con lo stimolo visivo di discriminazione presentato dallo stesso lato del training e prima che questo avvenga.

3.2.3 Analisi dell'attività sullo scalpo

Le attività sullo scalpo sono state analizzate dai ricercatori del gruppo di Neuroscienze Cognitive con l'obiettivo di verificare se e in quali condizioni il training produce differenze significative a livello di ERP rilevato sullo scalpo. Mediando sui trial, in numero variabile tra i soggetti e le condizioni a causa dell'eliminazione di alcune epoche, sono stati calcolati gli ERP nel tempo per ciascuno dei 59 canali sullo scalpo in tutte le condizioni di ogni soggetto. I ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive hanno concentrato l'analisi sulla componente ERP visiva N100 (N1), un ampio potenziale che compare in risposta ad uno stimolo visivo. Il nome fa riferimento alla polarità, ovvero al picco negativo nell'ERP, e alla latenza, che si aggira sui 100 ms dopo la presentazione dello stimolo raggiungendo il massimo valore tra 150 ms e 200 ms (si veda la Figura 3.5). La deflessione N1 è generalmente distribuita su tutto lo scalpo, quindi può essere rilevata nelle regioni frontali, centrali e anche parieto-occipitali. La sua ampiezza viene considerata indicativa 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. ^[27]

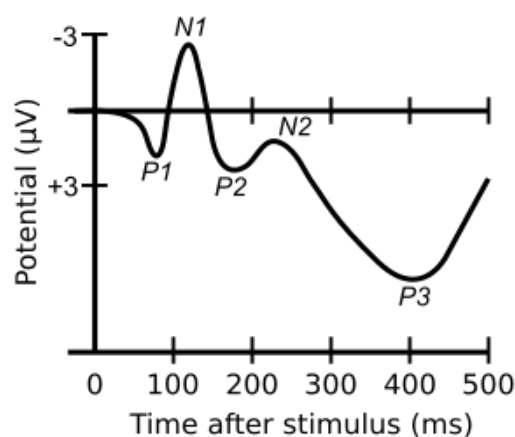


Figura 3.5 – ERP con diverse componenti tra cui N1. L'asse delle ordinate risulta invertito, in accordo con la convenzione tipicamente diffusa nella pratica clinica. ^[27]

L'onda N1 di interesse è stata quantificata come il valor medio dell'ERP nell'intervallo 140÷180 ms ed è emerso che essa, per ogni soggetto e per ogni condizione, si manifesta maggiormente nei quattro canali fronto-centrali FC₁, FC₂, FC_z, C_z. A questo punto, considerando solamente i dati acquisiti da questi quattro canali, i ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive hanno eseguito test statistici per ogni condizione al fine di verificare se il training ha un effetto e se questo è emisfero specifico, ovvero se ci sono differenze tra pre e post in particolare nel lato che è stato sollecitato durante il training.

Le analisi effettuate hanno rivelato una differenza significativa tra le sessioni di pre-training e di post-training solo per il compito di discriminazione di movimento per i soggetti del gruppo sperimentale (confronto “mts_pre” vs “mts_post”), 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. In particolare in questa specifica condizione si osserva un'ampiezza maggiore del potenziale N1 nella sessione successiva al training, associata ad un incremento di performance nella discriminazione di movimento. In effetti, la componente N1 è legata a processi di discriminazione visiva e potrebbe quindi riflettere l'attenzione del soggetto nel compito di discriminazione. I ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive hanno interpretato questo risultato mettendo in relazione l'incremento post-training nella componente N1 ad una incrementata attività nel percorso retina-collicolo-regione MT dorsale conseguente al training. ^[14] Questo risultato rappresenta un supporto all'ipotesi formulata che prevede il Collicolo Superiore e le regioni dorsali come principali strutture rafforzate dal training multisensoriale, essendo, proprio queste strutture, non solo coinvolte nell'integrazione audio-visiva ma anche prevalentemente coinvolte nell'elaborazione

di stimoli visivi in movimento (set di punti) piuttosto che di immagini statiche, come la griglia di Gabor utilizzata per il compito di orientamento. Anche il fatto che si abbia una differenza significativa solo per i soggetti sperimentali è un risultato in accordo con l'ipotesi. Infatti la coincidenza spaziotemporale degli stimoli è un requisito fondamentale per ottenere nelle regioni multisensoriali, attivate durante il training, gli effetti positivi dell'utilizzo di una combinazione di segnali (multisensory enhancement) 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 dei test, limitata al solo caso in cui lo stimolo visivo per il task di discriminazione viene presentato nello stesso lato utilizzato per il training.

Fino a questo punto del presente Capitolo, sono state descritte acquisizioni ed analisi svolte precedentemente dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive dell'Università di Bologna e riportate in un precedente lavoro scientifico ^[14]. La parte rimanente del Capitolo è dedicata alla descrizione dei metodi di analisi implementati ed applicati in questo lavoro di tesi. In particolare, tali metodi di analisi si distinguono in:

- Analisi nel dominio del tempo;
- Analisi nel dominio tempo-frequenza;
- Analisi alle componenti indipendenti e localizzazione delle sorgenti di dipolo delle componenti indipendenti.

Nel seguito, questi tre metodi di analisi verranno dettagliatamente descritti.

3.3 Analisi dei segnali nel dominio del tempo

L'obiettivo dell'analisi dell'attività sullo scalpo nel dominio del tempo consiste nell'evidenziare i risultati ottenuti dal gruppo di Neuroscienze Cognitive riportati nel paragrafo 3.2.3. L'unica differenza significativa da loro rilevata si manifesta per il compito di discriminazione di movimento per i soggetti sperimentali (confronto “mts_pre” vs “mts_post”) nella condizione in cui gli stimoli visivi sono stati presentati nello stesso emicampo utilizzato per il training.

Le coppie di file (pre e post), per ogni set di segnali, ottenute dopo il pre-processing, con estensione .set e .fdt (formati propri di EEGLAB), sono state convertite in formato compatibile con MATLAB®. Mediando sui trial sono stati calcolati gli ERP nel tempo di ciascuno 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:

$$\bar{E}_{i,cond,sogg}(t) = \frac{\sum_{r=1}^R E_{i,r,cond,sogg}(t)}{R} = ERP_{i,cond,sogg}(t) \quad (3.1)$$

dove

- $E_{i,r,cond,sogg}(t)$ rappresenta il potenziale dell'elettrodo i -esimo ($i = 1, \dots, 59$) all'istante di tempo t ($t = -200 \div 900$ 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 nel gruppo di controllo nella condizione $cond$;
- $\bar{E}_{i,cond,sogg}(t)$ è il potenziale medio su tutti i trial relativo all'elettrodo i , per il soggetto $sogg$ appartenente al gruppo sperimentale o al gruppo di controllo nella condizione $cond$. Questo coincide dunque con l'ERP relativo all'elettrodo i -esimo, per il soggetto $sogg$ (del gruppo sperimentale o del gruppo di controllo) nella condizione $cond$.

Una volta ottenuti gli ERP nel tempo dei 59 canali in tutte le condizioni di ciascun soggetto è stata calcolata la *Grand Average*, ovvero la media su tutti i soggetti di ciascun gruppo in ciascuna condizione:

$$\bar{E}_{i,cond}(t) = \frac{\sum_{sogg=1}^S \bar{E}_{i,cond,sogg}(t)}{S} = \frac{\sum_{sogg=1}^S ERP_{i,cond,sogg}(t)}{S} = \overline{ERP}_{i,cond}(t) \quad (3.2)$$

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;
- $\bar{E}_{i,cond}(t)$ è la *Grand Average* dell'ERP dell'elettrodo i -esimo su ciascun gruppo di soggetti in ciascuna delle 8 condizioni ($\overline{ERP}_{i,cond}(t)$).

A questo punto è stato calcolato il valore medio delle *Grand Average* dell'ERP relative ai 59 elettrodi per ogni condizione nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms, in cui si presenta la N1:

$$\overline{ERP}_{i,cond,T} = \frac{\sum_{t=140\text{ms}}^{180\text{ms}} \overline{ERP}_{i,cond}(t)}{N} \quad (3.3)$$

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

Per raffigurare come variano le *Grand Average* dell'ERP nelle diverse aree dello scalpo in ogni condizione, sono state create le *mappe topografiche dello scalpo*. In esse lo scalpo viene rappresentato come un cerchio, in cui ogni elettrodo occupa una posizione espressa in coordinate polari (le locazioni sono date secondo lo standard internazionale 10/20). Ad ogni locazione dell'elettrodo viene assegnato il valore medio corrispondente della *Grand Average* dell'ERP nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms utilizzando una scala a colori. I colori variano dal rosso (potenziale più alto) fino ad arrivare al blu (potenziale più basso). Per assegnare un colore (quindi un valore di potenziale) alle posizioni intermedie tra locazioni di canali vicini viene fatta un'interpolazione dei valori dei potenziali calcolati agli elettrodi. Queste mappe permettono così di individuare le regioni dello scalpo in cui la componente N1 di interesse si presenta maggiormente, poiché saranno quelle con potenziale più negativo (colore blu).

A seguire 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 N1 di interesse si manifesta maggiormente. Ovvero:

$$\overline{E}_{centr,cond,sogg}(t) = \frac{\sum_{i=1}^4 \overline{E}_{i,cond,sogg}(t)}{4} = ERP_{C,cond,sogg}(t) \quad (3.4)$$

dove

- $\overline{E}_{i,cond,sogg}(t)$ 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*;
- $\overline{E}_{centr,cond,sogg}(t)$ 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):

$$\overline{E}_{centr,cond}(t) = \frac{\sum_{sogg=1}^S \overline{E}_{centr,cond,sogg}(t)}{S} = \frac{\sum_{sogg=1}^S ERP_{C,cond,sogg}(t)}{S} = \overline{ERP}_{C,cond}(t) \quad (3.5)$$

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 ($\overline{ERP}_{c,cond}(t)$).

3.4 Analisi dei segnali nel dominio tempo-frequenza

3.4.1 Calcolo della Trasformata Wavelet Continua

Al fine di ottenere una rappresentazione tempo-frequenza della potenza *totale* evento-correlata e informazioni circa la sincronizzazione di fase evento-correlata è stata applicata ai singoli trial EEG la trasformazione wavelet. Come esposto dettagliatamente nel Capitolo 2, questa tecnica di analisi permette di evidenziare sia le modulazioni del segnale *phase-locked* allo stimolo (ovvero ERP e ERPR), sia quelle *non phase-locked* (ovvero ERS, ERD e ERP con jitter in latenza) cancellate dalla media sui trial nel dominio del tempo, ottenendo una rappresentazione tempo-frequenza dell'attività *totale* evento-correlata.

Alla luce dei risultati ottenuti dal gruppo di Neuroscienze Cognitive, sono stati analizzati solamente i segnali relativi ai quattro canali centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) per il compito di discriminazione di movimento per i soggetti del gruppo sperimentale, nella condizione in cui gli stimoli visivi venivano presentati nello stesso emicampo utilizzato per il training, nella sessione di pre-training e di post-training (“mts_pre” e “mts_post”). Infatti, questi elettrodi erano quelli che presentavano la maggiore componente N1 ed inoltre solo nella condizione “mts” i ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive avevano individuato una differenza significativa della componente N1 di questi quattro canali nella condizione post rispetto alla condizione pre.

La scomposizione tempo-frequenza dei singoli trial EEG è stata svolta in ambiente MATLAB® richiamando la funzione *timefreq* del toolbox EEGLAB, che implementa la trasformazione wavelet

continua (CWT) con wavelet Morlet complessa. La funzione *timefreq* è stata chiamata nel seguente modo, con quattro argomenti in uscita e specificando un certo numero di argomenti in ingresso:

```
[tf, freqs, times, itcvals] =  
timefreq(data,srate,'freqs',[3:0.5:30],'ntimesout',400,'cycles',[0.5 3.5])
```

Analizziamo dapprima gli argomenti forniti in ingresso.

data: matrice [frames x trial] contenente i dati da scomporre organizzata in frames (ovvero numero di campioni del segnale) x trial (ovvero numero di epoche o trial del segnale). Nel caso in questione *data* sarà di volta in volta costituito dal segnale EEG acquisito da uno dei quattro canali centrali (FC₁, FC₂, FC_z, C_z). I frames sono sempre in numero 550 (dal momento che ogni trial dura 1100 ms con frequenza di campionamento di 500 Hz), mentre il numero di trial varia al variare della condizione (pre/post training) considerata.

srate: frequenza di campionamento del segnale EEG, che nel nostro caso è pari a 500 Hz

'freqs': questo argomento specifica il valore delle frequenze a cui applicare la trasformata wavelet. Nel caso in questione il valore di questo argomento è stato posto pari a [3:0.5:30]. Ciò significa che la trasformata wavelet viene calcolata in corrispondenza a tutte le frequenze tra 3 Hz e 30 Hz con risoluzione di 0.5 Hz (55 valori di frequenza).

'ntimesout': specifica gli istanti di tempo in corrispondenza ai quali applicare la trasformata wavelet. Nel caso in questione, il valore di questo argomento è stato posto pari a 400, ovvero la trasformata wavelet viene calcolata in 400 istanti di tempo (tra -200 ms e 900 ms; si veda meglio in seguito l'intervallo in cui vengono individuati questi 400 istanti di tempo).

'cycles': questo parametro è di fondamentale importanza perché definisce i cicli della wavelet alle varie frequenze e definisce anche la dispersione (ovvero la risoluzione) della Morlet nel dominio della frequenza (σ_f) e nel dominio del tempo (σ_t) attraverso le seguenti relazioni:

$$\sigma_f = \frac{f_0}{cicli} \quad \sigma_t = \frac{cicli}{2\pi f_0} \quad (3.6)$$

Per ogni frequenza f_0 del segnale in cui viene centrata la wavelet (le varie frequenze f_0 sono definite dall'argomento *'freqs'*), fissando il numero di cicli (*cicli*), si ottiene una certa risoluzione in frequenza ($2 \cdot \sigma_f$) e una certa risoluzione nel tempo ($2 \cdot \sigma_t$). Considerando una determinata frequenza f_0 , maggiore è il numero dei cicli e più alta risulta la risoluzione in frequenza e peggiore quella nel tempo. Viceversa, abbassando il numero dei cicli migliora la risoluzione nel tempo e peggiora quella

in frequenza. Al fine di ottenere un giusto compromesso tra le risoluzioni nei due domini (e considerando anche la durata di ciascun trial e della baseline, ovvero la porzione pre-stimolo), il parametro 'cycles' è stato posto a 0.5 in corrispondenza della frequenza più bassa del segnale (3 Hz) e aumentato linearmente fino a 3.5 in corrispondenza della frequenza più alta (30 Hz). Così facendo, a 3 Hz si è ottenuta una risoluzione in frequenza di 12 Hz e una risoluzione nel tempo di 53 ms. Si noti che, volendo ottenere una migliore risoluzione in frequenza alle basse frequenze, avremmo dovuto aumentare il numero di cicli. Ciò non è stato fatto in quanto reso non praticabile dalla durata estremamente ridotta della baseline (fase prestimolo, con durata solo di 200 ms). Infatti, già utilizzando 0.5 cicli alla frequenza di 3 Hz, significa che la wavelet a 3 Hz (che consta di mezzo ciclo) ha una durata in millisecondi pari a $(1/3 * 1000)/2 = 167$ ms. Questo significa che il primo coefficiente wavelet alla frequenza di 3 Hz è posizionato all'istante 83.5 ms dall'inizio del trial (cioè all'istante -116.5 ms rispetto alla presentazione dello stimolo), cioè possiamo sfruttare circa solo la metà della baseline per posizionare e calcolare i successivi coefficienti wavelet nel tempo. Se usassimo 1 ciclo alla frequenza di 3 Hz, la wavelet a 3 Hz (che consterebbe di un ciclo in questo caso) avrebbe una durata in millisecondi pari a $(1/3 * 1000) = 333$ ms. Questo significa che il primo coefficiente wavelet alla frequenza di 3 Hz è posizionato all'istante 167 ms dall'inizio del trial (cioè all'istante -33 ms rispetto alla presentazione dello stimolo), cioè possiamo sfruttare soltanto circa 33 ms della baseline per posizionare e calcolare i successivi coefficienti wavelet nel tempo. Avere pochi coefficienti wavelet nella baseline non è indicato in quanto i valori di CWT post-stimolo ad una determinata frequenza vengono confrontati con i valori CWT pre-stimolo (con una loro media e/o deviazione standard) alla stessa frequenza e avere un numero troppo limitato di coefficienti wavelet nella baseline (e troppo prossimi alla presentazione dello stimolo) ridurrebbe l'affidabilità del confronto. In corrispondenza di 30 Hz invece, dove si può essere meno interessati ad una elevata risoluzione in frequenza ma diventa importante una maggiore risoluzione nel tempo, con la scelta effettuata di aumentare il numero di cicli sino a 3.5 si è ottenuta una risoluzione in frequenza di 17 Hz, riducendo quella nel tempo a 37 ms. È utile notare che avendo fatto crescere il numero di cicli con la frequenza, si è ottenuto una migliore risoluzione in frequenza alle alte frequenze rispetto ad un approccio wavelet convenzionale che utilizza un numero di cicli costante (nel caso in esame, se avessimo mantenuto il numero di ciclo a 0.5 anche alla frequenza di 30 Hz avremmo ottenuto $\sigma_f = 60$ Hz). La scelta del parametro 'cycles' da 0.5 a 3 passando da 3 Hz a 30 Hz nel presente lavoro è stato suggerito da un precedente studio del 2013 ^[28], che sebbene esaminasse segnali EEG acquisiti in un contesto diverso dal nostro, trattava trial di una durata comparabile alla nostra (in quel lavoro i trial andavano da -100 a 600 ms) e esaminava frequenze che comprendevano il range di frequenze da noi analizzato

(in quel lavoro venivano esaminate frequenze da 3 Hz a 50 Hz e il parametro `'cycles'` in tal lavoro era stato impostato da 0.5 a 3.9).

Esaminiamo ora gli argomenti in uscita dalla function *timefreq*.

`tf`: la matrice tridimensionale [freqs x times x trial] dei coefficienti wavelet complessi $CWT(\tau, f)$. Questi ultimi sono calcolati come indicato nella equazione (2.8) (con la frequenza al posto della scala). La terza dimensione della matrice corrisponde ai trial, infatti, come già sottolineato, la CWT viene applicata ad ogni singolo trial precedentemente al calcolo della media sui trial.

`freqs`: vettore delle frequenze in cui vengono calcolati i coefficienti wavelet. Nel caso in esame questo vettore è specificato in ingresso ovvero [3:0.5:30] Hz, quindi 55 frequenze tra 3 e 30 Hz equidistanti l'una dall'altra di 0.5 Hz.

`times`: vettore degli istanti di tempo in cui vengono calcolati i coefficienti wavelet. Come specificato in ingresso dal parametro `'ntimesout'` i coefficienti wavelet vengono calcolati in 400 istanti di tempo tra circa -110 ms e circa 810 ms (i 90 ms persi all'inizio e alla fine di ciascun trial sono conseguenza del supporto temporale della wavelet di durata più lunga, nel nostro caso quella a 3 Hz).

`itcvals`: sono i valori $ITPC(\tau, f)$ di coerenza di fase inter-trial sottoforma di matrice di dimensione [freqs x times].

3.4.2 Rappresentazione tempo-frequenza della Potenza evento-correlata

Una volta ottenuti i coefficienti wavelet complessi per ogni soggetto sperimentale nelle condizioni pre e post, per ognuno dei quattro canali centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z), si è proceduto elevando al quadrato il modulo di ciascuno di essi. In questo modo è stata calcolata la potenza di ciascun trial per ogni istante di tempo e per ogni frequenza analizzata:

$$P_{r,ch,sogg,cond}(\tau, f) = |CWT_{r,ch,sogg,cond}(\tau, f)|^2 \quad (3.7)$$

dove

- $CWT_{r,ch,sogg,cond}(\tau, f)$ rappresenta il coefficiente wavelet complesso del trial r -esimo all'istante di tempo τ ($\tau \approx -110 \div 810$ ms) e alla frequenza f ($f = 3 \div 30$ Hz) per il canale ch ($ch = 1, \dots, 4$ indice di uno dei quattro canali FC₁, FC₂, FC_z, C_z), per il soggetto $sogg$ ($sogg = 1, \dots, 15$), nella condizione $cond$ ($cond = mts_pre, mts_post$);
- $P_{r,ch,sogg,cond}(\tau, f)$ è la potenza del trial r -esimo per il canale ch per il soggetto $sogg$ nella condizione $cond$ all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

A seguire, per ogni soggetto e per ognuna delle due condizioni sono state mediate le potenze dei quattro canali (FC₁, FC₂, FC_z, C_z), analogamente a quanto fatto nel caso degli ERP, per ottenere una potenza che chiameremo potenza centrale:

$$P_{r,centr,sogg,cond}(\tau, f) = \frac{\sum_{ch=1}^4 P_{r,ch,sogg,cond}(\tau, f)}{4} \quad (3.8)$$

dove $P_{r,centr,sogg,cond}(\tau, f)$ è la potenza mediata sui quattro canali centrali per il trial r -esimo per il soggetto $sogg$ nella condizione $cond$ al tempo τ e alla frequenza f .

A questo punto, poiché l'obiettivo di questa analisi è far emergere variazioni di potenza evento-correlate, i valori di potenza ottenuti sono stati normalizzati rispetto ad una baseline pre-stimolo. Per la scelta dell'intervallo di pre-stimolo è importante tenere conto della risoluzione nel dominio del tempo ($2 \cdot \sigma_t$) della wavelet utilizzata per la scomposizione tempo-frequenza. Infatti, il valore del coefficiente complesso calcolato in un certo istante di tempo τ , in cui è centrata la wavelet, è influenzato anche dagli istanti di tempo vicini, sia a destra che a sinistra, a causa della dispersione della wavelet. ^{[6][20]} Ne risulta che i coefficienti complessi calcolati nei tempi vicini e precedenti all'insorgenza dello stimolo, sono influenzati anche dai dati post-stimolo e, pertanto, non stati presi in considerazione. Quindi, l'intervallo di baseline T è stato definito tra -200 ms e -50 ms (precisamente sono stati individuati gli istanti di tempo del vettore `times` che cadono in questo intervallo); all'interno di questo intervallo di baseline, per ogni frequenza, sono stati calcolati il valor medio e la deviazione standard nel tempo della potenza centrale media, necessari per effettuare la normalizzazione.

Precisamente, mediando sui trial è stata ricavata la potenza centrale media delle oscillazioni EEG in funzione del tempo e della frequenza per ogni soggetto nelle condizioni pre e post. Ovvero:

$$\bar{P}_{centr,sogg,cond}(\tau, f) = \frac{\sum_{r=1}^R P_{r,centr,sogg,cond}(\tau, f)}{R} \quad (3.9)$$

dove

- R è il numero totale di trial per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*;
- $\bar{P}_{centr,sogg,cond}(\tau, f)$ rappresenta la potenza centrale media su tutti i trial per il soggetto *sogg* nella condizione *cond* all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

Il valor medio e la deviazione standard della potenza centrale media nell'intervallo di baseline sono stati calcolati come segue:

$$\bar{P}_{base,centr,sogg,cond}(f) = \frac{\sum_{\tau=-200\text{ ms}}^{-50\text{ ms}} \bar{P}_{centr,sogg,cond}(\tau, f)}{N} \quad (3.10)$$

$$\sigma_{P_{base,centr,sogg,cond}}(f) = \sqrt{\frac{\sum_{\tau=-200\text{ ms}}^{-50\text{ ms}} \left(\bar{P}_{centr,sogg,cond}(\tau, f) - \bar{P}_{base,centr,sogg,cond}(f) \right)^2}{N - 1}} \quad (3.11)$$

dove

- $N = 25$ è il numero di campioni nell'intervallo di pre-stimolo T considerato;
- $\bar{P}_{base,centr,sogg,cond}(f)$ è il valor medio nell'intervallo T (-200÷-50 ms) della potenza centrale media per ciascun soggetto *sogg* nella condizione *cond*, alla frequenza f ;
- $\sigma_{P_{base,centr,sogg,cond}}(f)$ è la deviazione standard nell'intervallo T (-200÷-50 ms) della potenza centrale media per ciascun soggetto *sogg* nella condizione *cond*, alla frequenza f .

Una volta ottenuti questi valori, la potenza centrale relativa a ciascun trial è stata normalizzata esprimendola come *z-score*. Lo *z-score* è una quantità adimensionale ottenuta sottraendo alla potenza centrale, per ogni istante di tempo τ e per ogni frequenza f , il valore medio della potenza centrale media nell'intervallo di baseline a quella frequenza f e dividendo il risultato di questa differenza per la deviazione standard della potenza centrale media nella baseline a quella frequenza f . Esso è una misura statistica che indica la distanza del valore della potenza centrale in un certo istante di tempo τ e ad una determinata frequenza f dal valore medio della potenza stessa mediata sui trial nell'intervallo di pre-stimolo in unità di deviazioni standard. In tal modo si tiene conto della variabilità della potenza nell'intervallo di pre-stimolo. ^{[6][20]} Un valore zero (o vicino allo zero) di *z-score* indica che la potenza centrale in quell'istante di tempo τ e a quella frequenza f è uguale (o molto simile) al valor medio della potenza centrale media nell'intervallo di baseline, un valore positivo di *z-score* rappresenta una potenza maggiore rispetto alla potenza media di baseline, mentre uno *z-score* negativo denota che la potenza è minore rispetto alla potenza media di baseline. Più precisamente, indica di quante deviazioni standard la potenza post-stimolo (ad un certo istante di tempo e ad una certa frequenza) si

discosta dalla potenza media pre-stimolo alla stessa frequenza. Per il calcolo dello *z-score*, per ogni trial, per ogni soggetto e per ognuna delle due condizioni di pre-training e di post-training è stata effettuata la seguente operazione:

$$P_{Z_{r,centr,sogg,cond}}(\tau, f) = \frac{P_{r,centr,sogg,cond}(\tau, f) - \bar{P}_{base,centr,sogg,cond}(f)}{\sigma_{P_{base,centr,sogg,cond}}(f)} \quad (3.12)$$

dove $P_{Z_{r,centr,sogg,cond}}(\tau, f)$ è la potenza centrale normalizzata per il trial r -esimo, per il soggetto *sogg*, nella condizione *cond*, all'istante di tempo τ e alla frequenza f . Si noti che questo tipo di normalizzazione, sebbene sia stata implementata al di fuori del toolbox di EEGLAB, è adottata anche da EEGLAB.

Dopo aver normalizzato la potenza di ciascun trial, si è nuovamente proceduto mediando sui trial ed è stata così ricavata la potenza centrale media normalizzata (cioè espressa come *z-score*) delle oscillazioni EEG in funzione del tempo e della frequenza per ogni soggetto nelle condizioni di pre-training e di post-training. Ovvero:

$$\bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) = \frac{\sum_{r=1}^R P_{Z_{r,centr,sogg,cond}}(\tau, f)}{R} \quad (3.13)$$

dove

- R è il numero totale di trial per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*;
- $\bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond}}(\tau, f)$ rappresenta la potenza centrale media normalizzata rispetto alla baseline pre-stimolo su tutti i trial per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*, all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

Di questa potenza centrale media normalizzata è stata calcolata la *Grand Average*, ovvero la media su tutti i 15 soggetti del gruppo sperimentale in ciascuna delle due condizioni:

$$\bar{P}_{Z_{centr,cond}}(\tau, f) = \frac{\sum_{sogg=1}^S \bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond}}(\tau, f)}{S} \quad (3.14)$$

dove

- S è il numero di soggetti (15);
- $\bar{P}_{Z_{centr,cond}}(\tau, f)$ è la *Grand Average* della potenza centrale media normalizzata rispetto alla baseline pre-stimolo su tutti i soggetti sperimentali nella condizione *cond*, all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

Per evidenziare graficamente eventuali differenze tra la condizione di pre-training e di post-training è stata calcolata, per ogni soggetto, la differenza tra la potenza centrale media normalizzata nella condizione post e in quella pre:

$$\bar{P}_{Z,diff_{centr,sogg}}(\tau, f) = \bar{P}_{Z_{centr,sogg,post}}(\tau, f) - \bar{P}_{Z_{centr,sogg,pre}}(\tau, f) \quad (3.15)$$

dove

- $\bar{P}_{Z_{centr,sogg,post}}(\tau, f)$ è la potenza centrale media normalizzata per il soggetto *sogg* nella condizione *post*;
- $\bar{P}_{Z_{centr,sogg,pre}}(\tau, f)$ è la potenza centrale media normalizzata per il soggetto *sogg* nella condizione *pre*;
- $\bar{P}_{Z,diff_{centr,sogg}}(\tau, f)$ è la differenza tra la potenza centrale media normalizzata nella condizione *post* e la potenza centrale media normalizzata nella condizione *pre* per il soggetto *sogg*.

Di questa differenza di potenze si è poi calcolata la *Grand Average* mediando su tutti i soggetti:

$$\bar{P}_{Z,diff_{centr}}(\tau, f) = \frac{\sum_{sogg=1}^S \bar{P}_{Z,diff_{centr,sogg}}(\tau, f)}{S} \quad (3.16)$$

dove $\bar{P}_{Z,diff_{centr,cond}}(\tau, f)$ rappresenta la *Grand Average* della differenza tra la potenza centrale media normalizzata nella condizione *post* e la potenza centrale media normalizzata nella condizione *pre* su tutti i soggetti ($S = 15$).

Successivamente è stata ricavata una rappresentazione tempo-frequenza della sola potenza non phase-locked rimuovendo la potenza phase-locked dalla potenza totale. Per prima cosa, per ogni soggetto e per ogni condizione, è stato sottratto ad ogni singolo trial il corrispondente segnale ERP (ottenuto mediando tutti i trial nel tempo e quindi contenente solo attività phase-locked):

$$E_{NPL_{i,r,cond,sogg}}(t) = E_{i,r,cond,sogg}(t) - ERP_{i,cond,sogg}(t) \quad (3.17)$$

dove

- $E_{i,r,cond,sogg}(t)$ rappresenta il potenziale dell'elettrodo *i*-esimo ($i = 1, \dots, 59$) contenente l'attività totale evento-correlata (sia phase-locked, sia non phase locked) all'istante di tempo *t* ($t = -200 \div 900$ ms) durante il trial *r*-esimo, registrato nel soggetto sperimentale *sogg* ($sogg = 1, \dots, 15$), nella condizione *cond* ($cond = mts_pre, mts_post$);

- $ERP_{i,cond,sogg}(t)$ è il potenziale medio su tutti i trial dell'elettrodo i -esimo contenente solo attività phase-locked per il soggetto $sogg$ nella condizione $cond$;
- $E_{NPLi,r,cond,sogg}(t)$ è il potenziale dell'elettrodo i -esimo contenente solo attività non phase-locked all'istante di tempo t durante il trial r -esimo per il soggetto $sogg$ nella condizione $cond$.

Dopo questa sottrazione, rimane la sola attività non phase-locked per ogni singolo trial. A questo punto è stata applicata la scomposizione tempo-frequenza ad ogni trial contenente solo attività non phase-locked in modo del tutto analogo a quanto spiegato precedentemente per i trial contenenti l'attività totale evento-correlata. Dapprima sono stati calcolati i coefficienti wavelet complessi per ogni soggetto sperimentale, nelle condizioni di pre-training e di post-training, per ognuno dei quattro canali centrali (FC_1, FC_2, FC_z, C_z). Poi, elevando al quadrato il modulo di ogni coefficiente, è stata calcolata la sola potenza non phase-locked di ciascun trial. Successivamente per ogni soggetto in entrambe le condizioni sono state mediate le potenze dei quattro canali centrali per ottenere la potenza centrale non phase-locked per ogni trial. Quindi, la potenza centrale ottenuta è stata normalizzata rispetto alla baseline pre-stimolo e, mediando sui trial, è stata ricavata la potenza centrale media normalizzata non phase-locked. Come nelle analisi precedenti, è stata calcolata la differenza tra le potenze nella condizione di post-training e in quella di pre-training. Infine, è stata calcolata la *Grand Average* su tutti i 15 soggetti sia della potenza centrale media normalizzata non phase-locked nelle due condizioni, sia della potenza risultante dalla differenza tra post e pre.

Infine è stata ottenuta una rappresentazione tempo-frequenza della sola attività phase-locked calcolandola come la potenza dell'ERP centrale per ogni soggetto nella sessione di pre-training e in quella di post-training. Dapprima è stata applicata la scomposizione wavelet ad ogni ERP centrale (per il calcolo dell'ERP centrale si veda la sezione 3.3 con le equazioni dalla (3.1) alla (3.4)) usando la funzione *timefreq* del toolbox EEGLAB in ambiente MATLAB[®], specificando gli stessi argomenti in ingresso e in uscita della sezione 3.4.1. Il modulo dei coefficienti wavelet complessi così ricavati per ogni soggetto sperimentale nelle condizioni pre e post, è stato elevato al quadrato per ogni istante di tempo e per ogni frequenza analizzata:

$$P_{PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) = |CWT_{centr,sogg,cond}(\tau, f)|^2 \quad (3.18)$$

dove

- $CWT_{centr,sogg,cond}(\tau, f)$ rappresenta il coefficiente wavelet complesso relativo alla scomposizione wavelet dell'ERP centrale all'istante di tempo τ ($\tau \approx -110 \div 810$ ms) e alla

frequenza f ($f = 3 \div 30$ Hz) per il soggetto $sogg$ ($sogg = 1, \dots, 15$), nella condizione $cond$ ($cond = mts_pre, mts_post$);

- $P_{PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f)$ è la potenza dell'ERP centrale per il soggetto $sogg$ nella condizione $cond$ all'istante di tempo τ e alla frequenza f che chiameremo potenza centrale phase-locked (PL).

A seguire i valori di potenza ottenuti, analogamente a quanto svolto per la potenza totale, sono stati espressi come z -score normalizzati rispetto alla baseline costituita da un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms. Per prima cosa, all'interno dell'intervallo di baseline, per ogni frequenza, sono stati calcolati il valore medio e la deviazione standard nel tempo della potenza centrale phase-locked:

$$\bar{P}_{PL_{base,centr,sogg,cond}}(f) = \frac{\sum_{\tau=-200\text{ ms}}^{-50\text{ ms}} P_{PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f)}{N} \quad (3.19)$$

$$\sigma_{P_{PL_{base,centr,sogg,cond}}}(f) = \sqrt{\frac{\sum_{\tau=-200\text{ ms}}^{-50\text{ ms}} \left(P_{PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) - \bar{P}_{PL_{base,centr,sogg,cond}}(f) \right)^2}{N - 1}} \quad (3.20)$$

dove

- $N = 25$ è il numero di campioni nell'intervallo di pre-stimolo T considerato (-200÷-50 ms);
- $\bar{P}_{PL_{base,centr,sogg,cond}}(f)$ è il valor medio nell'intervallo T della potenza centrale phase-locked per ciascun soggetto $sogg$ nella condizione $cond$, alla frequenza f ;
- $\sigma_{P_{PL_{base,centr,sogg,cond}}}(f)$ è la deviazione standard nell'intervallo T della potenza centrale phase-locked per ciascun soggetto $sogg$ nella condizione $cond$, alla frequenza f .

Una volta calcolati questi valori, la potenza phase-locked è stata normalizzata mediante lo z -score, per ogni soggetto e per ognuna delle due condizioni di pre-training e di post-training. Ovvero:

$$P_{Z,PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) = \frac{P_{PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) - \bar{P}_{PL_{base,centr,sogg,cond}}(f)}{\sigma_{P_{PL_{base,centr,sogg,cond}}}(f)} \quad (3.21)$$

dove $P_{Z,PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f)$ è la potenza centrale phase-locked normalizzata per il soggetto $sogg$, nella condizione $cond$, all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

Di questa potenza centrale phase-locked normalizzata è stata calcolata la *Grand Average*, mediando su tutti i soggetti in ciascuna delle due condizioni:

$$\bar{P}_{Z,PL_{centr,cond}}(\tau, f) = \frac{\sum_{sogg=1}^S \bar{P}_{Z,PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f)}{S} \quad (3.22)$$

dove

- S è il numero di soggetti (15);
- $\bar{P}_{Z,PL_{centr,cond}}(\tau, f)$ è la *Grand Average* della potenza centrale phase-locked normalizzata rispetto alla baseline pre-stimolo su tutti i soggetti del gruppo sperimentale nella condizione *cond*, all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

Come nelle analisi precedenti, è stata calcolata la differenza tra le potenze centrali phase-locked nella condizione di post-training e in quella di pre-training ed infine, è stata calcolata la *Grand Average* su tutti i 15 soggetti della potenza risultante dalla differenza tra post e pre.

3.4.3 Coerenza di fase inter-trial

Come descritto nella sezione 3.4.1, la funzione *timefreq* di EEGLAB utilizzata per effettuare la scomposizione tempo-frequenza, fornisce in uscita i valori di $ITPC(\tau, f)$ (ottenuti come descritto nell'equazione (2.13)), che esprimono una misura di quanto è phase-locked il segnale EEG attraverso i trial, ovvero di quanto è stazionario il segnale EEG. Per ogni soggetto, nelle condizioni pre e post, i moduli dei valori di ITPC dei quattro canali centrali (FC₁, FC₂, FC_z, C_z) sono stati mediati, ottenendo una ITPC centrale:

$$ITPC_{centr,sogg,cond}(\tau, f) = \frac{\sum_{ch=1}^4 |ITPC_{ch,sogg,cond}(\tau, f)|}{4} \quad (3.23)$$

dove

- $ITPC_{ch,sogg,cond}(\tau, f)$ è la coerenza di fase inter-trial per il canale *ch* (*ch*=1,...,4 indice di uno dei quattro canali FC₁, FC₂, FC_z, C_z), per il soggetto *sogg* (*sogg* = 1,...,15), nella condizione *cond* (*cond* = mts_pre, mts_post), all'istante di tempo τ e alla frequenza f ;
- $ITPC_{centr,sogg,cond}(\tau, f)$ è la coerenza di fase inter-trial mediata sui quattro canali centrali per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*, all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

A seguire, di questa coerenza di fase centrale inter-trial è stata calcolata la *Grand Average*, ovvero la media su tutti i 15 soggetti sperimentali in ciascuna condizione:

$$ITPC_{centr,cond}(\tau, f) = \frac{\sum_{sogg=1}^S ITPC_{centr,sogg,cond}(\tau, f)}{S} \quad (3.24)$$

dove

- S è il numero di soggetti (15);
- $ITPC_{centr,cond}(\tau, f)$ è la *Grand Average* della coerenza di fase centrale inter-trial su tutti i soggetti sperimentali nella condizione *cond*, all'istante di tempo τ e alla frequenza f .

3.4.4 Test Statistici

Sono stati eseguiti test statistici, in particolare *paired t-test bilaterali*, per verificare se il training ha un effetto in banda alpha (frequenze comprese tra 8 Hz e 14 Hz), ovvero se ci sono differenze significative nei valori di potenza evento-correlata (totale, non phase-locked e phase-locked) e di coerenza di fase inter-trial in banda alpha tra pre-training e post-training, nell'intervallo compreso tra 140 ms e 180 ms dove si manifesta la componente N1. I medesimi test per la potenza sono stati eseguiti anche in un intervallo più ampio, compreso tra l'insorgenza dello stimolo e 200 ms. Si è scelto di concentrare l'analisi sulla banda alpha in quanto la componente N1 è considerata una componente associata a meccanismi attentivi, ovvero a meccanismi di reclutamento di specifiche regioni corticali (quelle più rilevanti per il task) a discapito di regioni irrilevanti per il task che dovrebbero essere non reclutate o addirittura inibite. Il ritmo alpha sembra essere associato a meccanismi attentivi; studi recenti ^{[1][18][29]} infatti suggeriscono una maggiore diminuzione di ritmo alpha (specialmente nelle regioni task relevant) in condizioni di maggior dispiegamento di attenzione (verosimilmente associato a migliori prestazioni nello svolgimento del compito).

Il *t-test* (o *test di Student*) è un test statistico di significatività per valutare se le differenze esistenti tra i gruppi di dati sono dovute al caso o sono legate ad un qualche parametro particolare (ad esempio condizioni di stimolazione, tempo, tipo di training, ecc.). A tale scopo viene formulata l'*ipotesi nulla* H_0 , con la quale si assume che, tra i gruppi di dati, non esista alcuna differenza riguardo al parametro considerato. Se sulla base del test statistico 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 prendendo questa decisione (ovvero la probabilità di rifiutare l'ipotesi nulla se questa è

vera) viene detta *livello di significatività* del test (*p-value*) e il limite massimo viene stabilito a priori, spesso ponendolo pari al 5%. In particolare: se $p \geq 0.05$ allora si dice che il test non è statisticamente significativo con livello di significatività al 5% (cioè può trattarsi di un effetto casuale) e H_0 viene accettata, mentre se $p < 0.05$ allora H_0 viene rifiutata e il test viene detto statisticamente significativo con livello di significatività al 5%. Il *p-value* è quindi una quantità che misura l'evidenza fornita dai dati contro l'ipotesi nulla: minore è il valore di p , più è forte l'evidenza contro l'ipotesi nulla. Il *t-test* 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:

$$t = \frac{\text{media del campione} - \text{media della popolazione}}{\text{errore standard del campione}} = \frac{m - \mu_0}{s / \sqrt{n}} \quad (3.25)$$

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 che si suppone 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:

$$t = \frac{\text{media delle differenze}}{\text{errore standard delle differenze}} = \frac{m_d}{s_d / \sqrt{n}} \quad (3.26)$$

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:

$$t = \frac{\text{media del campione1} - \text{media del campione2}}{s_p / \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (3.27)$$

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

In tutti i casi t segue una distribuzione a campana, detta *distribuzione di Student*, rappresentata in Figura 3.6, 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. In funzione del valore di p vengono individuate la regione di non rifiuto e le regioni di rifiuto di questa distribuzione; la regione di rifiuto è una sola se il test è unilaterale (anche detto a una coda), mentre sono due simmetriche se il test è bilaterale (anche detto a due code). Se l'obiettivo del confronto delle medie è verificarne la diversità viene usato il test bilaterale, mentre per decidere se una è maggiore/minore dell'altra si usa il test unilaterale. La regione di non rifiuto è compresa tra i valori $[-p; p]$, quelle di rifiuto sono le code della gaussiana oltre tali valori.

Il *t-test* ricava il valore della Statistica del Test: solo se cade nella regione di non rifiuto H_0 viene accettata. ^[30]

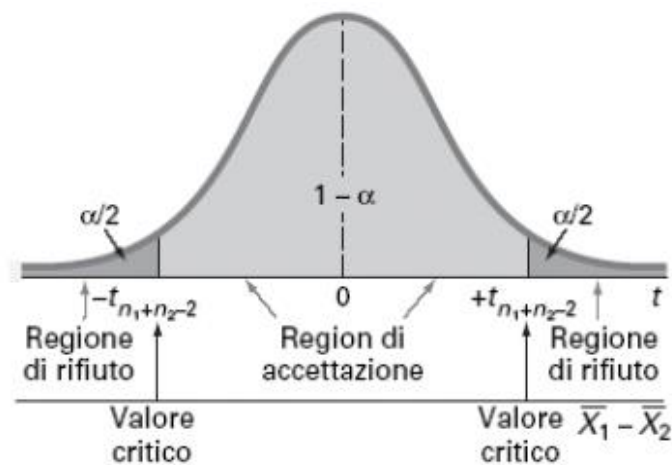


Figura 3.6 – Distribuzione t a due code e regioni di rifiuto e non rifiuto dell'ipotesi nulla con livello di significatività $p = \alpha$. ^[31]

Sono stati eseguiti vari *t-test*: due per la potenza totale evento-correlata, due per quella non phase-locked, uno per la potenza phase-locked e uno relativo alla coerenza di fase inter-trial.

Nei due test per la potenza totale evento-correlata i dati utilizzati per i confronti sono costituiti dal valore medio della potenza totale centrale media normalizzata calcolato su ogni soggetto nella banda di frequenze $F = 8 \div 14$ Hz, in cui si presentano le oscillazioni alpha, e rispettivamente negli intervalli $T = 140 \div 180$ ms, in cui si presenta l'N1 e $T = 0 \div 200$ ms. Ovvero:

$$\bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond,F,T}} = \frac{1}{N_2} \sum_{\tau=140 \text{ ms}}^{180 \text{ ms}} \left(\frac{1}{N_1} \sum_{f=8 \text{ Hz}}^{14 \text{ Hz}} \bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) \right) \quad (3.28)$$

$$\bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond,F,T}} = \frac{1}{N_3} \sum_{\tau=0 \text{ ms}}^{200 \text{ ms}} \left(\frac{1}{N_1} \sum_{f=8 \text{ Hz}}^{14 \text{ Hz}} \bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) \right) \quad (3.29)$$

dove

- $N_1 = 13$ è il numero di campioni nella banda $F = 8 \div 14$ Hz;
- $N_2 = 18$ è il numero di campioni nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms;
- $N_3 = 87$ è il numero di campioni nell'intervallo $T = 0 \div 200$ ms;
- $\bar{P}_{Z_{centr,sogg,cond,F,T}}$ è il valore medio della potenza centrale media normalizzata nella banda F e nell'intervallo di tempo T considerato per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*, che chiameremo potenza alpha.

Nei due test per la potenza non phase-locked evento-correlata i dati utilizzati per i confronti sono costituiti dal valore medio della sola potenza non phase-locked centrale media normalizzata calcolato su ogni soggetto nella banda di frequenze $F = 8 \div 14$ Hz e nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms per il primo test e nell'intervallo $T = 0 \div 200$ ms per il secondo. Ovvero:

$$\bar{P}_{Z,NPL_{centr,sogg,cond,F,T}} = \frac{1}{N_2} \sum_{\tau=140 \text{ ms}}^{180 \text{ ms}} \left(\frac{1}{N_1} \sum_{f=8 \text{ Hz}}^{14 \text{ Hz}} \bar{P}_{Z,NPL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) \right) \quad (3.30)$$

$$\bar{P}_{Z,NPL_{centr,sogg,cond,F,T}} = \frac{1}{N_3} \sum_{\tau=0 \text{ ms}}^{200 \text{ ms}} \left(\frac{1}{N_1} \sum_{f=8 \text{ Hz}}^{14 \text{ Hz}} \bar{P}_{Z,NPL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) \right) \quad (3.31)$$

dove

- $\bar{P}_{Z,NPL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f)$ rappresenta la potenza non phase-locked (*NPL*) centrale media normalizzata rispetto alla baseline pre-stimolo per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*, all'istante di tempo τ e alla frequenza f ;
- $\bar{P}_{Z,NPL_{centr,sogg,cond,F,T}}$ è il valore medio della potenza non phase-locked (*NPL*) centrale media normalizzata nella banda F e nell'intervallo di tempo T per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*, che chiameremo potenza alpha non phase-locked.

Nel quinto test i dati utilizzati per i confronti sono costituiti dal valore medio della sola potenza phase-locked centrale normalizzata calcolato su ogni soggetto nella banda di frequenze $F = 8 \div 14$ Hz e nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms. Ovvero:

$$\bar{P}_{Z,PL_{centr,sogg,cond,F,T}} = \frac{1}{N_2} \sum_{\tau=140 \text{ ms}}^{180 \text{ ms}} \left(\frac{1}{N_1} \sum_{f=8 \text{ Hz}}^{14 \text{ Hz}} \bar{P}_{Z,PL_{centr,sogg,cond}}(\tau, f) \right) \quad (3.32)$$

dove $\overline{P}_{Z,PL_{centr,sogg,cond,F,T}}$ è il valore medio della potenza phase-locked (PL) centrale normalizzata nella banda F e nell'intervallo di tempo T per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*, che chiameremo potenza alpha phase-locked.

Infine, nell'ultimo test i dati utilizzati per i confronti sono costituiti dal valore medio della coerenza di fase centrale inter-trial calcolato su ogni soggetto nella banda di frequenze $F = 8 \div 14$ Hz e nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms. Ovvero:

$$ITPC_{centr,sogg,cond,F,T} = \frac{1}{N_2} \sum_{\tau=140\text{ ms}}^{180\text{ ms}} \left(\frac{1}{N_1} \sum_{f=8\text{ Hz}}^{14\text{ Hz}} ITPC_{centr,sogg,cond}(\tau, f) \right) \quad (3.33)$$

dove $ITPC_{centr,sogg,cond,F,T}$ rappresenta il valore medio della coerenza di fase centrale inter-trial nella banda F e nell'intervallo di tempo T per il soggetto *sogg* nella condizione *cond*.

Per ciascun test sono stati creati così due gruppi di 15 valori riferiti ai soggetti del gruppo sperimentale, uno calcolato sulle misure pre-training e uno su quelle post-training (“mts_pre” e “mts_post”). I test sono stati svolti attraverso la funzione *ttest* di MATLAB® con un livello di significatività del 5%:

$$[H \ P] = \text{ttest}(X, Y);$$

La funzione riceve in ingresso i vettori X e Y dei 15 valori di potenza alpha totale nei primi due test, di potenza alpha non phase-locked nel terzo e nel quarto test, di potenza alpha phase-locked nel quinto test e di coerenza di fase inter-trial in banda alpha nell'ultimo test, nelle condizioni pre e post rispettivamente. In uscita la funzione restituisce: $H = 0$ se l'ipotesi nulla viene accettata, oppure $H = 1$ se l'ipotesi nulla viene respinta. L'output P fornisce il valore di *p*, che sarà ≥ 0.05 se $H = 0$, mentre sarà < 0.05 se $H = 1$.

3.5 Analisi alle componenti indipendenti e localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalente

L'obiettivo di questa analisi è ricavare quali siano e dove siano localizzate, all'interno del tessuto cerebrale, le sorgenti che danno origine alla componente di interesse N1. Essa si manifesta maggiormente nei canali centrali (FC₁, FC₂, FC_z, C_z), tuttavia questo non implica necessariamente che sia stata generata dalle sorgenti cerebrali sottostanti agli elettrodi. Infatti, come illustrato al

paragrafo 2.4, il segnale registrato agli elettrodi è una miscelazione di tanti contributi indipendenti provenienti da sorgenti distinte del tessuto cerebrale, che si miscelano nella loro propagazione attraverso il volume conduttore cerebrale.

Analogamente all'analisi tempo-frequenza, anche in questo caso sono stati analizzati solamente i dati relativi ai quattro canali centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) per il compito di discriminazione di movimento per i soggetti del gruppo sperimentale, nella condizione in cui gli stimoli visivi erano stati presentati nello stesso emicampo utilizzato per il training, per la sessione di pre-training e di post-training (“mts_pre” e “mts_post”).

Per prima cosa, dato che gli algoritmi di analisi alle componenti indipendenti potrebbero non offrire risultati affidabili nel caso in cui non vengano forniti dati sufficienti, per ogni soggetto sperimentale, tutti i trial acquisiti nella sessione di pre-training (mts_pre, mtns_pre, ots_pre, otns_pre) sono stati concatenati tra loro. La medesima operazione è stata effettuata sui trial corrispondenti alla sessione di post-training (mts_post, mtns_post, ots_post, otns_post). Infatti, per separare i diversi contributi EEG sottostanti ai segnali registrati dagli elettrodi sullo scalpo, è richiesto che la loro indipendenza sia espressa nei dati. L'algoritmo ICA restituisce la matrice di demixing W la cui dimensione è data dal quadrato del numero dei canali. Per ottenere scomposizioni ICA attendibili è generalmente necessario avere a disposizione un numero di punti temporali (ovvero di campioni) superiore al quadrato del numero dei canali. Pertanto, più è alto il numero di canali (quindi di componenti indipendenti da stimare), più sarà alto il numero di dati richiesti e, nello specifico, la durata dei segnali EEG analizzati. ^[21] Il tutorial di EEGLAB infatti, suggerisce di applicare la ICA sui dati EEG continui o epocati acquisiti all'interno di una stessa sessione sperimentale, ovvero di usare la stessa decomposizione ICA per la stessa sessione anche se include condizioni differenti. A tal proposito è importante osservare che in effetti i trial di discriminazione di movimento e di orientazione erano acquisiti senza soluzione di continuità e mescolati tra loro, sia durante la sessione pre che durante la sessione post.

I dati .mat così concatenati sono stati caricati, uno alla volta, su EEGLAB. Tale toolbox permette innanzitutto di creare un dataset costruendo una struttura in cui sono inserite tutte le informazioni necessarie di un segnale EEG: numero di canali di acquisizione, durata delle epoche e numero di campioni acquisiti per ogni epoca, numero delle epoche, frequenza di campionamento, inizio e fine di ogni epoca rispetto alla somministrazione dello stimolo (istante $t = 0$ ms), nomi dei canali e le relative locazioni, se è stata o meno effettuata la ICA. In Figura 3.7 è mostrato un esempio di dataset per un determinato soggetto, nel quale sono riportate le informazioni su un tracciato EEG oggetto del presente lavoro.

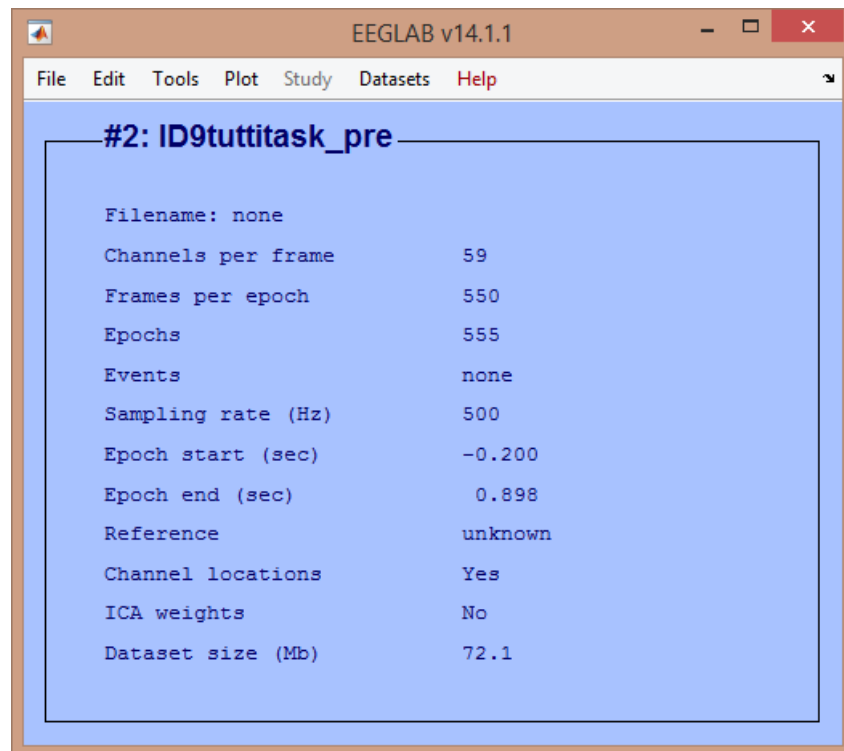


Figura 3.7 – Esempio di interfaccia EEGLAB una volta caricato il dataset, prima di effettuare l'analisi ICA.

Quindi è stata eseguita l'ICA mediante l'algoritmo *Infomax*, implementato in EEGLAB dalla funzione *runica*. Dopo aver calcolato le componenti indipendenti, si possono plottare le mappe topografiche di ciascuna componente indipendente. Come già detto nel Capitolo 2, la mappa topografica di ciascuna componente indipendente mostra i pesi con cui la componente contribuisce ad ogni elettrodo utilizzando una scala a colori (Figura 3.8); precisamente la mappa topografica della componente indipendente *i*-esima è ottenuta dagli elementi della colonna *i*-esima della matrice di mixing *A* (dove $A = W^{-1}$). In questo modo, vengono raffigurate le proiezioni delle componenti indipendenti sullo scalpo, ovvero come il potenziale a ciascun elettrodo è influenzato dalla corrispondente componente indipendente. I colori vanno dal blu (con cui si indicano pesi più negativi) fino al rosso (pesi più positivi).

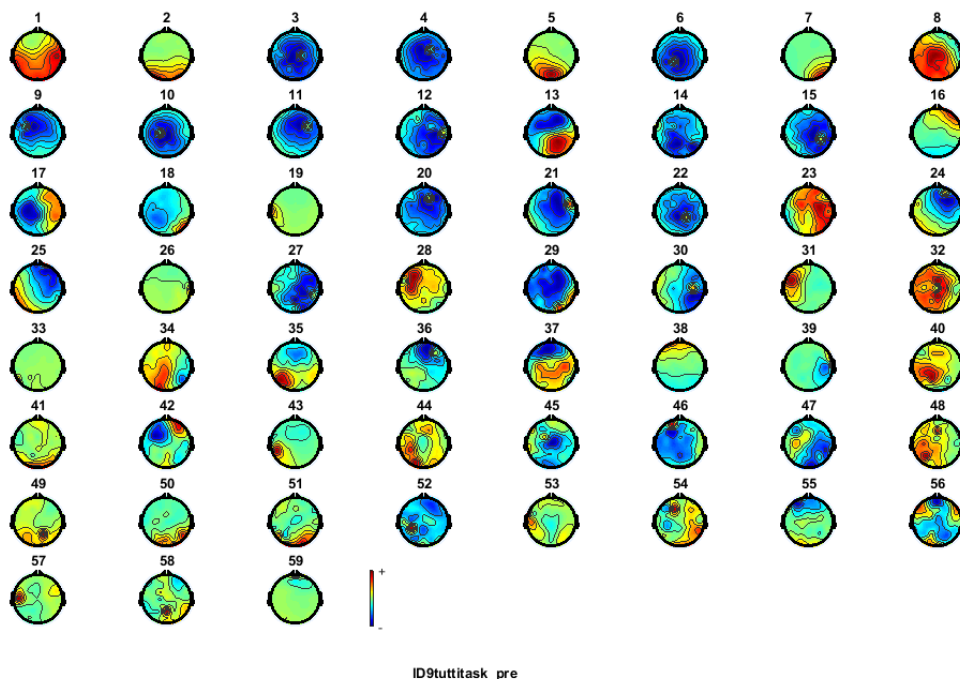


Figura 3.8 – Esempi di componenti indipendenti proiettate sullo scalpo.

Una volta ottenute le componenti indipendenti per ogni soggetto, al fine di estrarre quali siano quelle che contribuiscono maggiormente al picco ERP di interesse, è stata esportata da EEGLAB e salvata in un file con estensione .txt la matrice di demixing W . Al termine delle operazioni si avranno quindi per ciascun soggetto, due matrici di demixing, una per la condizione di pre-training e l'altra per quella di post-training, denominate per comodità W_{mts_pre} e W_{mts_post} .

L'elaborazione successiva è stata svolta in ambiente MATLAB[®], dove innanzitutto per ogni soggetto, in entrambe le condizioni, sono state ricavate le attivazioni delle componenti indipendenti attraverso la seguente operazione:

$$Y_{IC,r,cond,sogg}(t) = \sum_{i=1}^{59} W_{cond}(IC, i) \cdot E_{i,r,cond,sogg}(t) \quad (3.34)$$

dove

- $E_{i,r,cond,sogg}(t)$ va inteso come il potenziale dell'elettrodo i -esimo all'istante di tempo t ($t = -200 \div 900$) durante il trial r -esimo registrato nel soggetto $sogg$, nella condizione $cond$;
- $W_{cond}(IC, i)$ è l'elemento di riga IC e colonna i della matrice di demixing W ottenuta nella condizione pre o post ($cond = mts_pre$ o mts_post);
- $Y_{IC,r,cond,sogg}(t)$ rappresenta l'attività della componente indipendente IC ($IC = 1, 2, \dots, 59$) al tempo t , durante il trial r -esimo, registrato nel soggetto $sogg$, nella condizione $cond$ (mts_pre oppure mts_post).

A questo punto, considerando la matrice inversa $A_{cond} = W_{cond}^{-1}$, è stata calcolata la *back-projection* di ogni singola componente indipendente su ogni elettrodo, attraverso la seguente equazione:

$$E_{i,IC,r,cond,sogg}(t) = A(i, IC) \cdot Y_{IC,r,cond,sogg}(t) \quad (3.35)$$

dove

- $A(i, IC)$ è il peso con cui la componente indipendente IC ($IC = 1, \dots, 59$) contribuisce all'elettrodo i -esimo ($i = 1, \dots, 59$);
- $E_{i,IC,r,cond,sogg}(t)$ rappresenta la proiezione sull'elettrodo i -esimo ($i = 1, \dots, 59$) all'istante di tempo t ($t = -200 \div 900$ ms) durante il trial r -esimo della componente indipendente IC ($IC = 1, \dots, 59$) nel soggetto sperimentale $sogg$ ($sogg = 1, \dots, 15$, essendovi 15 soggetti nel gruppo sperimentale), nella condizione $cond$ ($cond = mts_pre, mts_post$).

Successivamente, mediando sui trial sono stati calcolati gli ERP nel tempo delle proiezioni delle componenti indipendenti dei 59 canali. Ovvero, per ciascuna componente indipendente sono stati calcolati i seguenti potenziali medi:

$$\overline{E_IC}_{i,IC,cond,sogg}(t) = \frac{\sum_{r=1}^R E_{i,IC,r,cond,sogg}(t)}{R} = ERP_{i,IC,cond,sogg}(t) \quad (3.36)$$

dove

- $E_{i,IC,r,cond,sogg}(t)$ rappresenta la proiezione sull'elettrodo i -esimo ($i = 1, \dots, 59$) all'istante di tempo t ($t = -200 \div 900$ ms) durante il trial r -esimo della componente indipendente IC ($IC = 1, \dots, 59$) nel soggetto sperimentale $sogg$ ($sogg = 1, \dots, 15$, essendovi 15 soggetti nel gruppo sperimentale), nella condizione $cond$ ($cond = mts_pre, mts_post$);
- R è il numero totale di trial per il generico soggetto sperimentale $sogg$ nella condizione $cond$;
- $\overline{E_IC}_{i,IC,cond,sogg}(t)$ è il potenziale medio su tutti i trial all'elettrodo i -esimo dovuto alla sola componente indipendente IC per il soggetto $sogg$ appartenente al gruppo sperimentale nella condizione $cond$.

A seguire, per ogni componente indipendente per ogni soggetto e per ciascuna delle due condizioni sono stati mediati gli ERP delle proiezioni della componente indipendente sui quattro canali centrali (FC_1, FC_2, FC_z, C_z) poiché posizionati sopra le regioni in cui l'onda N1 di interesse si manifesta maggiormente. Ovvero:

$$\overline{E_IC}_{centr,IC,cond,sogg}(t) = \frac{\sum_{i=1}^4 \overline{E_IC}_{i,IC,cond,sogg}(t)}{4} = ERP_IC_{C,IC,cond,sogg}(t) \quad (3.37)$$

dove

- $\overline{E_{IC}}_{i,IC,cond,sogg}(t)$ con $i = 1, \dots, 4$, si intende l'ERP su uno dei quattro elettrodi considerati (FC_1, FC_2, FC_z, C_z) dovuti alla sola componente IC (*back-projected*) nel soggetto $sogg$ nella condizione $cond$;
- $\overline{E_{IC}}_{centr,IC,cond,sogg}(t)$ è il potenziale mediato sui quattro elettrodi centrali dovuto alla sola componente IC (*back-projected*) nel generico soggetto $sogg$ nella condizione $cond$, che chiameremo ERP Centrale della componente indipendente ($ERP_{IC}_{C,IC,cond,sogg}(t)$).

Infine, è stato calcolato il valore medio dell'ERP centrale per ciascuna componente indipendente di ogni soggetto in entrambe le condizioni mts_pre e mts_post nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms in cui si presenta la N1. Ovvero:

$$ERP_{IC}_{C,IC,cond,sogg,T} = \frac{\sum_{t=140ms}^{180ms} ERP_{IC}_{C,IC,cond,sogg}(t)}{N} \quad (3.38)$$

dove $N = 21$ è il numero di campioni nell'intervallo di tempo T considerato. I valori così ottenuti sono stati ordinati in maniera crescente, dal più piccolo al più grande, in modo tale che i primi valori (ovvero quelli più negativi) corrispondano alle componenti indipendenti che maggiormente contribuiscono a dare origine alla deflessione negativa N1 dell'ERP. Quindi, è stata calcolata la percentuale con cui queste componenti indipendenti determinano il picco ERP di interesse, dividendo i valori sopra ottenuti per il valore medio del potenziale evento-correlato registrato agli elettrodi, mediato sui quattro canali centrali nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms. Ovvero:

$$ERP_{C,cond,sogg,T} = \frac{1}{N} \sum_{t=140ms}^{180ms} (ERP_{C,cond,sogg}(t)) \quad (3.39)$$

$$ERP_{IC}\%_{C,IC,cond,sogg,T} = \frac{ERP_{IC}_{C,IC,cond,sogg,T}}{ERP_{C,cond,sogg,T}} \cdot 100 \quad (3.40)$$

dove

- $ERP_{C,cond,sogg}(t)$ rappresenta la media dei potenziali (già mediati sui trial) dei quattro elettrodi centrali all'istante di tempo t ($t = -200 \div 900$ ms), nel soggetto sperimentale $sogg$ ($sogg = 1, \dots, 15$), nella condizione $cond$ ($cond = mts_pre, mts_post$);
- $N = 21$ è il numero di campioni nell'intervallo di tempo $T = 140 \div 180$ ms;
- $ERP_{C,cond,sogg,T}$ è il valore medio del potenziale evento-correlato mediato sui quattro elettrodi centrali nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms per il soggetto $sogg$ nella condizione $cond$;

- $ERP_IC\%_{C,IC,cond,sogg,T}$ è la percentuale con cui la componente IC contribuisce all'onda N1 sullo scalpo per il soggetto $sogg$ nella condizione $cond$.

Una volta completate queste operazioni, sono state prese in considerazione le prime componenti dell'elenco che forniscono, sommando le percentuali del contributo di ciascuna di esse, un valore \geq al 70% e che, quindi, determinano almeno il 70% del picco N1.

A partire dalla mappa sullo scalpo originata da tali componenti indipendenti, è stata stimata la loro localizzazione all'interno del tessuto cerebrale. Il metodo utilizzato è il DIPFIT, un plug-in di EEGLAB basato su funzioni scritte e fornite da Robert Oostenveld e portate su EEGLAB in collaborazione con Arnaud Delorme. Tale metodo modella le sorgenti indipendenti come dei singoli dipoli equivalenti di corrente, descritti da tre coordinate spaziali (che rappresentano la posizione del dipolo) e dalle tre componenti del momento di dipolo. Il principio su cui si basa il DIPFIT, come anticipato al paragrafo 2.4, è che molte componenti indipendenti hanno mappe topografiche che si adattano quasi perfettamente alla proiezione sullo scalpo di un singolo dipolo equivalente cerebrale. Dopo aver definito un modello di testa, cioè un modello capace di descrivere la distribuzione di potenziale sullo scalpo dovuta ad una corrente di dipolo intracerebrale, ciò che fa il DIPFIT è di fittare la mappa sullo scalpo del singolo dipolo con quella generata dalla componente indipendente, risolvendo così un problema ben posto. ^[24] La mappa sullo scalpo del singolo dipolo viene sottratta a quella generata dalla componente indipendente, stimando così una mappa residua. Attraverso un processo iterativo, la posizione e l'orientazione del dipolo vengono regolati fino a quando la differenza residua tra la mappa generata dalla componente indipendente e quella del singolo dipolo si riduce al minimo.

Dopo aver caricato su EEGLAB, uno alla volta, i dataset di ciascun soggetto per le sessioni di pre-training e post-training, in cui è stata precedentemente svolta l'ICA, per prima cosa è stato definito il modello di testa. DIPFIT mette a disposizione due modelli: il modello sferico e il modello degli elementi di contorno (*Boundary Element Model*, BEM), che è stato adottato in questo lavoro. Il primo è più semplice, ma poco realistico e modella il cervello attraverso quattro superfici sferiche (pelle, cranio, fluido cerebrospinale, corteccia) con diversa conducibilità elettrica. Il secondo, più realistico, è composto da tre superfici tridimensionali (pelle, cranio, corteccia) estratte dal modello MNI (Montreal Neurological Institute), ossia un modello di testa medio ottenuto mediante degli algoritmi opportuni di estrazione dei contorni da numerose (27) immagini di risonanza magnetica ottenute da uno stesso soggetto (questo template è noto con il nome di "collin 27"). È fondamentale che la localizzazione dei canali coincida con quella sulla superficie del modello di testa selezionato; ma essendo

i canali posizionati secondo il Sistema Internazionale 10-20, non è stato necessario eseguire nessuna co-registrazione.

A questo punto, sono state selezionate le componenti da fittare per ogni soggetto nelle condizioni di pre-training e post-training, ossia quelle ricavate sopra che spiegano almeno il 70% del picco N1. Quindi, è stato eseguito un primo fitting più grossolano del dipolo, che consiste nella scansione delle possibili posizioni ed orientazioni dei dipoli equivalenti in una griglia tridimensionale che copre l'intero cervello. In ogni posizione della griglia vengono confrontate le proiezioni sullo scalpo del dipolo corrispondente con le mappe topografiche delle componenti indipendenti. Le soluzioni di questa ricerca forniscono delle locazioni non ancora molto accurate, ma comunque accettabili come punti di partenza per il successivo fitting più raffinato. Questo secondo fitting applica delle tecniche di ottimizzazione non lineari, sviluppate da Michael Scherg, restituendo le coordinate di ciascuna sorgente e la relativa varianza ridisua, ossia un'indicatore della bontà del fitting (quanto più è bassa, tanto migliore è il fitting). Le coordinate sono espresse nel sistema di Talairach, creato dai neurochirurghi Jean Talairach e Gabor Szikla. Esso viene utilizzato per descrivere la posizione delle strutture cerebrali indipendentemente dalle differenze individuali nella forma e nella dimensione del cervello umano. Il sistema, mostrato in Figura 3.9, viene definito a partire dalle commissure anteriore e posteriore, le quali giacciono nel piano sagittale. Si congiungono questi due punti con una linea retta che individua l'asse y. L'origine del sistema è posta nella commissura anteriore, dalla quale si misurano le distanze. L'asse x individua la sinistra e la destra rispetto alle commissure, mentre l'asse z è in direzione ventrale-dorsale (verso il basso e verso l'alto).^[32]

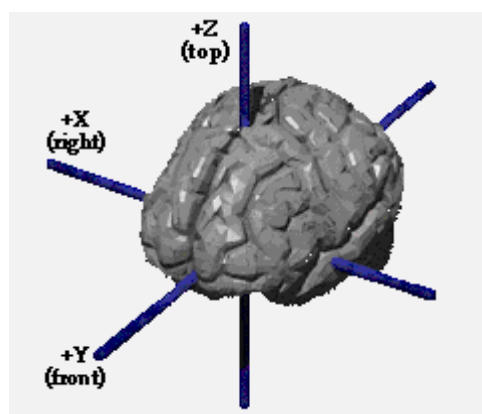


Figura 3.9 – Sistema di coordinate di Talairach.^[33]

Per individuare le regioni cerebrali corrispondenti alle tre coordinate (x,y,z) fornite dal DIPFIT per ciascuna componente indipendente si è sfruttato il software Talairach Client (scaricabile al link:

<http://www.talairach.org/client.html>). Esso è stato creato e sviluppato da Jack Lancaster e Peter Fox presso il Research Imaging Institute dell'Università della California Health Science Center di San Antonio (UTHSCSA). Il software etichetta le diverse regioni anatomiche definite dalle coordinate (x,y,z) nell'intero volume cerebrale usando uno schema gerarchico. In particolare, lo schema di etichettatura è organizzato in cinque livelli gerarchici: emisfero, lobo, giro, tipo di tessuto e tipo di cellula (area di Brodmann).^[34] Quindi, inserendo nell'interfaccia del software, mostrata in Figura 3.10, le coordinate di ciascuna sorgente, sono state ricavate le relative posizioni all'interno del tessuto cerebrale.

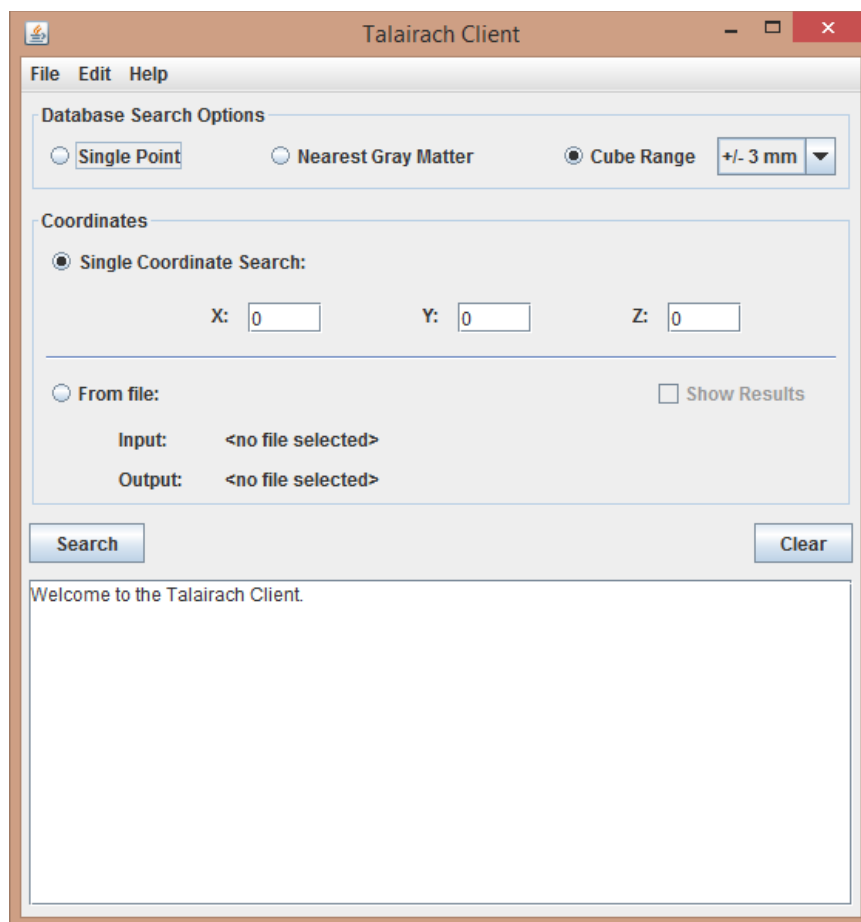


Figura 3.10 – Interfaccia di Talairach Client.

Il software offre diverse modalità per trovare la regione corrispondente alle coordinate (x,y,z): il singolo punto oppure la materia grigia più vicina oppure un cubo di varie dimensioni centrato nella coordinata (x,y,z). I risultati vengono visualizzati nella parte inferiore dell'interfaccia. Un esempio è mostrato nelle Figure 3.11 e 3.12, dove vengono restituiti i risultati della ricerca della regione corrispondente alle coordinate (-6,-61,14). Nella Figura 3.11 è stata utilizzata la modalità di ricerca della materia grigia più vicina, mentre nella Figura 3.12 è stata utilizzata la modalità del cubo di

dimensioni 3x3x3 mm, al cui interno sono presenti diverse regioni cerebrali, che vengono visualizzate in ordine decrescente secondo il volume che occupano nel cubo.

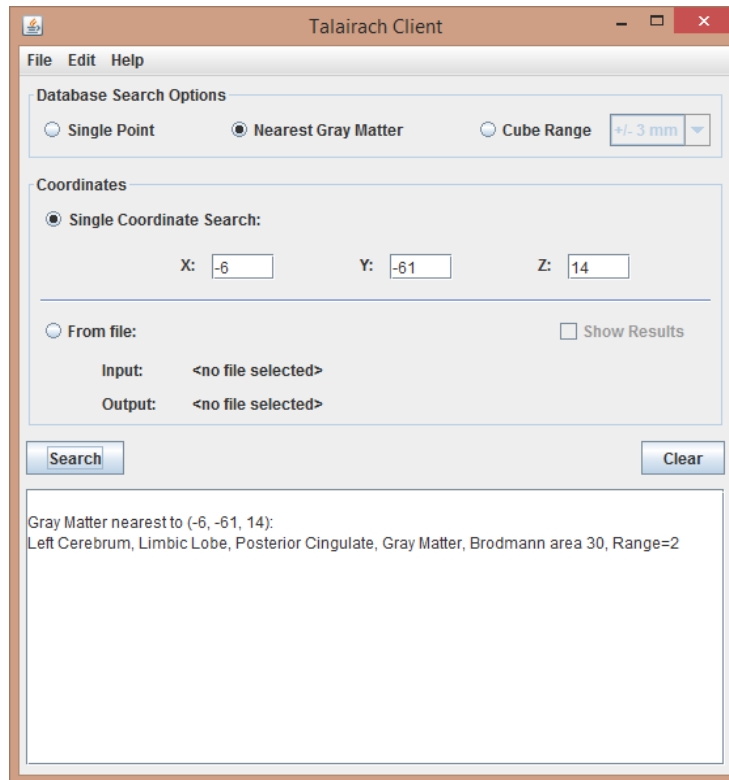


Figura 3.11 – Esempio di interfaccia di Talairach Client dove viene utilizzata la modalità di ricerca della materia grigia più vicina.

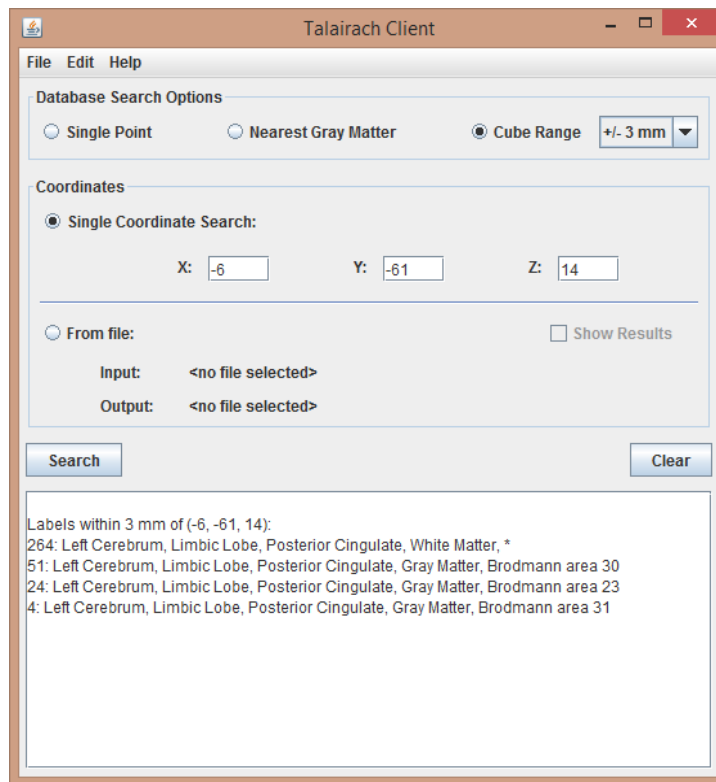


Figura 3.12 – Esempio di interfaccia di Talairach Client dove viene utilizzata la modalità di ricerca del cubo di dimensione 3x3x3 mm.

Capitolo 4

Risultati dell'analisi dei segnali nel dominio del tempo e nel dominio tempo-frequenza

I segnali elettroencefalografici raccolti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive durante le sessioni di discriminazione visiva sono stati in questo lavoro elaborati al fine di ottenere informazioni sull'attività cerebrale nell'intervallo temporale in cui si presenta la N100 (140÷180 ms post-stimolo), la componente dell'ERP di interesse in questo studio, prima e dopo il training multisensoriale. Si riepilogano di seguito i dati analizzati, dettagliatamente descritti nel Capitolo 3, che consistono in quattro set di segnali EEG per il compito di discriminazione della direzione di movimento di un set di punti luminosi ("m") e quattro set di segnali per il compito di discriminazione dell'orientazione di una griglia di Gabor ("o") associati a ciascun soggetto del gruppo sperimentale ("t", training multisensoriale con stimoli audio-visivi spazialmente coincidenti) e del gruppo di controllo ("c", training multisensoriale con stimoli audio-visivi spazialmente disparati), raccolti nella sessione di pre-training ("pre") oppure di post-training ("post") con il lato di presentazione dello stimolo che può essere coincidente con quello utilizzato durante il training multisensoriale ("s") od opposto ("ns").

4.1 Analisi dei segnali nel dominio del tempo

L'analisi dell'attività sullo scalpo nel dominio del tempo ha evidenziato i risultati ottenuti dal gruppo di Neuroscienze Cognitive a livello di ERP.

Le mappe topografiche dello scalpo (si veda la sezione 3.3 per il calcolo di tali mappe) in Figura 4.1 mostrano il valore medio nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms della Grand Average dell'ERP nei 59 canali, calcolata sul gruppo sperimentale nelle 8 condizioni (mts_pre, mtns_pre, ots_pre, otns_pre, mts_post, mtns_post, ots_post, otns_post), mentre le mappe topografiche in Figura 4.2 mostrano il valore medio nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms della Grand Average dell'ERP nei 59 canali, calcolata sul gruppo di controllo nelle 8 condizioni (mcs_pre, mcns_pre, ocs_pre, ocns_pre, mcs_post, mcns_post, ocs_post, ocns_post). I colori delle mappe vanno dal rosso, corrispondente ad un valore di potenziale più alto,

fino al blu, corrispondente ad un potenziale più basso. Nello specifico, il blu è associato ad un potenziale negativo, individuando così le regioni dello scalpo in cui si presenta la deflessione negativa N1 dell'ERP. Come si può osservare, essa si manifesta maggiormente nella regione centrale per tutte le condizioni, in particolare nell'area corrispondente ai quattro canali centrali FC₁, FC₂, FC_Z, C_Z.

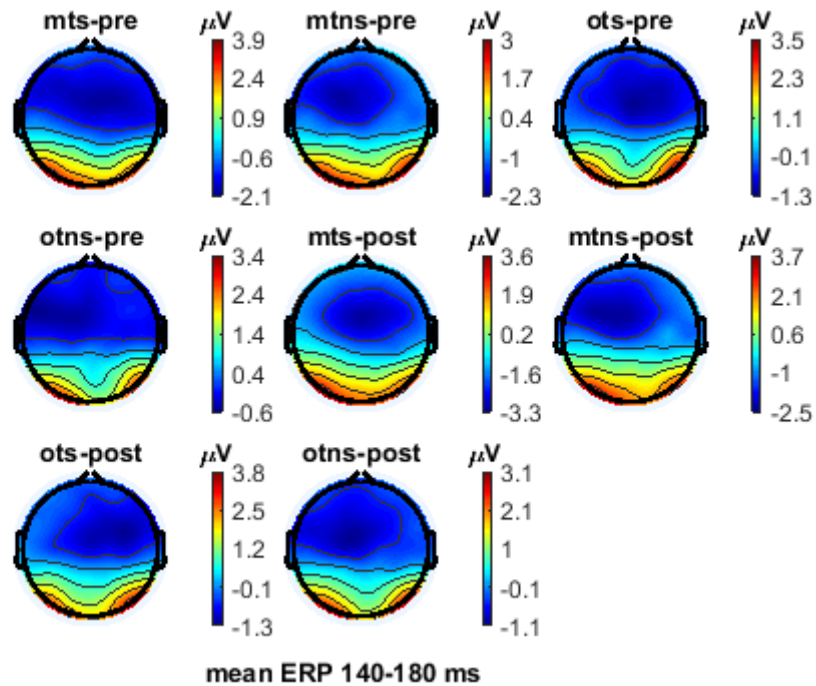


Figura 4.1 – Mappe topografiche dello scalpo che mostrano il valore medio nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms della Grand Average dell'ERP nei 59 canali per i soggetti del gruppo sperimentale nelle 8 condizioni (per chiarezza, le posizioni dei 59 elettrodi sullo scalpo non sono mostrate).

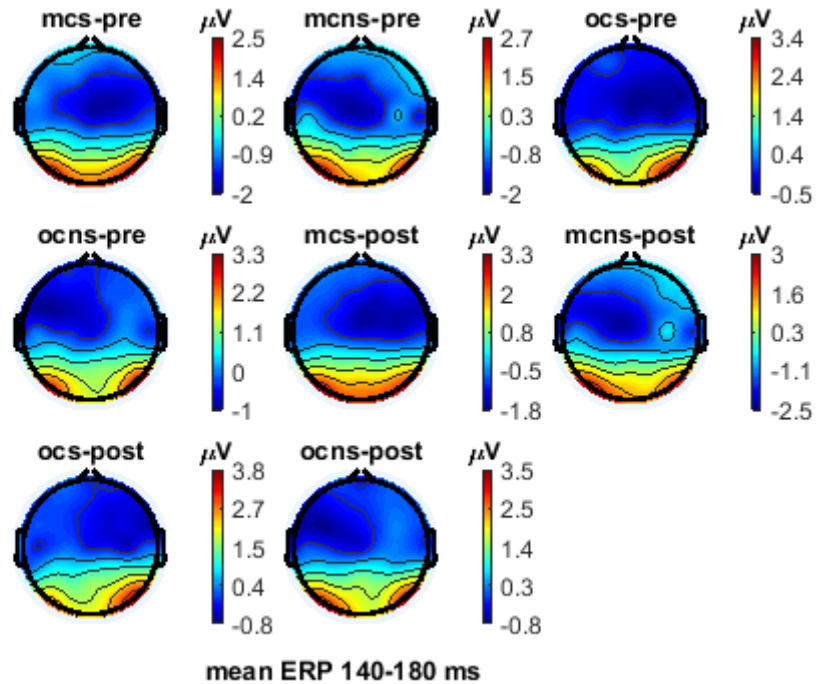


Figura 4.2 – Mappe topografiche dello scalpo che mostrano il valore medio nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms della Grand Average dell'ERP nei 59 canali per i soggetti del gruppo di controllo nelle 8 condizioni (per chiarezza, le posizioni dei 59 elettrodi sullo scalpo non sono mostrate).

Per meglio enfatizzare le differenze prima e dopo il training, sono state generate anche le mappe topografiche ottenute calcolando, canale per canale, la differenza tra il valore medio nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms della Grand Average dell'ERP dopo il training e il valore medio nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms della Grand Average dell'ERP prima del training, per i soggetti sperimentali in ciascuna condizione (“mts”, “mtns”, “ots”, “otns”) e per i soggetti di controllo in ciascuna condizione (“mcs”, “mcns”, “ocs”, “ocns”). I risultati ottenuti sono mostrati nella Figura 4.3 per i soggetti sperimentali e nella Figura 4.4 per i soggetti di controllo. Si può notare che la differenza maggiore tra la condizione di post-training e la condizione di pre-training si osserva in corrispondenza alle regioni fronto-centrali nella condizione “mts” (Figura 4.3), cioè per i soggetti del gruppo sperimentale nel compito di discriminazione del movimento, quando lo stimolo di discriminazione è presentato nello stesso emicampo utilizzato per il training; in particolare, la mappa differenza “mts-post”-“mts-pre” ha valore negativo nelle regioni fronto-centrali indicando una maggiore negatività media dell'ERP nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms dopo il training rispetto alla condizione di pre-training.

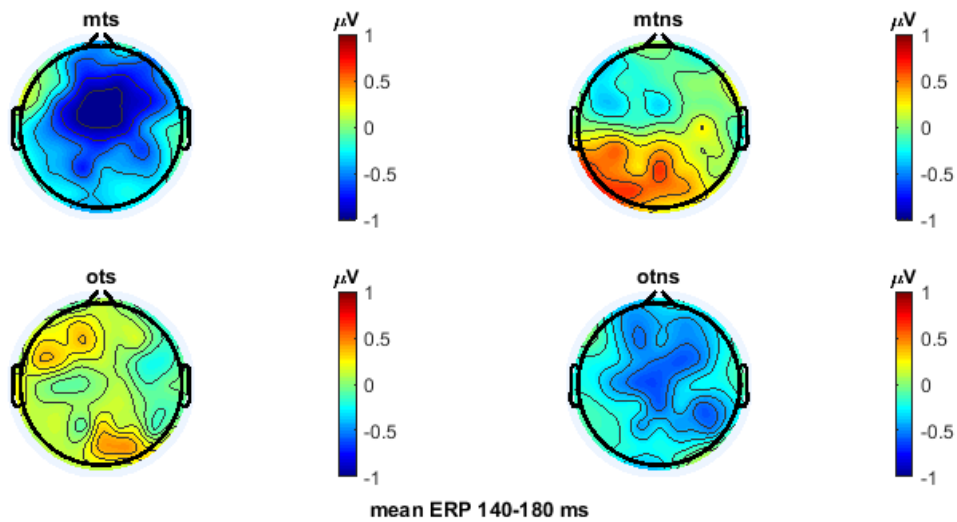


Figura 4.3 – Mappe topografiche dello scalpo che mostrano la differenza tra il valore medio nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms della Grand Average dell'ERP dopo il training e il valore medio nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms della Grand Average dell'ERP prima del training nei 59 canali per i soggetti del gruppo sperimentale nelle 4 condizioni (per chiarezza, le posizioni dei 59 elettrodi sullo scalpo non sono mostrate). In particolare, ciascuna mappa qui rappresentata per la generica condizione (“mts”, “mtns”, “ots”, “otns”) è stata ottenuta dalle mappe di Figura 4.1 attraverso l'operazione “condizione post”-“condizione pre”.

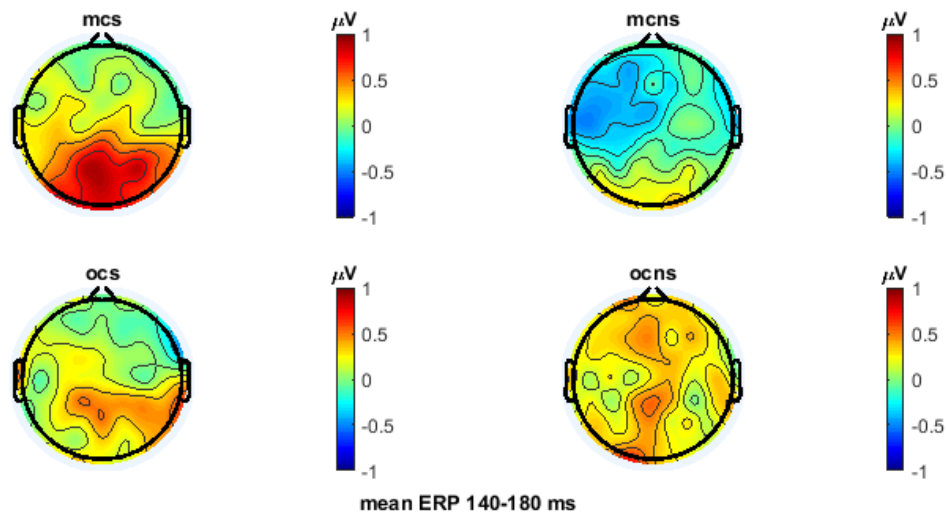


Figura 4.4 – Mappe topografiche dello scalpo che mostrano la differenza tra il valore medio nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms della Grand Average dell'ERP dopo il training e il valore medio nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms della Grand Average dell'ERP prima del training nei 59 canali per i soggetti del gruppo di controllo nelle 4 condizioni (per chiarezza, le posizioni dei 59 elettrodi sullo scalpo non sono mostrate). In particolare, ciascuna mappa qui rappresentata per la generica condizione (“mcs”, “mcns”, “ocs”, “ocns”) è stata ottenuta dalle mappe di Figura 4.2 attraverso l'operazione “condizione post”-“condizione pre”.

A seguire, si riportano i risultati ottenuti concentrandosi sugli ERP misurati dai quattro elettrodi centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z), di cui è stata fatta una media ottenendo un ERP centrale (si veda la sezione 3.3 con particolare riferimento alle equazioni (3.4) e (3.5)). La Figura 4.5 mostra l'andamento nel tempo della Grand Average dell'ERP centrale calcolata sul gruppo sperimentale nelle 8 condizioni (mts_pre, mts_post, mtns_pre, mtns_post, ots_pre, ots_post, onts_pre, onts_post), mentre la Figura 4.6 mostra l'andamento della Grand Average dell'ERP centrale calcolata sul gruppo di controllo nelle 8 condizioni (mcs_pre, mcs_post, mcns_pre, mcns_post, ocs_pre, ocs_post, ocns_pre, ocns_post). Dai grafici emerge che la componente N1 dell'ERP, evidenziata con una freccia rossa, si presenta nell'intervallo temporale compreso tra 140 ms e 180 ms in tutte le condizioni. L'unica differenza statisticamente significativa tra la condizione di pre-training e di post-training rilevata dal gruppo di Neuroscienze Cognitive è confermata nell'andamento delle Grand Average (e dalle mappe topografiche delle differenze). Infatti, si può osservare una marcata maggiore negatività del picco N1 nella condizione di post-training rispetto a quella di pre-training soltanto per il compito di discriminazione di movimento, per i soggetti del gruppo sperimentale, nella condizione in cui gli stimoli visivi sono stati presentati nello stesso emicampo utilizzato per il training (confronto "mts_pre" vs "mts_post").

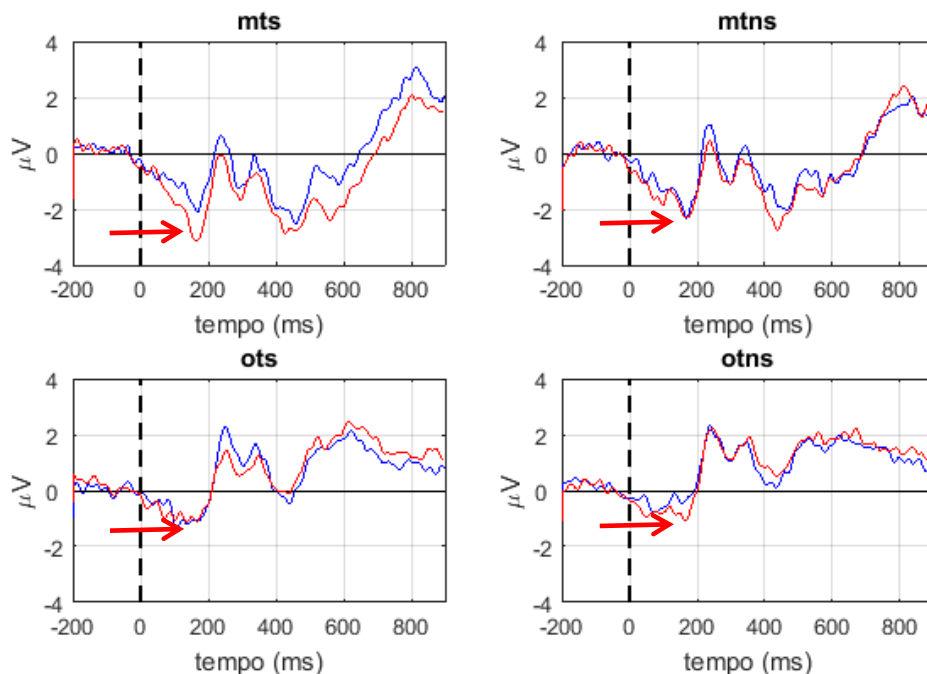


Figura 4.5 – Andamento nel tempo della Grand Average dell'ERP centrale (media degli ERP sui quattro canali centrali) calcolata per i soggetti del gruppo sperimentale. In blu i valori pre-training, in rosso quelli post-training. La freccia rossa evidenzia la componente N1 dell'ERP. La linea tratteggiata indica l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms).

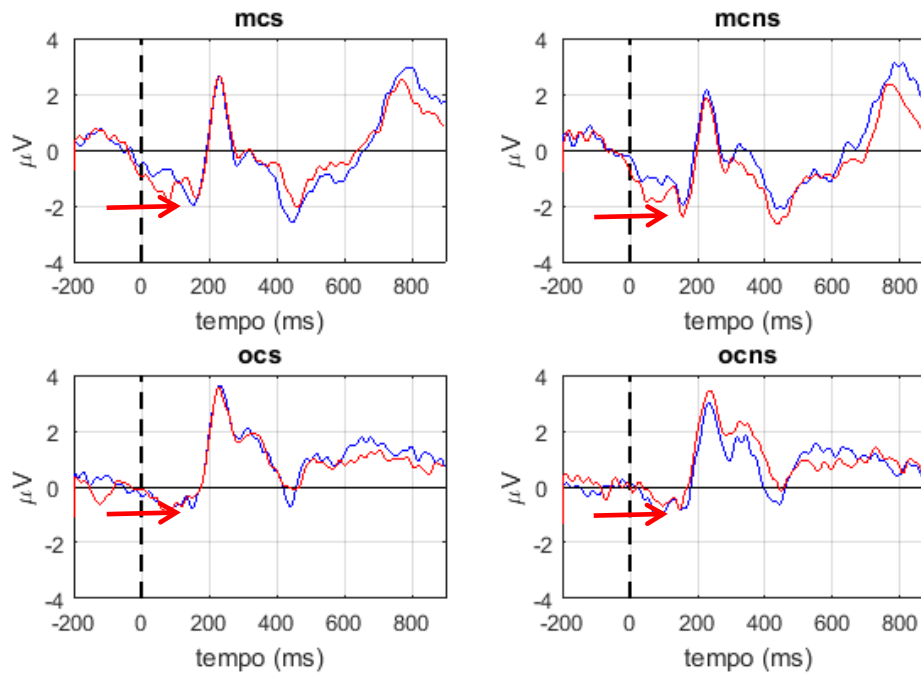


Figura 4.6 – Andamento nel tempo della Grand Average dell'ERP centrale (media degli ERP sui quattro canali centrali) calcolata per i soggetti del gruppo di controllo. In blu i valori pre-training, in rosso quelli post-training. La freccia rossa evidenzia la componente N1 dell'ERP. La linea tratteggiata indica l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms).

4.2 Analisi dei segnali nel dominio tempo-frequenza

Di seguito si riportano i risultati ottenuti attraverso la scomposizione tempo-frequenza dei segnali elettroencefalografici relativi ai quattro canali centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) per il compito di discriminazione di movimento per i 15 soggetti del gruppo sperimentale, nella condizione in cui gli stimoli visivi sono stati presentati nello stesso emicampo utilizzato per il training, nella sessione di pre-training e post-training. Ci si è focalizzati sull'analisi di questi dati, in quanto, come già anticipato nel Capitolo 3 (si veda la sezione 3.4.1) e come evidenziato nella sezione 4.1 precedente, i canali centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) sono quelli che presentano la maggiore componente N1 ed inoltre solo nella condizione “mts” i ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive avevano individuato una differenza significativa della componente N1 di questi quattro canali centrali nella condizione di post-training rispetto alla condizione di pre-training. L'obiettivo di questa ulteriore analisi è stato quello di individuare, rispetto a quanto già emerso nel paragrafo precedente, ulteriori eventuali differenze tra la sessione di pre-training e quella di post-training nell'intervallo di tempo compreso tra 140 ms e 180 ms in cui si presenta l'onda N1 nonché in altri intervalli di tempo.

4.2.1 Potenza evento-correlata

Come illustrato estesamente nel Capitolo 3 (si vedano le sezioni 3.4.1 e 3.4.2 e l'equazione (3.7)), applicando la trasformazione wavelet ad ogni trial del segnale EEG di ciascun soggetto, quindi mediando sui trial il quadrato del modulo dei coefficienti di ciascuna scomposizione, è stata ricavata la rappresentazione tempo-frequenza della potenza totale evento-correlata, che contiene informazioni sia sull'attività phase-locked allo stimolo (ovvero ERP e ERPR), sia sull'attività non phase-locked (ovvero ERS, ERD e ERP con jitter in latenza). Analogamente a quanto svolto per gli ERP, le potenze dei quattro canali centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) sono state mediate ottenendo una potenza centrale per ciascun soggetto (si veda l'equazione (3.8) nella sezione 3.4.2); successivamente per ciascun soggetto questa potenza centrale è stata espressa come z-score rispetto alla baseline costituita da un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms (si vedano le equazioni dalla (3.9) alla (3.13) nella sezione 3.4.2). Le Figure 4.7 e 4.8 mostrano in alto la rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della potenza centrale evento-correlata espressa come z-score e in basso la Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale, rispettivamente nelle condizioni di pre-training (Figura 4.7) e di post-training (Figura 4.8).

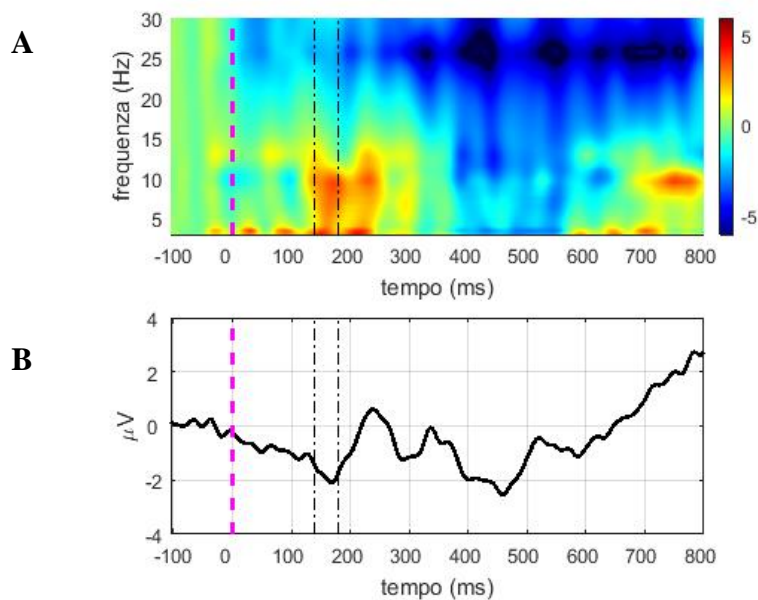


Figura 4.7 – A: Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della potenza centrale evento-correlata, espressa come z-score (ovvero normalizzata rispetto ad un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms) nella condizione di pre-training. **B:** Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale nella condizione di pre-training. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

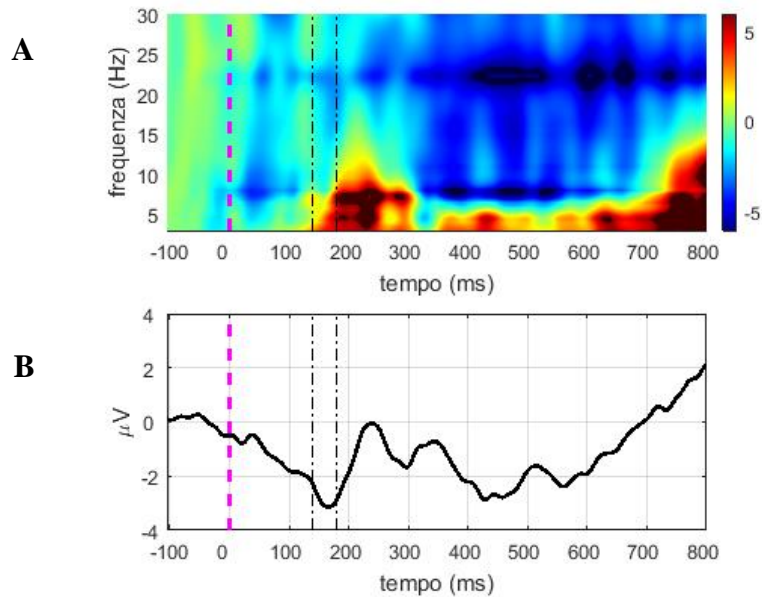


Figura 4.8 – **A:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della potenza centrale evento-correlata, espressa come z-score (ovvero normalizzata rispetto ad un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms) nella condizione di post-training. **B:** Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale nella condizione di post-training. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

Ci siamo quindi concentrati sull'intervallo temporale in cui si manifesta la componente visiva N1 ($T = 140 \div 180$ ms), evidenziato nei grafici delle Figure 4.7 e 4.8 dalle linee tratteggiate nere. Confrontando la Figura 4.7 pannello A e la Figura 4.8 pannello A, si osserva in banda alpha (8÷14 Hz) una minore potenza nella condizione di post-training rispetto a quella di pre-training. Per evidenziare maggiormente le differenze di potenza tra la condizione pre-training e post-training, per ciascun soggetto del gruppo sperimentale è stata calcolata (si veda l'equazione (3.15) nella sezione 3.4.2) la differenza tra la potenza totale evento-correlata post-training (espressa come z-score rispetto alla baseline) e la potenza totale evento-correlata pre-training (espressa come z-score rispetto alla baseline) e quindi è stata calcolata la Grand Average della differenza sui 15 soggetti (equazione (3.16) nella sezione 3.4.2). Il pannello A di Figura 4.9 mostra dunque la rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average della differenza tra la potenza centrale evento-correlata (normalizzata) nella condizione post e quella nella condizione pre; si osserva che, in accordo con le Figure 4.7 e 4.8, essa risulta negativa nell'intervallo di tempo considerato e nella banda esaminata (banda alpha 8÷14 Hz). Si osserva inoltre che essa appare più marcatamente negativa non solo nell'intervallo del picco N1 (140÷180 ms) ma in tutto l'intervallo che va dall'insorgenza dello stimolo ($t = 0$ ms) fino a circa 200 ms post-stimolo.

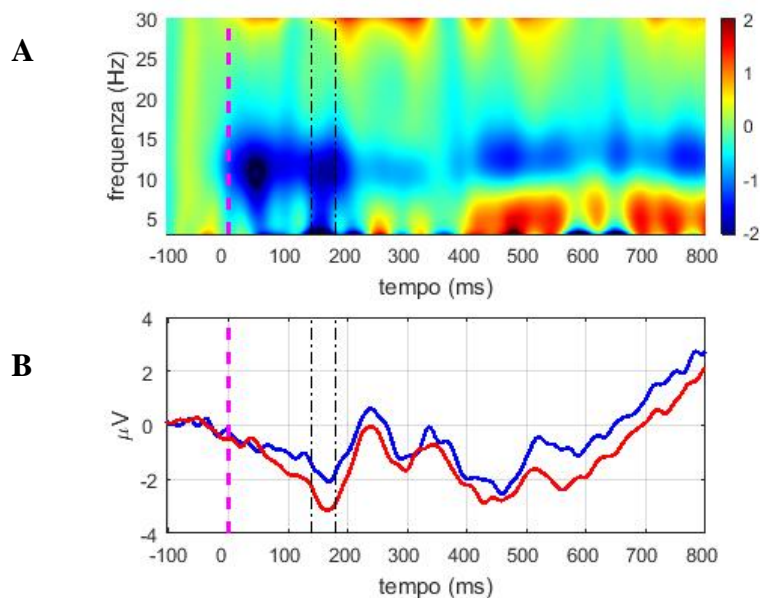


Figura 4.9 – **A:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della differenza tra la potenza centrale evento-correlata nella condizione di post-training (espressa come z-score rispetto alla baseline) e quella nella condizione di pre-training (espressa come z-score rispetto alla baseline). **B:** Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale nella condizione di post-training in rosso e di pre-training in blu. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

Per testare se esiste una differenza significativa di potenza in banda alpha nell'intervallo $T=140 \div 180$ ms, per ogni soggetto è stato calcolato il valore medio della potenza centrale normalizzata nel range di frequenze alpha ($8 \div 14$ Hz) e nell'intervallo $T=140 \div 180$ ms, nella condizione di pre-training e di post-training (si veda la sezione 3.4.4, equazione (3.28)). Quindi, verificato che per ciascuno dei due campioni di 15 valori è possibile assumere una distribuzione gaussiana (attraverso l'Anderson-Darling test eseguito in MATLAB®), i due campioni sono stati confrontati con un paired t-test. Il t-test eseguito con un livello di significatività del 5%, non individua differenze significative tra le sessioni di pre-training e post-training ($H = 0$, $P = 0.1879$).

Questa procedura è stata eseguita anche considerando un intervallo di tempo più ampio, compreso tra 0 ms e 200 ms, in cui, come anticipato sopra, la Grand Average della differenza tra la potenza centrale evento-correlata (normalizzata) in banda alpha nella condizione post e quella nella condizione pre risulta negativa in modo evidente (si veda la Figura 4.9 pannello A). Il t-test, per un livello di significatività del 5%, nemmeno in questo caso, rileva differenze significative tra le sessioni di pre-training e post-training ($H = 0$, $P = 0.2485$).

Tuttavia, come evidenziato in Figura 4.10 e in Figura 4.11, il valore medio di potenza alpha mediato sui 15 soggetti nella condizione di post-training risulta inferiore rispetto a quello nella condizione di pre-training, in entrambi gli intervalli di tempo considerati ($T = 140 \div 180$ ms in Figura 4.10 e $T = 0 \div 200$ ms in Figura 4.11).

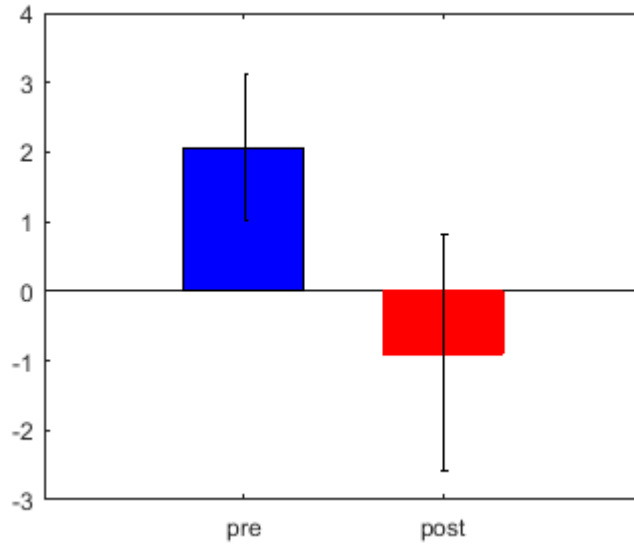


Figura 4.10 – Valore medio della potenza alpha (espresso come z-score rispetto alla baseline) mediata sui 15 soggetti nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms, nella sessione di pre-training in blu e nella sessione di post-training in rosso.

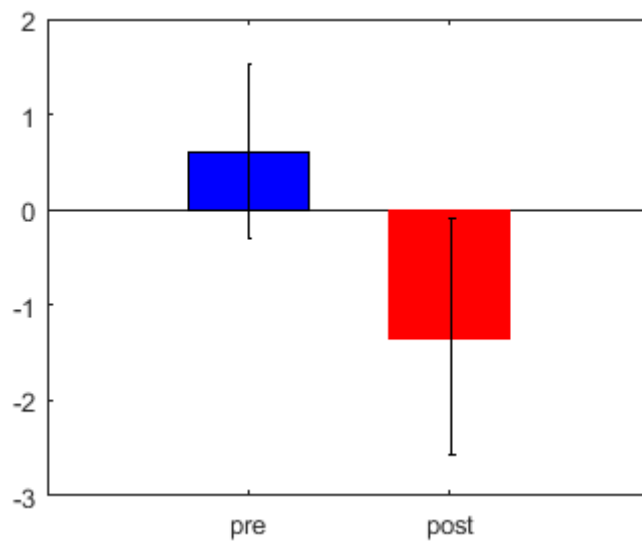


Figura 4.11 – Valore medio della potenza alpha (espresso come z-score rispetto alla baseline) mediata sui 15 soggetti nell'intervallo $T = 0 \div 200$ ms, nella sessione di pre-training in blu e nella sessione di post-training in rosso.

I risultati precedenti sono stati ottenuti considerando la potenza totale che non distingue tra la potenza phase-locked e non phase-locked, mentre potrebbe essere interessante individuare se la diminuzione di potenza alpha nella condizione post-training vs pre-training evidenziata nelle precedenti figure sia dovuta principalmente ad una diminuzione di potenza non phase-locked (cioè sia dovuta ad un ERD in banda alpha) o piuttosto ad una diminuzione di potenza phase-locked. A tale scopo è stata eseguita anche un'analisi sulla potenza non phase-locked ottenuta rimuovendo la potenza phase-locked allo

stimolo dalla potenza totale evento-correlata (per il calcolo della potenza non phase-locked si veda la parte finale della sezione 3.4.2 con l'equazione (3.17)). La Figura 4.12 pannello A e la Figura 4.13 pannello A, riportano le rappresentazioni tempo-frequenza della Grand Average calcolata sui 15 soggetti della potenza centrale non phase-locked, nelle condizioni rispettivamente di pre-training e post-training. Confrontando queste figure rispettivamente con la precedente Figura 4.7 pannello A e la Figura 4.8 pannello A relative alla potenza totale, si osserva che, nell'intervallo temporale oggetto dell'analisi (140÷180 ms), la potenza non phase-locked assume valori più bassi. Da ciò si desume che alla componente N1 non è associata una ERS (cioè potenza non phase-locked) in banda alpha. Inoltre si intuisce che la diminuzione di potenza alpha totale nella condizione post-training (si veda la Figura 4.10) sia principalmente dovuta ad una diminuzione di potenza alpha non-phase locked (cioè ad un ERD in banda alpha).

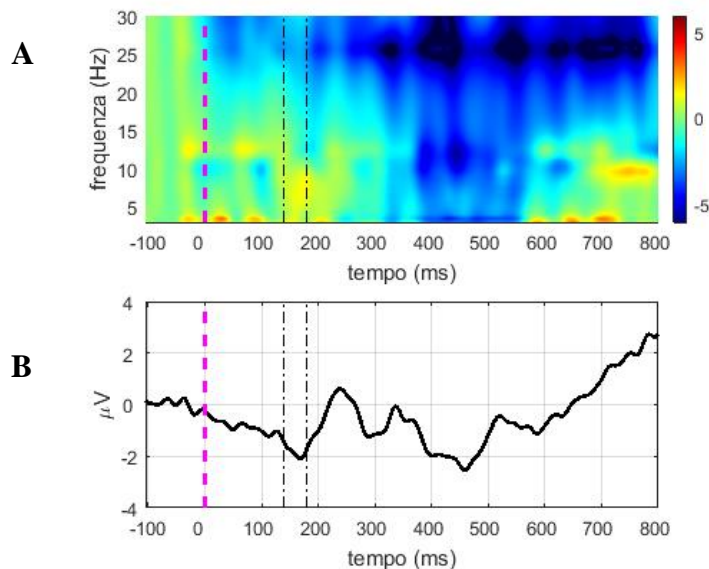


Figura 4.12 – **A:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della potenza non phase-locked centrale, espressa come z-score (ovvero normalizzata rispetto ad un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms) nella condizione di pre-training. **B:** Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale nella condizione di pre-training. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

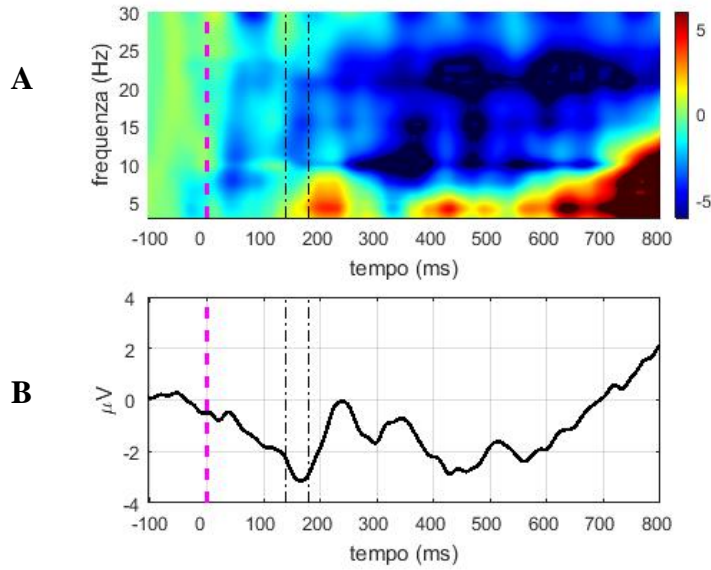


Figura 4.13– **A**: Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della potenza non phase-locked centrale, espressa come z-score (ovvero normalizzata rispetto ad un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms) nella condizione di post-training. **B**: Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale nella condizione di post-training. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

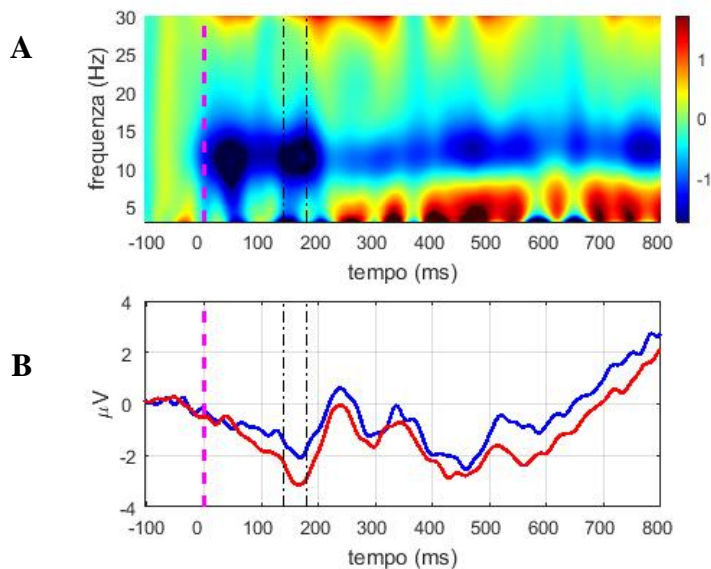


Figura 4.14 – **A**: Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della differenza tra la potenza non phase-locked centrale nella condizione di post-training e quella nella condizione di pre-training. **B**: Grand Average dell'ERP centrale sui 15 soggetti del gruppo sperimentale nella condizione di post-training in rosso e di pre-training in blu. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

La precedente intuizione è suggerita dall'osservazione che la potenza alpha non phase-locked nell'intervallo compreso tra 140 ms e 180 ms assume valori minori nella sessione di post-training rispetto alla sessione di pre-training. Infatti, sottraendo dalla Grand Average della potenza centrale non phase-locked nella sessione di post-training quella nella sessione di pre-training si ottengono valori di potenza negativi, come illustrato in Figura 4.14 pannello A, che si traducono in potenza alpha non phase-locked minore nella sessione successiva al training. Difatti il valore medio di potenza alpha non phase-locked mediato sui 15 soggetti nella condizione di post-training risulta negativo ed inferiore rispetto a quello nella condizione di pre-training (Figura 4.15).

Osservando la Figura 4.14 pannello A si nota inoltre che la potenza alpha non phase-locked assume valori minori nella sessione di post-training rispetto alla sessione di pre-training non solo nell'intervallo considerato, ma lo fa in maniera accentuata in tutto l'intervallo compreso tra la presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) e 200 ms. Quanto sopra esposto infatti si verifica anche considerando questo intervallo nel quale, come evidenziato in Figura 4.16, il valore medio di potenza alpha non phase-locked in $T = 0\div 200$ ms mediato sui 15 soggetti nella condizione di post-training risulta negativo ed inferiore rispetto a quello nella condizione di pre-training.

Anche in questi casi però il t-test eseguito per confrontare i valori medi di potenza alpha non phase-locked di ciascun soggetto (per il calcolo del valore medio si veda la sezione 3.4.4, equazioni (3.30) e (3.31)) nell'intervallo compreso tra 140 ms e 180 ms e, successivamente, nell'intervallo compreso tra 0 ms e 200 ms, per un livello di significatività del 5%, non ha individuato differenze significative tra le sessioni di pre-training e post-training ($H = 0$, $P = 0.2658$ e $H = 0$, $P = 0.2628$).

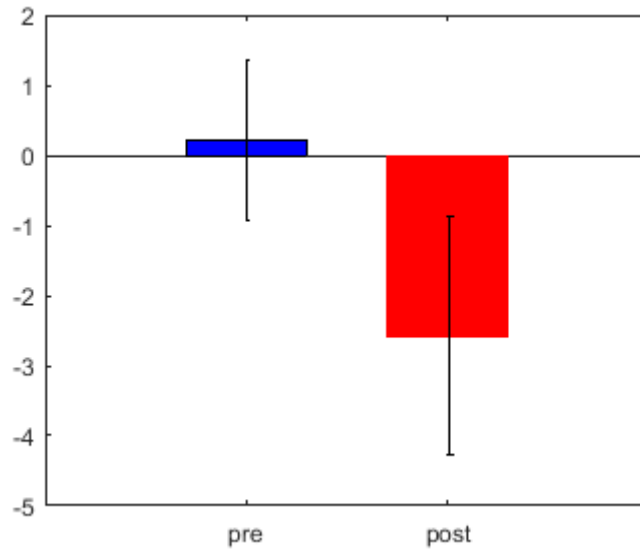


Figura 4.15 – Valore medio della potenza alpha non phase-locked mediata sui 15 soggetti nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms, nella sessione di pre-training in blu e nella sessione di post-training in rosso.

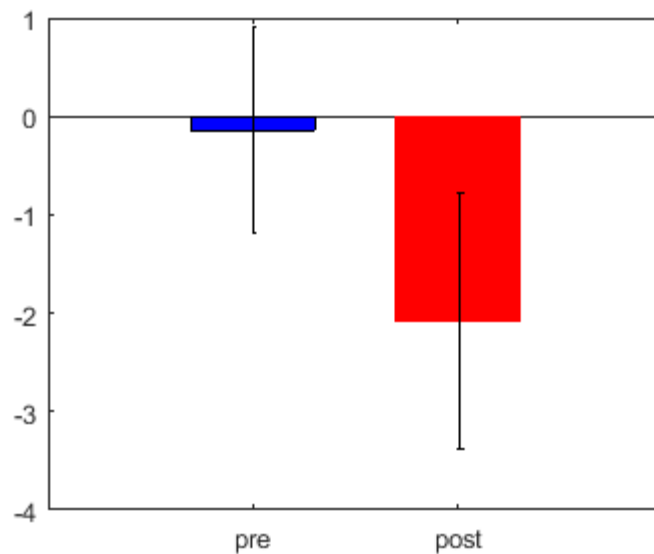


Figura 4.16 – Valore medio della potenza alpha non phase-locked mediata sui 15 soggetti nell'intervallo $T = 0\div 200$ ms, nella sessione di pre-training in blu e nella sessione di post-training in rosso.

I risultati ottenuti fino ad ora suggeriscono che la condizione di post-training sia caratterizzata da una diminuzione di potenza non phase-locked in banda alpha, cioè sia associata ad un ERD in banda alpha (in maniera più marcata non solo nell'intervallo $T=140\div 180$ ms ma in tutto l'intervallo da 0 ms a 200 ms), piuttosto che ad una diminuzione di potenza phase-locked. Per confermare questo è stata anche calcolata la potenza phase-locked, ottenuta per ciascun soggetto come la potenza dell'ERP centrale

in entrambe le condizioni pre e post, espressa come z-score rispetto ad un intervallo di riferimento pre-stimolo compreso tra -200 ms e -50 ms (per il calcolo della potenza phase-locked si veda la parte finale della sezione 3.4.2, equazioni dalla (3.18) alla (3.22)). La Figura 4.17 pannello A e la Figura 4.18 pannello A, riportano le rappresentazioni tempo-frequenza della Grand Average calcolata sui 15 soggetti della potenza centrale phase-locked, nelle condizioni rispettivamente di pre-training e post-training. Si osserva che, nell'intervallo di tempo in cui si manifesta la componente N1 (140÷180 ms) – e in realtà anche nell'intervallo di tempo successivo fino a circa 500 ms post-stimolo – la potenza phase-locked assume valori molto elevati. Il pannello A di Figura 4.19 riporta la rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average della differenza tra la potenza centrale phase-locked nella condizione post e quella nella condizione pre; si nota che essa risulta positiva nella banda alpha nell'intervallo di tempo compreso tra 140 ms e 180 ms (in realtà fino a circa 500 ms post-stimolo). Si deduce quindi che la maggiore negatività del picco N1 a seguito del training sia associata ad un incremento della potenza phase locked in banda alpha. Inoltre sembra verificarsi quanto in precedenza ipotizzato, infatti la diminuzione della potenza alpha totale nella condizione post-training risulta dovuta alla diminuzione della sola potenza alpha non phase-locked piuttosto che phase-locked, poiché quest'ultima, anziché diminuire, aumenta nella condizione post.

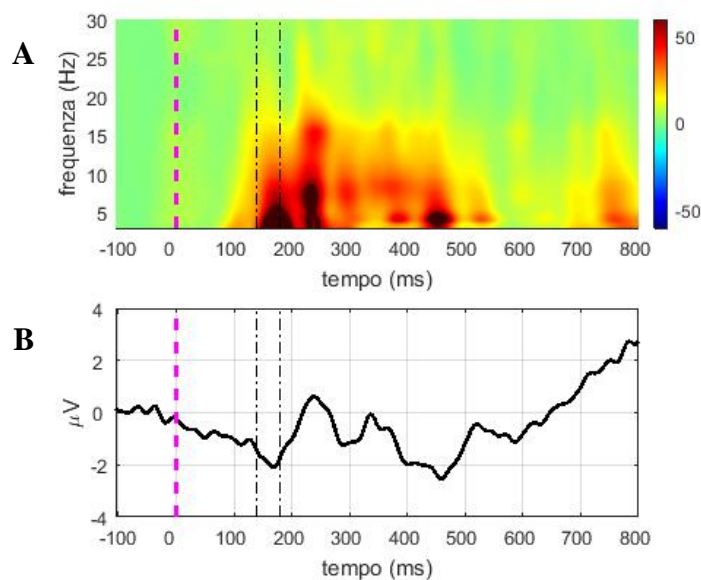


Figura 4.17 – **A:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della potenza phase-locked centrale, espressa come z-score (ovvero normalizzata rispetto ad un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms) nella condizione di pre-training. **B:** Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale nella condizione di pre-training. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140\div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

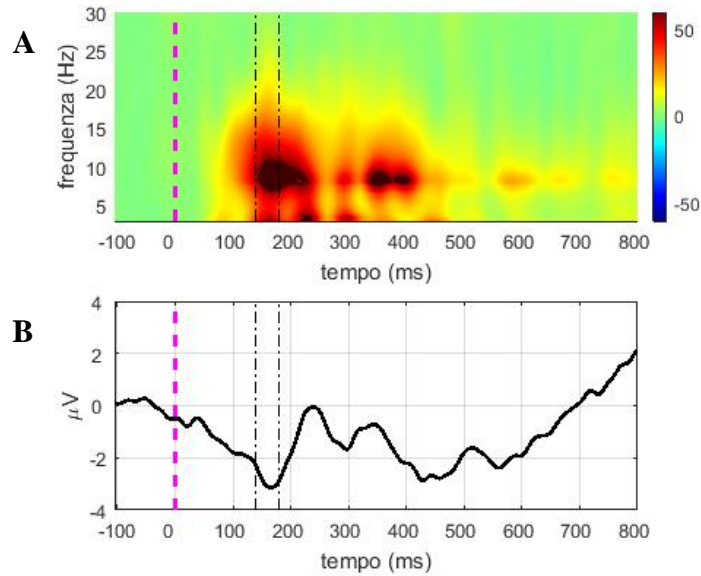


Figura 4.18 – **A:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della potenza phase-locked centrale, espressa come z-score (ovvero normalizzata rispetto ad un intervallo di riferimento pre-stimolo tra -200 ms e -50 ms) nella condizione di post-training. **B:** Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale dell'ERP centrale nella condizione di post-training. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \pm 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

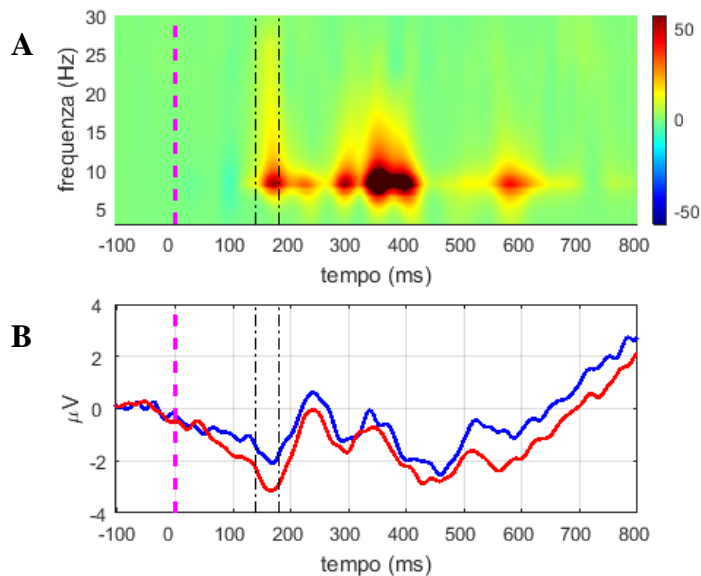


Figura 4.19 – **A:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della differenza tra la potenza phase-locked centrale nella condizione di post-training e quella nella condizione di pre-training. **B:** Grand Average dell'ERP centrale sui 15 soggetti del gruppo sperimentale nella condizione di post-training in rosso e di pre-training in blu. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \pm 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

Come mostrato nella Figura 4.20, il valore medio di potenza alpha phase-locked mediato sui 15 soggetti nell'intervallo considerato e nella condizione di post-training risulta maggiore rispetto a quello nella condizione di pre-training. Per verificare, come negli altri casi, se esiste una differenza significativa di potenza phase-locked in banda alpha nell'intervallo $T=140\div 180$ ms, per ognuno dei 15 soggetti del gruppo sperimentale, è stato calcolato il valore medio della potenza phase-locked centrale normalizzata nel range di frequenze alpha ($8\div 14$ Hz) e nell'intervallo $T=140\div 180$ ms, nella condizione di pre-training e di post-training (si veda la sezione 3.4.4, equazione (3.32)). I due campioni di 15 valori sono stati confrontati con un paired t-test che, con un livello di significatività del 5%, non individua differenze significative tra le sessioni di pre-training e post-training ($H = 0$, $P = 0.2361$).

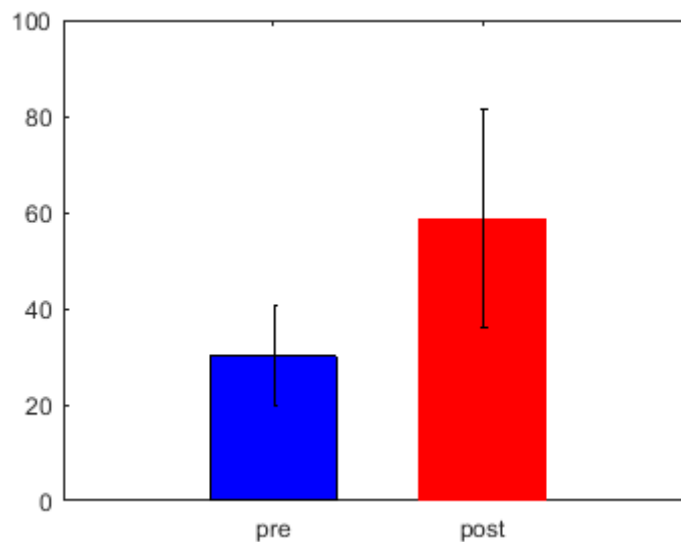


Figura 4.20 – Valore medio della potenza alpha phase-locked mediata sui 15 soggetti nell'intervallo $T = 140\div 180$ ms, nella sessione di pre-training in blu e nella sessione di post-training in rosso.

4.2.2 Coerenza di fase inter-trial

I grafici in Figura 4.21 riportano le rappresentazioni tempo-frequenza dei valori di coerenza di fase inter-trial. Nel pannello A è rappresentata la Grand Average calcolata sui 15 soggetti della coerenza di fase centrale inter-trial (ottenuta mediando i valori di ITPC dei quattro canali centrali FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z per ciascun soggetto) nella sessione precedente al training. Nel pannello B è invece rappresentata la Grand Average calcolata sui 15 soggetti della coerenza di fase centrale inter-trial (ottenuta mediando i valori di ITPC dei quattro canali centrali FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z per ciascun soggetto)

nella sessione successiva al training. Si può notare come in corrispondenza dell'intervallo in cui si manifesta il picco N1, evidenziato dalle due linee nere tratteggiate, sia presente una maggiore sincronizzazione di fase evento-correlata. Questo risultato trova congruenza con il fatto che l'ITPC esprime una misura di quanto è phase-locked il segnale EEG attraverso i trial, ovvero di quanto è stazionario il segnale EEG. Pertanto il verificarsi di un picco ERP significativo richiede il verificarsi di una elevata coerenza di fase inter-trial ad una o più frequenze in corrispondenza a quell'intervallo di tempo. Inoltre, questo risultato è in accordo con la maggiore potenza phase-locked osservata nella condizione di post-training rispetto alla condizione di pre-training come evidenziato dalle Figure 4.19 e 4.20.

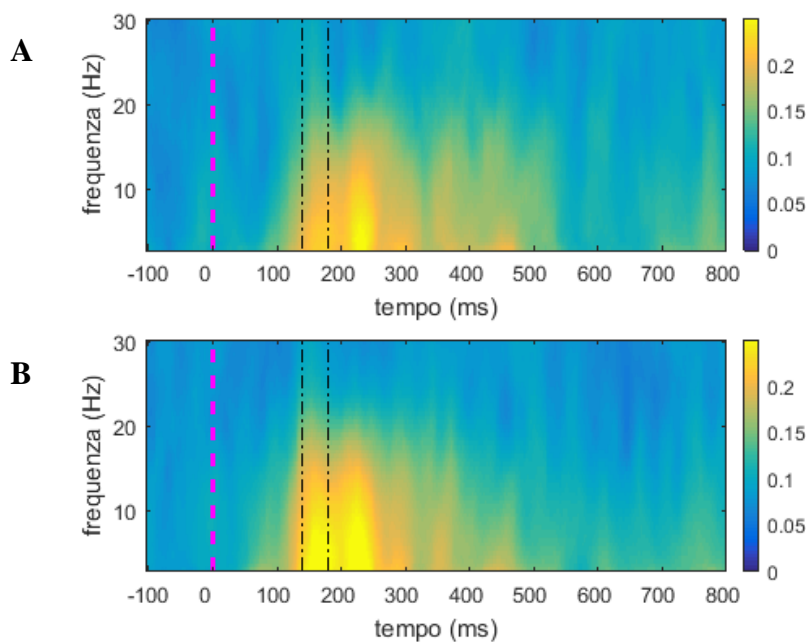


Figura 4.21 – **A:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della coerenza di fase centrale inter-trial nella condizione di pre-training. **B:** Rappresentazione tempo-frequenza della Grand Average sui 15 soggetti del gruppo sperimentale della coerenza di fase centrale inter-trial nella condizione di post-training. In entrambi i grafici sono evidenziati l'istante di presentazione dello stimolo ($t = 0$ ms) con una linea tratteggiata color magenta e l'intervallo in cui si manifesta la componente N1 dell'ERP ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

Il t-test effettuato per confrontare i valori medi di coerenza di fase inter-trial di ciascun soggetto (si veda la sezione 3.4.4, equazione (3.33)), in banda alpha, nell'intervallo di interesse, per un livello di significatività del 5%, non ha rilevato differenze significative tra le condizioni di pre e post-training ($H=0$, $P=0.1522$). Per quanto riguarda il valore medio di coerenza di fase inter-trial in banda alpha mediata sui 15 soggetti, nell'intervallo compreso tra 140 ms e 180 ms, si osserva un aumento del valore nella condizione post rispetto alla condizione pre (figura 4.22).

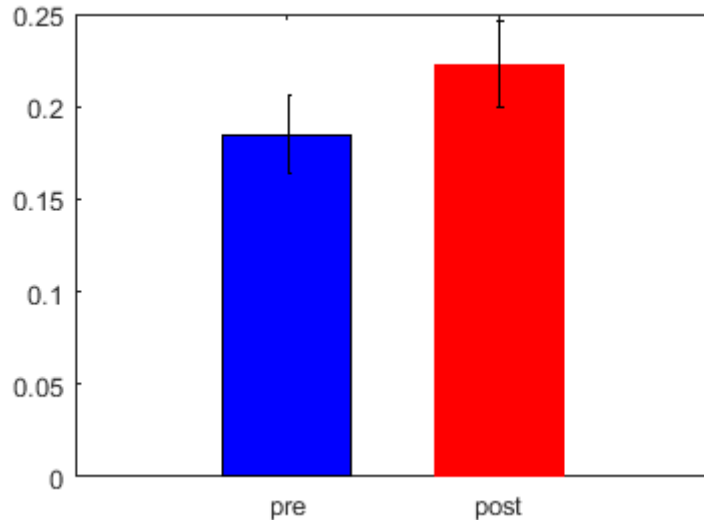


Figura 4.22 – Valore medio della coerenza di fase inter-trial mediata sui 15 soggetti nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms in banda alpha, nella sessione di pre-training in blu e nella sessione di post-training in rosso.

4.3 Sintesi e breve discussione dei risultati

Sulla base dei risultati mostrati nelle precedenti sezioni, si può pervenire alla seguente sintesi:

- a) Nella condizione di post-training si osserva un decremento (anche se non statisticamente significativo) di potenza alpha non phase-locked. Più precisamente, la condizione di post-training è caratterizzata da un ERD in banda alpha, prominente non solo nell'intervallo proprio della componente N1 ma in tutto l'intervallo da 0 ms a 200 ms.
- b) Nella condizione di post-training si osserva un incremento (anche se non statisticamente significativo) di potenza alpha phase-locked (questo è confermato anche dall'incremento della ITPC). L'incremento di potenza alpha phase-locked non precede la componente N1 ma è contemporanea e successiva alla componente N1.
- c) Complessivamente i due effetti producono una diminuzione di potenza totale evento-correlata a seguito del training, come conseguenza del calo di potenza non phase-locked (ERD) in banda alpha nell'intervallo $T = 140 \div 180$ ms (in realtà in tutto l'intervallo da 0 ms a 200 ms in modo prominente).
- d) I precedenti risultati sono associati ad un incremento significativo della negatività del picco N1 nella condizione di post-training rispetto alla condizione di pre-training oltre che ad un incremento significativo di performance nella discriminazione dello stimolo visivo (direzione del movimento della nuvola di punti) nella condizione di post-training (questi risultati sono stati ottenuti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive e riportati nel lavoro scientifico ^[14]).

I precedenti risultati sono brevemente discussi sulla base delle attuali conoscenze e teorie.

Sia il ritmo alpha che la componente N1 sono oggi messi in relazione a meccanismi attentivi. Infatti, alcuni studi suggeriscono che la componente N1 rifletta l'operazione di un processo di discriminazione entro il focus attentivo e che la sua aumentata negatività corrisponda ad una facilitazione del processo di discriminazione, quindi a migliori prestazioni nello svolgimento del compito. ^{[35][36]} La capacità attentiva del soggetto sembra pertanto aumentare dopo il training multisensoriale audio-visivo con stimoli spazialmente e temporalmente coincidenti, come evidenziato dalla maggiore negatività del picco N1. Per quanto riguarda il ritmo alpha, esso viene considerato avere un ruolo nei meccanismi attentivi e nella capacità di processamento dell'elaborazione all'interno e tra aree cerebrali. In particolare, diversi studi ^{[18][37]} suggeriscono che una sincronizzazione (ERS) in banda alpha in una regione cerebrale abbia una funzione inibitoria del processamento in quell'area cerebrale; mentre una desincronizzazione in banda alpha (ERD) in una regione cerebrale favorisca il processamento dell'informazione all'interno di quell'area (in tal modo attraverso il ritmo alpha vengono selettivamente inibite le regioni task irrelevant, non richieste dal focus attentivo, a favore di regioni task relevant, funzionali allo svolgimento del task). Tuttavia, la relazione tra il ritmo alpha e l'attenzione non è limitato a fenomeni di ERD ma comprende anche cambiamenti relativi alla fase. Alcuni studi, infatti, suggeriscono che l'attenzione focalizzata determini un forte phase locking (cioè resetting di fase in banda alpha) durante l'elaborazione di uno stimolo target; si è ipotizzato che il resetting di fase di attività oscillatoria in risposta a stimoli esterni (o anche interni) faciliti il trasferimento coordinato di informazione tra i circuiti neurali e tra aree cerebrali distribuite. ^[38] Nei risultati di questo elaborato, si osserva sia un ERD in banda alpha (in particolare nella fase 0÷200 ms) seguita da un incrementato phase locking in banda alpha. Una possibile interpretazione, che rimane però meramente speculativa, è che l'ERD nella fase iniziale post-stimolo possa indicare una maggior capacità iniziale di processing dell'informazione da parte di determinate aree cerebrali, seguito da un incrementato phase resetting che promuove una più efficiente e coordinata trasmissione dell'informazione. E' importante sottolineare, a supporto dei risultati ottenuti, che studi scientifici recenti ^[39], associano ad un incremento di performance di discriminazione visiva un incremento di negatività dell'ampiezza del picco N1 dell'ERP ed un concomitante incremento di ITPC in banda alpha, come ottenuto in questo elaborato.

Infine si ritiene utile evidenziare che, nonostante i numerosi studi sul ritmo alpha e sul suo possibile ruolo, molto resta ancora da chiarire circa la genesi di questo ritmo e la funzione di oscillazioni alpha phase-locked e non phase-locked. Avanzamenti nella comprensione di questi aspetti possono essere ottenuti sia attraverso ulteriori studi sperimentali sia attraverso studi teorici basati su modelli di reti

neurali. Un altro aspetto che resta da chiarire riguarda i meccanismi attraverso cui il training multisensoriale possa aver contribuito a determinare gli effetti osservati dopo il training.

Capitolo 5

Risultati dell'analisi alle componenti indipendenti e della localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalente

Nel presente Capitolo vengono presentati i risultati, ricavati per mezzo della procedura esposta nella sezione 3.5, relativi alla ricerca di quali siano e dove siano localizzate le sorgenti cerebrali che danno origine alla componente ERP di interesse N1. Sono stati analizzati i segnali elettroencefalografici raccolti dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive relativi ai quattro canali centrali (FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) che presentano la maggiore componente visiva N1, per il compito di discriminazione di movimento per i 15 soggetti del gruppo sperimentale, nella condizione in cui gli stimoli visivi sono stati presentati nello stesso emicampo utilizzato per il training, nella sessione di pre-training e di post-training (“mts_pre” e “mts_post”). Nella prima sezione il segnale EEG registrato agli elettrodi viene separato nei suoi contributi indipendenti; in particolare vengono rilevate le componenti indipendenti che maggiormente contribuiscono alla deflessione N1 e nella seconda sezione viene riportata la localizzazione ottenuta, all'interno del tessuto cerebrale, di tali componenti indipendenti.

5.1 Analisi alle componenti indipendenti

L'analisi alle componenti indipendenti (ICA), applicata ai segnali EEG acquisiti sullo scalpo, fornisce per ogni soggetto la matrice di demixing nella condizione pre e la matrice di demixing nella condizione post. Attraverso queste matrici in ambiente MATLAB[®] si sono selezionate le componenti indipendenti le cui proiezioni, sommate tra loro, contribuiscono ad almeno il 70% del picco N1 (per il procedimento si veda la sezione 3.5 con le equazioni dalla (3.34) alla (3.40)). La Figura 5.1 mostra gli andamenti nel tempo degli ERP centrali (ottenuti mediando gli ERP dei quattro canali centrali FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) delle proiezioni delle 59 componenti indipendenti di un soggetto appartenente al gruppo sperimentale nella sessione precedente al training. La Figura 5.2 confronta gli ERP centrali delle proiezioni delle 59 componenti indipendenti (linee colorate) con l'ERP centrale effettivamente registrato agli elettrodi (linea nera spessa). Naturalmente, sommando tra loro tutti gli andamenti nel tempo degli ERP centrali delle proiezioni delle componenti indipendenti si ottiene l'ERP centrale del

soggetto. Nella stessa Figura 5.2 sono evidenziati, mediante linea spessa, gli andamenti relativi alle componenti indipendenti (quattro nel caso mostrato) che maggiormente contribuiscono a dare origine alla deflessione negativa N1 dell'ERP registrato, che si manifesta nell'intervallo temporale compreso tra 140 ms e 180 ms. Nella Figura 5.3, l'ERP centrale effettivamente registrato agli elettrodi è confrontato con la somma dei contributi dovuti alle quattro componenti indipendenti che partecipano a determinare almeno il 70% della deflessione N1.

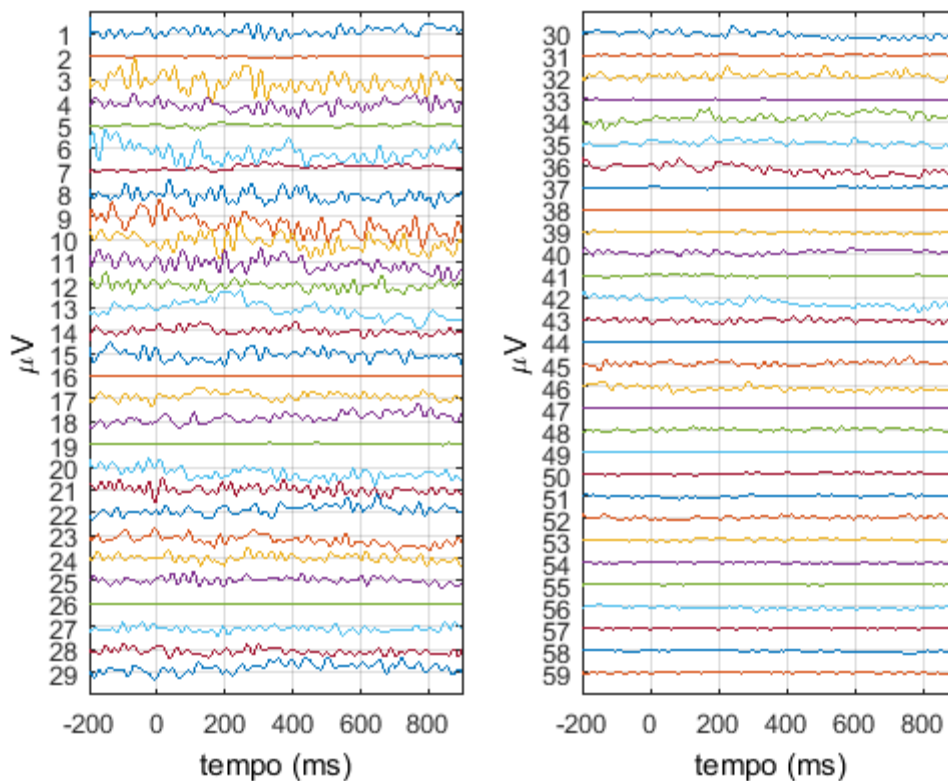


Figura 5.1 – Esempio di andamento nel tempo degli ERP centrali (ottenuti mediando gli ERP dei quattro canali centrali FC_1 , FC_2 , FC_3 , C_z) delle proiezioni delle 59 componenti indipendenti di un soggetto appartenente al gruppo sperimentale nella condizione di pre-training. Più precisamente, ogni riga i (con $i = 1, 2, \dots, 59$) rappresenta la media degli andamenti nel tempo ottenuti ai quattro elettrodi centrali (FC_1 , FC_2 , FC_3 , C_z) proiettando sullo scalpo la componente indipendente i -esima.

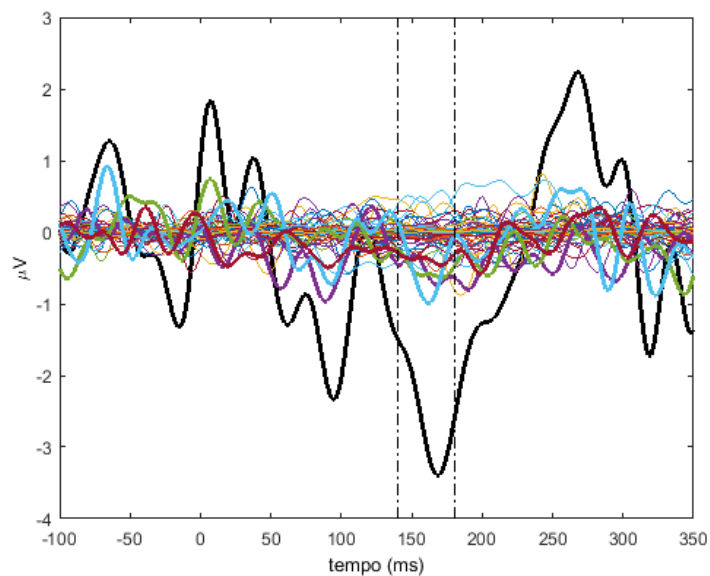


Figura 5.2 – Esempio di andamento nel tempo dell'ERP centrale effettivamente registrato agli elettrodi (linea nera spessa), di un soggetto del gruppo sperimentale nella condizione di pre-training, a cui sono sovrapposti gli andamenti nel tempo degli ERP centrali (ottenuti mediando gli ERP dei quattro canali centrali FC_1 , FC_2 , FC_z , C_z) delle proiezioni delle 59 componenti indipendenti (linee colorate). In particolare sono evidenziati i quattro andamenti (linea spessa verde, azzurra, rossa e viola) relativi alle componenti che maggiormente contribuiscono a dare origine alla componente negativa N1 dell'ERP, che si manifesta nell'intervallo temporale $T = 140 \div 180$ ms, evidenziato dalle due linee nere tratteggiate.

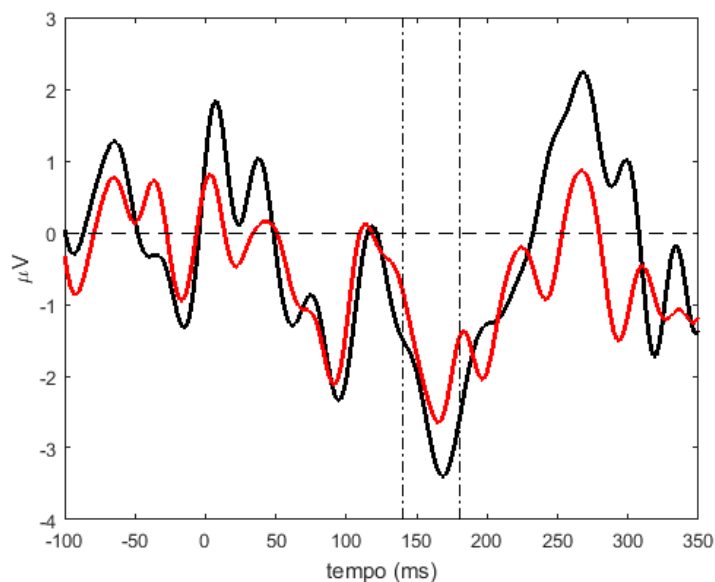


Figura 5.3 – Esempio di andamento nel tempo dell'ERP centrale effettivamente registrato agli elettrodi (linea nera), di un soggetto del gruppo sperimentale nella condizione di pre-training, a cui è sovrapposto l'andamento nel tempo della somma degli ERP centrali (linea rossa) delle proiezioni delle quattro componenti indipendenti che partecipano a determinare almeno il 70% della componente negativa N1 dell'ERP. Nel grafico è evidenziato l'intervallo temporale in cui si manifesta la componente N1 ($T = 140 \div 180$ ms) con due linee tratteggiate nere.

Come nell'esempio mostrato in Figura 5.2, anche per gli altri soggetti del gruppo sperimentale, si è riscontrato che per la generazione di almeno il 70% del picco N1 è necessario il contributo di più componenti; per la maggior parte dei soggetti nelle condizioni pre e post è necessario il contributo di un numero uguale o superiore a quattro componenti indipendenti.

Grazie alla matrice di demixing, oltre a ricavare gli andamenti temporali degli ERP centrali delle proiezioni delle componenti indipendenti, si possono raffigurare le proiezioni delle componenti sullo scalpo, ovvero come il potenziale a ciascun elettrodo è influenzato dalla corrispondente componente indipendente. Le colonne dell'inversa della matrice di demixing (ovvero le colonne della matrice di mixing) contengono i pesi con cui ciascuna componente contribuisce ad ogni elettrodo, fornendo in tal modo le mappe topografiche di ogni componente indipendente. In particolare, costruendo le mappe topografiche delle componenti indipendenti che maggiormente contribuiscono all'onda N1, si ottengono mappe molto simili a quelle degli ERP mostrate nelle Figure 4.1 e 4.2 della sezione 4.1, come esemplificativamente evidenziato in Figura 5.4. I colori vanno dal rosso, con cui si indicano pesi meno negativi o positivi, fino al blu per i pesi più negativi, i quali compaiono soprattutto nelle zone centrali, confermando così come queste componenti indipendenti pesino maggiormente (con segno negativo) nelle regioni centrali e quindi siano responsabili della generazione della negatività del picco N1 (che si presenta proprio in queste regioni).

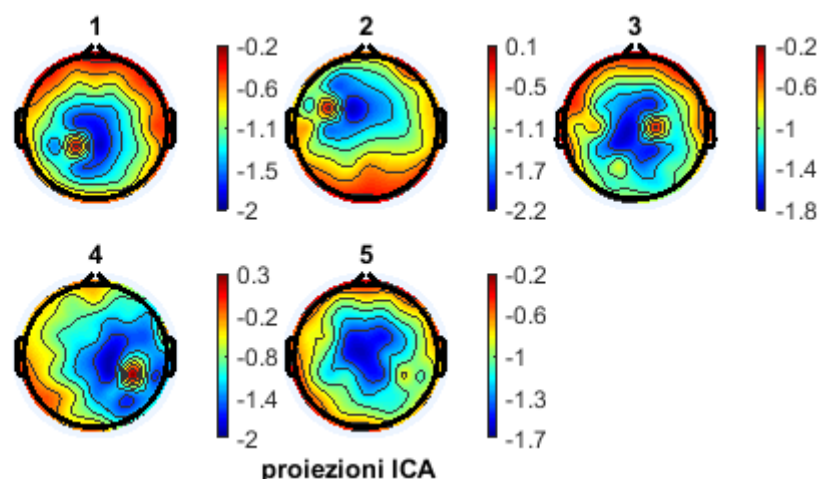


Figura 5.4 – Esempi di componenti indipendenti proiettate sullo scalpo per un soggetto del gruppo sperimentale nella condizione di pre-training: le prime quattro mappe topografiche sono relative alle componenti indipendenti responsabili della generazione di almeno il 70% del picco N1, mentre la quinta è ottenuta dallo loro media (per chiarezza, le posizioni dei 59 elettrodi sullo scalpo non sono mostrate).

5.2 Localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalente

A partire dalla mappa sullo scalpo originata dalle componenti indipendenti di interesse, è stata stimata la loro localizzazione all'interno del tessuto cerebrale tramite il metodo di DIPFIT (illustrato dettagliatamente nella sezione 3.5). Il DIPFIT fornisce le coordinate (espresse nel sistema di Talairach) all'interno del tessuto cerebrale di ciascuna componente indipendente e la relativa varianza residua. Per identificare la struttura cerebrale in cui è posizionato il dipolo stimato è stato utilizzato (come descritto alla fine della sezione 3.5) il software *Talairach Client*. I risultati per ciascuno dei 15 soggetti nella condizione di pre-training e di post-training sono presentati rispettivamente nelle Tabelle 5.1 e 5.2. In queste tabelle, per ogni soggetto, sono riportate le componenti indipendenti le cui proiezioni (sommate) spiegano almeno il 70% della deflessione N1 dell'ERP centrale registrato agli elettrodi; per ciascuna componente è indicata la varianza residua, che esprime la bontà del fitting mediante dipolo equivalente, e la struttura cerebrale a cui appartiene il dipolo equivalente stimato. Due precisazioni sono necessarie nella presentazione delle tabelle. Inanzitutto, nell'ottica di presentare i risultati maggiormente affidabili, sono state prese in considerazione ed indicate soltanto le componenti per il quale il dipolo equivalente è stato stimato con una varianza residua minore o, al più, uguale al 40%, poiché la bontà della stima è tanto più alta, quanto più è bassa la varianza residua. In secondo luogo, si noti che, come esposto nel paragrafo 3.5, per identificare la struttura cerebrale di appartenenza del dipolo equivalente è stato considerato, attraverso il software *Talairach Client*, un volumetto di tessuto cerebrale di 3 mm^3 centrato nella localizzazione stimata per il dipolo (punto di coordinate (x,y,z) nel sistema di Talairach); sinteticamente qui è riportato l'emisfero, il lobo (o l'area), l'eventuale giro e le eventuali aree di Brodmann in cui questo volumetto è posizionato (sintetizzando i risultati forniti dal software *Talairach Client*). Le aree di Brodmann prendono il nome dal neurologo tedesco Korbinian Brodmann, il quale, all'inizio del ventesimo secolo, classificò le aree cerebrali in base alla citoarchitettura, ossia all'organizzazione delle cellule cerebrali (neuroni, astrociti e neuroglia) e delle fibre nervose. Nel cervello umano le aree di Brodmann sono 84, 42 in ciascun emisfero, rappresentate in Figura 5.5, dove sono 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.

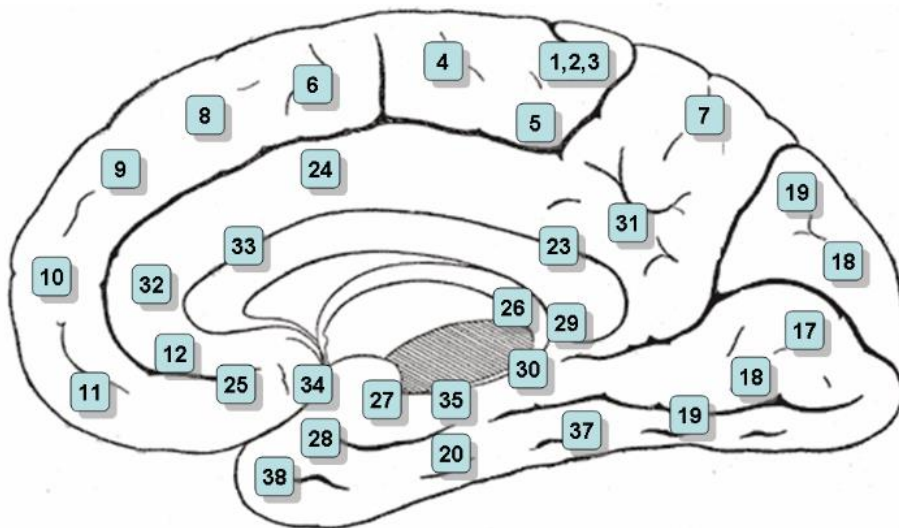
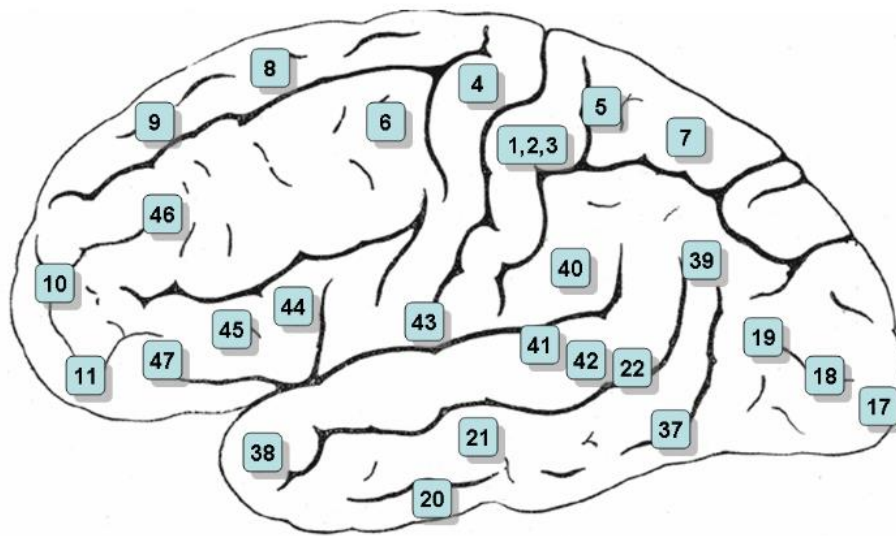


Figura 5.5 – Aree di Brodmann. ^[40]

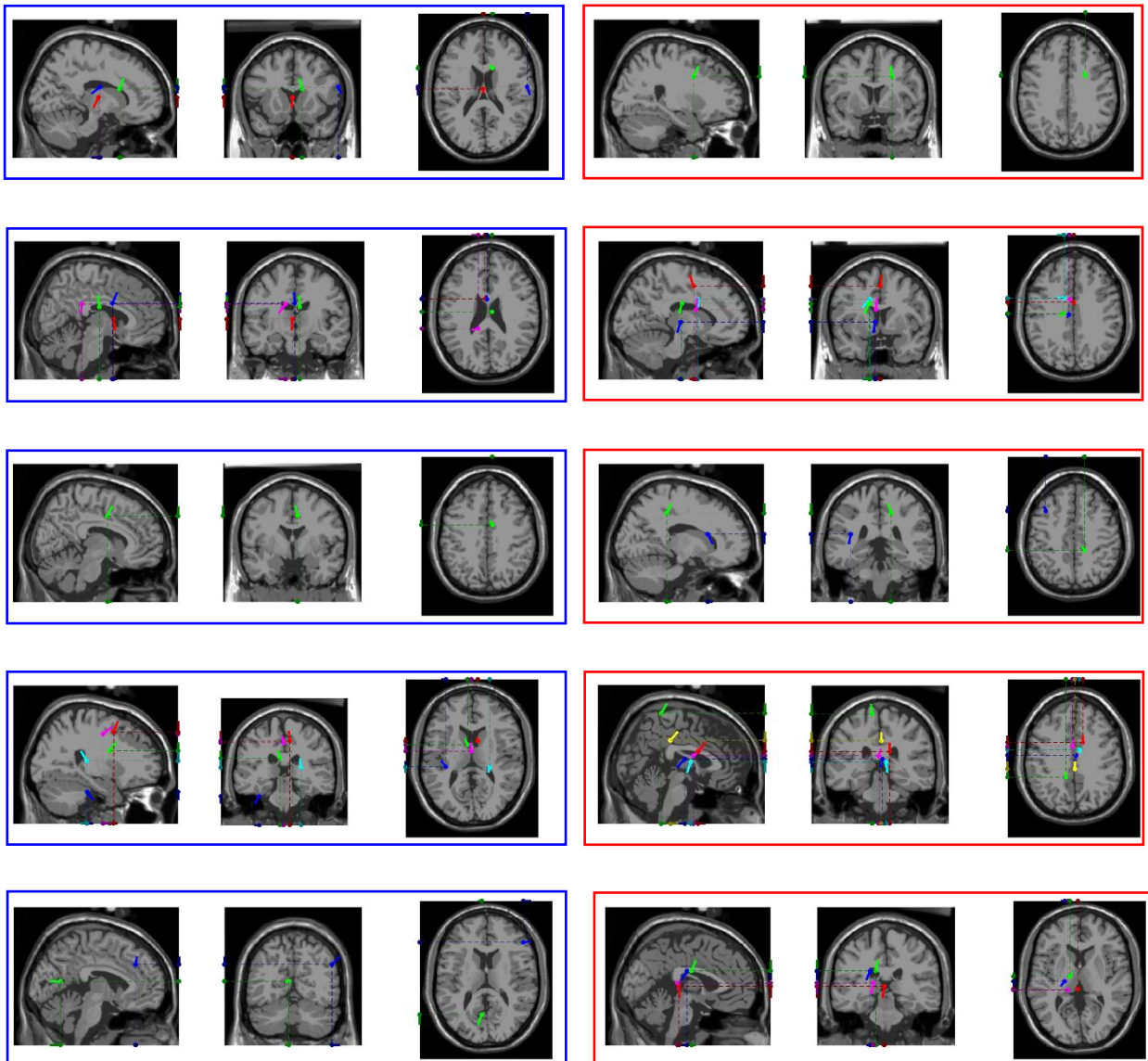
Soggetto	Componenti Indipendenti	Varianza residua	Struttura di appartenenza del dipolo stimato
1 (72%)	28	21%	Emisf. dx, area anteriore (sottocorticale)
	37	21%	Emisf. dx, lobo frontale/parietale, giro pre/postcentrale, aree di Brodmann 3, 4, 43
	3	27%	Emisf. sx, nucleo medio-laterale del talamo (sottocorticale)
2 (75%)	6	19%	Interemisferico, corpo calloso (sottocorticale)
	9	24%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
	3	25%	Emisf. sx, nucleo caudato (sottocorticale)
	15	40%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo
	3 (72%)	28%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
4 (71%)	15	12%	Emisf. sx, corpo calloso (sottocorticale)
	5	15%	Emisf. sx, lobo limbico, giro paraippocampale, area di Brodmann 36
	35	19%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 6, 24, 32
	23	21%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
5 (70%)	31	39%	Emisf. dx, talamo (sottocorticale)
	3	6%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 23, 31
6 (71%)	1	36%	Emisf. dx, lobo frontale, circonvoluzione frontale media, aree di Brodmann 46, 9
	6	24%	Emisf. sx (sottocorticale)
	14	28%	Emisf. dx, corpo calloso (sottocorticale)
	13	29%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 31
7 (74%)	20	33%	Emisf. sx, talamo (sottocorticale)
	4	20%	Emisf. sx, lobo occipitale, aree di Brodmann 17, 18
8 (86%)	4	32%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 23, 24
	5	29%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 23, 24
9 (74%)	1	34%	Emisf. sx, talamo (sottocorticale)
	5	38%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo
10 (92%)	27	31%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 6, 24
	2	36%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 24, 32
	6	38%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 6, 24
11 (76%)	3	16%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo
	6	20%	Emisf. sx, talamo (sottocorticale)
	11	27%	Emisf. sx, talamo (sottocorticale)
	8	28%	Emisf. sx, corpo calloso (sottocorticale)
12 (82%)	6	26%	Emisf. dx, talamo (sottocorticale)
	16	33%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
13 (74%)	1	38%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo
	6	39%	Emisf. dx, lobo anteriore (sottocorticale)
14 (80%)	18	17%	Emisf. sx, lobo temporale, giro medio-temporale, area di Brodmann 37
15 (70%)	1	6%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 6, 32
	15	15%	Emisf. dx, lobo frontale
	7	21%	Emisf. dx, lobo limbico

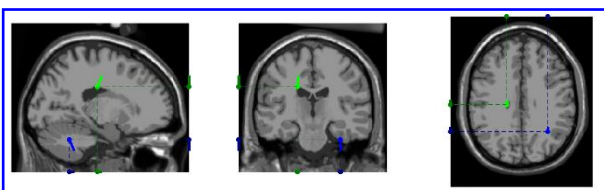
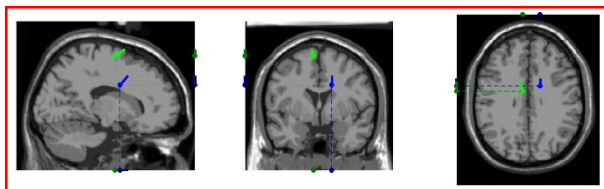
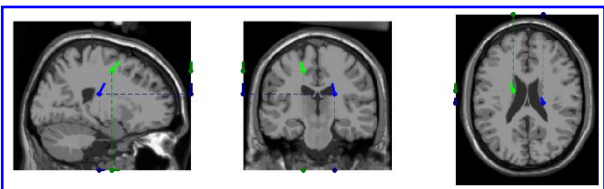
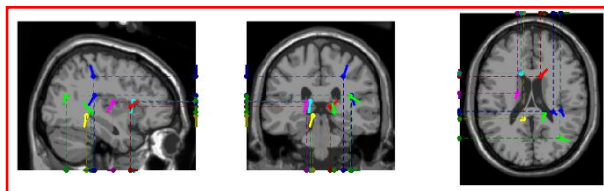
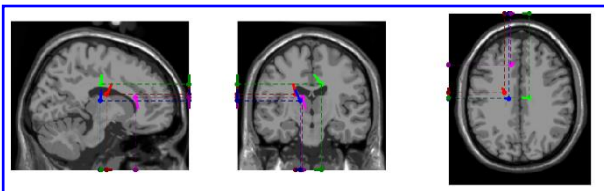
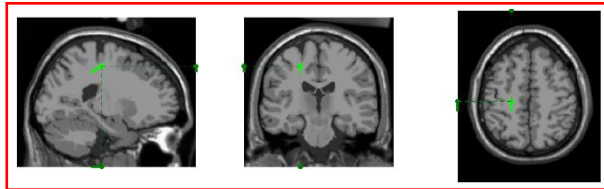
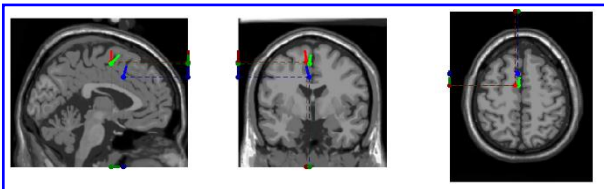
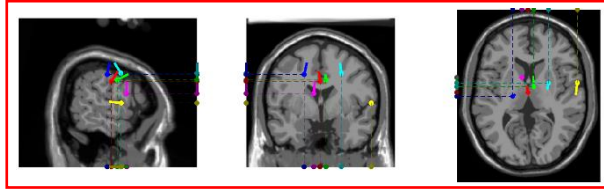
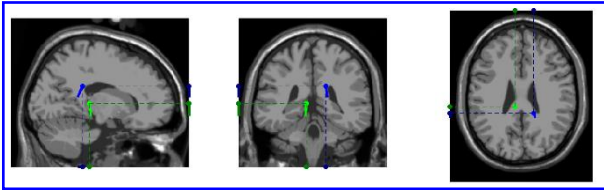
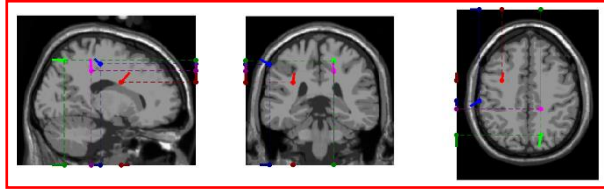
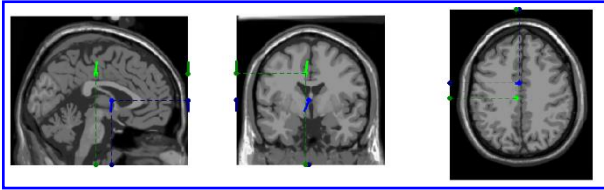
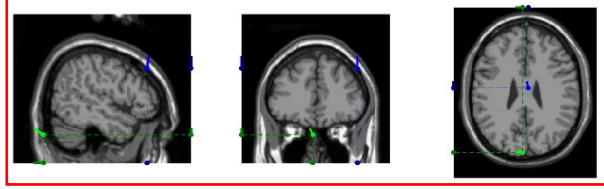
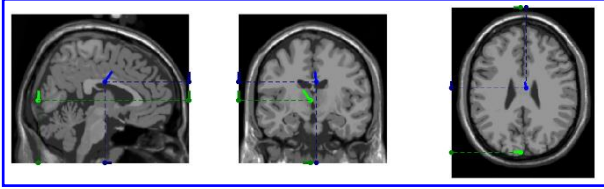
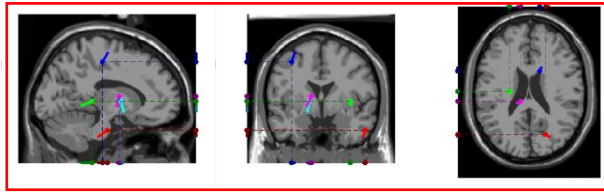
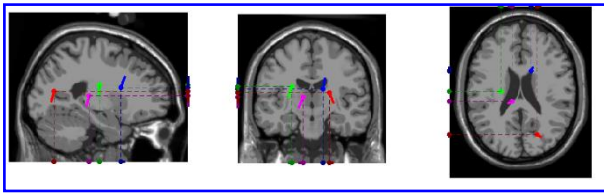
Tabella 5.1 – Per ogni soggetto, la tabella riporta le componenti indipendenti (presentate in ordine di varianza residua, cioè di bontà del fitting mediante dipolo equivalente) che maggiormente contribuiscono alla deflessione N1, la varianza residua della stima mediante dipolo equivalente e la struttura di appartenenza del dipolo stimato (identificata come indicato nel testo), con riferimento alla condizione di pre-training. Sono qui riportate solo le componenti indipendenti per le quali la varianza residua della stima mediante dipolo equivalente risultava inferiore al 40%. La percentuale indicata tra parentesi vicino al numero di ogni soggetto indica la percentuale di deflessione N1 spiegata dalle proiezioni sullo scalpo delle componenti indipendenti riportate in tabella per lo specifico soggetto.

Soggetto	Componenti Indipendenti	Varianza residua	Struttura di appartenenza del dipolo stimato
1 (73%)	2	30%	Emisf. dx, lobo frontale (sottocorticale)
2 (73%)	4	22%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo
	9	23%	Emisf. sx, talamo (sottocorticale)
	13	25%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 6, 24, 32
	1	27%	Emisf. sx, corpo calloso (sottocorticale)
	19	31%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo
3 (84%)	7	29%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 31
	3	34%	Emisf. sx, lobo frontale (sottocorticale)
4 (77%)	30	12%	Emisf. sx, lobo parietale, giro postcentrale, aree di Brodmann 3, 4
	5	14%	Emisf. dx, talamo (sottocorticale)
	7	14%	Emisf. dx, corpo calloso (sottocorticale)
	14	18%	Emisf. sx, corpo calloso (sottocorticale)
	9	21%	Emisf. dx, talamo (sottocorticale)
5 (78%)	17	23%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 23, 31
	2	10%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo
	12	18%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo
	9	19%	Emisf. sx, corpo calloso (sottocorticale)
6 (77%)	5	29%	Emisf. sx, talamo (sottocorticale)
	25	16%	Emisf. dx, lobo temporale, giro temporale superiore
	14	21%	Emisf. sx, lobo frontale/parietale, giro pre/postcentrale, aree di Brodmann 3, 4
	1	25%	Emisf. dx, lobo temporale, giro temporale inferiore, area di Brodmann 20
	9	29%	Emisf. sx, talamo (sottocorticale)
7 (73%)	2	33%	Emisf. sx, globo pallido (sottocorticale)
	29	27%	Emisf. sx (sottocorticale)
	10	36%	Emisf. dx, lobo frontale, circonvoluzione frontale media, area di Brodmann 9
8 (77%)	22	9%	Emisf. dx, lobo parietale superiore, area di Brodmann 7
	29	25%	Emisf. sx, lobo parietale, giro postcentrale, area di Brodmann 2
	12	34%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 6, 9
	10	39%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 31
9 (72%)	1	10%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
	11	26%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
	3	27%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 23, 24
	2	28%	Emisf. sx, corpo calloso (sottocorticale)
	4	33%	Emisf. dx, lobo frontale (sottocorticale)
	13	34%	Emisf. dx, lobo parietale/temporale, giro postcentrale/temporale superiore, aree di Brodmann 6, 22
10 (98%)	21	35%	Emisf. sx, giro pre/postcentrale (sottocorticale)
11 (70%)	8	3%	Emisf. dx, giro temporale medio
	28	22%	Emisf dx, lobo frontale/parietale (sottocorticale)
	6	24%	Emisf dx (sottocorticale)
	4	25%	Emisf sx, talamo (sottocorticale)
	12	31%	Emisf. dx, giro paraippocampale, aree di Brodmann 27, 30
	1	33%	Emisf sx (sottocorticale)
	2	33%	Emisf. sx, giro paraippocampale, area di Brodmann 30
	23	39%	Emisf. dx, insula/giro temporale superiore, aree di Brodmann 13, 41
12 (93%)	23	24%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 6
	29	28%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo
13 (73%)	15	20%	Emisf. dx, aree di Brodmann 5, 7
	3	32%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo
14 (71%)	14	26%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 6
	12	37%	Emisf. dx, lobo frontale, giro frontale superiore, area di Brodmann 8
15 (78%)	4	10%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
	3	18%	Emisf. dx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
	14	20%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, area di Brodmann 24
	2	24%	Emisf. sx, lobo limbico, giro del cingolo, aree di Brodmann 24, 32, 33

Tabella 5.2 – Per ogni soggetto, la tabella riporta le componenti indipendenti (presentate in ordine di varianza residua, cioè di bontà del fitting mediante dipolo equivalente) che maggiormente contribuiscono alla deflessione N1, la varianza residua della stima mediante dipolo equivalente e la struttura di appartenenza del dipolo stimato (identificata come indicato nel testo), con riferimento alla condizione di post-training. Sono qui riportate solo le componenti indipendenti per le quali la varianza residua della stima mediante dipolo equivalente risultava inferiore al 40%. La percentuale indicata tra parentesi vicino al numero di ogni soggetto indica la percentuale di deflessione N1 spiegata dalle proiezioni sullo scalpo delle componenti indipendenti riportate in tabella per lo specifico soggetto.

I vari pannelli in Figura 5.6 riportano per ogni soggetto la posizione dei dipoli equivalenti stimati (con varianza residua inferiore al 40%), usando una vista sagittale, coronale e trasversale, nella condizione di pre-training (a sinistra) e di post-training (a destra). In questa figura, ogni riga è relativa ad un soggetto.





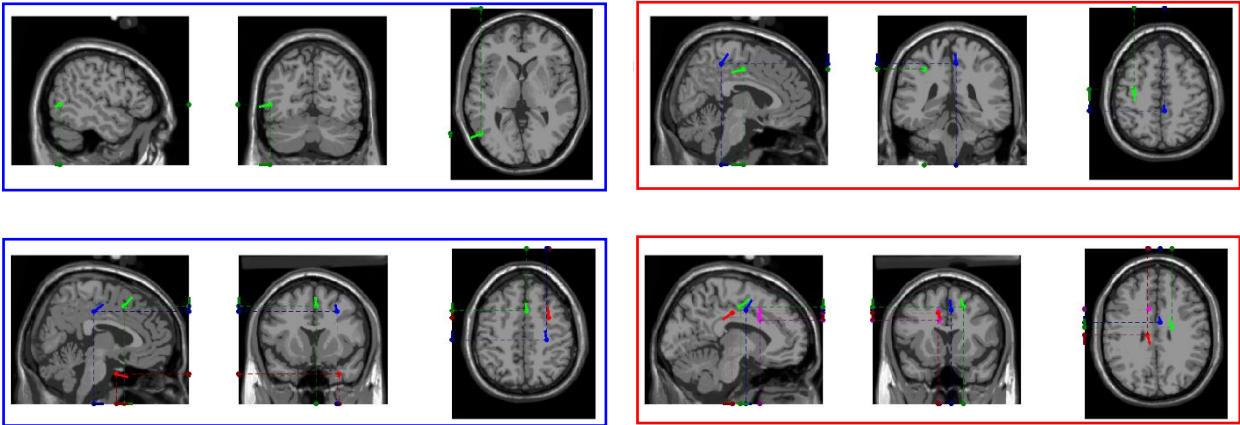


Figura 5.6 – Ogni riga riporta la localizzazione dei dipoli equivalenti stimati per le componenti indipendenti riportate nella Tabella 5.1 (condizione di pre-training, riquadro blu a sinistra) e nella Tabella 5.2 (condizione di post-training, riquadro rosso a destra). Ogni riquadro mostra la vista sagittale, coronale e trasversale (detta anche top view).

Per ottenere una visualizzazione più sintetica, i pannelli in Figura 5.7 riportano la posizione di tutti i dipoli equivalenti (con varianza residua inferiore al 40%) stimati per tutti i soggetti, usando una vista sagittale, coronale e trasversale, nella condizione di pre-training (riquadro blu in alto) e di post-training (riquadro rosso in basso).

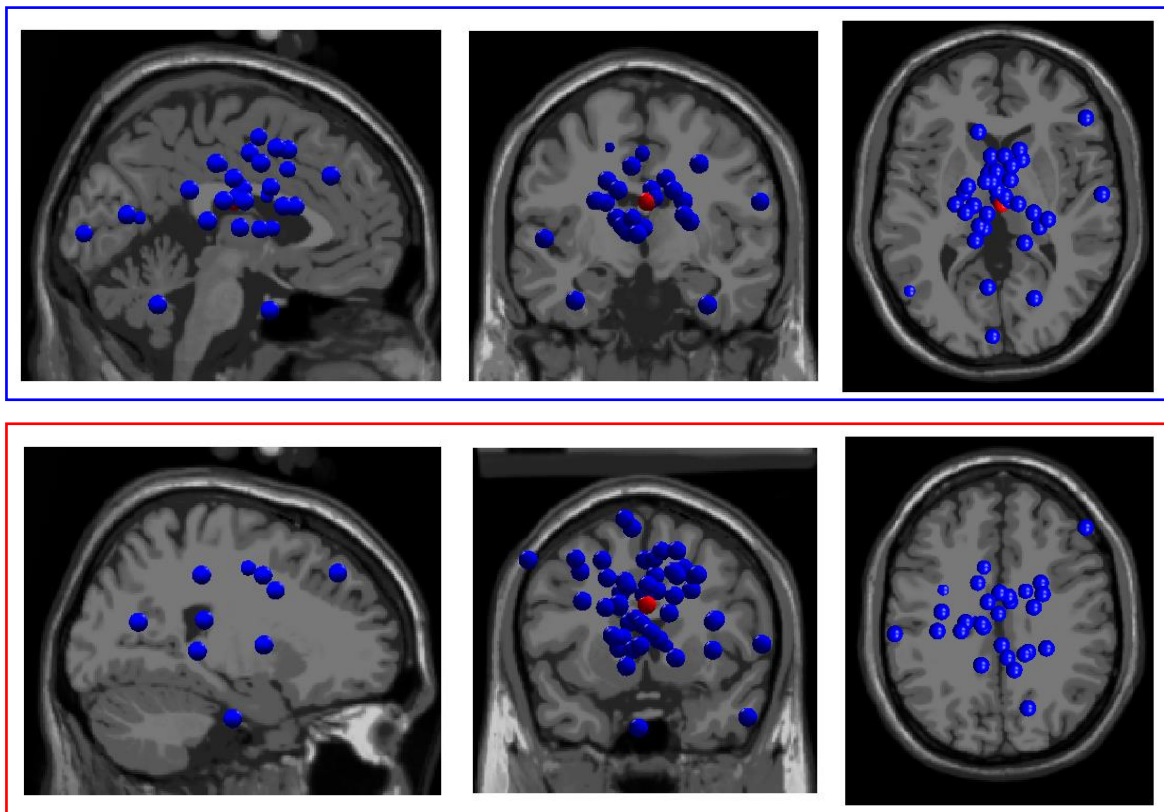


Figura 5.7 – Localizzazione di tutti i dipoli equivalenti stimati per le componenti indipendenti riportate nella Tabella 5.1 (condizione di pre-training, riquadro blu in alto) e nella Tabella 5.2 (condizione di post-training, riquadro rosso in basso) per i 15 soggetti. Ogni riquadro mostra la vista sagittale, coronale e trasversale (detta anche top view).

I pannelli in Figura 5.8 sono invece relativi ai soli dipoli equivalenti la cui localizzazione è stata stimata nel giro del cingolo, per tutti i soggetti.

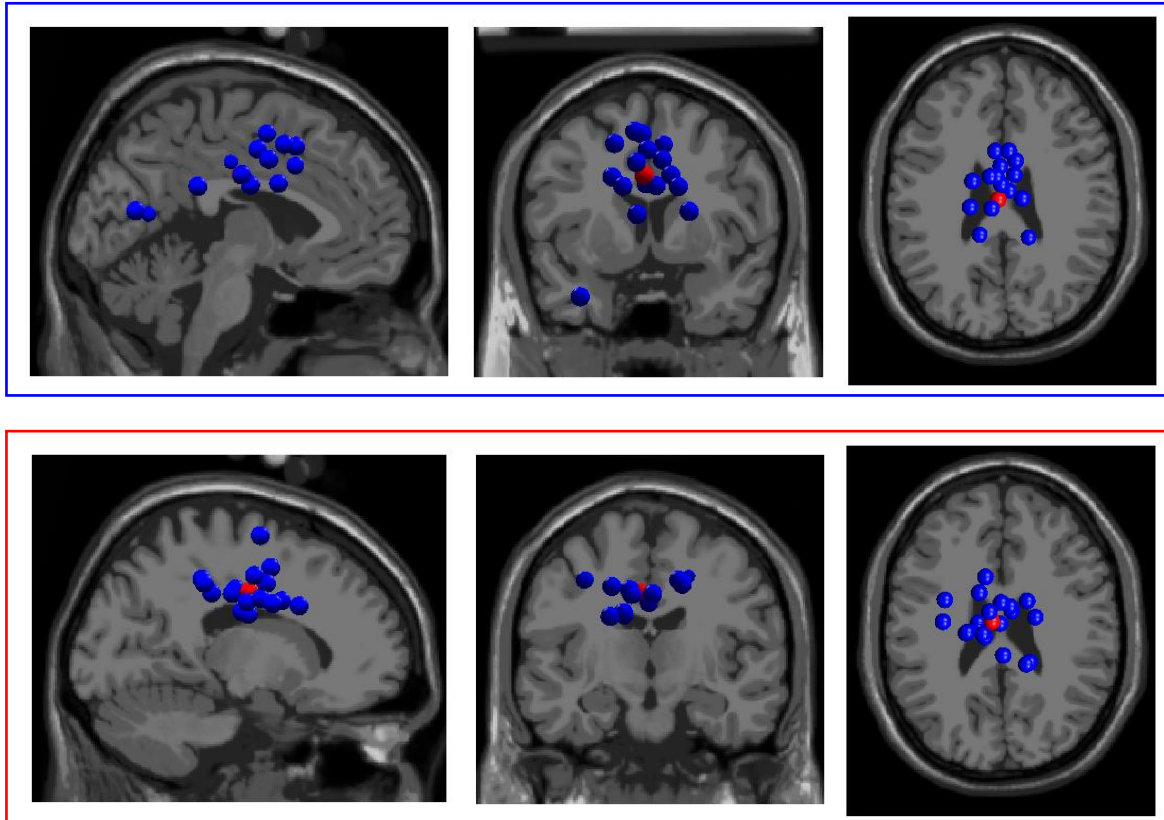
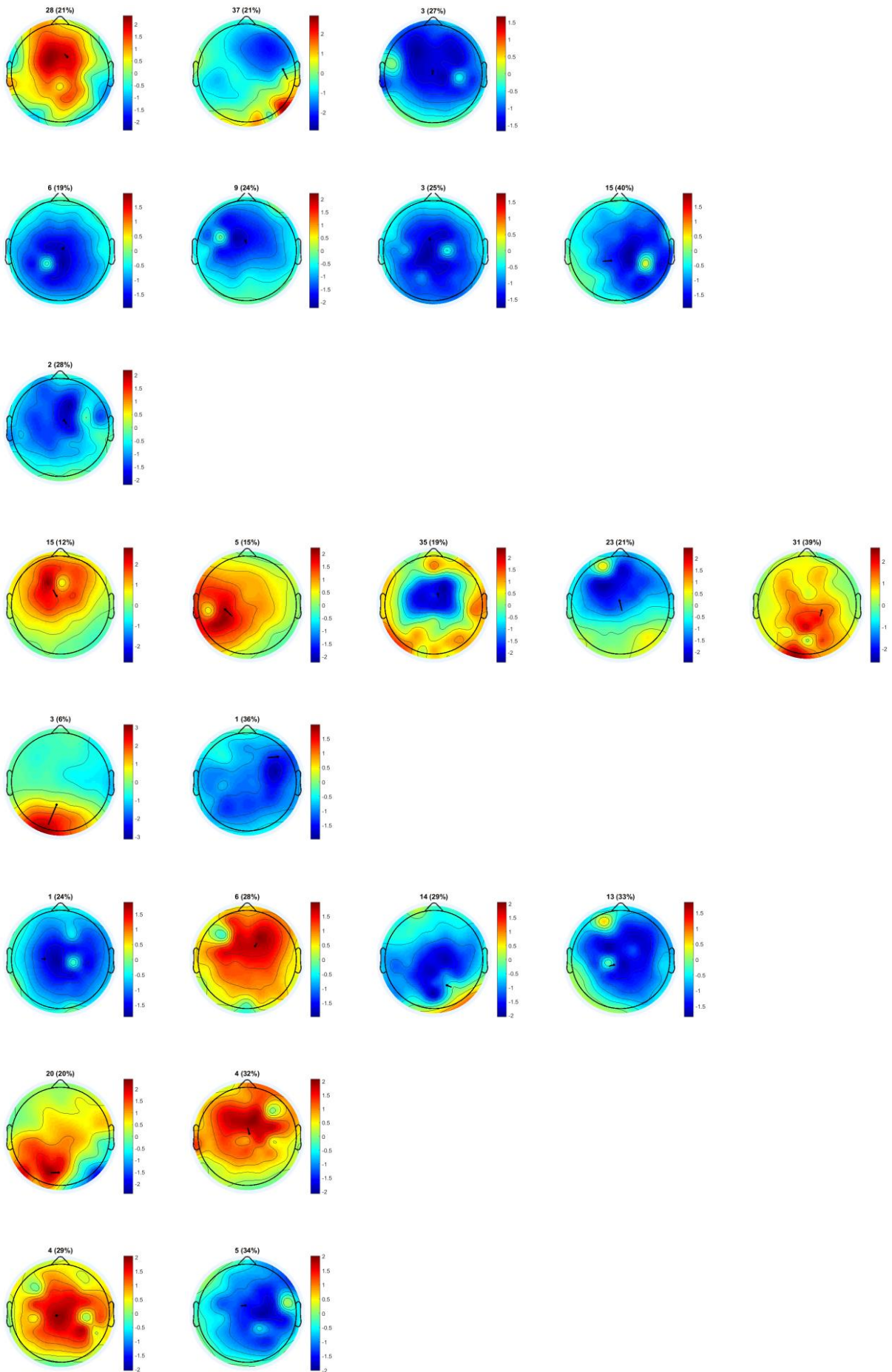


Figura 5.8 – Localizzazione dei soli dipoli equivalenti la cui posizione è stata stimata nel giro del cingolo per le componenti indipendenti riportate nella Tabella 5.1 (condizione di pre-training, riquadro blu in alto) e nella Tabella 5.2 (condizione di post-training, riquadro rosso in basso) per i 15 soggetti. Ogni riquadro mostra la vista sagittale, coronale e trasversale (detta anche top view).

Infine, nella Figura 5.9 e nella Figura 5.10 sono mostrate, per ogni soggetto, le mappe sullo scalpo delle componenti indipendenti le cui proiezioni (sommate) spiegano almeno il 70% della deflessione N1 dell'ERP centrale registrato agli elettrodi, insieme al dipolo equivalente stimato proiettato sullo scalpo (con varianza \leq al 40%), rispettivamente nelle condizioni di pre-training e di post-training.



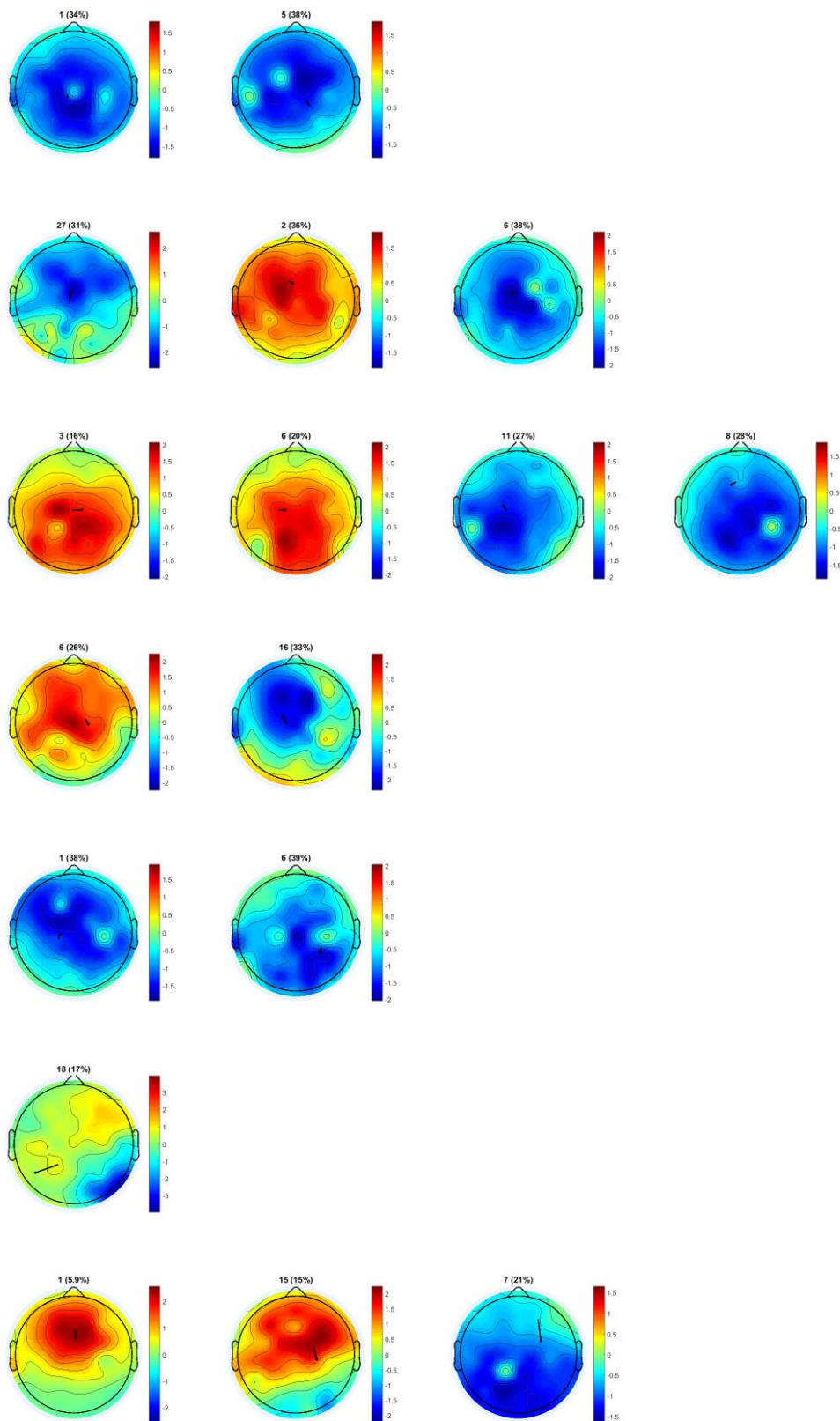
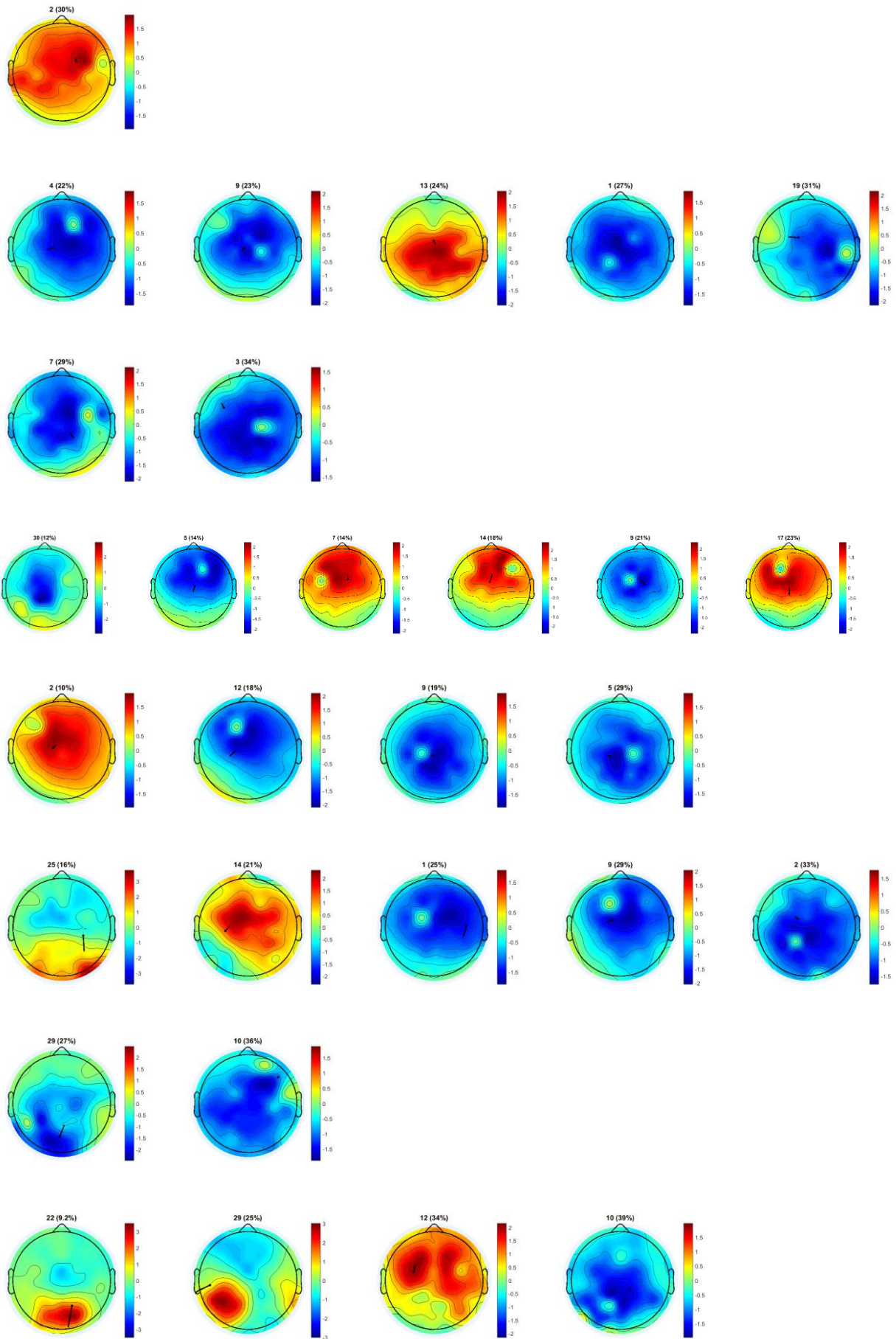


Figura 5.9 – In questa figura, ogni riga è relativa ad un soggetto del gruppo sperimentale nella condizione di pre-training e riporta la mappa sullo scalpo delle componenti indipendenti che maggiormente contribuiscono alla deflessione N1, insieme al dipolo equivalente cerebrale proiettato sullo scalpo (top view). Le componenti visualizzate sono solo quelle per le quali la stima mediante dipolo equivalente forniva una varianza inferiore al 40% (cioè quelle riportate nella Tabella 5.1).



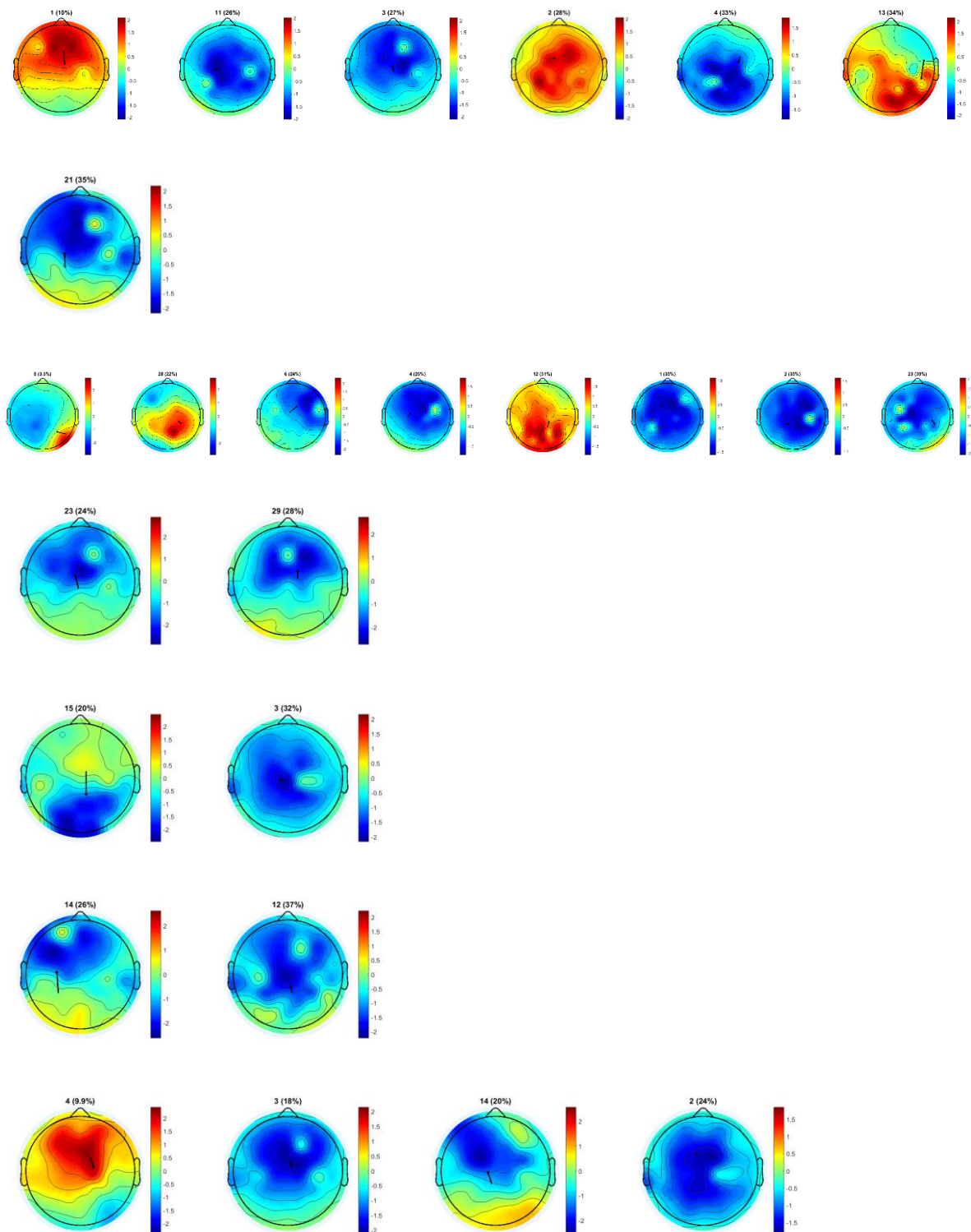


Figura 5.10 – In questa figura, ogni riga è relativa ad un soggetto del gruppo sperimentale nella condizione di post-training e riporta la mappa sullo scalpo delle componenti indipendenti che maggiormente contribuiscono alla deflessione N1, insieme al dipolo equivalente cerebrale proiettato sullo scalpo (top view) . Le componenti visualizzate sono solo quelle per le quali la stima mediante dipolo equivalente forniva una varianza inferiore al 40% (cioè quelle riportate nella Tabella 5.2).

5.3 Discussione dei risultati ottenuti

I risultati ottenuti meritano alcune considerazioni.

Innanzitutto, come descritto nella sezione 5.1, il numero di componenti indipendenti in grado di spiegare almeno il 70% della deflessione N1 è uguale o superiore a quattro nella maggior parte dei soggetti. Questo risultato potrebbe evidenziare che l'analisi ICA effettuata sia solo parzialmente attendibile; ci si potrebbe infatti aspettare che ogni deflessione ERP si origini in maniera evidente da un'unica componente indipendente (e quindi da un unico generatore neurale, corrispondente al dipolo equivalente della componente indipendente). Questa limitata attendibilità dell'analisi alle componenti indipendenti potrebbe essere conseguenza della ristretta quantità di dati disponibili e presi in esame. Come sottolineato all'inizio della sezione 3.5, per ottenere scomposizioni ICA attendibili, più è alto il numero di componenti indipendenti da stimare (numero 59 nel presente lavoro), maggiore è il numero di dati richiesti, ossia maggiore è la durata richiesta dei segnali EEG analizzati, che per contro in questo lavoro sono di durata ridotta. Questo può certamente contribuire a suddividere il complesso N1 su un numero elevato di componenti indipendenti, tuttavia è anche utile ricordare che studi precedenti ^[41] hanno già sottolineato come il complesso N1 nell'ERP visivo sia attribuibile a una molteplicità di generatori difficili da analizzare.

In secondo luogo, i risultati ottenuti relativi alla stima mediante DIPFIT, cioè la stima dei dipoli equivalenti che spiegano le componenti indipendenti stimate (e maggiormente coinvolte nella generazione dell'onda N1 dell'ERP) mostrano una certa incertezza in quanto sono per la maggior parte caratterizzati da una varianza residua superiore al 20%. Questo può essere conseguenza di quanto ipotizzato sopra, ovvero della bassa affidabilità della scomposizione ICA che richiederebbe un numero più elevato di dati EEG per poter essere attendibile; pertanto la separazione in componenti indipendenti potrebbe non essere completamente valida e di conseguenza la mappa della singola componente non presentare quella caratteristica topografia dipolare che componenti indipendenti ben separate presentano in molti casi. Inoltre il metodo di DIPFIT, che modella le sorgenti indipendenti come singoli dipoli equivalenti cerebrali, potrebbe talvolta stimare una posizione del dipolo equivalente più profonda rispetto all'effettiva localizzazione della sorgente; in particolare questo accade quando il dominio connesso di tessuto cerebrale da cui ha origine il segnale è orientato radialmente, ossia è rivolto verso la superficie dello scalpo. ^[24] Ciò potrebbe contribuire a spiegare (insieme ad una non esatta separazione in componenti indipendenti) una stima del dipolo equivalente in più casi localizzato in strutture sottocorticali.

Tenuto conto che, in base a quanto detto i risultati qui ottenuti possono presentare dei limiti di attendibilità, si può comunque fare una sintesi di quanto i risultati suggeriscono. Le aree cerebrali

emerse per entrambe le condizioni pre e post per la maggior parte dei soggetti sono situate nel Giro del Cingolo (Figura 5.11), in particolare nelle aree di Brodmann 24, 23 e 31 corrispondenti rispettivamente alla Corteccia Cingolata Anteriore ventrale, alla Corteccia Cingolata Posteriore ventrale e a quella dorsale, sia nell'emisfero destro che in quello sinistro.

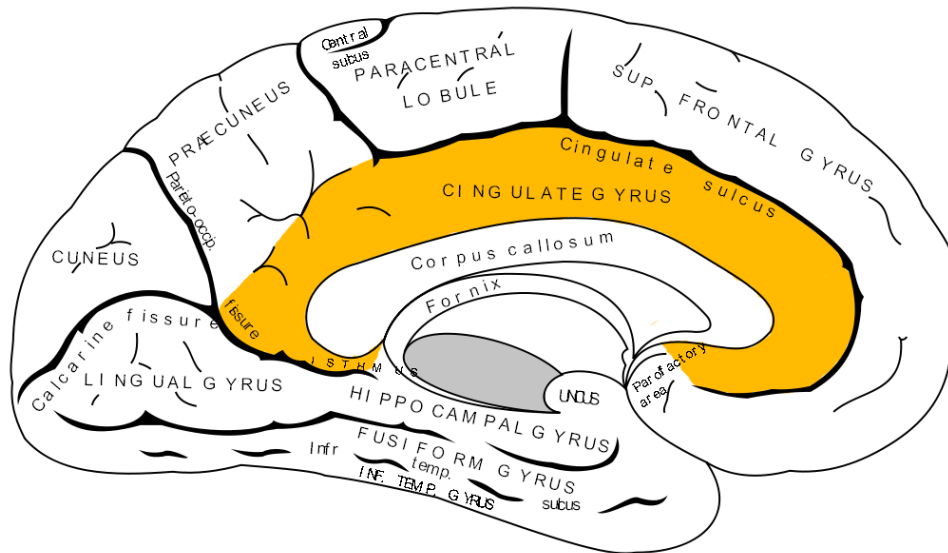


Figura 5.11 – Giro del Cingolo. ^[42]

Obiettivo dell'esperimento che ha fornito i dati analizzati in questo lavoro è quello di ottenere possibili evidenze sperimentali a sostegno dell'ipotesi che la struttura rafforzata dal training audiovisivo spazialmente e temporalmente coincidente sia il Collicolo Superiore. Quest'ultimo, come descritto nel Capitolo 3, si ritiene sia coinvolto nell'elaborazione di stimoli visivi in movimento attraverso il percorso cerebrale retina-collicolo-regione MT dorsale. Alcuni studi ^[43] propongono la Corteccia Cingolata Anteriore, come facente parte di una rete attentiva; in particolare, essa sembra attivarsi durante compiti di discriminazione del movimento, accompagnata dall'attivazione del Collicolo Superiore. Altri studi recenti ^[44] identificano all'interno della rete visiva, due sottoreti distinte che coinvolgono popolazioni di neuroni della Corteccia Cingolata Anteriore che proiettano alla Corteccia Visiva o al Collicolo Superiore. Sembra pertanto esserci un collegamento tra la Corteccia Cingolata Anteriore e il Collicolo Superiore, anche se restano da chiarire i meccanismi sottostanti la collaborazione di tali regioni e riguardanti l'effetto del training su queste aree. Tuttavia, come sottolineato all'inizio della sezione, i risultati ottenuti per quanto riguarda la localizzazione delle sorgenti cerebrali responsabili della generazione del picco N1 vanno trattati con una certa cautela; essi richiederebbero ulteriori studi per una loro conferma utilizzando ad esempio una maggiore quantità di dati EEG per ogni soggetto e ulteriori analisi.

Conclusioni

Il lavoro svolto in questo studio ha riguardato l'implementazione e l'applicazione di metodiche di analisi di risposte evento-correlate che superano il limite del metodo classico basato sulla media nel dominio del tempo. Tale metodo infatti, consente di evidenziare solo una tipologia di risposta ad una stimolazione, ovvero risposte di tipo time-locked e phase-locked con lo stimolo, mentre non permette di rilevare risposte di tipo time-locked ma non phase-locked con lo stimolo. Le prime (time-locked e phase-locked), chiamate potenziali evento-correlati (ERP), sono forme d'onda caratterizzate da una sequenza di deflessioni positive o negative, definite componenti, incorporate nell'EEG di fondo in risposta ad uno stimolo esterno. Tuttavia, non sono l'unica risposta del sistema nervoso ad uno stimolo esterno (o anche interno) in quanto eventi sensoriali, motori e cognitivi possono provocare altri tipi di risposte non phase-locked come la desincronizzazione / sincronizzazione evento-correlata (ERD/ERS). L'ERD e l'ERS consistono in temporanee modulazioni in determinati range di frequenza della potenza dell'attività oscillatoria dell'EEG di fondo, ma la metodica basata sulla media temporale risulta cieca a tali tipi di risposte. Per superare questo limite, in questo lavoro è stato utilizzato il metodo di analisi tempo-frequenza basato sulla Trasformata Wavelet Continua (con funzione wavelet complessa) che permette di ottenere rappresentazioni tempo-frequenza della potenza totale evento-correlata (che contiene sia la potenza phase-locked, sia quella non phase-locked) e anche informazioni circa la sincronizzazione di fase evento-correlata. Inoltre, per ottenere indicazioni circa la localizzazione delle sorgenti elettriche cerebrali sottostanti alle risposte evento-correlate, si è fatto uso dell'Analisi alle Componenti Indipendenti (ICA), che consente di separare tali risposte nei loro contributi indipendenti (che possono riflettere processi cerebrali indipendenti generati in regioni diverse del tessuto cerebrale). Una volta ottenute le componenti indipendenti è stato possibile, per ciascuna di esse, stimare la localizzazione del corrispondente generatore neurale attraverso un metodo di fitting che individua la localizzazione del generatore, all'interno del tessuto cerebrale, meglio approssimante la mappa sullo scalpo della componente indipendente.

Come banco di prova per l'applicazione di queste metodiche si sono utilizzati segnali EEG (acquisiti in passato dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive dell'Università di Bologna – Campus di Cesena) di 15 volontari sani durante un compito di discriminazione visiva di movimento in cui il soggetto doveva identificare la direzione di movimento di un set di punti luminosi su sfondo nero. Questo compito di discriminazione è stato eseguito dai soggetti prima e dopo uno specifico training multisensoriale, caratterizzato dalla somministrazione ripetuta di stimoli audio-visivi spazialmente e temporalmente coincidenti. Lo stimolo di discriminazione era presentato nello stesso emicampo

utilizzato per il training. La motivazione di tale esperimento svolto dai ricercatori del Centro di Neuroscienze Cognitive era basata sull'ipotesi che tale stimolazione multisensoriale potesse sollecitare le stesse regioni (il Collicolo Superiore e le regioni visive dorsali V5/MT) coinvolte nel compito di discriminazione del movimento e che pertanto, dopo il training, si potessero osservare delle differenze rispetto alla condizione di pre-training, sia nelle performance dei soggetti sia nelle risposte EEG evento-correlate (indotte dalla presentazione dello stimolo visivo di discriminazione). L'analisi svolta dai ricercatori ha effettivamente evidenziato un miglioramento di performance nel compito dopo il training, e, sulla base del solo segnale ERP (cioè del segnale ottenuto attraverso la media nel dominio del tempo), ha rilevato un'ampiezza significativamente maggiore dopo il training di una specifica deflessione (N1) nell'ERP, relativamente ai segnali fronto-centrali. Tali risultati supportavano l'ipotesi iniziale.

L'implementazione e l'applicazione a questi segnali delle tecniche di Trasformazione Wavelet Continua (con wavelet complessa) e di Analisi alle Componenti Indipendenti (comprensiva della stima della loro localizzazione cerebrale) non soltanto ha offerto l'opportunità di approfondire la conoscenza e l'uso di metodi avanzati di analisi dei segnali, ma allo stesso tempo ha portato a risultati potenzialmente interessanti per quanto riguarda i dati esaminati.

In particolare, dall'analisi dei segnali fronto-centrali nel dominio tempo-frequenza sono emerse ulteriori differenze tra la condizione di pre-training e di post-training. La condizione di post-training risulta caratterizzata da un decremento di potenza totale (che tiene conto sia della potenza phase-locked che non phase-locked) in banda alpha (8÷14 Hz), in maniera marcata non solo nell'intervallo in cui si manifesta la componente N1 ($T = 140\div 180$ ms), ma in tutto l'intervallo compreso tra la presentazione dello stimolo (0 ms) e 200 ms post-stimolo. Una trattazione più approfondita che discrimina tra variazioni di potenza non phase-locked e potenza phase-locked, evidenzia una effettiva marcata diminuzione di potenza non phase-locked in banda alpha in tutto l'intervallo tra 0 ms e 200 ms, ossia evidenzia uno spiccato fenomeno di ERD in banda alpha. Si osserva invece un incremento di potenza alpha phase-locked contemporaneo all'insorgenza della componente N1 (140÷180 ms, nonché nei millisecondi successivi), confermato anche dall'incremento di sincronizzazione di fase (ITPC) in banda alpha. La diminuzione di potenza totale nasce dunque da una maggiore diminuzione relativa di potenza non-phase locked rispetto all'incremento relativo di potenza phase-locked. Quanto emerso è associato, come descritto sopra, ad un incremento significativo della negatività del picco N1 nella condizione di post-training rispetto alla condizione di pre-training, oltre che ad un incremento significativo di performance nella discriminazione dello stimolo visivo. I risultati qui ottenuti sembrano trovare supporto in molteplici studi. Sia il ritmo alpha che la componente N1 sono oggi messi in relazione a meccanismi attentivi. Numerosi studi suggeriscono che la componente N1

rifletta l'operazione di un processo di discriminazione entro il focus attentivo e che la sua aumentata negatività corrisponda ad una facilitazione del processo di discriminazione, quindi a migliori prestazioni nello svolgimento del compito. Il ritmo alpha si ritiene abbia un ruolo nei meccanismi attentivi e nella capacità di processamento dell'elaborazione all'interno e tra aree cerebrali. In particolare, diverse ricerche suggeriscono che una sincronizzazione (ERS) in banda alpha in una regione cerebrale abbia una funzione inibitoria del processamento in quell'area cerebrale; mentre una desincronizzazione in banda alpha (ERD) in una regione cerebrale favorisca il processamento dell'informazione all'interno di quell'area. Alcuni studi suggeriscono inoltre che il phase locking (cioè il resetting di fase in banda alpha) di attività oscillatoria in risposta a stimoli esterni (o anche interni) faciliti il trasferimento coordinato di informazione tra i circuiti neurali e tra aree cerebrali distribuite. Si potrebbe supporre che l'ERD nella fase iniziale post-stimolo indichi una maggior capacità iniziale di processing dell'informazione da parte di determinate aree cerebrali, seguito da un incrementato phase resetting che promuove una più efficiente e coordinata trasmissione dell'informazione. In particolare, un incremento di phase resetting in banda alpha è stato associato da studi recenti a un incremento di performance di discriminazione visiva e ad un'aumentata negatività del picco N1 dell'ERP, come ottenuto in questo elaborato.

Relativamente all'analisi alle componenti indipendenti e alla localizzazione delle sorgenti di dipolo equivalenti che maggiormente contribuiscono alla deflessione N1 di interesse nell'ERP fronto-centrale, le aree cerebrali emerse per la maggior parte dei soggetti sono situate nel Giro del Cingolo, in particolare nelle aree di Brodmann 24, 23 e 31 corrispondenti rispettivamente alla Corteccia Cingolata Anteriore ventrale, alla Corteccia Cingolata Posteriore ventrale e a quella dorsale, sia nell'emisfero destro che in quello sinistro. Questo risultato sembra avere una base neurofisiologica. Innanzitutto si ritiene che la Corteccia Cingolata Anteriore sia parte di una rete attentiva, coinvolta in compiti di discriminazione e risoluzione di conflitti. Inoltre, studi scientifici suggeriscono l'esistenza di connessioni tra la Corteccia Cingolata Anteriore e il Collicolo Superiore che, come sottolineato precedentemente, viene ipotizzato essere una delle strutture coinvolte e sollecitate dal training applicato; in particolare studi hanno evidenziato attivazioni della Corteccia Cingolata Anteriore in compiti di discriminazione del movimento, accompagnata dall'attivazione del Collicolo Superiore. Una possibile interpretazione è che le aree individuate come possibili sorgenti cerebrali della componente N1 siano quelle coinvolte nel phase locking, ossia nel reset di fase in banda alpha. Esso potrebbe infatti favorire un più efficace e coordinato trasferimento dell'informazione tra la Corteccia Cingolata e il Collicolo Superiore. Restano comunque da chiarire i meccanismi sottostanti alla collaborazione tra queste aree e i meccanismi attraverso cui il training rafforzerebbe le loro connessioni e la loro sincronizzazione di fase.

In conclusione, il presente lavoro ha permesso di approfondire la conoscenza e l'uso di avanzati metodi di indagine dei segnali EEG per discriminare tra potenza phase-locked e quella non phase-locked e per stimare le sorgenti cerebrali che sottostanno a determinati processi. I risultati ottenuti sono di un certo rilievo ed un ulteriore sviluppo nella loro comprensione si potrebbe raggiungere sia attraverso ulteriori studi sperimentali che prendano in esame un campione più ampio di soggetti ed una maggiore quantità di dati EEG per ciascun soggetto, sia servendosi di altre metodiche, quali ad esempio studi teorici basati su modelli di reti neurali. In generale, lo sviluppo di questi studi può contribuire a far luce sui meccanismi neurali alla base di processi di percezione, di discriminazione visiva e anche di processi attentivi, con conseguenti possibili implicazioni in ambito diagnostico, terapeutico e riabilitativo.

Bibliografia

1. J. J. Foxe, A. C. Snyder, **“The role of alpha-band brain oscillations as a sensory suppression mechanism during selective attention”**, *Frontiers in psychology*, 2 (2011)
2. M. David, **“Hans Berger: From Psychic Energy to the EEG”** in *Perspectives in Biology and Medicine*, The Johns Hopkins University Press (2001)
3. H. Berger, **“Über das Elektrenkephalogramm des Menschen”**, *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 87, 527–570 (1929)
4. D. U. Silverthorn, **“Human Physiology: an integrated approach”**, Pearson Education (2010)
5. E. Magosso, G. Avanzolini, **“Strumentazione Biomedica: Progetto e Impiego dei Sistemi di Misura”**, Pàtron Editore (2015)
6. A. Mouraux, G. D. Iannetti, **“Across-trial averaging of event-related EEG responses and beyond”**, *Magnetic Resonance Imaging*, 26, 7, 1041–1054 (2008)
7. <http://www.fiab.it/en/prodotti.php?id=148>
8. J. Malmivuo, R. Plonsey **“Electroencephalography”** in *Bioelectromagnetism*, 13, 247-264 (1995)
9. P. L. Nunez, R. Srinivasan, **“Electric fields of the brain: the neurophysics of EEG”**, Oxford University Press, USA (2006)
10. <http://en.wikipedia.org/wiki/Electroencephalography>
11. M. H. Coles, M. D. Rugg, **“Electrophysiology of mind: Event-Related Brain potentials and Cognition”**, Oxford University Press (1996)

12. http://en.wikipedia.org/wiki/Event-related_potential
13. S. J. Luck, “**An introduction to Event-Related Potentials Technique**”, The MIT Press (2005)
14. P. A. Grasso, M. Benassi, E. Làdavas, C. Bertini, “**Audio-visual multisensory training enhances visual processing of motion stimuli in healthy participants: an electrophysiological study**”, European Journal of Neuroscience, 44, 2748–2758 (2016)
15. S. Shrivani, V. K. Sinha, “**Event-related potential: An overview**”, Industrial psychiatry journal, 18, 1, 70-3 (2009)
16. M. Kutas, S. A. Hillyard, “**Reading senseless sentences: Brain potentials reflect semantic incongruity**” Science, 207, 203–205 (1980)
17. S. Makeig, J. Onton, “**ERP Features and EEG Dynamics: An ICA Perspective**”, Oxford Handbook of Event-Related Potential Components (2009)
18. O. Jensen, A. Mazaheri, “**Shaping functional architecture by oscillatory alpha activity: gating by inhibition**”, Frontiers in human neuroscience, 4, 186 (2010)
19. R. X. Gao, R. Yan “**From Fourier Transform to Wavelet Transform: A Historical Perspective**” in Wavelets – Theory and Application for Manufacturing, 2, Springer US (2011)
20. B. J. Roach, D. H. Mathalon, “**Event-Related EEG Time-Frequency Analysis: An Overview of Measures and An Analysis of Early Gamma Band Phase Locking in Schizophrenia**”, Schizophrenia Bulletin, 34, 907-26 (2008)
21. A. Delorme, S. Makeig, “**EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis**”, Journal of Neuroscience Methods ,134, 9–21 (2004)
22. https://jallen.faculty.arizona.edu/sites/jallen.faculty.arizona.edu/files/Chapter_20_Total_phase%20%91locked_and_non%20%91phase_locked_power.pdf

23. A. Hyvärinen, E. Oja, **“Independent Component Analysis: Algorithms and Applications”**, Neural Networks, 13, 411-430 (2000)
24. https://sccn.ucsd.edu/wiki/EEGLAB_Wiki
25. M. Scherg, **“Fundamentals of dipole source potential analysis”** in F. Grandori, M. Hoke, e G. L. Romani (Eds), Auditory evoked magnetic fields and electric potentials, Advances in Audiology, 6, Basel, Karger, 40-69 (1990)
26. J. Driver, C. Spence, **“Multisensory perception: Beyond modularity and convergence”**, Current Biology, 731-735 (2000)
27. https://en.wikipedia.org/wiki/Visual_N1
28. A. Nash-Kille, A. Sharma, **“Inter-trial coherence as a marker of cortical phase synchrony in children with sensorineural hearing loss and auditory neuropathy spectrum disorder fitted with hearing aids and cochlear implants”** Clinical neurophysiology, 125, 1459-70 (2013)
29. G. Shen, A. N. Meltzoff, P. J. Marshall, **“Touching lips and hearing fingers: effector-specific congruency between tactile and auditory stimulation modulates N1 amplitude and alpha desynchronization”**, Exp Brain Res, 236, 13-29 (2018)
30. S. Borra, A. Di Ciaccio, **“Statistica: metodologie per le scienze economiche e sociali”**, McGraw-Hill Education (2015)
31. http://static.gest.unipd.it/~livio/PDF/PDF_CIVILE/Fondamenti%20inferenza.pdf
32. https://en.wikipedia.org/wiki/Talairach_coordinates
33. <http://www.talairach.org/>

34. J. L. Lancaster, M. G. Woldorff, L. M. Parsons, M. Liotti, C.S. Freitas, L. Rainey, P. V. Kochunov, D. Nickerson, S. A. Mikiten, P. T. Fox, “**Automated Talairach Atlas labels for functional brain mapping**”, Human Brain Mapping, 10, 120-131 (2000)
35. E. K. Vogel, S. J. Luck, “**The visual n1 component as an index of a discrimination process**”, Psychophysiology, 37, 190–203 (2000)
36. H. A. Slagter, S. Prinssen, L. C. Reteig, A. Mazaheri, “**Facilitation and inhibition in attention: Functional dissociation of pre-stimulus alpha activity, P1, and N1 components**”, NeuroImage, 125, 25–35 (2016)
37. J. N. Frey, P. Ruhnau, N. Weisz, “**Not so different after all: The same oscillatory processes support different types of attention**”, Brain Research, 1626, 183-197 (2015)
38. B. Voloh, T. Womelsdorf, “**A Role of Phase-Resetting in Coordinating Large Scale Neural Networks During Attention and Goal-Directed Behavior**”, Frontiers in systems neuroscience, 10, 18 (2016)
39. S. Hanslmayr, W. Klimesch, P. Sauseng, W. Gruber, M. Doppelmayr, R. Freunberger, T. Pecherstorfer, “**Visual discrimination performance is related to decreased alpha amplitude but increased phase locking**”, Neuroscience Letters, 375, 64–68 (2005)
40. https://it.wikipedia.org/wiki/Aree_di_Brodmann
41. F. Di Russo, A. Martinez, M. I. Sereno, S. Pitzalis, S. A. Hillyard, “**Cortical Sources of the Early Components of the Visual Evoked Potential**”, Human Brain Mapping, 15, 95-111 (2001)
42. <http://enacademic.com/dic.nsf/enwiki/237196>
43. L. M. Vaina, J. W. Belliveau, E. B. des Roziers, T. A. Zeffiro, “**Neural systems underlying learning and representation of global motion**”, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 95, 21, 12657-62 (1998)

44. S. Zhang, M. Xu, W. C. Chang, C. Ma, J. P. Hoang Do, D. Jeong, T. Lei, J. L. Fan, Y. Dan, **“Organization of long-range inputs and outputs of frontal cortex for top-down control”**, Nature Neuroscience, 19, 1733-1742 (2016)