

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BOLOGNA

Dipartimento di Ingegneria dell'Energia Elettrica e dell'Informazione
"Guglielmo Marconi" - Campus di Cesena
Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

**ANALISI DEL SEGNALE
ELETTOENCEFALOGRAFICO E
STIMA DELLE SORGENTI CORTICALI
MEDIANTE IL SOFTWARE
BRAINSTORM**

Tesi di Laurea
in
Sistemi Neurali

Relatore
Prof.ssa Elisa Magosso

Presentata da
Martina Corazza

Anno Accademico 2017/2018
Sessione III

PAROLE CHIAVE

EEG

Stima delle sorgenti corticali

Problema Inverso

Software Brainstorm

Banda Alfa

Banda Theta

ABSTRACT

I metodi di localizzazione delle sorgenti corticali del segnale elettroencefalografico (EEG) sono utilizzati per discriminare i contributi ai pattern EEG di diverse aree corticali. Brainstorm è un'applicazione open-source, collaborativa, dedicata alla visualizzazione ed elaborazione di dati MEG/EEG, con una particolare enfasi sulle tecniche di stima delle sorgenti corticali. In questo elaborato di tesi, successivamente allo studio teorico relativo alla localizzazione delle sorgenti corticali, che ha incluso lo studio del problema diretto (*forward problem*) e dei metodi di risoluzione del problema inverso (*inverse problem*), sono state acquisite competenze sul software Brainstorm, con cui è stata definita una *pipeline* di elaborazione di segnali EEG e stima delle sorgenti. La *pipeline* è stata, poi, testata su segnali EEG reali, acquisiti su 10 soggetti durante un *task* di *working memory* consistente in un calcolo a mente. La prova è caratterizzata da una prima fase di rilassamento seguita da una fase di *working memory* (*wm*) svolte sia durante la presentazione di immagini (irrilevanti per il *task*) sia in assenza di immagini. Dopo aver stimato, a partire dai segnali EEG, l'attività in determinate regioni corticali, si è valutato se ci fossero variazioni nei valori di potenza del ritmo alfa e del ritmo theta tra una fase e l'altra della prova e se, la presentazione di immagini durante la prova, determinasse un qualche effetto su queste variazioni. I risultati hanno mostrato, per il ritmo alfa, un aumento della potenza in fase di *wm* in molte aree, confermando, in alcuni casi, la funzione inibitoria di alfa su regioni *task irrelevant*. Anche per il ritmo theta si è riscontrato un aumento della potenza nelle fasi di *wm* in molte aree, indicativo (soprattutto in alcune regioni frontali) di processi di controllo esecutivo. In generale, si è osservato un aumento di potenza maggiore, sia alfa che theta, nella fase di *wm* con immagini rispetto alla fase di *wm* senza immagini.

Indice

Introduzione	1
Capitolo 1	
Il segnale elettroencefalografico e la stima delle sorgenti corticali	6
1.1 Cenni di anatomia e funzionalità del cervello	6
1.2 Genesi del segnale e ritmi EEG	10
1.3 Elettrodi e sistema di posizionamento standard 10/20	14
1.4 Il problema diretto (Forward problem)	17
1.5 Il problema inverso (Inverse problem)	24
1.5.1 Formulazione matematica	25
1.5.2 Metodi parametrici	29
1.5.3 Metodi non parametrici	32
Capitolo 2	
Il software Brainstorm	38
2.1 Potenzialità e funzioni del software	41
2.1.1 Visualizzazione dell'anatomia e dei segnali EEG	41
2.1.2 Stima delle sorgenti	45
2.2 Impostazione del workflow	50
Capitolo 3	
Acquisizione dei segnali EEG e pipeline di elaborazione in Brainstorm	84
3.1 Task di Working Memory e ritmi alfa	84
3.1.1 L'attività inibitoria dei ritmi alfa	85
3.2 Materiali e metodi	88
3.2.1 Protocollo sperimentale	89
3.2.2 Strumentazione	94
3.2.3 Preparazione all'esperimento	97
3.2.4 Elaborazione dei segnali EEG	98
Capitolo 4	
Analisi dei risultati	116

4.1 Analisi dei risultati per il ritmo Alfa.....	119
4.2 Analisi dei risultati per il ritmo Theta.....	131
Conclusioni.....	145
Bibliografia.....	150

Introduzione

La tecnica di *elettroencefalografia* (EEG) è ancora una delle principali fonti di informazione per i ricercatori interessati allo studio di una vasta scala di funzioni cerebrali nell'uomo. Grazie alla sua alta risoluzione temporale, rispetto alle altre tecniche di imaging (PET, fMRI), permette di valutare la dinamica di reti neurali, o di aggregati cellulari, che tipicamente avviene su scale temporali dell'ordine di decine di millisecondi. Tuttavia, i processi cognitivi più complessi comportano complesse interazioni neuronali spazio-temporali.

A causa del volume di conduzione, il segnale EEG registrato su un canale corrisponde a una miscela di contributi provenienti da un numero, non noto, di differenti sorgenti neurali localizzate in regioni anche distanti tra loro. Infatti, i segnali che hanno origine in regioni diverse della corteccia, nel propagarsi attraverso il volume conduttore (costituito da meningi, fluido cerebrospinale, cranio, scalpo) si mescolano e si distribuiscono nello spazio. Di conseguenza, differenze nell'attività cerebrale tra condizioni o individui diversi, non possono essere facilmente interpretate rispetto alla loro origine spaziale, quando sono considerati solamente i dati provenienti dai sensori (cioè dagli elettrodi). Le interpretazioni empiriche delle topografie dei sensori possono dare informazioni sulla possibile localizzazione dei generatori cerebrali: quale emisfero o quale regione anatomica (frontale, parietale). Tuttavia, la modellazione delle sorgenti (cioè la stima della localizzazione nella corteccia delle sorgenti elettriche neurali a partire dai segnali EEG) permette di fare inferenze riguardo al *timing* e alla localizzazione dei processi cerebrali di interesse con una risoluzione anatomica molto maggiore, rispetto all'interpretazione dei pattern dei sensori. La mappatura delle sorgenti è una forma di deconvoluzione spaziale dei dati registrati sugli elettrodi. Infatti, le mappe topografiche dello scalpo sono molto sfuocate ed è comune che contributi da regioni cerebrali distanti si sovrappongano su ampi clusters di elettrodi. Passando dallo spazio dei sensori allo

spazio delle sorgenti, è possibile discriminare le varie regioni cerebrali che contribuiscono al segnale EEG.

In questo elaborato di tesi è stato dapprima studiato e quindi utilizzato il software Brainstorm, per progettare una *pipeline* di elaborazione di segnali EEG ed applicarla a segnali acquisiti durante un *task* di calcolo a mente. Tale pipeline, prevede, nello specifico, la stima delle sorgenti corticali a partire dai segnali EEG, oltre a varie elaborazioni di pre-processing. Il software Brainstorm, infatti, è una applicazione open-source sviluppata per Matlab dedicata all'analisi di segnali cerebrali e che fornisce ampie possibilità per la stima delle sorgenti e per analisi *source level* avanzate. Le acquisizioni dei segnali EEG sono state fatte nel Laboratorio di Ingegneria Biomedica di Cesena su 10 partecipanti volontari. Ogni prova ha consistito in una fase iniziale di rilassamento (della durata di cinque minuti), seguita dalla fase di calcolo a mente, ovvero una sottrazione ricorsiva (della durata di cinque minuti), in cui si è voluto testare la capacità di *updating* della *working memory*. Ogni soggetto è stato sottoposto a due prove: in una prova la fase di rilassamento e la fase di *working memory* avvenivano durante la presentazione al soggetto di uno schermo grigio; nell'altra prova, sia la fase di rilassamento che la fase di *working memory* avvenivano durante la presentazione al soggetto di immagini che scorrevano sullo schermo. Con tale esperimento si volevano verificare le variazioni nei segnali cerebrali tra la fase di *working memory* e la fase di rilassamento e l'effetto della presentazione delle immagini su tali variazioni. I segnali così acquisiti sono, poi, stati importati in Brainstorm per l'elaborazione e per stimare l'attivazione delle regioni corticali coinvolte in un compito di questo tipo. Per concentrarsi sul calcolo mentale, il soggetto ha la necessità di isolarsi dall'ambiente circostante, pertanto tenderà a inibire le regioni corticali non coinvolte nel task di calcolo, in particolare in presenza di distrattori, quali erano le immagini che scorrevano sullo schermo, irrilevanti per il task. Per questo motivo, successivamente all'elaborazione in Brainstorm e alla stima dell'attivazione in varie regioni corticali, i segnali corticali così stimati sono stati importati in Matlab, dove è

stata eseguita l'analisi spettrale di tali segnali, in particolare il calcolo della potenza in banda alfa e in banda theta. La banda alfa è stata scelta, in quanto, secondo teorie attuali, l'oscillazione alfa è fondamentale per il corretto svolgimento di un compito poiché inibisce le regioni cerebrali irrilevanti per un compito (incremento della potenza alpha) e disinibisce le regioni cerebrali rilevanti per il compito (diminuzione della potenza alpha), ottimizzando così l'allocazione di risorse cognitive, minimizzando il consumo di energia e favorendo un più efficiente svolgimento del compito richiesto. Il ritmo theta è stato frequentemente messo in relazione a funzioni di working memory, in particolare a processi attentivi e di controllo esecutivo.

L'elaborato è organizzato nel seguente modo.

Il primo capitolo della tesi descrive brevemente l'anatomia e le funzionalità cerebrali che danno origine al segnale elettroencefalografico, per poi concentrarsi sul problema della stima delle sorgenti corticali. Questo problema si divide in due parti, il problema diretto o *forward model*, che include un modello di testa e descrive come l'attività elettrica corticale si riflette sugli elettrodi, e il problema inverso o *inverse model*, che consiste nella stima delle sorgenti corticali a partire dal segnale EEG e che può essere risolto attraverso diversi approcci.

Il secondo capitolo illustra il software Brainstorm. Ne vengono descritte le funzionalità e le possibili applicazioni. In particolare, nel paragrafo 2.2 è presentata la pipeline di elaborazione e stima delle sorgenti, che è stata fornita dai tutorial introduttivi resi disponibili sul sito del software. Questa parte descrive i passaggi che sono stati seguiti nella fase di studio e di primo approccio al software.

Il terzo capitolo entra nel merito della parte sperimentale e descrive i materiali e metodi adoperati per l'esperimento; in particolare questo capitolo include la descrizione del protocollo sperimentale, della strumentazione utilizzata e delle fasi di elaborazione dei segnali EEG acquisiti durante gli esperimenti, prima utilizzando Brainstorm, per un pre-processing iniziale dei segnali EEG e per la stima dell'attivazione in determinate regioni corticali poi in Matlab per il calcolo delle

densità spettrali di potenza dei segnali corticali stimati e per il calcolo della potenza in banda alpha e theta.

Il quarto capitolo consiste nell'analisi dei risultati e riporta i grafici delle densità spettrali di potenza e dei valori delle potenze in banda alfa e in banda theta, nelle aree corticali esaminate e contiene un commento dei risultati più rilevanti.

Infine, il capitolo delle conclusioni riporta alcune considerazioni sul software Brainstorm su cui si basa questo lavoro di tesi, evidenziandone le numerose potenzialità, e riassume brevemente i risultati che sono stati ottenuti applicando Brainstorm sui segnali EEG, discutendo possibili sviluppi futuri.

Capitolo 1

Il segnale elettroencefalografico e la stima delle sorgenti corticali

L'elettroencefalografia (EEG) è una tecnica d'indagine neurofisiologica che consente, in tempo reale, l'esplorazione funzionale e dinamica dell'attività elettrica della corteccia cerebrale. I segnali elettroencefalografici, che possono essere misurati attraverso elettrodi posti sullo scalpo del soggetto, sono il risultato di potenziali postsinaptici eccitatori (EPSP) e inibitori (IPSP) generati dagli alberi dendritici di gruppi di cellule neuronali che lavorano in modo sinergico e sincronizzato.

L'elettroencefalografia è nata nel 1924 quando il medico tedesco Hans Berger misurò per primo i tracciati delle onde elettriche cerebrali di un uomo, usando strisce metalliche attaccate allo scalpo del soggetto come elettrodi e un sensibile galvanometro come strumento di registrazione [1].

Tra i potenziali elettrici cerebrali si distinguono quelli dovuti ad attività spontanea, i potenziali evocati e gli eventi provocati da singoli neuroni. L'attività spontanea si registra continuamente nel cervello e si presenta sottoforma di onde di diversa frequenza (da 1 a 50 Hz) e di ampiezza massima di 10-100 μV . I potenziali evocati sono deflessioni del potenziale dal livello di riposo, della durata di alcune centinaia di millisecondi e di ampiezza di alcuni microvolt, dovuti ad uno stimolo sensoriale o cognitivo esterno.

1.1 Cenni di anatomia e funzionalità del cervello

Il cervello è l'organo principale del sistema nervoso umano ed è costituito da diencefalo (la cui struttura principale è il talamo) e il telencefalo, la parte più estesa del cervello divisa in due emisferi cerebrali.

Gli emisferi cerebrali sono costituiti dalla corteccia cerebrale, la sottostante materia bianca e altre tre strutture situate negli strati più profondi: gangli della base, amigdala e ippocampo. Gli emisferi cerebrali, interconnessi mediante il corpo

calloso, hanno funzioni percettive, motorie e cognitive, inclusa la memoria e le emozioni. L'amigdala è coinvolta nell'espressione delle emozioni, l'ippocampo nella formazione della memoria, e i gangli della base nel controllo e nell'apprendimento del movimento [3].

La corteccia è divisa in quattro lobi principali: frontale, parietale, temporale e occipitale (*Figura 1*). Il lobo frontale contiene l'area corticale motoria e la corteccia premotoria, partecipa ai processi di apprendimento e memoria e, nella parte sinistra (area di Broca), si formano e si controllano le parole. Il lobo parietale contiene l'area somatosensoriale primaria. La regione nell'emisfero sinistro sembra avere un ruolo dominante nella comprensione del linguaggio, nella memoria delle parole e nelle capacità matematiche, mentre la regione nell'emisfero destro controlla le attività visuospatiali. Il lobo temporale è sede dell'area acustica, elabora l'affettività, le reazioni, il riconoscimento visivo, la percezione uditiva e la memoria. Il lobo temporale sinistro è coinvolto nel linguaggio parlato e nella selezione delle parole, mentre il lobo temporale destro permette di comprendere l'intonazione del discorso e la sequenza dei suoni. Nel lobo occipitale, invece, vengono integrate tutte le informazioni visive comprese quelle che influenzano la postura e l'equilibrio [4].

Ogni lobo, poi, è a sua volta diviso da solchi in circonvoluzioni nelle quali si trovano altre sottoregioni funzionali distinte, connesse tra loro da tratti di assoni che partono da una popolazione di neuroni e terminano in un'altra.

La divisione dell'encefalo in aree cerebrali si deve al fisiologo tedesco K. Brodmann (1909), che mappò la corteccia cerebrale suddividendola in 47 regioni in base a localizzazione anatomica, citoarchitettura e organizzazione cellulare [3]. Benché la demarcazione di Brodmann coincida, in parte, con la localizzazione di alcune funzioni corticali nella neocorteccia, il solo metodo citoarchitettonico non cattura la varietà delle funzioni delle diverse regioni della corteccia.

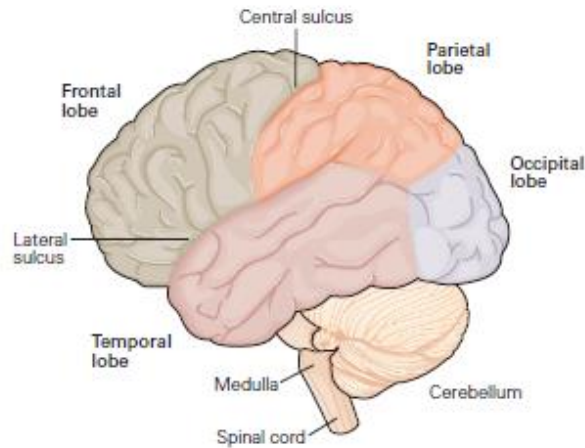


Figura 1: I principali lobi e alcuni dei più importanti solchi della corteccia cerebrale umana [3].

La neocorteccia, regione della corteccia cerebrale più vicina alla superficie del cervello, è organizzata in sei strati, numerati partendo dalla pia madre (superficie più esterna della corteccia) fino ad arrivare alla materia bianca (*Figura 2*) :

- *Strato I* (o strato molecolare), occupato dai dendriti delle cellule situate negli strati più profondi e attraversato dagli assoni che creano connessioni in altre aree della corteccia.
- *Strato II* (o strato cellulare granulare esterno) contiene piccoli neuroni sferici.
- *Strato III* (o strato cellulare piramidale esterno).
- *Strato IV* (o strato cellulare granulare interno) contiene un gran numero di piccoli neuroni sferici.
- *Strato V* (o strato cellulare piramidale interno) contiene principalmente cellule piramidali, tipicamente più grandi di quelle dello strato III. I neuroni piramidali in questo strato danno origine al principale percorso di output della corteccia, proiettando verso altre regioni corticali e sottocorticali.
- *Strato VI* (o strato polimorfo) è estremamente eterogeneo, si fonde con la materia bianca, che rappresenta il limite più profondo della corteccia, e trasporta gli assoni verso altre aree della corteccia.

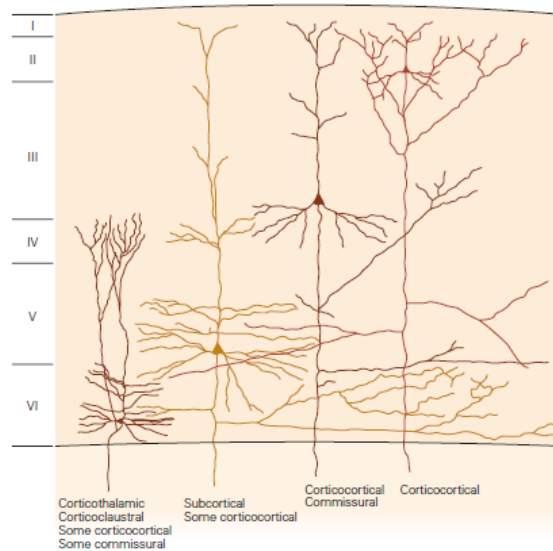


Figura 2: I neuroni nei diversi strati della corteccia proiettano a diverse parti del cervello [3].

I neuroni piramidali costituiscono circa i 2/3 dei neuroni corticali. Il corpo di queste cellule ha una forma triangolare con la base rivolta verso il basso e l'apice diretto verso la superficie della corteccia, risultando così disposte in modo ortogonale alla superficie della corteccia. I neuroni piramidali tipicamente presentano un lungo dendrite che emerge dall'apice del soma (corpo cellulare) e attraversa i vari strati corticali fino a ramificarsi in diverse terminazioni in corrispondenza della superficie (cioè in corrispondenza dello strato I), e una serie di dense e corte ramificazioni nella parte basale del corpo cellulare (*Figura 3*).

Nella corteccia vi sono due principali famiglie di neuroni, i neuroni eccitatori, che rilasciano glutammato, e i neuroni inibitori, che rilasciano il neurotrasmettitore GABA. Le cellule piramidali sono i più comuni neuroni eccitatori presenti nelle aree cerebrali, diventando i principali protagonisti dei più importanti processi cognitivi [5].

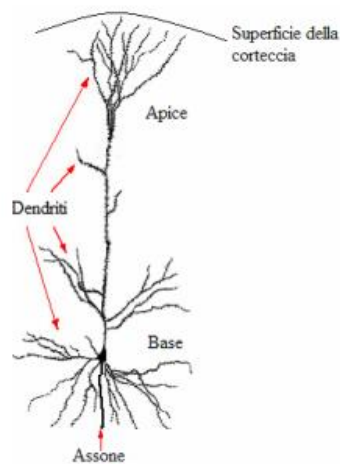


Figura 3: Morfologia tipica di cellule neuronali piramidali [5].

1.2 Genesi del segnale e ritmi EEG

Le principali sorgenti del segnale EEG si trovano nella corteccia cerebrale e generano potenziali di campo tridimensionali, i quali vengono registrati come proiezione in due dimensioni di voltaggio in funzione del tempo. Questo significa che, teoricamente, è impossibile determinare la locazione dei generatori del segnale, basandosi solamente sulle informazioni registrate sullo scalpo. Questo è quello che, in letteratura, viene definito “problema inverso”, che verrà trattato più dettagliatamente nel paragrafo 1.5.

Come è già stato menzionato, i segnali EEG sono generati principalmente dai neuroni piramidali degli strati corticali III, V e VI. A causa delle proprietà di attenuazione del cranio, per generare un potenziale registrabile sullo scalpo è necessaria la combinazione sincrona dell'attività elettrica di circa 108 neuroni in un'area corticale di almeno 6 cm² [6].

Quando un neurone viene eccitato da altri neuroni attraverso una scarica afferente di potenziali d'azione, nel suo albero dendritico apicale si generano i potenziali postsinaptici eccitatori (EPSPs). La membrana dendritica apicale diventa transitoriamente depolarizzata rendendo la regione extracellulare più elettronegativa rispetto a quella del soma e dei dendriti basali. Il mezzo extracellulare nella regione

basale si comporta quindi come una “sorgente” o “source” (+) mentre quello in corrispondenza dell’albero dendritico apicale come un “pozzo” o “sink” (-) [1]. Questa differenza di potenziale genera una corrente che scorre attraverso il “volume conduttore”, dalla regione della membrana non eccitata del soma e dei dendriti basali all’albero dendritico apicale.

La corrente che prende il percorso più corto, passando attraverso il tronco dendritico, è chiamata corrente primaria (in blu in *Figura 4*), mentre la corrente extracellulare è conosciuta come corrente secondaria o corrente di volume (in rosso in *Figura 4*). La conservazione delle cariche elettriche impone, infatti, che il ciclo della corrente sia chiuso con il flusso di corrente nel mezzo extracellulare [1].

Sia la corrente primaria che la corrente secondaria contribuiscono ai potenziali elettrici sullo scalpo, ma per l’efficiente sovrapposizione delle correnti neurali, che produrranno i campi misurati, è di fondamentale importanza la disposizione spaziale delle cellule. Sono, infatti, le macrocolonne formate da centinaia di neuroni corticali piramidali, attivati in modo sincrono, i principali generatori del segnale EEG; questo è dovuto all’organizzazione spaziale dei neuroni piramidali con i loro corpi cellulari negli strati più profondi e i tronchi dendritici che si estendono verso gli strati più superficiali, disposti uno parallelo all’altro e orientati perpendicolarmente alla superficie della corteccia. Le correnti associate ai PSPs (sia eccitatori EPSPs sia inibitori IPSPs), generati lungo i dendriti, sono all’origine della maggior parte dei segnali rilevati in EEG, poiché durano tipicamente più a lungo della scarica di potenziali d’azione che attraversa rapidamente gli assoni dei neuroni eccitati.

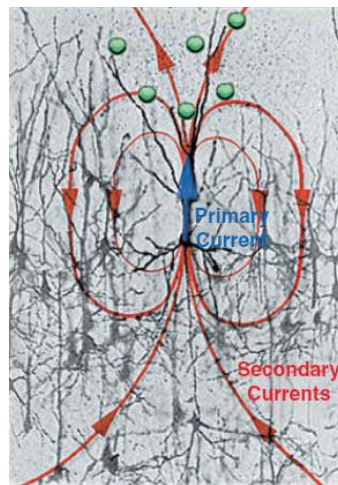


Figura 4: I EPSPs generati nell'albero dendritico apicale innescano la generazione della corrente che scorre nel volume di conduzione [1].

Le forme d'onda registrate dagli elettrodi di superficie dipendono dall'orientazione e dalla distanza della sorgente elettrica rispetto all'elettrodo di registrazione.

In *Figura 5* si hanno due condizioni di stimolazione differente: input afferenti al corpo cellulare (A) e input afferenti ai dendriti apicali (B). In entrambi i casi lo stimolo afferente porta a una depolarizzazione con conseguente flusso di corrente all'interno del corpo cellulare, quindi, a un'elettronegatività nel mezzo extracellulare. La corrente che scorre in A deriva da una sorgente (+) in corrispondenza dei dendriti apicali, mentre in B, la sorgente (+) è posta in corrispondenza del soma; si hanno, così, due dipoli disposti verticalmente con polarità opposta (source (+) in alto e sink (-) in basso per la situazione in A e source (+) in basso e sink (-) in alto per la situazione in B). Gli elettrodi di superficie, rilevando i campi elettrici nel mezzo extracellulare, generati vicino alla superficie corticale, sono poco influenzati dall'attività a livello del corpo cellulare, e sono maggiormente influenzati dalla disposizione di carica in corrispondenza ai dendriti apicali, in prossimità della superficie appunto. Pertanto, la deflessione del tratto nel segnale EEG è opposto nelle due condizioni.

Fino a questo momento si è fatto riferimento al caso di EPSPs, ma situazioni analoghe e quelle illustrate in *Figura 5*, si verificano anche per potenziali

postsinaptici inibitori (IPSPs). In particolare una disposizione di carica nel fluido extracellulare simile a quella di Figura 5-A si verifica anche per sinapsi inibitorie che agiscono a livello dei dendriti apicali, mentre una disposizione di carica simile a quella di Figura 5-B si verifica anche per sinapsi inibitorie che agiscono a livello del soma [7].

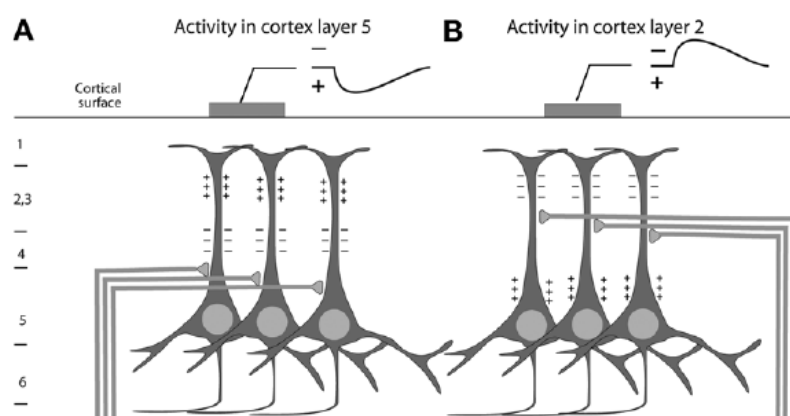


Figura 5: La polarità del segnale EEG in superficie dipende dalla posizione dell'attività sinaptica nella corteccia [7].

Come detto precedentemente, il segnale elettroencefalografico di superficie nasce dall'attività post-sinaptica sincrona di una molteplicità di neuroni piramidali; i singoli dipoli neuronali che si sommano cambiano nel tempo in ampiezza e verso e danno origine a continue fluttuazioni del segnale EEG di superficie. L'EEG è dunque una forma d'onda complessa che include più componenti in frequenza. I ritmi EEG principali sono stati identificati attraverso l'esperienza clinica e di ricerca, e gli intervalli di frequenza associati sono stati individuati successivamente. Infatti, è preferibile definire queste componenti EEG come "bande di componenti" piuttosto che "frequenze", perché ciò che le distingue più propriamente è il significato fisiologico e l'aspetto visivo piuttosto che l'uso di frequenze specifiche; un particolare componente potrebbe infatti apparire al di fuori della gamma di frequenza abituale. Classicamente le onde EEG che possono essere riscontrate nell'attività di

fondo normale sono le seguenti (*Figura 6*): onde δ (0.5-4 Hz), che si misurano nei bambini e negli adulti principalmente durante le fasi di sonno profondo; onde θ (4-8 Hz) si trovano abitualmente nei bambini o negli adulti durante il sonno o iperventilazione, ma sono anche associate a processi di memoria e a compiti cognitivi; onde α (8-13 Hz) sono proprie dell'attività di veglia e di riposo del sistema visivo, rilevabili principalmente in corrispondenza delle regioni posteriori della testa; onde β (13-20 Hz β_1 , 20-30 Hz β_2) sono misurate nelle regioni dei lobi parietali e frontali e sono correlate a processi mentali e cognitivi di vario tipo.

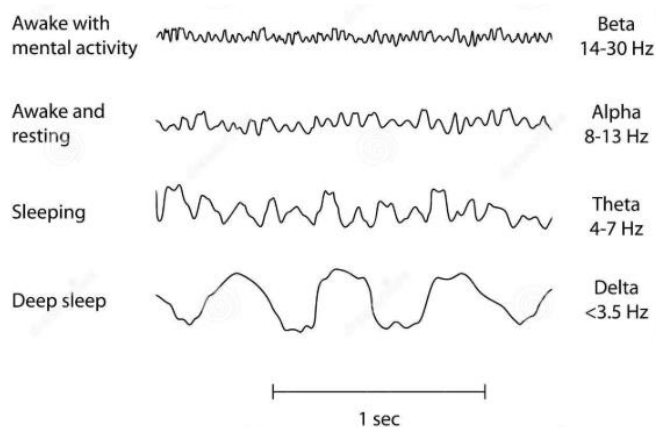


Figura 6: Ritmi EEG in un adulto normale.

1.3 Elettrodi e sistema di posizionamento standard 10/20

Convenzionalmente l'attività elettrica cerebrale è registrata tramite elettrodi per biopotenziali posizionati sulla testa del paziente. Gli elettrodi utilizzati di routine sono di argento ed occorre quindi clorurarli per impedirne la polarizzazione, che provocherebbe una distorsione del segnale. Gli elettrodi possono essere di tipologia diversa: gli *elettrodi a tampone* sono tenuti fermi da una cuffia elastica regolabile, sono affidabili e facili da riposizionare, ma poco stabili per lunghi periodi; gli *elettrodi a coppetta* consentono preparazioni più stabili per periodi prolungati e sono tenuti adesi alla cute mediante paste conduttrici e adesive; gli *elettrodi ad ago* sono

utili nei pazienti in coma o nei casi in cui sia necessaria una registrazione particolarmente urgente, sono di facile applicazione e non necessitano di sistemi di fissaggio, ma sono a rischio di trasmissioni di infezioni e attenuano le frequenze più basse. Nelle registrazioni di routine spesso si utilizzano anche *cuffie preclabate*, in cui gli elettrodi (a disco) sono posizionati in modo più o meno fisso in una calotta di tessuto. È un sistema di applicazione degli elettrodi rapido e confortevole per il paziente, anche se scarsamente modificabile e spesso fonte di artefatti [8].

Prima di applicare gli elettrodi, è necessario pulire e sgrassare accuratamente la cute utilizzando un'apposita pasta abrasiva per rimuovere sebo e cellule morte. Si passa, poi, all'applicazione degli elettrodi, il cui interno viene riempito di un gel elettroconduttore mediante una siringa ad ago smussato. Questo ha il duplice scopo di creare un contatto ottimale elettrodo-cute, favorendo la conduzione del segnale, e di mantenere un'adesione costante tra elettrodo e pelle, riducendo gli artefatti da movimento. L'impedenza di elettrodo deve essere tipicamente inferiore a 10 k Ω .

Gli elettrodi devono essere posizionati sullo scalpo secondo il Sistema Internazionale 10-20, che rappresenta il sistema di riferimento comune. Il SI 10-20 prevede il posizionamento standard degli elettrodi secondo linee ideali fondamentali (linea sagittale antero-posteriore, mediale e laterale; linea coronale frontale, centrale e parietale) tracciate partendo da punti di repere fissi: nasion (piccola depressione immediatamente al di sopra del naso), inion (protuberanza esterna dell'osso occipitale) e i punti preauricolari. La distanza tra un elettrodo e l'altro è sempre il 10% o il 20% della lunghezza della linea, da cui il nome del sistema (*Figura 7*).

La posizione di ciascun elettrodo viene identificata utilizzando una lettera e un numero. La lettera si riferisce alla regione della corteccia sottostante (Fp = frontoparietale, F = frontale, C = centrale, T = temporale, P = parietale, O = occipitale), i numeri indicano la lateralizzazione (i pari sull'emisfero destro, i dispari sul sinistro), mentre la lettera z individua la posizione sulla linea mediana.

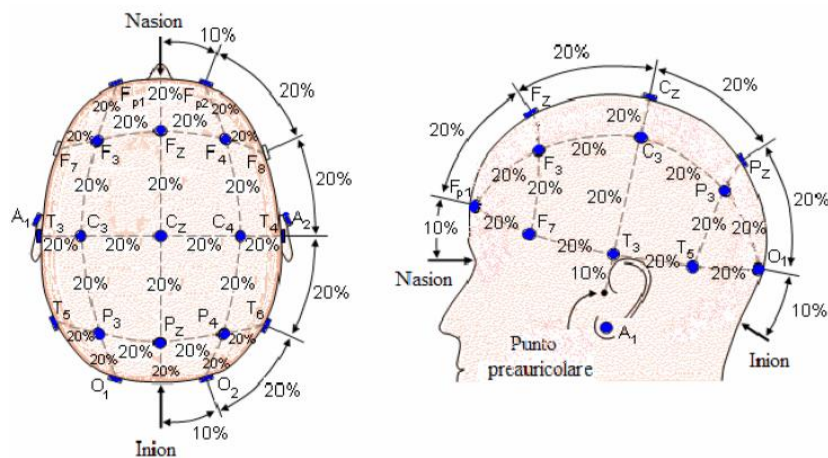


Figura 7: Posizionamento degli elettrodi sullo scalpo definite dal SI 10-20.

I segnali cerebrali rilevati sullo scalpo sono, quindi, inviati tramite gli elettrodi ad amplificatori differenziali, che amplificano la differenza di segnale bioelettrico esistente fra due ingressi; la linea di registrazione EEG generata in questo modo viene comunemente definita “canale”.

La coppie di segnali (derivazioni) in ingresso agli amplificatori possono essere acquisite secondo due diverse modalità, a seconda degli specifici requisiti sperimentali: nella modalità monopolare un segnale di ogni coppia corrisponde ad un elettrodo in un sito attivo, mentre l'altro rappresenta il segnale di riferimento ed è ottenuto o attraverso un elettrodo fisico di riferimento posto in un sito elettricamente neutro (punta del naso, lobo dell'orecchio, mento) oppure attraverso un elettrodo 'virtuale', come è il caso in cui il riferimento sia ottenuto come media di tutti i segnali di elettrodo. In questo modo il potenziale di ogni elettrodo viene misurato rispetto all'elettrodo neutro o alla media di tutti gli elettrodi, evidenziando il livello di attività elettrica sottostante il sito attivo. Nella modalità bipolare, invece, entrambi gli elettrodi sono posti su siti attivi e il segnale rilevato corrisponde alla differenza che emerge tra le attività nei due siti [8]. In genere, nella derivazione bipolare vengono collegati agli amplificatori coppie di elettrodi adiacenti lungo le linee coronali o sagittali (ad es. F7-F3, F3-Fz, Fz-F4...). Oltre all'elettrodo di riferimento,

un altro elettrodo fisicamente necessario per la registrazione EEG è l'elettrodo di terra. Quindi per un'acquisizione in modalità unipolare a singolo canale sono necessari tre sensori (uno attivo, un riferimento e massa). Per un'acquisizione in modalità unipolare a due canali, viene utilizzato un ulteriore elettrodo attivo, per un totale di quattro sensori.

1.4 Il problema diretto (Forward problem)

Per stimare le sorgenti neurali dei potenziali registrati sullo scalpo da un sistema EEG, innanzitutto è utile capire, e risolvere, il cosiddetto “forward problem”, in cui sorgenti di correnti neurali di localizzazione, ampiezza e orientazione nota, vengono mappate in un array di sensori EEG.

Dato che lo spettro di frequenze utili nei segnali EEG è tipicamente inferiore a 100 Hz, il forward model può essere descritto dall'approssimazione quasi-stazionaria delle equazioni di Maxwell [1]. Dalle equazioni di Maxwell, poi, si può derivare l'equazione di Poisson, che mette in relazione i potenziali in qualsiasi posizione del volume conduttore con le sorgenti di corrente applicate. Nel seguito, per distinguere tra grandezze matriciali/vettoriali da grandezze scalari, si utilizzerà il ‘grassetto’ per indicare le grandezze di tipo matriciale/vettoriale.

La densità di corrente è un vettore di campo che può essere rappresentata dal vettore $\mathbf{J}(x, y, z)$ e relativa unità di misura A/m^2 . La densità di corrente totale all'interno del volume cerebrale è dovuta al contributo di due flussi di corrente dal significato fisiologico distinto: una corrente primaria \mathbf{J}_p , (detta anche corrente impressa o attiva) correlata all'attività neurale originaria (cioè la corrente all'interno della macrocolonna corticale), e una corrente di volume \mathbf{J}_v (detta anche corrente di ritorno o passiva), che deriva dall'effetto del campo elettrico nel volume, sui portatori di carica extracellulari. La corrente primaria può essere modellata con l'equivalente corrente di dipolo, rappresentata da una sorgente puntiforme ovvero

$$\mathbf{J}_p(\mathbf{r}) = q\delta(\mathbf{r}-\mathbf{r}_q) \quad (1)$$

dove $\delta(\cdot)$ è la funzione delta di Dirac e

$$\mathbf{q} \equiv \int \mathbf{J}_p(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (2)$$

è il momento di dipolo di corrente (misurato in A·m). Nelle precedenti equazioni \mathbf{r} individua la generica posizione spaziale (rispetto ad un generico riferimento) ed \mathbf{r}_q individua la posizione del dipolo di corrente. $\mathbf{J}_p(\mathbf{r})$ può anche essere interpretato come un momento di dipolo di corrente per unità di volume ($\delta(\mathbf{r})$ ha le dimensioni di un 1/volume, ovvero m^{-3}).

La corrente secondaria (o di volume), invece, è data dalla legge di Ohm:

$$\mathbf{J}_v(\mathbf{r}) = \sigma(\mathbf{r})\mathbf{E}(\mathbf{r}) = -\sigma(\mathbf{r})\nabla V(\mathbf{r}) \quad (3)$$

dove $\sigma(\mathbf{r})$ è la conduttività elettrica dipendente dalla posizione e il campo elettrico $\mathbf{E}(\mathbf{r})$, date le assunzioni quasi stazionarie, è il gradiente negativo del potenziale elettrico $V(\mathbf{r})$. Quindi si ha

$$\mathbf{J}(\mathbf{r}) = \mathbf{J}_p(\mathbf{r}) - \sigma(\mathbf{r})\nabla V(\mathbf{r}) \quad (4)$$

Applicando la divergenza all'equazione (4) e ricordando che per la quasi stazionarietà delle equazioni di Maxwell risulta $\nabla \cdot \mathbf{J} = 0$ (infatti $\nabla \times \mathbf{B} = \mu_0 \mathbf{J}$ e la divergenza del rotore è uguale a 0), si ottiene

$$\nabla \cdot (\sigma(\mathbf{r})\nabla V(\mathbf{r})) = \nabla \cdot \mathbf{J}_p(\mathbf{r}) \quad (5)$$

L'equazione 5 (nota come equazione di Laplace), stabilite appropriate condizioni al contorno, e fissato il potenziale V al punto di riferimento, fornisce la descrizione completa del forward problem nell'acquisizione dei segnali EEG [9]. Da essa, noto il profilo di conducibilità $\sigma(\mathbf{r})$ della testa è possibile ricavare (analiticamente o numericamente) il potenziale elettrico $V(\mathbf{r})$ in una posizione \mathbf{r} sulla superficie dello scalpo, nota la distribuzione di corrente primaria $\mathbf{J}_p(\mathbf{r})$ all'interno del tessuto cerebrale.

Il profilo di conduttività della testa, $\sigma(\mathbf{r})$, è determinato tipicamente dalla segmentazione delle immagini anatomiche MR nelle sue varie componenti: pelle, cranio, fluido cerebrospinale e tessuto cerebrale. Una buona stima della conduttività

e della forma del cranio è di particolare importanza, in quanto la grande differenza nei valori di conduttività tra cranio e tessuti molli ha un forte impatto sui potenziali registrati sullo scalpo. La segmentazione delle immagini anatomiche può essere eseguita manualmente o utilizzando software automatizzati. Ad ogni tipo di tessuto viene poi assegnato un valore di conduttività; sono valori standard che sono stati misurati *in vitro* usando tessuti eccitati [9]. In modo alternativo, i valori di conduttività possono essere stimati *in vivo*, utilizzando la tecnica di Tomografia a Impedenza Elettrica (EIT). La EIT consiste nell'iniettare una piccola corrente (1-10 μA) attraverso un elettrodo e misurare le differenze di potenziale in tutti gli altri. Determinare la conduttività della testa dai valori dei potenziali misurati sulla superficie e dalla sorgente di corrente nota, costituisce un problema inverso non lineare mal posto, che deve stimare con accuratezza i valori di conduttività; di conseguenza, questi metodi sono usati raramente nella pratica. Nella maggior parte dei forward models le conduttività sono assunte isotropiche.

In particolare, se si assume che il mezzo conduttore (la testa) sia costituito da regioni G_i ($i = 1, 2, \dots, m$) ognuna di conducibilità isotropica costante (σ_i con $i = 1, \dots, m$, si veda *Figura 8*), e indicando con S_{ij} la superficie tra le regioni G_i e G_j , attraverso una trattazione matematica che richiede numerosi passaggi e qui non riportata (si veda [11] per una trattazione dettagliata) si ottiene la seguente soluzione della equazione (5):

$$(\sigma_i + \sigma_j)V(\mathbf{r}) = 2\sigma_0 V_0(\mathbf{r}) - \frac{1}{2\pi} \sum_{ij} (\sigma_i - \sigma_j) \int_{S_{ij}} V(\mathbf{r}') \frac{\mathbf{r} - \mathbf{r}'}{\|\mathbf{r} - \mathbf{r}'\|^3} d\mathbf{S}_{ij}' \quad (6)$$

Nell'equazione (6) si ha che $V_0(\mathbf{r})$ rappresenta il potenziale in \mathbf{r} dovuto alla distribuzione della corrente primaria ed è dato da

$$V_0(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi\sigma_0} \int \mathbf{J}_p(\mathbf{r}') \frac{\mathbf{r} - \mathbf{r}'}{\|\mathbf{r} - \mathbf{r}'\|^3} d\mathbf{r}' \quad (7)$$

dove σ_0 è la conducibilità elettrica del tessuto in cui è presente la corrente primaria, mentre la sommatoria nell'equazione (6) rappresenta il contributo della corrente di

volume, formata dalla somma degli integrali di superficie. In questo modo l'equazione (6) fornisce il potenziale $V(\mathbf{r})$ per la generica superficie S_{ij} [1].

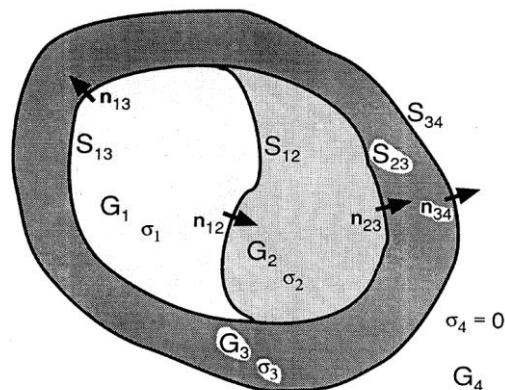


Figura 8: Esempio di un modello di conduttività multicompartimento; il modello è costituito da quattro regioni (G_i , $i = 1, 2, 3, 4$) ognuna con un valore omogeneo di conducibilità σ_i ($i = 1, 2, 3, 4$). Sono indicate anche le superfici di separazione S_{ij} tra regioni contigue e le direzioni normali alle superfici. [11]

Le condizioni al contorno da applicare nell'equazione 5 sono tali per cui nessuna corrente esce dal volume della testa, la corrente elettrica è continua attraverso ogni superficie di separazione, il potenziale elettrico è continuo attraverso ogni superficie di separazione.

L'equazione (6) può essere trattata analiticamente solo per modelli semplici di testa, come ad es. un modello a tre sfere concentriche (3-shell model) corrispondenti a cervello, cranio e scalpo, dove ogni sfera è caratterizzata da un valore di conducibilità omogeneo isotropico e le superfici corrispondono alle interfacce cervello-cranio, cranio-scalpo, scalpo-aria.

Come detto, è possibile ottenere soluzioni analitiche del forward problem in forma chiusa per modelli di testa che consistono in un set di sfere concentriche inserite una nell'altra, ognuna con conduttività omogenea e isotropica. Tuttavia, modelli sferici di testa possono fornire una buona rappresentazione della realtà solo nelle regioni

superiori del cervello, dove la testa ha una forma approssimativamente sferica; in generale modelli di testa con una forma più realistica sono necessari per ottenere una buona localizzazione delle sorgenti attraverso l'intero tessuto cerebrale. Per la risoluzione del forward problem con geometrie della testa realistiche, sono necessari metodi numerici come il Metodo degli Elementi al Contorno (BEM) e il Metodo degli Elementi Finiti (FEM).

Il metodo BEM può essere usato per la risoluzione dell'equazione (5) (ovvero per una soluzione numerica dell'equazione (6)) sotto l'assunzione che la conduttività $\sigma(\mathbf{r})$ sia omogenea a tratti, ovvero per ogni regione in cui è diviso il volume della testa. In pratica, il modello della testa è composto da superfici, ognuna che racchiude un particolare tessuto. Tipicamente si considerano le interfacce cervello-cranio, cranio-scalpo, scalpo-aria. Le regioni comprese tra diverse interfacce sono assunte con conduttività omogenea e isotropica. Ogni interfaccia viene poi discretizzata con piccoli elementi di contorno triangolari a formare una maglia, e i potenziali al centro di ciascun triangolo sono calcolati usando l'equazione (6). Gli integrali sulle superfici si trasformano, così, in sommatorie di integrali sui triangoli delle varie superfici e la soluzione del problema si trova risolvendo un sistema di equazioni lineari, la cui complessità è definita dal numero totale di nodi della maglia. L'accuratezza numerica del metodo BEM dipende dalla dimensione degli elementi di tassellazione rispetto alla distanza della sorgente dal contorno più vicino; pertanto, quando le sorgenti di corrente sono situate vicino alle superfici di contorno, è richiesta una tassellazione più fine [9].

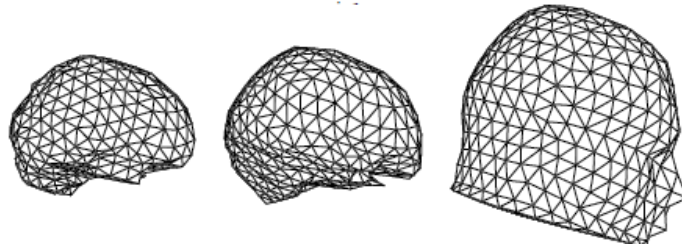


Figura 9: Superfici triangolate dei tre compartimenti usati in BEM: cervello, cranio e scalpo. Le superfici indicano le diverse interfacce: aria-scalpo, scalpo-cranio e cranio-cervello [10].

L'altro metodo utilizzato per risolvere l'equazione di Poisson nei modelli di testa realistici è il modello agli Elementi Finiti (FEM). Il metodo FEM supera alcuni dei problemi del BEM discretizzando l'equazione (4) sull'intero volume della testa (*Figura 10*). I nodi della griglia sono tipicamente connessi da tetraedri, nel caso di griglia irregolare, o da cubi, nel caso di griglia regolare, e il potenziale $V(\mathbf{r})$ è interpolato su ognuno di questi nodi. La conduttività può, quindi, essere definita localmente per ogni elemento della griglia, permettendo di includere nel modello un tensore di conduttività anisotropo, invece che i valori scalari $\sigma(\mathbf{r})$. Anche il metodo FEM porta a un sistema di equazioni lineari [9].

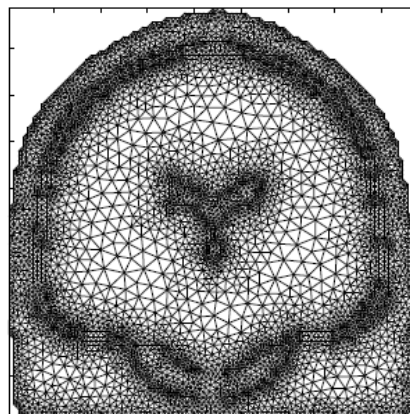


Figura 10: Esempio di mesh 2D usata nel metodo FEM: suddivisione di una sezione coronale della testa in elementi triangolari [10].

In generale, un modello FEM che comprende valori di conduttività anisotropa spazialmente variabili fornirà il forward model più accurato. Per un modello isotropico con conduttività costanti a tratti, il metodo BEM offre un'accuratezza simile. Tuttavia, è importante notare che l'accuratezza dei metodi dipende sia dalla conoscenza dei reali valori di conduttività, che dai dettagli numerici necessari per l'implementazione FEM e BEM, in particolare la risoluzione della maglia in cui la soluzione è stata calcolata. Al momento non vi è ancora un metodo in grado di produrre *in vivo* immagini ad alta risoluzione che diano valori di conduttività accurati; per questo motivo, nella pratica sono usati tipicamente valori approssimati di conduttività costanti a tratti. Inoltre, a causa dei costi computazionali, le maglie di BEM e FEM sono spesso di bassa risoluzione. Date queste circostanze il modello sferico potrebbe essere una buona alternativa per ridurre il potenziale di instabilità numerica legata ai metodi BEM e FEM [9].

A questo punto, chiamando $m(\mathbf{r}_d, t)$ il potenziale misurato dall'elettrodo in posizione \mathbf{r}_d , dovuto al dipolo di momento \mathbf{q} e situato in \mathbf{r}_q , si ottiene la seguente formulazione:

$$m(\mathbf{r}_d, t) = \mathbf{g}(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_q, \sigma(\mathbf{r})) \cdot \mathbf{q}(t) \quad (8)$$

dove $\mathbf{q}(t)$ va inteso come un vettore 3x1, che contiene le 3 componenti di dipolo lungo le tre direzioni dello spazio, mentre $\mathbf{g}(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_q, \sigma(\mathbf{r}))$ è da intendersi come un vettore 1x3, che esprime come ciascuna componente di dipolo ha effetto sul potenziale di scalp m in posizione \mathbf{r}_d . Nel caso di una distribuzione arbitraria di corrente primaria (quindi non modellata attraverso un dipolo di corrente) si ha

$$m(\mathbf{r}_d, t) = \int_V \mathbf{g}(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_s, \sigma(\mathbf{r})) \mathbf{J}_p(\mathbf{r}_s, t) d^3\mathbf{r}_s \quad (9).$$

Si noti che la corrente di volume \mathbf{J}_v , essendo funzione implicita della corrente primaria, è stata inglobata in \mathbf{g} , soluzione del forward problem. Dall'espressione di $m(\mathbf{r}_d, t)$ si evince come il valore del potenziale misurato dipenda dal modello assunto della forma della testa e dalla sua conduttività, dal momento che da essi dipendono i valori di $\mathbf{g}(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_s, \sigma(\mathbf{r}))$.

1.5 Il problema inverso (Inverse Problem)

Negli ultimi decenni sono state sviluppate una varietà di tecniche per la misura non invasiva dell'attività cerebrale, tra cui la localizzazione delle sorgenti usando l'elettroencefalografia: utilizza le misure di potenziale (dell'ordine dei μV) nei diversi punti dello scalpo e applica tecniche di elaborazione del segnale per stimare le sorgenti di corrente all'interno del cervello, che meglio fittano i dati.

È stato stabilito, anche nei paragrafi precedenti, che l'attività neurale può essere ben modellata da dipoli di corrente. Il procedimento per la localizzazione delle sorgenti parte allora dal trovare i potenziali sullo scalpo che risulterebbero da ipotetici dipoli, o più generalmente da una distribuzione di corrente all'interno della testa, ovvero risolve il forward problem. Quindi, dai dati EEG misurati dagli elettrodi (~ 100) posti sullo scalpo in posizioni specifiche, “torna indietro” e stima le sorgenti che fittano meglio queste misure. Quest'ultimo viene definito “problema inverso”.

L'accuratezza con cui una sorgente può essere localizzata è influenzata da una serie di fattori che includono gli errori di modellazione della testa, errori di modellazione della sorgente e rumore EEG, che può essere strumentale o biologico. I valori standard adottati per l'accuratezza spaziale e temporale dovrebbero essere minori di 5 mm e 5 ms, rispettivamente [12].

Il problema inverso dell'EEG è un problema mal posto; infatti, per tutti i possibili valori di tensione in uscita, la soluzione non è unica (il numero di sorgenti incognite (~ 10000) è molto maggiore rispetto al numero di sensori (~ 100), ciò rende il problema assolutamente sottodeterminato) e non è stabile (la soluzione è estremamente sensibile a piccoli cambiamenti nei dati di rumore).

Ci sono due principali approcci alla risoluzione del sistema inverso: i metodi *non parametrici* e i metodi *parametrici*. Nei metodi non parametrici (o Imaging Methods o Modelli alle Sorgenti Distribuite) numerose sorgenti di dipolo con posizione e, possibilmente anche orientazione fissa, sono distribuite nell'intero volume cerebrale o nella superficie corticale. Poiché, come si è precedentemente

detto, si assume che le sorgenti corrispondono a correnti che scorrono all'interno dei tronchi dendritici dei neuroni piramidali corticali, i quali sono orientati ortogonalmente alla superficie corticale, i dipoli a orientazione fissa sono generalmente assunti allineati in modo ortogonale. Le ampiezze (e la direzione, se non imposta a priori) di queste sorgenti di dipolo deve, poi, essere stimata.

Nei metodi parametrici (detti anche a sorgenti concentrate), invece, viene considerato un numero ristretto di dipoli con posizione e orientazione non nota [12].

Vedremo che, nel caso dei metodi non parametrici, il problema inverso è di tipo lineare, mentre nei metodi parametrici il problema inverso è non lineare.

1.5.1 Formulazione matematica

Dal modello diretto e dalle misure di potenziale sullo scalpo al tempo t , il problema inverso consiste nel trovare la distribuzione di densità di corrente $\mathbf{J}_p(\mathbf{r}_s, t)$ che genera i dati misurati sullo scalpo, in accordo con le equazioni (8) e (9).

Assumiamo che la distribuzione di densità di corrente $\mathbf{J}_p(\mathbf{r}_s, t)$ nasca da un numero N_S di dipoli \mathbf{q} alle posizioni $\mathbf{r}_q^1, \mathbf{r}_q^2, \dots, \mathbf{r}_q^{N_S}$, così che possa essere scritta come sommatoria di funzioni δ :

$$\mathbf{J}_p(\mathbf{r}_s, t) = \sum_{j=1}^{N_S} \mathbf{q}_j(t) \delta(\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_q^j) \quad (10)$$

Per il potenziale ad un elettrodo in posizione \mathbf{r}_d , si avrà quindi, in base alla equazione (9):

$$m(\mathbf{r}_d, t) = \sum_{j=1}^{N_S} \mathbf{g}(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_q^j) \mathbf{q}_j(t) \quad (11)$$

dove, per semplicità di notazione, è stata omessa la dipendenza di \mathbf{g} da $\sigma(\mathbf{r})$. Si ricorda che $\mathbf{g}(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_q^j)$ è un vettore 1×3 , mentre $\mathbf{q}_j(t)$ è un vettore 3×1 ($j = 1, 2, \dots, N_S$).

L'equazione (11) è relativa a un singolo potenziale di scalpo corrispondente ad un elettrodo in posizione \mathbf{r}_d . Consideriamo ora un insieme discreto di N_E elettrodi alle posizioni rispettivamente $\mathbf{r}_d^1, \mathbf{r}_d^2, \dots, \mathbf{r}_d^{N_E}$ e sia $\mathbf{m}(t)$ il vettore ($N_E \times 1$) che contiene i valori di potenziale elettrico ai diversi elettrodi, ovvero $\mathbf{m}(t) = [\mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t) \ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t) \ \dots \ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t)]^T$, l'equazione (11) diventa:

$$\mathbf{m}(t) = \begin{bmatrix} \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t) \\ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t) \\ \vdots \\ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^1, \mathbf{r}_q^1) & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^1, \mathbf{r}_q^2) & \dots & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^1, \mathbf{r}_q^{N_S}) \\ \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^2, \mathbf{r}_q^1) & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^2, \mathbf{r}_q^2) & \dots & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^2, \mathbf{r}_q^{N_S}) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^{N_E}, \mathbf{r}_q^1) & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^{N_E}, \mathbf{r}_q^2) & \dots & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^{N_E}, \mathbf{r}_q^{N_S}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{q}_1(t) \\ \mathbf{q}_2(t) \\ \vdots \\ \mathbf{q}_{N_S}(t) \end{bmatrix} \quad (12)$$

Nella equazione (12), la matrice $\mathbf{G}(\{\mathbf{r}_d^i, \mathbf{r}_q^j\})$, con $i = 1, 2, \dots, N_E$, $j = 1, 2, \dots, N_S$ ha dimensioni $N_E \times 3N_S$ e il vettore $\mathbf{q}(t) = [\mathbf{q}_1(t) \ \mathbf{q}_2(t) \ \dots \ \mathbf{q}_{N_S}(t)]$ ha dimensioni $3N_S \times 1$.

Se le orientazioni di ogni dipolo sono vincolate a rimanere invariate nel tempo, $\mathbf{q}_j(t)$ può essere scritta come

$$\mathbf{q}_j(t) = \mathbf{e}_j s_j(t) \quad (13)$$

dove $s_j(t)$ (scalare) codifica per la forza e l'evoluzione temporale della sorgente (rappresenta cioè l'intensità del momento di dipolo) ed \mathbf{e}_j è l'orientazione del dipolo.

Ovvero, $s_j(t) = \|\mathbf{q}_j(t)\|$ ed $\mathbf{e}_j = \frac{\mathbf{q}_j(t)}{\|\mathbf{q}_j(t)\|}$.

Dobbiamo considerare che i potenziali agli elettrodi saranno campionati in T istanti di tempo (t_1, t_2, \dots, t_T) e si assumono legate alle sorgenti negli stessi istanti di tempo, quindi avremo

$$\underbrace{\begin{bmatrix} \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t_1) & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t_2) & \cdots & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t_T) \\ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t_1) & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t_2) & \cdots & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t_T) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t_1) & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t_2) & \cdots & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t_T) \end{bmatrix}}_{N_E \times T} = \underbrace{\mathbf{G}(\{\mathbf{r}_d^i, \mathbf{r}_q^j\})}_{N_E \times 3N_S} \underbrace{\begin{bmatrix} s_1(t_1)\mathbf{e}_1 & s_1(t_2)\mathbf{e}_1 & \cdots & s_1(t_T)\mathbf{e}_1 \\ s_2(t_1)\mathbf{e}_2 & s_2(t_2)\mathbf{e}_2 & \cdots & s_2(t_T)\mathbf{e}_2 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ s_{N_S}(t_1)\mathbf{e}_{N_S} & s_{N_S}(t_2)\mathbf{e}_{N_S} & \cdots & s_{N_S}(t_T)\mathbf{e}_{N_S} \end{bmatrix}}_{3N_S \times T} \quad (13)$$

Inoltre, ogni versore di orientazione $\mathbf{e}_j, j = 1, 2, \dots, N_S$, può essere combinato con la matrice di forward $\mathbf{G}(\{\mathbf{r}_d^i, \mathbf{r}_q^j\})$ così da formare la matrice \mathbf{A} , come di seguito illustrato:

$$\mathbf{A}(\{\mathbf{r}_d^i, \mathbf{r}_q^j, \mathbf{e}_j\}) = \begin{bmatrix} \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^1, \mathbf{r}_q^1)\mathbf{e}_1 & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^1, \mathbf{r}_q^2)\mathbf{e}_2 & \cdots & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^1, \mathbf{r}_q^{N_S})\mathbf{e}_{N_S} \\ \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^2, \mathbf{r}_q^1)\mathbf{e}_1 & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^2, \mathbf{r}_q^2)\mathbf{e}_2 & \cdots & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^2, \mathbf{r}_q^{N_S})\mathbf{e}_{N_S} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^{N_E}, \mathbf{r}_q^1)\mathbf{e}_1 & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^{N_E}, \mathbf{r}_q^2)\mathbf{e}_2 & \cdots & \mathbf{g}(\mathbf{r}_d^{N_E}, \mathbf{r}_q^{N_S})\mathbf{e}_{N_S} \end{bmatrix} \quad (14)$$

È da notare che la matrice \mathbf{A} ha dimensioni $N_E \times N_S$. Quindi dalla (13) e dalla (14) si ottiene:

$$\underbrace{\begin{bmatrix} \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t_1) & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t_2) & \cdots & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^1, t_T) \\ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t_1) & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t_2) & \cdots & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^2, t_T) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t_1) & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t_2) & \cdots & \mathbf{m}(\mathbf{r}_d^{N_E}, t_T) \end{bmatrix}}_{\mathbf{M} = N_E \times T} = \underbrace{\mathbf{A}(\{\mathbf{r}_d^i, \mathbf{r}_q^j, \mathbf{e}_j\})}_{\mathbf{A} = N_E \times N_S} \underbrace{\begin{bmatrix} s_1(t_1) & s_1(t_2) & \cdots & s_1(t_T) \\ s_2(t_1) & s_2(t_2) & \cdots & s_2(t_T) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ s_{N_S}(t_1) & s_{N_S}(t_2) & \cdots & s_{N_S}(t_T) \end{bmatrix}}_{\mathbf{S} = N_S \times T} \quad (15)$$

Usando la notazione abbreviata indicata sotto le matrici in equazione (15), si ha:

$$\mathbf{M} = \mathbf{A}\mathbf{S}$$

dove \mathbf{M} è la matrice delle misure dei dati in tempi diversi $m(r, t)$, \mathbf{A} è la matrice di guadagno relativa ai N_S dipoli e agli N_E sensori (viene detta matrice di guadagno o matrice di lead-field), e \mathbf{S} è la matrice delle ampiezze delle sorgenti (cioè l'intensità dei momenti di dipolo) a diversi istanti di tempo. A questo punto, a partire dall'equazione (15) il problema inverso consiste, nel caso più generale, nello stimare il numero (N_S), la posizione (\mathbf{r}_q^j) e l'evoluzione temporale ($s_j(t)$) di ogni dipolo di

corrente, date le posizioni degli elettrodi, la matrice \mathbf{G} calcolata nel forward problem e le registrazioni \mathbf{M} misurate sullo scalpo.

Come detto precedentemente, si hanno due approcci per risolvere l'equazione (15). Nei metodi parametrici (a sorgenti concentrate), si assume che i potenziali sullo scalpo siano dovuti a pochi dipoli di corrente, di locazione e orientazione non note. In tal caso, l'equazione (15) viene risolta per \mathbf{S} , $\{\mathbf{r}_q^j\}$ ed \mathbf{e}_j , a partire dai potenziali di scalpo misurati \mathbf{M} e dalla conoscenza della matrice \mathbf{G} . In questo caso si ha un problema non-lineare dovuto ai parametri $\{\mathbf{r}_q^j\}$.

Il secondo approccio alla risoluzione del problema inverso considera un numero più vasto di sorgenti, che rappresentano una distribuzione continua di generatori di corrente neurale (in realtà si tratta di una distribuzione molto densa di dipoli, in corrispondenza ad ogni elemento di tassellazione del volume/superfici). Siccome si crede che questi generatori si trovino nella corteccia cerebrale, le sorgenti sono di solito vincolate a stare sulla superficie corticale con orientazione ortogonale alla superficie. Il problema inverso si riduce, così, alla risoluzione di un problema lineare inverso sulle serie temporali, non note, di ogni sorgente elementare, che costituisce la rappresentazione tassellata della superficie corticale. In questo caso, dato che sia la posizione delle sorgenti è nota (una per elemento di superficie), sia la loro orientazione (ortogonale ad ogni elemento di superficie corticale), la risoluzione del problema inverso comporta la stima della sola matrice \mathbf{S} . In questo caso si tratta di risolvere un problema lineare fortemente sottodeterminato essendo $N_S \gg N_E$.

Generalmente, si aggiunge al sistema una matrice \mathbf{n} (di dimensione $N_E \times T$) di rumore (o perturbazione) [12], così la matrice \mathbf{M} dei dati registrati diventa:

$$\mathbf{M} = \mathbf{AS} + \mathbf{n} \quad (16).$$

Come si vedrà nei successivi capitoli, il metodo di stima delle sorgenti corticali usato in questo lavoro di tesi è di tipo non parametrico. Tuttavia per completezza si riporta una descrizione anche dei metodi parametrici.

1.5.2 Metodi parametrici

Nei metodi parametrici si ricercano le posizioni e le orientazioni dei dipoli, che meglio fittano i dati. La complessità dei vari modelli varia dal singolo dipolo nel modello sferico della testa, a dipoli multipli (fino a dieci) nei modelli di testa realistici. I modelli dinamici prendono in considerazione anche i cambiamenti di orientazione dei dipoli nel tempo. Inoltre, possono essere imposti vincoli, sia fissi che variabili, sulle orientazioni dei dipoli [12].

Stima della sorgente ai minimi quadrati

Il metodo prevede di fissare il numero q delle sorgenti e utilizzare un algoritmo di stima non lineare per minimizzare l'errore quadratico tra i dati e i campi calcolati mediante il forward model, utilizzando le sorgenti stimate:

$$J_{LS}(\{\mathbf{r}, \mathbf{q}\}, \mathbf{S}) = \|\mathbf{M} - \mathbf{A}(\{\mathbf{r}, \mathbf{q}\})\mathbf{S}^T\|_2^2. \quad (17)$$

Nei vari processi iterativi utilizzati per risolvere la minimizzazione, il minimo quadrato (“least-square”, LS) può essere applicato a un singolo istante o a un blocco di campioni temporali. Quando è applicato in modo sequenziale a un set di intervalli temporali, il risultato è chiamato modello “a dipolo mobile”: la sorgente dipolare viene spostata sull'intero modello di testa e, allo stesso tempo, vengono fatte variare anche la sua orientazione e la sua ampiezza, con lo scopo di ottenere il miglior adattamento tra i segnali EEG registrati e quelli prodotti dalle sorgenti nel modello. In modo alternativo, se si usa l'intero blocco dei dati nel calcolo del minimo quadrato, la posizione del dipolo può rimanere fissa in tutto l'intervallo [1].

Un problema del metodo dei minimi quadrati è che il numero delle sorgenti da usare deve essere deciso a priori; nella pratica, gli analisti di dati provano diversi modelli (con un diverso numero a priori di dipoli) e selezionano i risultati basandosi sulla plausibilità fisiologica [1].

Beamforming approaches

I beamformer eseguono un filtraggio spaziale sui dati provenienti da un array di sensori, in modo da discriminare i segnali che arrivano da una certa posizione di interesse da quelli che originano altrove; in particolare, monitora i segnali derivanti dal dipolo in posizione r_q e blocca i contributi da tutte le altre regioni del cervello. L'uscita $\mathbf{y}(t)$ del beamformer è calcolata come il prodotto tra la matrice $3 \times N$ (considera ogni asse Cartesiano) di filtraggio spaziale \mathbf{W}^T e $\mathbf{m}(t)$, ovvero il vettore $N \times 1$ che rappresenta il segnale sull'array di sensori, associato alla singola sorgente di dipolo, in un dato istante di tempo t . L'uscita $\mathbf{y}(t) = \mathbf{W}^T \mathbf{m}(t)$ (di dimensioni 3×1) fornisce a, quindi, l'attività neurale del dipolo al dato istante t , lungo le tre direzioni x, y, z.

Dato che i segnali ricavati dagli elettrodi vengono filtrati in modo che solo quelli provenienti dalle sorgenti di interesse vengano mantenuti, il filtro spaziale dovrebbe soddisfare la seguente espressione, con δ distanza minima dal punto di interesse r_q :

$$\mathbf{W}^T \mathbf{A}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \mathbf{I} & \|\mathbf{r} - \mathbf{r}_q\| \leq \delta \\ 0 & \|\mathbf{r} - \mathbf{r}_q\| > \delta \end{cases} \quad (18)$$

dove $\mathbf{A}(\mathbf{r})$ rappresenta la matrice del forward model, per tre dipoli ortogonali in posizione \mathbf{r} , e \mathbf{I} è la matrice di identità 3×3 .

Siccome vi sono insufficienti gradi di libertà per imporre un forte vincolo di filtro elimina banda sull'intero volume cerebrale, un filtro spaziale fisso non è pratico per questo tipo di applicazione [1].

Il beamformer LCMV (“Linearly Constrained Minimum Variance”) fornisce un'alternativa adattiva: vengono posti valori nulli nelle posizioni corrispondenti alle sorgenti interferenti, ovvero quelle che non si trovano in posizione r_q .

Il problema LCMV può essere scritto come:

$$\min_{\mathbf{W}^T} \text{tr}\{\mathbf{C}_y\} \quad \text{sggto a } \mathbf{W}^T \mathbf{A}(\mathbf{r}_q) = \mathbf{I} \quad (19)$$

dove $\mathbf{C}_y = E[\mathbf{y}(t)\mathbf{y}(t)^T] = \mathbf{W}^T \mathbf{C}_m \mathbf{W}$ e $\mathbf{C}_m = E[\mathbf{m}(t)\mathbf{m}(t)^T]$ è la matrice di covarianza del segnale stimata dai dati disponibili. Questo significa che il beamformer minimizza

$W^T C_m W$ sotto il vincolo che solamente il dipolo in posizione r_q sia attivo in quell'istante di tempo. Risolvendo mediante il metodo dei moltiplicatori di Lagrange, si ottiene:

$$W = [A(r_q)^T C_m^{-1} A(r_q)]^{-1} A(r_q)^T C_m^{-1}. \quad (20)$$

Il filtro $W(r_q)$ viene poi applicato ad ogni vettore $m(t)$ di M così da avere una stima del momento di dipolo in r_q . Cambiando la posizione r_q si avrà, infine, la stima dell'attività neurale in tutte le posizioni ($S=W^T M$) [9].

Multiple-signal Classification algorithm (MUSIC)

L'algoritmo MUSIC ha un approccio spazio-temporale. I dipoli possono essere a orientazione fissa, rotanti o un misto dei due. Nel caso di dipolo a orientazione fissa, si stima dai dati prima un sottospazio del segnale, trovando la decomposizione ai valori singoli (SVD) $M=U\Sigma V^T$. Il sottospazio del segnale è dato dai primi p vettori singolari di sinistra di U , mentre il sottospazio del rumore è dato da quelli rimanenti. L'algoritmo MUSIC scansiona, poi, il singolo dipolo attraverso il volume della testa e ne calcola le proiezioni su questo sottospazio. La funzione costo da minimizzare è:

$$J(\mathbf{r}, \boldsymbol{\theta}) = \frac{\|P_S^\perp \mathbf{a}(\mathbf{r}, \boldsymbol{\theta})\|_2^2}{\|\mathbf{a}(\mathbf{r}, \boldsymbol{\theta})\|_2^2} \quad (21),$$

dove $P_S^\perp = I - (U_S U_S^T)$ è il proiettore ortogonale sul sottospazio del rumore, mentre, r e θ sono rispettivamente la posizione e l'orientazione dei vettori. Questa funzione costo è zero quando $\mathbf{a}(\mathbf{r}, \boldsymbol{\theta})$ corrisponde a una delle vere posizioni e orientazioni della sorgente. Valutando $J(\mathbf{r}, \boldsymbol{\theta})$ su un'insieme di punti della griglia e tracciando poi il suo reciproco, si ottiene una mappa "MUSIC" con p picchi in corrispondenza delle vere posizioni delle p sorgenti [1].

Un recente miglioramento a questo metodo di scansione è il RAP-MUSIC (Recursively applied and projected MUSIC), che automatizza la ricerca MUSIC estraendo la posizione delle sorgenti attraverso un uso ricorsivo della proiezione del sottospazio [12].

1.5.3 Metodi non parametrici

I metodi non parametrici (o “Imaging Approaches”) stimano le ampiezze di un’insieme denso di dipoli distribuiti in posizioni fisse entro il volume della testa. In questo caso, dato che le posizioni sono fisse, sono da stimare solo i parametri lineari e il problema inverso si riduce a un sistema lineare $\mathbf{M} = \mathbf{AS}$ molto simile a quelli incontrati in ambito di ricostruzione delle immagini [1].

L’approccio più elementare considera dipoli distribuiti su una griglia volumetrica predefinita, simile a quella usata nei metodi di scansione. Tuttavia, dato che si pensa che le sorgenti primarie siano limitate alla corteccia, l’immagine da estrarre da quelle anatomiche in MR, può essere limitata alle sorgenti che si trovano sulla superficie corticale. Seguendo la segmentazione del volume MR, le sorgenti dipolari vengono posizionate su ogni nodo della tassellazione triangolare della maglia corticale. Siccome i dendriti apicali che producono i campi misurati sono orientati ortogonali alla superficie, le sorgenti dipolari si possono ulteriormente vincolare a essere normali alla superficie. La complessità della corteccia umana richiede che una sua rappresentazione ad alta risoluzione contenga sui centomila “pixel” di dipoli; il problema inverso diventa, quindi, enormemente sottodeterminato. Per ottenere una soluzione unica, è necessario introdurre qualche forma di regolarizzazione o di conoscenza a priori. In questo senso, è utile esaminare i metodi di Imaging in una prospettiva Bayesiana [9].

Formulazione Bayesiana

Partiamo dall’equazione (15) che riportiamo qui per chiarezza:

$$\mathbf{M} = \mathbf{AS} + \mathbf{n} \quad (22)$$

Il metodo si basa sul teorema di Bayes e consiste nel trovare una stima della matrice \mathbf{S} che massimizza la probabilità a posteriori di \mathbf{S} , date le misure \mathbf{M} , ovvero, in formule:

$$p(\mathbf{S}|\mathbf{M}) = \frac{p(\mathbf{M}|\mathbf{S})p(\mathbf{S})}{p(\mathbf{M})} \quad (23)$$

Il termine $p(\mathbf{S}|\mathbf{M})$ rappresenta la probabilità a posteriori di \mathbf{S} dato \mathbf{M} , $p(\mathbf{M}|\mathbf{S})$ rappresenta la probabilità di osservare i dati misurati \mathbf{M} date le sorgenti \mathbf{S} (probabilità di verosimiglianza), ed è determinata dal forward problem; $p(\mathbf{S})$, invece, è la distribuzione a priori delle sorgenti e riflette le conoscenze che abbiamo a priori delle proprietà statistiche delle sorgenti incognite. Nel caso in cui non vi siano incertezze nel forward problem (cioè assumendo che non ci siano errori nel modello diretto e che gli unici errori siano dovuti al rumore sovrapposto ai dati), la $p(\mathbf{M}|\mathbf{S})$ sarà espressa semplicemente da $p(\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}) = p(\mathbf{n})$. Al contrario, se le conduttività non sono note, l'incertezza del forward problem si può incorporare nel modello, considerandole come variabili random con una distribuzione statistica nota [9].

L'inferenza Bayesiana stima le sorgenti \mathbf{S} attraverso la massimizzazione della probabilità a posteriori o del logaritmo della probabilità a posteriori, ovvero:

$$\begin{aligned} \hat{\mathbf{S}} &= \arg \max_{\mathbf{S}} p(\mathbf{S}|\mathbf{M}) = \arg \max_{\mathbf{S}} \{p(\mathbf{M}|\mathbf{S})p(\mathbf{S})\} = \arg \max_{\mathbf{S}} \{\ln(p(\mathbf{M}|\mathbf{S})p(\mathbf{S}))\} \\ &= \arg \max_{\mathbf{S}} \{\ln p(\mathbf{M}|\mathbf{S}) + \ln p(\mathbf{S})\} \quad (24) \end{aligned}$$

Supponendo che il rumore \mathbf{n} sulle misure EEG sia un rumore a valore medio nullo, Gaussiano bianco (ovvero con matrice di covarianza $\mathbf{C} = \sigma^2 \mathbf{I}$, di dimensioni $N_E \times N_E$), si ha:

$$p(\mathbf{n}) = k \cdot \exp \left(-\frac{1}{2} \text{tr} (\mathbf{n}^T \mathbf{C}^{-1} \mathbf{n}) \right) = k \cdot \exp \left(-\frac{1}{2} \text{tr} \left(\frac{1}{\sigma^2} \mathbf{n}^T \mathbf{n} \right) \right) \quad (25)$$

dove k è una costante moltiplicativa (così che l'integrale di $p(\mathbf{n})$ valga 1) e $\text{tr}(B)$, dove B è una matrice, è la traccia della matrice (somma degli elementi sulla diagonale).

Poiché, si ha:

$$\mathbf{n} = \mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S} \quad (26)$$

e poiché, nell'ipotesi di forward model 'perfetto' si ha $p(\mathbf{M}|\mathbf{S}) = p(\mathbf{n})$ l'equazione (d) può essere riscritta come

$$p(\mathbf{M}|\mathbf{S}) = k \cdot \exp \left(-\frac{1}{2} \text{tr} \left(\frac{1}{\sigma^2} (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S})^T (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}) \right) \right) \quad (27)$$

Inoltre, assumiamo che le sorgenti \mathbf{S} siano a valore medio nullo, e abbiano distribuzione Gaussiana con matrice di covarianza \mathbf{C}_S , ovvero

$$p(\mathbf{S}) = \beta \cdot \exp \left(-\frac{1}{2} \text{tr} (\mathbf{S}^T \mathbf{C}_S^{-1} \mathbf{S}) \right) \quad (28)$$

dove β è una costante moltiplicativa (così che l'integrale di $p(\mathbf{S})$ valga 1).

Sostituendo le equazioni (27) e (28) in (24), si ottiene:

$$\begin{aligned} \hat{\mathbf{S}} &= \arg \max_{\mathbf{S}} \{ \ln p(\mathbf{M}|\mathbf{S}) + \ln p(\mathbf{S}) \} \\ &= \arg \max_{\mathbf{S}} \left\{ -\frac{1}{2} \text{tr} \left(\frac{1}{\sigma^2} (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S})^T (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}) \right) - \frac{1}{2} \text{tr} (\mathbf{S}^T \mathbf{C}_S^{-1} \mathbf{S}) \right\} \end{aligned} \quad (29)$$

dove sono stati mantenuti, al secondo membro, solo i termini dipendenti da \mathbf{S} .

L'equazione (29) equivale a

$$\begin{aligned} \hat{\mathbf{S}} &= \arg \min_{\mathbf{S}} \left\{ \text{tr} \left(\frac{1}{\sigma^2} (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S})^T (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}) \right) + \text{tr} (\mathbf{S}^T \mathbf{C}_S^{-1} \mathbf{S}) \right\} \\ &= \arg \min_{\mathbf{S}} \left\{ \text{tr} \left((\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S})^T (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}) \right) + \text{tr} (\mathbf{S}^T \mathbf{C}_S^{-1} \mathbf{S}) \right\} \end{aligned} \quad (30)$$

Nell'equazioni (30), σ^2 è stato incluso in \mathbf{C}_S .

Si tratta quindi di trovare la matrice \mathbf{S} che rende che rende minima la funzione

$$F(\mathbf{S}) = \text{tr} \left((\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S})^T (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}) \right) + \text{tr} (\mathbf{S}^T \mathbf{C}_S^{-1} \mathbf{S}) \quad (31)$$

Ovvero ricordando che la norma di Frobenius di una matrice \mathbf{B} , $\|\mathbf{B}\|_F$, è data da

$\|\mathbf{B}\|_F = \sqrt{\text{tr}(\mathbf{B}^T \mathbf{B})}$, si ha che $\text{tr} \left((\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S})^T (\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}) \right) = \|\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}\|_F^2$. Pertanto,

si ha in definitiva che la stima della massima probabilità a posteriori (MAP) della matrice \mathbf{S} , è data dalla minimizzazione della seguente funzione

$$F(\mathbf{S}) = \|\mathbf{M} - \mathbf{A}\mathbf{S}\|_F^2 + \text{tr} (\mathbf{S}^T \mathbf{C}_S^{-1} \mathbf{S}) \quad (32).$$

Quest'ultima può essere interpretata come una forma di regolarizzazione di Tikhonov del problema inverso, in cui il primo termine misura l'adattamento ai dati e il secondo è la funzione di regolarizzazione che misura la smoothness dell'immagine.

Il minimo della equazione (33) può essere ricavato esplicitamente, calcolando il gradiente del secondo membro rispetto ad \mathbf{S} , imponendolo uguale a 0 e risolvendo rispetto ad \mathbf{S} . Così facendo si ha:

$$0 = 2\mathbf{A}^T \mathbf{A} \mathbf{S} - 2\mathbf{A}^T \mathbf{M} + 2\mathbf{C}_S^{-1} \mathbf{S} \quad (33)$$

da cui

$$(\mathbf{A}^T \mathbf{A} + \mathbf{C}_S^{-1}) \mathbf{S} = \mathbf{A}^T \mathbf{M} \rightarrow \hat{\mathbf{S}} = \underbrace{(\mathbf{A}^T \mathbf{A} + \mathbf{C}_S^{-1})^{-1} \mathbf{A}^T \mathbf{M}}_{\mathbf{K}} \quad (34)$$

L'equazione (34) mette in evidenza la matrice di inversione \mathbf{K} che permette di stimare le sorgenti a partire dai potenziali sullo scalpo:

$$\mathbf{K} = (\mathbf{A}^T \mathbf{A} + \mathbf{C}_S^{-1})^{-1} \mathbf{A}^T \quad (35)$$

Come detto precedentemente, la matrice di covarianza delle sorgenti \mathbf{C}_S non è nota e va imposta a priori; la sua scelta corrisponde a una diversa scelta per la regolarizzazione del problema. A seconda dell'espressione di \mathbf{C}_S si avranno quindi diversi metodi di regolarizzazione:

- MNE (Minimum Norm Estimates): si basa sulla ricerca della soluzione con minima norma e corrisponde alla regolarizzazione di Tikhonov. Questo tipo di stima è adatto per i modelli di sorgenti distribuite dove l'attività del dipolo è probabilmente estesa su più regioni della superficie corticale [12]. In questo caso $\mathbf{C}_S = \lambda^{-1} \mathbf{I}$ e la soluzione del problema inverso sarà $\hat{\mathbf{S}} = (\mathbf{A}^T \mathbf{A} + \lambda \mathbf{I})^{-1} \mathbf{A}^T \mathbf{M}$.
- WMNE (Weighted MNE): compensa la tendenza degli algoritmi MNE di favorire le sorgenti deboli e superficiali, introducendo una matrice diagonale di ponderazione \mathbf{W} con elementi uguali alle norme delle corrispondenti

colonne di A . Si ha quindi $C_s = \lambda^{-1}W$ con $(W)_{ii} = \|\mathbf{a}_i\|^2$, dove \mathbf{a}_i è la i -esima colonna di A .

- LORETA (Low resolution electrical tomography): usa l'operatore Laplaciano per regolarizzare la soluzione. C_s è definita da $C_s^{-1} = \lambda \mathbf{K} \mathbf{K}^T$ e $(\mathbf{K}_{ij}) = \begin{cases} 1 & i = j \\ -\frac{1}{n} & j \in \mathcal{N}(i) \\ 0 & \text{else} \end{cases}$ con $\mathcal{N}(i)$ l'insieme delle sorgenti vicine alla sorgente in posizione i nella griglia e n il numero cardinale di $\mathcal{N}(i)$.

L'approccio a norma minima può essere esteso anche ai processi non lineari usando la norma L_p ($1 \leq p \leq 2$). Tra le soluzioni a norma L_p , la norma L_1 ha proprietà particolarmente interessanti, in quanto genera soluzioni sparse e che possono essere formulate come un problema di programmazione lineare [9]. Le proprietà dei programmi lineari garantiscono che esista una soluzione ottimale, per la quale il numero di valori non nulli non ecceda il numero di misurazioni. Questa sparsità è una proprietà interessante per gli studi dove ci si aspetta che si attivi una piccola frazione di corteccia. I Markov random fields (RFs) forniscono uno strumento per poter creare distribuzioni di probabilità a priori che possano includere sparsità, attivazione focale e caratterizzazione statistica del numero e della dimensione delle regioni attivate.

Questi metodi non lineari hanno un maggior costo computazionale rispetto agli approcci lineari a norma minima e spesso includono iperparametri nelle distribuzioni di probabilità a priori. Tuttavia, riflettono meglio le caratteristiche che ci si aspetterebbe dall'attivazione cerebrale rispetto alle immagini dei metodi lineari a norma minima, che tipicamente esibiscono una risoluzione molto bassa [9].

La scelta del metodo inverso determina in maniera critica il modo in cui l'utente interpreta i dati. I metodi parametrici possono portare a risultati precisi e accurati nel caso di attivazione focale, per esempio nelle stimolazioni somatosensoriali o nelle

analisi dell'attività cerebrale epilettica. Tuttavia, negli esperimenti cognitivi, in cui il numero di regioni attive non può essere predetto e potrebbero essere coinvolte nella risposta aree estese del cervello, i modelli non parametrici sono più adatti [9].

Capitolo 2

Il software BrainStorm

Nonostante la strumentazione per le tecniche di magnetoencefalografia (MEG) ed elettroencefalografia (EEG) sia ampiamente diffusa nelle strutture sanitarie e nei centri di ricerca di neuroscienze, la disponibilità e la standardizzazione di software per la ricerca rimane ancora limitata rispetto alle altre modalità di imaging funzionale del cervello.

L'imaging delle sorgenti di MEG/EEG, come trattato nel paragrafo 1.5 del Capitolo 1, comporta una serie di sfide tecniche che, fino a qualche anno fa, ha ostacolato lo sviluppo di software accademici, per esempio la natura multidimensionale dei dati, la moltitudine di approcci per modellare i tessuti e la geometria della testa, l'ambiguità nella modellazione delle sorgenti. Inoltre, non vi è ancora un formato standard per i dati MEG/EEG, il che ha limitato la distribuzione e la condivisione dei dati.

L'analisi EEG e l'imaging delle sorgenti dispongono di un gran numero di approcci diversi. I modelli forward, ad esempio, che mappano le sorgenti di corrente neuronale in potenziali sullo scalpo e che dipendono dalla forma e dalla conduttività dei tessuti della testa, possono essere risolti mediante una serie di metodi, che spaziano dal semplice modello sferico della testa a quello delle sfere sovrapposte (*overlapping spheres*), ai metodi BEM e FEM. Allo stesso modo, la modellazione inversa, che risolve le sorgenti corticali che danno origine ai segnali EEG, sfrutta vari altri metodi, come il *dipole fitting* dei metodi parametrici o l'imaging delle sorgenti distribuite usando la teoria Bayesiana. Questa diversità di metodi e modelli riflette la natura mal posta dell'imaging elettrofisiologico che richiede una serie di restrizioni o di sistemi di regolarizzazione per assicurare una soluzione inversa stabile.

Gli utenti, a seconda delle varie applicazioni, hanno esigenze diverse per quanto riguarda l'analisi e la visualizzazione dei dati EEG. Nell'ambito clinico, ad

esempio, le registrazioni raw (“grezze”, “non trattate”) sono spesso usate per identificare e caratterizzare attività cerebrali anormali, come gli eventi di convulsione in pazienti epilettici; un’altra applicazione potrebbe richiedere di ordinare i dati in trials (prove) e mediare le risposte evocate per rilevare l’attività corticale relativa a un evento; o ancora, di eseguire la decomposizione tempo-frequenza per ottenere informazioni sulle risposte indotte ed estendere l’analisi delle serie temporali EEG dal livello dei sensori e delle sorgenti a una dimensione spaziale, temporale e spettrale. Molte di queste tecniche comportano una serie di sfide relative alla computazione e alla memorizzazione dei dati.

La diversità e la complessità delle esigenze degli utenti e dei vari approcci metodologici richiede, quindi, una soluzione software integrata, che fornisca una progressiva automazione, standardizzazione e riproducibilità di alcuni dei più comuni percorsi di analisi.

Il progetto Brainstorm è iniziato nel 2000 (anno di rilascio della prima versione) grazie alla collaborazione tra l’Università del Southern California di Los Angeles, il Salpêtrière Hospital di Parigi e il Los Alamos National Laboratory in New Mexico [13]. L’obiettivo era quello di rendere disponibile, anche a utenti non tecnici, un’ampia gamma di tecniche di imaging e di visualizzazione di sorgenti elettromagnetiche, con una particolare attenzione nell’offrire agli utenti la possibilità di interagire con i propri dati a diversi stadi durante l’analisi.

Brainstorm è un software gratuito e open source, scritto quasi interamente in codice Matlab e distribuito seguendo i termini del General Public License (GPL). La sua interfaccia è scritta in Java e inserita in scripts Matlab. Il vantaggio di scrivere in linguaggi presenti in ambito di ricerca consiste nella possibilità di mantenere, modificare, cambiare e riutilizzare funzioni e librerie già esistenti: Brainstorm, infatti, è caratterizzato da una gran quantità di linee di codice Matlab preesistenti. Tutte le funzioni del software sono accessibili attraverso un’interfaccia GUI (Graphical User Interface) senza alcuna interazione diretta con l’ambiente Matlab; pertanto, Brainstorm può essere utilizzato anche da utenti non esperti nella

programmazione in Matlab. Per gli utenti più avanzati, invece, è possibile eseguire tutti i processi direttamente dagli script in ambiente Matlab; inoltre, tutte le strutture di dati manipolate da Brainstorm possono essere facilmente accessibili dalla Command Window di Matlab, dopo aver importato tali strutture nel Workspace di Matlab.

L'interfaccia GUI di Brainstorm è un ambiente strutturato intorno a un'unica interfaccia nella quale sono implementate diverse funzioni (Figura 11). Rispetto alla prospettiva utente, si ha un'organizzazione contestuale piuttosto che lineare: le molteplici funzioni del software non sono elencate in lunghi menù, ma sono accessibili solamente quando richiesto, e sono tipicamente proposte in menù contestuali a scelta rapida o in specifiche finestre di interfaccia [13]. Questa struttura offre un accesso facile e veloce alle numerose funzioni disponibili.

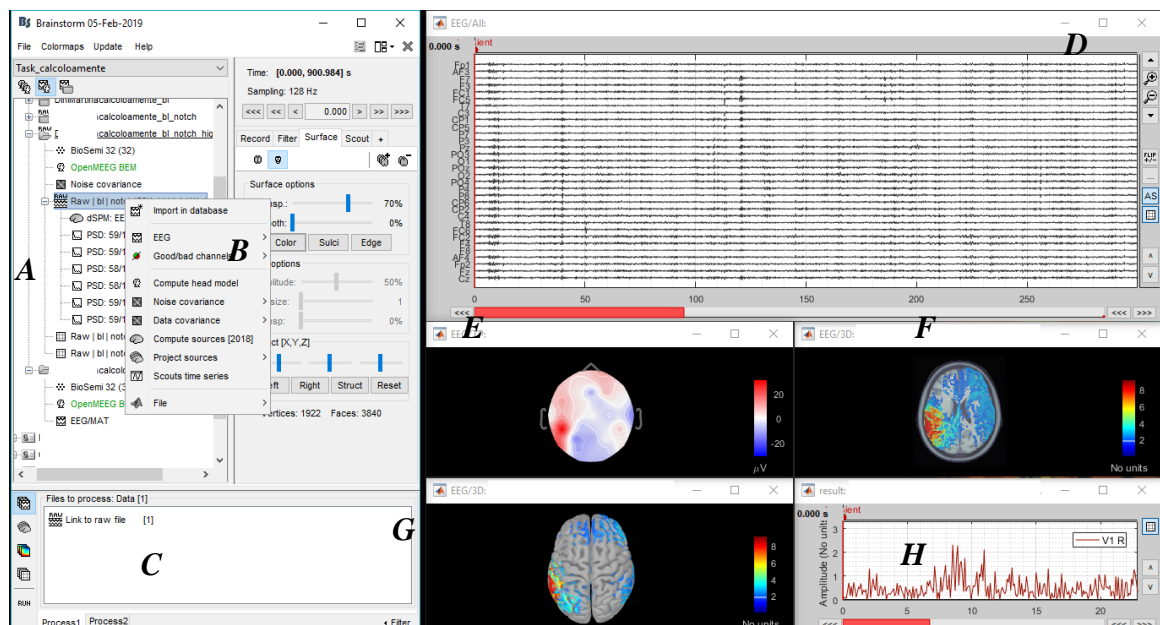


Figura 11: Panoramica generale dell'interfaccia di Brainstorm. L'interfaccia include: (A) un database che fornisce accesso diretto a tutti i dati (registrazioni, superfici, ecc.), (B) menù contestuali resi disponibili in tutta l'interfaccia facendo click sul tasto destro del mouse, (C) una sezione con una serie di strumenti per eseguire i processi di filtraggio, media, test statistici a tutti i file, che sono stati importati dal database. Le informazioni raccolte nel database sono rappresentate e posizionate automaticamente sullo schermo in modo organizzato: (D) serie temporale del segnale EEG nei 32 canali, (E) topografia 2D del

segnale EEG, (F) e (G) visualizzazione dell'attivazione delle sorgenti in 3D MRI Viewer e sulla corteccia, (H) serie temporale dell'area cerebrale VI [13].

I file dei dati sono salvati in formato `.mat` di Matlab e sono organizzati in database strutturati su tre livelli di classificazione: protocolli, soggetti e condizioni sperimentali. È possibile accedere direttamente ai dati dal database explorer indipendentemente dall'organizzazione dei file sull'hard drive. Questo assicura l'accesso immediato a tutte le informazioni del protocollo e permette di mostrare display simultanei, di fare confronti tra registrazioni o sorgenti derivanti da più prove, condizioni o soggetti.

2.1 Potenzialità e funzioni del software

2.1.1 Visualizzazione dell'anatomia e dei segnali EEG

Brainstorm richiede tre categorie di input per procedere all'analisi delle sorgenti EEG: l'anatomia del soggetto, le posizioni in 3D dei sensori e le acquisizioni EEG.

L'informazione anatomica di solito deriva dall'immagine di risonanza magnetica (MR) T1-pesata dell'intera testa e, in aggiunta, almeno due superfici tassellate, che rappresentano la corteccia cerebrale e lo scalpo. Le analisi possono essere eseguite sull'anatomia del singolo soggetto (richiede l'importazione delle immagini MR e delle superfici) oppure sfruttando l'anatomia di default di Brainstorm (inclusa nel pacchetto), che deriva dal modello cosiddetto ICBM152. Questo significa che è possibile utilizzare questo modello come sostituto per i soggetti di cui non si ha la relativa MRI, o come modello di cervello comune tra i soggetti nelle analisi di gruppo. Oltre al template ICBM152, imposto di default, sono disponibili altri pacchetti MRI+superfici, derivanti da software esterni (FreeSurfer, BrainSuite, BrainVISA) specializzati nell'elaborazione di immagini MRI del cervello umano. Una breve descrizione dei vari modelli disponibili sul software è fornita in *Tabella 1*.

FreeSurfer templates	
• Colin27_2016	: ottenuto dalla media di 27 scansioni della stessa testa.
• ICBM152_2016	: ottenuto dalla media non lineare di 152 soggetti.
• ICBM152	: ottenuto nello stesso modo di ICBM152_2016, ma senza l'involucro di sostanza bianca.
• FSAverage_2016	: ottenuto dalla media di 40 soggetti usando la media sferica.
<p>Tutti i pacchetti includono una T1 MRI del volume, immagini ad alta (~300.000 vertici) e bassa (~15.000 vertici) risoluzione della superficie corticale, immagini degli strati della testa (scalpo, cranio esterno, cranio interno), la FreeSurfer spherical registration di ogni emisfero, FreeSurfer atlas delle superfici (<i>Desikan-Killiany</i>, <i>Destrieux</i>, <i>Brodmann</i>, <i>Mindboggle</i>), atlas sottocorticale ASEG.</p>	
BrainSuite templates	
• Colin27_BrainSuite_2016	: ottenuto dalla media di 27 scansioni.
• ICBM152_BrainSuite_2016	: ottenuto dalla media non lineare di 152 soggetti.
• BCI-DNI_BrainSuite_2016	: ottenuto dall'atlas di un singolo soggetto, acquisito all'University of Southern California (USC).
• USCBrain	: ottenuto da un'atlas ibrido, anatomico e funzionale, all'USC.
<p>Tutti i pacchetti includono una T1 MRI del volume, immagini ad alta (~300.000 vertici) e bassa (~15.000 vertici) risoluzione della superficie corticale, immagini degli strati della testa (scalpo, cranio esterno, cranio interno), BrainSuite square registration di ogni emisfero, BrainSuite atlas della superficie (SVReg).</p>	
BrainVISA templates	
• Colin27_2012	: versione precedente dell'anatomia di default distribuita da Brainstorm.

<ul style="list-style-type: none"> • Infant7w_2015b 	: ottenuto dal cervello di un neonato di 7 settimane con atlas anatomico ottenuto da <i>Kabdebon et al. 2014</i> .
<ul style="list-style-type: none"> • Oreilly_1y 	: ottenuto dal cervello di un neonato di 1 anno con atlas superficiale Tzourio-Mazoyer.
I template BrainVISA non consentono alcuna procedura di registrazione accurata.	

Tabella 1: Schematizzazione dei modelli anatomici forniti dal software Brainstorm.

I modelli possono essere anche deformati, direttamente attraverso il software, per adeguarsi a un insieme di punti, acquisiti dalla testa del soggetto, e digitalizzati da un 3D digitizer device, per creare un'approssimazione dell'anatomia del singolo soggetto, basata sulla morfologia dello scalpo. Sono disponibili, inoltre, una serie di opzioni per la visualizzazione delle superfici, che includono la trasparenza, lo smoothing e il sottocampionamento della superficie tassellata (*Figura 12*).

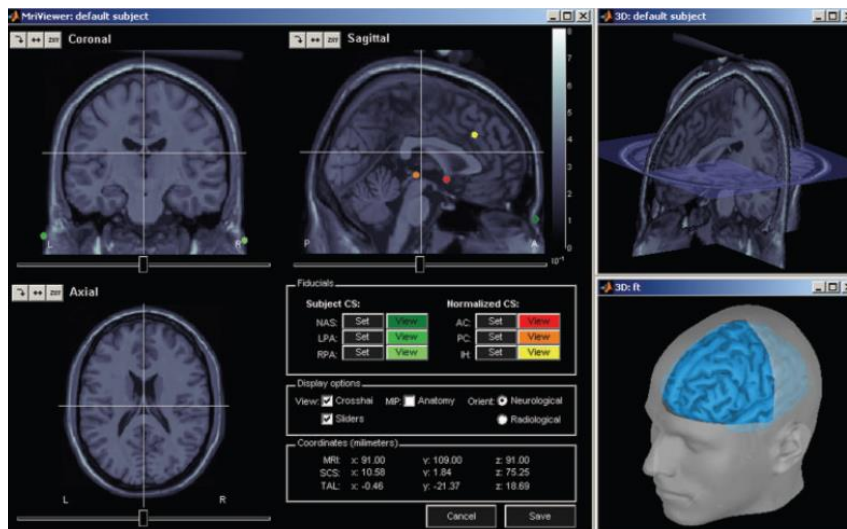


Figura 12: Alcune delle possibili opzioni per visualizzare i volumi e le superfici MRI [13].

Le posizioni dei sensori, nel caso di segnali MEG, sono sempre incluse nei file; per la maggior parte dei file EEG, invece, è necessario importare separatamente le

posizioni degli elettrodi. Brainstorm offre, inoltre, uno strumento che permette all'utente di definire e modificare le posizioni degli elettrodi sulla superficie della testa (*Figura 13*). Questa funzionalità può essere usata anche per aggiustare manualmente uno dei montaggi EEG standard disponibili nel software, tra cui quelli già definiti per il modello di anatomia ICBM152.

Per visualizzare e interagire con le registrazioni EEG, Brainstorm offre una serie di opzioni, tra cui modi alternativi per rappresentare le serie temporali e le mappe topografiche 2D e 3D, permette di creare animazioni o istantanee in diversi istanti di tempo, selezionare canali o intervalli temporali, e manipolare cluster di sensori (*Figura 14*). Vi è, inoltre, un vasta pipeline per la pre-elaborazione dei dati: rilevamento visivo o automatico di bad trials e bad channels, marcatura e caratterizzazione degli eventi, correzione della baseline, filtraggio di frequenza, ricampionamento dei dati, media, stima del rumore statistico, tecniche per la riduzione del rumore e rilevazione automatica degli artefatti. Altre operazioni di pre-elaborazione possono essere eseguite anche con altri programmi (es. EEGLab, FieldTrip o MNE) per, poi, importare i risultati su Brainstorm.

Le analisi in Brainstorm comportano l'integrazione di dati di provenienza diversa: le registrazioni EEG, le scansioni anatomiche MRI e le tassellazioni della superficie corticale e dello scalpo (nel caso in cui siano disponibili a livello di singolo soggetto). La loro registrazione geometrica nello stesso sistema di coordinate è essenziale per garantire l'accuratezza nell'imaging delle sorgenti. Brainstorm allinea tutti i dati nel sistema di coordinate del soggetto (Subject Coordinate System, SCS), che è definito dai tre fiducial markers: nasion, punto preauricolare sinistro e punto preauricolare destro. L'allineamento tra i dati volumetrici MRI e le superfici dei tessuti della testa tassellate è automatico, poiché il più delle volte provengono dallo stesso volume di dati; tuttavia, vi è comunque la possibilità di allinearli manualmente così da ottenere un controllo più accurato. Invece, per associare i dati MRI alle acquisizioni EEG, i tre fiducial points di riferimento sono necessari: prima bisogna

definirli nelle immagini volumetriche MR, e poi associarli alle coordinate dei corrispondenti fiducial points, che sono stati individuati nel sistema di coordinate dell'EEG durante l'acquisizione. L'allineamento basato solamente su questi tre punti non è del tutto accurato, pertanto si possono acquisire dei punti addizionali sullo scalpo, digitalizzarli, e sfruttarli in un procedimento di rifinitura automatico.

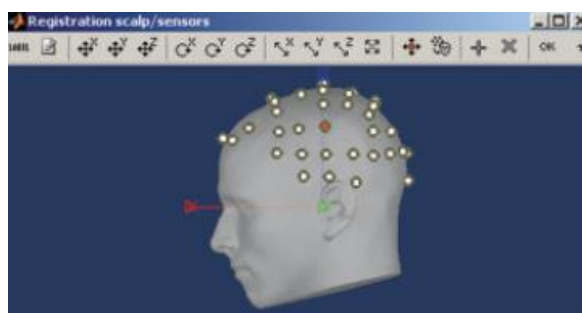


Figura 13: Brainstorm tool per modificare la posizione degli elettrodi [13].

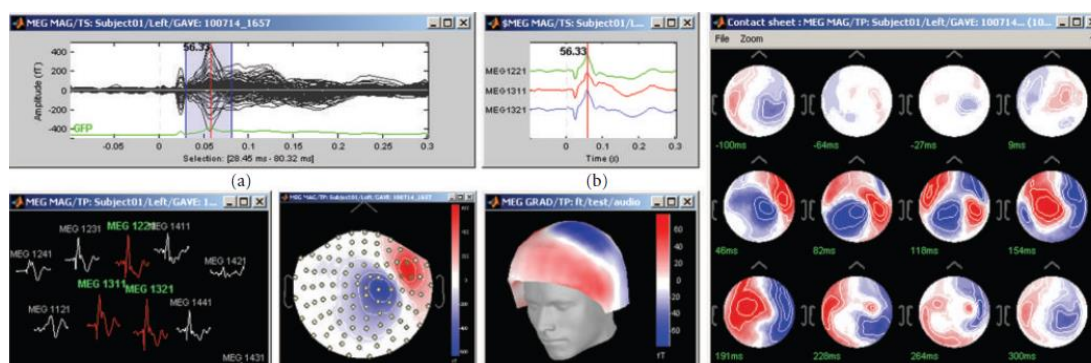


Figura 14: Soluzioni per visualizzare le registrazioni MEG/EEG [13].

2.1.2 Stima delle sorgenti

La modellazione forward (problema diretto) si riferisce alla corrispondenza tra le correnti neurali e le misure ai sensori EEG. Come già più volte descritto, questo passaggio dipende dalla forma e dalla conduttività della testa e può essere risolto mediante diversi approcci (es. modelli sferici, BEM o FEM). Gli approcci al forward model, oggi presenti su Brainstorm, offrono il miglior compromesso tra robustezza

(ovvero, adattabilità a qualsiasi specifico caso) e accuratezza (ovvero, precisione dei risultati). I modelli attuali includono i metodi a singola sfera e a sovrapposizione di sfere per l'analisi MEG e modello sferico a tre strati per l'analisi EEG. Essendo che l'EEG è più sensibile alle approssimazioni sulla geometria della testa, i metodi BEM possono migliorare l'accuratezza del modello. Per questo motivo, è stato aggiunto un approccio BEM sia per MEG che per EEG, grazie al contributo del software OpenMEEG, sviluppato dal French National Institute for Research in Computer Science and Control (INRIA) [13].

La modellazione inversa, invece, stima le sorgenti corticali che danno origine a uno specifico set di segnali EEG. In Brainstorm il principale metodo per stimare l'attività delle sorgenti è lo stimatore a minima norma (MNE) della densità di corrente corticale, la quale può essere successivamente normalizzata usando sia valutazioni statistiche del rumore (dSPM) che dati di covarianza (sLORETA), stimati dalle registrazioni sperimentali. Oltre al MNE, sono disponibili altri modelli inversi, tra cui il beamformer LCMV, la tecnica di classificazione del segnale MUSIC e il dipole fitting ai minimi quadrati. La regione su cui questi metodi inversi lavorano, può essere sia l'intero volume della testa, che la sola superficie corticale, con o senza vincoli sull'orientazione delle sorgenti. Nel caso si consideri la sola superficie corticale, le singole sorgenti di dipolo sono distribuite sui nodi della maglia corrispondente alla superficie corticale tassellata. L'orientamento dei dipoli può essere vincolato, o non vincolato, ad essere ortogonale alla superficie. In tutti i casi, il numero di dipoli indicato di default, da usare per la stima delle sorgenti, è circa 15000, benché il software permetta di modificarlo.

Brainstorm fornisce un'ampia gamma di strumenti per rappresentare, visualizzare ed esplorare le caratteristiche spazio-temporali delle mappe delle sorgenti stimate, sia sulla superficie corticale, che sull'intero volume della testa. Le sorgenti stimate sulla superficie corticale possono essere riproiettate e rappresentate sul volume originale derivante dai dati MRI o su un'altra maglia, che tassella la corteccia con maggior o minor risoluzione. I ricchi menù a scelta rapida, disponibili

in tutte le finestre di visualizzazione, suggeriscono diverse modalità predefinite per rappresentare i dati oggetto di analisi, i cui grafici possono poi essere salvati come immagini, filmati o contact sheet (Figura 15).

Vi è, inoltre, un'interfaccia dedicata che permette all'utente di definire e analizzare l'andamento nel tempo di specifiche regioni di interesse, chiamate *scouts* (Figura 16). Il pacchetto di Brainstorm include già alcune segmentazioni predefinite dell'anatomia di default in regioni di interesse, basate su atlanti anatomici, come ad esempio la suddivisione delle regioni cerebrali in alcune aree di Brodmann.

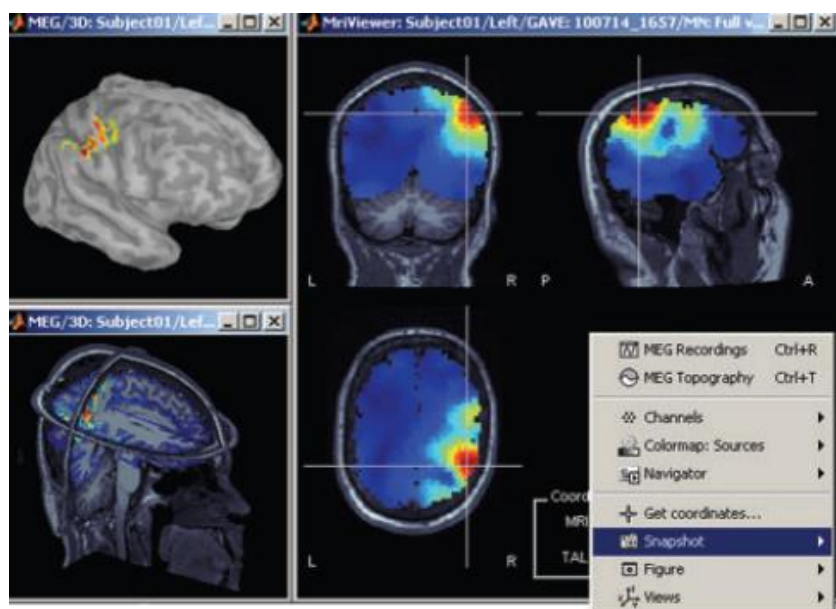


Figura 15: Varie opzioni per visualizzare le sorgenti stimate: interpretazione 3D della superficie corticale (in alto a sinistra), piani ortogonali 3D dei volumi MRI (in basso a sinistra) e convenzionale rappresentazione delle tre visioni ortogonali del volume MRI con copertura della densità di sorgente EEG [13].

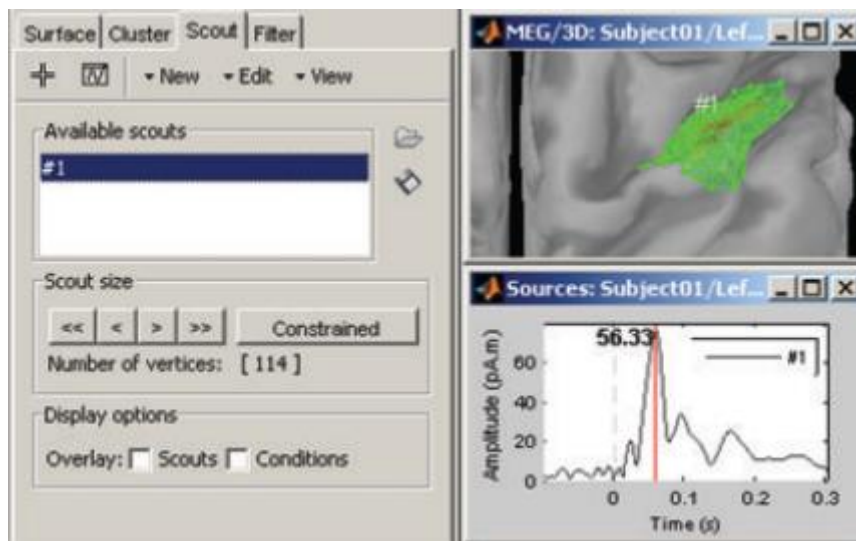


Figura 16: Selezione di regioni corticali di interesse in Brainstorm ed estrazione dell'andamento nel tempo delle sorgenti elementari all'interno [13].

Tra le altre cose, Brainstorm offre una specifica interfaccia utente per eseguire la decomposizione tempo-frequenza dei segnali derivanti sia dai sensori EEG che dalle serie temporali delle sorgenti, usando wavelets Morlet complesse, la cui forma può catturare in modo efficiente gli impulsi dell'attività oscillatoria del cervello [13]. La risoluzione temporale e spettrale della decomposizione può essere aggiustata dall'utente, a seconda dell'esperimento e dei requisiti specifici dell'analisi da eseguire. Dato che la decomposizione tempo-frequenza tende ad aumentare notevolmente la quantità di dati da memorizzare, siccome vengono decomposti nella dimensione dello spazio, tempo e frequenza, Brainstorm è stato progettato per memorizzare direttamente i dati trasformati. I dati possono essere analizzati sia nelle loro variazioni istantanee oppure raggruppati in bande di interesse (temporali o spettrali), come le bande alpha (8-12 Hz), theta (5-7 Hz) e così via. Sebbene questo riduca la risoluzione della decomposizione, potrebbe avvantaggiare l'analisi in vari modi: minor richiesta di archiviazione dei dati, miglioramento del rapporto segnale-rumore e miglior controllo sulle comparazioni multiple [13].

Un'altra potenzialità del software è la possibilità di eseguire analisi di gruppo. La sezione "*Process2*" di Brainstorm permette di fare il confronto tra due campioni di dati, ovvero l'analisi di un singolo fattore su due livelli e i test supportati includono il test t di Student paired/unpaired e i corrispettivi test non parametrici. I due gruppi possono essere assemblati da qualsiasi tipo di file, come ad esempio due condizioni entro lo stesso soggetto, due condizioni tra soggetti diversi o due soggetti per le stesse condizioni. Questi test possono essere applicati a qualunque tipo di dati nel database: segnali EEG/MEG, sorgenti stimate, scomposizioni tempo frequenza. Inoltre il software permette di eseguire il test ANOVA fino a 4 fattori. Negli studi multi-soggetti la varianza della misura deriva sia dalla varianza del singolo soggetto, che da quella tra soggetti. Se si confrontano tutte le prove di ogni soggetto, simultaneamente, nelle analisi definite a effetti fissi, non si considerano i due aspetti della varianza [13]. Per questo motivo, su Brainstorm è disponibile la forma più semplice e più comunemente usata dell'analisi a effetti random, che tiene conto di tutte le sorgenti della varianza. Basandosi su questo approccio, l'analisi avviene su due livelli. Al primo livello, le prove fatte da ogni soggetto sono usate per calcolare separatamente, per ogni soggetto, i valori statistici di interesse; mentre, al secondo livello, i dati di diversi soggetti sono combinati in un'analisi statistica complessiva.

Con lo scopo di confrontare più soggetti in termini di attivazione delle sorgenti, bisogna effettuare un passaggio intermedio, nel caso in cui le sorgenti siano state originariamente mappate sulle anatomie dei singoli soggetti. Le sorgenti stimate sui singoli cervelli sono prima proiettate sulla superficie corticale del modello cerebrale MNI/Colin27. La registrazione surface-to-surface è eseguita emisfero dopo emisfero usando la seguente procedura: allineamento lungo gli assi di commessura anteriore e posteriore, smoothing spaziale per preservare solamente le principali caratteristiche delle superfici su cui sarà eseguita la registrazione, deformazione delle singole superfici per adattarle alla superficie MNI attraverso un algoritmo Iterative Closest Point (ICP), e interpolazione delle ampiezze delle sorgenti usando il metodo di Shepard [13].

In definitiva, Brainstorm è un progetto in costante sviluppo e la versione attuale (l'ultima revisione è di Febbraio 2019) offre un ambiente dove nuove funzioni sono continuamente implementate e adattate all'interfaccia. Tuttavia, vi sono ancora molte richieste ricorrenti da parte dei numerosi utenti per sviluppare nuove funzionalità, oltre che interessanti progetti per sviluppi futuri.

2.2 Impostazione del workflow

Brainstorm fornisce una serie di tutorials online per introdurre gli utenti alle numerose funzionalità e proprietà del software. Rappresentano uno strumento utile per comprendere come impostare il flusso di lavoro durante l'analisi dei propri segnali.

I tutorials introduttivi sono basati su un semplice esperimento di “odd-ball” uditivo. Il paradigma dell'odd-ball è usato in neuroscienze per investigare i correlati neurali dei processi cognitivi di discriminazione e riconoscimento di uno stimolo. Al soggetto vengono presentate delle sequenze di due stimoli, che differiscono per caratteristiche fisiche. Uno degli stimoli occorre frequentemente, l'altro, lo stimolo target, in modo random e il soggetto deve riconoscere e contare questi ultimi. Sostanzialmente, in questo tutorial, vengono resi disponibili i dati (nello specifico dati MEG) acquisiti su un soggetto in un esperimento di odd-ball e l'utente è guidato in tutti le fasi di analisi di questi dati.

Presentazione dell'esperimento

- Un soggetto viene stimolato in ambedue le orecchie con auricolari intraurali. Durante l'esperimento il soggetto è seduto, con gli occhi aperti e con lo sguardo mantenuto fisso su uno schermo.

- Vengono eseguite due acquisizioni di 6 minuti ciascuna e ogni acquisizione comprende 200 beeps regolari (440 Hz) e 40 beeps anomali (554.4 Hz, quattro semitoni più alto). L'intervallo tra uno stimolo e l'altro è random (tra 0.7 s e 1.7 s). Quando il soggetto rileva lo stimolo anomalo, preme un bottone con l'indice destro. Prima di iniziare l'esperimento viene fatta un'acquisizione di 30 s a "empty room" per misurare il rumore strumentale.
- Le acquisizioni vengono fatte a 2400 Hz, con un sistema CTF MEG con 275 gradiometri assiali.
- L'anatomia del soggetto è acquisita da una MRI 1.5T ed elaborata da FreeSurfer 5.3 (un software open source per l'elaborazione e l'analisi di immagini cerebrali di risonanza magnetica <https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>)

Prima di passare alla descrizione della pipeline, seguita dal tutorial introduttivo, è utile, innanzitutto, presentare la schermata principale dell'interfaccia di Brainstorm (*Figura 17*), per aiutare l'utente nel primo approccio con il software; poi, capire come sono organizzati i file nel database.

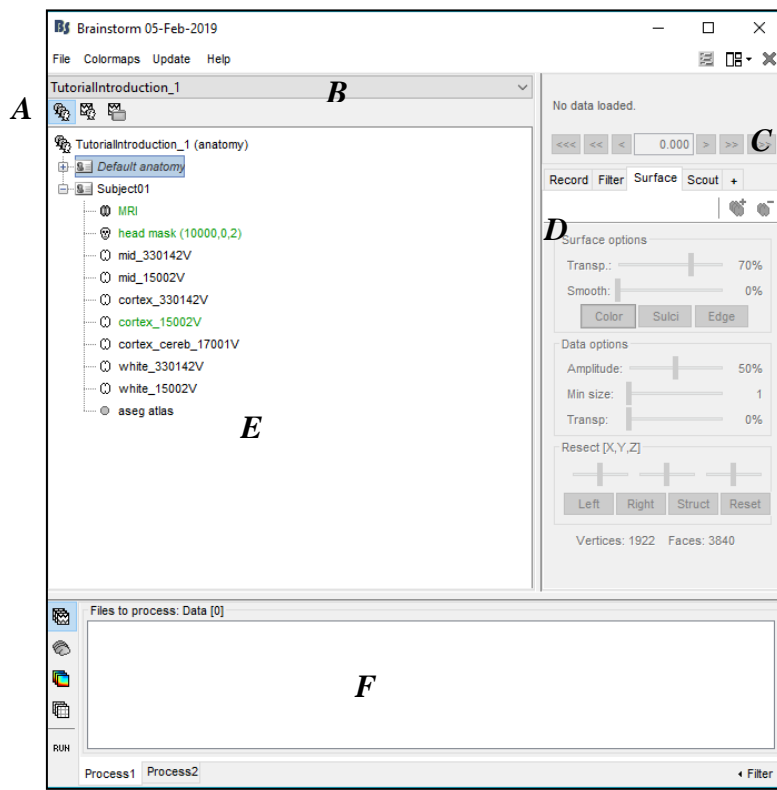


Figura 17: Interfaccia di Brainstorm: (A) Toolbar, (B) banner di selezione del protocollo, (C) Time window, (D) tabs per l'esplorazione dei dati, (E) Database explorer, (F) interfaccia Batching per eseguire i processi.

Brainstorm organizza le registrazioni e le analisi eseguite su tre livelli:

- Protocollo: consiste in un gruppo di datasets che sono stati elaborati o rappresentati insieme. Può includere uno o più soggetti.
- Soggetto: è il partecipante a un dato protocollo. La cartella "Subject" contiene due categorie di informazioni: l'anatomia, che include almeno un'immagine volumetrica MRI e qualche superficie, e i dati funzionali relativi all'acquisizione MEG/EEG.
- Sottocartelle: per ogni soggetto, i dati funzionali possono essere organizzati in diverse sottocartelle, che possono rappresentare diverse sessioni di acquisizione o diverse condizioni sperimentali.

Benché nelle applicazioni di questo elaborato di tesi siano stati utilizzati segnali EEG, piuttosto che MEG, la maggior parte degli aspetti pratici sulla manipolazione dei dati è molto simile nelle analisi EEG e MEG [15]. Per questo motivo, in questo paragrafo verrà presentata, a titolo di esempio, la pipeline utilizzata nel tutorial, mentre, nel capitolo successivo, verrà presentato il procedimento seguito sui segnali EEG, fornendo maggiori dettagli sulle fasi di elaborazione specifiche dell'analisi EEG implementate in questo lavoro di tesi.

1) Creare il protocollo

In Brainstorm il protocollo rappresenta uno studio, o un esperimento, che si vuole analizzare. È costituito da un'insieme di datasets e può includere uno o più soggetti. Quando si crea un nuovo protocollo, nell'interfaccia che viene presentata (*Figura 18*) bisogna definire il nome del protocollo e le proprietà di default per i soggetti partecipanti allo studio: "Default anatomy" e "Default channel file".

Per ogni soggetto è possibile utilizzare sia l'anatomia specifica dei singoli soggetti, se si hanno a disposizione le scansioni MRI per tutti i partecipanti allo studio, che l'anatomia di default, ovvero il modello di anatomia disponibile su Brainstorm. In questo caso, dalle cartelle di dati fornite nel tutorial, si ha accesso alle scansioni T1 MRI del soggetto.

Per quanto riguarda il "Channel file", in cui bisogna specificare i nomi e le posizioni dei sensori (dei gradiometri nel caso di una registrazione MEG, degli elettrodi nel caso di una registrazione EEG), si hanno diverse opzioni: usare un channel file per ogni acquisizione (nel caso in cui si abbiano acquisizioni con posizioni diverse della testa o con un numero di canali diversi, o nel caso in cui si utilizzino le tecniche di pulizia degli artefatti (SSP o ICA) separatamente per ogni acquisizione), usare lo stesso channel file per lo stesso soggetto, o usare solamente un unico channel file globale. Nel caso delle acquisizioni MEG, la prima opzione rappresenta il setup più comune, in quanto una sessione di registrazione MEG è suddivisa in più fasi di acquisizione e la posizione della testa del soggetto potrebbe

cambiare tra un'acquisizione e l'altra. Nelle acquisizioni EEG, invece, l'impostazione più comune è la seconda: durante tutte le registrazioni in un singolo soggetto gli elettrodi rimangono nella stessa posizione e il numero di canali rimane lo stesso. Tuttavia, non è consigliata se nel corso dell'elaborazione dei dati si ha intenzione di utilizzare i proiettori SSP/ICA sulle registrazioni, in quanto essi verranno calcolati su tutte le esecuzioni contemporaneamente. La terza opzione non è mai raccomandata; potrebbe essere usata negli studi EEG in cui si utilizzano posizioni degli elettrodi standard su un modello di anatomia standard e, soprattutto, se non si vuole procedere con una ricostruzione delle sorgenti avanzata.

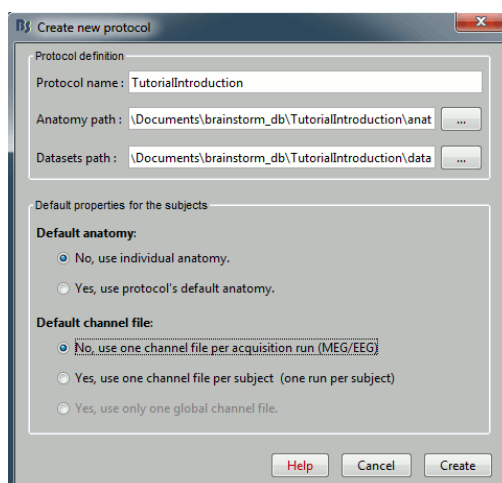


Figura 18: Interfaccia presentata quando si crea un nuovo protocollo: nella sezione in alto bisogna definire il nome del protocollo e viene indicato il percorso in cui verranno salvati i relativi dati; in basso le opzioni per definire le proprietà dei soggetti partecipanti al protocollo.

A questo punto il protocollo è creato ed è visibile nel database explorer di Brainstorm (Figura 19). Si può passare dall'anatomia ai dati funzionali utilizzando i tre tasti appena sopra il database explorer. Nell' "Anatomy view" vi è il nodo contenente tutte le informazioni anatomiche MRI e le superfici, mentre nella "Functional data view", vi saranno le cartelle contenenti le acquisizioni e le relative elaborazioni.

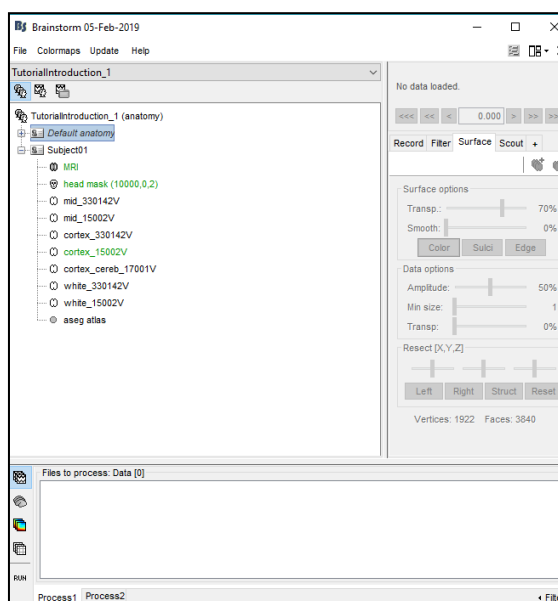


Figura 19: Interfaccia di Brainstorm dopo aver creato il protocollo. Nell'Anatomy view vi sono i dati anatomici (di default o individuali) definiti in fase di creazione del protocollo. La Functional data view, non avendo ancora importato nessun soggetto, è vuota.

2) Importare l'anatomia del soggetto

Prima di importare i dati anatomici è necessario creare un nuovo soggetto. Ogni volta che si inserisce un nuovo soggetto, si apre una finestra (*Figura 20*) che permette di modificare le impostazioni sull'anatomia e il channel file, definite al livello precedente, per ogni singolo soggetto.

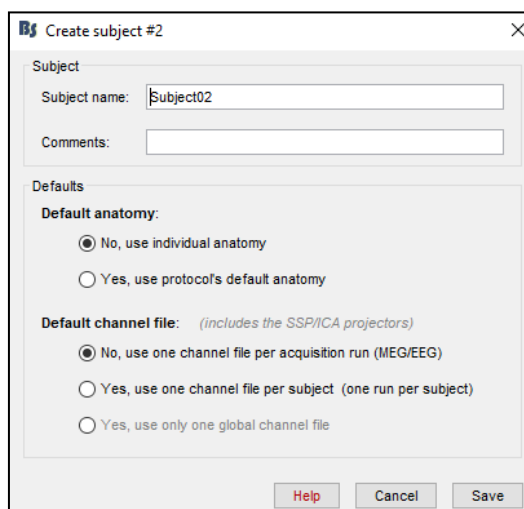


Figura 20: Finestra di creazione di un nuovo soggetto. E' possibile modificare il nome e le impostazioni di default (anatomia e channel file).

Per stimare le sorgenti cerebrali dei segnali MEG/EEG, l'anatomia del soggetto deve includere almeno tre files: il volume MRI, l'involucro della corteccia e la superficie della testa. Dato che Brainstorm non è in grado di estrarre la superficie corticale direttamente dalle immagini MR, è necessario eseguire questa operazione con un programma esterno a scelta (es. FreeSurfer). Il risultato ottenuto dalla segmentazione MRI può, poi, essere importato automaticamente.

In fase di importazione dell'anatomia, viene richiesto il numero di vertici della superficie della corteccia. Questa opzione definisce il numero di punti che saranno usati per rappresentare l'involucro della corteccia e sarà, inoltre, il numero di dipoli elettrici usati per modellare l'attività cerebrale. Il valore di default di 15000 è stato scelto in modo empirico e rappresenta un buon compromesso tra l'accuratezza spaziale del modello e la velocità di computazione.

Importata l'anatomia, è necessario definire le coordinate dei fiducial points, che Brainstorm utilizza per allineare files diversi: tre punti (Nasion (NAS), orecchio sinistro (LPA) e orecchio destro (RPA)) definiscono il sistema di coordinate del soggetto (SCS) e sono usati per registrare i sensori MEG/EEG sul MRI; altri tre punti

(commissura anteriore (AC), commissura posteriore (PC) e un punto interemisferico (IH)) allineano l'anatomia dei singoli soggetti ai modelli anatomici, così che tutti i soggetti siano allineati nello stesso modo.

Brainstorm fornisce anche la possibilità di ottenere le coordinate nel sistema di coordinate normalizzato MNI, che potrebbe essere utile per confrontare i risultati con la letteratura o altre modalità di imaging.

3) Co-registrazione Channel file/MEG-MRI

A questo punto l'anatomia del soggetto è pronta, ma prima di analizzare i segnali acquisiti, bisogna assicurarsi che i sensori siano ben allineati con le immagini anatomiche (MRI e le superfici).

Per prima cosa bisogna passare alla sezione "Functional data" (Figura 21) e caricare i file contenenti le acquisizioni, selezionando il formato del file in cui sono stati raccolti i dati. In questo caso: "MEG/EEG: CTF (*.ds...)".

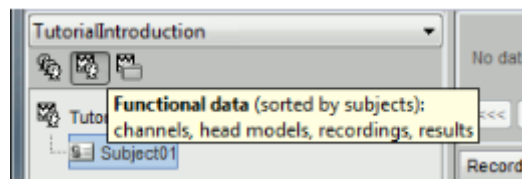


Figura 21: Banner in alto del database explorer per passare dall'Anatomy view alla Functional data view.

La registrazione tra MRI e MEG è eseguita in due passaggi. Si inizia da una prima approssimazione basata sui tre fiducial points. I tre punti (NAS, LPA, RPA) che definiscono il SCS, che sono stati contrassegnati nel MRI al passo precedente, devono essere marcati anche prima dell'acquisizione MEG con un dispositivo di localizzazione che digitalizza le posizioni di questi punti sul soggetto. Le posizioni sono salvate nei datasets MEG. Le registrazioni MEG, poi, sono associate alle immagini MR combinando i tre fiducial points delle due acquisizioni. Questo metodo fornisce dei risultati approssimati, in quanto il dispositivo di localizzazione dei punti non è sempre preciso e non è sempre facile identificare questi punti nelle scansioni

MRI; il tutto comporta un errore di registrazione pari a 1 cm o più, che si propagherà nelle analisi successive. Siccome la qualità dell'analisi delle sorgenti è altamente dipendente dalla qualità di accoppiamento tra i sensori e l'anatomia, si digitalizzano punti addizionali sulla testa del soggetto (circa 100 punti uniformemente distribuiti) e, selezionando l'opzione "Refine registration with head points", si esegue un algoritmo iterativo che cerca di trovare l'adattamento migliore tra le due sagome della testa, quella data dal MRI (in grigio in *Figura 22*) e quella fornita dal digitizer al momento delle acquisizioni MEG (in giallo in *Figura 22*).

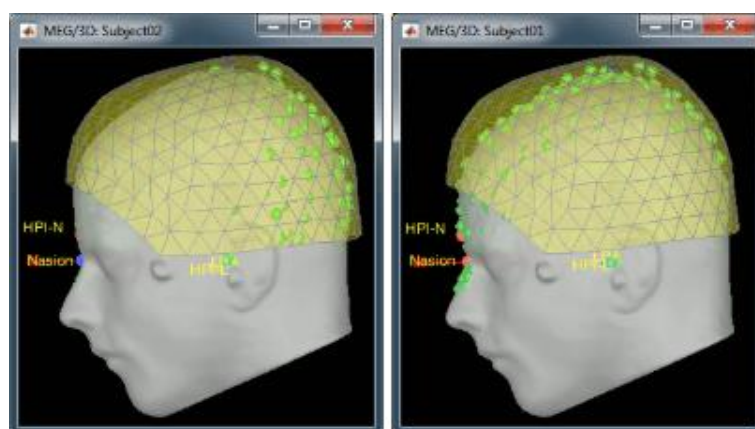


Figura 22: Registrazione prima (a sinistra) e dopo (a destra) la registrazione automatica della sagoma della testa.

Nel caso in cui la registrazione che si ottiene non sia corretta, è possibile riallineare manualmente i sensori sulla testa.

Conclusa la registrazione tra MRI e MEG/EEG, nel database explorer compaiono tre cartelle, che rappresentano i tre datasets MEG (*Figura 23*). Ogni cartella contiene il Channel file e il link ai file originali che sono stati importati ("Link to raw file"). Si può, quindi, passare alla revisione dei segnali.

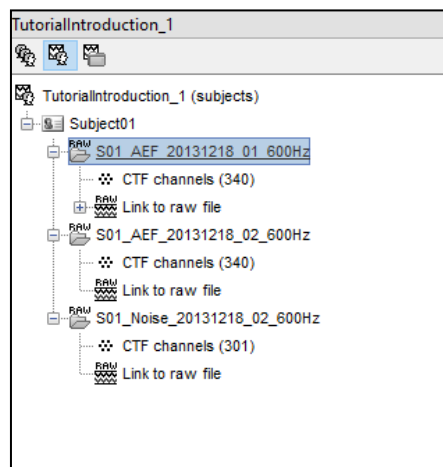
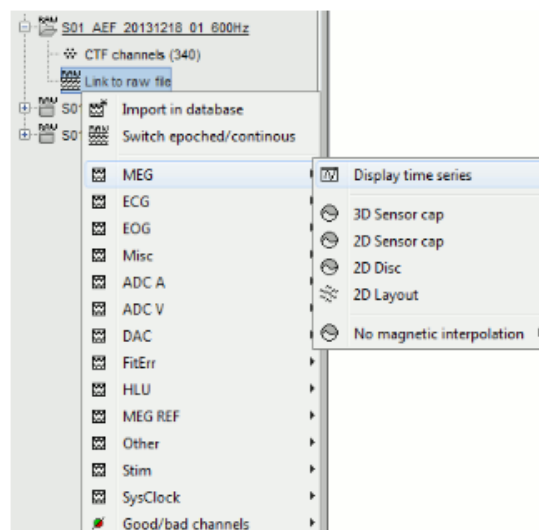


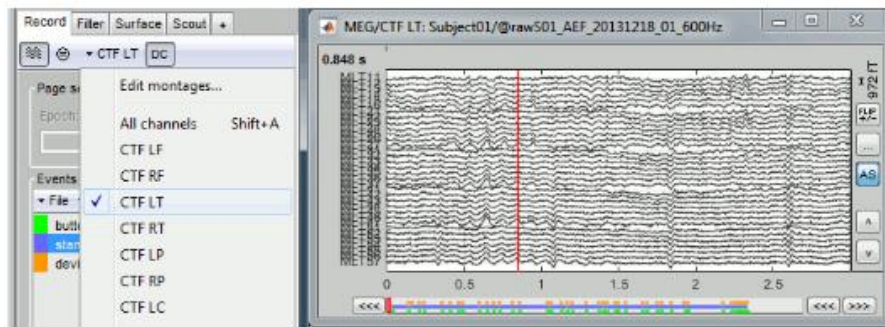
Figura 23: Database explorer di Brainstorm dopo che sono stati importati i dati funzionali.

4) Revisione dei segnali in continuo

Il link “Link to raw file” nell’interfaccia rappresenta il collegamento ai file originali che sono stati importati, da cui è possibile graficare e visualizzare i segnali (Figura 24). Le registrazioni MEG/EEG vengono lette direttamente dalle cartelle originali, non vengono copiati nel database di Brainstorm (almeno finché non si procede a una importazione). La maggior parte dei processi di pre-elaborazione e di pulizia degli artefatti, viene eseguita usando direttamente i segnali riferiti come “Link to raw file”.



(A)



(B)

Figura 24: Sezione Functional data del database di Brainstorm: agendo sul tasto destro del mouse sul nodo “Link to raw file”, si presenta un menù caratterizzato da una lista di canali (A); selezionando MEG e poi “Display time series” si apre la finestra che permette di visualizzare l’andamento del segnale nel tempo (B a destra) e gli strumenti per esplorare le registrazioni e le informazioni collegate ad esse (ad esempio gli eventi) (B a sinistra).

In *Figura 24* nel grafico che rappresenta i segnali, vi sono dei punti colorati che rappresentano gli “event markers” salvati nel dataset del tutorial; alcuni rappresentano gli stimoli trigger (“deviant”, in arancione in *Figura 24*), altri le risposte del soggetto registrate dal button box (“button” in verde). Potrebbe essere utile anche aggiungere altri eventi di interesse che non sono stati rilevati durante le registrazioni, come artefatti (movimenti oculari, battiti cardiaci, movimenti del soggetto) o specifici pattern dell’attività cerebrale (spikes epilettici).

Gli event markers potrebbero avere dei ritardi. Nella maggior parte dei casi, gli stimoli trigger salvati dal sistema di acquisizione indicano gli istanti in cui il sistema di stimolazione ha richiesto di far partire lo stimolo. In seguito a questa richiesta, la strumentazione usata per emettere lo stimolo al soggetto introduce sempre un po’ di ritardo. Di conseguenza, gli stimoli trigger vengono salvati prima dell’istante in cui il soggetto realmente riceve lo stimolo. Per un’accurata sincronizzazione della risposta cerebrale, è molto importante stimare precisamente questi ritardi e, se possibile, tenerne conto per l’analisi.

Nei file del tutorial sono documentati tre tipi di ritardo:

- Delay #1: produzione del suono. Quando il software di stimolazione genera la richiesta di riprodurre un suono, il corrispondente trigger è registrato nello “stim channel” dal software di acquisizione MEG. A questo punto la richiesta passa attraverso diversi livelli software fino alla scheda audio, che produce un segnale audio analogico mandato al soggetto e, allo stesso tempo, al sistema di acquisizione MEG, che ne salva una copia in un “audio channel”. Il ritardo può essere misurato confrontando i triggers nello stim channel e il reale suono nell’audio channel (*Figura 25*). Dato che questi ritardi non sono costanti, è necessario aggiustarli.
- Delay #2: trasmissione del suono. La scheda audio riproduce il segnale audio, che viene mandato ai due trasduttori localizzati vicino al soggetto; questo passaggio non genera ritardo rilevabile. I trasduttori convertono il segnale audio analogico in un suono, che viene emesso alle orecchie del soggetto. Ad una frequenza di campionamento del segnale a 2400 Hz, questo ritardo può essere considerato costante, quindi non è necessario compensarlo.
- Delay #3: registrazione dei segnali. Il sistema CTF MEG ha un ritardo costante di 4 campioni tra i canali analogici e i canali digitali, dovuto al fatto che il filtro anti-aliasing è applicato ai primi e non ai secondi.

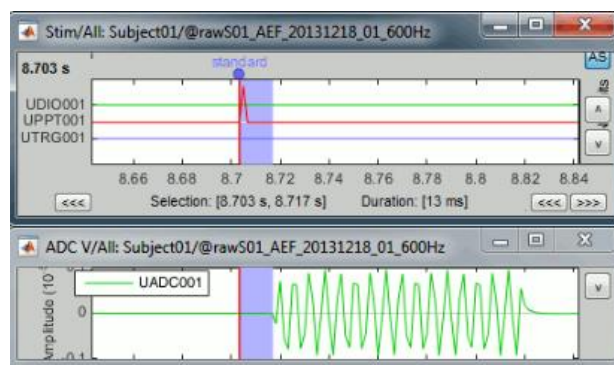


Figura 25: Rilevazione di un Delay#1 dal confronto tra lo stim channel e l’audio channel.

Mediante l'interfaccia di Brainstorm, è possibile valutare questi ritardi e sostituire gli eventi trigger esistenti con altri più accurati, basandosi sull'andamento del segnale audio. Si procede analizzando il segnale audio, si definiscono le opzioni di processo (ad esempio la soglia di ampiezza, la minima durata tra due eventi, la finestra temporale), e in base a queste vengono rilevati in modo automatico nuovi markers, che poi verranno sostituiti a quelli originali.



Figura 26: Rilevazione del nuovo marker per l'evento trigger (in azzurro), basato sull'analisi del segnale audio (grafico verde in basso).

5) Elaborazione del segnale

Brainstorm include, nella parte inferiore della finestra, due sezioni “Process1” e “Process2”, in cui può essere caricato un numero qualsiasi di file o cartella dal database explorer, per assemblare pipeline per l'elaborazione dei dati. I dati possono essere le registrazioni, le sorgenti o i file tempo-frequenza.

In fase di elaborazione del segnale è necessario, innanzitutto, rimuovere le principali sorgenti di rumore. Tipicamente, le contaminazioni derivano dall'ambiente (linea elettrica, dispositivo di stimolazione, vibrazioni della struttura) e dal soggetto (movimenti, blinks, battiti cardiaci, respirazione o tensione muscolare). Questi artefatti si possono correggere usando filtraggi in frequenza: di solito si preferisce eseguire filtri Notch e passa banda prima di ogni altro tipo di correzione. Essi potrebbero creare artefatti all'inizio e alla fine del segnale, pertanto è consigliabile

processare l'intera registrazione in continuo, piuttosto che importare le singole epoche, evitando così di aggiungere questi effetti di margine in tutti i trials.

Prima di eseguire qualsiasi tipo di pulizia ai segnali, si raccomanda sempre di fare una rapida valutazione del livello di rumore, stimando lo spettro di potenza dell'intero segnale grezzo. Questo processo valuta la potenza del segnale MEG/EEG a diverse frequenze, usando il metodo di Welch: divide il segnale in finestre sovrapposte di una data lunghezza, calcola la trasformata di Fourier (FFT) in ognuno di questi segmenti, e media la potenza dei coefficienti della FFT tra tutte le finestre. Dalla sezione "Process1" si apre la finestra "Pipeline editor", da cui è possibile selezionare l'operazione da svolgere e definirne le opzioni (Figura 27).

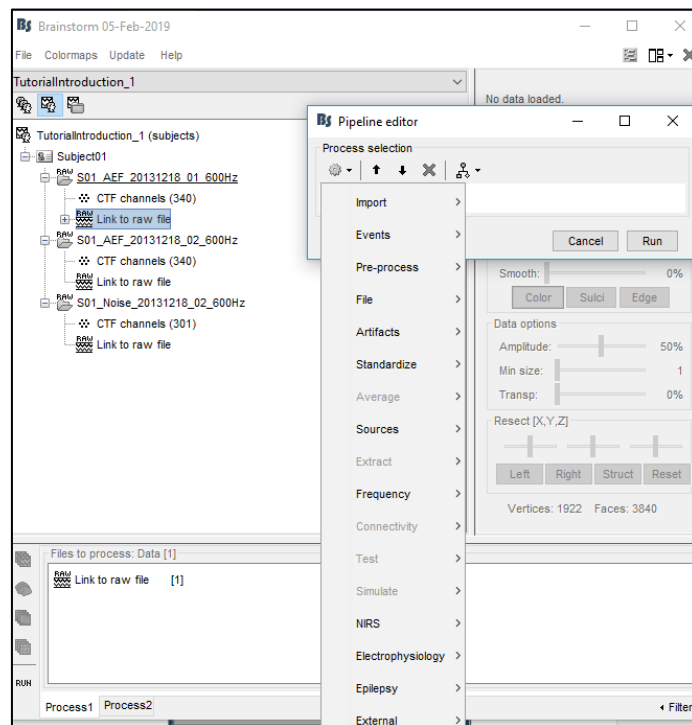


Figura 27: *Facendo click su RUN nella sezione "File to process" dall'interfaccia di Brainstorm si apre la finestra "Pipeline editor", caratterizzata da un menù a tendina che presenta le possibili operazioni che possono essere eseguite sui file presenti nella sezione Process1.*

In questo caso, selezionando l'opzione "Frequency" e poi "Power spectrum density (Welch)", si ha:

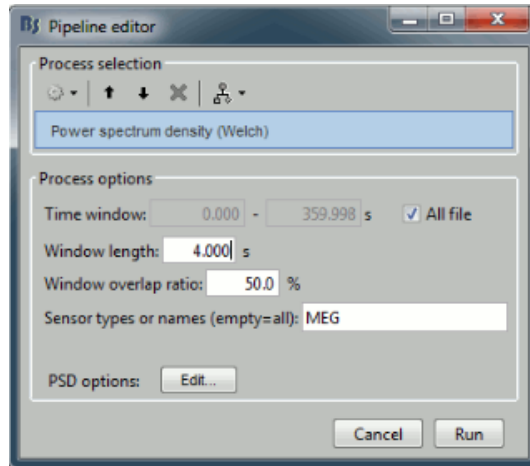


Figura 28: Interfaccia di Brainstorm da cui è possibile impostare le opzioni per la FFT da eseguire sul segnale.

Lo spettro di potenza è rappresentato in un grafico simile a quello delle serie temporali (Figura 29). Ogni linea nera corrisponde allo spettro di potenza di ogni canale. Selezionando un canale, il relativo spettro viene illuminato di rosso. L'andamento del grafico, come ci si potrebbe aspettare, presenta picchi relativi ai ritmi alpha del soggetto (intorno ai 10 Hz) e ai picchi dovuti alla linea elettrica (60 Hz, 120 Hz e 180 Hz, questo perché le registrazioni sono state fatte in Canada, dove la corrente alternata della linea elettrica è fornita a 60 Hz).

A questo punto viene applicato il filtro Notch per rimuovere la 60 Hz, e le relative armoniche, dal segnale. Il filtro Notch, infatti, è il filtro adatto per rimuovere contaminazioni che si verificano, in modo continuo, a frequenze specifiche.

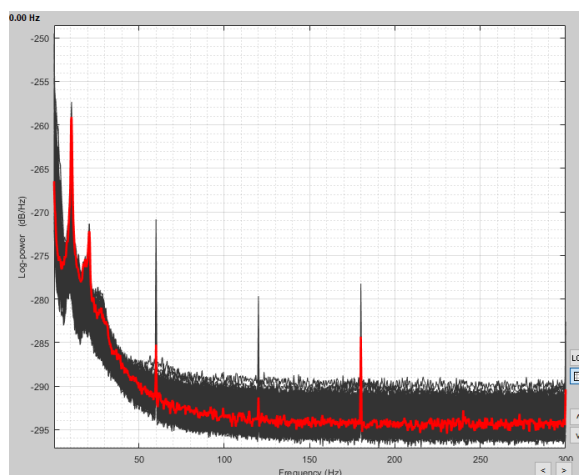


Figura 29: Spettro di potenza della prima acquisizione del segnale MEG.

Tuttavia, la maggior parte degli eventi che contaminano le registrazioni MEG/EEG non sono stazionari, si estendono su ampi intervalli di frequenza o si sovrappongono alle frequenze utili dei segnali cerebrali. Per questo motivo i filtraggi in frequenza non sono appropriati per correggere i movimenti oculari, i movimenti respiratori, i battiti cardiaci o altre attività muscolari.

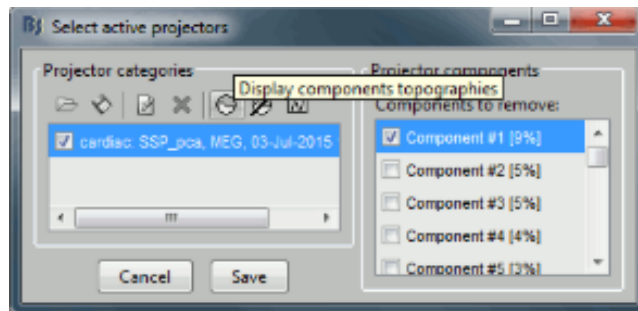
Un modo per ripulire il segnale dagli artefatti riproducibili è il Signal-Space Projection (SPS). Questo metodo è basato sulla decomposizione spaziale delle registrazioni MEG/EEG, in quanto i segnali di origine cerebrale hanno una distribuzione spaziale differente da quella generata dalle sorgenti di artefatto. Innanzitutto, è necessario identificare nel segnale gli istanti in cui si verifica ogni artefatto, per poi selezionarlo e, infine, rimuoverlo.

Il dataset fornito dal tutorial comprende anche dati provenienti dai canali addizionali ECG e EOG; questi dati contengono informazioni utili da usare per la rilevazione automatica dei battiti cardiaci e dei blinks. Infatti, tra le funzionalità presenti nella “Pipeline editor” di Brainstorm, vi è anche la possibilità di utilizzare i segnali registrati dai canali addizionali ECG ed EOG, per rilevare in modo automatico i corrispettivi artefatti sul segnale utile, marcarli come eventi “cardiac” o “blink” e, infine, rimuoverli. Per quest’ultimo passaggio, ovvero la rimozione degli

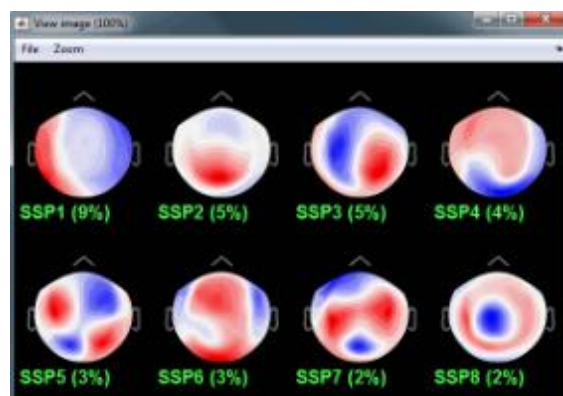
artefatti, Brainstorm fornisce due possibili approcci, entrambi ampiamente usati: il metodo SSP (Signal-Space Projection) e il metodo ICA (Independent Component Analysis). Tra i due, l'approccio SSP è molto più semplice e veloce, e molto più efficiente nel rimuovere gli artefatti da blinks e battiti cardiaci dai segnali MEG.

L'obiettivo generale del SSP è identificare le topografie dei sensori, tipiche di uno specifico artefatto, e creare dei proiettori spaziali che rimuovano i contributi di queste topografie dalle registrazioni. Si inizia identificando molte ripetizioni dell'artefatto che si vuole rimuovere, mediante la rilevazione degli event markers "cardiac" e "blink", descritti precedentemente; si estraggono piccole finestre temporali nell'intorno di ogni event markers e si concatenano tra loro nel tempo; si esegue un'analisi alle componenti principali (PCA) degli artefatti concatenati in modo da ottenere una decomposizione in varie componenti spaziali (pari al numero di sensori); se la decomposizione ha funzionato bene, nelle prime componenti principali si avranno alcune topografie caratteristiche del tipo di artefatto target e saranno quelle da rimuovere (*Figura 30*). Questa procedura può essere ripetuta separatamente per ogni tipo di artefatto. Tuttavia, dato che di solito la rimozione del secondo artefatto viene fatta sul segnale "pulito" con il primo set di proiettori SSP, il sistema potrebbe non essere più in grado di identificare chiaramente il secondo artefatto; pertanto, l'ordine in cui si processano gli artefatti è importante. È consigliato il seguente procedimento: rimuovere i markers "cardiac" che si verificano durante un blink, utilizzando l'opzione "Remove simultaneous" di Brainstorm; eseguire la cardiac SSP e, infine, eseguire la blink SSP.

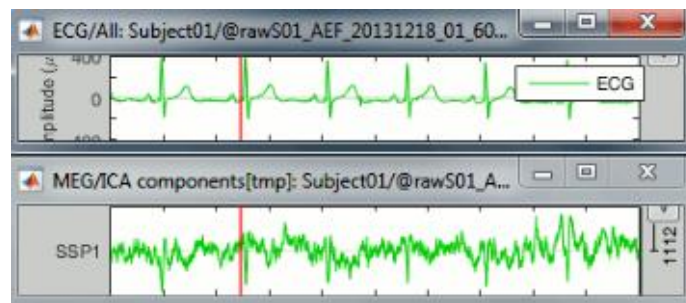
Per valutare le componenti da rimuovere, si può analizzare sia la topografia (*Figura 30.B*) che l'andamento nel tempo (*Figura 30.C*); inoltre, nella finestra che gestisce i proiettori attivi (*Figura 30.A*), ogni componente è seguita da un numero in percentuale che indica la quantità di segnale che è stato "catturato" dalla relativa componente durante la decomposizione. Più il valore percentuale è alto, più la componente è rappresentativa dell'artefatto.



A



B



C

Figura 30: Modalità di rimozione degli artefatti mediante SSP. (A) Finestra di selezione delle componenti da rimuovere, (B) topografia delle componenti, (C) serie temporale delle componenti.

Oltre agli artefatti a frequenze fisse (dovuti alla linea elettrica), rimosse mediante filtro Notch, e quelli standard e riproducibili (blink e battiti cardiaci), vi sono tanti

altri possibili fonti di rumore che possono rendere le registrazioni inutilizzabili per le successive analisi. È molto importante identificare all'inizio delle analisi del segnale i "bad segments", o segmenti rumorosi, per evitare di giungere ai risultati finali con enormi artefatti. In termini di controllo di qualità, non vi è un metodo automatico che dia risultati migliori dello screening manuale delle registrazioni; è sempre consigliato, infatti, dopo i precedenti passaggi di pre-elaborazione (filtraggio e pulizia SSP/ICA), scorrere tutti i files per identificare e marcare tutti i segmenti rumorosi, per poi rimuoverli (comando "Reject time segment" in Brainstorm). Su Brainstorm sono stati sviluppati degli strumenti per aiutare gli utenti nel processo di screening. Facendo sempre riferimento alla sezione "Process1" dell'interfaccia di Brainstorm, tra le funzionalità proposte dalla "Pipeline editor" si seleziona l'opzione "Detect other artifacts", che identifica epoche di tempo che contengono i tipici artefatti dovuti a movimenti oculari, movimenti del soggetto o contrazioni muscolari. Attualmente, questa rilevazione automatica lavora su due bande di frequenza, scelte per la prevedibilità di questi eventi in tali bande: 1-7 Hz per movimenti del soggetto o movimenti oculari; 40-240 Hz per rumore muscolare o artefatti dovuti a qualche sensore.

6) Analisi del segnale

In questa fase dell'analisi, i datasets si possono considerare puliti dai principali; si può, quindi, procedere all'analisi dei segnali cerebrali registrati in risposta allo stimolo uditivo. Ci sono due principali workflows da seguire per l'elaborazione di segnali MEG/EEG, a seconda che si stia trattando con il paradigma event-related o con uno studio steady-state/resting-state.

Nel tutorial è trattato il primo caso; infatti, stimoli ripetuti vengono sottoposti al soggetto e i corrispondenti triggers vengono marcati nelle registrazioni. L'analisi è basata su questi triggers: vengono importate piccole epoche intorno a ciascuno di essi per poi mediarle.

Finora sono sempre stati considerati i segnali in continuo, tuttavia molte operazioni possono essere applicate solamente su piccoli segmenti di registrazione, le epoche appunto, che devono essere importate nel database. La lunghezza delle epoche da importare, che deve essere scelta con attenzione, dipende dal protocollo sperimentale adottato e dalla pipeline di elaborazione. Nel protocollo sperimentale, la distanza minima tra due stimoli definisce la lunghezza massima per cui si può considerare l'analisi dopo lo stimolo. Si dovrebbe progettare l'esperimento in modo che includa sempre l'intera risposta evocata, più un segmento addizionale che può essere usato come baseline per le epoche successive. Per quanto riguarda la pipeline di elaborazione, dato che molti filtri causano effetti marginali, rendendo inaffidabili i segmenti all'inizio e alla fine del segnale, si consiglia di aggiungere alcune centinaia di millisecondi prima e dopo ciascuna epoca di interesse.

Le epoche importate, dato che sono matrici aventi le stesse dimensioni (stesso numero di canali e stesso numero di istanti di tempo), possono essere mediate insieme per condizione sperimentale. Il risultato, chiamato "event-related field" (ERF) nell'analisi MEG, o "event-related potential" (ERP) nell'EEG, mostra le componenti dei segnali cerebrali che sono strettamente legate temporalmente alla presentazione dello stimolo. Si calcolano le risposte medie sia per la condizione di stimolazione uditiva "standard", che per la condizione "deviant".

In questa fase dell'analisi del segnale, vi sono due aspetti da prendere in considerazione: uno è relativo al calcolo della media separatamente per ciascuna acquisizione (si ricorda che l'esperimento trattato nel tutorial è relativo a due acquisizioni MEG su uno stesso soggetto) e l'altro è relativo al numero di trials, ovvero al numero di volte che viene ripetuta la stimolazione. Per quanto riguarda il primo aspetto, dato che la testa del soggetto potrebbe muoversi tra due blocchi di registrazione, i sensori potrebbero non registrare le stesse parti del cervello prima e dopo e, di conseguenza, le acquisizioni non potrebbero essere confrontate. Per cui è consigliato non mediare i dati provenienti dai sensori tra acquisizioni con diverse posizioni della testa. Per quanto riguarda il secondo aspetto, quando si calcola la

media a livello di soggetto per condizione sperimentale con un numero di prove diverso, si hanno due opzioni. Si può sia usare lo stesso numero di prove per tutte le condizioni e per tutti i soggetti, per renderli più confrontabili, oppure si possono usare tutte le prove disponibili (un maggior numero di campioni comporta una miglior stima della media e della varianza).

La risposta mediata fornisce informazioni interessanti riguardo a ciò che avviene nel cervello poco dopo la presentazione dello stimolo. Si possono esplorare due dimensioni: la posizione delle varie regioni cerebrali coinvolte nell'elaborazione sensoriale e la precisa sincronizzazione della loro attivazione. Essendo due tipi di informazione di uguale interesse, tipicamente si analizzano, allo stesso tempo, due rappresentazioni delle acquisizioni, una che mostra tutti i segnali nel tempo (*Figura 31 a sinistra*) e una che mostra la loro distribuzione spaziale in un dato istante (*Figura 31 a destra*). Nella prima si osserva una tipica risposta evocata da un semplice stimolo uditivo, il picco intorno a 90 ms probabilmente corrisponde alla risposta principale della corteccia uditiva primaria. La linea verde rappresenta la global field power (GFP), ovvero la somma dei quadrati di tutti i sensori in ogni istante di tempo, una misura talvolta usata per identificare stati stazionari o transienti nei processi a risposta evocata. Dal momento che la *Figura 31* riporta la risposta evocata dallo stimolo "deviant", ovvero lo stimolo trigger, in seguito al quale si suppone che il soggetto prema il bottone, gli event marker "button" distribuiti alla fine del segnale (*Figura 31 a sinistra*), rappresentano queste risposte. La seconda immagine in *Figura 31* rappresenta, invece, la topografia (a 90 ms) tipica della risposta uditiva bilaterale [15]. Sia sui sensori di sinistra che su quelli di destra, si osservano pattern di campo, che potrebbero indicare attività dipolare nella regione temporale e nella regione centrale.

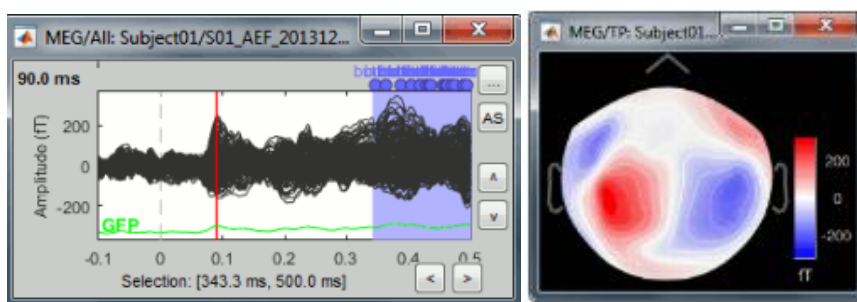


Figura 31: Andamento nel tempo (a sinistra) e topografia (a destra) della risposta cerebrale evocata da uno stimolo uditivo.

Potrebbe essere ancora più interessante, fare il confronto tra i grafici nelle due condizioni “standard” e “deviant” (Figura 32).

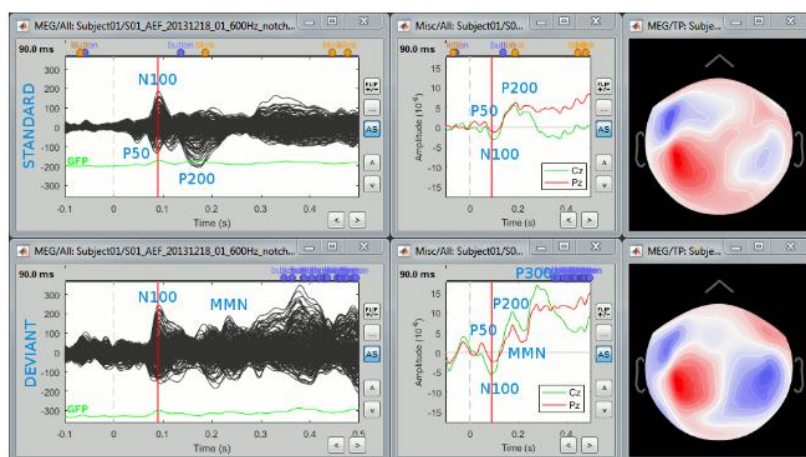


Figura 32: Risposte evocate da stimoli standard (in alto) e deviant (in basso).

La legenda in blu mostra i nomi che vengono spesso usati in letteratura per indicare le componenti di un segnale di risposta evocata nell' EEG [15]:

- P50: a 50 ms, risposta uditiva bilaterale presente in entrambe le condizioni.
- N100: a 95 ms, risposta uditiva bilaterale presente in entrambe le condizioni.
- MMN: a 230 ms, mismatch negativity presente solo nella condizione deviant; rappresenta la rilevazione di un'anormalità.

- P200: a 170 ms, presente in entrambe le condizioni, ma più forte in quella standard.
- P300: a 300 ms, presente solo nella condizione deviant e corrisponde alla fase di processo decisionale in preparazione alla pressione del pulsante.

7) Stima delle sorgenti

Per descrivere come le correnti cerebrali possano essere stimate a partire dalle registrazioni MEG/EEG che sono state elaborate finora, bisogna considerare due problemi di modellazione diversa: prima, la modellazione delle proprietà elettromagnetiche della testa e dell'array di sensori (ovvero "head model" o "forward model"), poi, la stima delle sorgenti cerebrali che generano questi dati ("source modeling" o "inverse model").

Il sistema di modellazione di come le correnti elettriche neurali producano campi magnetici (o differenze di potenziale elettrico) rilevabili sui sensori MEG (o EEG), è chiamato forward modeling. Come ampiamente descritto nel Capitolo 1, i modelli forward dipendono dall'anatomia del soggetto e dalle caratteristiche dei sensori. In Brainstorm sono disponibili vari metodi di modellazione forward, facendo tasto destro sul segnale e selezionando "Compute head model", è possibile selezionare il modello di testa opportuno (*Figura 33*): single sphere, che modella la geometria della testa con una semplice sfera con proprietà elettromagnetiche omogenee; overlapping spheres, raffina il modello precedente adattando una sfera locale sotto ogni sensore; e, OpenMEEG BEM. Per l'analisi MEG è raccomandato utilizzare la modellazione overlapping spheres, in quanto i campi magnetici sono meno sensibili all'eterogeneità dei tessuti nel cervello, cranio e scalpo, rispetto ai potenziali sullo scalpo misurati nell'analisi EEG. Inoltre, il fatto di adattare, localmente, una sfera per ogni sensore, permette di ottenere una discreta accuratezza rispetto ai metodi BEM, molto più complessi (*Figura 34*) [15]. Viceversa, nel caso del segnale EEG, considerato – come detto – la sensibilità a variazioni di conduttività

nei tessuti – è consigliabile utilizzare un modello realistico di testo e quindi adottare il modello BEM.

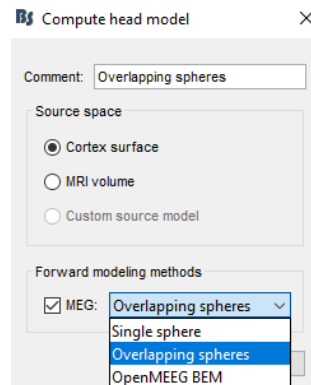


Figura 33: Finestra di selezione del modello di testa in Brainstorm.

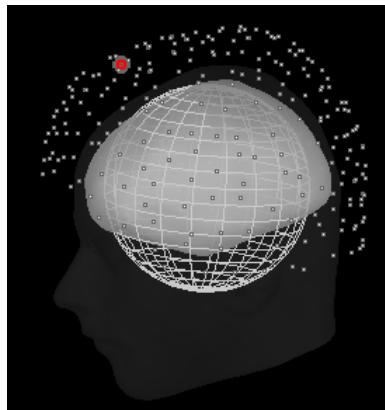


Figura 34: Modello di testa overlapping spheres.

Tra i dati forniti dal tutorial, come indicato nella presentazione dell’esperimento, vi sono anche i dati riferiti al rumore, ovvero un’acquisizione di 30s registrata in “empty room” (senza il soggetto), con lo scopo di rilevare il rumore di base dato dalla strumentazione e dall’ambiente. La modellazione e la misura di certe caratteristiche dei rumori che contaminano i dati, viene sfruttata da molti metodi di stima delle sorgenti. Per esempio, gli stimatori a minima norma possono integrare statistiche del secondo ordine del rumore dovuto ai sensori (“noise covariance

matrix”); o, ancora, i beamformers potrebbero richiedere statistiche simili per porzioni di dati di interesse (“data covariance matrix”) [15].

Il rumore strumentale può essere catturato dal sistema MEG usando due o tre minuti di misure in empty room. Si raccomanda di raccogliere i dati del rumore lo stesso giorno in cui vengono registrati i dati dal soggetto e pre-elaborarli seguendo lo stesso procedimento. In Brainstorm è possibile ottenere una stima del noise covariance direttamente dalle registrazioni (“Compute from recordings” selezionando le registrazioni del rumore in empty room), da valori statistici resi disponibili da un'altra fonte (“Import from file”), da una matrice di noise covariance dal workspace di Matlab (“Import from Matlab”), oppure, nel caso non siano disponibili registrazioni del rumore, si utilizza la matrice identità come noise covariance (“No noise modeling”).

A questo punto nel database si ha il modello forward, che esprime come le sorgenti corticali determinino i valori ai sensori, e la stima della noise covariance. Il passo successivo è risolvere il problema inverso, ovvero stimare le sorgenti quando si hanno i segnali registrati. In letteratura sono state proposte diverse soluzioni al problema inverso, basate su differenti assunzioni sul modo in cui funziona il cervello e sulla quantità di informazioni disponibili riguardo gli effetti che si stanno analizzando. Tra i molti metodi disponibili, Brainstorm presenta tre approcci generali al problema inverso, che rappresentano i metodi più ampiamente usati nell'imaging delle sorgenti MEG/EEG: soluzioni a minima norma, beamformers e dipole modelling (si veda il Capitolo 1 per maggiori dettagli su questi diversi metodi). Questi approcci hanno il vantaggio di essere implementati in forma lineare: l'attività delle sorgenti è la ricombinazione lineare delle registrazioni MEG/EEG, così che sia possibile risolvere il problema inverso applicando un *kernel* lineare, ovvero una matrice che moltiplica i dati spaziali ad ogni istante di tempo. La successiva manipolazione dei dati e visualizzazione delle sorgenti è, quindi, molto più semplice, così come i confronti tra queste tecniche. Se i risultati tra tutti i tre metodi sono

concordanti, allora le assunzioni sottostanti la modellazione delle sorgenti, la modellazione della testa e i dati statistici, sono confermate.

Dalla finestra “Compute sources” di Brainstorm (*Figura 35*) è possibile selezionare il metodo inverso da adottare (“Method”), il metodo di regolarizzazione (“Measure”) e impostare il vincolo sull’orientazione dei dipoli (“Source model: Dipole orientations”).

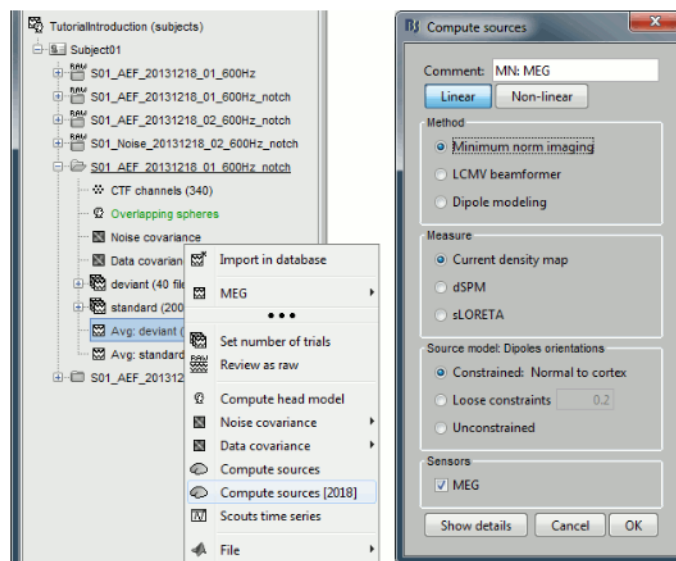


Figura 35: Agendo sul tasto destro del mouse e selezionando “Compute source [2018]”, si apre la finestra da cui è possibile selezionare le opzioni per calcolare le sorgenti corticali nel caso di analisi MEG.

La stima della norma minima eseguita da Brainstorm rappresenta una misura della corrente, trovata in ogni punto della griglia delle sorgenti. L’unità di misura è tenuta in A/m, quindi le misure non vengono normalizzate con l’area (portando a una densità superficiale, A/m²) o con il volume (portando a una densità volumetrica, A/m³). Ciò nonostante, è comune riferirsi a queste unità come mappe di “densità di corrente” (“Current density map”). Tuttavia, è più comune normalizzare le mappe di densità di corrente. Il valore della densità di corrente stimata è normalizzata da una funzione di covarianza del rumore o dei dati. Le mappe di densità di corrente

tendono a posizionare l'attività delle sorgenti nelle regioni più superficiali della corteccia, di conseguenza la risoluzione diminuisce marcatamente nei solchi più profondi. La normalizzazione tende a ridurre questi effetti.

In Brainstorm sono implementati tre dei più comuni metodi di normalizzazione:

- Current density map: produce una stima lineare della norma minima L2 “depth-weighted” della densità di corrente. Ha unità di misura pA/m.
- dSPM: implementa la dynamical Statistical Parametric Mapping. La stima a minima norma è eseguita come sopra. La covarianza del rumore e un kernel lineare inverso sono, poi, utilizzati per calcolare la stima della varianza del rumore in ogni locazione della mappa di densità di corrente. La deviazione standard di queste stime è, infine, utilizzata per normalizzare la corrente MNE. dSPM tende a correggere l'effetto del metodo MNE e potrebbe dare valori più alti alle aree più profonde. Come risultato dSPM fornisce una mappa statistica z-score adimensionale.
- sLORETA: come in dSPM, la corrente MNE (stima della minima norma della corrente) è normalizzata in ogni punto, ma in questo caso la normalizzazione è basata sulla covarianza dei dati, e non su quella del rumore. I risultati forniti da sLORETA sono adimensionali.

Calcolata la soluzione al problema inverso, è possibile visualizzare l'attivazione corticale sulla corteccia e analizzarne l'andamento tenendo le registrazioni come riferimento temporale (*Figura 36*): in corrispondenza del primo picco a 91 ms, le sorgenti con le ampiezze più alte sono localizzate intorno alla corteccia uditiva primaria, bilateralmente, che è la risposta che ci si aspetta da una stimolazione uditiva. Per meglio interpretare l'attivazione delle aree, è importante impostare bene le proprietà di visualizzazione, ovvero la soglia di ampiezza (“Amplitude”), per cui vengono rappresentate solamente le sorgenti che hanno un valore superiore a un dato

valore percentuale di soglia; la “Min size”, per cui tutte le regioni che hanno un numero di vertici più piccolo del valore min size, vengono nascoste; “Transparency”, cambia la trasparenza dell’attività delle sorgenti sulla corteccia.

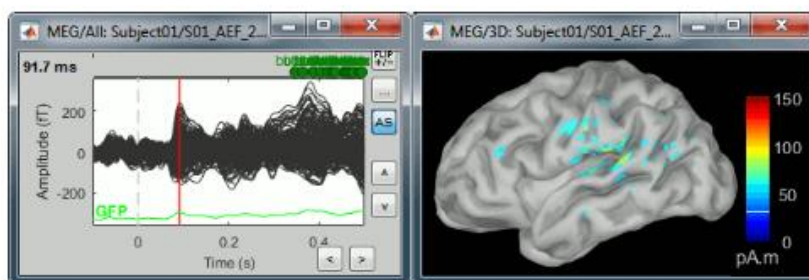


Figura 36: Riferimento temporale e attivazione corticale in seguito a stimolazione uditiva.

Per tutti gli esperimenti di imaging cerebrali, è altamente raccomandato avere un’ipotesi chiara di ciò che si vuole testare prima di iniziare le operazioni di analisi delle registrazioni. Per quanto riguarda l’esperimento “odd-ball” uditivo, si vorrebbe analizzare la dinamica temporale della rete uditiva, la rilevazione degli stimoli trigger (“deviant”) e la conseguente risposta motoria. Quindi, in accordo con la letteratura, ci si aspetterebbe di osservare almeno i seguenti effetti: risposta bilaterale nella corteccia uditiva primaria, in entrambe le condizioni; attivazione bilaterale della circonvoluzione frontale inferiore e della corteccia uditiva, che corrisponderebbe alla rilevazione di un’anormalità, presente solamente nella condizione deviant; processo decisionale e preparazione al movimento, presente solo nella condizione deviant [15].

Per rappresentare l’attività in specifiche regioni cerebrali e confrontare le risposte tra diverse condizioni sperimentali, Brainstorm da’ la possibilità di creare uno o più *scout*, ovvero regioni di interesse nello spazio delle sorgenti. Quindi si parte innanzitutto dal creare degli scouts in corrispondenza delle cortecce uditive, per poi definire altre regioni così da analizzare meglio le dinamiche delle risposte cerebrali. In questo modo, tutti i segnali di sorgenti corticali (voxel) appartenenti a una data area, sono raggruppati in un unico segnale che verrà utilizzato per

rappresentare l'attività della regione di interesse. Brainstorm fornisce una lista di funzioni che possono essere utilizzate per combinare tutti i segnali di sorgente in uno unico: "Mean" esegue la media tra i segnali; "PCA" prende la prima modalità di decomposizione PCA di tutti i segnali; "Fast PCA" come la PCA, ma calcola la prima decomposizione PCA basandosi solo su un sottoinsieme di segnali a maggior potenza: dà risultati simili ed è molto più veloce (per scouts che raggruppano un gran numero di dipoli (>50)); "Mean(norm)" esegue la media del valore assoluto di tutti i segnali; "Max" prende il valore massimo tra tutti i vertici, per ogni istante di tempo; "Power" esegue la media del quadrato di tutti i segnali; "All" non esegue nessuna operazione, restituisce tutti i segnali.

Un *atlas* rappresenta una lista di scouts. Per una superficie corticale, si possono avere tanti atlas quanti ne siano necessari. Un atlas può essere una suddivisione anatomica, una suddivisione random generata da Brainstorm, o una lista di regioni di interesse definita dall'utente.

8) Decomposizione tempo-frequenza

Alcune delle proprietà dei segnali MEG/EEG sono difficili da rilevare nel dominio del tempo. Molte informazioni di interesse sono contenute in oscillazioni a certe frequenze, ma l'ampiezza di queste oscillazioni qualche volta è molto inferiore rispetto all'ampiezza delle componenti più lente del segnale, rendendole difficili da osservare. Inoltre, mediare nel dominio del tempo, potrebbe portare alla cancellazione di queste oscillazioni nel caso non fossero esattamente in fase tra le varie prove. Mediare le prove nel dominio tempo-frequenza, invece, permette di estrarre la potenza dell'oscillazione indipendentemente dallo sfasamento [15].

Brainstorm offre due possibili approcci per il calcolo della decomposizione tempo-frequenza: il primo è basato sulla convoluzione del segnale con una serie di wavelets Morlet complesse, che sono caratterizzate da una forma sinusoidale, pesata da kernel Gaussiani; il secondo filtra il segnale in bande di frequenza differenti ed estrae l'involuppo dei segnali filtrati usando la trasformata di Hilbert.

Attraverso l'interfaccia di Brainstorm (Figura 37) si impostano tutte le opzioni del processo:

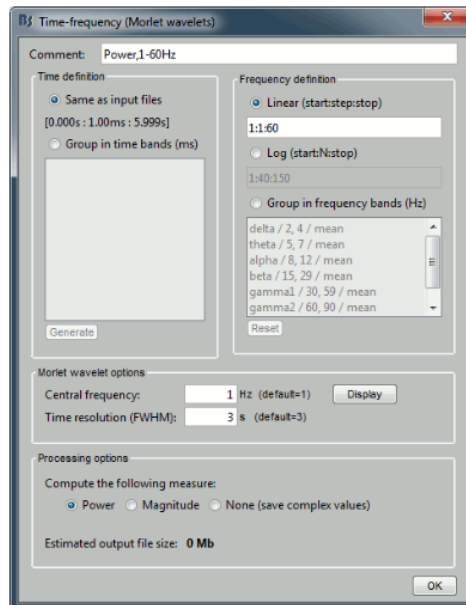


Figura 37: Finestra di Brainstorm per impostare le opzioni di decomposizione tempo-frequenza.

- Time definition: “Same as input file”, il file in uscita avrà lo stesso intervallo temporale del segnale in input; “Group in time bands”, prima calcola la decomposizione tempo-frequenza per tutti i file in input, poi media la potenza per bande temporali.
- Frequency definition: definisce le frequenze per le quali sarà stimata la potenza ad ogni istante di tempo.
- Morlet wavelet options: “Central frequency” definisce la frequenza centrale della wavelet madre e, di conseguenza, tutte le altre wavelet saranno versioni traslate e scalate di questa; “Time resolution” definisce la risoluzione temporale della wavelet alla frequenza centrale.
- Compute the following measure: la convoluzione del segnale con le wavelets restituisce i coefficienti complessi per ogni istante di tempo. Tipicamente si

rappresenta la potenza dei coefficienti ($\text{abs}(\text{TF})^2$), tuttavia si può scegliere se, in seguito al calcolo dei coefficienti di decomposizione TF, salvare la potenza dei coefficienti, l'ampiezza ($\text{abs}(\text{TF})$) o semplicemente i coefficienti TF così come sono stati calcolati.

Un ulteriore aspetto da considerare è la normalizzazione delle mappe tempo-frequenza. Dato che il cervello è sempre attivo, alcune oscillazioni sono sempre presenti nel cervello e il segnale MEG/EEG, di conseguenza, non è mai piatto. Pertanto, nell'analisi dei segnali, si è più interessati ai cambiamenti transitori della potenza in certi istanti di tempo, piuttosto che al valore di potenza corrente. Un buon modo per osservare questi cambiamenti è calcolare la deviazione della potenza rispetto alla baseline. Inoltre, un altro motivo per cui si dovrebbero standardizzare i valori dei coefficienti TF, è che la potenza dei coefficienti alle alte frequenze è sempre più bassa rispetto a quella a frequenze inferiori, per cui il segnale trasporta molta meno potenza nelle oscillazioni più veloci che nelle lente risposte cerebrali (*1/f decrease* in potenza); nelle mappe TF, con scala di colore lineare, si avranno sempre valori vicini allo zero negli intervalli di frequenza alta. In Brainstorm si ha l'opzione di normalizzazione rispetto alla baseline ("Baseline normalization"), ovvero si normalizza la potenza rispetto al suo valor medio, durante un periodo temporale di riferimento; oppure, lo "Spectral flattening" moltiplica la potenza ad ogni valore di frequenza per il valore della frequenza (esempio: moltiplica per 20 la potenza a 20 Hz), in modo da correggere l'effetto $1/f$ (non è consigliato per valori di frequenza intorno a 60 o 80 Hz per cui si potrebbero sovracompensare le frequenze più alte); o, ancora, si potrebbe non utilizzare nessuna forma di normalizzazione.

9) Valutazioni statistiche

A questo punto dell'esperimento uditivo "odd-ball", si vuole analizzare se ci sono significative differenze tra la risposta cerebrale agli stimoli uditivi deviant e quelli standard, istante per istante. Finora sono state calcolate misure dell'attività cerebrale nel tempo o nel dominio tempo-frequenza, tuttavia queste osservazioni sono sempre

dipendenti da un certo valore arbitrario di soglia dell'ampiezza e dalla configurazione della mappa di colori. Eseguendo delle analisi statistiche, si può andare oltre queste osservazioni empiriche e valutare quali siano gli effetti significativi in una maniera più formale [15].

Nella maggior parte dei casi, le analisi sono focalizzate nel confrontare i segnali cerebrali registrati in due popolazioni o in due condizioni sperimentali diverse, A e B. A e B sono due variabili random, per cui si ha un numero limitato di misure ripetute: prove multiple nel caso di studio in un singolo soggetto, o media tra diversi soggetti nel caso di analisi di gruppo. Si considera che ogni campione di tempo e ogni segnale (dato dal sensore o dalla sorgente) sia indipendente, così una variabile random rappresenta la possibile misura di un sensore/sorgente ad uno specifico istante di tempo. Una variabile random può essere descritta dalla sua distribuzione di probabilità, una funzione che indica quali siano le probabilità di ottenere una specifica misura se si esegue l'esperimento. Ripetendo lo stesso esperimento più volte, si può approssimare questa funzione con un istogramma discreto delle misure osservate.

Nella pratica, nell'esperimento esaminato nel tutorial, si estrae un solo valore per ciascun trial (il valore del canale che mostra la massima differenza tra deviant e standard a 160 ms =MMN nella media) separando i valori in base alle due condizioni da confrontare, "deviant" e "standard", e si concatenano lungo la dimensione 2. A questo punto si ha una matrice [1 x Ntrial] per ogni condizione e se ne rappresenta la distribuzione attraverso istogrammi (*Figura 38*). Attraverso la barra degli strumenti nella finestra di Brainstorm, è possibile modificare il modo in cui sono rappresentate queste distribuzioni: numero di bins nell'istogramma, numero totale di occorrenze (si vedrebbero barre più alte per la condizione standard perché ha più ripetizioni), o densità di probabilità, normalizzata dal numero di valori totale. In più, si può graficare la distribuzione normale che corrisponde alla media μ e alla deviazione standard σ calcolate dall'insieme dei valori.

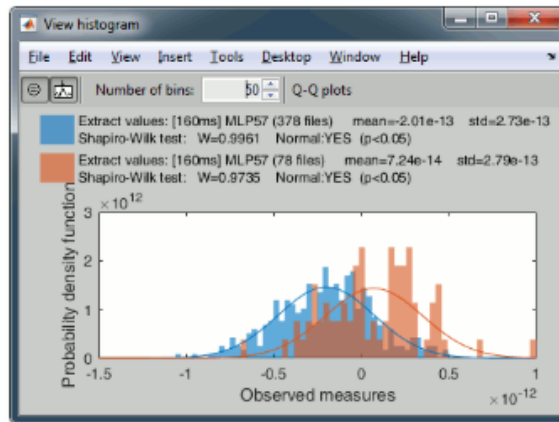


Figura 38: Distribuzione di probabilità e istogramma del segnale, al sensore MLP57, nelle due condizioni sperimentali, standard in blu e deviant in rosso.

Il procedimento si può ripetere anche ai segnali derivanti dalle sorgenti o ai valori di potenza derivanti dalla decomposizione tempo-frequenza.

In definitiva, il flusso di lavoro per l'analisi di segnali MEG/EEG segue, in linea generale, la seguente schematizzazione:

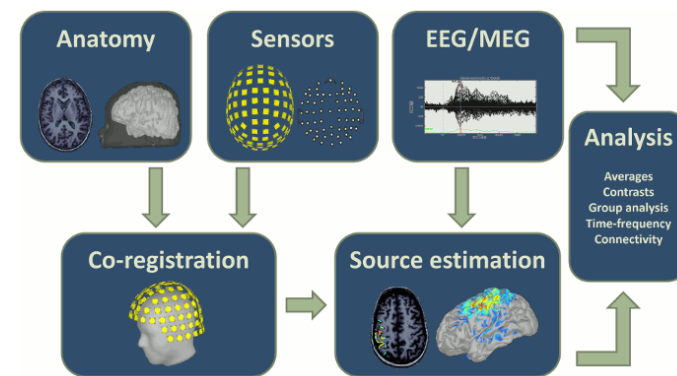


Figura 39: Workflow per l'analisi di segnali MEG/EEG in Brainstorm.

I mattoncini su cui si basa l'intera analisi MEG/EEG sono i dati anatomici, le posizioni dei sensori e i segnali acquisiti. Per ottenere una stima accurata delle sorgenti corticali, è importante che tutte e tre le informazioni di input siano

accoppiate tra loro in modo corretto: il sensore da cui viene registrato un certo segnale deve essere posizionato in corrispondenza della rispettiva regione corticale target. Per questo motivo, la fase di co-registrazione dei dati di provenienza diversa è un passaggio molto delicato e fondamentale in corso di analisi.

Avvenuta l'integrazione dei dati, si può passare alla fase di elaborazione e analisi dei segnali, che può seguire flussi diversi a seconda delle applicazioni e delle informazioni che si vogliono ricavare. In questo paragrafo sono stati descritti i passi da seguire nel caso di analisi di segnali MEG in risposte evocate in seguito ad uno stimolo uditivo. Nel capitolo successivo, si tratterà dello studio e ricostruzione delle sorgenti corticali, derivanti da segnali EEG, durante compiti attentivi. La pipeline che è stata adottata segue la linea generale appena descritta (*Figura 39*), con qualche leggera modifica dovuta alle specifiche caratterizzanti l'analisi EEG.

Capitolo 3

Acquisizione dei segnali EEG e pipeline di elaborazione in Brainstorm

3.1 Task di Working Memory e ritmi alfa

Per *working memory* (WM) si intende il sistema di funzioni cognitive che permette di mantenere provvisoriamente le informazioni in memoria, e manipolarle. Può essere considerato costituito da due processi separati: i processi coinvolti nella memorizzazione delle informazioni e quelli richiesti per mantenere l'attenzione e coordinare le informazioni che sono mantenute temporaneamente in mente [16]. È alla base delle attività cognitive di più alto livello ed è un componente essenziale nei processi di apprendimento, ragionamento e problem solving. Tra le funzioni della working memory, in questo esperimento, si è testata la funzione di *updating*, ovvero la capacità di sostituire, o meglio aggiornare, continuamente e simultaneamente i contenuti mantenuti in memoria con nuovi dati appena elaborati.

Il *task di calcolo a mente* sottoposto ai partecipanti all'esperimento prevede, infatti, di sottrarre ricorsivamente il numero 17 da un valore di partenza pari a 2500 (es. $2500-17=2483$, $2483-17=2466$ e così via); in questo modo, si valuta l'abilità di mantenere in memoria delle informazioni (ad es. i numeri 2483 e 17) e manipolarli per ottenere il nuovo dato (2466) da mantenere in memoria sostituendolo al precedente (2483).

Recenti studi sulla memoria di lavoro hanno evidenziato l'importanza dell'azione inibitoria del ritmo cerebrale alfa per quanto riguarda l'ottimizzazione delle performance nella risoluzione di un problema specifico. Infatti, per un corretto funzionamento della working memory è necessario che le regioni cerebrali ritenute non essenziali per lo svolgimento del compito, siano inibite, con lo scopo di favorire l'isolamento del soggetto che si concentra sulla soluzione del task.

3.1.1 L'attività inibitoria dei ritmi alfa

L'attività in banda alfa risulta particolarmente interessante in quanto è sono le uniche oscillazioni che rispondono a stimoli o esecuzioni di task con un decremento o un incremento in ampiezza (o potenza), definiti rispettivamente desincronizzazione e sincronizzazione event-related (ERD e ERS). In questo senso, il segnale ERS potrebbe essere considerato come la risposta attiva, in banda alfa, delle regioni corticali rilevanti per il task. Questo, tuttavia, è in contraddizione con la visione classica, che sostiene che la diminuzione di attività alfa (ERD) sia la tipica risposta alfa agli eventi e che, inoltre, rifletta il livello di attivazione (o eccitazione) corticale [17].

In generale, le regioni cerebrali che sono attive durante uno specifico task esibiscono ERD, mentre le regioni irrilevanti per l'esecuzione di uno specifico task e potenzialmente interferenti esibiscono ERS. Di conseguenza, se ad un aumento in ampiezza (ERS) corrisponde un'inibizione, una diminuzione in ampiezza corrisponde al rilascio dall'inibizione.

Ipotesi di inhibition timing

Per *timing* si intende il fenomeno per cui le oscillazioni ritmiche forniscono delle finestre temporali limitate per l'attivazione di molti neuroni.

Considerando una situazione ideale, l'eccitazione e l'inibizione potrebbero influenzarsi a vicenda, in modo che l'inibizione blocchi le cellule debolmente eccitate, ma allo stesso tempo induca una scarica di potenziali d'azione nelle cellule con un livello di eccitazione più alto (*Case 2b* in *Figura 40*). Nell'inibizione, il tempo e la direzione di una variazione sono descritti dalla fase e dipendono dal timing del processo di attivazione neuronale. Nel caso delle oscillazioni alfa, essendo di natura inibitoria, si considera la variazione tra la minima e la massima inibizione. A seconda dell'ampiezza di oscillazione, e del livello di eccitazione delle singole

cellule, è possibile distinguere diverse situazioni. Se l'ampiezza dell'oscillazione è lieve, la frequenza di scarica delle cellule maggiormente eccitate non subisce variazioni. Se l'ampiezza cresce, anche le cellule con un maggior stato di eccitazione tenderanno ad attivarsi ritmicamente sincronizzandosi con la fase dell'oscillazione. Questa interpretazione giustifica il fatto di poter considerare l'inibizione come un processo attivo nell'elaborazione delle informazioni [17].

Questa situazione ideale non può essere spiegata semplicemente da un aumento in ampiezza. Considerando il *Case1* e il *Case2a* in *Figura 40*, un aumento in ampiezza del ritmo alfa induce il *timing*, come si può notare dal pattern di potenziali d'azione (indicati dalla serie di segmenti rossi in *Figura 40*) nella *Cell 1* e *Cell 2*. Un ulteriore aumento dell'ampiezza di oscillazione non porterebbe ad un aumento d'inibizione, ovvero al silenziamento delle cellule meno eccitate, ma ad un *timing* ancora più preciso. Questa limitazione potrebbe essere risolta si assumendo una traslazione della baseline, come illustrato nel *Case2b* e *Case3* di *Figura 40*: questo significa che la fase con inibizione minima mostra anche un incremento nell'entità dell'inibizione. Questo potrebbe essere un meccanismo che permette il silenziamento delle cellule che presentano un più basso livello di eccitazione (*Cell1* in *Case2b*).

Nel caso di regioni irrilevanti per il task (*Case3* *Figura 40*), il livello di eccitazione delle cellule sarà generalmente basso ed un aumento in ampiezza porterà ad un *timing* più preciso, ma senza alcuna variazione sistematica nel pattern di potenziali d'azione. Il motivo è che il livello di eccitazione delle cellule non viene modulato (non essendo coinvolte nell'elaborazione del task) e la scarica di potenziali d'azione non differirà sistematicamente [17]. Poiché l'informazione è codificata da variazioni nel pattern del potenziale d'azione, un pattern di potenziali d'azione completamente monotono non permette trasferimento di informazione (*Figura 40*, in basso).

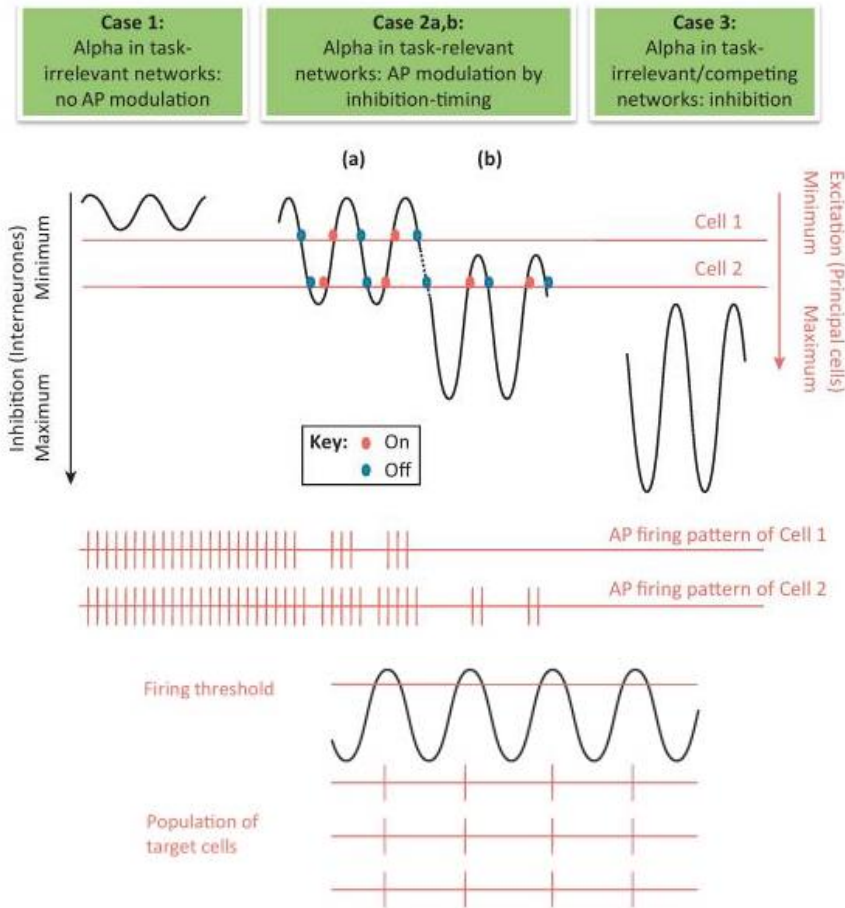


Figura 40: (in alto) Illustrazione della principale assunzione dell'ipotesi di inhibition timing. Si distinguono tre casi. Caso 1: nelle regioni irrilevanti per il task, l'ampiezza delle oscillazioni alfa è ridotta e non influisce sulla scarica di potenziali d'azione (rappresentati dalle linee verticali in basso). Caso 2: nelle regioni rilevanti per il task, l'ampiezza delle oscillazioni aumenta e inizia a inibire la generazione di potenziali d'azione nelle cellule target durante la fase inibitoria dell'oscillazione. A seconda del livello di eccitazione delle cellule target, l'effetto delle oscillazioni inibitorie è differente (vedi Cell 1 e Cell 2). Un aumento nelle ampiezze, porta ad un aumento della baseline di inibizione, ciò significa che l'inibizione aumenta non solo durante le fasi di massima inibizione, ma anche durante quelle di minima inibizione (i picchi). Case 3: se l'inibizione aumenta ulteriormente, tutte le cellule target vengono bloccate. Questo è il caso di strutture neuronali che competono potenzialmente per l'elaborazione di uno stesso task. (in basso) Interpretazione alternativa

del Case3. L'aumento delle ampiezze alfa durante uno stato di inibizione, potrebbero derivare dalla somma spaziale (in corrispondenza degli elettrodi sullo scalpo) di sorgenti alfa in fase, che porterebbero ad una scarica di pattern monotona in una popolazione di cellule bersaglio. Se non vi è variazione nel pattern del potenziale d'azione, non può essere trasmessa nessuna informazione. Questo potrebbe emergere nelle regioni task-irrelevant, in cui il livello di eccitazione è basso e non varia sistematicamente [17].

3.2 Materiali e metodi

Lo scopo dell'esperimento è quello di utilizzare i segnali EEG acquisiti durante compiti attentivi, in particolare durante task di calcolo a mente, che sfrutta la capacità di *updating* della working memory, come banco di prova per definire una pipeline di analisi EEG in Brainstorm e per analizzare le sorgenti corticali coinvolte in questo tipo di task.. In aggiunta, in considerazione delle osservazioni fatte nel precedente paragrafo, si è valutato l'effetto delle oscillazioni alfa (e non solo) durante le fasi del task.

Lo studio è stato svolto su 10 soggetti volontari, 4 maschi e 6 femmine, di età compresa tra i 21 e 24 anni, tra cui lavoratori e studenti .

Tutte le acquisizioni sono state eseguite nel Laboratorio di Ingegneria Biomedica (LIB) del dipartimento DEI di Cesena (*Figura 41*).

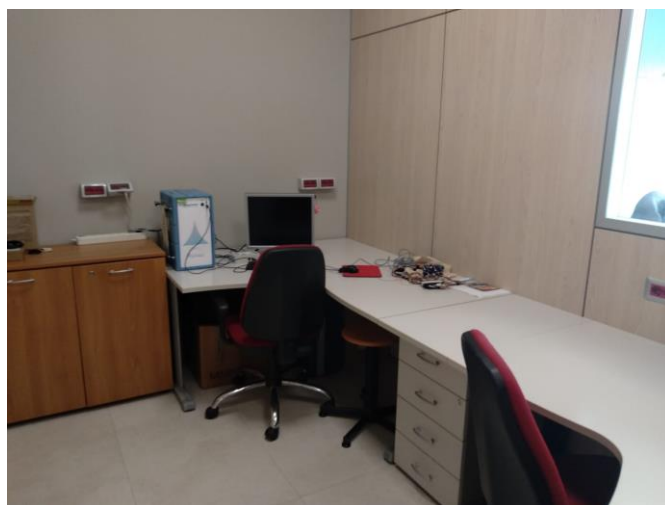


Figura 41: Aula del LIB in cui sono stati svolti gli esperimenti.

3.2.1 Protocollo sperimentale

Ogni soggetto è stato sottoposto a due prove di calcolo a mente in due condizioni sperimentali differenti: task di working memory senza immagini e task di working memory con immagini. L'ordine in cui è stato sottoposto il task con immagini o senza immagini è stato determinato in modo random. Entrambi gli esperimenti o prove sono caratterizzati da una fase iniziale di riposo (*rest*) della durata di 5 minuti, seguita da altri 5 minuti di calcolo a mente (*task*). Tra una fase e l'altra vi sono 15 secondi, durante i quali non è stata elaborata l'attività cerebrale, in cui viene descritta la consegna del compito. Infatti, è importante che i partecipanti non siano a conoscenza del task prima dell'inizio della prova, in modo che rimangano rilassati nella fase di *rest* e, allo stesso tempo, siano maggiormente indotti a concentrarsi nella fase di calcolo.

La fase di *task di calcolo a mente* consiste nel sottrarre in modo ricorsivo 17, a partire da 2500 (es. $2500-17=2483$, $2483-17=2466$ e così via), rimanendo in silenzio per tutto il corso della prova, e nel riferire il risultato soltanto a task concluso.

Durante la prova ai partecipanti è richiesto di rimanere seduti, in silenzio e di mantenere lo sguardo fisso sulla schermata di un PC; in questo modo si cerca di

ridurre gli artefatti dovuti a movimenti del soggetto e movimenti oculari. Per evitare distrazioni durante l'esecuzione del task, la prova è eseguita completamente in silenzio e le finestre e la porta dell'aula in cui è stato svolto l'esperimento sono stati coperti con panni scuri.

Ciò che differenzia le due condizioni sperimentali, con e senza immagini, è la schermata che viene presentata ai partecipanti durante le due fasi della prova.

Task WM senza immagini

Nella prima fase di *rest* è presentata una schermata grigia con la scritta centrale "relax" in nero (*Figura 42*). Il colore grigio è stato scelto appositamente per ridurre il fastidio e l'affaticamento degli occhi dovuti all'osservazione prolungata dello schermo.



Figura 42: Schermata presentata al soggetto in fase di rest in condizione di task senza immagini.

Dopo 5 minuti, durata della fase di riposo, appare la schermata in cui viene descritta la consegna del task (*Figura 43*).

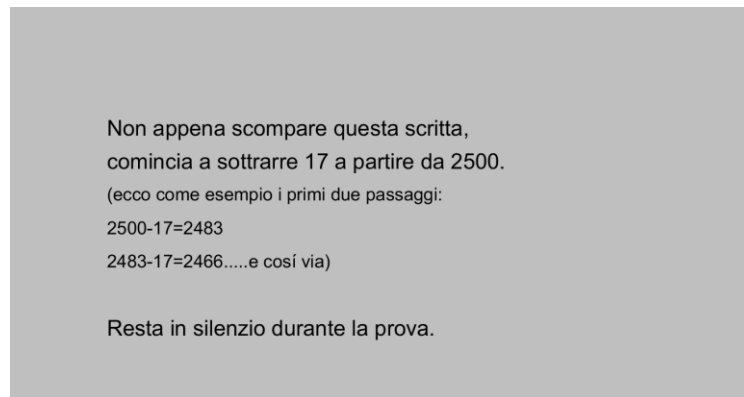


Figura 43: Schermata presentata tra la fase di rest e la fase di task, della durata di 15 secondi, che descrive la consegna del task.

Dopo 15 secondi questa schermata scompare e il soggetto comincia a contare fino alla fine della prova. Durante la fase di task (5 minuti), il soggetto fissa la schermata grigia del computer (*Figura 44*).



Figura 44: Schermata presentata al soggetto in fase di task in condizione di task senza immagini.

Task WM con immagini

In questo caso, a differenza del task senza immagini, durante sia la fase di *rest* che la fase di *task*, la schermata è caratterizzata dallo scorrimento di una serie di immagini

definite neutre, che sono state prese dal database IAPS (International Affective Picture System).

IAPS è un database di immagini progettato per fornire un insieme di immagini standardizzate per lo studio delle emozioni e dell'attenzione in ambito di ricerca. Comprende 956 fotografie a colori che spaziano da oggetti e scene di tutti i giorni, come scaffali o paesaggi, a scene estremamente crude, come corpi mutilati, o eccitanti, come nudi erotici. In base a un paradigma di valutazione (vedi [18] per maggiori dettagli) sono state selezionate immagini di diversa valenza: neutra (es. uno scaffale), positiva (es. fiori), negativa (es. spazzatura), socialmente negativa (es. linciaggio, rapina), socialmente positiva (es. madre con bambino).

In questo esperimento sono state selezionate 30 immagini definite neutre dal database IAPS. Questo perché l'intento della prova con immagini è quello di valutare la capacità di concentrazione e di working memory in presenza di stimoli distrattivi (le immagini), ma senza che questi inducano eventuali interferenze emotive sui segnali, positive o negative che siano. Siccome sono immagini utilizzate in ambiti di ricerca, è esplicitamente richiesto che non vengano distribuite al di fuori di questi contesti. Tuttavia, nel seguito sono presentate immagini dello stesso genere per dare un'idea di quelle utilizzate durante l'esperimento.

Come nel task senza immagini, anche in questo caso la fase di *rest* ha durata di 5 minuti ma diversamente dal task senza immagini è caratterizzata dallo scorrimento di 30 immagini, ognuna della durata di 10 secondi.



Figura 45: Schermata presentata al soggetto durante la fase di rest in condizione di task con immagini. L'immagine è simile a quelle presentate durante l'esperimento, le quali sono state selezionate dal database IAPS.

Dopo 5 minuti, è ripresentata la stessa schermata di descrizione della consegna (*Figura 46*), della durata di 15 secondi.

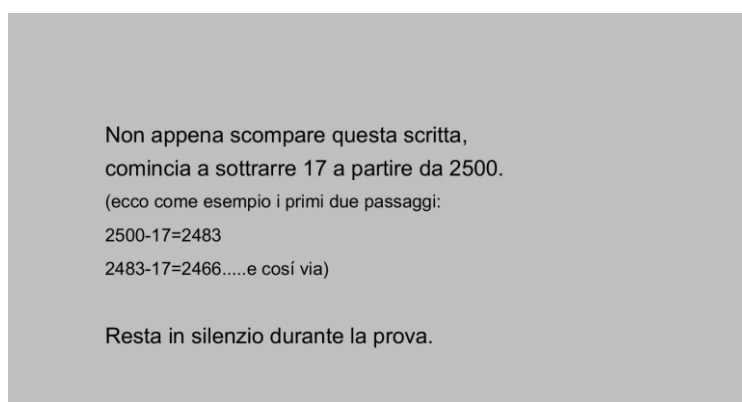


Figura 46: Schermata presentata tra la fase di rest e la fase di task, della durata di 15 secondi, che descrive la consegna del task.

A questa schermata segue la fase di WM, caratterizzata anch'essa dallo scorrimento delle immagini neutre (*Figura 47*). È importante osservare che le stesse 30 immagini usate durante la fase di rest sono usate durante la fase di task. L'ordine con cui vengono presentate le immagini in entrambe le fasi è casuale.



Figura 47: Schermata presentata al soggetto durante la fase di task in condizione di task con immagini. L'immagine è simile a quelle presentate durante l'esperienza, le quali sono state selezionate dal database IAPS.

Al termine di ogni task, viene richiesto al soggetto di comunicare il numero a cui è giunto in seguito al calcolo ricorsivo. A seconda che venga eseguito prima il task con immagini o senza immagini, facendo iniziare il calcolo da 2500, la consegna del task eseguito come secondo viene modificata, facendo partire la sottrazione ricorsiva dal numero a cui è arrivato nella prova precedente (es. se viene eseguita prima la prova senza immagini e il soggetto, in seguito al conto alla rovescia, arriva a 1833, nella prova con immagini eseguita successivamente, la consegna viene modificata e viene indicato 1833 come numero da cui far partire la sottrazione ricorsiva). Se si facesse partire da 2500 anche la seconda prova, il soggetto saprebbe già i risultati della sottrazione, di conseguenza la capacità di working memory non sarebbe confrontabile con quello della prima prova.

3.2.2 Strumentazione

La strumentazione utilizzata durante l'acquisizione dei segnali EEG consiste in: una cuffia EEG precablata con 32 elettrodi, due elettrodi per i lobi auricolari che fungono da riferimento, due elettrodi per la registrazione del segnale ECG, un sistema di amplificazione, un computer Neurowave e un PC.

La cuffia EEG (Figura 48) è caratterizzata da 32 elettrodi a disco disposti secondo il Sistema Internazionale 10-20, in particolare: Fp2, F4, C4, P4, O2, F8, T8, P8, Fp1, F3, C3, P3, O1, F7, T7, P7, Fz, Cz, Pz, AF3, AF4, FC5, FC1, FC2, FC6, CP5, CP1, CP2, CP6, PO3, PO4, POz. Inoltre, si utilizzano due elettrodi a pinza per i due lobi auricolari (A1 e A2). Il segnale EEG in uscita da ogni elettrodo è registrato come il potenziale rilevato all'elettrodo rispetto alla media dei potenziali rilevati ai lobi ($(A1+A2)/2$). In realtà i segnali agli elettrodi sono acquisiti rispetto all'elettrodo posizionato sul lobo destro; viene quindi fatto un ri-referenzamento offline rispetto alla media dei segnali ai due lobi.

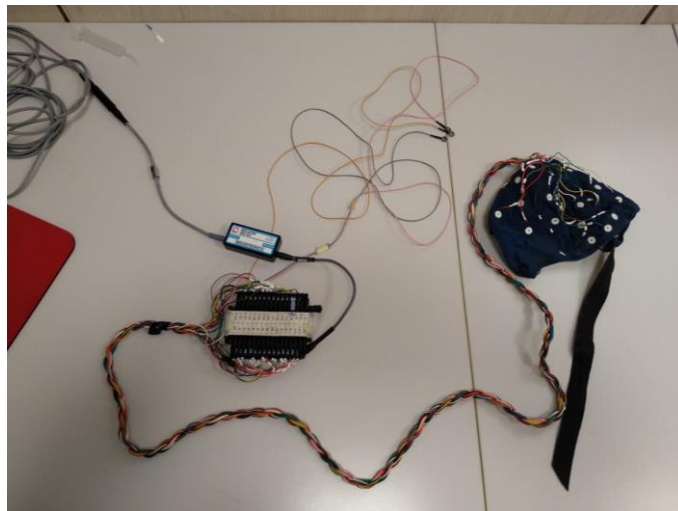


Figura 48: Cuffia EEG con elettrodi a disco e sistema di amplificazione.

Gli *elettrodi ECG* sono due elettrodi a coppetta, che vengono applicati in prossimità della parte terminale delle clavicole per la rilevazione del segnale elettroencefalografico. In questo caso, il segnale ECG è misurato come la differenza tra il potenziale dell'elettrodo alla clavicola destra meno il potenziale dell'elettrodo alla clavicola sinistra.

Tutti gli elettrodi sono collegati, mediante cavi di diverso colore, per facilitarne il montaggio, ad un *sistema di amplificazione*. Il sistema di amplificazione fa parte del Brainbox Ethernet System della Braintronics e contiene un amplificatore del tipo Brainbox EEG-1166, dotato di connettori multipin per il collegamento degli elettrodi. L'amplificatore è connesso all'interfaccia Ethernet-102 tramite un isolatore galvanico di tipo ISO 101. L'interfaccia Ethernet-102 è quindi connessa al computer Neurowave.



Figura 49: Da sinistra a destra: Interfaccia Ethernet 102, Isolatore galvanico ISO 101, Amplificatore Brainbox EEG-1166.

Il *Computer Neurowave* è un sistema di monitoraggio caratterizzato da un software specifico che consente di visualizzare, filtrare e acquisire i segnali provenienti dagli elettrodi. Il programma consente di creare delle cartelle, una per ogni soggetto, contenenti i dati relativi ai segnali EEG e ECG.



Figura 50: Sistema Neurowave

Il *Personal Computer* è utilizzato dal partecipante per svolgere la prova dell'esperimento. Per generare i test, si usano due programmi implementati in Matlab: `programma_WM.m` e `programma_WM_conImmagini.m`.

3.2.3 Preparazione all'esperimento

Prima di iniziare le acquisizioni, nell'interfaccia di Neurowave si seleziona il paziente che si vuole esaminare, il tipo di montaggio che si intende utilizzare e la frequenza di campionamento (in questo caso impostata a 128 Hz).

Al partecipante viene, poi, chiesto di indossare la cuffia EEG e si procede con l'applicazione del gel conduttore in tutti gli elettrodi, sia quelli appartenenti alla cuffia, sia quelli a pinza per i lobi, sia quelli per il segnale ECG. Questi ultimi poi vengono stabilizzati in prossimità delle clavicole facendo uso di scotch medico. Durante la fase di applicazione del gel, il valore di impedenza di elettrodo viene monitorato dall'apposita schermata in Neurowave, in cui ogni canale è rappresentato da una casella di colore rosso (che corrisponde ad un'impedenza di elettrodo di 200 k Ω); in seguito all'applicazione del gel, e quindi ad una diminuzione dell'impedenza di elettrodo, vira il colore da arancione (100 k Ω), a giallo (20-50 k Ω) a verde (5-10

k Ω). A questo punto, la schermata di Neurowave mostra i 32 segnali EEG e il segnale ECG in tempo reale. Si consiglia di applicare il filtraggio di tipo Notch che consente di eliminare il rumore di rete a 50 Hz e quindi di registrare dei dati già parzialmente filtrati. Terminata la fase di preparazione e montaggio, si imposta sul software Neurowave la durata della registrazione e si associa ad essa un nome indicativo del tipo di task (es. task con immagini). Al termine della registrazione, si carica il file appena acquisito su Neurowave Reader, interfaccia di Neurowave utilizzata per la visualizzazione dei segnali e per effettuare una prima elaborazione: al segnale EEG viene, infatti, applicato un filtro passa basso con frequenza di taglio a 100 Hz. I segnali così processati vengono, poi, salvati nelle cartelle dei soggetti.

3.2.4 Elaborazione dei segnali EEG

Prima di passare all'elaborazione dei segnali e alla stima delle sorgenti sul software Brainstorm, i segnali vengono importati in Matlab, estraendoli dalle cartelle provenienti da Neurowave, per ordinare i canali in modo che l'ordine dei canali corrisponda a quello utilizzato internamente da Brainstorm. Si noti che, in questo esperimento, si analizzano solo i segnali EEG, quindi vengono estratti solo i primi 32 canali di quelli registrati da Neurowave.

A questo punto si passa all'elaborazione dei segnali su Brainstorm. Nel seguito verrà presentata la pipeline seguita per l'analisi dei segnali dell'esperimento, in modo simile a come è stata descritta la pipeline del tutorial introduttivo di Brainstorm nel paragrafo 2.2. Si noti che è stato seguito lo stesso procedimento sia per i segnali registrati in condizione di WM senza immagini, che per quelli in condizione di WM senza immagini.

1) Creazione del protocollo

È stato creato un protocollo per ogni condizione sperimentale: WM_senzaimmagini e WM_conimmagini.

Non avendo a disposizione le immagini MRI dei soggetti, si è selezionata l'opzione "Yes, use protocol's default anatomy", mentre per quanto riguarda l'impostazione del Channel file si è selezionata l'opzione "No, use one channel file per acquisition run (MEG/EEG)". Quest'ultima opzione, come detto nel paragrafo 2.2, è preferibile nelle analisi in cui verranno applicati i proiettori SSP/ICA.

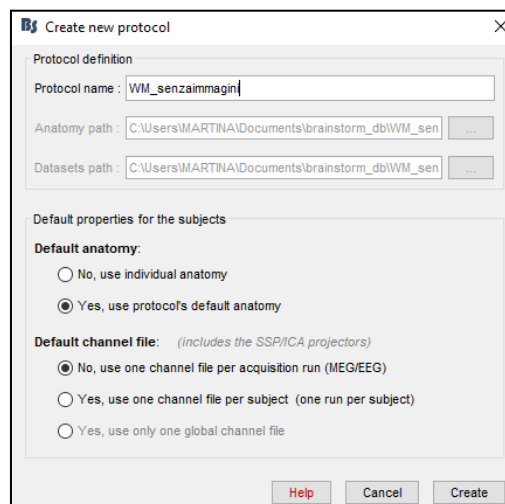


Figura 51: Creazione del protocollo di analisi.

Creato il protocollo, sono stati aggiunti i 10 soggetti selezionando le medesime opzioni definite sopra (Figura 52).

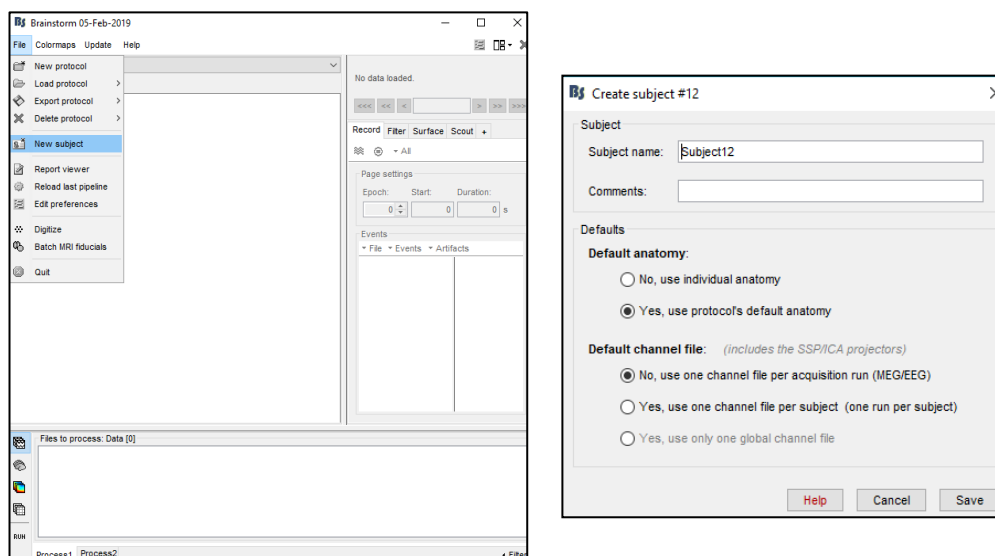


Figura 52: A sinistra: Passaggi per aggiungere un soggetto al protocollo dall'interfaccia di Brainstorm (Click su File nel banner > New subject). A destra: Finestra di impostazione delle opzioni-soggetto.

A questo punto, l'anatomia di tutti i soggetti è stata caricata. Dato che si vuole ottenere un modello di testa il più realistico possibile, cliccando con il tasto destro su "Default anatomy" e selezionando "Generate BEM surfaces", vengono creati altri tre files anatomici, che rappresentano la modellazione BEM della superficie della testa, del cranio esterno e del cranio interno, utilizzando 1922 vertici (valore di default).

2) Caricamento dei segnali

Passando alla sezione *Functional data view*, agendo sul tasto destro e selezionando "Import MEG/EEG", vengono importati per ogni soggetto i relativi segnali EEG in formato `.mat`; in fase di importazione dei dati, nel caso in esame si deve selezionare come Tipo di file: EEG: Matlab matrix (*.mat). Si presenta, ora, la seguente schermata (Figura 53), in cui bisogna definire le caratteristiche del segnale EEG importato. Nel caso in esame, le matrici importate hanno dimensione [Time x Channel], in particolare [78720 x 32], dove 78720 è il numero di campioni di

ciascuna acquisizione dato dal prodotto tra la durata della prova e la frequenza di campionamento (615*128) e 32 è il numero di canali.

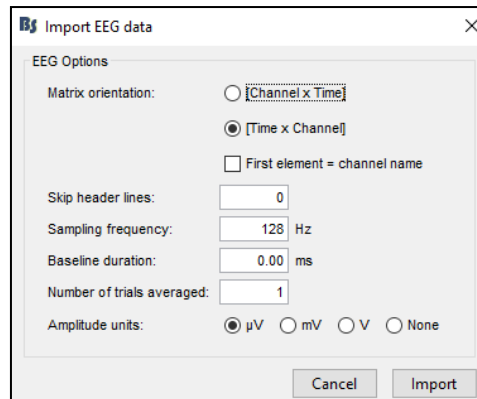


Figura 53: Finestra di selezione delle opzioni dei segnali EEG da importare.

3) Modifica del Channel file

Siccome non si aveva a disposizione il file dei canali da importare direttamente su Brainstorm, è stato necessario modificare il Channel file che viene caricato automaticamente dal software quando vengono importati i segnali.

Innanzitutto si è cambiato il channel file di default, sostituendolo con uno più appropriato: tasto destro sul Channel file > Add EEG positions > ICBM152 > BioSemi > BioSemi 32. È stato scelto BioSemi 32 poiché presenta gli stessi canali utilizzati in fase di acquisizione dell'esperimento, ad eccezione di un solo canale; infatti il channel file BioSemi 32 (Figura 54) presenta il canale Oz, non acquisito nello studio, e non il canale POz, presente invece nella cuffia precablata utilizzata. Per risolvere questo problema si è proceduto nel seguente modo: tasto destro sul channel file (BioSemi 32) > MRI Registration > Edit. Grazie a questa opzione è possibile aggiungere, eliminare o spostare i canali presenti nel modello. È stato, quindi, selezionato il canale Oz, spostato in corrispondenza del punto medio tra PO3 e PO4 e rinominato come POz. In seguito, dall'opzione "Edit channel file", che

presenta la lista di tutti i canali con le relative coordinate spaziali x,y,z , si è verificato che il canale fosse stato posizionato in modo corretto.

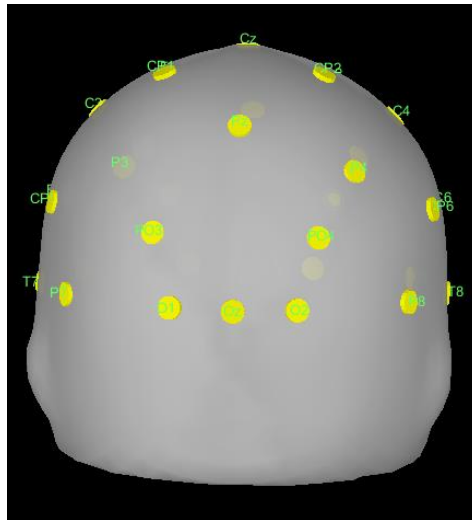


Figura 54: Channel file BioSemi 32.

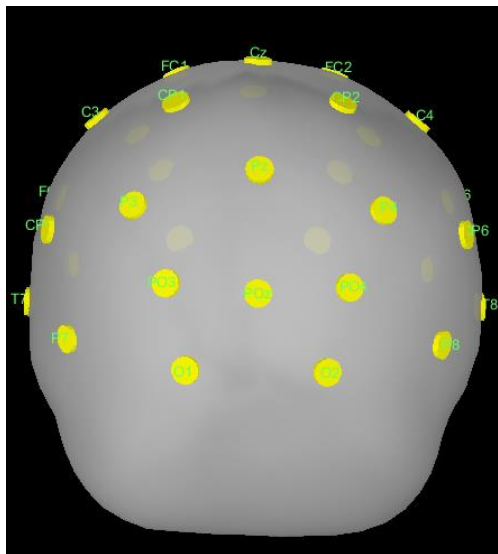


Figura 55: Channel file BioSemi 32 modificato.

4) Fase di pre-processing

Per la fase di elaborazione del segnale, i segnali devono essere convertiti in “Link to raw file”: tasto destro sul file del segnale importato > Review as raw.

Prima di passare a qualsiasi tipo di elaborazione, si inizia con una valutazione spettrale del segnale: si trasporta il segnale “Link to raw file” nella sezione *Process I* e, sfruttando l’opzione (Frequency > Power spectrum density (Welch)) nella pipeline editor di Brainstorm, si calcola lo spettro di potenza.

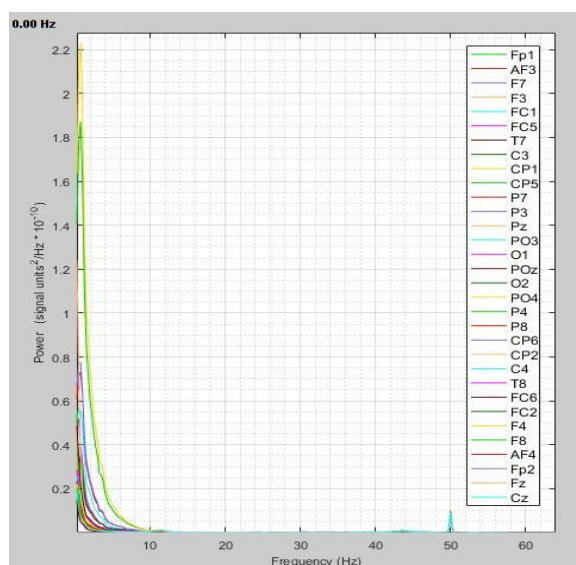


Figura 56: Spettro di potenza del segnale nei 32 canali, prima dell’elaborazione.

Si noti il picco in corrispondenza della frequenza della linea elettrica (50 Hz), nonostante il filtro notch Hardware usato in fase di acquisizione.

Per automatizzare il processo di elaborazione è stata creata una pipeline su Brainstorm, che esegua le seguenti operazioni, una dopo l’altra, in questo ordine:

- Rimozione del DC offset (nella sezione *Process selection* della finestra “Pipeline editor”, selezionare *Pre-process > Remove DC offset*).
- Filtraggio Notch a 50 Hz, per rimuovere gli artefatti residui dovuti alla linea elettrica (nella sezione *Process selection* della finestra “Pipeline editor”, selezionare *Pre.process > Notch filter*).
- Filtraggio passa alto alla frequenza di taglio di 1 Hz, per rimuovere le componenti del segnale molto lente, a cui non siamo interessati (nella sezione *Process selection* della finestra “Pipeline editor”, selezionare *Pre.process >*

Band-pass filter > impostare “Lower cutoff frequency” a 1 Hz e “Upper cutoff frequency a 0 Hz).

Notare che il filtraggio passa basso a 100 Hz per rimuovere il rumore alle alte frequenze, era già stato applicato precedentemente direttamente sul software Neurowave reader. In ogni caso, essendoci già un filtro antialiasing a 64 Hz, le componenti in frequenza sono limitate a 64 Hz.

- Calcolo delle componenti indipendenti ICA (nella sezione *Process selection* della finestra “Pipeline editor”, selezionare *Artifacts > ICA components*)

Per valutare le modifiche apportate al segnale dai processi, si è calcolato nuovamente lo spettro di potenza, ma in questo caso del segnale filtrato. Notare come nel grafico dello spettro in *Figura 57*, rispetto a quello in *Figura 56*, sia scomparso il picco in corrispondenza della frequenza a 50 Hz.

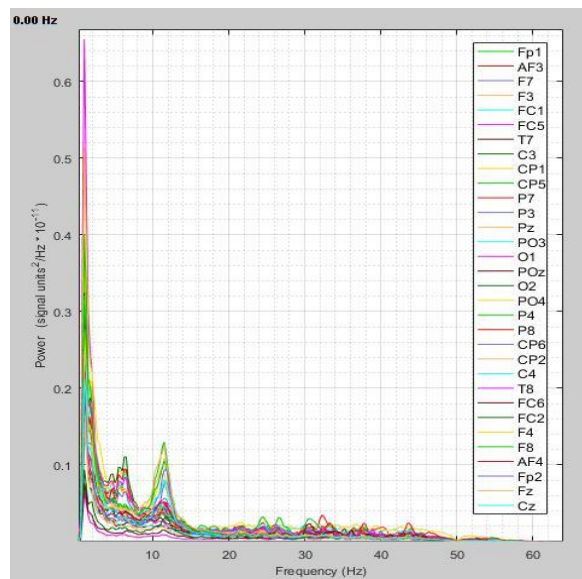


Figura 57: Spettro di potenza del segnale nei 32 canali, dopo l’elaborazione.

Rispetto alla pipeline di pulizia degli artefatti presentata nel tutorial introduttivo, in cui si raccomandava di utilizzare l’approccio SSP per rimuovere gli artefatti cardiaci e di blink, in questo caso si è sfruttato l’approccio ICA (Analisi delle Componenti

Indipendenti). Il metodo ICA, infatti, è molto più usato nelle analisi con segnali EEG.

I segnali EEG sono registrazioni della differenza di potenziale tra varie aree dello scalpo, generata dalla corteccia cerebrale e trasmessa attraverso le meningi ed il cranio. Di conseguenza, i segnali elettrici che si originano nel cervello vengono molto attenuati quando vengono registrati sullo scalpo ed esistono forti componenti indesiderate derivate dai movimenti oculari e dai muscoli facciali, temporali e frontali. L'analisi delle componenti indipendenti è un metodo di elaborazione dei segnali che serve per separare un segnale multi variante nelle sue sotto-componenti additive, assumendo che esista una mutua indipendenza statistica tra le sorgenti dei segnali (e che le sorgenti siano non Gaussiane (si guardi [19] per maggiori dettagli)). La ICA, in particolare su Brainstorm è implementata mediante l'algoritmo cosiddetto di Infomax (chiama direttamente la funzione `runica.m` del toolbox EEGLAB), non solo identifica le componenti spaziali a varianza maggiore con la decomposizione PCA (Analisi delle Componenti Principali), ma cerca anche di identificare le componenti indipendenti nel tempo. Il fatto di sfruttare l'informazione proveniente dalla dimensione temporale, permette di identificare le componenti del segnale che sono indipendenti dalle altre [15]. La suddivisione nelle componenti indipendenti permette, poi, di identificare le componenti che presentano un andamento temporale e una topografia spaziale corrispondente ad un certo artefatto.

In Brainstorm, mediante la finestra dedicata al calcolo delle componenti ICA nella *Pipeline editor* (Figura 58), è possibile selezionare le opzioni di processo. In questo caso:

- "Time window": è stata impostata l'intera registrazione.
- "Event name" : è stato lasciato vuoto, in quanto si vuole analizzare l'intera registrazione.
- "Frequency": è stato lasciato a (0-0Hz), in quanto si vuole eseguire l'analisi sul segnale in banda larga.

- “Number of ICA components”: è stato lasciato a 0, poiché si vogliono stimare tutte le 32 componenti.

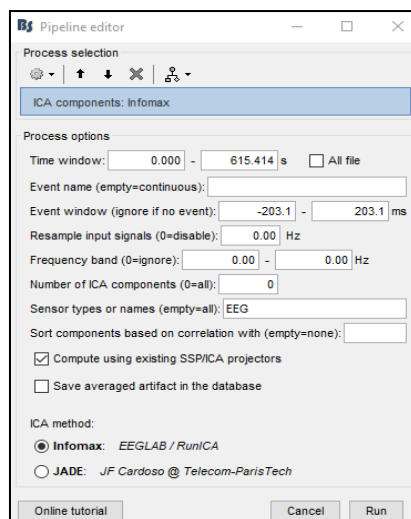


Figura 58: Finestra di selezione delle opzioni per il calcolo delle componenti indipendenti in Brainstorm.

Si può seguire la convergenza dell’algoritmo Infomax nella Command Window di Matlab. Quando questo è terminato, si apre la finestra “Select active projectors” in cui è possibile visualizzare l’andamento temporale e la topografia spaziale di tutte le componenti. Nel procedere alla selezione delle componenti da eliminare, sono state aperte in una stessa schermata il grafico con gli andamenti temporali del segnale nei 32 canali (*Figura 59.A*), il grafico con gli andamenti temporali delle 32 componenti ICA (*Figura 59.B*) e l’immagine con le relative mappe topografiche (*Figura 59.B*). Le mappe topografiche mostrano, per ogni componente indipendente, come la specifica componente indipendente influenza i segnali registrati ai vari elettrodi (ovvero ogni mappa può essere interpretata come la proiezione sullo scalpo della componente indipendente). In questo modo è più semplice individuare la natura degli artefatti.

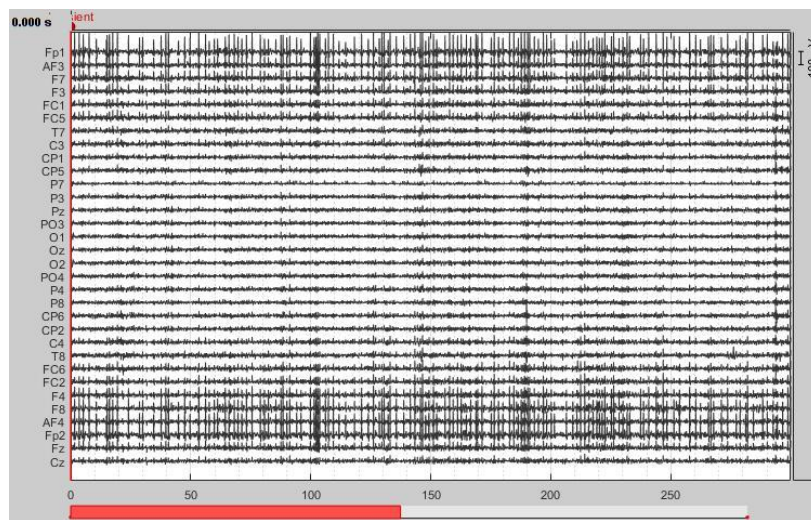


Figura 59.A: Andamento temporale del segnale EEG nei 32 canali.

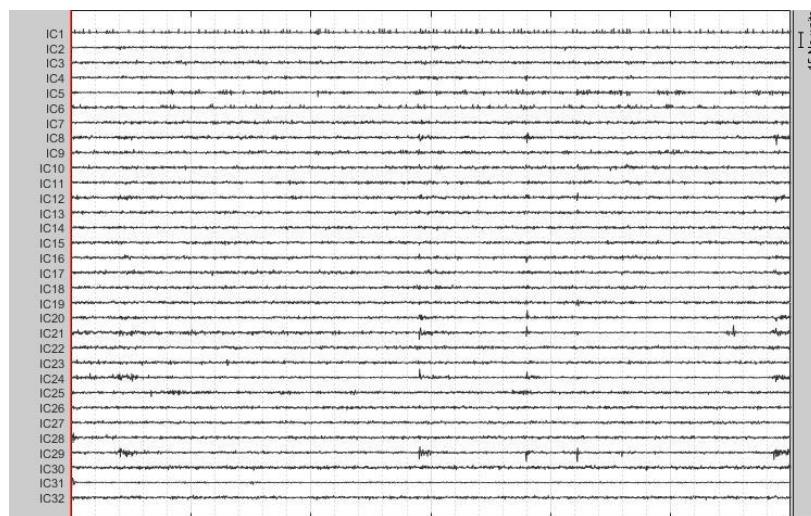


Figura 59.B: Andamento temporale delle 32 componenti indipendenti.

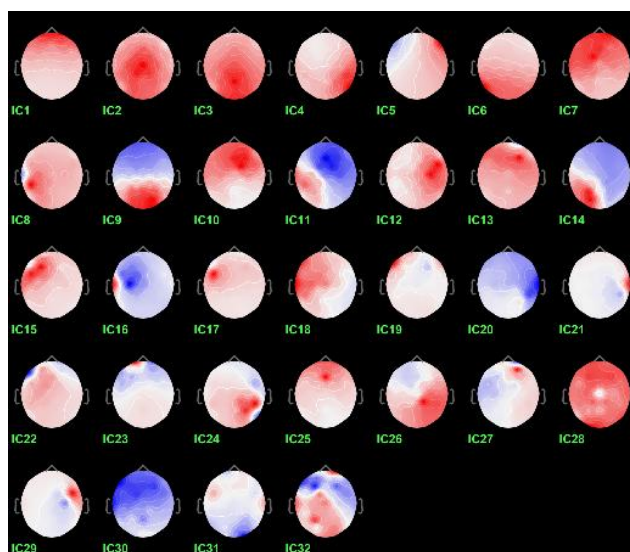


Figura 59.C: Mappe topografiche delle 32 componenti indipendenti.

La rimozione delle componenti indipendenti è un passaggio delicato della fase di elaborazione, in quanto bisogna prestare attenzione a rimuovere le componenti di disturbo, possibilmente senza rimuovere componenti che potrebbero essere di origine cerebrale (cioè senza rimuovere il segnale utile). Di norma, le prime due o tre componenti sono quelle corrispondenti agli artefatti. Si noti, infatti, dalle mappe topografiche che la prima componente corrisponde al fenomeno di *blinking*, che indica l'attività delle palpebre e si concentra nella regione frontale. Il movimento delle palpebre contribuisce alla variazione del campo elettrico intorno alla zona oculare, il cui effetto si propaga verso gli elettrodi. L'ingrandimento dell'andamento temporale di IC1 (Figura 60) conferma quanto detto: vi sono dei picchi localizzati, simili a degli impulsi, di ampiezza nettamente superiore al segnale EEG. Tipicamente, tali impulsi hanno una durata inferiore ai 500 ms.

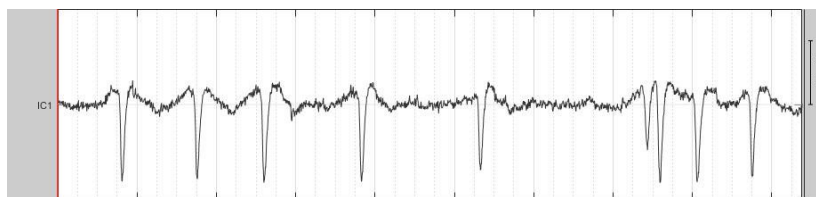


Figura 60: Ingrandimento dell'andamento temporale della prima componente indipendente che rappresenta l'artefatto da blinking.

La seconda e terza componente indicano l'artefatto ECG. Tale disturbo rappresenta, insieme agli artefatti oculari, uno degli artefatti dominanti nel segnale EEG. la componente dell'ECG si riconosce dalla distribuzione uniforme sulla superficie dello scalpo.

La componente IC5, infine, rappresenta l'artefatto dovuto al movimento oculare laterale. Questo movimento è generato dallo spostamento dei bulbi oculari verso destra o sinistra ed è riconoscibile dal gradiente del potenziale fra i due emisferi nella regione frontale.

Perciò, dall'osservazione combinata delle mappe topologiche e delle evoluzioni temporali delle componenti indipendenti, si possono riconoscere gli artefatti del segnale EEG e, una volta individuati, rimuoverli.

È bene specificare che, nei passaggi successivi, verranno utilizzati i file del segnale filtrato e pulito dagli artefatti.

5) Stima delle sorgenti

Per la stima delle sorgenti, come descritto nel paragrafo 2.2, è necessario definire innanzitutto il modello di testa e la covarianza del rumore.

Per il modello di testa è stato scelto OpenMEEG BEM. Poiché l'EEG misura le differenze di potenziale elettrico sullo scalpo, i segnali acquisiti dipendono dalla corrente di conduzione del volume (o corrente secondaria). Di conseguenza, l'EEG è molto sensibile alle variazioni di conduttività non solo nel tessuto vicino alle sorgenti

di corrente del cervello, ma anche nel cranio e nello scalpo. Per questo motivo è consigliato un modello della testa realistico, che integri queste proprietà in modo corretto.

Per quanto riguarda la covarianza del rumore, essa tiene conto delle componenti di rumore dovute all'ambiente e alla strumentazione. Per questo motivo, lo scenario ideale sarebbe calcolarne il valore utilizzando segmenti di registrazione che contengono esclusivamente questo tipo di contaminazione o in cui si ritiene non vi siano segnali cerebrali di interesse [15]. Tuttavia, nel caso dell'EEG questa operazione non è consentita, in quanto gli elettrodi necessitano di essere attaccati ad un mezzo conduttivo (lo scalpo) per produrre i segnali. Inoltre, essendo che, in questo studio, la fase di *rest* fa parte dell'attività cerebrale sotto analisi, non è corretto utilizzare questi segmenti di registrazione per ottenere i valori statistici del rumore. Pertanto, per calcolare la covarianza del rumore è stata seguita la seguente strategia: *tasto destro sul segnale > Noise covariance > No noise modeling (Identity matrix)*. Questa opzione utilizza la matrice identità come matrice di covarianza del rumore e, quindi, assume pari varianza di rumore unitaria su ogni sensore.

Nell'impostazione delle opzioni per il calcolo delle sorgenti, sono state seguite le seguenti scelte:

- Metodo: Minimum norm imaging. È consigliato nel caso ci si aspetti un'attività delle sorgenti distribuita.
- Measure: dSPM. È una misura lineare e può essere espressa come Imaging Kernel, quindi più facile da manipolare su Brainstorm. Inoltre, rispetto a sLORETA, fornisce risultati più facili da capire e interpretare [15].
- Dipole orientations: Constrained: Normal to cortex.
- Noise covariance regularization: No covariance regularization.

Tutte le altre opzioni sono state lasciate con i valori di default.

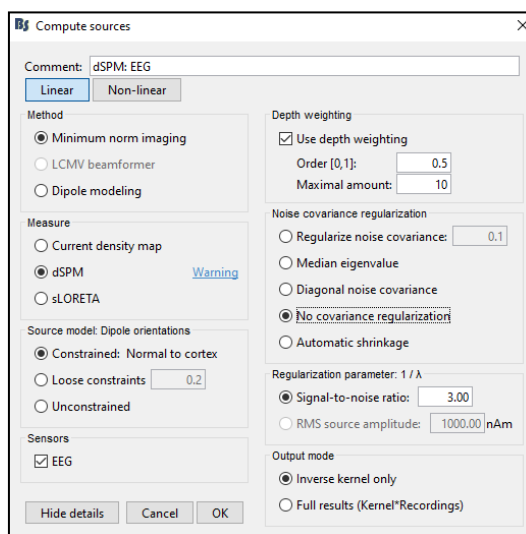


Figura 61: Finestra di selezione delle opzioni per la stima delle sorgenti.

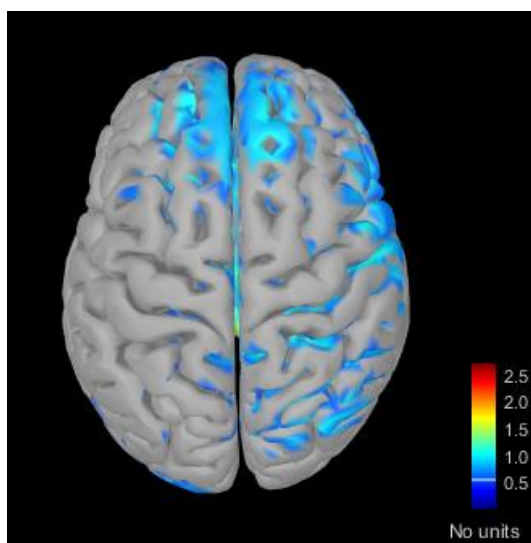


Figura 62: Visualizzazione dell'attivazione corticale.

6) Valutazione dell'attivazione corticale nelle aree di interesse

Per valutare meglio quali specifiche regioni cerebrali fossero particolarmente coinvolte durante la prova, si sono sfruttati gli *scouts* presenti nel pacchetto di Brainstorm. Trasportando il file delle sorgenti nella sezione *Process1* e selezionando nella "Pipeline editor" l'opzione: Extract > Scout time series, è possibile estrarre

l'andamento temporale delle sorgenti in determinate regioni di interesse. In particolare, viene fornito l'andamento temporale del valor medio dei segnali appartenenti a quella regione (opzione: "Mean").

In questo studio, si è scelto di studiare l'andamento delle sorgenti nelle aree di Brodmann rese disponibili da Brainstorm nello Scouts: Brodmann (*Figura 63*). Le aree fornite dal software sono: BA1 L, BA1 R, BA2 L, BA2 R, BA3a L, BA3a R, BA3b L, BA3b R, BA44 L, BA44 R, BA45 L, BA45 R, BA4a L, BA4a R, BA4p L, BA4p R, BA6 L, BA6 R, MT L, MT R, V1 L, V1 R, V2 L, V2 R. In particolare, le aree 1, 2 e 3 corrispondono alla corteccia somestetica primaria, le aree 44 e 45 fanno parte dell'area di Broca, l'area 4 corrisponde alla corteccia motoria primaria, l'area 6 alla corteccia premotoria, l'area MT (temporale mediale) alla corteccia visiva associativa e, le aree V1 e V2, rispettivamente alla corteccia visiva primaria e secondaria.

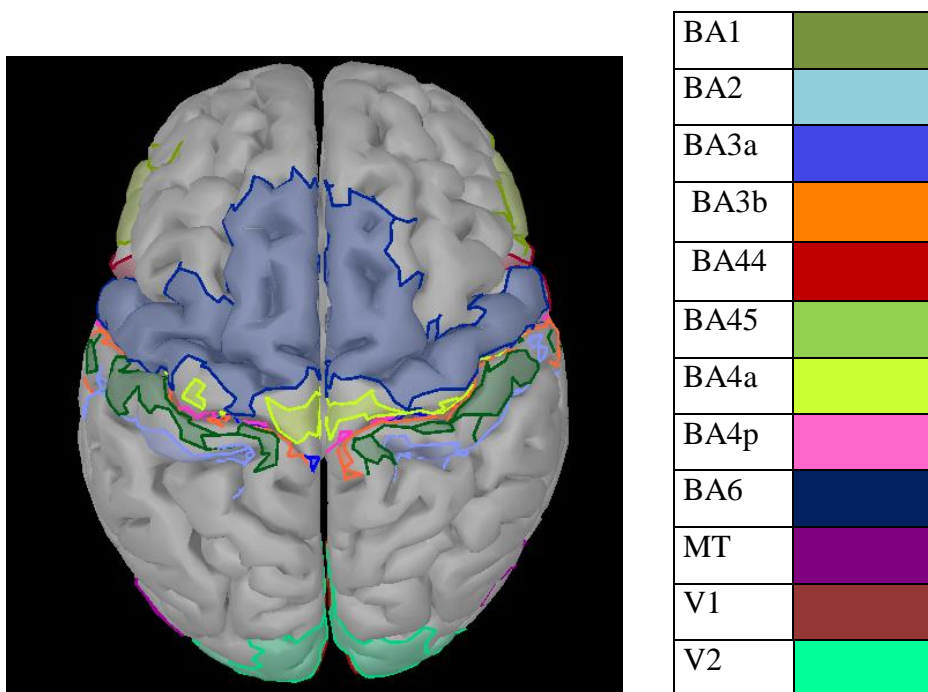


Figura 63: Aree di Brodmann disponibili nella sezione "Scouts" di Brainstorm.

Come si nota dall'immagine di *Figura 63*, le aree di Brodmann fornite non coprono gran parte della regione frontale e parietale. Per studiare se e come si modificano le attivazioni anche in queste aree durante i compiti investigati, si è deciso di estendere l'analisi ad altre regioni di interesse. Si è scelto l'atlas Destrieux reso disponibile da Brainstorm, che suddivide la superficie corticale in 148 regioni. Di queste si sono selezionate alcune delle aree parietali e frontali. Il criterio di selezione delle aree si è basato sulla corrispondenza anatomica tra le aree di Brodmann 5, 7, 8, 9, 10 e 11, che coprono le regioni frontali e le regioni parietali, e le rispettive regioni di Destrieux (*Figura 64*). Le aree 1, 2, 3 e 4 sono state prese anche nell'atlas di Destrieux (area verde chiara e azzurro chiara in *Figura 64*), poiché la copertura di queste aree corticali è sembrata più completa nell'atlas di Destrieux.

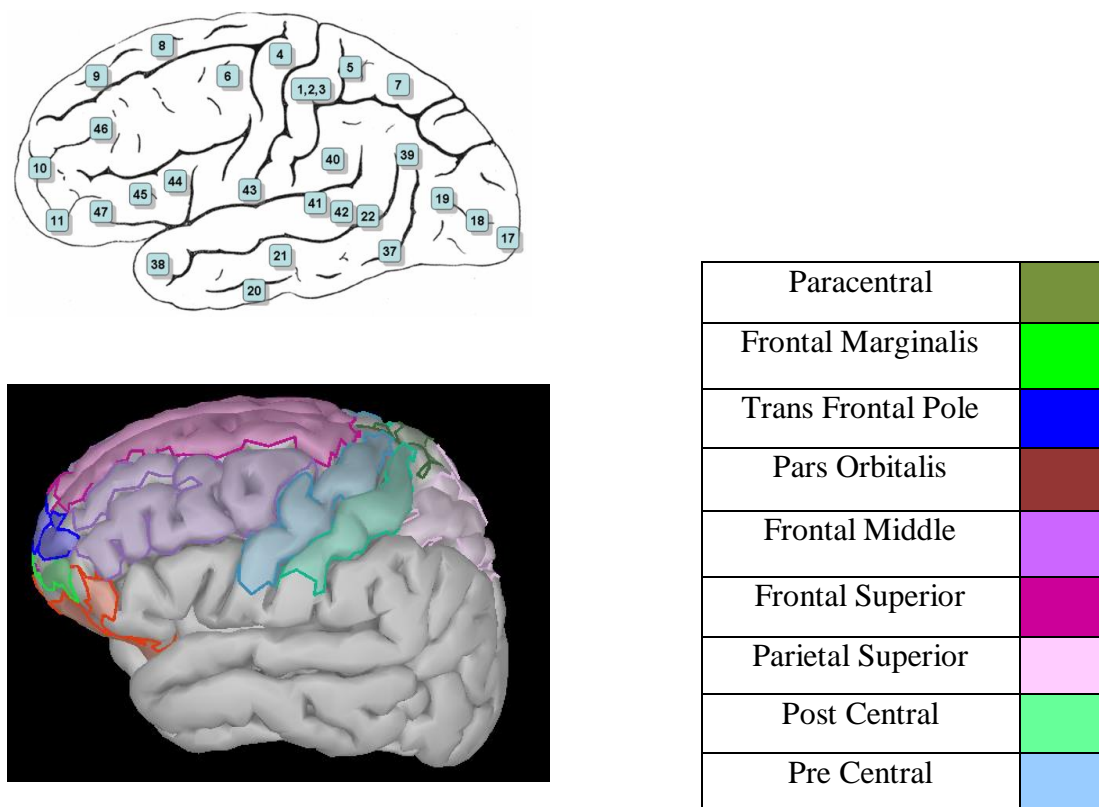


Figura 64: In alto, superficie laterale del cervello con le aree di Brodmann numerate. In basso, aree selezionate dall'atlas Destrieux.

Quando vengono estratti gli andamenti temporali degli *scouts*, nella cartella “brainstorm_db”, che rappresenta il database contenente tutti i file elaborati su Brainstorm, si crea una *struct* di Matlab con all’interno il campo “Value”. Il campo “Value” corrisponde alla matrice con un numero di righe pari al numero di scouts e un numero di colonne pari agli istanti temporali.

Per le analisi successive, si è passati all’elaborazione dei segnali in ambiente Matlab. Sono stati estratti gli andamenti temporali di ogni area di interesse (sia quelle derivanti dall’atlas Brodmann, sia quelle derivanti dall’atlas Destrieux) e si è suddiviso il segnale nella fase di *rest* (i primi 5 minuti) e nella fase di *task* (ultimi 5 minuti). Per ogni soggetto si è calcolato lo spettro di potenza con la funzione *pwelch* nelle due fasi separatamente. Data la frequenza di campionamento $F_s=128$ Hz, i parametri della funzione *pwelch* sono stati impostati a $window = 5 * F_s$, 50% Overlap di default ([]), $NFFT = 10 * F_s$. Gli spettri sono poi stati mediati tra i 10 partecipanti allo studio, facendo il confronto tra fase di rest e fase di task in entrambe le condizioni sperimentali (WM senza immagini, WM con immagini) (si veda a titolo di esempio la *Figura 65*).

Inoltre, per valutare l’influenza del ritmo alfa e del ritmo theta nelle due fasi della prova, è stata calcolata l’area sottesa dallo spettro di potenza nell’intervallo di frequenza (8-14 Hz per la banda alfa e 4-8 Hz per la banda theta), per ogni soggetto e poi mediata tra i 10 partecipanti. Da questa ultima analisi, ci si aspetterebbe di osservare un incremento di potenza in banda alfa nelle aree che vengono inibite in quanto task-irrelevant per lo svolgimento del task matematico. Per quanto riguarda il ritmo theta, è stata eseguita un’analisi anche su tale ritmo in quanto sembra essere legato a funzioni di working memory in particolare attentive ed esecutive e si è osservato un incremento di tale ritmo in compiti di elaborazione di numeri. Gli effetti del ritmo theta in compiti di working memory tipicamente mostrano un incremento del ritmo theta al crescere del carico di memoria o al crescere delle richieste attentive soprattutto nelle regioni medio-frontali [20][21][22].

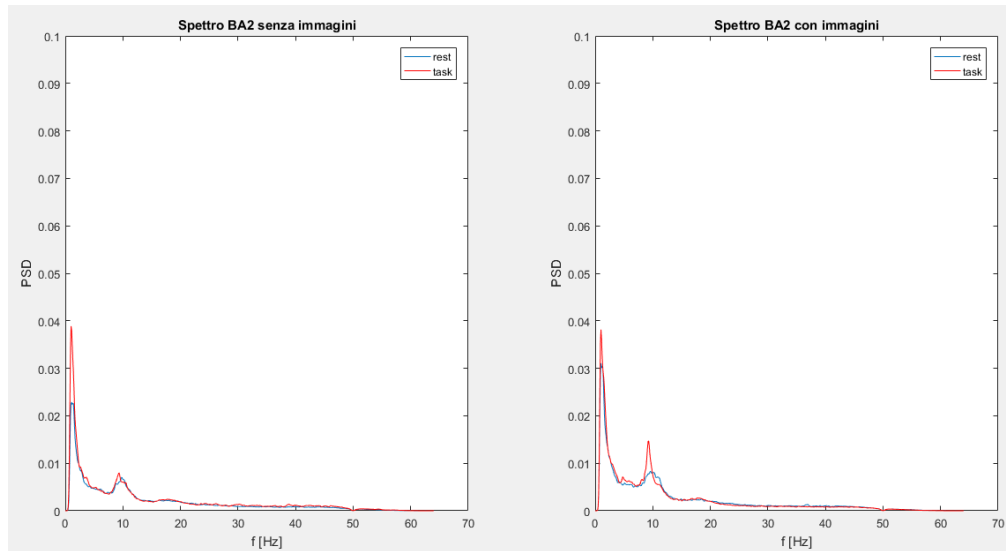


Figura 65: Esempio di confronto tra gli spettri di potenza nella fase di rest (in blu) e nella fase di task (in rosso) nell'area corticale BA2, nelle due fasi di relax e di Working Memory senza immagini e con immagini. Notare che gli spettri sono calcolati sui segnali delle sorgenti calcolati con il metodo dSPM normalizzato, quindi sono segnali adimensionali. Di conseguenza la PSD ha unità di misura [adim / Hz].

Capitolo 4

Analisi dei risultati

L'elaborazione dei segnali EEG si è conclusa con il calcolo della densità spettrale di potenza delle sorgenti, e delle potenze in banda alfa e in banda theta, su tutte le aree cerebrali considerate. L'analisi si è focalizzata sul valutare la variazione della potenza del segnale nelle due bande di frequenza, confrontando le aree sottese dagli spettri nelle due fasi della prova, *rest* e *working memory (wm)*, nelle due condizioni sperimentali: task con immagini e task senza immagini.

La prova dell'esperimento ha consistito in una fase iniziale di rilassamento della durata di 5 minuti, seguita da una fase di calcolo a mente, durante la quale al partecipante viene richiesto di sottrarre in modo ricorsivo 17 a partire da 2500, fino alla fine della prova. In questa fase il soggetto è seduto e osserva lo schermo di un computer. A seconda della condizione sperimentale, la schermata appare grigia per il task senza immagini, oppure caratterizzata dallo scorrimento di immagini di valenza neutra per il task con immagini. Questa prova ha l'obiettivo di valutare l'effetto inibitorio del ritmo alfa. Difatti, il soggetto necessita di isolarsi dall'ambiente per risolvere al meglio il compito di working memory. Secondo recenti studi [17], infatti, il ritmo alfa agisce con lo scopo di inibire le regioni non essenziali per l'esecuzione di un task.. Di conseguenza, nelle regioni non coinvolte nella prova ci si aspetterebbe un aumento della potenza in banda alfa nella fase di *wm*, rispetto alla fase di *rest* precedente.

Per quanto riguarda il ritmo theta, essendo coinvolto in funzioni di memorizzazione e processi di controllo esecutivo, ci si aspetterebbe un aumento della potenza nella fase di *wm*, rispetto alla fase di *rest*.

L'esperimento è stato condotto su 10 partecipanti su cui sono stati acquisiti i segnali EEG provenienti da 32 elettrodi posti sullo scalpo. A partire da queste

registrazioni, è stata poi eseguita la modellazione delle sorgenti corticali mediante il software Brainstorm. Il calcolo della densità spettrale è stato eseguito sulle evoluzioni temporali delle sorgenti nelle diverse aree corticali considerate, considerando separatamente la fase di *rest* e la fase di *task di wm*. Per ogni soggetto, e per ogni area corticale considerata sono stati quindi calcolati i valori di potenza nelle due bande frequenziali di interesse, e quindi i valori di potenza sono stati mediati sui 10 soggetti. La *Figura 66* mostra, a titolo esemplificativo, lo spettro di potenza calcolato sul segnale sorgente relativo all'area MT (Middle Temporale, ovvero un'area visiva associativa detta anche V5). Il grafico rappresenta la densità spettrale di potenza mediata sui 10 partecipanti. Dato che sono spettri calcolati su segnali sorgente derivanti dal metodo dSPM normalizzato, i valori dei segnali sono adimensionali; di conseguenza lo spettro di potenza avrà dimensione [adim/Hz] e le potenze calcolate, integrando lo spettro in determinate bande di frequenza saranno privi di dimensione.

Si noti come la potenza in corrispondenza della banda alfa aumenti notevolmente nella fase di *wm* con immagini, rispetto alla fase di *rest* con immagini e alla condizione sperimentale senza immagini. Questo può essere spiegato dal fatto che il soggetto, per concentrarsi sul compito di calcolo a mente da svolgere, tende a bloccare gli eventuali elementi di distrazione, in questo caso rappresentati dallo scorrimento delle immagini, inibendo quindi aree della corteccia visiva.

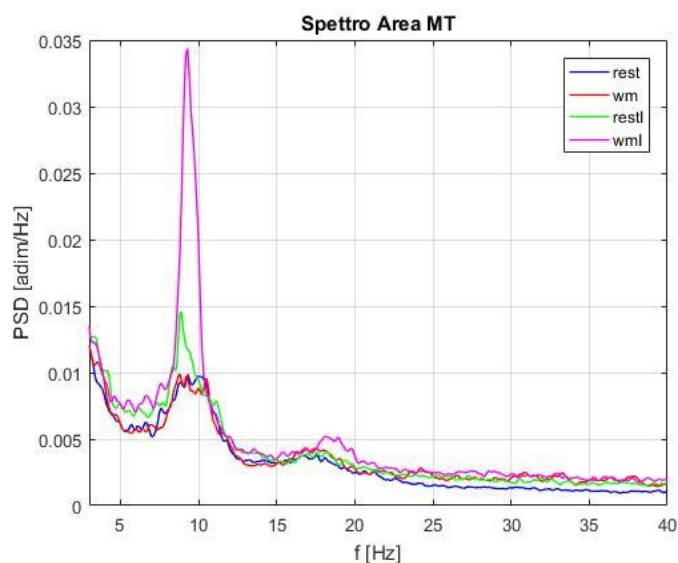


Figura 66: Spettro di potenza, mediato sui 10 soggetti, del segnale sorgente nell'area MT (area visiva associativa detta anche V5) relativo alle fasi di relax e working memory nelle due condizioni sperimentali. In particolare, i grafici in blu e in rosso si riferiscono rispettivamente alla fase di rest e wm nella prova senza immagini, mentre quelli in verde e magenta alla fase di rest e wm nella prova con immagini.

I grafici che verranno mostrati nel seguito mostrano i confronti tra i valori di potenza in banda alfa e banda theta, in alcune aree cerebrali, nella fase di rest e task nelle due condizioni sperimentali, quindi: *rest*, *wm*, *rest con immagini (restI)*, *wm con immagini (wmI)*. Per il valore di potenza, in ogni condizione, è indicato il valore mediato sui 10 soggetti con un asterisco rosso e l'errore standard della media (SEM) con delle barre blu. Inoltre, ad ogni grafico è associata l'immagine della corteccia con evidenziata l'area sotto analisi (immagine estratta da Brainstorm). Si prenderanno in considerazione i dati derivanti dalle aree che hanno fornito risultati di maggiore interesse, specialmente riguardo alle osservazioni fatte sui ritmi alfa e theta negli studi presenti in letteratura.

Prima di iniziare l'analisi dei due ritmi, si precisa che i dati presentano una forte variabilità, dovuta ad alcuni soggetti che mostrano valori elevati in alcune fasi della

prova e in alcune delle aree esaminate. Pertanto, le considerazioni che si andranno a fare sono solo di carattere preliminare.

4.1 Analisi dei risultati per il ritmo Alfa

Per quanto riguarda la potenza del ritmo alfa (~8-14 Hz), volendo valutare la sua funzione inibitoria, ci si è focalizzati sulle aree della corteccia visiva V1, V2 e MT (V5), in cui dalla teoria ci si aspetterebbe un valore di potenza maggiore nella fase di working memory rispetto alla fase di relax. Questo perché, durante la prova, il soggetto tende a concentrarsi inibendo le altre aree che potrebbero interferire sull'efficienza dello svolgimento dei calcoli.

La *Figura 67* sottostante si riferisce all'area della corteccia visiva primaria (V1) (in rosso in *Figura 67* in alto). Si noti come la potenza del ritmo alfa mostri una tendenza ad aumentare nella fase di working memory con immagini (*wmI*), sia rispetto alla fase di *rest* nella stessa condizione sperimentale, sia rispetto alla fase di working memory nella condizione senza immagini. Questo sembra confermare l'azione inibitoria del ritmo alfa nei confronti delle regioni non coinvolte nel compito da svolgere, come in questo caso la corteccia visiva. In particolare, nel task con immagini questo effetto è particolarmente accentuato dalla necessità di bloccare le interferenze visive rappresentate dalle immagini che scorrono sullo schermo del computer. Inoltre, si osservi un valore di *restI* minore rispetto a quello di *rest*; questa differenza è imputabile al fatto che nella fase di relax della prova con immagini si ha un'elaborazione visiva stimolata dalle immagini presentate.

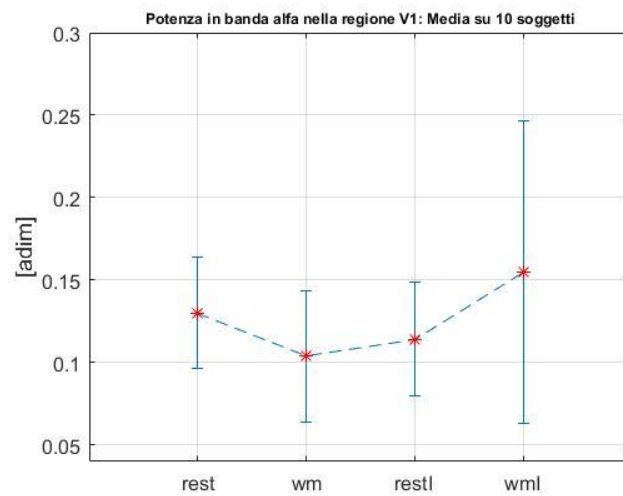
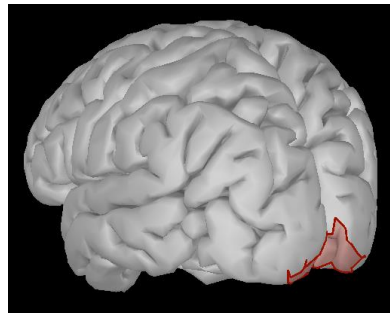


Figura 67: Rappresentazione dell'area corticale V1 (in alto) e grafico della relativa potenza in banda alfa nelle fasi di rest e working memory in entrambe le condizioni.

Vengono anche mostrati i valori di potenza del ritmo alfa nella corteccia visiva primaria, separando i contributi dell'emisfero sinistro e destro (*Figura 68*).

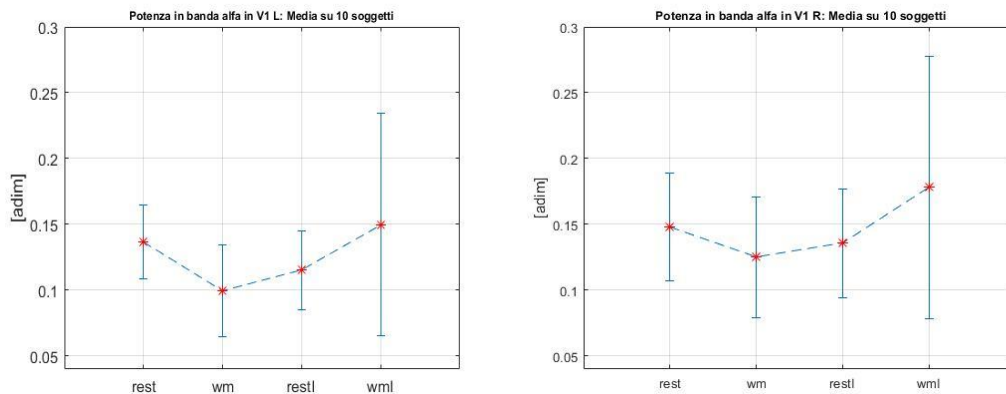


Figura 68: Potenza in banda alfa della regione V1 nei due emisferi (in ordine: sinistro e destro), mediata sui 10 soggetti.

Sia l'emisfero sinistro che l'emisfero destro presentano un andamento simile per la potenza in banda alfa, con la tendenza ad un incremento nella fase di working memory con immagini.

Lo stesso si osserva nell'area V2 (in verde in Figura 69 in alto):

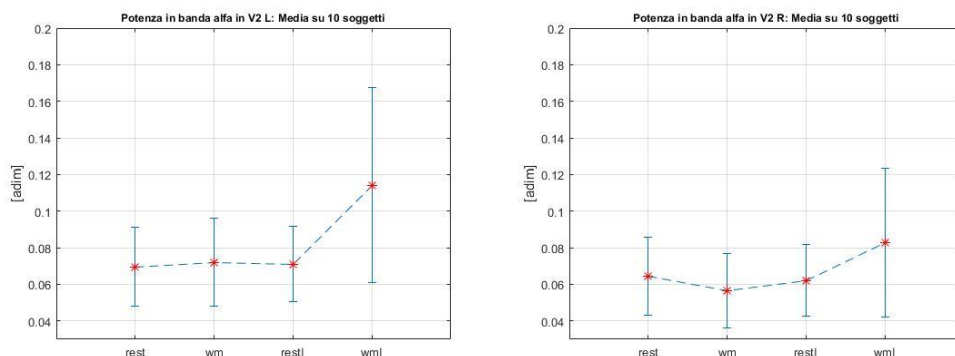
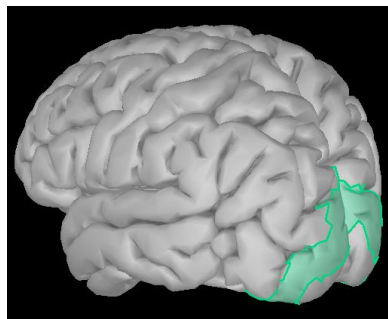


Figura 69: Rappresentazione dell'area corticale V2 e grafici della relativa potenza in banda alfa nei due emisferi (in ordine: sinistro e destro).

Le considerazioni fatte per V1 e V2 si possono ripetere per l'area visiva MT (in *Figura 70*). In questo caso, a differenza della regione V1, vi è un lieve incremento della potenza alfa anche nella fase di *wm* senza immagini, sempre in riferimento al rispettivo valore nella fase di *rest*. La potenza nella fase di *wmI*, come ci si aspetterebbe, rimane sempre più alta rispetto a tutte le altre.

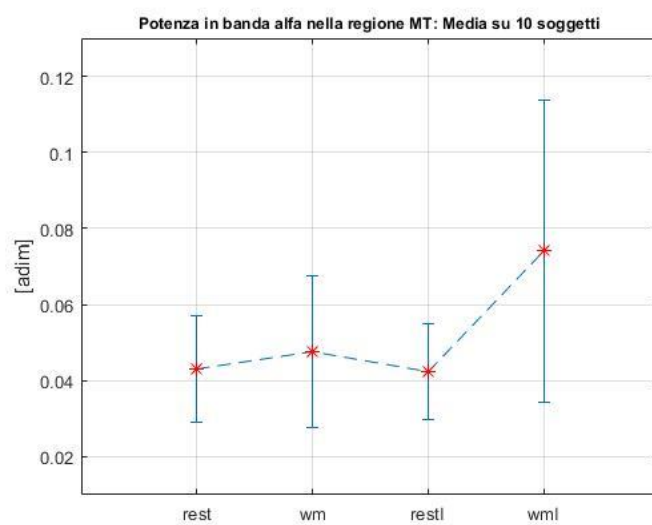
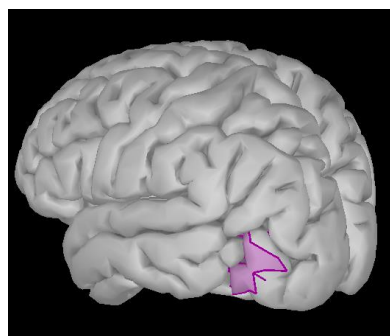


Figura 70: Rappresentazione dell'area corticale MT (in alto) e grafico della relativa potenza in banda alfa nelle fasi di rest e working memory in entrambe le condizioni.

Gli stessi risultati, ovvero aumento della potenza alfa durante le fasi di working memory, si ottengono considerando separatamente i segnali provenienti dai due emisferi:

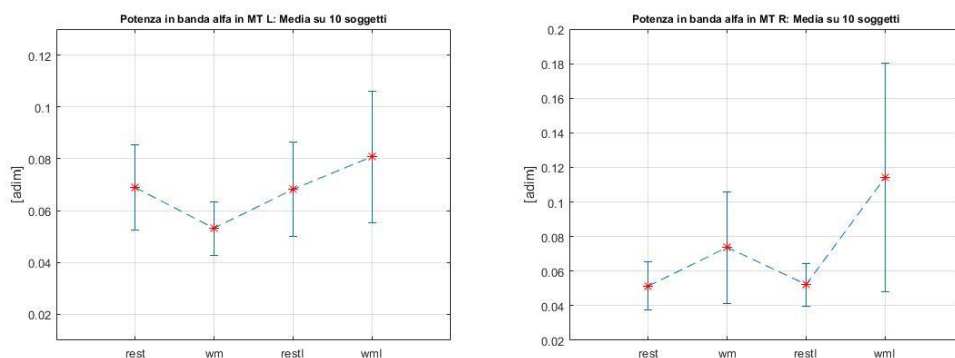
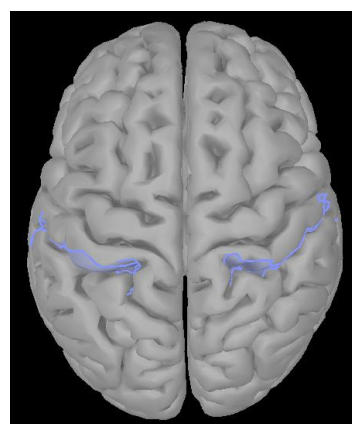
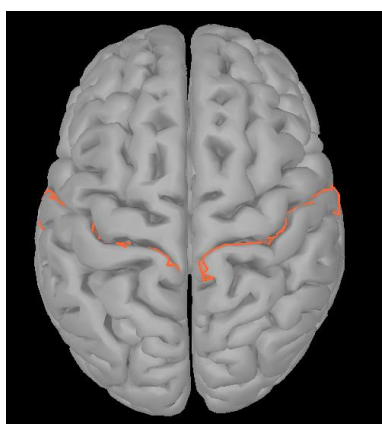


Figura 71: Potenza in banda alfa della regione MT nei due emisferi (in ordine: sinistro e destro), mediata sui 10 soggetti.

Considerando anche altre aree non coinvolte nella prova di working memory, come le aree BA3 e BA2 della corteccia somatosensoriale (rispettivamente a sinistra e destra in *Figura 72*), si ottengono dei valori di potenza che rispecchiano le teorie sulla funzionalità inibitoria del ritmo alfa. Si ha, infatti, un incremento della potenza in entrambe le fasi *wm* e *wml*. Inoltre, non essendo aree deputate a processi visivi i valori di *rest* e *restI* sono approssimativamente uguali, a differenza dell'area V1 in cui la potenza in *restI* è inferiore rispetto a *rest* (si guardi *Figura 67*).



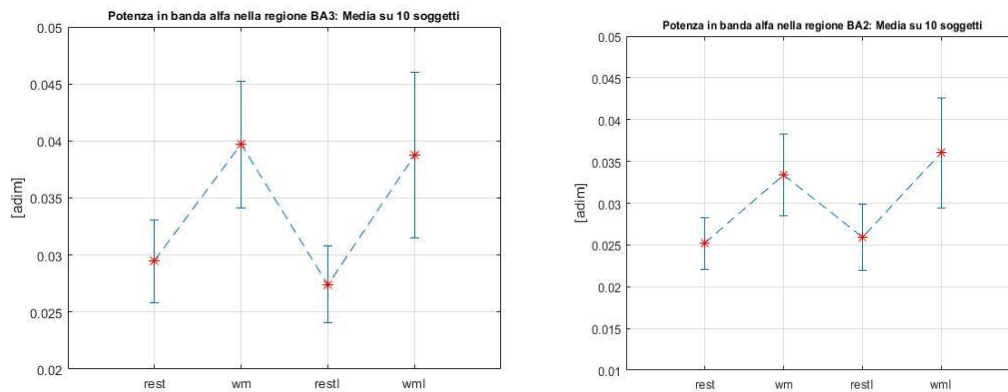
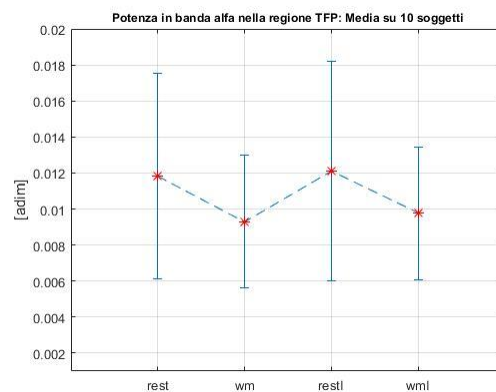
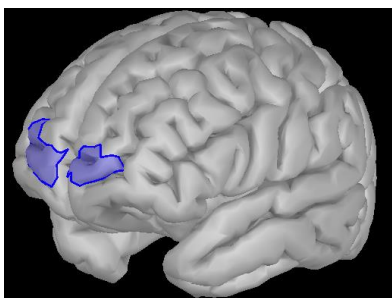
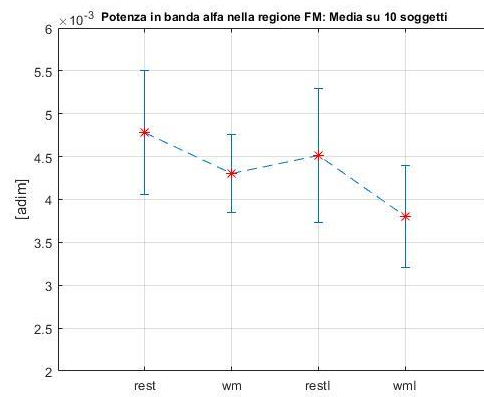
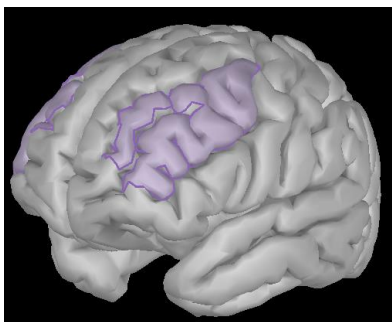
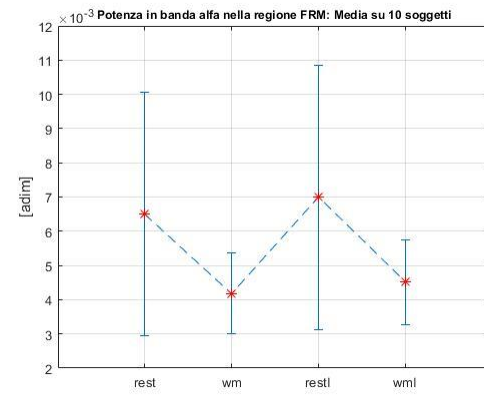
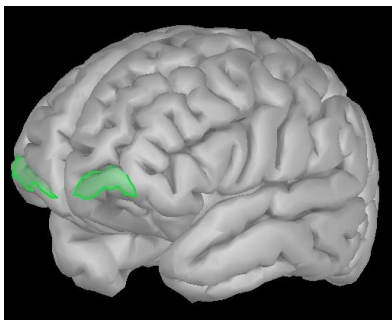
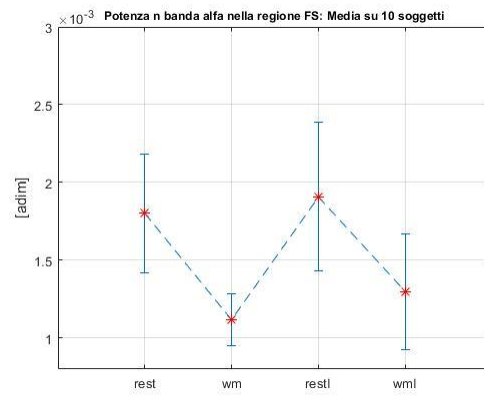
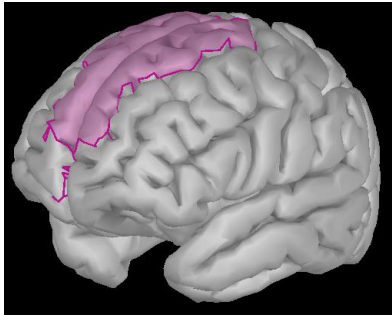


Figura 72: Rappresentazione dell'area corticale BA3 (a sinistra) e BA2 (a destra) e relativi grafici della potenza in banda alfa.

Di contro, è interessante anche analizzare i valori di potenza del ritmo alfa in altre regioni quali le regioni frontali e parietali, le quali in base a dati di letteratura possono svolgere un ruolo di controllo esecutivo e controllare varie componenti del task di working memory . Sono, quindi, presentati i grafici delle seguenti regioni, in questo ordine: *Transversal Frontal Pole (TFP)*, *Frontal Superior (FS)*, *Frontal Marginalis (FRM)*, *Frontal Middle (FM)* e *Parietal Superior (PS)*.





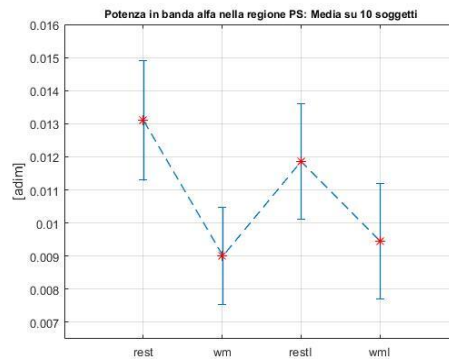
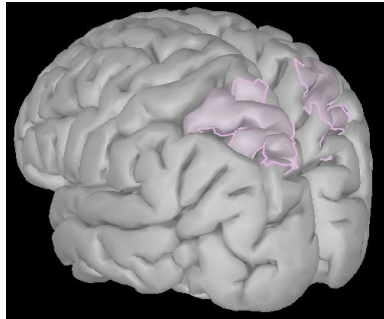


Figura 73: Rappresentazione delle aree (in ordine dall'alto verso il basso) Transversal Frontal Pole, Frontal Superior, Frontal Marginalis, Frontal Middle, Parietal Superior, e relativi grafici della potenza in banda alfa.

Si osservi come, nei grafici di tutte le aree, il ritmo alfa subisca un evidente decremento in fase di working memory rispetto alla fase di relax. Questi risultati possono essere considerati come la controprova della teoria sull'effetto inibitorio del ritmo alfa. Difatti, come si riscontra un incremento della potenza alfa nelle regioni task-irrelevant, si avrà un decremento del ritmo nelle regioni funzionalmente coinvolte nella prova. A ulteriore conferma, sono mostrati i valori di potenza nella regione *Frontal Superior*, considerando i due emisferi separati:

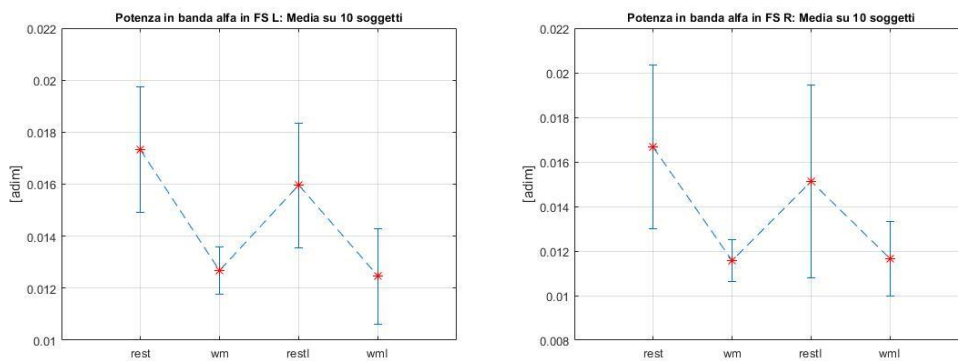
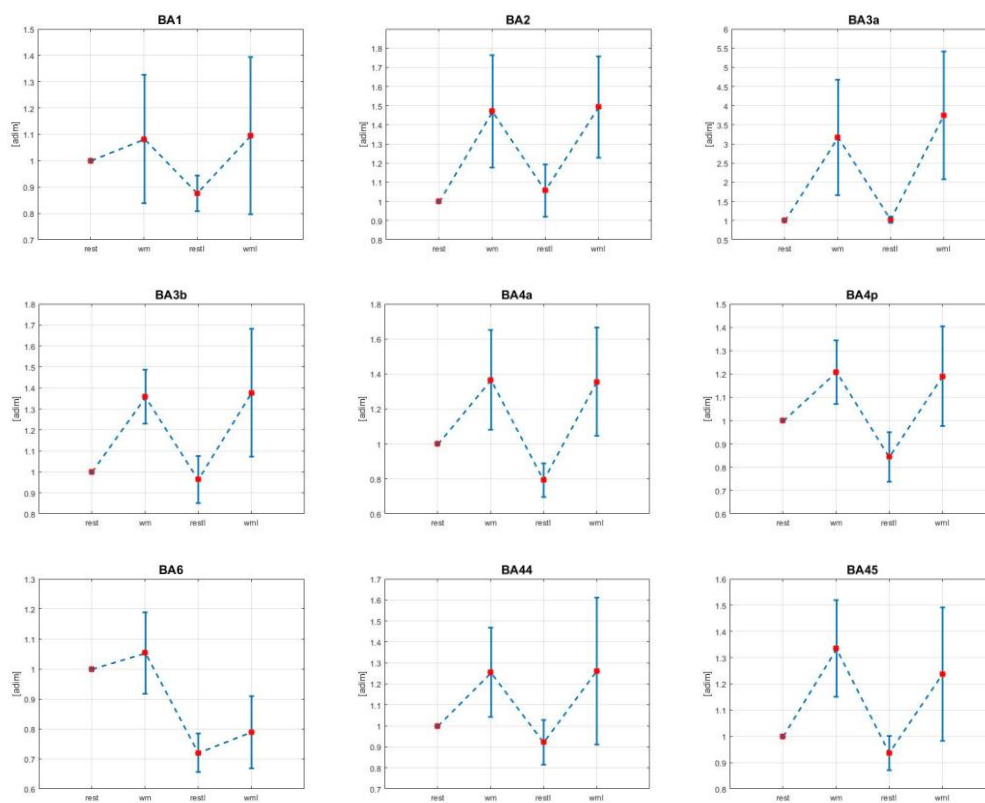


Figura 74: Potenza in banda alfa della regione FS nei due emisferi (in ordine: sinistro e destro), mediata sui 10 soggetti.

Infine, per terminare l'analisi del ritmo alfa, in *Figura 75* sono mostrati i valori di potenza alfa di tutte le aree, normalizzate rispetto al valore in *rest*, ovvero il valore della potenza nella fase di relax della prova senza immagini. Si osserva una generale tendenza della potenza alfa ad aumentare nel passaggio da fase di *rest* a fase *wm* (sia senza immagini che con immagini) nella maggior parte delle regioni ad eccezione di alcune regioni frontali (FS ed FM) e parietali (PS). Da notare, poi, le aree V1 e V2 le quali sono le uniche a mostrare una tendenza al decremento di potenza alpha nel passaggio da *rest* a *wm*, e una tendenza all'incremento di potenza alpha nel passaggio da *restI* a *wmI*.



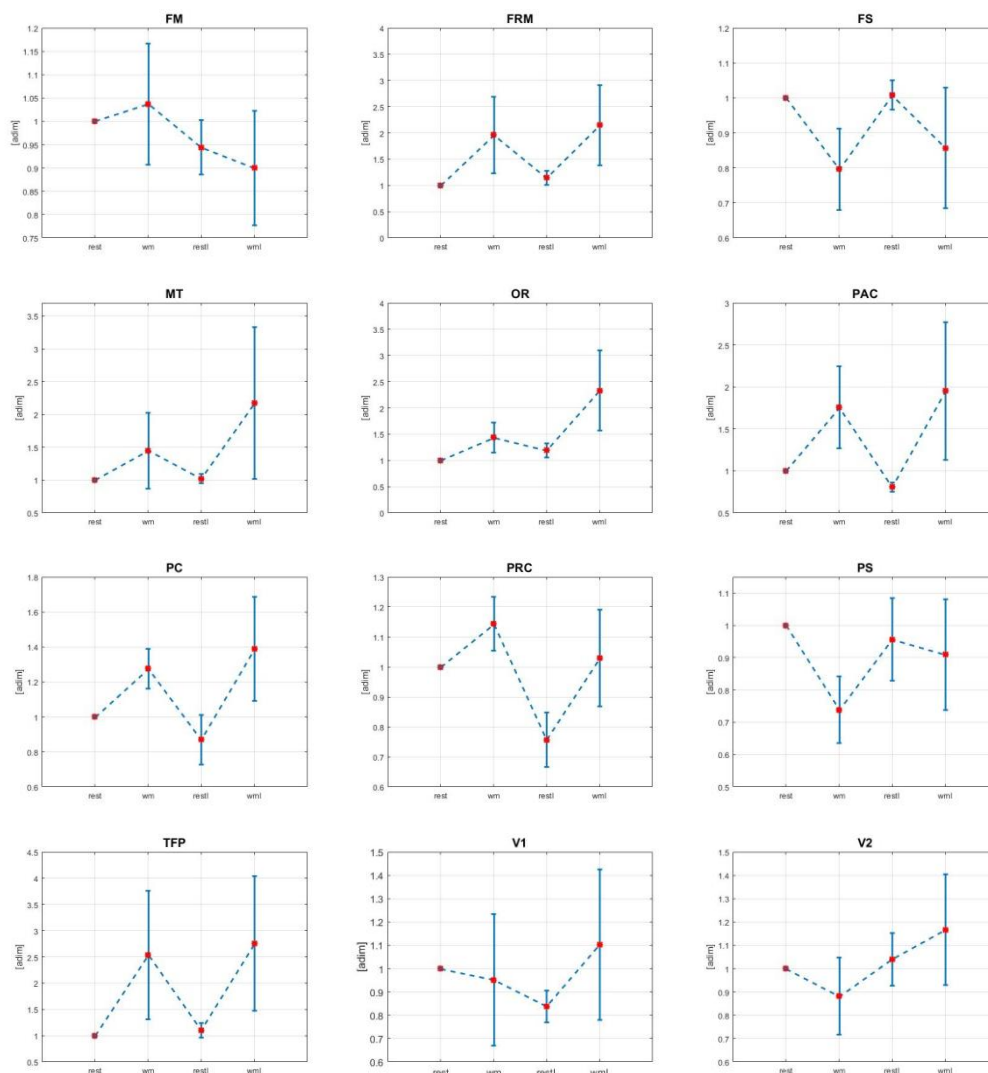
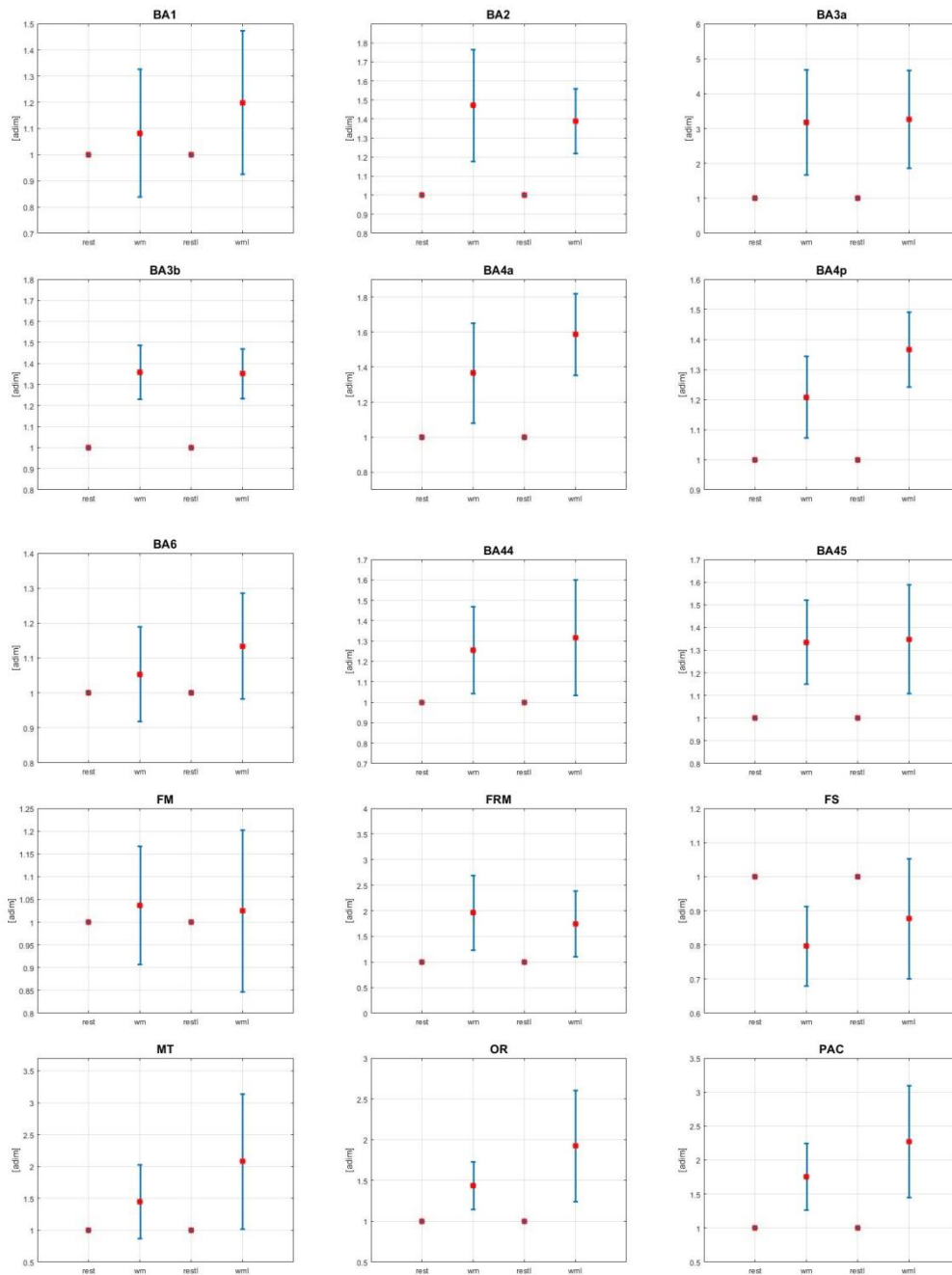


Figura 75: Potenze in banda alfa mediate sui 10 soggetti e normalizzate rispetto ai valori di rest. Le aree in ordine a partire dall'alto e da sinistra a destra sono: BA1, BA2, BA3a, BA3b aree di Brodmann 1, 2, 3 (corteccia somatosensoriale), BA4a e BA4p area di Brodmann 4 (corteccia motoria), BA6 area di Brodmann 6 (corteccia premotoria), BA44 e BA45 aree di Brodmann 44 e 45 (area di Broca), FM Frontal Middle, FRM Frontal Marginalis, FS Frontal Superior, MT area Mediale Temporale (corteccia visiva associativa V5), OR Pars Orbitalis, PAC Paracentral, PC Post Central, PRC Pre Central, PS Post Superior, TFP Transversal Frontal Pole, V1 corteccia visiva primaria, V2 corteccia visiva secondaria.

In *Figura 76* sono, invece, mostrati i valori di potenza delle fasi di *wm* normalizzate rispetto alle potenze delle relative fasi di *rest*, quindi potenza in *wm* normalizzata rispetto a *rest* e *wmI* normalizzata rispetto a *restI*.



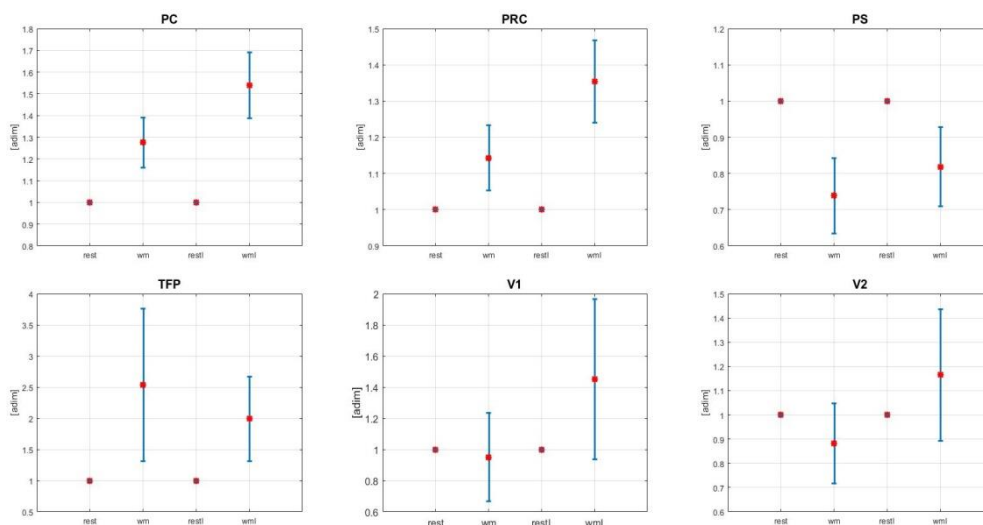


Figura 76: Potenze in banda alfa mediate sui 10 soggetti e normalizzate rispetto ai relativi valori di rest: rest e wm normalizzate rispetto a rest, restI e wmI normalizzate rispetto a restI. Le aree in ordine a partire dall'alto e da sinistra a destra sono: BA1, BA2, BA3a, BA3b aree di Brodmann 1, 2, 3 (corteccia somatosensoriale), BA4a e BA4p area di Brodmann 4 (corteccia motoria), BA6 area di Brodmann 6 (corteccia premotoria), BA44 e BA45 aree di Brodmann 44 e 45 (area di Broca), FM Frontal Middle, FRM Frontal Marginalis, FS Frontal Superior, MT area Mediale Temporale (corteccia visiva associativa V5), OR Pars Orbitalis, PAC Paracentral, PC Post Central, PRC Pre Central, PS Post Superior, TFP Transversal Frontal Pole, V1 corteccia visiva primaria, V2 corteccia visiva secondaria.

Anche dai grafici normalizzati di Figura 76 si possono fare delle considerazioni generali. Nel passaggio da rest a wm senza immagini, la potenza alfa aumenta in quasi tutte le aree, ad eccezione dell'area FS, PS, V1 e V2. Anche nel passaggio da restI a wmI con immagini, la potenza alfa aumenta quasi in tutte le aree, ad eccezione dell'area FS e PS. In molte aree, inoltre, la potenza alpha aumenta maggiormente nel passaggio da restI a wmI rispetto al passaggio da rest a wm. In particolare si noti l'incremento di potenza, tra restI e wmI, nell'area V1 e V2, quando, invece, tra rest e wm senza immagini diminuisce, come già osservato precedentemente.

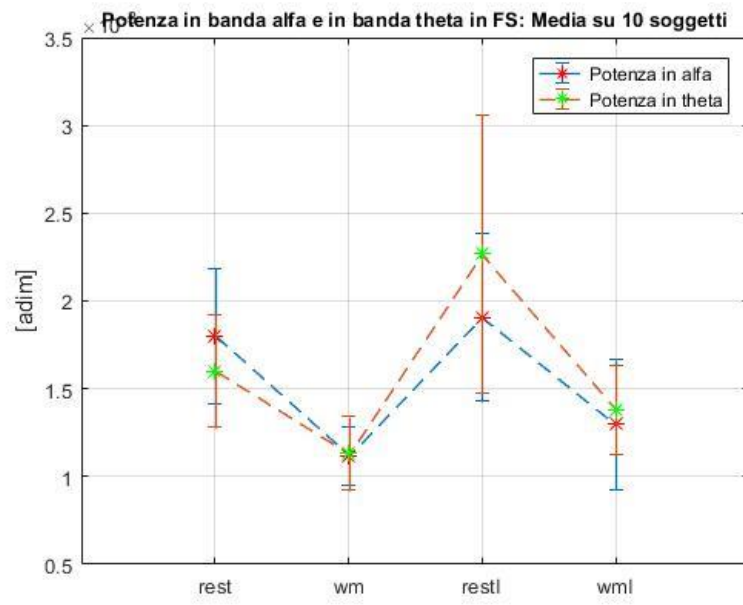
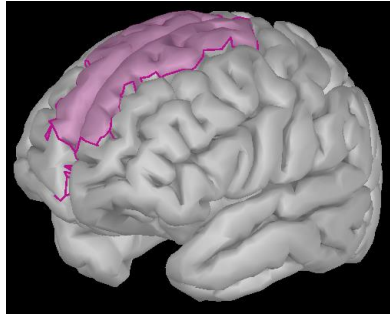
4.2 Analisi dei risultati per il ritmo Theta

Come già detto, la *working memory* è un processo neurocognitivo che consiste nella memorizzazione a breve termine e nell'esecuzione di operazioni, come *updating* (aggiornamento delle informazioni in memoria) o manipolazione di contenuti mnemonici. Una teoria influente propone che la funzione di *updating* della *working memory* sia gestita dalla comunicazione tra la corteccia prefrontale e i gangli della base [23]. Studi precedenti, inoltre, hanno osservato oscillazioni theta (~3-8 Hz), nelle regioni medio-frontali in segnali EEG acquisiti durante task di WM, come ad esempio processi di manipolazione delle informazioni, prove che comportano funzioni esecutive (es. calcoli matematici) o processi di aggiornamento di informazioni in memoria. Pertanto, è possibile che le oscillazioni theta, più specificatamente un loro incremento, registrate nelle regioni medio-frontali, riflettano parzialmente l'operazione esecutiva di manipolazione della *working memory* [23].

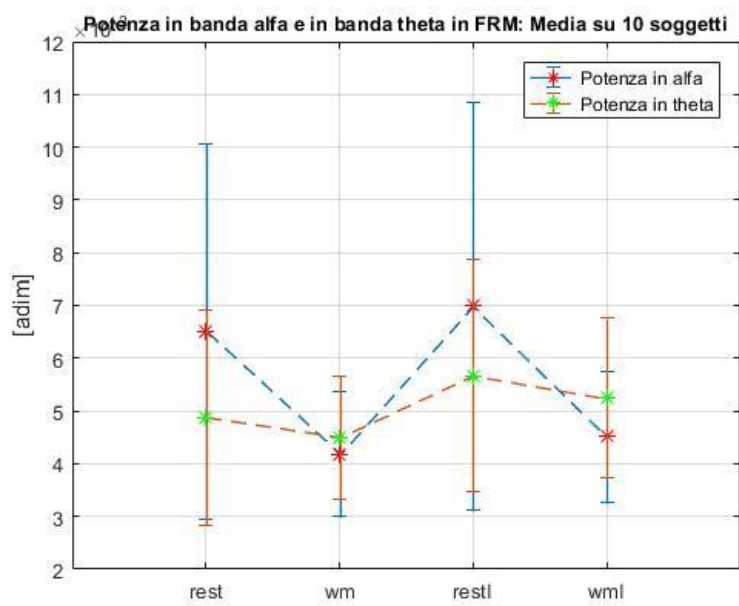
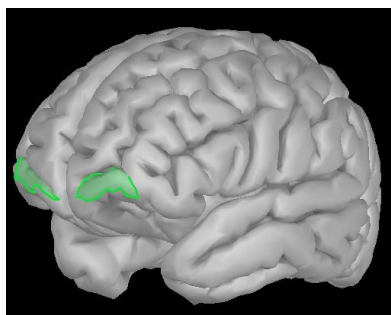
Per tutti questi motivi, in fase di analisi dei segnali si è scelto di valutare anche la potenza in banda theta per verificare se, effettivamente, ci fosse un incremento di potenza nelle regioni frontali durante la fase di *working memory*. Nel seguito verranno, quindi, presentati i grafici di potenza delle aree frontali e parietali, che hanno fornito risultati più interessanti. Per facilitare il confronto tra le oscillazioni theta e le oscillazioni alfa nelle diverse fasi della prova, nei grafici verranno rappresentati i valori di potenza di entrambi i ritmi.

La *Figura 77* mostra l'andamento della potenza in banda theta nella regione *Frontal Superior (Figura 77.A)*, *Frontal Marginalis (Figura 77.B)* e *Frontal Middle (Figura 77.C)*.

A



B



C

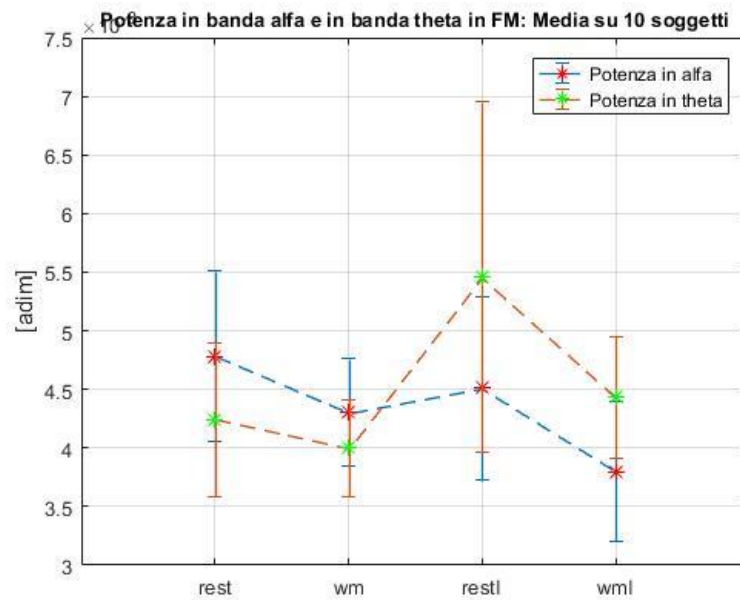
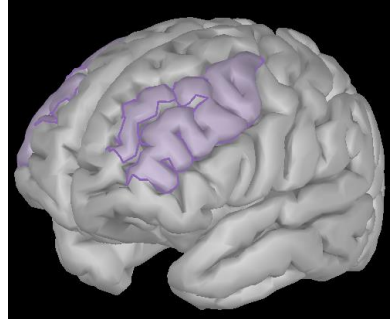


Figura 77: Rappresentazione delle aree (in ordine dall'alto verso il basso) Frontal Superior, Frontal Marginalis e Frontal Middle e relativi grafici della potenza in banda alfa e in banda theta.

Si noti che le teorie trovate in letteratura non trovano riscontro nei risultati. Nelle fasi di working memory, in tutte e tre le aree frontali considerate, e in entrambe le condizioni sperimentali, vi è un decremento della potenza in banda theta invece che un incremento, come ci saremmo aspettati. Questo può essere spiegato dal fatto che i risultati trovati in letteratura derivano da dati provenienti da registrazioni sullo scalpo

e non dalla ricostruzione delle sorgenti corticali. Inoltre, gli studi precedenti spesso si riferiscono a prove in cui si hanno risposte event-related. Questo esperimento, invece, è caratterizzato da 5 minuti di rest e 5 minuti di calcolo a mente, durante i quali vi è un'attività generale delle aree corticali, che non è facile interpretare.

Tuttavia, in tutte e tre le aree si osserva un valore di potenza in *wmI* maggiore rispetto a *wm* (senza immagini), questo è plausibile, in quanto, nella prova con immagini il soggetto è distratto dallo scorrimento delle immagini, quindi il processo esecutivo richiede maggiore attenzione e controllo.

Per fare ulteriori considerazioni vengono mostrati i valori di potenza delle oscillazioni theta registrate nei due emisferi separatamente, sia per l'area *Frontal Middle* (Figura 78) che per l'area *Frontal Marginalis* (Figura 79):

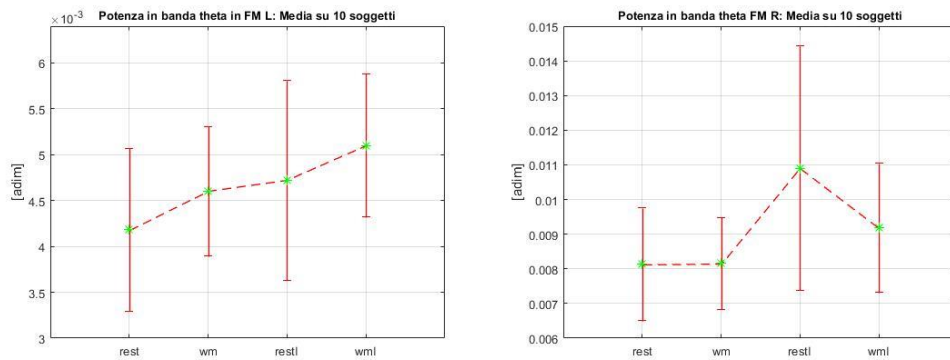


Figura 78: Potenza in banda theta della regione FM nei due emisferi (in ordine: sinistro e destro), mediata sui 10 soggetti.

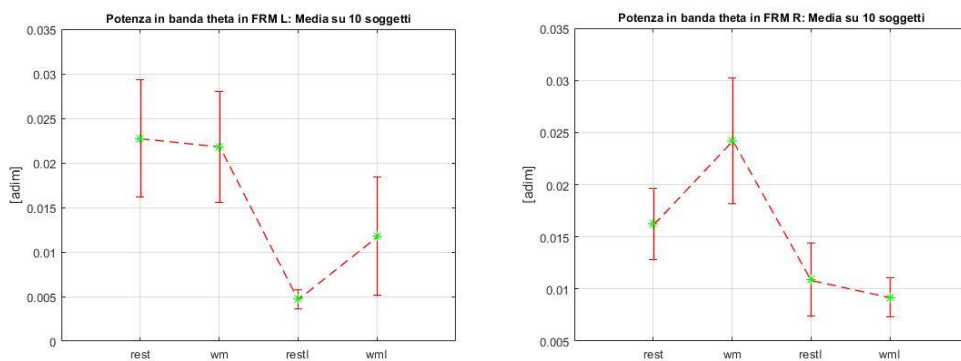


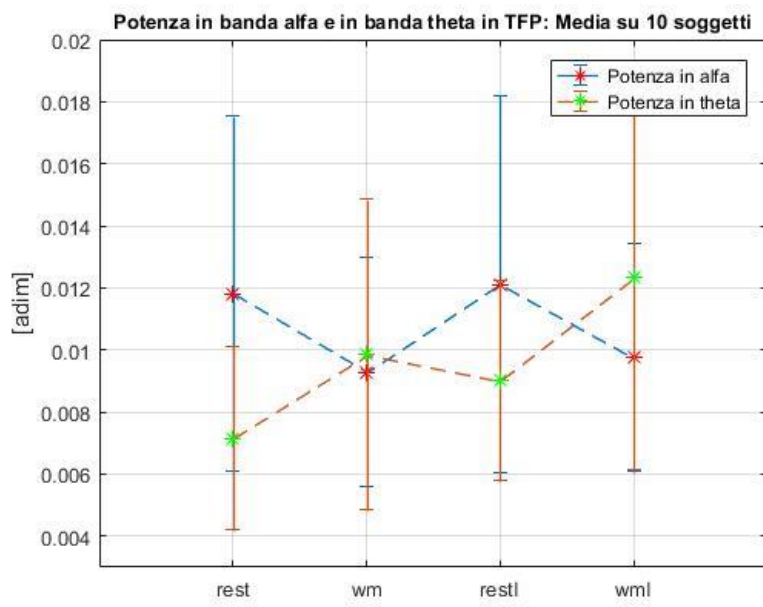
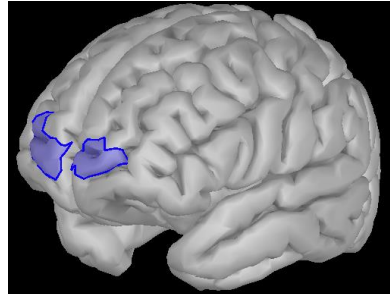
Figura 79: Potenza in banda theta della regione FRM nei due emisferi (in ordine: sinistro e destro), mediata sui 10 soggetti.

In *Figura 78* si osserva un diverso andamento delle potenze tra l'emisfero sinistro (a sinistra in figura) e l'emisfero destro (a destra in figura). Nell'emisfero sinistro si ha un incremento della potenza in theta nella fase di working memory in entrambe le condizioni sperimentali, mentre nell'emisfero destro vi è un decremento della potenza rispetto alla relativa fase di relax. Questo potrebbe significare che l'attività nell'emisfero sinistro fornisca un maggior contributo nello svolgimento dei processi esecutivi. Tuttavia, in entrambi gli emisferi i valori di potenza in *wm* con immagini è sempre più alto rispetto alla fase di *wm* senza immagini, il che potrebbe supportare la necessità di un maggior controllo esecutivo in presenza di distrattori (ovvero, le immagini che scorrono).

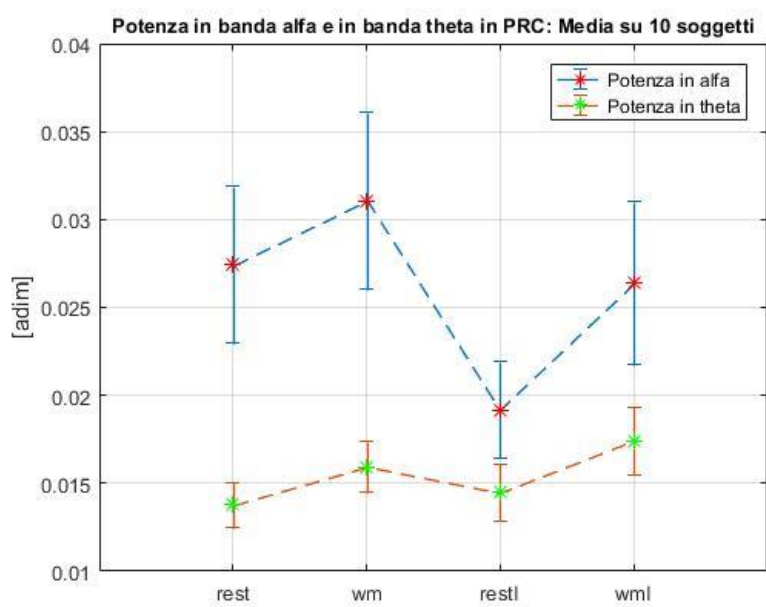
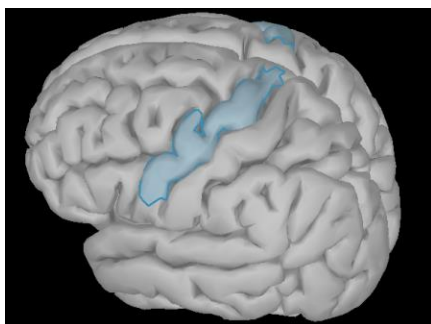
In *Figura 79*, invece, si osserva un aumento della potenza theta nella fase di *wm* senza immagini, maggiormente evidente nell'emisfero destro, e un aumento nella fase di *wm* con immagini, maggiormente evidente nell'emisfero sinistro. In questo caso interpretare i dati risulta più difficile, tuttavia, in riferimento anche ai risultati in *Figura 78*, si potrebbe pensare che l'emisfero sinistro sia maggiormente coinvolto nei processi esecutivi, di conseguenza presenta una maggiore attivazione, rispetto all'emisfero destro, nella fase della prova che richiede più attenzione (*wm* con immagini).

Per completezza si presentano anche i grafici delle aree che hanno mostrato un incremento di potenza theta nelle fasi di esecuzione del compito matematico. In particolare, *Transversal Frontal Pole (TFP, Figura 80.A)*, *Pre-Central (PRC, Figura 80.B)*, *Paracentral (PAC, Figura 80.C)* e *Post-Central (PC, Figura 80.D)*.

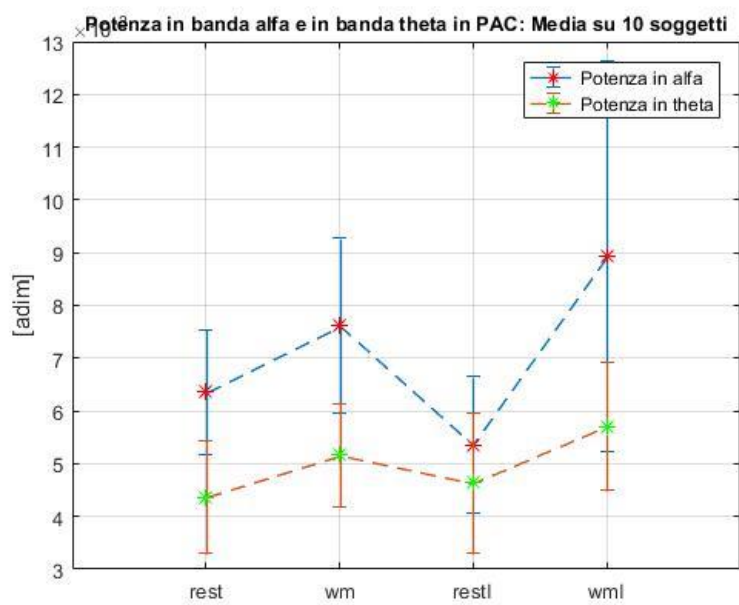
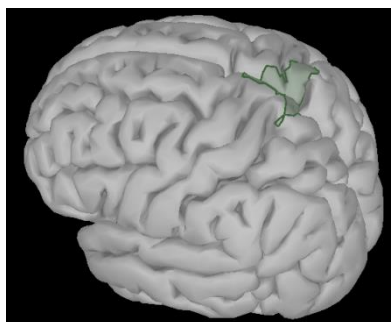
A



B



C



D

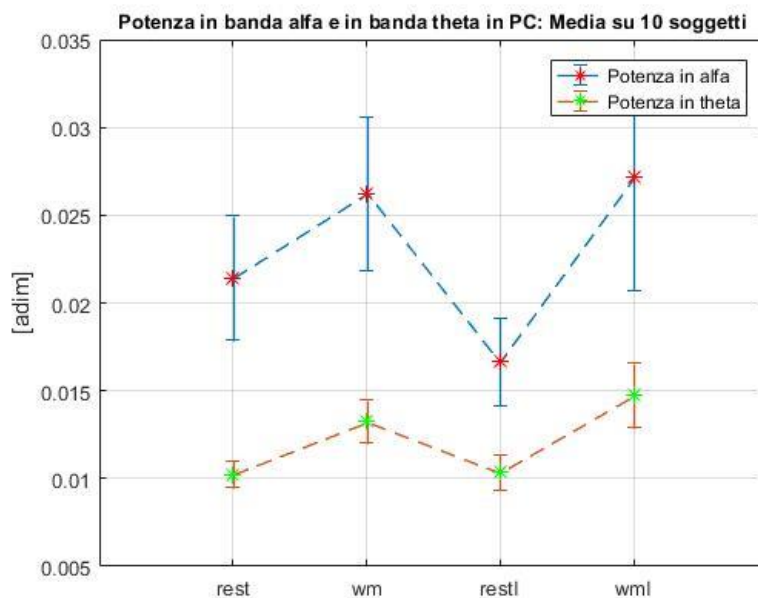
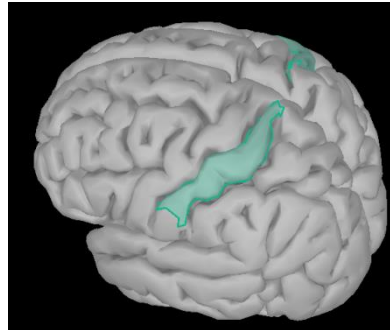
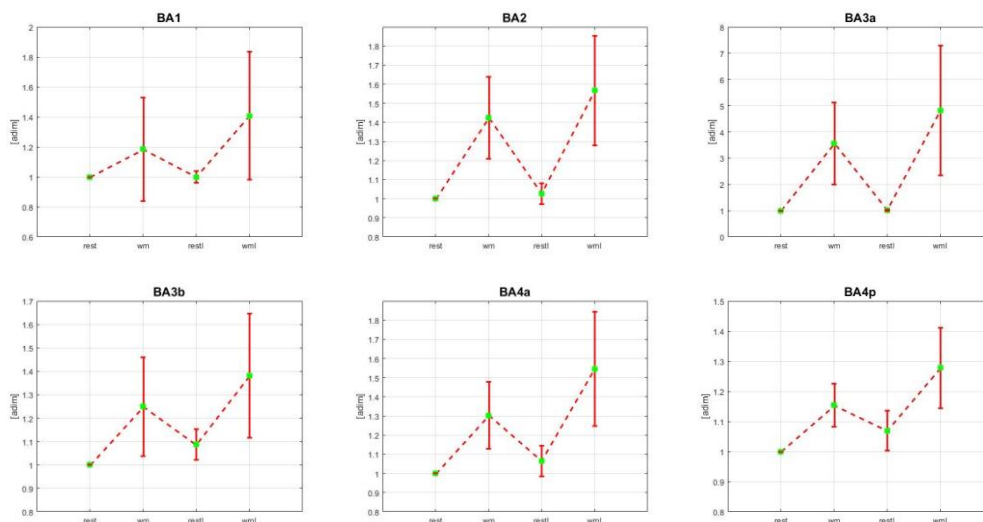


Figura 80: Rappresentazione delle aree (in ordine dall'alto verso il basso) Transversal Frontal Pole, Pre-Central, Paracentral e Post-Central e relativi grafici della potenza in banda alfa e in banda theta.

Dai grafici in *Figura 80* si osserva in tutte le aree considerate un incremento di potenza theta nelle fasi di working memory in entrambe le condizioni sperimentali, in particolare si riscontra una potenza maggiore in *wml* rispetto a *wm*. Specialmente per l'area TFP (*Transversal Frontal Pole*), questo conferma l'ipotesi che vi sia un aumento del ritmo theta in corrispondenza delle fasi in cui è richiesto uno sforzo esecutivo, specialmente in presenza di distrattori, come nella prova con immagini

(*wmI*). Inoltre, dal confronto tra i valori di potenza theta e i valori di potenza alfa, si noti come questi siano complessivamente più alti. Difatti, in letteratura è riportato che il ritmo alfa sia il ritmo dominante nei segnali EEG [17].

Infine, come nel paragrafo 4.1 per l'analisi del ritmo alfa, sono mostrati i grafici sia delle potenze theta normalizzate rispetto alla fase di *rest* senza immagini (*Figura 81*), sia quelli delle potenze theta normalizzate rispetto alle rispettive fase di relax (*Figura 82*), e mediate sui 10 soggetti. In *Figura 81* si osserva un aumento della potenza theta in quasi tutte le aree, sia nel passaggio da *rest* a *wm*, sia nel passaggio da *restI* a *wmI* (dove l'incremento è più evidente). Fanno eccezione l'area BA6, che presenta un leggero calo di potenza theta tra la fase *rest* e la fase *wm* senza immagini; l'area FM (*Frontal Middle*), che presenta un leggero calo tra la fase *restI* e la fase *wmI* con immagini; a l'area FS (*Frontal Superior*), in cui si ha un decremento dalla fase di rilassamento alla fase di working memory, in entrambe le condizioni. Inoltre, si noti l'aumento di potenza theta, in entrambe le condizioni, nelle aree V1 e V2, dove invece, il ritmo alfa subiva un decremento nel passaggio da *rest* a *wm* senza immagini (si veda *Figura 75* e *Figura 76*).



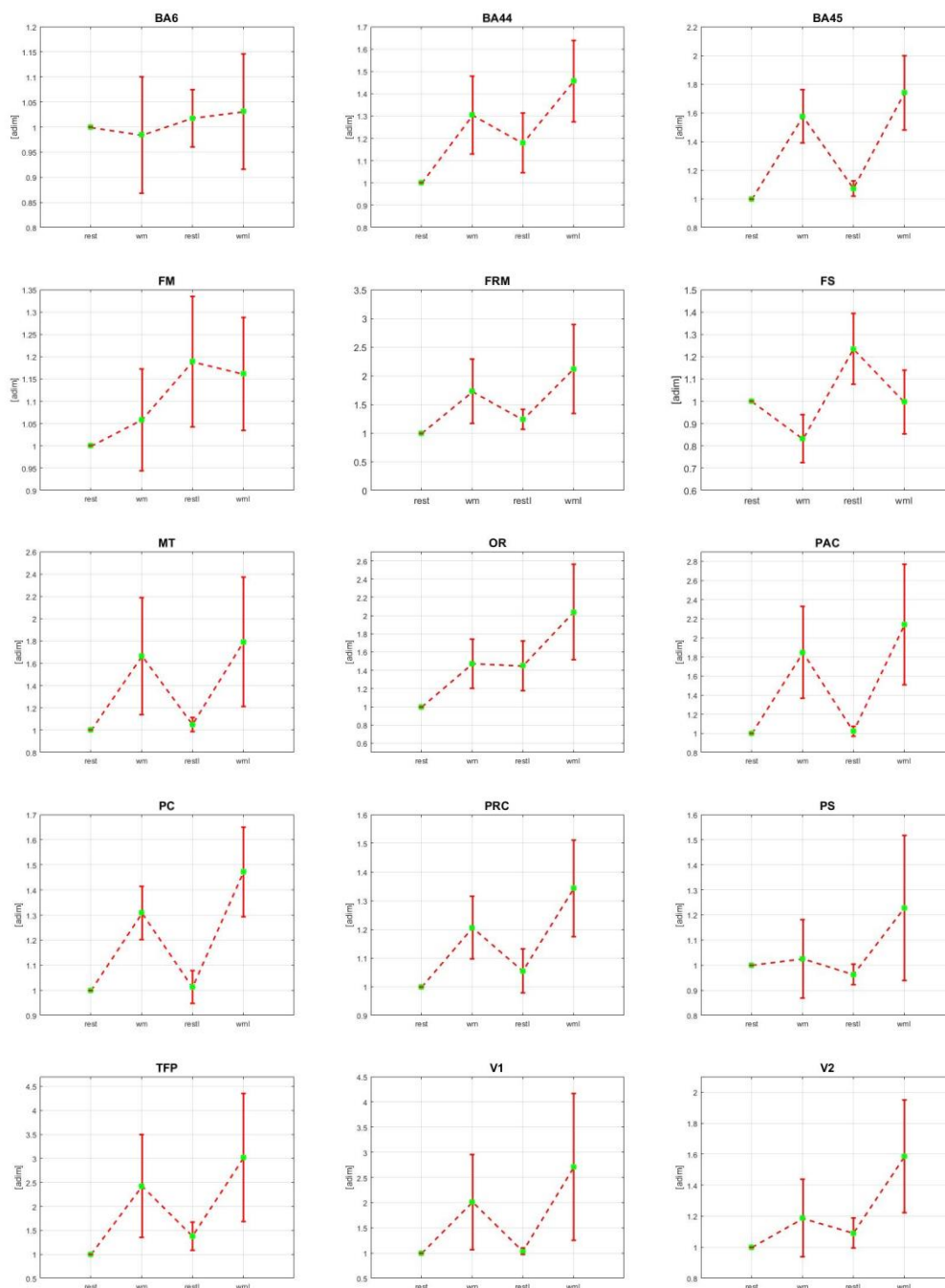
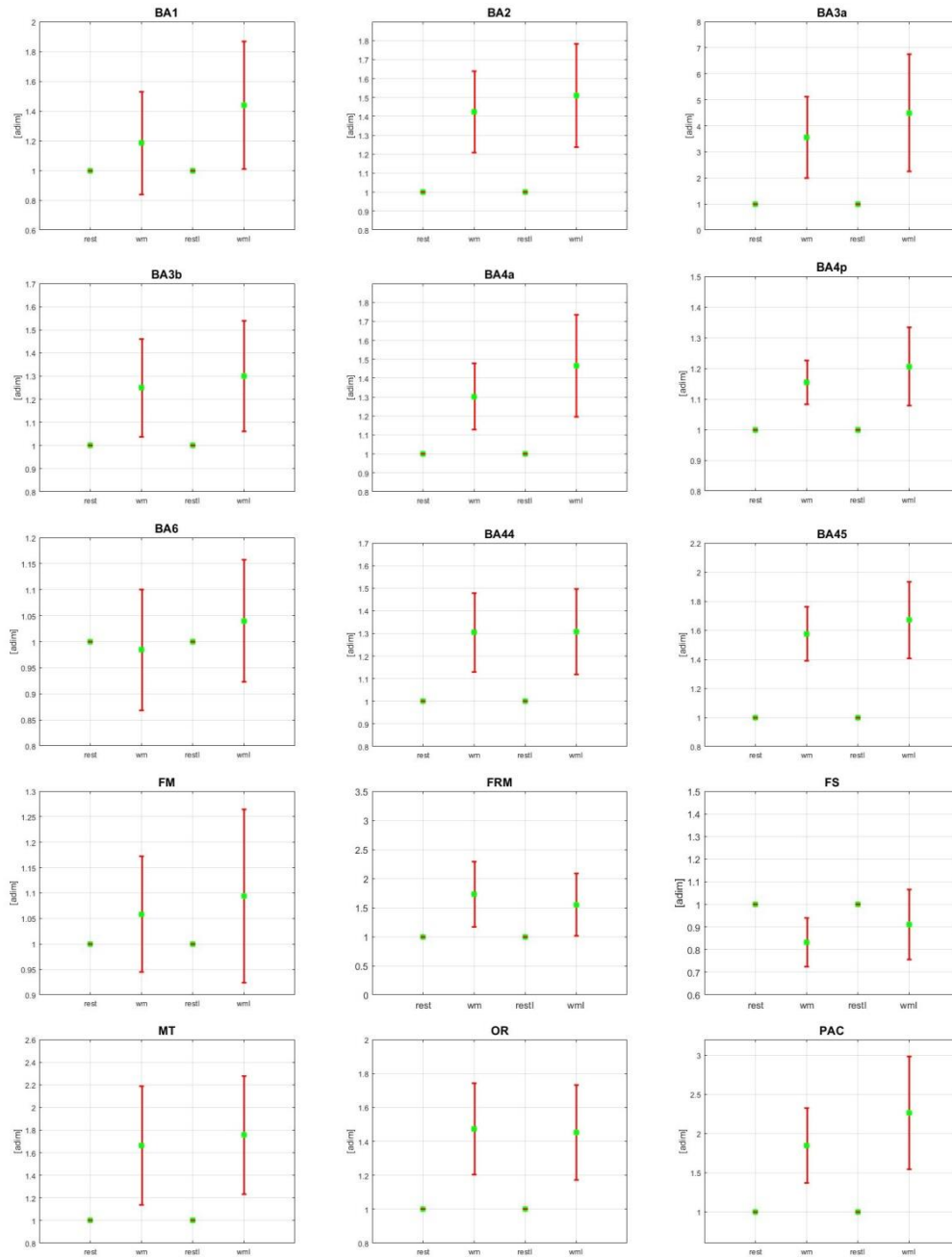


Figura 81: Potenze in banda theta mediate sui 10 soggetti e normalizzate rispetto ai relativi valori di rest. Le aree in ordine a partire dall'alto e da sinistra a destra sono: BA1, BA2, BA3a, BA3b aree di Brodmann 1, 2, 3 (corteccia somatosensoriale), BA4a e BA4p area di Brodmann 4 (corteccia motoria), BA6 area di Brodmann 6 (corteccia premotoria), BA44 e BA45 aree di Brodmann 44 e 45 (area di Broca), FM Frontal Middle, FRM Frontal

Marginalis, FS Frontal Superior, MT area Mediale Temporale (corteccia visiva associativa V5), OR Pars Orbitalis, PAC Paracentral, PC Post Central, PRC Pre Central, PS Post Superior, TFP Transversal Frontal Pole, V1 corteccia visiva primaria, V2 corteccia visiva secondaria.



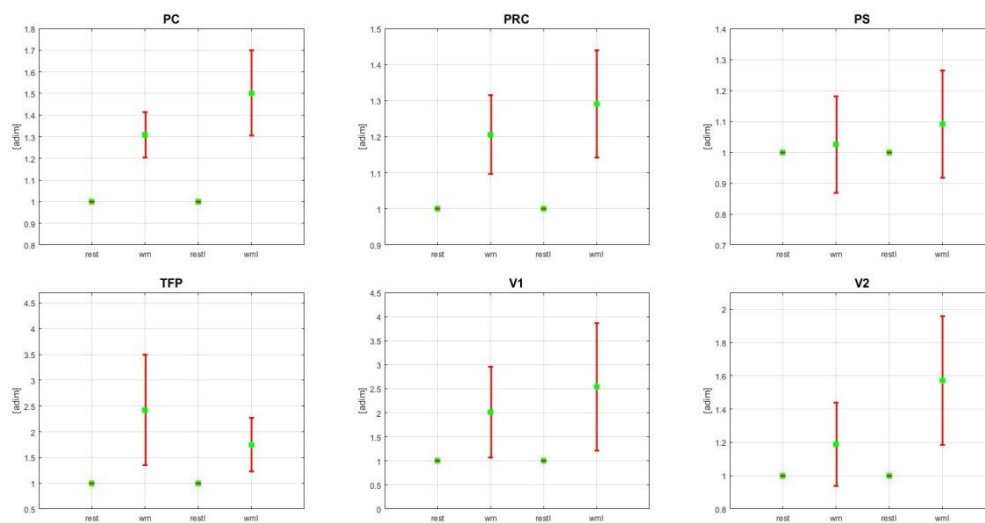


Figura 82: Potenze in banda theta mediate sui 10 soggetti e normalizzate rispetto ai relativi valori di rest: rest e wm normalizzate rispetto a rest, restI e wml normalizzate rispetto a restI. Le aree in ordine a partire dall'alto e da sinistra a destra sono: BA1, BA2, BA3a, BA3b aree di Brodmann 1, 2, 3 (corteccia somatosensoriale), BA4a e BA4p area di Brodmann 4 (corteccia motoria), BA6 area di Brodmann 6 (corteccia premotoria), BA44 e BA45 aree di Brodmann 44 e 45 (area di Broca), FM Frontal Middle, FRM Frontal Marginalis, FS Frontal Superior, MT area Mediale Temporale (corteccia visiva associativa V5), OR Pars Orbitalis, PAC Paracentral, PC Post Central, PRC Pre Central, PS Post Superior, TFP Transversal Frontal Pole, V1 corteccia visiva primaria, V2 corteccia visiva secondaria.

Per i grafici di *Figura 82* si possono fare le stesse considerazioni di *Figura 81*, quindi un aumento della potenza theta, dalla fase di rilassamento alla fase di working memory, in quasi tutte le aree, ad eccezione dell'area BA6 (da rest a wm senza immagini) e dell'area FS (in entrambe le condizioni). Si osservano differenze solo nell'area FM, in cui in *Figura 81* si osservava un decremento della potenza theta tra restI e wml con immagini, mentre aumenta in *Figura 82*.

Conclusioni

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato principalmente quello di acquisire competenze su un nuovo software, Brainstorm, per poi definire una *pipeline* di elaborazione di segnali EEG, che preveda la stima delle sorgenti corticali, ed applicarla a segnali acquisiti durante un *task* di calcolo a mente.

L'approccio al software ha comportato lo studio teorico della modellazione delle sorgenti, quindi dapprima la modalità di risoluzione del problema diretto (o *forward problem*), che consiste nella mappatura dei segnali elettrici cerebrali su un array di sensori e richiede di definire un modello di testa; poi, la risoluzione del problema inverso, ovvero la stima delle sorgenti cerebrali che generano i dati, in accordo con il modello di testa scelto. Per la risoluzione del problema inverso sono stati trattati sia i metodi di risoluzione parametrici, che i metodi di risoluzione non parametrici.

Acquisite le nozioni di base, si è poi passati allo studio del software Brainstorm. Sono stati seguiti diversi tutorials online, che ne illustrano e descrivono le varie funzionalità e applicazioni: come importare e rappresentare i dati acquisiti, come elaborarli nella fase di pre-processing, come stimare l'attivazione delle sorgenti e come farne analisi tempo-frequenza e indagini statistiche. Benché i tutorial si riferissero a elaborazioni con segnali MEG (Magnetoencefalografia), si sono sfruttati come linee guida per definire una *pipeline* di elaborazione da applicare a dati EEG reali, acquisiti presso il LIB (Laboratorio di Ingegneria Biomedica) di Cesena.

I segnali EEG sono stati acquisiti su 10 soggetti durante un *task* di calcolo a mente. La prova consiste in una fase di rilassamento e in una fase di working memory, in cui al soggetto è richiesto di contare all'indietro, sottraendo ricorsivamente 17 a partire da 2500, fino alla fine della prova. Ad ogni soggetto è stato sottoposto il test in due condizioni sperimentali differenti: prova senza immagini (il soggetto durante le fasi della prova fissa una schermata grigia) e prova con immagini (il soggetto durante le fasi della prova fissa una schermata in cui

scorrono varie immagini in ordine casuale di valenza neutra). Lo scopo dell'esperimento era quello di verificare se ci fossero delle variazioni spettrali nelle attivazioni delle aree cerebrali esaminate, tra la fase di rilassamento e quella di working memory, e se ci fossero differenze tra la prova con immagini e la prova senza immagini. In particolare, ci si è focalizzati sull'attivazione del ritmo alfa e del ritmo theta: il primo, infatti, sembra avere un ruolo importante nello svolgimento di compiti attentivi, in quanto risponde con un aumento di potenza nelle regioni cerebrali task irrelevant e con una diminuzione in quelle coinvolte nel e rilevanti per il compito; per il secondo, invece, da dati in letteratura, ne è stato riscontrato un aumento in potenza nelle regioni medio-frontali ma anche parietali durante compiti che richiedono un processo esecutivo e di manipolazione di informazioni in memoria.

I risultati ottenuti, in parte, confermano i dati presenti in letteratura. Per quanto riguarda il ritmo alfa si ha un aumento della potenza nelle fasi di working memory in quasi tutte le aree, ad eccezione dell'area FS (*Frontal Superior*), PS (*Parietal Superior*), V1 e V2 della corteccia visiva. Queste ultime, tuttavia presentano un incremento nel passaggio dalla fase di rilassamento alla fase di *wm* con immagini, confermando l'ipotesi sulla funzione inibitoria del ritmo alfa. Infatti, dato che la prova prevede lo scorrimento di immagini, che rappresentano una distrazione per lo svolgimento del compito, il soggetto tenderà ad inibire le regioni che potrebbero interferire sull'efficienza dell'esecuzione. Per quanto riguarda il ritmo theta, anche in questo caso si riscontra un aumento di potenza in quasi tutte le aree (e in particolare nell'area *Frontal Middle*, come riportato in letteratura), ad eccezione, in particolare, dell'area FS (*Frontal Superior*) dove si osserva un calo della potenza in entrambe le condizioni sperimentali e dove, in realtà, ci saremmo aspettati di osservare un aumento nel passaggio da *rest* a *wm* e da *restI* a *wmI*. Si è, poi, eseguito un confronto tra i valori di potenza theta, derivanti dall'attivazione delle aree nell'emisfero sinistro e destro separatamente, e si è evinto un maggior contributo (valore di potenza maggiore) al processo esecutivo, da parte dell'emisfero sinistro.

Un limite relativo ai risultati del presente lavoro è che molte delle aree corticali esaminate presentano pattern simili di potenza in banda alpha e in banda theta, cioè non ci sono cambiamenti peculiari per una o poche specifiche aree (ad eccezione di V1 e V2 che sono le uniche a mostrare una tendenza del ritmo alfa alla diminuzione nella fase di working memory senza immagini e ad un incremento nella fase di working memory con immagini). Ovvero la potenza alpha tende ad incrementare nella maggior parte delle aree così come la potenza theta, mentre altri studi identificano variazioni limitatamente a specifiche aree. Tuttavia è importante osservare che qui, a causa del numero limitato di soggetti e della notevole variabilità intersoggetto, non sono state fatte analisi statistiche. Sicuramente uno sviluppo futuro richiede di acquisire un maggior numero di soggetti per potere eseguire test statistici ed isolare quindi aree che mostrano differenze significative in specifiche bande nel passaggio da rest a working memory. Inoltre, la prova a cui sono stati sottoposti i partecipanti all'esperimento differisce rispetto a molte prove di working memory usate in altri studi di letteratura e ciò può necessariamente comportare differenze nelle attivazioni cerebrali. Inoltre, molti studi si riferiscono a task event-related, in cui si analizzano i segnali in piccole finestre temporali nell'intorno dell'evento di interesse, o comunque limitando le fasi di working memory a intervalli di breve durata (ad es. mezzo minuto). In questo caso, invece, si hanno registrazioni di 5 minuti ciascuna (sia per la fase di relax , che per la fase di working memory, in entrambe le condizioni), durante le quali è più difficile accertare l'effettiva esecuzione del task di working memory.

In prospettiva, oltre ad eseguire l' esperimento su un numero di soggetti maggiore, in modo da ridurre la forte variabilità inter-soggetto e eseguire test statistici si potrebbe modificare il protocollo sperimentale intervallando brevi periodi di rest a brevi periodi di working memory mantenendo la *pipeline* descritta nell'elaborato. Inoltre, in futuro andrebbe fatta una revisione molto approfondita della letteratura per identificare a priori le possibili aree corticali implicate in un processo di working memory del tipo utilizzato nel presente lavoro.

Le ultime considerazioni sono sul software Brainstorm. Negli ultimi vent'anni sono stati presentati numerosi approcci al problema dell'imaging delle sorgenti EEG. La valutazione e l'adozione di uno di questi da parte della comunità delle neuroscienze è stata limitata da due principali fattori: i codici di programmazione, per la maggior parte di queste tecniche, non sono disponibili; i software in commercio spesso sono costosi e presentano un'architettura chiusa che ne rende difficile il confronto o l'estensione con altri metodi [24]. Brainstorm, al contrario, rappresenta un'applicazione open-source collaborativa e in continuo aggiornamento, che offre numerosi strumenti user-friendly per l'analisi di registrazioni cerebrali. Racchiude in un unico pacchetto una vasta gamma di tecniche di elaborazione dei segnali, che includono il filtraggio in digitale, l'analisi di immagini 3D, elaborazione di array di segnali, analisi statistiche, ricostruzione e modellazione delle sorgenti (mediante diversi metodi) e analisi tempo-frequenza. Uno dei principali vantaggi di Brainstorm è la sua ricca interfaccia grafica, particolarmente intuitiva, che ne permette l'utilizzo anche ad utenti non esperti di programmazione. Per i più esperti, il vantaggio del pacchetto Brainstorm, è la sua implementazione in Matlab che consente di esaminare il codice ed eventualmente integrarlo e modificarlo con codice ad hoc.

In un futuro Brainstorm potrebbe essere sfruttato per creare delle *pipeline* di lavoro con lo scopo di standardizzare i processi di analisi in un unico ambiente software e quindi promuovere la riproducibilità e l'efficienza in contesti di ricerca MEG/EEG.

Bibliografia

- [1] Baillet S., Mosher J.C., Leahy R.M., “Electromagnetic Brain Mapping”, IEEE Signal Processing Magazine (Volume:18 Issue:6, 14-30), Nov 2001.
- [2] <https://aitn.it/aree-tematiche/competenze/elettroencefalogramma-eeg/>
- [3] Kandel E.R., Schwartz J. H., Jessell T.M., Siegelbaum S.A., Hudspeth A.J., “Principles of Neural Science” Fifth Edition, (Chapter 15, 338-350), 2013.
- [4] [http://www.treccani.it/enciclopedia/struttura-e-funzione-del-cervello_\(Dizionario-di-Medicina\)/](http://www.treccani.it/enciclopedia/struttura-e-funzione-del-cervello_(Dizionario-di-Medicina)/)
- [5] [https://www.cell.com/current-biology/pdf/S0960-9822\(11\)01198-5.pdf](https://www.cell.com/current-biology/pdf/S0960-9822(11)01198-5.pdf).
- [6] Olejniczak P., “Neurophysiologic Basis of EEG”, J Clin Neurophysiol (23(3): 186-9), Jun 2006.
- [7] Gregory L., Khazipov H. e R., “Basic Neurophysiology and the Cortical Basis of EEG”, The Clinical Neurophysiology Primer (19-33), 2007.
- [8] Mecarelli O., Coppola G., Elia M., Franzoni E., Mastrangelo M., Monti F., Muscas G., Striano S., “Elettroencefalografia Standard e Prove di Attivazione”.
- [9] Darvas F., Pantazis D., Kucukaltun-Yildirim E., Leahy R.M., “Mapping human brain function with MEG and EEG: methods and validation”, NeuroImage, (23 Suppl 1:S289-99), 2004.
- [10] Hallez H., Vanrumste B., Grech R., Muscat J., De Clercq W., Vegult A., D’Asseler Y., Camilleri K.P., Fabri S.G., Van Huffel S., Lemahieu I., “Review on solving the forward problem in EEG source analysis”, Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation, (4-46), Nov 2007.
- [11] Hämäläinen, Matti & Hari, Riitta & Ilmoniemi, Risto J. & Knuutila, Jukka & Lounasmaa, Olli V.. 1993. Magnetoencephalography theory, instrumentation, and applications to noninvasive studies of the working human brain. Reviews of Modern Physics. Volume 65, Issue 2. 413-497, 1993.
- [12] Grech R., Cassar T., Muscat J., Camilleri K.P., Fabri S.G., Zervakis M., Xanthopoulos P., Sakkalis V., Vanrumste B., “Review on solving the inverse problem in EEG source analysis”, Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation, (5-25), Nov 2008.

- [13] Tadel F., Baillet S., Mosher J. C., Pantazis D., Leahy R. M., “Brainstorm: A User-Friendly Application for MEG/EEG Analysis,” *Computational Intelligence and Neuroscience*, vol. 2011, Page(s):1–13), 2011.
- [14] Strophal M., Bauer AK. R., Debener S., Bleichner M.G., “Source-Modeling Auditory Processes of EEG Data Using EEGLAB and Brainstorm”, *Frontiers in Neuroscience*, Volume 12 (Page(s):309), 2018.
- [15] <https://neuroimage.usc.edu/brainstorm/Introduction>
- [16] Rypma, B and M D'Esposito. “The roles of prefrontal brain regions in components of working memory: effects of memory load and individual differences” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 96 (6558-63), May 1999.
- [17] Klimesch W., “Alpha-band oscillations, attention, and controlled access to stored information”, *Trend in Cognitive Sciences*, Volume 16 (606-17), 2012.
- [18] Lang P.J., Bradley M.M., Cuthbert B.N., “International Affective Picture System (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual”, Technical Report A-8, University of Florida, 2008.
- [19] Hyvarinen A., Oja E., “Independent Component Analysis: Algorithms and Applications” , 13(4-5):411-430, 2000.
- [20] Jensen, O., Tesche, C.D., Frontal theta activity in humans increases with memory load in a working memory task. *European Journal of Neuroscience* 15, 1395–139, 2002.
- [21] Sauseng, P., Hoppe, J., Klimesch, W., Gerloff, C., Hummel, F.C., Dissociation of sustained attention from central executive functions: local activity and interregional connectivity in the theta range. *European Journal of Neuroscience* 25, 587–593, 2007.
- [22] Harmony, T., Fernandez, T., Silva, J., Bosch, J., Valdes, P., Fernandez-Bouzas, A., Galan, L., Aubert, E., Rodriguez, D., “Do specific EEG frequencies indicate different processes during mental calculation?” *Neuroscience Letters* 266, 25–28, 1999.

- [23] Itthipuripat S., Wessel J.R., Aron A.R., “Frontal theta is a signature of successful working memory manipulation”, *Experimental brain research*, vol. 224: 255-62, Jan 2012.
- [24] Mosher J.C., Baillet S., Darvas F., Pantazis D., Kucukaltun-Yildirim E., Leahy R.M., “Brainstorm Electromagnetic Imaging Software”, *International Journal of Bioelectromagnetism*, Vol. 7, No. 2, 2005.