

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**Ambiti applicativi dell'EEG e della fMRI nello studio dei processi  
cognitivi**

Elaborato in  
Strumentazione Biomedica

Relatore  
Prof. Ing. Cristiano Cuppini

Presentata da  
Ilaria Fabbri

Sessione II  
Anno Accademico: 2013/2014







## Indice

<b>Introduzione</b>	pag. 7
<b>1 Analisi anatomica e funzionale dell'encefalo</b>	pag. 9
1.1 Organizzazione della corteccia cerebrale	pag. 13
1.2 Attività elettrica cerebrale e metodi di analisi	pag. 16
<b>2 Tecniche d'indagine cerebrale</b>	pag. 21
2.1 Elettroencefalografia	pag. 22
2.1.1 EEG	“
2.1.2 Acquisizione del segnale EEG	pag. 26
2.2 Risonanza Magnetica funzionale (fMRI)	pag. 31
2.2.1 La risposta emodinamica	pag. 33
2.2.2 Preprocessing	pag. 36
2.3 Integrazione del segnale EEG e delle immagini fMRI	pag. 38
<b>3 Applicazioni neurofisiologiche delle tecniche d'indagine cerebrale</b>	pag. 41
3.1 EEG	“
3.2 fMRI	pag. 49
3.3 Combinazione EEG e fMRI	pag. 59
3.4 fMRI applicata allo studio della sinestesia	pag. 66
<b>4 Sviluppo di un modello interpretativo applicato al caso della sinestesia visuo-tattile</b>	pag. 73
4.1 Il modello	pag. 74
4.2 Risultati	pag. 76
4.3 Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) per lo studio della sinestesia	pag. 80
4.4 Conclusioni	pag. 83
<b>Conclusioni</b>	pag. 85
<b>Bibliografia</b>	pag. 87



## INTRODUZIONE

L'obiettivo della mia tesi è quello di presentare e confrontare due tipologie di tecniche di indagine cerebrale, l'EEG (Elettroencefalogramma) e la fMRI (Risonanza Magnetica funzionale), evidenziandone i vantaggi e gli svantaggi, e le loro applicazioni in campo medico. Successivamente è presentato lo sviluppo di un modello sperimentale volto allo studio del fenomeno della sinestesia, a partire da dati estratti mediante le tecniche precedenti.

Il *primo capitolo* è dedicato al cervello. Qui viene descritto da un punto di vista anatomico l'encefalo, il quale è suddiviso in: corteccia cerebrale, cervelletto, prosencefalo e tronco encefalico. Successivamente è presentata l'organizzazione della corteccia cerebrale secondo Brodmann. Infine è descritta la trasmissione dell'informazione nervosa.

Il *secondo capitolo* presenta le due metodologie di indagine cerebrale non invasive: l'Elettroencefalografia e la Risonanza Magnetica funzionale. Di entrambe le procedure diagnostiche sono descritti i principi fisici di base e come avviene l'acquisizione del segnale. È poi evidenziato come l'integrazione del segnale elettroencefalografico (EEG) e delle immagini fMRI sia estremamente utile in campo medico, poiché permette il superamento dei limiti di ciascuna tecnica.

Il *terzo capitolo* riporta, per ciascuna tecnica di indagine e la loro integrazione, sperimentazioni che ne evidenziano i pregi. L'ultima sperimentazione introduce lo studio della sinestesia, che sarà l'argomento del capitolo successivo.

Il *quarto capitolo* presenta un modello interpretativo applicato al caso della sinestesia visuo-tattile, basato su dati di EEG e fMRI presenti in letteratura, il cui scopo è comprendere i meccanismi e le connessioni cerebrali alla base della patologia.

Infine nell'ultimo capitolo sono indicate le considerazioni conclusive del mio elaborato.





# CAPITOLO 1

## Analisi anatomica e funzionale dell'encefalo

I neuroscienziati dividono comunemente il cervello in una serie di regioni secondo un criterio che rispecchia sia lo sviluppo evolutivo, sia differenze di funzionalità e di fisiologia. La suddivisione più comune presenta una distinzione tra:

- il “cervello rettile”: responsabile per le fondamentali funzioni di sopravvivenza come respirare, dormire e mangiare;
- il “cervello mammifero”: comprende le unità associate alle emozioni sociali;
- il “cervello ominide”: caratteristico degli esseri umani. Esso comprende la maggior parte della corteccia, il fine strato di sostanza grigia composto da cellule nervose, che costituisce la parte periferica degli emisferi cerebrali, ed è responsabile di tutte funzioni di alto livello come il linguaggio, la coscienza e la capacità di ragionamento a lungo termine.

Di forma ovoidale, con un peso circa di 1.350g nell'uomo, il cervello è contenuto nella scatola cranica, protetto da tre membrane dette meningi: la dura madre, l'aracnoide e la pia madre. Il cervello è composto da due differenti porzioni: la sostanza grigia, costituita dall'insieme dei corpi dei neuroni, e la sostanza bianca, l'insieme dei fasci delle fibre nervose che appaiono bianchi a causa del loro rivestimento mielinico.

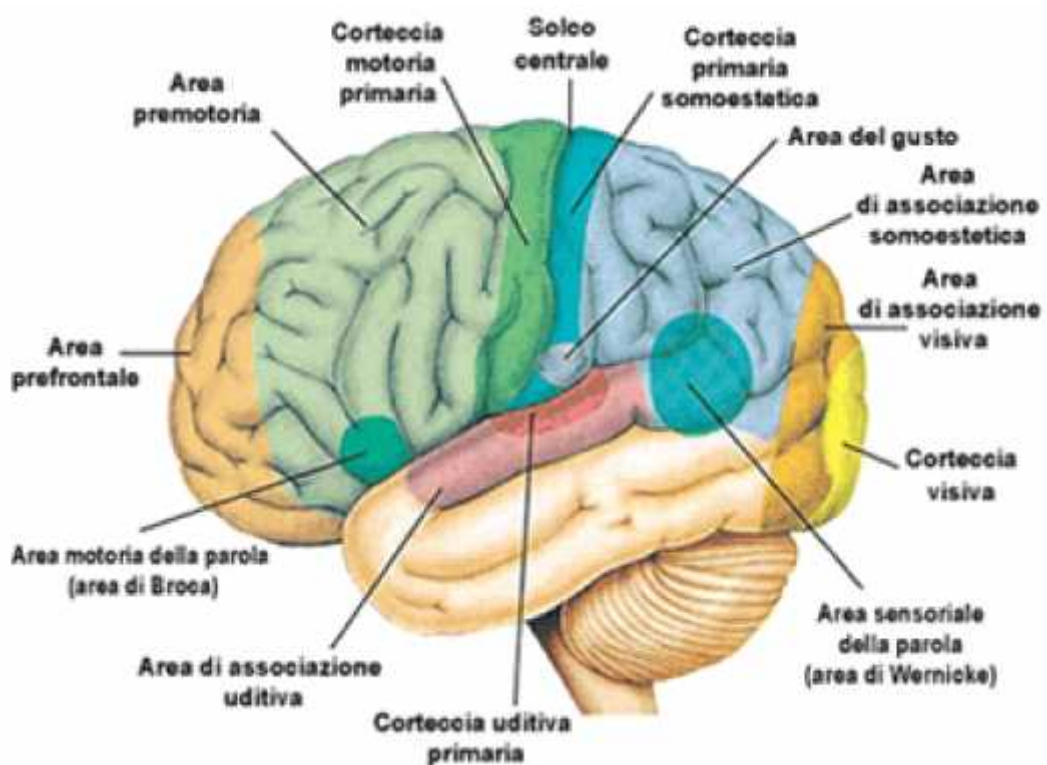
Il Sistema Nervoso Centrale (SNC) è composto dall'encefalo e dal midollo spinale.

La parte encefalica è suddivisa in:

- corteccia cerebrale
- cervelletto
- prosencefalo
- tronco encefalico

La *corteccia cerebrale* (o pallio) è la sede delle funzioni cognitive superiori la cui complessità anatomica rispecchia l'importanza del compito che essa svolge nell'adattamento all'ambiente. Si presenta come tessuto sottile, esteso e convoluto; possiede una superficie di 2600 cm<sup>2</sup> e uno spessore di 3-4 mm. Contiene all'incirca 28×10<sup>9</sup> neuroni e, approssimativamente, un uguale numero di cellule gliali.

All'osservazione anatomica il pallio appare ricoperto dalla pia meninge, un sottile strato di tessuto molle semitrasparente, vascolarizzato e aderente al tessuto nervoso. L'aspetto caratteristico è conferito dalla presenza di solchi che circoscrivono rilievi detti circonvoluzioni, riscontrabili nel cervello dei mammiferi più evoluti (girencefali) e assenti in quelli meno evoluti (lissencefali). La ripartizione in lobi del cervello è data dall'organizzazione del manto in solchi: solco laterale o scissura di Silvio, solco centrale o scissura di Rolando, solco parieto-occipitale e solco del cingolo.



**Figura 1.1:** Sezioni che compongono i lobi

Istologicamente è costituita da sei strati (o lamine) :

- I strato o strato molecolare
- *II strato* o strato granulare esterno
- *III strato* o strato delle cellule piramidali esterne
- *IV strato* o strato granulare interno
- *V strato* o strato delle cellule piramidali interne
- *VI strato* o strato delle cellule polimorfe e fusiformi

L'unità funzionale e anatomica di base della corteccia è la *minicolonna*, una stretta catena di neuroni estesa verticalmente tra il II e il VI strato e perpendicolarmente alla superficie piaie<sup>1</sup>. Numerose minicolonne unite da connessioni orizzontali dense e a corto raggio formano a loro volta un'unità funzionale e anatomica detta colonna o modulo corticale. È stata osservata una segregazione parziale dei neuroni efferenti corticali con differenti bersagli estrinseci: quelli dal II al III strato laminare proiettano verso zone corticali; quelli dal V al VI strato proiettano verso strutture subcorticali.

Il *cervelletto* è una porzione di massa encefalica che origina dalla parte dorsale della vescicola romboencefalica, occupando la parte posteriore e inferiore della cavità cranica. Ha forma ellissoidale appiattita, con l'asse maggiore disposto trasversalmente. Contiene numericamente la maggior parte dei neuroni del SNC. Superficialmente è costituito da corteccia grigia che ricopre la sostanza bianca al suo interno. Considerando la partizione trasversale è suddiviso in: lobo anteriore, lobo posteriore e lobo floccunodulare. Secondo la partizione longitudinale di J. C. Reil, vi si distinguono tre lobi: verme, cervelletto intermedio e cervelletto laterale. La superficie del verme e dei lobi è percorsa da solchi trasversali concentrici che delimitano la massa cerebellare in lamelle.

Il cervelletto, da un punto di vista funzionale è distinto in:

- *vestibolocerebello*, la cui funzione principale è deputata all'equilibrio
- *spinocerebello*, strettamente collegato al midollo spinale. Controlla la postura e la coordinazione dei movimenti
- *pontocerebello*, deputato ai movimenti più fini.

In generale il cervelletto agisce sul controllo motorio. Esso non genera direttamente i movimenti, ma segnali che rendono il movimento preciso e ben temporizzato. Lesioni cerebellari provocano movimenti non coordinati e imprecisi, condizione nota come atassia.

Il *prosencefalo* (*o cervello*) si divide in: telencefalo, contenente le cavità dei due ventricoli laterali<sup>2</sup>; e in diencefalo, che contiene al suo interno il III ventricolo. I

---

<sup>1</sup> Superficie piaie: superficie della pia madre, sottile membrana che riveste il SNC. La pia madre è la meninge più interna costituita da collagene e da fibre elastiche.

<sup>2</sup> Ventricoli laterali: cavità dell'encefalo dei vertebrati nelle quali circola il liquor cerebrospinale. Le cavità cerebrali, interconnesse tra loro, sono 4: il I e il II ventricolo, o ventricoli laterali, hanno prolungamenti che penetrano ciascuno in un lobo cerebrale; il III ventricolo è situato nel diencefalo; il IV ventricolo è contenuto nel tronco encefalico e nel cervelletto.

ventricoli laterali comunicano con il III ventricolo attraverso il foro interventricolare.

Il *telencefalo* è costituito da due emisferi, separati dalla scissura interemisferica, ma connessi dal corpo calloso. Il corpo calloso è una spessa lamina di sostanza bianca. La superficie telencefalica possiede un aspetto convoluto dato da solchi che separano circonvoluzioni. Il grado di ripiegamento del tessuto cerebrale è direttamente collegato al livello di elaborazione di cui è capace.

Il *diencefalo*, mediano e simmetrico, è situato rostralmente al mesencefalo. Il III ventricolo suddivide sagittalmente l'intera struttura in due metà pari e simmetriche. Ciascuna metà è divisa dal solco ipotalamico in una porzione ventrale e una dorsale. La porzione ventrale comprende ipotalamo e subtalamo. Quella dorsale è formata da talamo, epitalamo e metatalamo. Nel diencefalo sono inoltre localizzate due strutture endocrine:

- *ipofisi* : è a sua volta divisa in neuroipofisi e adenoipofisi. La neuroipofisi è un'appendice del talamo secernente ormoni. L'adenoipofisi è una ghiandola endocrina.
- *epifisi* : ghiandola pineale che secreta l'ormone melatonina.

Il *tronco encefalico* comprende tre segmenti in continuità tra loro:

- *ponte*
- *bulbo*
- *mesencefalo*

Il *ponte* è una protrusione collocata sul lato ventrale del tronco. Essa funge da pavimento al IV ventricolo (cavità contenuta nel tronco encefalico e nel cervelletto). Questa struttura, detta anche ponte di Varolio, è costituita da peduncoli cerebrali e da fasci di fibre nervose. Include nei suoi tessuti anche nuclei nervosi di sostanza grigia.

Il *bulbo*, o midollo allungato, è la sede in cui si incrociano le vie piramidali. Esso comprende: fasci di fibre somatosensoriali ascendenti che trasmettono informazioni sensoriali all'encefalo; e fasci discendenti corticospinali, i quali inviano informazioni dalla corteccia al midollo spinale. Il 90% delle fibre dei tratti corticospinali attraversa la linea mediana (decussa), portandosi sul lato opposto, in una regione detta delle piramidi bulbari. Per questo ciascun lato del cervello controlla il lato opposto del corpo. Il bulbo controlla il flusso degli impulsi nervosi tra l'encefalo e il resto del corpo. In particolare, le strutture del bulbo sono sede dei

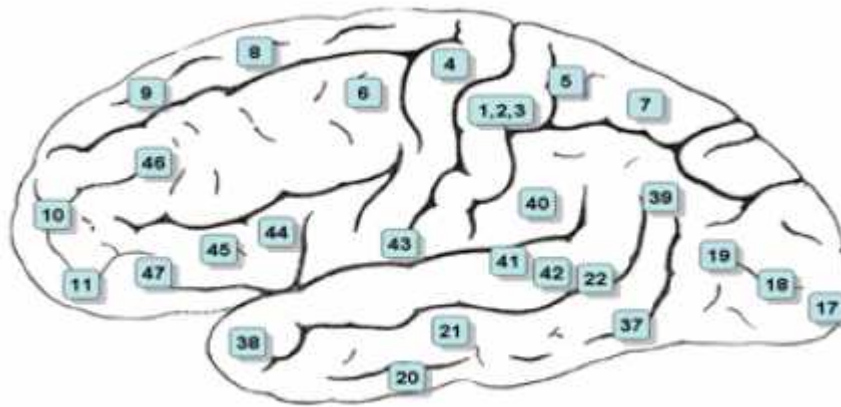
centri nervosi implicati nella regolazione dei riflessi viscerali tramite le fibre del nervo vago. Esso controlla le funzioni vegetative dell'organismo, tra cui il respiro, la pressione sanguigna, il ritmo cardiaco.

Il *mesencefalo* costituisce la parte più rostrale del tronco encefalico. Sulla superficie dorsale si riconoscono il collicolo superiore e il collicolo inferiore, mentre sulla superficie ventrale si trovano i peduncoli cerebrali. I neuroni del collicolo superiore regolano i movimenti oculari; i neuroni del collicolo inferiore sono implicati nella regolazione delle informazioni uditive; infine peduncoli cerebrali contengono gli assoni che permettono la comunicazione tra la corteccia cerebrale e il tronco encefalico.

### **1.1 Organizzazione della corteccia cerebrale**

Paul Pierre Broca, neurologo e chirurgo francese, già nel diciannovesimo secolo fece scoperte sensazionali in neurologia, tanto che ancora oggi si parla di afasia di Broca per indicare quell'afasia determinata dalla lesione di un'area (detta di Broca) della circonvoluzione frontale inferiore dell'emisfero sinistro. Grazie all'autopsia eseguita sul corpo di un suo paziente con difficoltà di linguaggio, scoprì una lesione dell'emisfero cerebrale sinistro che concluse esserne la causa. Da ciò dedusse che la sfera del linguaggio è controllata da tale emisfero. Infatti, iniettando nella carotide sinistra, che irrorava l'emisfero sinistro, del barbiturico ad azione rapida, si procurava un'afasia transitoria, viceversa iniettandola nella carotide destra non si nota alcuna afasia.

All'inizio del XX secolo, il neurologo tedesco Korbinian Brodmann, si dedicò alla ricerca in campo neurologico e psichiatrico. Egli costruì una mappa citoarchitettonica della neocorteccia umana (vedi Figura 1.2), la quale rappresenta quella porzione di corteccia cerebrale con sviluppo filogenetico più recente occupante circa il 90% della superficie cerebrale.



**Figura 1.2:** Rappresentazione del cervello secondo la suddivisione in aree di Brodmann

La teoria di Brodmann, basata sulla suddivisione della corteccia in aree possedenti cellule simili e struttura laminare, fu realizzata grazie al metodo di colorazione di Nissl.

Nissl introdusse una colorazione istologica con la quale era possibile una visione selettiva del soma neuronale, impiegando anilina basica per colorare l'RNA e per mettere in evidenza le caratteristiche strutturali dei neuroni. Utilizzando un microscopio ottico fu possibile osservare e classificare l'organizzazione neuronale della corteccia.

Brodmann definì 52 aree alle quali venne assegnato a ciascuna un numero.

Ciò che Brodmann intuì, ma non poté dimostrare, è che aree corticali aventi aspetto differente sottendono funzioni differenti.

Schematicamente si possono riconoscere le seguenti aree corticali principali:

- Aree sensitive e motorie primarie (identificate rispettivamente con le aree di Brodmann 1,2,3,4,17);
- Aree sensitive e motorie secondarie (aree di Brodmann 9,18,40);
- Aree associative (aree di Brodmann 9,10,5,7)

La corteccia di ciascun emisfero viene ripartita in quattro lobi, denominati a partire dalle ossa craniche:

- Il *lobo frontale*, sottostante all'osso medesimo, supervisore delle attività corticali, costituisce la parte anteriore del cervello e contiene l'area corticale motoria e la corteccia premotoria. Anteriormente si trova la corteccia prefrontale, in cui sono elaborati i pensieri e idee (attività psichiche superiori). Il lobo frontale è deputato ai processi di apprendimento, memoria, e all'elaborazione delle parole (area di Broca).
- In posizione caudale al lobo frontale è situato il *lobo parietale* in cui afferiscono, nell'area somestetica, stimoli tattili, dolorifici, pressori e termici. Sono controllate la comprensione del linguaggio parlato e scritto, la memoria delle parole e le capacità matematiche. Il lobo parietale destro controlla le attività visuospatiali, ovvero attività non verbali come la ricostruzione di un'immagine visiva orientandola nello spazio, o la percezione della traiettoria di un oggetto in movimento.
- Il *lobo temporale*, sottostante l'osso temporale (tempia) è sede dell'area acustica. Esso elabora l'affettività, il riconoscimento visivo, le reazioni e i comportamenti istintivi. Il lobo temporale sinistro comprende l'area di Wernicke. In questa regione di corteccia è localizzato parte del centro del linguaggio. Una lesione in tale zona si evidenzia con un deficit selettivo della comprensione del linguaggio sia parlato sia scritto, detto afasia sensoriale di Wernicke, pur lasciando intatta la capacità di parlare, seppur in modo incomprensibile. Il lobo frontale è separato dal lobo temporale tramite l'insula. L'insula, localizzata alla base della scissura laterale (o di Silvio), riceve informazioni corticali e talamiche. Parte integrante del lobo temporale è il sistema limbico.
- Caudale al lobo frontale, in fondo all'encefalo e sottostante all'osso occipitale, giace il *lobo occipitale*. La sua attività principale è quella di elaborare le informazioni visive. Vi risiedono moltissimi neuroni specializzati nel riconoscimento e nell'elaborazione dei particolari di un'immagine. Nei lobi occipitali vengono integrate tutte le informazioni visive, comprese quelle che influenzano la postura e l'equilibrio.

L'introduzione delle moderne tecniche di Neuroimaging, consentono la descrizione del funzionamento del cervello durante task specifici (come ad esempio compiti motori o task cognitivi). Vengono così definiti i correlati neurali di patologie come

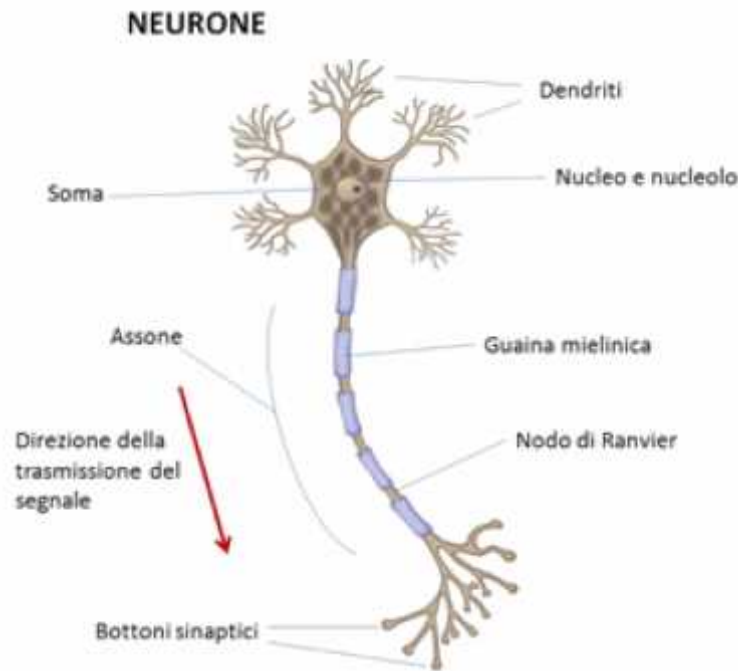
la Schizofrenia, il Disturbo Bipolare o il Disturbo Ossessivo-Compulsivo, con conseguente miglioramento dei metodi diagnostici e delle relative terapie. Integrando le neuroscienze sperimentali e l'epidemiologia genetica, si è aperta la possibilità di utilizzare il Neuroimaging per studiare in vivo l'espressione genica cerebrale in soggetti sani e in soggetti malati.

## **1.2 Attività elettrica cerebrale e metodi di analisi**

Le cellule cerebrali, i *neuroni*, quando sono vitali comunicano tra loro tramite impulsi di tipo elettrico.

Il neurone è l'unità fondamentale del Sistema Nervoso. La caratteristica fondamentale è la capacità di trasformare stimoli eccitatori in segnali poi trasmessi ad altri neuroni o ad organi efferenti in una complicata serie di interconnessioni. Esso è costituito da un corpo centrale (soma), che funge da centro metabolico, da cui dipartono numerose ramificazioni d'ingresso (dendriti) e una ramificazione d'uscita (assone) (vedi Figura 1.3). I dendriti ricevono le informazioni sotto forma di impulsi elettrici provenienti da altri neuroni oppure, come nel caso dei neuroni sensoriali, da stimoli ambientali. L'assone, unico per ogni neurone, è ricoperto da una guaina mielinica che presenta delle interruzioni dette nodi di Ranvier, che permettono una conduzione del segnale più rapida. L'assone termina con ulteriori ramificazioni dette *sinapsi*, ognuna delle quali termina con un *bottone sinaptico*. Attraverso il bottone sinaptico passano i neurotrasmettitori, responsabili della trasmissione del segnale.





**Figura 1.3:** Il Neurone

L'attività specifica dei neuroni quindi consiste nel generare, trasmettere ed elaborare segnali. Tra l'interno e l'esterno della membrana cellulare vi è una differenza di potenziale (d.d.p.) di circa  $-70$  mV, detto *potenziale di riposo*. L'informazione nervosa è basata sulla capacità dei neuroni di generare correnti elettriche in seguito alla modificazione del potenziale di riposo. Eventi esterni possono modificare tale differenza di potenziale, alterando la permeabilità ionica della membrana, attraverso l'apertura di canali attivi (ad apertura controllata):

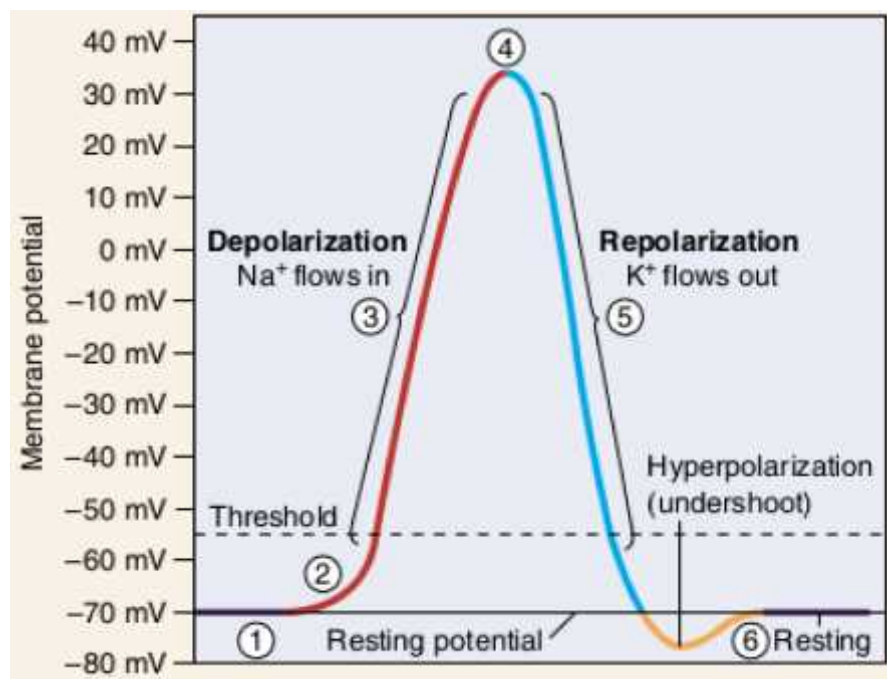
- Se il potenziale di riposo diminuisce, determinando una iperpolarizzazione, la cellula diventa temporaneamente meno eccitabile.
- Se il potenziale di riposo aumenta, la cellula depolarizza. Quando la depolarizzazione supera un valore soglia, si innesca un fenomeno denominato potenziale d'azione.

I segnali elettrici generati si differenziano in:

- *Potenziali graduati*: segnali a intensità variabile che si estendono per piccole distanze e si smorzano viaggiando lungo la cellula. Nei neuroni sono dovuti a depolarizzazioni o iperpolarizzazioni che avvengono nei dendriti e nel corpo cellulare. Queste variazioni di potenziale di membrana sono definiti "graduati" poiché l'ampiezza è direttamente proporzionale alla forza

dell'evento scatenante: uno stimolo intenso causa un potenziale graduato ampio; uno stimolo lieve ne causa uno di ampiezza minore.

- *Potenziali d'azione (spike)*: ampia depolarizzazione di ampiezza costante che viaggia su lunghe distanze lungo il neurone senza perdere intensità. Esso ha origine in una specifica zona del neurone detta zona trigger. Il potenziale d'azione è una modificazione del potenziale di riposo che si genera nelle cellule eccitabili in risposta ad uno stimolo in grado di depolarizzare la membrana. Se lo stimolo è superiore ad un valore *soglia* (50 mV), un alto numero di ioni entrano nella cellula generando lo spike. Il valore dello stimolo è generalmente di 35 mV. Dopo il raggiungimento di tale d.d.p., un processo meccanico dovuto alla pompa Sodio-Potassio porta le cariche positive all'esterno della cellula fino a riottenere il valore del potenziale a riposo. Lo spike è propagato fino al bottone sinaptico. Giunto al bottone sinaptico fa sì che vengano rilasciati neurotrasmettitori, che legandosi a recettori della membrana post sinaptica causano l'apertura di canali ionici e la depolarizzazione della membrana. Se la depolarizzazione raggiunge il valore soglia anche in questo neurone, è generato un nuovo potenziale d'azione.



**Figura 1.4:** Il potenziale d'azione

L'attività elettrica cerebrale viene registrata con una tecnica nota come Elettroencefalografia, in cui elettrodi di superficie vengono posizionati sullo scalpo per registrare le depolarizzazioni dei neuroni corticali situati nell'area corticale sottostante.

Una tecnica di Neuroimaging di sviluppo recente e di fondamentale importanza nell'ambito delle neuroscienze cognitive, è la Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI). Essa è in grado di rilevare quali zone cerebrali si attivino durante l'apprendimento di un determinato compito, visualizzando la risposta emodinamica correlata all'attività neuronale.

Questi saranno i metodi d'indagine dell'attività cerebrale presentati nel capitolo successivo.



## CAPITOLO 2

### Tecniche di indagine cerebrale

Le moderne tecniche d'indagine per la stima dell'attività cerebrale prevedono l'utilizzo di diverse modalità di acquisizione di segnali e immagini. Recentemente la ricerca scientifica ha approfondito un'insieme di strumenti che permettono un'analisi in vivo, parzialmente o totalmente non invasiva. Strumenti di “Brain Imaging” forniscono una maggior comprensione dei meccanismi alla base dei diversi processi neurali. Il principio alla base di queste tecnologie è dato dall'associazione dell'attività cerebrale a variazioni di parametri fisiologici, i quali possono essere misurati. Vengono utilizzati specialmente nella diagnostica neurologica prima e durante tasks motori, o cognitivi, per individuare le aree attive durante l'esecuzione del compito richiesto. Le tecniche maggiormente utilizzate sono:

- l'Elettroencefalografia (EEG)
- la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET)
- la Tomografia ad emissione di Fotone Singolo (SPECT)
- la Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI)
- la Magnetoencefalografia (MEG)

MEG ed EEG si basano sulla misurazione diretta dei campi elettromagnetici prodotti dall'attività encefalica. SPECT, PET ed fMRI misurano le variazioni di flusso ematico localizzato, correlato all'aumento dell'attività neuronale. Esse restituiscono immagini indirette dell'attività encefalica. Importanti parametri che caratterizzano le diverse metodiche di Brain Imaging sono la risoluzione spaziale, ossia la distanza minima alla quale la modalità riconosce due attività distinte (come la distanza fra due pixel in un'immagine digitale), e la risoluzione temporale, che identifica il tempo di acquisizione delle immagini. Il Brain Imaging ha come obiettivo principale la comprensione delle funzioni specifiche delle diverse aree cerebrali e come queste interagiscono in un sistema integrato di reti neurali.

In questo capitolo verranno presentati l'Elettroencefalografia (EEG), basata sulla rilevazione di potenziali corticali registrati tramite elettrodi posti sullo scalpo, e la Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI), che stima la connettività cerebrale sulla base di misure emodinamiche.

## 2.1 Elettroencefalografia

### 2.1.1 Il segnale EEG

L'EEG è una procedura diagnostica non invasiva che consente la registrazione dell'attività elettrica spontanea, o evocata da stimoli di diversa natura. Ciò che viene registrato mediante elettrodi posti sullo scalpo, o al più sottocutanei, è la d.d.p. presente tra diverse aree dello scalpo.

I segnali elettrici generati dai gruppi di neuroni piramidali generano un *campo elettrico* che varia nel tempo. Michael Faraday (1791-1867) definì il campo elettrico  $E$  in ogni punto dello spazio come la forza  $F$  esercitata su una piccola carica di prova positiva posta in quel punto, divisa per il valore  $q$  della carica di prova medesima:

$$E = F/q$$

Se il campo elettrico è dovuto a più di una carica, i campi individuali di ogni carica si sommano vettorialmente ottenendo il campo risultante in ogni punto ( Principio di sovrapposizione ). Il campo elettrico è visualizzato mediante linee di campo ( o linee di forza ) che indicano la direzione della forza dovuta al campo agente sulla carica. Le linee di forza dipartono da cariche positive, terminando su quelle negative e sono proporzionali al valore della carica. L'intensità del campo che agisce su una carica posta all'interno di esso, è stimabile attraverso la misura della d.d.p. rispetto ad un punto in cui il potenziale risulti nullo. La presenza del campo elettrico genera una corrente che segue la direzione delle linee di forza. Tale corrente elettrica produce un *campo magnetico* attorno al conduttore percorso da corrente.

I segnali EEG sono segnali tempo varianti dati dalla misurazione del flusso di corrente extracellulare generato dalla somma delle attività svolte dai neuroni corticali. Essi rilevano solo attività elettriche relative ad un numero elevato di neuroni, per cui fornisce informazioni su larga scala.

I segnali registrati non dipendono dai potenziali d'azione dei neuroni poichè:

- i potenziali d'azione di cellule distinte, producendo scariche asincrone, tendono ad annullarsi reciprocamente
- i potenziali d'azione di cellule adiacenti possono viaggiare separatamente ed essere destinati ad aree distanti per poter essere rilevati sullo scalpo

Per questo, le registrazioni EEG dipendono dai potenziali sinaptici nel soma e nei dendriti delle cellule piramidali a livello della corteccia. Tali potenziali sinaptici:

- coinvolgono superfici più ampie rispetto alla membrana cellulare coinvolta dai potenziali d'azione
- possiedono ampiezza minore, ma durata superiore

Il risultato della rilevazione di un segnale significativo è dovuto alla particolare disposizione a colonna dei neuroni piramidali, i cui dendriti hanno orientazione analoga negli strati più esterni della corteccia.

Un segnale per poter essere misurabile deve essere generato da migliaia di neuroni sincroni fra loro e attivati simultaneamente nella stessa regione cerebrale. L'attivazione sincrona delle cellule genera *campi elettrici aperti*, che se sommati, generano un segnale sufficientemente intenso da poter essere rilevato dagli elettrodi.

I *potenziali postsinaptici* (PSP), che originano il segnale EEG, si differenziano in: eccitatori (EPSP) o inibitori (IPSP). EPSP provocano una depolarizzazione della membrana, aumentando la probabilità che venga innescato un potenziale d'azione. Tale probabilità è diminuita se la membrana viene iperpolarizzata da un IPSP.

La distribuzione del campo elettrico prodotto dai PSP dipende da tre fattori principali:

- la geometria delle cellule
- l'organizzazione cellulare all'interno della corteccia
- la conduttività del volume conduttore attorno all'area attiva

Un neurone raggiunto da un EPSP è equivalente ad un dipolo, avente polo positivo a livello del soma ed polo negativo a livello dell'albero dendritico. Nel caso di IPSP la polarità è invertita. Se tale fenomeno interessa contemporaneamente neuroni vicini il segnale elettrico è rilevabile dall'esterno.

I voltaggi misurati tra uno o più elettrodi posti sullo scalpo e un punto di riferimento sono proporzionali all'intensità del campo elettrico generato dai neuroni. Essi dipendono dall'orientazione del dipolo e dalle caratteristiche del mezzo di conduzione. Ogni tessuto è caratterizzato da particolari caratteristiche elettriche in termini di: resistività, capacità e induttanza. Ad esempio la corteccia cerebrale, presenta bassa resistività, ed il suo comportamento è approssimabile a quello di un buon conduttore. Il cranio invece ha caratteristiche tipiche dei materiali isolanti.

Alcune strutture cerebrali sono definite *anisotrope*, poichè la loro resistività varia al variare della direzione nel mezzo e mostrano una conduzione più vantaggiosa lungo la direzione della cellula\_nervosa.

In generale l'EEG esprime l'attività elettrica *spontanea* dei neuroni piramidali, tuttavia è possibile registrare la risposta di tali cellule in seguito ad una sollecitazione. L' *Evoked Potential (EP)* o *potenziale evocato*, comporta modificazioni elettriche in seguito a stimolazioni sensoriali esterne. Ad esempio stimoli uditivi determinano EP acustici (AEP); flash luminosi innescano EP visivi (VEP). L' EP è caratterizzato da una specifica onda avente una determinata *ampiezza* e *latenza*. L'ampiezza, o valore di picco, è correlata con l'estensione delle aree corticali coinvolte e può assumere sia polarità positiva, sia negativa. La latenza è la distanza temporale tra il momento di applicazione dello stimolo ed il momento di comparsa di deflessioni positive o negative, dette componenti.

Gli EP sono classificati in:

- *Stimolo-Correlati*: assumono le caratteristiche fisiche dello stimolo
- *Evento-Correlati (ERPs)*: dipendono dal contesto psicologico nel quale avviene la stimolazione.

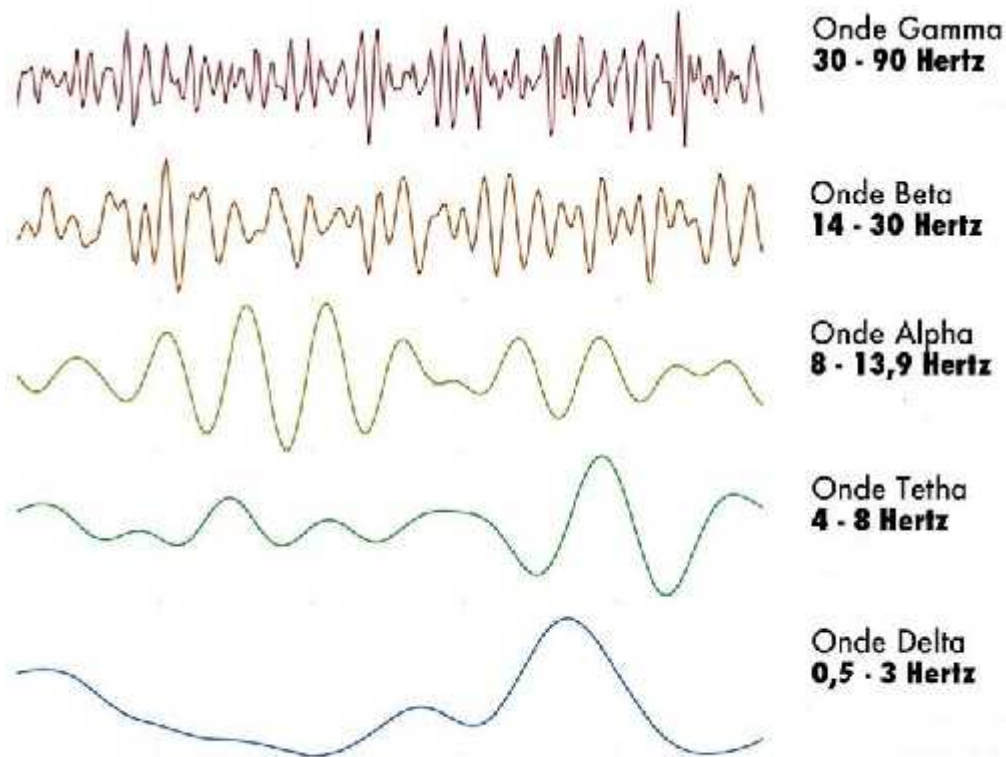
Per indurre e analizzare i potenziali evocati si utilizzano treni di impulsi di stimolazione, al fine di registrare segnali multipli e farne una media al fine di estrarre dal rumore di fondo l'attività evocata dallo stimolo. Questa tecnica è nota come *tecnica della media sincrona* o *Averaging*. Il segnale ERP, essendo time-locked allo stimolo, emerge dal rumore di fondo dell'EEG, all'aumentare delle ripetizioni. I valori assunti da ciascuna risposta all'istante di riferimento, ovvero l'istante di applicazione dello stimolo, vengono sommati ottenendo la risposta totale in quell'istante. Questo processo è ripetuto per gli istanti di tempo successivi, generando così una forma d'onda complessiva data dalla somma delle risposte individuali.

Le registrazioni elettroencefalografiche mostrano come l'attività elettrica cerebrale sia continua ed oscillatoria. Le forme d'onda e le relative ampiezze sono funzioni dell'eccitazione complessiva dell'encefalo. L'ampiezza delle onde cerebrali dipende dal grado di sincronia col quale i neuroni corticali interagiscono tra loro. I valori assunti dalle frequenze d'onda variano da 0,5 a 100 Hz, incrementando



progressivamente all'aumentare dell'attività corticale. Le onde cerebrali sono caratterizzate da specifici *ritmi*:

- *Ritmi Alfa* : hanno oscillazioni a frequenze comprese tra 8-13 Hz e ampiezza tra 20 e 200  $\mu$ V. Sono generati con maggiore intensità nell'area occipitale; sono tipici nei pazienti in condizione di quiete e riposo cerebrale, ma sono assenti durante il sonno. Le onde Alfa sono interrotte istantaneamente da percezioni visive.
- *Ritmi Beta* : sono distinti in *Beta lento* (14-18 Hz) e *Beta rapido* (18-30 Hz) con ampiezza di circa 5-10  $\mu$ V. Il Beta lento è influenzato dall'attività mentale; il Beta rapido è caratteristico di situazioni di stress e di attività intensa del SNC. Il ritmo Beta viene associato, in generale, a livelli di coscienza quali l'attenzione e la concentrazione.
- *Ritmi Theta* : presentano oscillazioni nella banda 4-7 Hz. Sono dominanti nel neonato e negli stati di tensione emotiva.
- *Ritmi Delta* : caratterizzati da frequenze inferiori a 3,5 Hz. Sono predominanti nell'infanzia; durante anestesia generale e in stati patologici.
- *Ritmi Gamma* : sono oscillazioni ad alta frequenza (30-90 Hz) ed a bassa ampiezza, correlate con i più alti processi cognitivi. Studi recenti hanno dimostrato come i ritmi Gamma abbiano un ruolo fondamentale nella formazione della memoria. [17]



**Figura 2.1** : Ritmi Cerebrali

I ritmi cerebrali vengono influenzati dai compiti cognitivi svolti dal paziente durante il monitoraggio. L'andamento del tracciato EEG è indice di integrità delle strutture cerebrali e della loro funzionalità. L'assenza di attività spontanea per la durata di almeno 30 minuti accerta la morte cerebrale. L'*analisi spettrale* identifica l'insieme delle differenti oscillazioni a diverse frequenze. A partire dallo spettro di potenza, calcolato per ciascun elettrodo, è possibile rappresentare graficamente la potenza media di ciascun ritmo (*mappe funzionali* dei ritmi EEG).

### 2.1.2 Acquisizione del segnale EEG

Per acquisire i potenziali è necessaria un'interfaccia tra il corpo e la strumentazione di misura. In questo caso l'*elettrodo* funge da trasduttore: nel corpo la corrente è trasportata da ioni, negli elettrodi e nei fili conduttori da elettroni. Convenzionalmente la registrazione elettroencefalografica avviene tramite l'utilizzo di tre tipologie di elettrodi per biopotenziali :

- a scalpo
- corticali

- di profondità

Gli elettrodi corticali e di profondità sono classificati come elettrodi interni; gli elettrodi di superficie vengono fissati alla cute con l'ausilio di collarini adesivi, cerotti o attraverso una cuffia apposita.

*Elettrodi a placca metallica* sono i più utilizzati per la registrazione di biopotenziali. Sono costituiti da una placca metallica a contatto con la cute e un gel che stabilisce e mantiene il contatto elettrodo-cute. Il cavo di collegamento di questi elettrodi è saldato sulla loro superficie. Il ridotto spessore che li caratterizza, permette un migliore adattamento alla superficie sulla quale sono applicati.

Un esempio di elettrodo interno è l'*elettrodo a sferetta d'Argento* per la misura di potenziali corticali di superficie. È costituito da una sferetta di Argento di 2 mm di diametro, posta sulla punta di un isolatore cilindrico in Teflon. Mediante un trapano chirurgico viene creata una fessura nella dura madre, all'interno della quale viene introdotta la sferetta che si adagia alla superficie della corteccia. L'impianto viene poi cementato con l'impiego di materiale acrilico odontoiatrico.

La differenza di potenziale registrata, viene misurata rispetto ad un punto di riferimento. Uno degli *elettrodi di riferimento* maggiormente diffusi è l'*elettrodo Ag/AgCl*. Esso approssima le caratteristiche di un elettrodo non polarizzabile, ovvero la corrente è libera di attraversare l'interfaccia elettrodo-elettrolita. L'elettrodo ad argento/cloruro d'argento è costituito da un elettrodo di argento rivestito di AgCl ed immerso in una soluzione acquosa satura di KCl e AgCl. Geddes e Baker (1989) mostrarono che elettrodi di questo tipo, presentano minor rumore rispetto ad elettrodi non aventi lo strato di Ag/AgCl.

Un sistema di elettrodi deve:

- essere costruito con lo stesso materiale
- essere isolato con materiale polimerico in modo da assorbire umidità
- essere flessibile e robusto
- avere un'impedenza d'ingresso minore rispetto all'impedenza d'ingresso dell'amplificatore a cui gli elettrodi sono collegati, al fine di non distorcere il segnale acquisito

Lo standard che regola la disposizione degli elettrodi, in elettroencefalografia clinica, è il *Sistema Internazionale 10-20*. Questo standard associa una lettera ad ogni regione della corteccia esplorata:

- **F** : frontale
- **T** : temporale
- **P** : parietale
- **C** : centrale
- **O** : occipitale

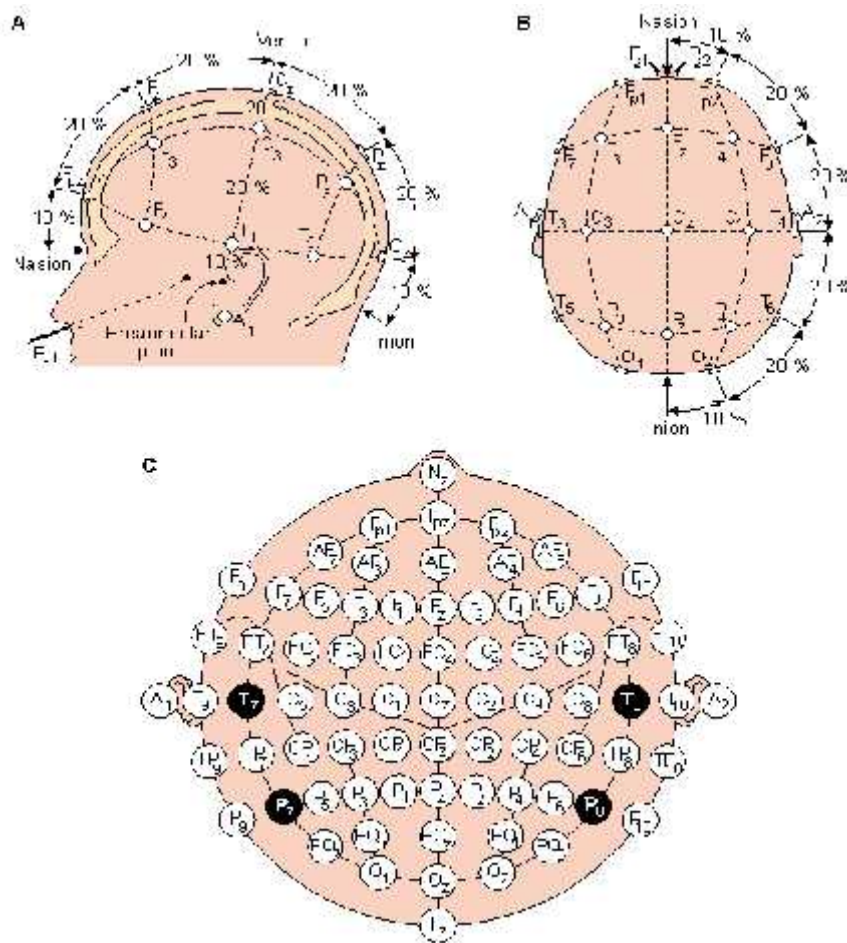
A questo è aggiunto un numero che identifica la posizione:

- **Dispari** : emisfero sinistro
- **Pari** : emisfero destro
- **Z** : linea mediana

Questo sistema è una matrice simmetrica di elettrodi posti sul cuoio capelluto al 10% o 20 % della distanza tra due punti cranici : *inion* (prominenza alla base dell'osso occipitale) e *nasion* (attaccatura superiore al naso). Questa distanza varia solitamente tra 30-36 cm.

Durante un'acquisizione EEG standard sono utilizzati 19 elettrodi, più uno collegato a massa, disposti lungo 5 linee :

- **P1** : longitudinale esterna
- **P2** : longitudinale interna destra
- **Centrale**
- **P1** : longitudinale esterna
- **P2** : longitudinale interna sinistra
- **Montaggio P3** : linea trasversa T4-C4-Cz-C3-T3. Anch'essa segue lo standard 10-20.



**Figura 2.2 :** Sistema 10-20%

Le differenti modalità di posizionamento delle derivazioni (elettrodi), costituiscono i cosiddetti *montage* o *montaggi*. Il montage può essere di tipo: *monopolare*, se un elettrodo viene posto in un sito attivo, mentre l'elettrodo di riferimento in un sito elettricamente neutro (ad es. il lobo dell'orecchio, il mento) e ciascun canale misura la d.d.p. tra i due elettrodi; *bipolare* se entrambi gli elettrodi sono posti su siti attivi dell'area di interesse e il segnale rilevato corrisponde alla differenza che emerge tra le attività dei due siti.

Gli elettrodi misurano, oltre all'attività neuronale, anche rumori e disturbi derivanti da sorgenti non cerebrali quali:

- movimenti oculari
- contrazione dei muscoli dello scalpo
- distacco temporaneo di uno o più elettrodi

Per diminuire gli effetti dovuti ai molteplici artefatti, viene utilizzato un rilevatore al fine di aumentare il Signal-to-Noise Ratio (SNR). Maggiore è il SNR, migliore sarà il segnale acquisito.

Il Sistema Internazionale 10-20 è alla base dell'acquisizione dell' "EEG convenzionale". L'EEG convenzionale utilizza elettrodi applicati al cuoio capelluto attraverso un *gel conduttivo* e ciascuno di questi è collegato ad un singolo filo. Inoltre ogni elettrodo, avendo risoluzione spaziale di circa  $1 \text{ cm}^2$  rileva anche l'attività dell'area adiacente a quella sottostante. Il segnale registrato è dunque dato dalla somma dei campi elettrici rilevati e non consente di risalire all'esatta origine del potenziale corticale.

L'impiego di innovative tecniche elettroencefalografiche consentono una migliore localizzazione spaziale, mantenendo comunque buona risoluzione temporale (ordine dei millisecondi). Queste tecnologie EEG sono definite "ad alta risoluzione spaziale". Esse utilizzano fino a 256 elettrodi in modo da ottenere un elevato campionamento spaziale e adottano un modello di propagazione del campo elettromagnetico dalla corteccia ai sensori elettrici. Il cranio è classificato come conduttore dell'attività elettrica prodotta dalla corteccia e tramite opportuni strumenti di calcolo viene stimata l'attività corticale.



**Figura 2.3 :** Rilevazione a 256 elettrodi e a 64 elettrodi

I componenti base che costituiscono i sistemi di registrazione EEG sono:

- *Elettrodi* con relativi mezzi di conduzione (già ampiamente discussi). Determinano la qualità del segnale.
- *Amplificatori differenziali* con elevata impedenza d'ingresso. Ad ogni elettrodo corrisponde un amplificatore: amplificano il voltaggio del segnale rilevato fino a 1000 volte.
- *Filtri analogici* sia di tipo Passa Basso (*Low Pass*) con frequenza di taglio 35-70 Hz, sia di tipo Passa Alto (*High Pass*) con frequenza di taglio di 0.5 Hz.
- *Convertitore Analogico-Digitale (A/D)* a 12 bit, al fine di avere  $2^{12}$  livelli codificati. Funziona per valori di ampiezza compresi tra -5V e 5V. All'ingresso del convertitore, spesso, viene posto un dispositivo di Sample&Hold in modo da mantenere costante il valore analogico in ingresso durante il tempo necessario alla conversione.

Ciascuno dei metodi di Brain Imaging presenta vantaggi e svantaggi, in termini di risoluzione spazio-temporale, con cui l'attività cerebrale viene acquisita. L'EEG possiede un'ottima risoluzione temporale, dell'ordine dei millisecondi, e monitora in modo diretto l'attività cerebrale. La risoluzione spaziale non è elevata, tuttavia è stata migliorata mediante l'utilizzo di un numero sempre più elevato di elettrodi.

## **2.2 Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI)**

L'imaging tramite Risonanza Magnetica è in continuo sviluppo. La tecnologia ha permesso la realizzazione di magneti più forti, più compatti e meno costosi. Mentre i primi magneti avevano intensità di campo minore o uguale a 1T, oggi allo stato dell'arte sono raggiunti i 7T, tuttavia sono in via di sviluppo magneti con intensità pari a 11T. Questa alta intensità di campo ha portato a miglioramenti della sensibilità estrinseca, in termini di SNR, e nel contrasto delle immagini funzionali. Un significativo progresso interessa anche il campo dei rivelatori. Rivelatori multi-channel, composti da più di 128 elementi, hanno portato ad un ulteriore incremento del SNR. Essi consentono un'acquisizione più rapida delle immagini, riducendo effetti dannosi provocati dai movimenti che ne influenzano la qualità.

Una delle tecniche più diffuse e sofisticate utilizzate nello studio delle funzioni cerebrali e delle neuroscienze cognitive con Risonanza Magnetica è la Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI). L'fMRI è una tecnica non invasiva, ad alta risoluzione spaziale (2-6 mm), che sfrutta le variazioni emodinamiche prodotte dall'attività neuronale, identificando *mappe di attivazione* dei diversi distretti cerebrali. L'fMRI non fornisce immagini anatomiche, bensì funzionali nelle quali è visualizzato il funzionamento dell'organo considerato.

Lo sviluppo di questa tecnica di imaging ha inizio negli anni '40, con l'individuazione di proprietà magnetiche dei nuclei atomici, e di come queste varino se sottoposti all'applicazione di un campo magnetico.

L'fMRI sfrutta le capacità di localizzazione spaziale degli scanner MR e rileva, in seguito a stimolazioni neuronali, variazioni di:

- flusso ematico
- volume ematico
- ossigenazione in aree corticali

Durante la procedura di fMRI, il paziente è sdraiato supino su un lettino, avente il capo posizionato al centro del magnete dello *scanner* (macchina di MR), dove il campo magnetico è più intenso (circa dieci mila volte superiore all'intensità del campo magnetico terrestre). Lo scanner fa in modo che i protoni presenti nei tessuti cerebrali subiscano una precessione, e i loro assi di rotazione si allineino con quello del campo magnetico. Il segnale registrato è creato applicando un secondo campo magnetico oscillante, perpendicolare al primo. Questo secondo campo alterna periodi di attività a periodi di inattività. Quando è attivo esso perturba l'equilibrio di precessione che il primo campo aveva creato. Quando è inattivo, i protoni tornano ad allinearsi al primo campo magnetico. In un istante generico, vi saranno particelle in stato di riposo (*spin up*, o parallelo) e altre in stato eccitato (*spin down*, o antiparallelo). Gli assi di rotazione delle particelle non rimangono fissi, ma si muovono lungo una circonferenza. Nuclei magnetizzati sottoposti per un breve periodo di tempo a un campo magnetico oscillante, avente una Radio Frequenza (RF) uguale alla loro frequenza di rotazione (frequenza di risonanza), assorbono energia e vengono dunque eccitati. Quando la RF viene interrotta, i nuclei tendono a ritornare nella condizione di equilibrio, secondo processi che presentano una dinamica di tipo esponenziale, definita *recupero esponenziale*, con costante di



tempo  $T_1$ : *tempo di rilassamento spin-reticolo*. Il rilassamento, accompagnato da liberazione di energia, produce segnali MR misurabili. L'energia liberata segue invece processi di *decadimento esponenziale* con costante di tempo  $T_2$ : *tempo di rilassamento spin-spin*. I tempi di rilassamento variano a seconda dei tessuti cerebrali. Il campo magnetico principale non è perfettamente uniforme, ma presenta disomogeneità. Questo produce una desincronizzazione accelerata dei protoni. In queste condizioni il decadimento del segnale è definito  $T_2^*$ .

### 2.2.1 La risposta emodinamica

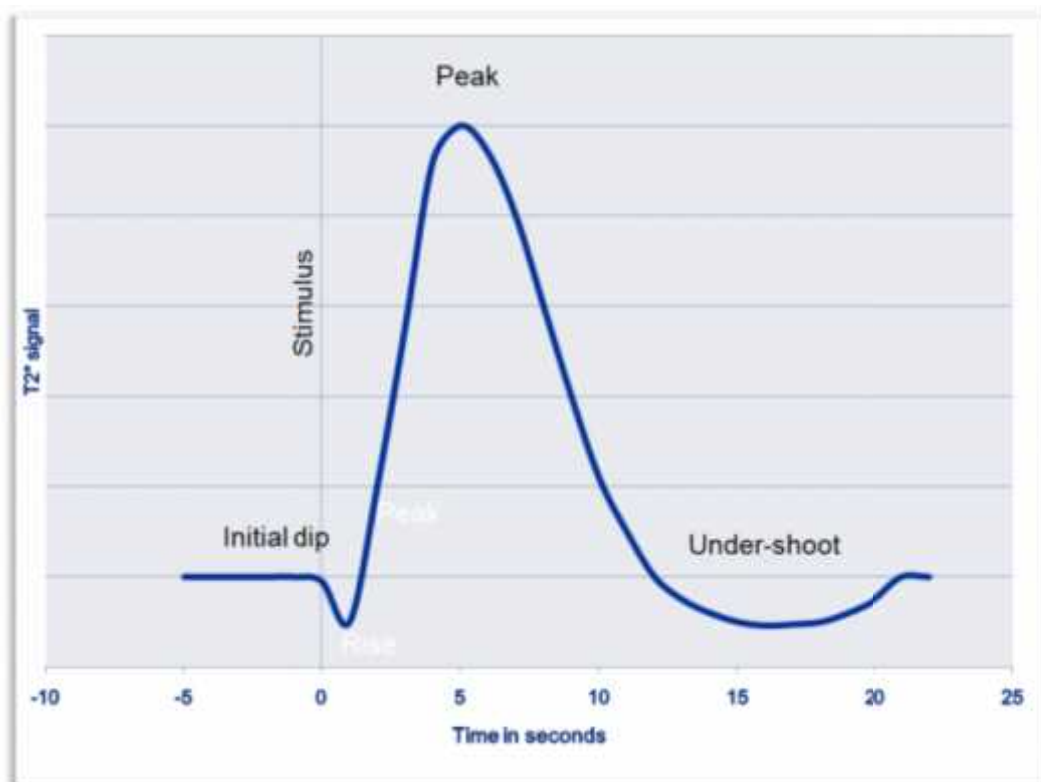
L'attivazione dei neuroni e la creazione di relativi potenziali richiedono energia. Questa viene fornita dai mitocondri delle cellule, sottoforma di ATP (Adenosina Trifosfato). In condizioni normali l'ATP è formata attraverso il consumo di Glucosio in presenza di Ossigeno (Glicolisi anaerobica) fornito dal sangue che irroria il tessuto. Numerosi esperimenti hanno dimostrato che l'attivazione dei neuroni provoca:

- aumento locale del consumo di Glucosio
- aumento del flusso sanguigno
- aumento del volume ematico

Per ottenere neuroimmagini è necessario utilizzare marcatori fisiologici per poter misurare l'attività cerebrale. Le principali tipologie di marcatori sono le seguenti: conseguenze dirette dell'attività neurale, come la variazione di potenziale; variazioni metaboliche collegate all'attività neurale, come nel caso della fMRI. Nelle immagini di Risonanza Magnetica funzionale il marcatore endogeno utilizzato è l'*emoglobina*. Pauling e Coryell (1936) dimostrarono che l'emoglobina presenta proprietà magnetiche differenti a seconda che essa sia, o meno, legata all'ossigeno. L'*emoglobina deossigenata* (dHb) è *diamagnetica*, ovvero possiede elettroni spaiati aventi momento magnetico diverso da zero. L'*emoglobina ossigenata* (Hb) è *paramagnetica*, perciò non possiede elettroni liberi di muoversi e possiede momento magnetico nullo. Il sangue deossigenato presenta un'intensità di magnetizzazione (*suscettibilità magnetica*) maggiore di circa il 20% rispetto al sangue completamente ossigenato. Introducendo dHb in un campo magnetico è causato uno sfasamento degli spin, che determina un decadimento del segnale che dipende dalla costante di tempo  $T_2^*$  (tempo di rilassamento trasversale). Ogawa et

al. (1990) dimostrarono che il segnale rilevato dalla Risonanza Magnetica Nucleare (RMN) varia nel tempo in funzione del livello di ossigenazione del sangue. Questo segnale è chiamato Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD).

In seguito ad uno stimolo nervoso, la variazione di concentrazione di Hb e dHb, segue un andamento differente nel dominio del tempo. L'incremento della [dHb] determina una diminuzione del segnale MR, detta *initial dip*. L'aumento del segnale BOLD è determinato da un aumento del flusso sanguigno con relativo aumento della [Hb] e diminuzione della [dHb]. L'undershoot finale è legato ai cambiamenti di flusso e volume ematico in risposta all'attivazione neuronale. La variazione del segnale MR misurato, innescata dall'attività neurale, è definita *risposta emodinamica (HDR: hemodynamic response)*. L'andamento temporale della HDR varia a seconda delle caratteristiche dello stimolo.



**Figura 2.4 :** Andamento della HDR

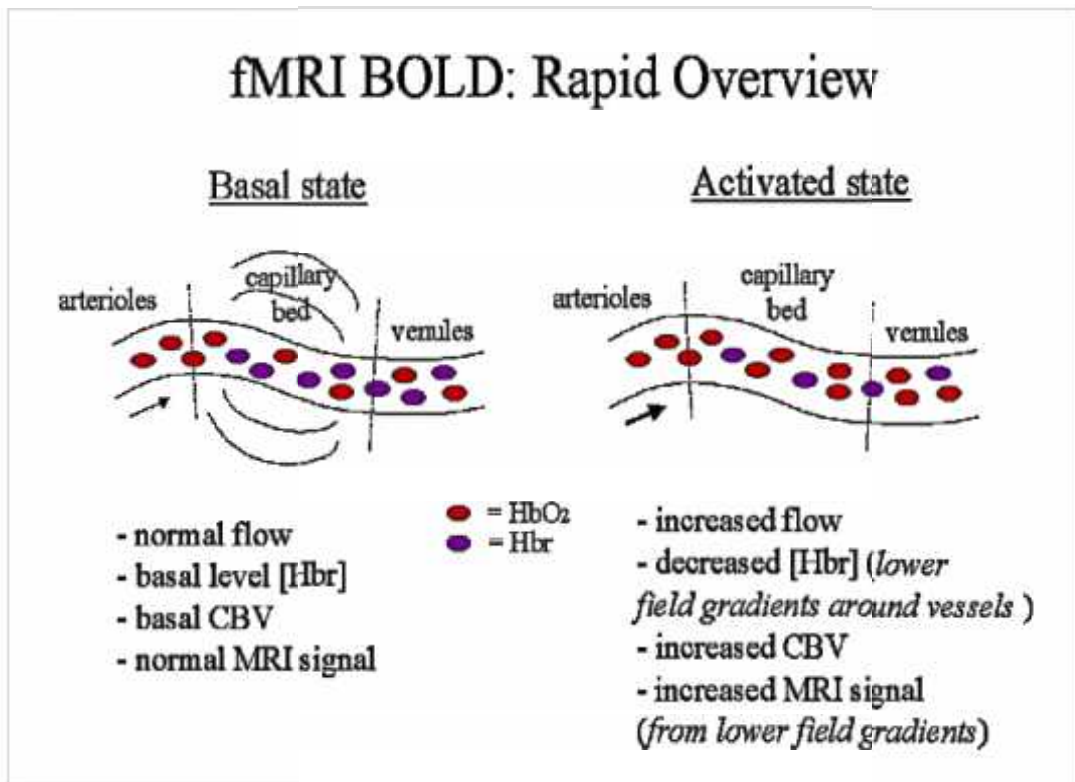
L'aumento di attività cerebrale, in seguito a stimoli, è contraddistinto da un aumento localizzato del flusso sanguigno, con conseguente aumento locale di quantità di emoglobina ossigenata. Nello stato inattivo, o basale, i neuroni

richiedono una certa quantità di ossigeno che prelevano dall'emoglobina, rendendola deossigenata. Lo *stato basale* è caratterizzato da:

- flusso ematico normale
- [dHb] a livello basale
- volume ematico a livello basale
- segnale MR normale

Lo *stato attivo* è contraddistinto da:

- incremento del flusso ematico
- diminuzione della [dHb]
- incremento del volume ematico
- aumento del segnale MR



**Figura 2.5 :** Segnale BOLD

Gli approcci sperimentali maggiormente utilizzati per l'acquisizione del segnale BOLD sono i seguenti : il *Block Design* e l' *Event Related*.

Nel *Block Design* vengono alternati periodi in cui sono assenti stimoli (*periodi di rest*), a periodi in cui il paziente è soggetto a stimoli. Gli stimoli possono essere di

diversa natura: cognitivi, motori o sensitivi. Essi vengono somministrati ripetutamente per un periodo di tempo prestabilito, seguito da un periodo, anch'esso prestabilito, di assenza di stimolo. Durante il blocco di stimolo, la risposta emodinamica non torna quasi mai alla condizione di base. Per trarre informazioni sulle aree attivate dai task, vengono confrontati i segnali BOLD acquisiti durante i blocchi di stimolo e i blocchi di rest. Le risposte ai singoli task si sommano linearmente tra loro, permettendo il miglioramento del SNR che definisce alta risoluzione all'immagine. I vantaggi di questo disegno sperimentale sono la semplicità dell'esecuzione e il miglioramento del SNR.

Nell'*Event Related* design sono somministrati numerosi stimoli singoli, ciascuno di questi separati da un intervallo di stimolo (ISI: interstimulus interval) che, se fissato, può variare da 2 a 20 secondi, oppure può variare da stimolo a stimolo. Rappresentando la risposta ad ogni singolo task, il segnale BOLD acquisito è considerevolmente più debole rispetto a quello relativo ad un blocco di stimoli. Questo design sperimentale stima efficacemente l'andamento temporale della risposta emodinamica, grazie agli intervalli di stimolo in cui il segnale torna alla condizione basale. Esiste un valore minimo dell'ISI per il quale si ottiene una risposta emodinamica corretta, tuttavia spesso non è possibile stabilirne un valore ottimale. L'*Event Related* risulta vantaggioso per la possibilità di randomizzare gli stimoli, in modo da impedire che gli eventi successivi siano prevedibili dal paziente.

### 2.2.2 *Preprocessing*

Prima di essere analizzati statisticamente, i dati vengono sottoposti ad operazioni di *pre-processing*:

- ricostruzione delle immagini
- co-allineamento delle immagini funzionali e strutturali
- riduzione del rumore e dei movimenti della testa
- filtraggio spaziale

Le *immagini funzionali* mostrano come i diversi tessuti cerebrali svolgano funzioni differenti. La realizzazione delle immagini funzionali è basata sui tempi di rilassamento dei protoni di idrogeno contenuti nell'emoglobina, misurati dallo scanner.

Per ottenere *immagini strutturali* lo scanner misura il rilassamento dei protoni di idrogeno contenuti nelle molecole d'acqua. Poiché le strutture hanno differenti concentrazioni di acqua, la velocità del rilassamento varia a seconda della struttura cerebrale. Tali immagini sono più contrastate e con maggiore risoluzione rispetto alle immagini funzionali. Nelle analisi dei dati fMRI, le immagini strutturali vengono allineate con quelle funzionali al fine di ottenere una mappatura accurata delle regioni in cui si verifica l'attivazione neurale durante un compito sperimentale.

Per ottenere una visualizzazione migliore dell'immagine funzionale, è necessario aumentare l'intensità del campo magnetico. Questo provoca incremento del SNR, vista la proporzionalità tra SNR e intensità del campo. Gli artefatti da rumore sono generati principalmente da:

- *rumore termico*, dovuto alle componenti elettroniche dello scanner (bobine di ricezione, preamplificatori, amplificatori, convertitore A/D)
- *rumore fisiologico*, di cui sono responsabili il ciclo cardiaco e il ciclo respiratorio. In questo caso, per minimizzare l'errore viene utilizzata una tecnica di acquisizione rapida chiamata Echo-planar imaging (EPI)
- *rumore di sistema*, dato dalle fluttuazioni dell'intensità del segnale MR, dovute ad un non perfetto funzionamento dello scanner.

Generalmente sperimentazioni con fMRI prevedono sessioni di acquisizione alternate a sessioni di pausa, per non affaticare eccessivamente il paziente. L'esame può durare oltre un'ora, e questo comporta l'immobilità del paziente per periodi di tempo prolungati.

Una tecnica utilizzata per ridurre i movimenti della testa del soggetto, è data dalla registrazione di immagini 2D o 3D, successivamente confrontate con un'immagine di base, per stimare l'eventuale rotazione e/o traslazione del capo. Un'ulteriore soluzione è data dall'utilizzo di dispositivi di immobilizzazione.

Per aumentare il SNR e migliorare la qualità dei dati, si ricorre ad un filtraggio spaziale dei dati, utilizzando un *filtro Gaussiano di smoothing*. Esso è approssimabile ad un filtro passa basso, il cui effetto è quello di ridurre il rumore alle alte frequenze e lasciare i volumi cerebrali inalterati alle basse frequenze. Questa tipologia di filtraggio spaziale produce un "blurring" delle immagini, con conseguente perdita di risoluzione spaziale.

### **2.3 Integrazione del segnale EEG e delle immagini fMRI**

La coregistrazione del segnale EEG e delle immagini fMRI, evidenzia nell'istante in cui si verifica un evento elettrico, un'area contraddistinta da un'alta concentrazione di deossiemoglobina dovuta ad un aumento del flusso ematico nell'area in cui è generato il segnale.

I maggiori vantaggi dell'EEG rispetto alle altre tecniche d'indagine cerebrale sono:

- lo scarso impatto sul soggetto
- la portabilità
- è una tecnica non invasiva
- ha costi di hardware bassi
- ha ottima risoluzione temporale
- la strumentazione è silenziosa
- il paziente non è esposto a campi magnetici intensi

I relativi svantaggi:

- Scarsa risoluzione spaziale
- Sensibilità ad artefatti

La fMRI rispetto ad altre tecniche di misura dell'attività cerebrale, fornisce informazioni diverse. Rispetto all'EEG o alla MEG, essa presenta una minore risoluzione temporale, ma una maggior risoluzione spaziale, e misura il segnale con un forte ritardo. Tuttavia EEG e MEG localizzano la zona di origine del segnale con un errore dell'ordine dei centimetri; l'errore della risonanza magnetica funzionale varia da un minimo di pochi millimetri, ad un massimo di un centimetro.

La fMRI a confronto con la PET, presenta una risoluzione spaziale ancora maggiore, ed è inoltre meno invasiva poiché non richiede la somministrazione di liquido di contrasto. Di conseguenza risulta notevolmente più rapida, dato che il segnale registrato non dipende dal tempo di assorbimento del liquido di contrasto. Nonostante questo, la fMRI non compie una misura diretta del segnale, è sensibile ad artefatti ed è una tecnologia costosa.

Registrazione del potenziale EEG durante l'acquisizione di immagini fMRI identifica l'attività cerebrale e le informazioni sulle relative localizzazioni dei generatori del

segnale. Questa acquisizione simultanea unisce l'alta risoluzione spaziale dell'fMRI all'alta risoluzione temporale dell'EEG. Essa è principalmente utilizzata per:

- *Localizzazione delle sorgenti del segnale elettroencefalografico*, ovvero la risoluzione del “problema inverso”. Esso consiste nell'individuazione della sede delle sorgenti neuroeletttriche a partire dai valori registrati della distribuzione del potenziale sugli elettrodi. Ad ogni distribuzione di potenziale vengono associate numerose origini possibili.
- *Identificazione dell'attività EEG spontanea*, impiegata nello studio di attività di riposo e del sonno.

La combinazione EEG-fMRI non è esente da artefatti, infatti essi sono causati dall'interazione delle due strumentazioni, compromettendo sia la qualità dei segnali EEG, sia la qualità delle immagini di risonanza. Gli artefatti dipendono principalmente dall'influenza dello scanner MR sui seguenti dispositivi:

- cavi elettrici
- elettrodi
- sistema di registrazione

La fusione di modalità di imaging con caratteristiche complementari, è utile per il superamento dei limiti a cui sono soggetti.





## CAPITOLO 3

### Applicazioni neurofisiologiche delle tecniche di indagine cerebrale

#### 3.1 EEG

La tecnica EEG descritta in precedenza, trova largo impiego sia nella pratica clinica che in ampi settori della ricerca medica. Nel seguito verrà presentato e discusso uno studio sperimentale in cui tale tecnica è stata applicata con successo.

*“Variazioni EEG lungo l’asse antero-posteriore, durante la transizione veglia-sonno” [20]*

Il seguente studio indaga sulla topografia cerebrale lungo l’asse antero-posteriore, durante la transizione veglia-sonno, sostenendo l’idea di sonno come processo locale. In particolare viene mostrato come sono distribuite le variazioni del segnale EEG nelle diverse aree cerebrali, attraverso un’analisi in frequenza.

L’analisi delle onde cerebrali e lo sviluppo delle tecniche di elettroencefalografia, permisero di costruire le basi per lo studio e la ricerca moderna sul sonno. Fino agli anni ’60 del secolo scorso si pensava che il sonno fosse uno stato passivo dovuto alla mancanza del passaggio di stimoli al cervello. Tuttavia, studi sul metabolismo cerebrale hanno evidenziato che durante il sonno, il SNC consuma la stessa quantità di ossigeno che utilizza durante la veglia, per questo, oggi il sonno è considerato uno stato attivo. Rapidamente fu dimostrato che differenti fasi del sonno provocavano modificazioni dell’attività EEG.

Il sonno è suddiviso principalmente in due fasi: il sonno *REM* (Rapid Eye Movements) e il sonno *NREM* (non REM o sonno profondo a onde lente). Il sonno NREM, costituisce il 75% del tempo totale di sonno, dura circa 60-90 minuti, ed è a sua volta suddiviso in 4 stadi:

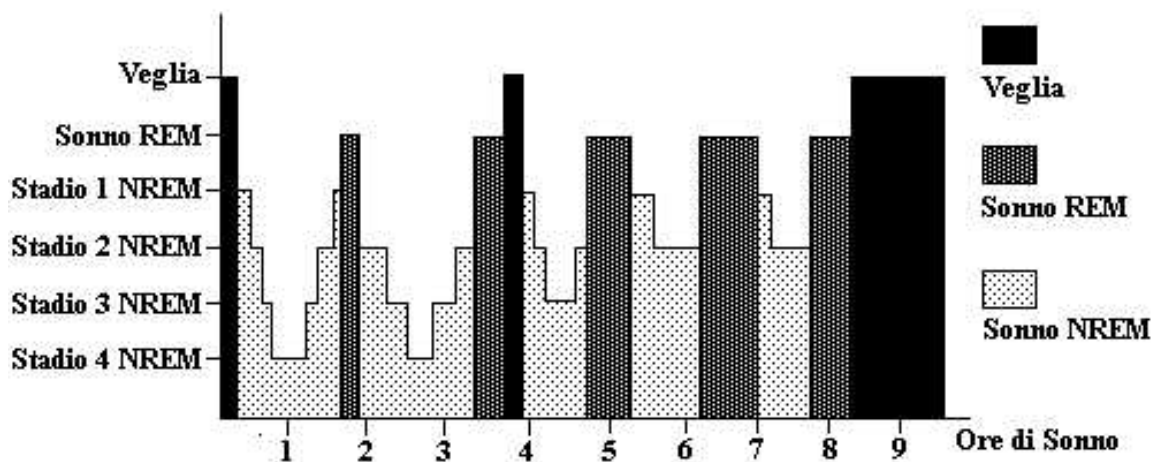
- Stadio 1: fase dell’addormentamento. Diminuisce l’attività in banda Alfa e aumenta l’attività in banda Theta.
- Stadio 2: prevale l’attività in banda Theta. Compaiono treni di onde con frequenza di 12-16 Hz, dalla durata di circa 0,5-1,5 sec, detti fusi del sonno, o *sleep spindles*, che perdurano per tutta la durata del sonno NREM. Inoltre si manifestano i *complessi K*: formazioni elettroencefalografiche di alto voltaggio costituiti da un andamento dell’onda EEG caratterizzato da una

rapida fase negativa con fronte di risalita altrettanto rapido, seguito da una fase positiva con fronte di discesa più lento.

- Stadio 3: le onde Delta di alto voltaggio divengono più frequenti, e comprendono dal 20% al 40% di un'epoca<sup>3</sup>.
- Stadio 4: le onde Delta compongono almeno il 50% di un'epoca. Gli stadi 3 e 4 identificano ciò che viene definito sonno ad onde lente (Slow Wave Sleep, SWS), e corrisponde alle fasi del sonno più profondo.

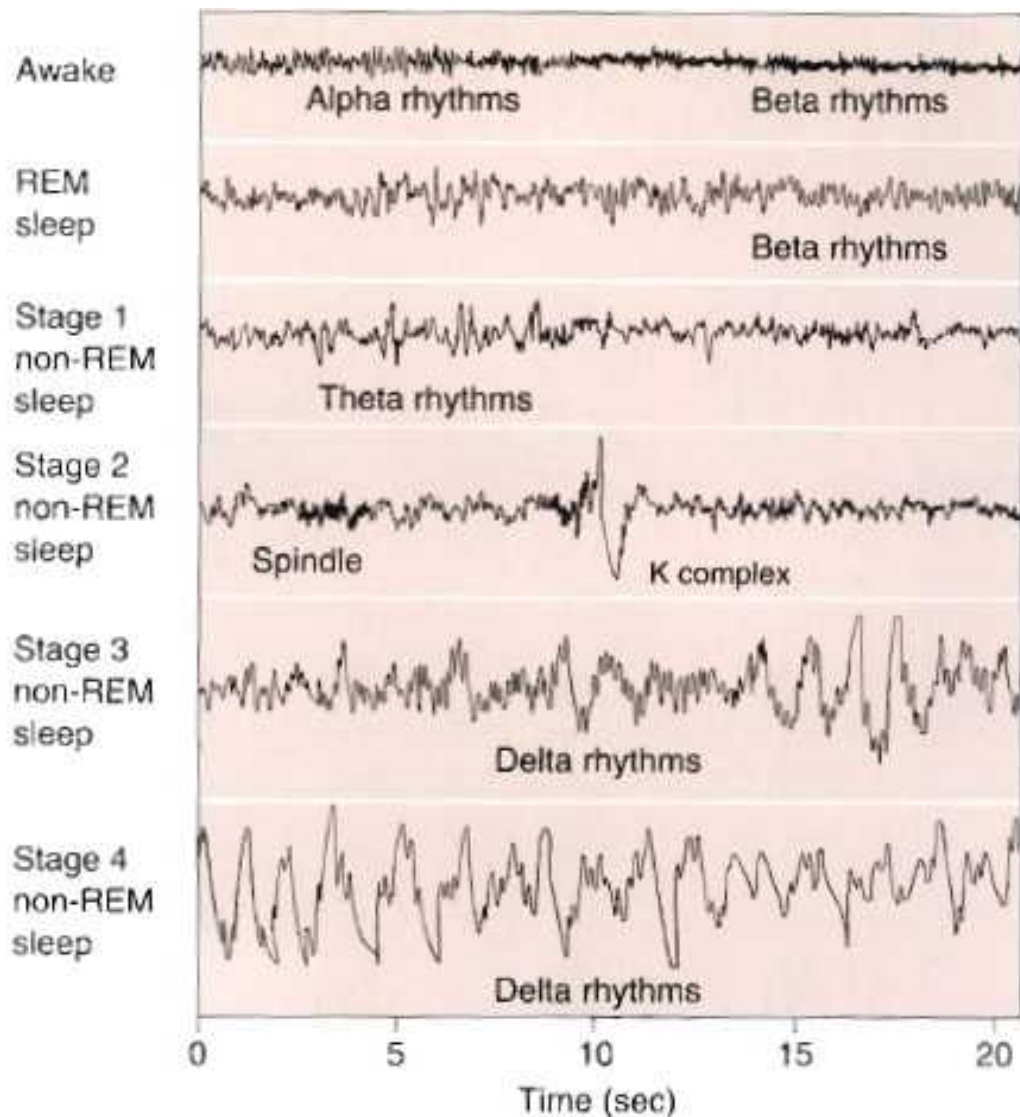
Il sonno REM occupa il 25% del tempo di sonno totale, ed è caratterizzato da: movimenti oculari rapidi, riduzione del tono muscolare e dalla comparsa di treni di onde Theta a dente di sega. Inoltre possono manifestarsi aritmie cardiache e modificazioni respiratorie con apnee.

Un tipico periodo di sonno di 8 ore è costituito da cicli ripetuti NREM-REM.



**Figura 3.1:** Distribuzione temporale dei diversi stadi del sonno durante una notte normale di sonno

<sup>3</sup> Epoca: periodo di registrazione del segnale EEG



**Figura 3.2:** Tracciati EEG durante le diverse fasi del sonno

L'analisi del sonno mediante l'utilizzo di tecniche EEG, mostra variazioni di frequenze specifiche nel segnale estratto e variazioni topografiche dell'attività cerebrale. Krueger and Obal(1993) dimostrarono che il sonno non è unicamente un fenomeno globale che coinvolge simultaneamente l'intero cervello, ma possiede anche processi locali. Kattler e colleghi (1994) accertarono che il sonno può presentare differenze locali in relazione all'attività di certe aree cerebrali durante la veglia. Attraverso l'applicazione di uno stimolo vibratorio prolungato ad una mano di soggetti volontari veniva attivata la parte controlaterale della corteccia somatosensoriale, tale regione presentava un EEG durante il sonno diverso dal suo

equivalente controlaterale. Mettendo a confronto i due emisferi è stato evidenziato uno spostamento delle onde lente verso l'emisfero stimolato.

I valori di potenza del segnale EEG sono stati valutati nel range di frequenze 1-28 Hz con risoluzione 1 Hz, sia per ciascun Hz all'interno della banda 1-28 Hz (analisi single-Hz), sia all'interno di intervalli di frequenze stabiliti (analisi a gruppi di frequenze).

L'esperimento è stato effettuato su 7 uomini volontari sani destrimani, con età media di 22,86 anni. I partecipanti hanno dormito per almeno due notti consecutive in una stanza insonorizzata ed a temperatura controllata. La registrazione EEG è iniziata attorno alle 23:30, ed è terminata dopo 7,5 ore di sonno. I dati utilizzati dal seguente studio sono relativi alle notti successive alla prima, occorsa per l'ambientazione dei volontari.

Le registrazioni poligrafiche sono state effettuate tramite il poligrafo Esaote Biomedica VEGA 24.

Le variazioni topografiche sono state valutate attraverso l'applicazione di 7 canali monopolari EEG (C3-A2, C4-A1, Fpz-A1, Fz-A1, Cz-A1, Pz-A1, Oz-A1), secondo il Sistema Internazionale 10-20, facendo la media dei valori di potenza individuali registrati. I segnali EEG rilevati sono stati successivamente filtrati con un filtro passa-alto, avente costante di tempo di 0,3s, ed un filtro passa-basso, con frequenza di taglio di 30 Hz, poiché non sono state osservate variazioni topografiche rilevanti al di fuori di questa banda di frequenze.

Le impedenze degli elettrodi sono state mantenute al di sotto dei 5 K $\Omega$ .

I movimenti oculari bipolari orizzontali e verticali sono stati registrati con costante di tempo di 1 sec.

Un criterio per analizzare le registrazioni poligrafiche eseguite durante il sonno è costituito dall'applicazione di tecniche computerizzate di analisi spettrale del segnale EEG. Tale metodo di indagine prevede la trasformazione del segnale dal dominio del tempo a quello delle frequenze. E' così possibile misurare la potenza espressa da una delle bande di frequenza che compongono l'EEG in un dato tempo, e stabilire quanto ciascuna delle bande incide nella composizione del segnale. L'utilizzazione dei sistemi di analisi spettrale consente anche di costruire dei grafici che esprimono l'andamento nel tempo dei valori di potenza relativa delle varie bande EEG.[22]

### *Analisi Single Hz*

L'analisi single-Hz valuta la potenza media EEG di ciascun intervallo di ampiezza 1 Hz, calcolata all'interno dell'intervallo di frequenze 1-28 Hz, durante la transizione veglia-sonno. A causa della variabilità dei tempi di transizione veglia-sonno dei soggetti, al fine di rendere confrontabili i singoli stadi transitori, sono stati valutati solamente i 5 minuti che precedono e seguono lo *Sleep Onset (SO)*<sup>4</sup>. Nell'intervallo che precede lo SO, le frequenze appartenenti all'intervallo 1-6 Hz prevalgono nell'area anteriore dello scalpo, mentre un decremento della potenza EEG è stato osservato nell'area occipitale. La derivazione Pz difatti mostra una potenza inferiore rispetto alle derivazioni Cz, Fz e Fpz. A 9 Hz la potenza EEG nell'area occipitale risulta migliore rispetto alle altre aree. Nei 5 minuti successivi lo SO, la potenza EEG prevale nel range 1-14 Hz nella derivazione Cz rispetto alle altre, con un picco dell'attività EEG nell'area centro-frontale all'interno della banda delle frequenze sigma (13-14 Hz).

L'analisi single Hz mostra, inoltre, che nei 5 minuti che precedono la comparsa di uno *sleep spindle* o di un *k-complex*, le frequenze <7 Hz risultano più evidenti nelle zone anteriori dello scalpo (area centrale, frontale e frontopolare) e nell'area parietale, piuttosto che in quella occipitale. Al contrario, frequenze dell'attività EEG >8 Hz prevalgono nella zona occipitale, mentre quelle >13 Hz non sono caratterizzate da significative variazioni nell'asse antero-posteriore.

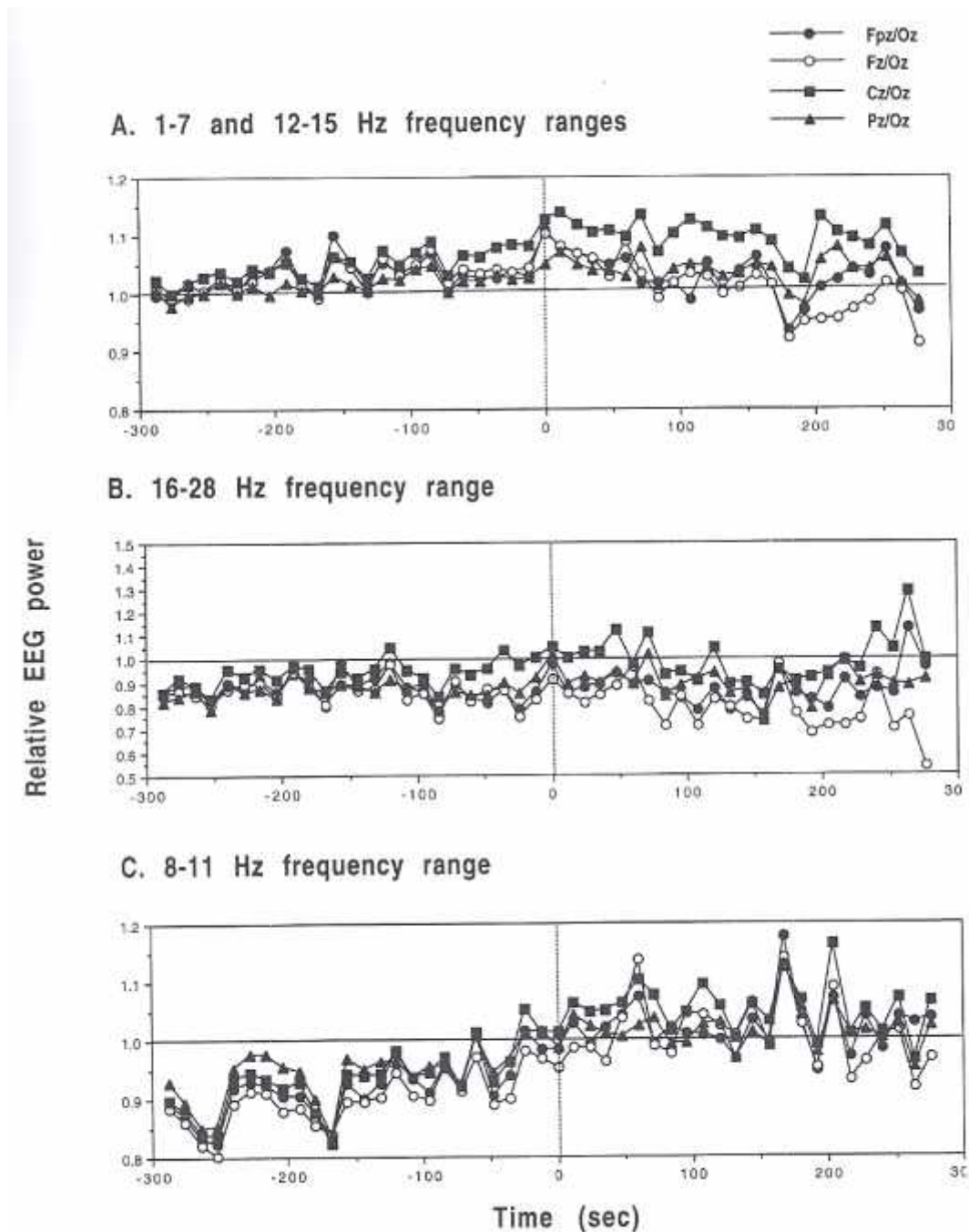
Non è stata osservata nessuna variazione consistente nel range di frequenze più alte. L'attività del ritmo Alfa (8-11 Hz) nella zona occipitale, nei 5 minuti che precedono l'insorgere dello stadio 2 del sonno, incrementa del 10% rispetto alla zona anteriore. Le variazioni del ritmo alfa durante la transizione veglia-sonno sono rappresentate attraverso una curva polinomiale del secondo ordine, in cui il valore minimo è raggiunto all'insorgenza del sonno. La mancanza di differenze topografiche dopo lo SO (Figura 3.3 Panel C) indica che il ritmo alfa, oltre a modificare il suo significato funzionale con l'inizio del sonno, si propaga anche anteriormente, rispetto alla sua predominanza nell'area occipitale durante la veglia.

La diffusione dei ritmi alfa durante lo SO nelle aree anteriori dello scalpo era già stata oggetto di studi passati, sebbene secondo Hasan e Broughton (1994) essa

---

<sup>4</sup> Sleep Onset: passaggio dalla veglia al sonno. Lo SO è caratterizzato da un modello di frequenze specifiche e variazioni topografiche, osservabili mediante un'analisi microstrutturale dell'attività EEG.

risultava più accentuata nei siti fronto-centrali. I risultati di questa sperimentazione mostrano invece una diffusione di tali ritmi nell'area anteriore, in particolare nelle aree centrali dello scalpo. La principale differenza che contraddistingue il seguente studio dai precedenti è costituita dal periodo di comparsa delle modificazioni. Infatti esse hanno inizio dopo lo stadio 2, anziché durante i primi minuti dello stadio 1 in cui è presente un picco dell'attività alfa nell'area occipitale. Questo accade probabilmente a causa delle differenze metodologiche tra il presente studio e i precedenti, nei quali era stata effettuata un'analisi dell'individuale andamento temporale delle variazioni topografiche dell'attività alfa anziché una media dei valori di potenza.



**Figura 3.3:** Andamento temporale delle variazioni EEG 5 minuti prima e 5 minuti dopo lo SO. La figura riporta le potenze EEG come rapporto tra l'attività EEG registrata dalle derivazioni frontopolare (Fpz), frontale (Fz), centrale (Cz) o parietale (Pz) e l'attività registrata dalla derivazione occipitale. La linea tratteggiata verticale indica lo SO (inizio stadio 2), mentre la linea orizzontale l'attività occipitale. L'andamento temporale della potenza EEG relativa è calcolata negli intervalli: 1-7 Hz e 12-15 Hz (A.) ; 16-28 Hz (B.); 8-11 Hz (C.). Si noti che B. utilizza una scala diversa.

### *Analisi a gruppi di frequenze*

In questa seconda analisi è stata valutata la potenza media EEG nei seguenti intervalli di frequenza (o ritmi): alfa (8-11 Hz), beta (16-28 Hz) e delta/theta/sigma (1-7 Hz e 12-15 Hz).

Le frequenze del ritmo delta/theta/sigma non mostrano differenze topografiche rilevanti nei primi 2 minuti della transizione veglia-sonno. Circa 60s prima dello SO, la potenza EEG risulta maggiore nella zona centrale dello scalpo, e ciò indica che tale zona è la prima a sincronizzare le oscillazioni EEG. Le frequenze appartenenti all'intervallo beta, prevalgono invece nelle derivazioni frontali. Nell'intervallo che intercorre tra i 60 s prima e i 60 s dopo lo SO, è rilevato un lieve incremento dell'attività EEG dalla derivazione Cz, causata probabilmente da un contemporaneo aumento delle frequenze delta/theta/sigma (12-15 Hz). (Figura 3.3 A.)

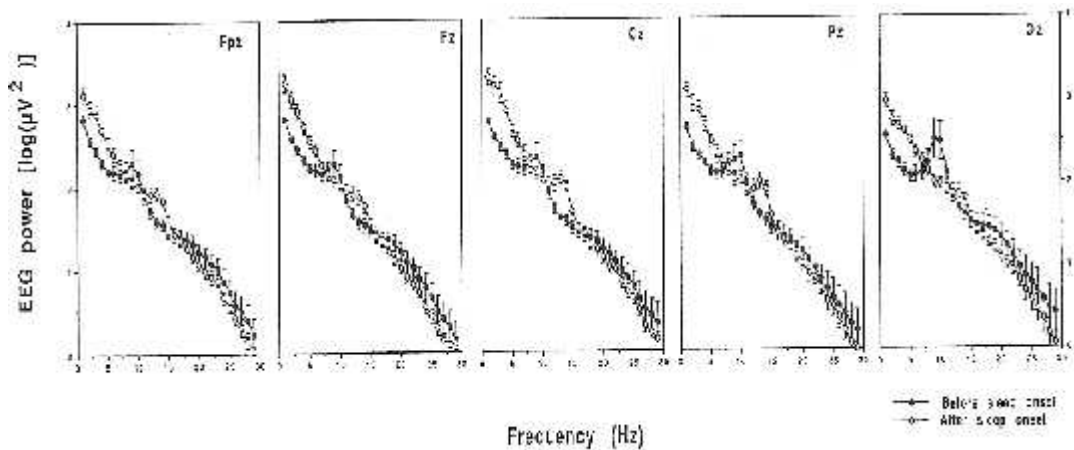
Come confermato dall'analisi single Hz, lo SO è contraddistinto da un incremento generalizzato dell'attività EEG all'interno dell'intervallo di frequenze 1-15 Hz.

Il range di frequenze alfa prevale nella derivazione occipitale, ma tale diffusione tende a terminare con lo SO. In altre parole, la comparsa del primo sleep spindle o k-complex, coincide con un rilevante decremento dell'attività alfa nell'area occipitale.

Mentre i ritmi delta/theta/sigma rappresentano un fattore di sincronizzazione ed il ritmo beta di desincronizzazione, il significato funzionale del ritmo alfa dipende dall'evoluzione temporale del processo di SO. Il processo di sincronizzazione inizia con l'insorgere della fase 2 e coinvolge l'intera gamma di basse e medie frequenze. L'aumento della potenza EEG nell'intervallo 8-11 Hz dopo lo SO e la sua diffusione nella zona anteriore, è l'espressione di tale processo.

La partizione dell'EEG in tre bande specifiche permette di differenziare l'attività EEG prima e dopo lo SO, attraverso differenze topografiche: il picco dell'attività del ritmo delta/theta/sigma è localizzato nella regione centrale dello scalpo, mentre la notevole diminuzione dell'attività dei ritmi alfa e beta è stata osservata rispettivamente nelle aree occipitale e frontale. (Figura 3.4)





**Figura 3.4:** Potenza EEG (in scala logaritmica) registrata dalle derivazioni frontopolare (Fpz), frontale (Fz), centrale (Cz), parietale (Pz) e occipitale (Oz).

### *Conclusioni*

L'elettroencefalografia è la tecnica d'indagine più diffusa per descrivere le differenze tra la veglia e il sonno. Una descrizione quantitativa delle modificazioni EEG è necessaria per comprendere le funzioni cerebrali caratteristiche del sonno. Il modello sopradescritto mostra come le variazioni topografiche dell'EEG durante la transizione veglia-sonno abbiano una diversa tempistica attraverso le differenti regioni cerebrali. Esse sono distribuite lungo l'asse antero-posteriore e risultano trascurabili nelle regioni interemisferiche, confermando che il sonno non inizia simultaneamente in tutte le aree corticali. I risultati ottenuti evidenziano inoltre che il ritmo alfa diffonde anteriormente durante la transizione veglia-sonno ed alcune regioni anteriori sincronizzano per prime l'attività EEG. Infine, il modello individua la fase 2 come "vero" confine tra veglia e sonno.

### **3.2 fMRI**

La Risonanza Magnetica funzionale è ampiamente utilizzata in campo medico come strumento di diagnosi, grazie alla non invasività della procedura. In neuropsichiatria essa viene utilizzata principalmente per individuare variazioni funzionali cerebrali causate da patologie, come ad esempio la schizofrenia.

La schizofrenia è un gruppo di psicosi caratterizzate da alterazioni del pensiero, della percezione, dell'affettività e del comportamento. Le cause di questa malattia psichiatrica non sono completamente note, ma si ipotizzano diversi fattori tra loro

interagenti: ereditari, biologici, psicologici, socio-ambientali, legati alla personalità.

La sintomatologia è caratterizzata da:

- incongruenza ed inadeguatezza
- autismo
- disturbi della personalità
- disturbi della percezione: allucinazioni
- disturbi del contenuto del pensiero: deliri
- disturbi dell'affettività
- disturbi della sessualità

La terapia è essenzialmente basata su farmaci neurolettici (antipsicotici), e sulla psicoterapia a livello sia individuale, sia familiare.

Studi precedenti hanno tuttavia approfondito l'aspetto morfo-funzionale di tale patologia. Wright (2000) pubblicò risultati rilevanti per quanto riguarda il volume cerebrale locale e globale, e il volume dei ventricoli cerebrali. Generalmente i soggetti affetti da schizofrenia presentano le seguenti anomalie corticali:

- aumento del volume ventricolare
- riduzione del volume cerebrale globale
- riduzione volumetrica ed alterazione della sostanza grigia nelle aree prefrontale, parietale e temporale (giro temporale superiore) [34]

Nella seguente sperimentazione è stata utilizzata la fMRI per definire una mappa di attivazione cerebrale in risposta a stimoli visivi in pazienti schizofrenici, mettendo in evidenza l'anomalia dell'attivazione delle strutture cerebrali coinvolte nei processi emozionali.

*“An fMRI Study of Facial Emotion Processing in Patients With Schizophrenia” [25]*

Un funzionamento emotivo alterato è considerato fondamentale nella schizofrenia e in altre patologie psichiatriche [26]. Studi precedenti hanno messo in luce deficit nei processi emozionali quali: l'identificazione, la discriminazione e il riconoscimento delle espressioni facciali. Tecniche di neuroimaging funzionale hanno indagato sui circuiti neurali che modulano i processi emozionali in soggetti sani, durante la

discriminazione di emozioni [27], dell'umore [28] e durante l'applicazione di stimoli evocati [29].

Il presente studio valuta l'attivazione dell'amigdala (centro di integrazione dei processi neurologici superiori, come le emozioni), in soggetti sani a confronto con soggetti schizofrenici, e se essa è correlata alla valenza emotiva degli stimoli. Il segnale BOLD è stato misurato durante la visualizzazione di diverse espressioni facciali. Il task prevede l'alternanza della discriminazione dell'emozione e della discriminazione dell'età del volto. Sono stati inoltre esaminati gli effetti provocati dalla visione di espressioni emozionali sul sistema limbico, e su alcune regioni corticali, nei pazienti schizofrenici.

*Partecipanti:*

Alla sperimentazione hanno partecipato 14 pazienti affetti da schizofrenia (10 uomini e 4 donne, destrimani), e 14 soggetti sani volontari (10 uomini e 4 donne, destrimani), presso lo Schizophrenia Research Center of the University of Pennsylvania.

I soggetti sani non dovevano avere parenti di primo grado affetti da alcuna malattia psichiatrica, mentre ai pazienti doveva essere stata diagnosticata la schizofrenia non concomitante con ulteriori disturbi clinici della personalità o con ritardi mentali. A ciascun paziente sono stati somministrati farmaci antipsicotici, ad eccezione di uno poiché non gli erano mai stati somministrati farmaci antipsicotici prima. Gli antipsicotici utilizzati, indicati per il trattamento della schizofrenia, sono: il Risperidone, la Clozapine e l'Haloperidol. Inoltre, soltanto a 10 è stata somministrata anche Olanzapina.

*Stimoli:*

Gli stimoli utilizzati consistevano in fotografie a colori di attori e attrici, durante l'interpretazione, in tre livelli di intensità, le seguenti 5 emozioni:

- Felicità
- Tristezza
- Rabbia
- Paura
- Disgusto

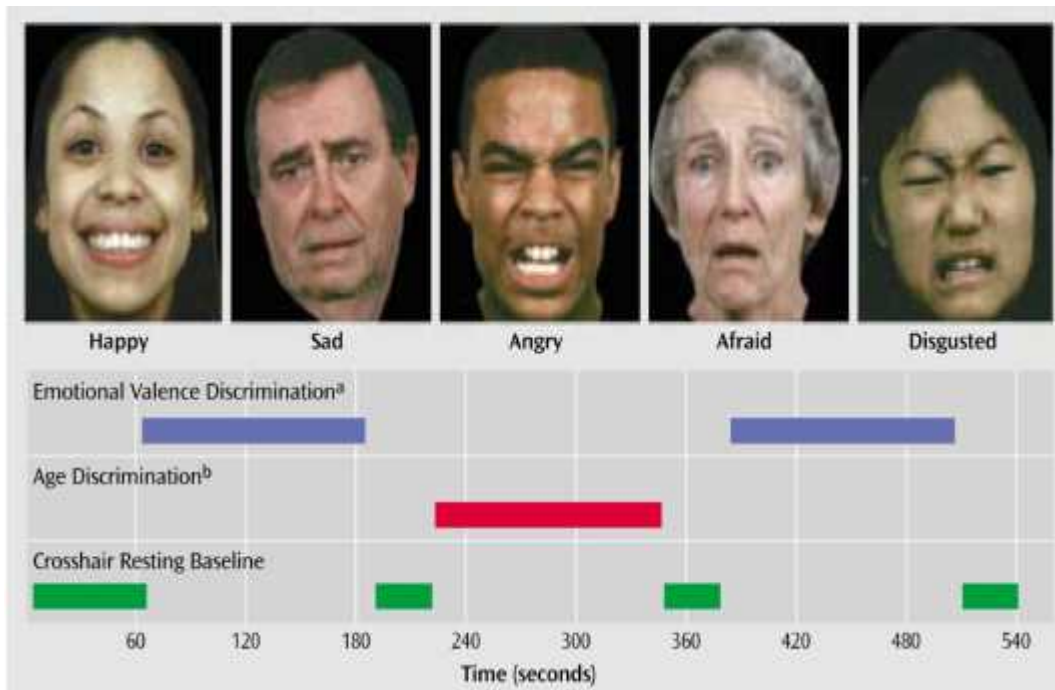
Per ciascuna delle 5 emozioni sono state registrate 12 espressioni, oltre a 30 facce neutre. In totale sono stati utilizzati 90 volti (50% uomini, 50% donne), di cui 53

Caucasi (58.9%), 21 Afro-Americani (23,3%), 10 Spagnoli (11,1%) e 6 Asiatici (6,7%).

*Procedura:*

I partecipanti sono stati disposti supini all'interno dello scanner fMRI ( 4-T GE Signa Scanner, Milwaukee, Wis.). Il capo è stato mantenuto fisso attraverso un dispositivo in poliuretano espanso elastico (gommapiuma), posto sulla bobina di rilevazione magnetica. I soggetti osservavano le fotografie attraverso uno specchio montato all'interno del gantry. Le immagini sono state retroproiettate su uno schermo attraverso un Computer-Activated LCD Projection System.

Come mostrato in Figura 5, i primi 60 s di scansione sono caratterizzati da un Crosshair Resting Baseline (condizione di riposo). Questo è stato seguito da tre blocchi di 120 s, il primo dedicato alla discriminazione della valenza emotiva, il secondo blocco alla discriminazione dell'età, ed il terzo alla discriminazione della valenza emotiva. Al termine di ciascun blocco sono stati introdotti 40 s di condizione di baseline. Ogni blocco presentava facce ogni 4 s. 20 di queste esprimevano emozioni (4 per ciascun tipo di emozione), le restanti 10 erano neutre. Il terzo Crosshair block indicava il termine del task.



**Figura 3.5:** In alto sono riportati i 5 volti che esprimono le 5 diverse emozioni. In basso, le sequenze dei blocchi a cui sono stati sottoposti i partecipanti.

<sup>a</sup> : i partecipanti dovevano indicare se l'emozione visualizzata era positiva o negativa.

<sup>b</sup> : i partecipanti dovevano indicare se l'attore aveva più o meno di 30 anni.

Ai partecipanti è stata fornita una tastiera, costituita da componenti non ferromagnetici, per rispondere agli stimoli. La pressione del pulsante sinistro indicava la percezione di un'emozione positiva, viceversa, quella del pulsante destro, un'emozione negativa. Per la discriminazione dell'età, la pressione del pulsante sinistro era richiesta per il riconoscimento di volti giovani (14 facce), diversamente, la pressione del pulsante destro per volti adulti (10 facce).

*Risultati:*

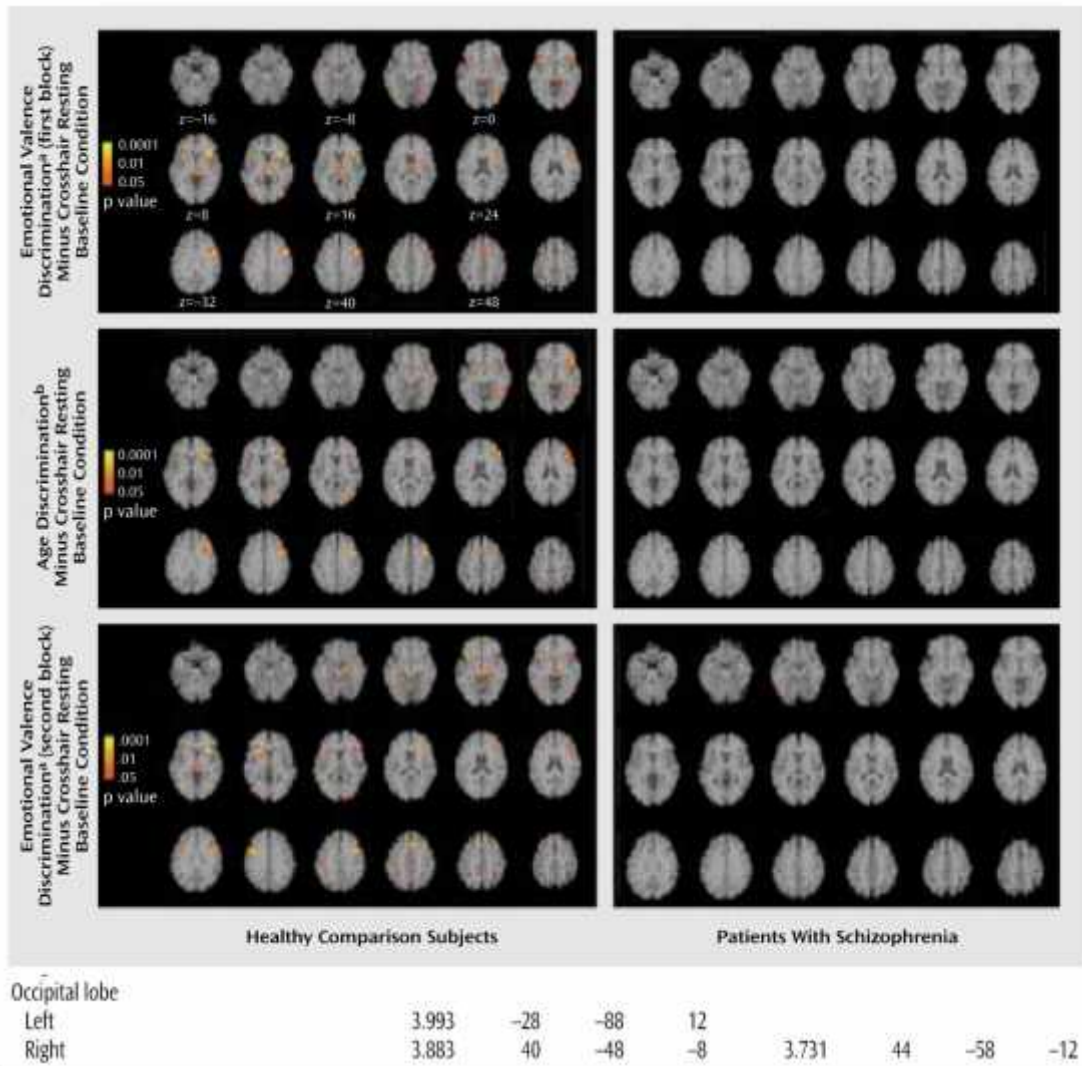
I partecipanti non hanno avuto difficoltà nello svolgere il compito di discriminazione della valenza emotiva. Il tempo di reazione è risultato più veloce nei soggetti sani, rispetto ai pazienti, ma la differenza non è apparsa significativa. Nei partecipanti sani, per entrambi i blocchi di discriminazione della valenza emotiva, sono stati osservati voxel reattivi nell'amigdala e nell'ippocampo (Tabella 3.1, Figura 3.6). Il compito di discriminazione dell'età è risultato più difficile per entrambi i gruppi: i partecipanti sani hanno risposto correttamente, in media, al

60.3% degli stimoli, mentre i pazienti al 50.7%. Anche in questo caso non sono risultati significativi i tempi di reazione. La discriminazione dell'età, oltre a mostrare una risposta localizzata nell'amigdala e nell'ippocampo, ha evidenziato una risposta rilevante nelle regioni corticali posteriori. Tuttavia entrambi i task hanno indotto l'attivazione del giro fusiforme (localizzato nel lobo temporale e responsabile del riconoscimento dei volti), del lobo occipitale e della corteccia frontale inferiore.

L'analisi dei dati nei soggetti sani ha mostrato l'attivazione dell'amigdala e dell'ippocampo, per entrambi i task (Figura 3.7). Per quanto riguarda il primo blocco, è stato osservato un picco bilaterale nell'amigdala e nell'ippocampo di destra, mentre per il secondo blocco l'attivazione dell'amigdala è apparsa significativa solamente nell'area sinistra, viceversa l'ippocampo è attivo bilateralmente (Tabella 3.2). Nei pazienti, durante il primo blocco di discriminazione della valenza emotiva si attiva solo l'ippocampo, nel secondo l'amigdala, pur essendo minima la risposta.

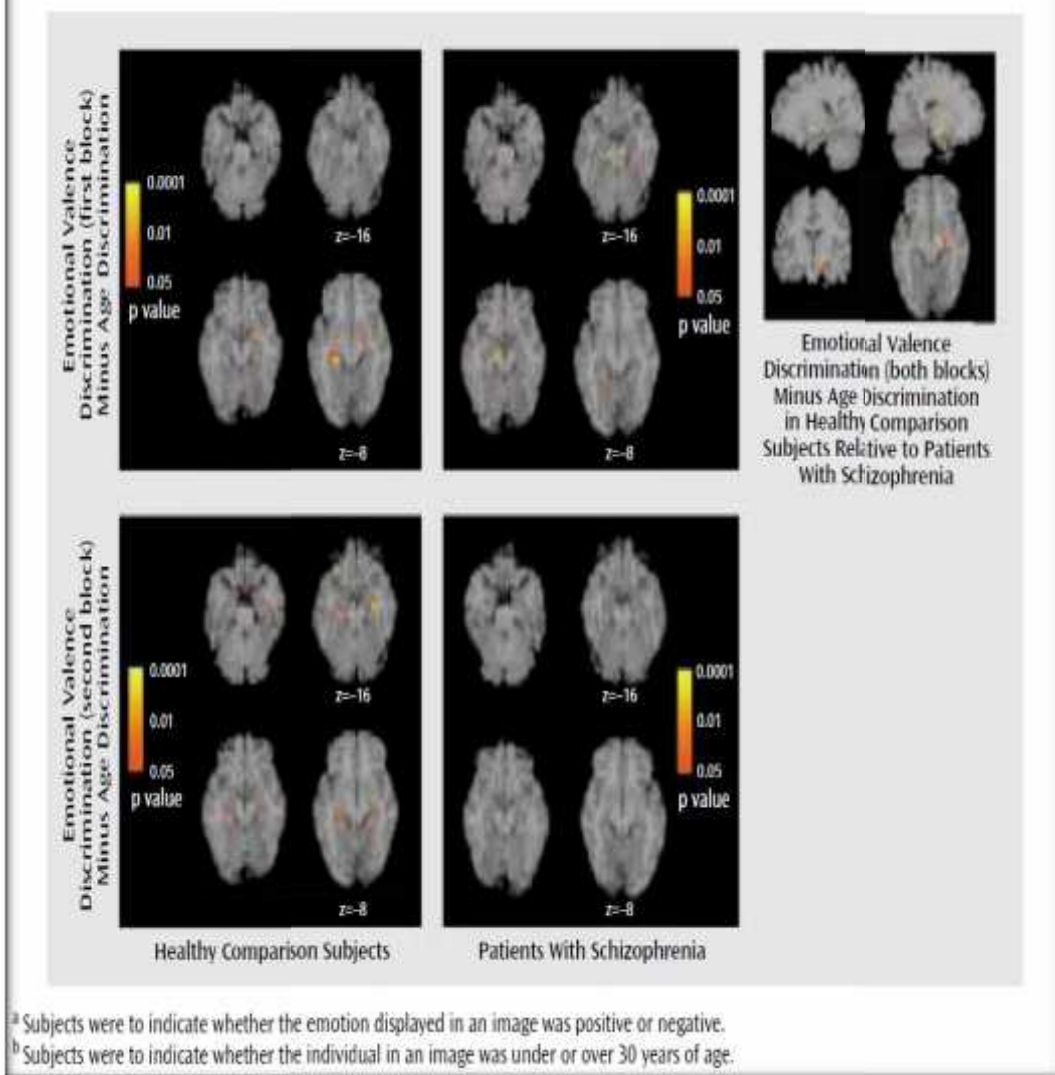
Confrontando le risposte dei pazienti e dei volontari alla discriminazione delle emozioni (entrambi i blocchi combinati), sono state riscontrate attivazioni significative nell'area sinistra dell'amigdala e nell'ippocampo dei soggetti di controllo, mentre è risultata minima la risposta dell'emisfero sinistro dei pazienti (Tabella 3.3).

**Tabella 3.1:** Confronto tra le diverse aree cerebrali attivate durante i task, nei soggetti sani e nei pazienti schizofrenici.



**Figura 3.6:** Rappresentazione delle aree cerebrali attivate durante la discriminazione della valenza emotiva e la discriminazione dell'età, rispetto alla condizione di baseline originaria, in 14 soggetti sani e in 14 pazienti.

FIGURE 3. Images Depicting Brain Areas of Significant Activation During the Emotional Valence Discrimination Task<sup>a</sup> Relative to the Age Discrimination Task<sup>b</sup> in 14 Patients With Schizophrenia and 14 Healthy Comparison Subjects



**Figura 3.7:** Confronto delle aree attivate durante i task tra i soggetti di controllo e i pazienti schizofrenici. Le immagini sono presentate in convenzione radiologica, ovvero l'emisfero sinistro è a destra dell'osservatore.



**Tabella 3.2:** Aree cerebrali con attivazione significativa

Task Differential and Region	Comparison Subjects (N=14)				Patients With Schizophrenia (N=14)			
	Peak (z score)	Talairach Coordinates			Peak (z score)	Talairach Coordinates		
		x	y	z		x	y	z
Emotional valence discrimination (first block) minus age discrimination								
Amygdala								
Left	2.885	-24	0	-12				
Right	2.837	20	-4	-4				
Hippocampus								
Left					2.102	-16	-32	0
Right	2.718	24	-24	-4	2.107	16	-12	-12
Emotional valence discrimination (second block) minus age discrimination								
Amygdala								
Left	3.279	-28	-8	-16	1.741	-12	0	-20
Right					2.028	24	0	-4
Hippocampus								
Left	2.565	28	-12	-16	1.738	-20	-32	0
Right	2.798	-28	-36	4				

**Tabella 3.3:** Differenze tra aree cerebrali attivate durante il task di discriminazione della valenza emotiva

Region	Location of Significant Activation Difference				
	Peak (z score)	Talairach Coordinates			
		x	y	z	
Left amygdala	3.63	-12	-4	-8	
Left hippocampus	3.24	-16	-8	-8	
Right hippocampus	3.35	20	-12	-8	

*Discussione:*

I pazienti affetti da schizofrenia hanno mostrato un'attivazione ridotta dell'area sinistra dell'amigdala e dell'ippocampo, in risposta al riconoscimento di un'espressione facciale che varia da negativa a positiva. In particolare, nei partecipanti sani, l'attivazione dell'amigdala è coerente con l'aspetto funzionale di tale organo. Viceversa, nei pazienti schizofrenici i circuiti della regione limbica reclutati al processo, non sono sufficientemente attivati. La mancanza di tale

assunzione potrebbe causare difficoltà in task di discriminazione più impegnativi.[30-31]

Studi precedenti hanno evidenziato come la risposta dell'ippocampo durante compiti di discriminazione della valenza emotiva, sia correlata alla facilitazione della memoria, e che la mancata attivazione di tale regione contribuisca viceversa a deficit di memoria.[32]

Le limitazioni del presente lavoro sono le seguenti:

- vasta gamma di emozioni impiegate. Studi futuri potrebbero avvalersi di blocchi di emozioni specifiche, o design Event-Related<sup>5</sup>, per identificare la variazione della risposta dell'amigdala in relazione alle diverse emozioni
- Squilibrio tra il numero di emozioni positive e negative poiché solo una delle cinque presentate è di natura positiva (felicità)
- difficoltà del task di discriminazione dell'età
- Non è possibile valutare le differenze dei risultati in base al sesso, a causa dell'esiguo numero di donne partecipanti
- Somministrazione di farmaci ai pazienti durante la sperimentazione. Per questo gli effetti dovuti ad essi potrebbero richiedere un'ulteriore valutazione. Finora, studi fMRI in schizofrenia non hanno esaminato gli effetti provocati dai farmaci. Tuttavia studi con altri metodi di misurazione del flusso sanguigno cerebrale, suggeriscono che i medicinali neurolettici incidono sull'attivazione dei modelli.[33]

Nonostante i limiti sopracitati, risulta rilevante la diminuzione della risposta del sistema limbico durante task di elaborazione dell'emozione nei pazienti schizofrenici. L'attivazione anomala delle regioni cerebrali specifiche per l'elaborazione delle emozioni, chiarisce gli aspetti fisiopatologici della malattia e la difficoltà dei pazienti nelle relazioni interpersonali e sociali.

---

<sup>5</sup> Event-Related : due o più condizioni che si presentano in modo casuale, sia nel tempo, sia nell'ordine di esecuzione.

### 3.3 Combinazione EEG e fMRI

L'analisi combinata delle tecniche EEG ed fMRI permette di individuare modificazioni emodinamiche correlate ad eventi di natura elettrica, rilevati dall'EEG, offrendo un'ottima risoluzione spazio-temporale dei dati acquisiti.

Nel seguente studio è stata utilizzata una registrazione EEG/fMRI *interleaved*, la quale prevede l'interruzione periodica di ciascuna modalità, per consentire un'acquisizione di qualità adeguata dei dati. Essa ha permesso, mediante la registrazione di brevi *Visual-Evoked Potential* (VEP, potenziali evocati visivi) durante la scansione fMRI, la localizzazione dei generatori corticali, individuati principalmente nell'area di proiezione corticale della retina.

*“Spatiotemporal Brain Imaging of Visual-Evoked Activity Using Interleaved EEG and fMRI Recordings” [37]*

#### *Partecipanti:*

Due volontari, un uomo e una donna, rispettivamente di 28 e 32 anni, sono stati sottoposti a scansione. Entrambi i soggetti presentavano una normale, o corretta, capacità visiva.

#### *Stimoli:*

le sequenze di stimoli visivi applicati consistevano in 15 s in cui veniva mostrata un'intera scacchiera, con inversione a 4 Hz (soggetto DS) o a 8 Hz (soggetto NH), seguita da un campo grigio uniforme di uguale durata. Inoltre era presente un punto centrale di fissazione. La scacchiera bianca e nera, 10 X 10, è stata retroproiettata da un proiettore LCD, attraverso una lente di collimazione su uno schermo acrilico. Lo schermo è stato posizionato all'interno del magnete MRI, inferiormente alla mascella del soggetto.

La scansione MRI, per l'acquisizione delle immagini anatomiche, è stata effettuata utilizzando una bobina Birdcage, ovvero una bobina RF di volume. Questa, tipicamente utilizzata per gli studi cerebrali, circonda l'oggetto da esaminare e produce campi magnetici polarizzati circolarmente. Per ciascun soggetto sono state effettuate tre acquisizioni dell'intera testa.

Sono state impiegate sequenze 3D-SPGR<sup>6</sup> T1-pesate con Repetition Time (TR) di 24ms, ed Echo Time (TE) pari a 8ms, ossia rispettivamente l'intervallo temporale che separa gli impulsi di eccitazione, e l'intervallo tra l'inizio dell'impulso RF ed il massimo del segnale. Utilizzando il contrasto T1, i tessuti molli come l'adipe nell'immagine finale risultano chiari, viceversa i fluidi, tessuti con alto T1, risultano scuri.

Sono state acquisite 124 sezioni, ciascuna avente spessore di 1.3 mm. Le singole acquisizioni sono state successivamente corrette da eventuali movimenti, e mediate, per incrementare il contrasto tra la sostanza bianca e la sostanza grigia, utilizzando il software MEDx.

La fMRI è stata eseguita con lo stesso scanner e la stessa bobina di rilevazione utilizzati durante l'acquisizione anatomica. La prima sequenza Inversion Recovery T1-pesata (TR = 2s, TE = 20ms), in cui l'inversione della magnetizzazione è ottenuta con un impulso RF a 180°, è stata utilizzata per acquisire 10 slices o fette, ciascuna di queste aventi 7 mm di spessore, gap di 1 mm, e in-plane resolution 1.56 X 1.56 mm. I dati fMRI sono stati acquisiti dalle stesse slices utilizzando una sequenza Gradient Echo (TR= 1000 ms, TE= 50 ms), con lo stesso spessore di fetta e lo stesso gap, ma con diversa in-plane resolution (3.1 X 3.1, anziché 1.56 X 1.56). La Gradient Echo è una sequenza di eccitazione per l'imaging a Risonanza Magnetica che, attraverso TR brevi, permette di acquisire immagini in breve tempo.

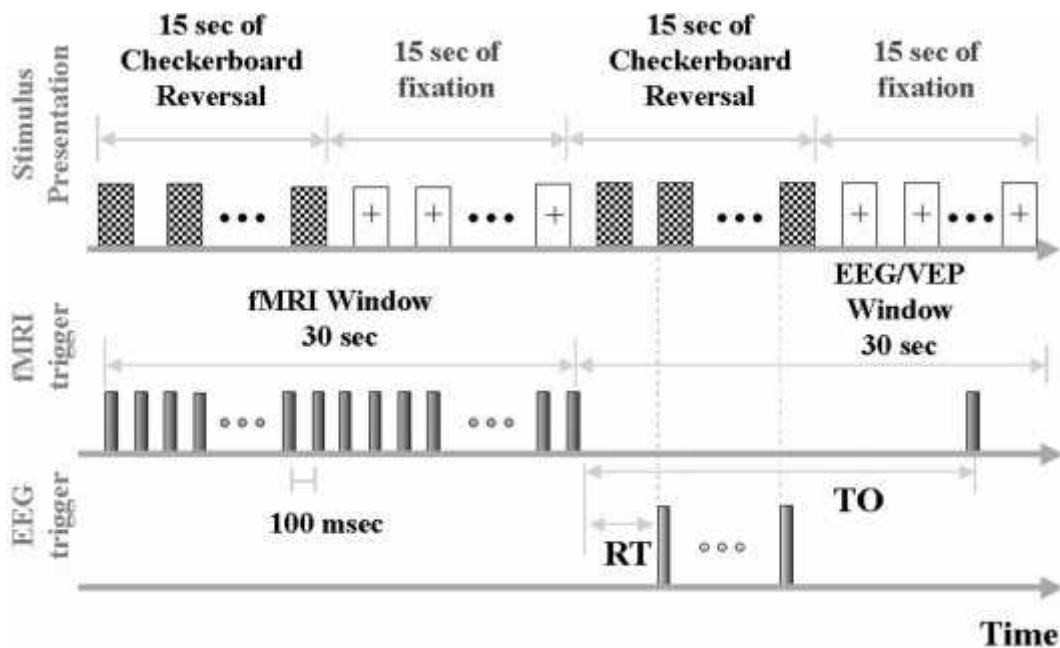
*Procedura:*

In Figura 8 è riportata la sequenza usata per la registrazione interleaved EEG/fMRI. La sequenza prevede un'acquisizione fMRI continua per 30 s, seguita da una finestra di 30 s in cui la scansione è sospesa. Sia la finestra fMRI, sia quella EEG, includono 15 s di stimolazione visiva durante la quale gli scacchi bianchi diventano neri e viceversa, seguiti da 15 s in cui l'immagine resta fissa.

I trigger impiegati sono stati generati da due porte seriali di un SGI-O2 computer (Silicon Graphics, Mountain View, CA). Uno dei due trigger esterni, inviato allo scanner MRI, è stato utilizzato per realizzare una sincronia con il trigger EEG. Un ulteriore trigger, è stato inviato dopo 19 s dall'inizio della finestra EEG, per compensare il problema del time-out specifico della General Electric (GE) Signa 1.5 T con LX computer console.

---

<sup>6</sup> SPGR (SPoiled Gradient Recalled): sequenza di acquisizione che prevede l'impiego di un impulso che elimina la magnetizzazione trasversale (spoiler pulse).



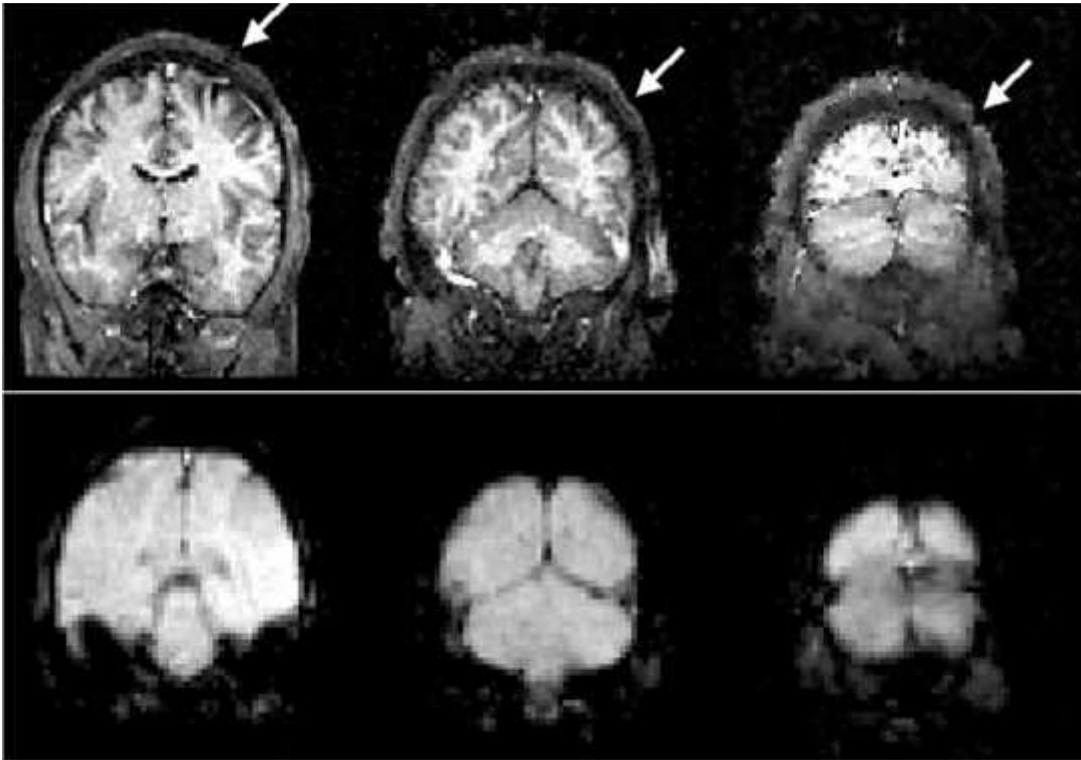
**Figura 3.8:** Sequenze degli stimoli usati nelle registrazioni EEG/fMRI, in funzione del tempo. “TO” indica l’impulso fMRI inviato allo scanner per evitare il time-out (specifica della macchina); “RT” indica il tempo di recupero (Recovery Time) dell’amplificatore. Questa sequenza è ripetuta 15 volte per ciascun soggetto, per un totale di 1200 epoche.

Il segnale EEG è stato registrato all’interno del campo magnetico (1.5 T) mediante un OptiLink EEG a 32 canali, amplificato con un amplificatore SynAmps (Neuro Scan Labs). Entrambi i partecipanti hanno indossato una cuffia per EEG a 32 canali compatibile con la MRI, modificata per ottenere un montaggio bipolare:

- (-) (+): 1.Cz C3 2.C3 T7 3.T7 M1 4.M1 M2 5.M2 T8 6.T8 C4  
 7.C4 Cz 8.FP1 F3 9.F3 FC3 10.FC3 C3 11.C3 CP3 12.CP3 P3  
 13.P3 O1 14.FP2 F4 15.F4 FC4 16.FC4 F4 17.C4 CP4 18.CP4  
 P4 19.P4 O2 20.F7 FT7 21.FT7 T7 22.T7 TP7 23.TP7 P7 24.F8  
 FT8 25.FT8 T8 26.T8 TP8 27.TP8 P8 28.Fz FCz 29.FCz Cz 30.Cz  
 CPz 31.CPz Pz 32.Pz Oz.

In questo modo sono stati sfruttati i vantaggi delle proprietà di filtraggio spaziale del montaggio bipolare (Bommassar et al., 2001) per ridurre il rumore ballistografico. Il filtraggio è stato effettuato mediante un filtro passa banda (0.5-70

Hz) e un filtro passa basso IIR (Infinite Impulse Response) di Butterworth a 50 Hz, caratterizzato da una risposta in ampiezza monotona, con una finestra di Hann. La frequenza di campionamento per ciascun canale è pari a 1000 Hz.



**Figura 3.9:** In alto: immagini EPI<sup>7</sup> ad alta risoluzione, T1-pesate. Le frecce bianche indicano come gli elettrodi siano visibili sulle immagini strutturali. In basso: immagini EPI Gradient-Echo.

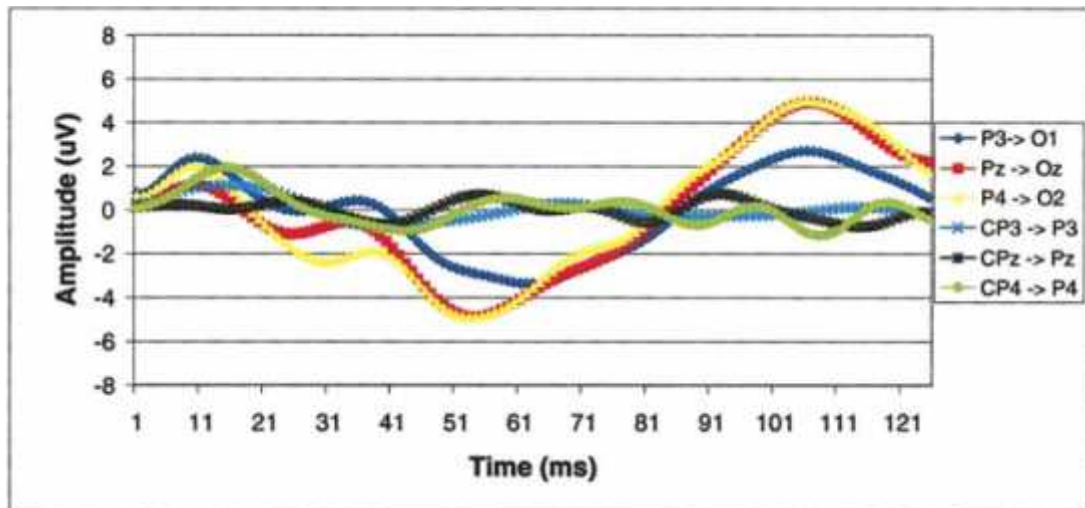
#### *Risultati:*

Per entrambi i soggetti sono stati registrati i potenziali evocati e il segnale fMRI, al fine di localizzare l'attività corticale. La distribuzione spaziale sul cuoio capelluto dei potenziali evocati, è tipica dei VEP (Regan, 1989). Infatti il segnale prevale nell'area occipitale (Figura 3.11). Attraverso l'approccio di stima lineare nei parametri EEG sono stati localizzati i generatori corticali (Fig 3.12 B)). In Fig. 3.12 C) sono riportati i risultati della localizzazione mediante fMRI vincolata all'EEG.

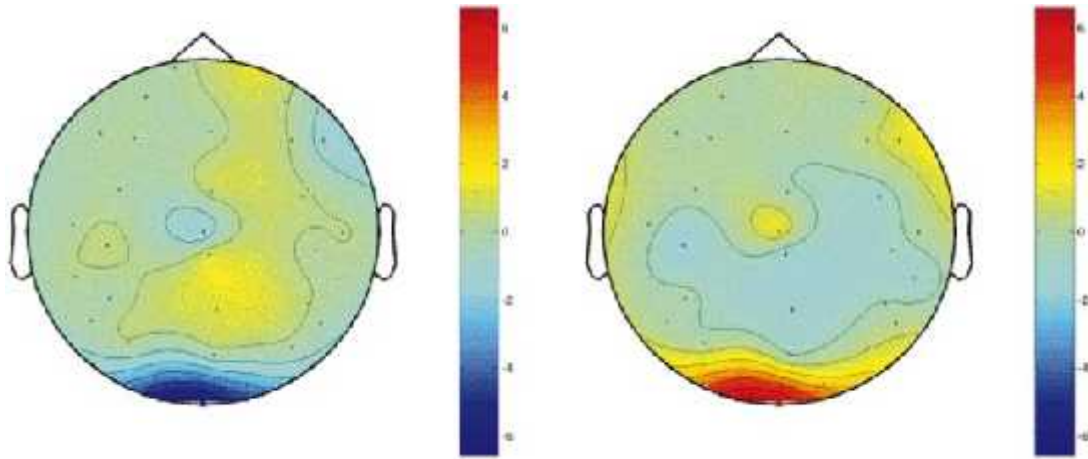
---

<sup>7</sup> EPI (Echo-Planar Imaging): tecnica di imaging di Risonanza Magnetica, in grado di produrre immagini tomografiche a frequenza video.

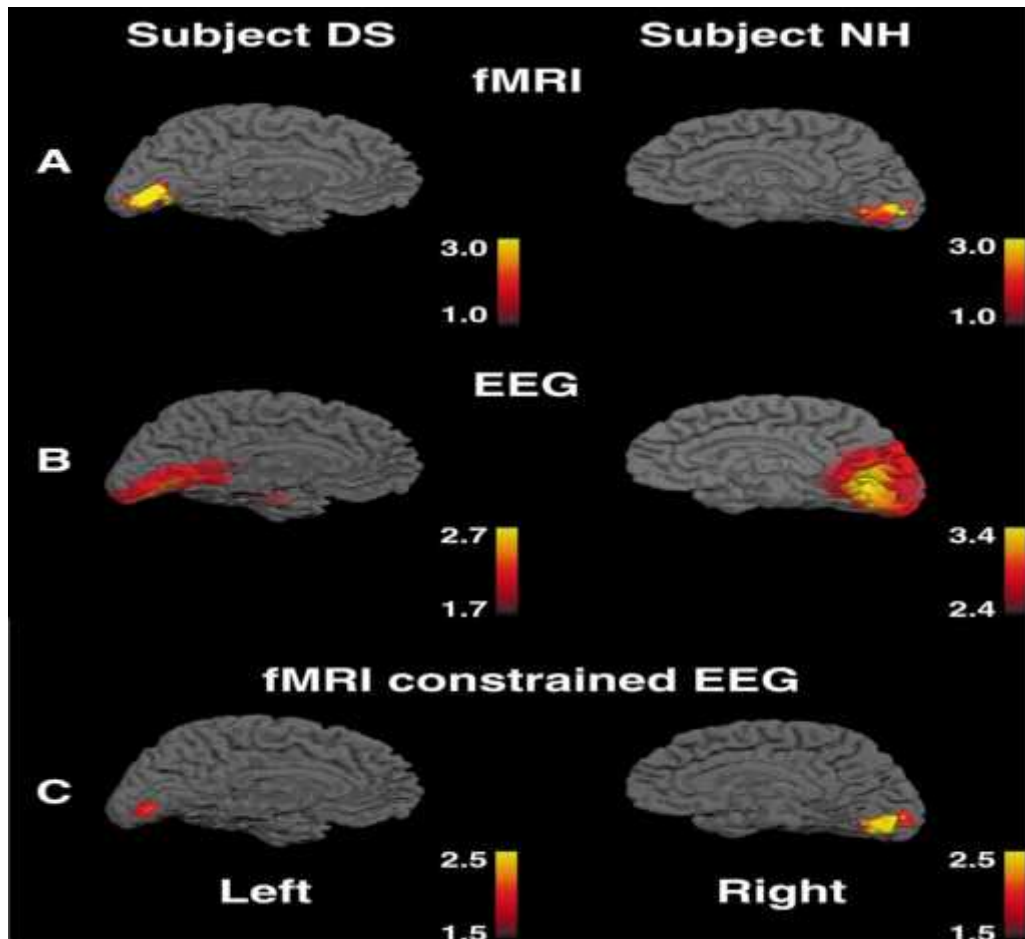
Essi si avvicinano molto a quelli precedentemente trovati con la fMRI. Il soggetto DS presenta due picchi dell'attività, il primo verificato a 71 ms, il secondo a 125 ms. Per il soggetto NH il primo picco ha una latenza di 53 ms, e il secondo a 106 ms. L'attività fMRI è stata principalmente localizzata nella porzione posteriore della scissura calcarina, cioè l'area di proiezione corticale della retina.



**Figura 3.10:** Montaggio bipolare, potenziali evocati visivi registrati dal soggetto NH durante fMRI a 1.5 T. Il canale Pz - Oz mostra le componenti N1 e P1.

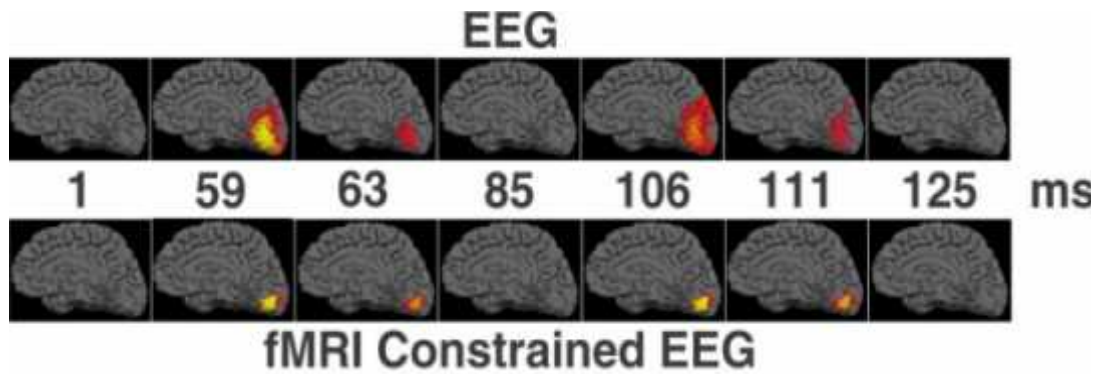


**Figura 3.11:** Distribuzione spaziale dei VEP nel soggetto NH. A sinistra è riportata la distribuzione del picco N75, a destra del picco P100. I potenziali assumono valori nel range  $[-6 \mu\text{V}, 6 \mu\text{V}]$ .



**Figura 3.12:** A) Localizzazione spaziale della fMRI, B) localizzazione spaziale dell'EEG, C) localizzazione spaziale della fMRI vincolata all'EEG. L'attività cerebrale è localizzata sulla superficie piaie mediale sia nell'emisfero sinistro di DS, sia nell'emisfero destro di NH.





**Figura 3.13:** Imaging spaziotemporale dell'attività corticale del soggetto NH. È riportata l'attivazione della regione occipitale millisecondo per millisecondo. L'immagine superiore mostra la localizzazione dell'attività corticale registrata con l'EEG; quella inferiore invece, mediante la fMRI vincolata all'EEG.

*Discussione:*

L'integrazione dei dati EEG/fMRI è basata sul fatto che zone del cervello attivate, presentano un incremento coordinato dell'attività elettrica regionale e del flusso sanguigno cerebrale. Come anticipato da studi precedenti (Liu et al., 1998), l'analisi combinata dei dati stima i generatori corticali con una risoluzione spaziotemporale migliore, rispetto all'analisi dei dati delle singole tecniche. Attraverso la tecnologia EEG/fMRI interleaved, sono state registrate e localizzate le risposte elettriche ed emodinamiche cerebrali, in seguito allo stesso stimolo visivo. Tuttavia, tale tecnologia presenta alcune limitazioni:

- Basso rapporto segnale rumore (SNR), causato dai movimenti della testa e dagli amplificatori EEG
- Rumore introdotto dal battito cardiaco e dai movimenti dovuti alla respirazione

Questo lavoro rappresenta un progresso rispetto ai precedenti, in quanto, la combinazione dei dati attraverso un metodo di stima lineare inverso, ha generato una rappresentazione real-time dell'attività cerebrale.

### 3.4 fMRI applicata allo studio della Sinestesia

La fMRI, spesso è utilizzata per rilevare la risposta emodinamica delle regioni del cervello, durante un'esperienza sensoriale. Per questo trova largo impiego nello studio di fenomeni psicologici, come ad esempio la sinestesia.

La sinestesia è quel fenomeno per cui la stimolazione di una modalità sensoriale induce una percezione in una seconda modalità, in assenza di una stimolazione specifica. Le principali caratteristiche di questa condizione psicologica sono le seguenti:

- L'esperienza è automatica ed involontaria
- La sensazione supplementare è percepita come reale
- La sensazione è generalmente unidirezionale. Ad esempio i suoni possono generare l'esperienza del colore, ma non necessariamente i colori inducono l'esperienza acustica.

Lo studio che verrà proposto di seguito tratta una nuova forma di sinestesia, detta *mirrored touch*, la quale stabilisce una connessione diretta tra la percezione visiva e quella tattile. La percezione visiva del tatto suscita esperienze tattili coscienti dal percipiente. Vi sono tre possibili cause della sinestesia *mirrored touch*:

- Iperattività delle regioni somatosensoriali normalmente attivate durante l'osservazione di un'esperienza tattile
- Diretta connettività tra le regioni somatosensoriali e quella visiva
- Attivazione sopra soglia dei neuroni mirror<sup>8</sup> nella corteccia parietale per la percezione tattile, durante l'osservazione di un'esperienza tattile

Attraverso scansioni fMRI cerebrali, è stata studiata l'attività neurale durante la visione di un'esperienza tattile in una donna sinestetica e in un gruppo di partecipanti di controllo.

*“Somatosensory activations during the observation of touch and a case of vision-touch synaesthesia” [38]*

---

<sup>8</sup> Neuroni mirror: cellule bimodali, che vengono attivate durante l'esecuzione di un movimento oppure durante l'osservazione di un altro soggetto che compie il movimento.

L'obiettivo proposto dalla seguente sperimentazione è di individuare attraverso neuro immagini, le aree cerebrali coinvolte durante una stimolazione visuo-tattile, mettendo a confronto i dati fMRI di una donna sinestetica e quelli di un gruppo di soggetti di controllo non sinestetici.

*Partecipanti:*

Un gruppo di 12 partecipanti sani destrimani, di cui 7 donne, con età media di 28.75 anni e una donna destrimana, di 41 anni, la quale durante l'osservazione di un'altra persona che viene toccata, vive la stessa stimolazione tattile sul proprio corpo. Nella famiglia della donna, 6 donne soffrono di sinestesia *grafema colore*, ovvero all'apparire di un grafema (lettere dalla A alla Z, e cifre da 0 a 9) percepiscono un colore, una cugina di primo grado invece, soffre della sua stessa tipologia di sinestesia.

*Design:*

La scansione fMRI è stata suddivisa in tre sessioni:

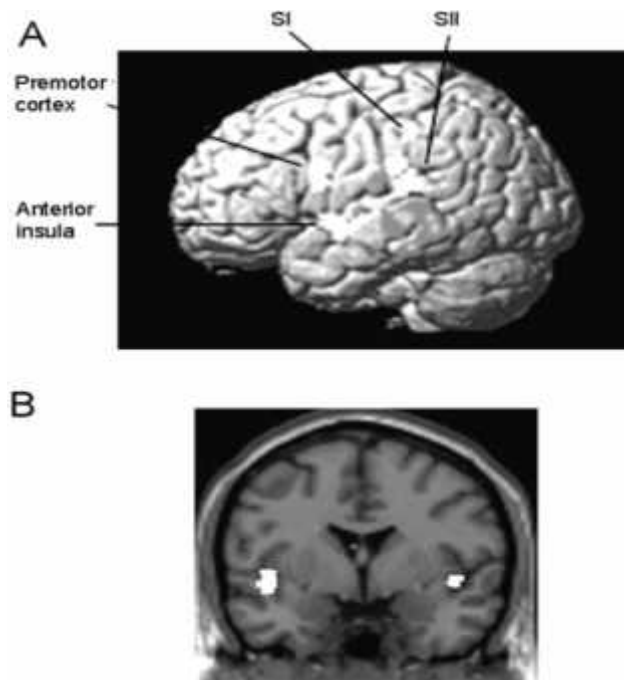
- *Sessione tattile:* durante questa prima sessione, il soggetto è posto all'interno dello scanner con gli occhi chiusi, mentre un addetto gli applica uno stimolo tattile sulle guance (LF, Left Face e RF, Right Face) o sul collo (LN, Left Neck e RN, Right Neck). È stata inoltre definita condizione di baseline, la condizione in cui erano assenti stimoli. Con un'asta di legno sono stati applicati gli stimoli di durata 20 s su ognuna delle quattro aree.
- *Prima sessione video:* sono stati mostrati video clip, ciascuno di 4.5 s, nei quali una persona veniva toccata, nel viso o nel collo, da una seconda persona.
- *Seconda sessione video:* le clip di questa ultima sessione mostravano un oggetto inanimato che veniva toccato in parti equivalenti al "viso" e al "collo".

I video sono stati presentati in blocchi di 23 s, ognuno di questi conteneva diversi video clip della stessa condizione. Al termine di ogni blocco è stato chiesto ai partecipanti di valutare l'intensità del tocco applicata alla persona o all'oggetto. Sullo schermo video apparivano per 5 s le parole "hard", "medium" e "soft", e i soggetti, in base alla loro sensazione, per rispondere avevano a disposizione una tastiera costituita da 3 pulsanti.

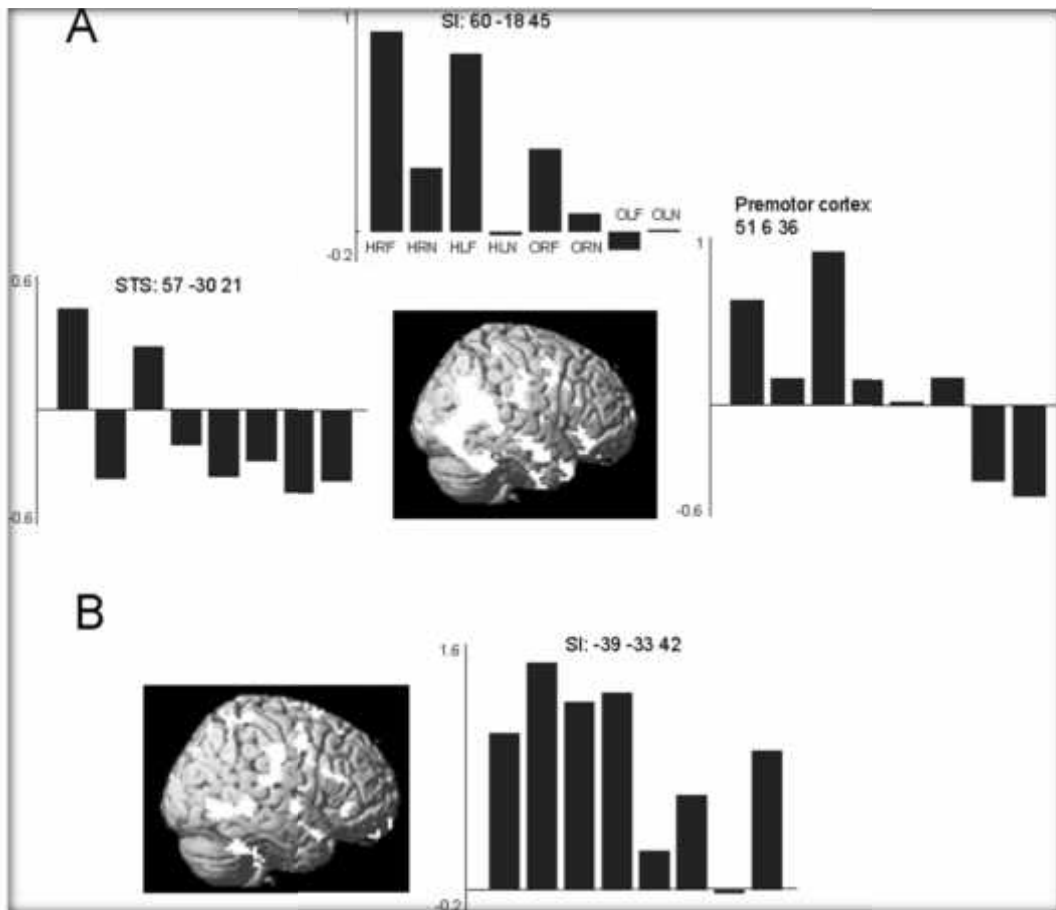
*Risultati:*

I risultati dimostrano che nei soggetti non sinestetici la corteccia somatosensoriale è attivata dalla semplice osservazione di una esperienza tattile. Questa attivazione è somatotopicamente organizzata in modo tale che l'osservazione del tocco nel viso induce l'attivazione dell'area corrispondente al capo nella corteccia somatosensoriale primaria. Viceversa l'osservazione del tocco nell'area del collo non provoca nessuna attivazione della corteccia. L'esatta rappresentazione del collo umano nella corteccia somatosensoriale non è ancora conosciuta. Il sistema dei neuroni specchio nei soggetti non sinestetici, è attivato durante l'osservazione di un soggetto che tocca un secondo soggetto, piuttosto che un oggetto inanimato. Infine, risultano attivati: il Solco Temporale Superiore (STS), in particolare l'emisfero destro, il giro fusiforme, le cortecce somatosensoriali primaria e secondaria, e la corteccia premotoria. In particolare il STS è generalmente attivato dai movimenti facciali.

I risultati relativi alla donna sinestetica differiscono dai risultati precedenti principalmente per tre motivazioni: l'attivazione della corteccia somatosensoriale risulta più rilevante, rispetto a quella relativa ai non sinestetici; l'area sinistra della corteccia premotoria attivata è più vasta, probabilmente a causa dell'iperattivazione dei neuroni specchio; è attivata inoltre l'area anteriore bilaterale dell'insula.



**Figura 3.14** : Attivazioni risultanti dal confronto tra la donna sinestetica e i partecipanti non sinestetici durante l'osservazione di un oggetto che viene toccato. (A) attivazione significativa nel soggetto sinestetico della corteccia somatosensoriale primaria bilaterale, della corteccia somatosensoriale secondaria, dell'insula anteriore e della corteccia premotoria sinistra. (B) attivazione bilaterale dell'insula.



**Figura 3.15:** (A) Dati relativi al gruppo di non sinestetici. Mostrano l'attivazione bilaterale del STS a livello della giunzione tempo-parietale, l'attivazione del giro fusiforme, delle cortecce somatosensoriali e della corteccia premotoria. I grafici illustrano le stime dei parametri delle relative attivazioni in ciascuna delle otto condizioni, espressi come percentuale della variazione del segnale nell'emisfero destro. (B) Dati relativi alla donna sinestetica. In questo caso risultano attivati l'area destra del STS, le cortecce somatosensoriali, l'insula, l'area anteriore sinistra della corteccia premotoria e l'area destra della corteccia cerebellare. Il grafico illustra i valori percentuali della variazione del segnale nella corteccia somatosensoriale primaria sinistra.

*Discussione:*

Questo lavoro ha analizzato i sistemi neurali durante l'osservazione di un'esperienza tattile in soggetti di controllo e in una donna affetta da sinestesia. I risultati fMRI dimostrano che, nei soggetti non sinestetici, le regioni cerebrali somatosensoriali si attivano alla semplice vista di un oggetto o un soggetto toccato. Viceversa ciò che contraddistingue il soggetto sinestetico è l'iperattivazione della

corteccia somatosensoriale e della corteccia premotoria, oltre all'attivazione dell'insula.

Il fenomeno della sinestesia, ha suscitato l'interesse di numerosi ricercatori, i quali con l'ausilio delle reti neurali e della multidisciplinarietà dei dispositivi d'indagine, a partire da dati fMRI hanno realizzato modelli computazionali<sup>9</sup> per riprodurre i processi alla base del fenomeno. Il modello che sarà presentato nel capitolo successivo ne è l'esempio.

---

<sup>9</sup> Modelli computazionali: descrivono il comportamento umano, descrivendone i meccanismi che ne stanno alla base.





## CAPITOLO 4

### SVILUPPO DI UN MODELLO INTERPRETATIVO APPLICATO AL CASO DELLA SINESTESIA VISUO-TATTILE

La sinestesia è un'alterazione sensoriale che interessa meno dell'1% della popolazione. Essa si manifesta come l'esperienza percettiva di una modalità sensoriale, indotta dalla stimolazione di una seconda modalità sensoriale. Ciascuno dei cinque sensi può essere coinvolto. Per esempio, un'esperienza tattile può essere indotta dalla percezione dei colori, oppure la percezione di una melodia può indurre la visione di colori (ascolto colorato). La tipologia di sinestesia oggetto di questo studio è la *visuo-tattile*, in cui il sinesteta percepisce lo stesso stimolo tattile osservato in un secondo soggetto. Si tratta di sinestesia *percettiva* in quanto gli stimoli provengono dall'esterno (Grossenbacher,2001).

Per lo studio di tale fenomeno si indaga sulla corteccia somatosensoriale. Questa, in seguito alla ricezione di stimoli dalle diverse aree del corpo, si attiva nelle zone corrispondenti. Nei soggetti affetti da sinestesia visuo-tattile, la corteccia somatosensoriale, presenta attività evocata non solo in conseguenza a stimoli tattili, ma anche in seguito a percezione di stimoli visivi specifici: l'attivazione della corteccia somatosensoriale è causata da stimoli visivi corrispondenti alla visione di stimolazioni tattili su di un secondo soggetto.

In letteratura lo stimolo evocatore è denominato *induttore* mentre il *concorrente* indica la sensazione sperimentata (Grossenbacher et Lovelace,2001).

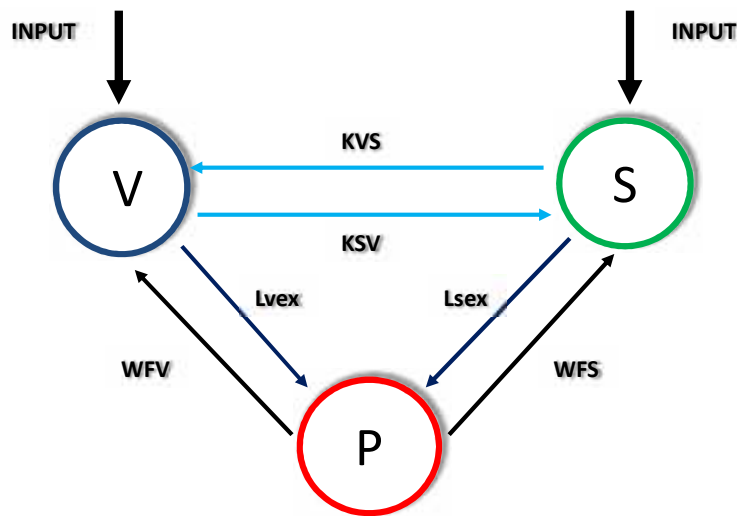
Per lo studio di tale fenomeno di illusione sensoriale, abbiamo utilizzato un modello matematico che sarà presentato di seguito, in cui l'induttore e il concorrente sono simulati tramite due diverse aree che codificano segnali appartenenti a modalità sensoriali differenti (sinestesia *cross-modale*), precisamente una regione che riceve stimoli visivi, ed una stimolata da input somatosensoriali. Inoltre è di tipo *interpretativo*, ovvero, spiega il fenomeno della sinestesia ipotizzando variazioni delle connessioni cerebrali.

In generale, in risposta ad uno stesso stimolo, la sinestesia si manifesta in modo differente nei soggetti.

## 4.1 Il modello

Partendo da dati fMRI si è creato un modello, simulato al computer, che illustra il funzionamento delle connessioni cerebrali in seguito a stimoli di natura differenti, applicati alle cortecce Visiva, Somatosensoriale e Parietale.

In soggetti normali, il modello è il seguente:



**Figura 4.1:** Il modello, nel caso di soggetti normali

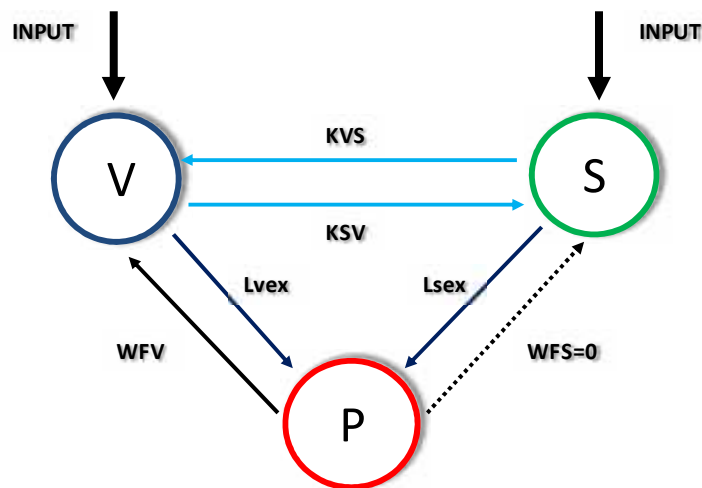
In ingresso abbiamo input di tipo visivo e/o somatosensoriale. Analizziamo prima cosa accade in seguito ad uno stimolo visivo. Ipotizziamo che venga stimolato direttamente un neurone in posizione  $x$  della corteccia visiva. La sua attivazione evoca una conseguente stimolazione della corteccia somatosensoriale, mediante una connessione diretta (KVS), e stimola la corteccia parietale mediante una sinapsi visiva (Lvex), la quale invia un feedback WFV inibitorio in direzione opposta. La corteccia parietale inoltre invia un feedback WFS inibitorio alla corteccia somatosensoriale, che bilancia lo stimolo eccitatorio diretto dall'area visiva. Per

cui uno stimolo di tipo visivo evoca l'attività della corteccia visiva e della corteccia parietale. Le connessioni dirette sono state ipotizzate di ugual peso, così come le connessioni feedback e le sinapsi, in modo tale da non creare instabilità al sistema.

Per quanto concerne una stimolazione in ingresso di tipo somatosensoriale, il funzionamento del modello non cambia, ovvero le cortecce che presentano attività evocata sono la somatosensoriale e la parietale.

Infine, in presenza di stimolazione multisensoriale (visiva e somatosensoriale) in ingresso, tutte le cortecce risulteranno attivate.

Come già spiegato in precedenza, il sinesteta osservando una stimolazione sensoriale (tattile) in un secondo soggetto, la percepisce su sé stesso. In letteratura la sinestesia è stata associata ad una iperattivazione della corteccia somatosensoriale, noi abbiamo ipotizzato che la connessione responsabile della patologia sia il feedback inibitorio WFS, il quale supposto inefficace ( $WFS=0$ ), non inibisce l'attività evocata nella corteccia somatosensoriale in seguito a stimolazione visiva. In questo caso, eccitando un neurone visivo, si ha attività evocata della corteccia parietale, ma anche della corteccia somatosensoriale, poiché non vi è nessuna connessione inibitoria che bilanci l'effetto eccitatorio delle sinapsi dirette (KSV).



**Figura 4.2:** Il modello, nel caso della sinestesia visuo-tattile

## 4.2 Risultati

Attraverso numerose prove al calcolatore, sono stati settati i valori dei pesi delle connessioni, che permettono di simulare la sinestesia.

I dati utilizzati sono riportati di seguito:

- $W_{fv}= 15$ ,  $w_{fs}= 15$  (in condizioni normali),  $w_{fs}=0$  (nel caso della sinestesia);
- $K_{vs}=28$ ,  $k_{sv}=28$ ;
- $L_{sex}=35$ ,  $L_{vex}=35$ ;

Le Tabelle 1 e 2 riportano i risultati della sperimentazione, rispettivamente nel caso della Sinestesia e in condizioni normali.

**Tabella 4.1:** Percentuali di attivazione delle corteccie, al variare dell'intensità degli input, nel caso della Sinestesia visuo-tattile

Input	Corteccia	Stimolo Visivo (V)	Stimolo Sensoriale (S)	Stimolo V+S
<b>30</b>	Somatosensoriale	0%	42%	100%
	Visiva	50%	0%	100%
	Parietale	0%	0%	100%
<b>35</b>	Somatosensoriale	0%	90%	100%
	Visiva	80%	0%	100%
	Parietale	20%	35%	100%
<b>40</b>	Somatosensoriale	0.5%	98%	100%
	Visiva	85%	0%	100%
	Parietale	50%	68%	100%
<b>45</b>	Somatosensoriale	18%	100%	100%
	Visiva	95%	0%	100%
	Parietale	90%	85%	100%
<b>50</b>	Somatosensoriale	28%	100%	100%
	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	95%	95%	100%
<b>55</b>	Somatosensoriale	28%	100%	100%
	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	95%	100%	100%
<b>60</b>	Somatosensoriale	28%	100%	100%

	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	95%	100%	100%
<b>65</b>				
	Somatosensoriale	28%	100%	100%
	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	95%	100%	100%

**Tabella 4.2:** Percentuali di attivazione delle corteccie, al variare dell'intensità degli input, nel caso di soggetti sani

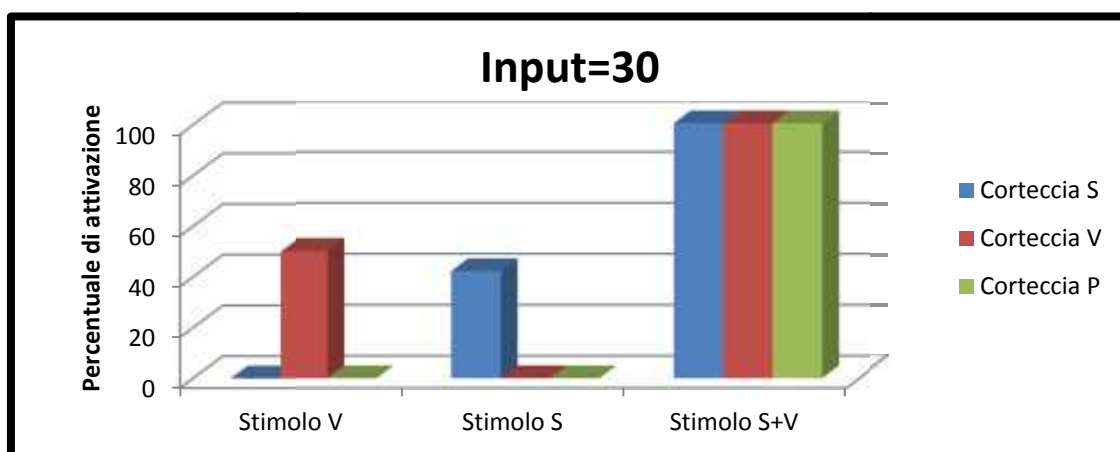
Input	Corteccia	Stimolo Visivo (V)	Stimolo Sensoriale (S)	Stimolo V+S
<b>30</b>				
	Somatosensoriale	0%	42%	100%
	Visiva	50%	0%	100%
	Parietale	0%	0%	100%
<b>35</b>				
	Somatosensoriale	0%	90%	100%
	Visiva	80%	0%	100%
	Parietale	20%	15%	100%
<b>40</b>				
	Somatosensoriale	0%	90%	100%
	Visiva	88%	0%	100%
	Parietale	40%	35%	100%
<b>45</b>				
	Somatosensoriale	0%	93%	100%
	Visiva	95%	0%	100%
	Parietale	63%	53%	100%
<b>50</b>				
	Somatosensoriale	0%	100%	100%
	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	75%	70%	100%
<b>55</b>				
	Somatosensoriale	0%	100%	100%
	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	78%	80%	100%
<b>60</b>				
	Somatosensoriale	0%	100%	100%
	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	78%	85%	100%
<b>65</b>				

Somatosensoriale	0%	100%	100%
Visiva	100%	0%	100%
Parietale	80%	93%	100%

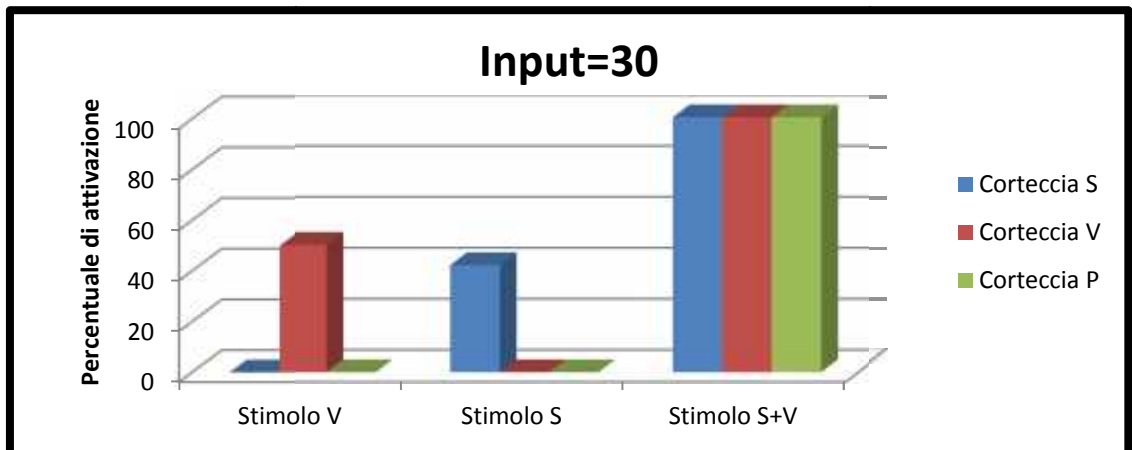
I risultati mostrano che per input minori o uguali a 30, in entrambi i casi analizzati, la corteccia Parietale si attiva solamente se al soggetto è applicato uno stimolo multisensoriale. Questo indica che stimoli visivi o somatosensoriali deboli non sono sufficienti per innescare tale corteccia. (Figure 3 A e 3 B)

Per input maggiori o uguali di 40, in seguito a stimolazione visiva, nei sinesteti, la corteccia Somatosensoriale comincia ad attivarsi. La percentuale di attivazione aumenta, fino ad un massimo del 30%. Ovviamente questo non accade nei soggetti normali in quanto è presente il feedback parietale-somatosensoriale, che contribuisce all'inibizione della corteccia. (Figure 4 A e 4 B)

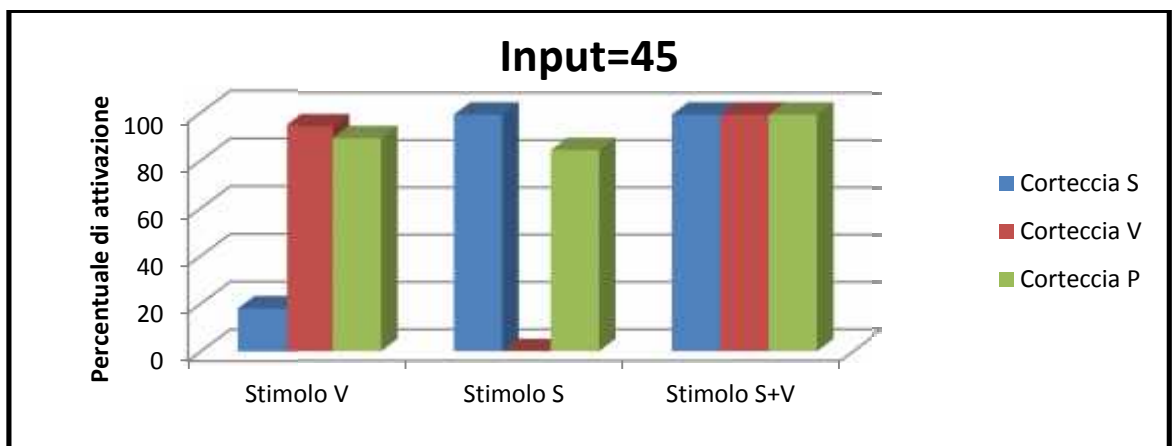
Confrontando i risultati si osserva che in condizioni normali, stimoli visivi o somatosensoriali attivano la Parietale in percentuali inferiori rispetto alla condizione di sinestesia. Questo potrebbe indicare che la sinestesia, oltre a provocare un'attivazione anomala della corteccia somatosensoriale, determina anche una iperattivazione della Parietale.



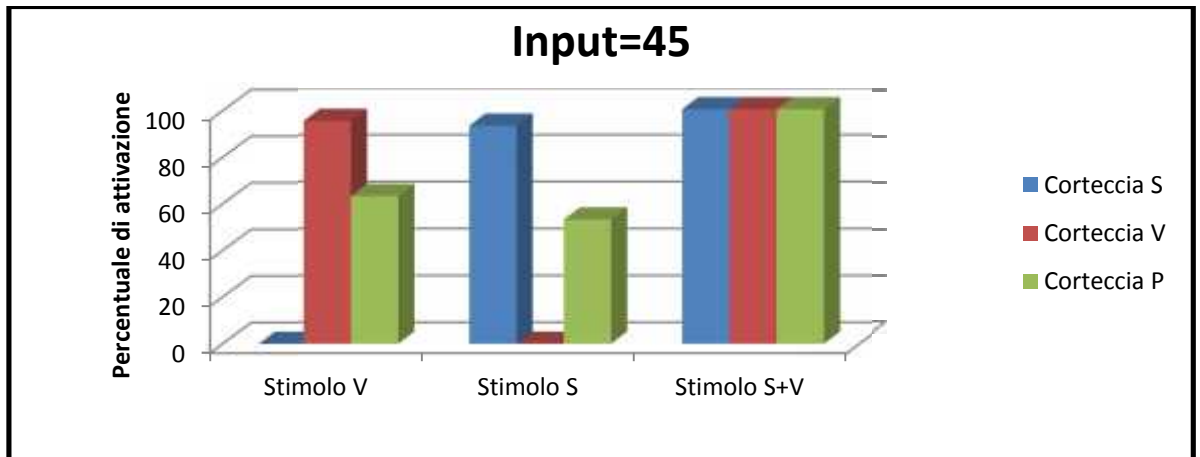
**Figura 4.3 A:** Caso della sinestesia



**Figura 4.3 B:** Condizioni normali



**Figura 4.4 A:** Caso della sinestesia



**Figura 4.4 B:** Condizioni normali

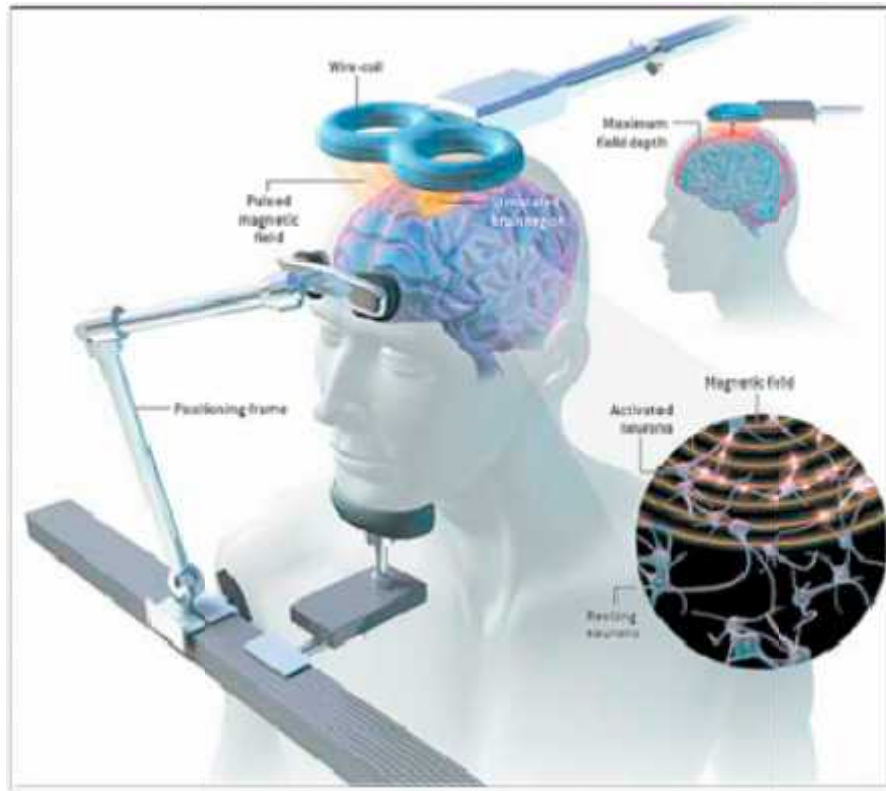
### 4.3 Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) per lo studio della sinestesia

Per testare e verificare le capacità del modello, esso è stato utilizzato per simulare dati già presenti in letteratura sulla Sinestesia, mediante la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) applicata a soggetti sani. Esistono tecniche di TMS impiegate in parallelo alla fMRI, oppure, come nel nostro caso, approcci sperimentali tramite la realizzazione di reti neurali a partire da dati fMRI.

La Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) è una tecnica di stimolazione cerebrale non invasiva, impiegata nello studio della relazione tra cervello e comportamento, e nella valutazione dell'eccitabilità delle differenti regioni cerebrali. È inoltre impiegata per il trattamento di disturbi psichiatrici e neurologici quali la depressione, le allucinazioni e il morbo di Parkinson.

Il principio alla base della TMS è l'induzione elettromagnetica: un impulso magnetico breve ( $\sim 200 \mu s$ ) ed intenso (0.2-0.4 T) applicato sullo scalpo attraverso una bobina (coil), induce al di sotto di questa una corrente elettrica transitoria, che provoca la depolarizzazione delle membrane cellulari e dei neuroni corticali (Baker et al., 1985; Baker et al., 1987), producendo la stimolazione o l'inibizione dell'attività cerebrale. Maggiore è la dimensione del coil, più vasta è l'area stimolata.



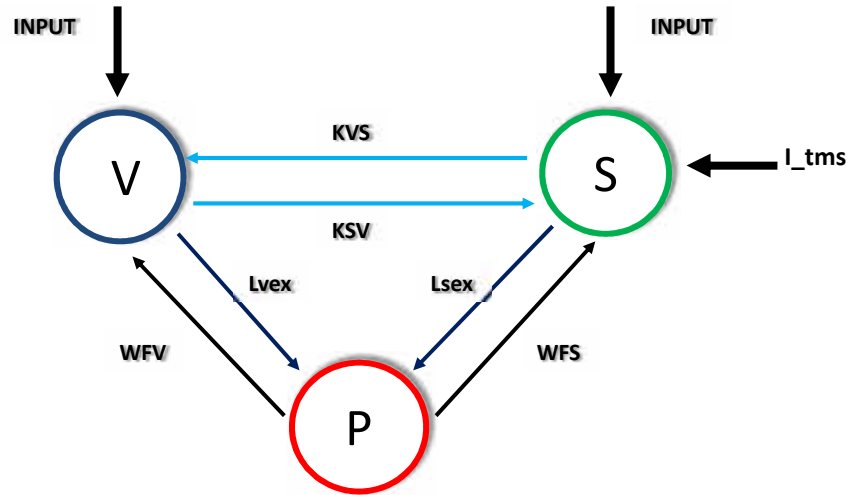


**Figura 4.5:** Stimolazione Magnetica Transcranica

La Stimolazione Transcranica esercita i suoi effetti, sia interferendo con il funzionamento del cervello (stimolazione “inibitoria”), sia aumentandone l’attività (stimolazione “eccitatoria”). Questa tecnica ha aperto nuove prospettive allo studio dei processi cognitivi e alla possibilità di modificarne il funzionamento [41]. Sostanzialmente sono create lesioni temporanee e assolutamente reversibili, in quanto il breve intervallo di tempo di durata della stimolazione, non è sufficiente al cervello per riorganizzarsi sia funzionalmente, sia anatomicamente (fenomeno di plasticità cerebrale).

Nel modello, per simulare l’effetto della TMS si è scelto di introdurre un ingresso di tipo eccitatorio ( $I_{tms}$ ) alla corteccia somatosensoriale di un soggetto sano. Questo perché la sinestesia, secondo una delle ipotesi fatte in letteratura, è il risultato della sovraeccitazione della corteccia somatosensoriale. In alternativa, la sinestesia si poteva riprodurre ponendo un ingresso inibitorio alla corteccia parietale, annullandone l’attività, in modo da annullare l’effetto inibitorio che essa esercita sulla corteccia somatosensoriale.

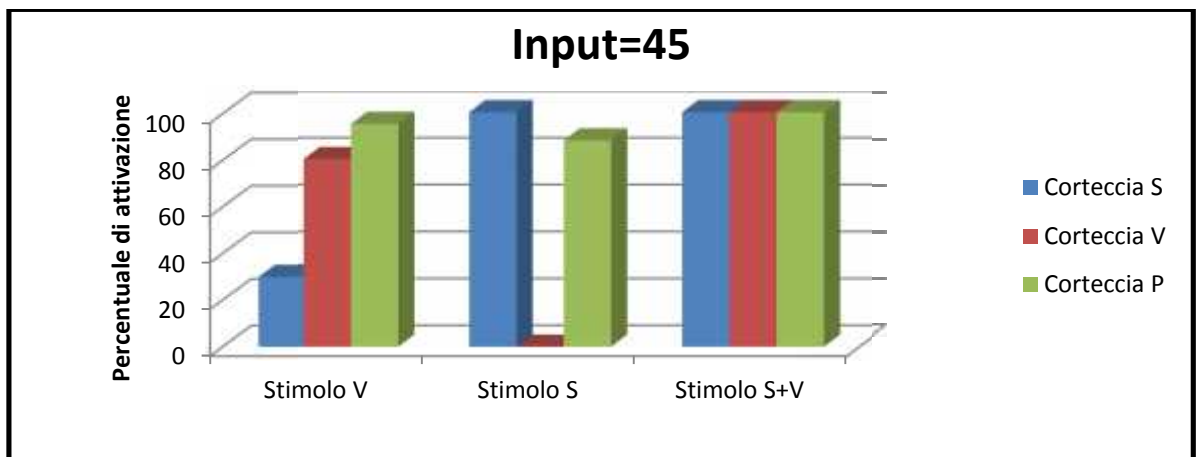
Di seguito verranno riportati i risultati significativi del test.



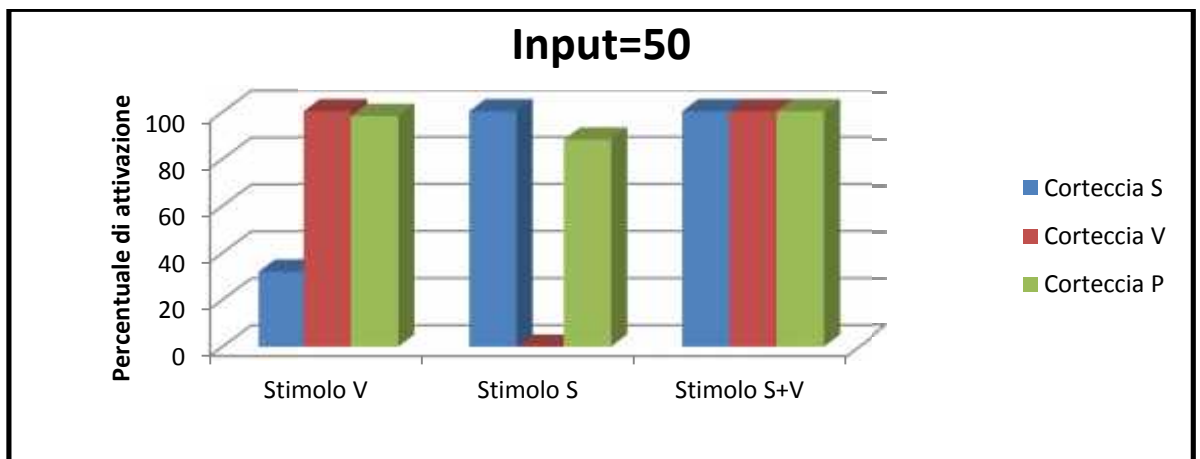
**Figura 4.6:** Modello TMS

**Tabella 4.3:** Risultati TMS, con  $I_{tms}=15$ .

Input	Corteccia	Stimolo Visivo (V)	Stimolo Sensoriale (S)	Stimolo V+S
<b>45</b>				
	Somatosensoriale	30%	100%	100%
	Visiva	80%	0%	100%
	Parietale	95%	88%	100%
<b>50</b>				
	Somatosensoriale	32%	100%	100%
	Visiva	100%	0%	100%
	Parietale	98%	98%	100%



**Figura 4.6:** Risultati test TMS ( $I_{tms}=15$ )



**Figura 4.7:** Risultati test TMS ( $I_{tms}=15$ )

#### 4.4 Conclusioni

Questa sperimentazione, mediante lo sviluppo di un modello interpretativo, ha permesso la comprensione dei meccanismi alla base della sinestesia visuo-tattile, partendo da dati fMRI. Successivamente attraverso un test effettuato con la TMS, stimolando ulteriormente la corteccia somatosensoriale, è stata confermata la validità del modello proposto e le ipotesi fatte in precedenza sulla patologia.



## Conclusioni

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di delineare i pregi e i limiti di alcune tecniche di indagine cerebrale, quali l'Elettroencefalografia e la Risonanza Magnetica funzionale. In particolare abbiamo visto che l'EEG è una modalità diagnostica non invasiva, avente un'ottima risoluzione temporale (dell'ordine dei millisecondi), che monitora in modo diretto l'attività cerebrale. L'EEG inoltre non espone il paziente a campi magnetici ed è costituito da strumentazione silenziosa. Nonostante ciò, non possiede una elevata risoluzione spaziale ed è sensibile ad artefatti. Al contrario la fMRI possiede elevata risoluzione spaziale e localizza l'area di origine del segnale con un errore minimo (pochi mm), anche se è una tecnologia costosa che non esegue una misura diretta del segnale.

Per superare i limiti di ogni singola metodologia d'indagine, si è giunti ad una analisi combinata delle tecniche EEG ed fMRI offrendo un'ottima risoluzione spazio-temporale.

La seconda parte dell'elaborato è stata dedicata alla sinestesia visuo-tattile. In primo luogo è stato presentato uno studio in cui, attraverso la fMRI è stata rilevata, in soggetti sani e in sinesteti, la risposta emodinamica delle diverse aree cerebrali. I risultati hanno dimostrato che i sinesteti, a confronto con i soggetti sani, manifestano una iperattivazione della corteccia somatosensoriale e della corteccia premotoria.

In secondo luogo è stato proposto un modello sperimentale i cui risultati hanno dimostrato che nei sinesteti è presente una iperattivazione della corteccia somatosensoriale, e che un possibile meccanismo responsabile di tale fenomeno è il mancato effetto inibitorio della connessione parietale-somatosensoriale. Infatti l'assenza di questa connessione fa sì che il sinesteta percepisca la sensazione tattile osservata in un altro soggetto, con una intensità massima pari al 30% dello stimolo osservato. Infine, per dimostrare le capacità del modello, partendo da dati fMRI, è stata simulata la sinestesia attraverso l'utilizzo della TMS, sovraeccitando la corteccia somatosensoriale, confermando così le ipotesi fatte in precedenza.



## Bibliografia

- [1] Dee Unglaub Silverthorn, "Fisiologia Umana", Pearson Italia – Milano, Torino 2010
- [2] M.F. Bears, B.W. Connors, M.A. Paradiso, "Neuroscienze – Esplorando il Cervello", Masson, terza edizione
- [3] Babiloni F., Baselli G., Bertoldo A., Biondi E., Cobelli C., "Bioingegneria per le neuroscienze cognitive", Patron Editore, Bologna 2009
- [4] Kandel E.R., Schwartz J.K., Jessel T.M., "Principi di neuroscienze", CEA Editrice, 2004
- [5] Michael Strotzer, "One Century of Brain Mapping Using Brodmann Areas"
- [6] Rocca P., Bogetto F., "Fotografare il cervello. Neuroimaging e malattie mentali."
- [7] R. Hari M. V. Kujala, "Brain Basis of Human Social Interaction: From Concepts to Brain Imaging"
- [8] Ingrid kurz, "Watching the brain at work- an exploratory study of eeg changes during simultaneous interpreting", University of Vienna
- [9] Babiloni F., Baselli G., Bertoldo A., Biondi E., Cobelli C., "Bioingegneria per le neuroscienze cognitive", Patron Editore, Bologna 2009
- [10] M. Filippi, N. De Stefano, V. Dousset, J.C. McGowan (Eds.), "MR imaging in White Matter Disease of the Brain and Spinal Cord", Springer
- [11] F. Babiloni, V. M. Meroni, R. Soranzo, "Neuroeconomia, Neuromarketing e Processi Decisionali", Springer
- [12] D. Attwell, C. Iadecola, "The neural basis of functional brain imaging signals", *TRENDS in Neurosciences*, Vol.25, No.12, December 2002
- [13] J. H. Duyn, "Study of Brain anatomy with high-field MRI: recent progress", *Magnetic Resonance Imaging* 28, 2010
- [14] M. E. Raichle, M. A. Mintun, "Brain Work and Brain Imaging", *Annu. Rev. Neurosci.*, 2006
- [15] J. G. Webster, "Strumentazione Biomedica", Edises, 2010
- [16] R. Schmid, "Metodi di analisi dei sistemi neurosensoriali", Pàtron editore, Bologna, 1986
- [17] D. Osipova, A. Takashima, R. Oostenveld, G. Fernández, E. Maris, O. Jensen, "Theta and Gamma oscillations predict encoding and retrieval of declarative memory", *The Journal of Neuroscience*, July 12 2006

- [18] E. Cordovani, "Sviluppo di metodi per l'analisi delle componenti indipendenti per la classificazione di potenziali evento-correlati di segnali elettroencefalografici", Tesi di laurea Ingegneria Biomedica, Università degli Studi di Pisa
- [19] L. Sani, "Tecniche di esplorazione funzionale in vivo del cervello", slide Laboratorio di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica, Facoltà di Medicina, Università di Pisa
- [20] De Gennaro L., Ferrara M., Curcio G., Cristiani R., "Antero-posterior EEG changes during the wakefulness-sleep transition", *Clinical Neurophysiology* 112 (2001) 1901-1911
- [21] De Gennaro L., Ferrara M., Bertini M., "The boundary between wakefulness and sleep: quantitative electroencephalographic changes during the sleep onset period", *Neuroscience* Vol.107, No. 1, pp 1-11, 2001
- [22] Placidi F., Romigi A., "Neurofisiologia del sonno e tecniche di analisi", 1: 2004; 7-14
- [23] S. Tarsi, "Inibizione e facilitazione intracorticale durante il sonno", Tesi di laurea in Psicofisiologia Clinica, Università degli Studi di Roma "La Sapienza"
- [24] A. Prendin, Tesi di Laurea Specialistica in Bioingegneria, "Quantificazione delle mappe di attivazione da immagini di Risonanza Magnetica Funzionale per lo studio della schizofrenia: analisi su singolo soggetto e analisi di gruppo", Università degli studi di Padova, A.A. 2009/2010
- [25] RE Gur, C. McGrath, RM Chan, L. Schroeder, T. Turner, BI Turetsky, C. Kohler, D. Alsop, J. Maldjian, JD Ragland, RC Gur, "An fMRI Study of Facial Emotion Processing in Patients with Schizophrenia", *Am J Psychiatry*, 2002
- [26] CG Kohler, RC Gur, RE Gur, "Emotional processes in schizophrenia: a focus on affective states, in the Neuropsychology of Emotion", Oxford University Press, 2000
- [27] RC Gur, B. Skolnick, RE Gur, "Effects of emotional discrimination task on cerebral blood flow: regional activation and its relation to performance", *Brain Cogn*, 1994
- [28] F. Schneider, RE Gur, LH Mozley, RJ Smith, PD Mozley, DM Censits, A. Alavi, RC Gur, "Mood effects on limbic blood flow correlate with emotional self-rating: a PET study with oxygen-15 labeled water", *Psychiatry res*, 1995



- [29] PJ Lang, MM Bradley, JR Fitzsimmons, BN Cuthbert, JD Scott, B. Moulder, V. Nangia, “Emotional arousal and activation of the visual cortex: an fMRI analysis”, *Psychophysiology*, 1998
- [30] JF Whittaker, JFW Deakin, B. Tomenson, “Face processing in schizophrenia: defining the deficit”, *Psychol Med*, 2001
- [31] SL Kerr, JM Neale, “Emotion perception in schizophrenia: specific deficit or further evidence of generalized poor performance?”, *J Abnorm Psychol*, 1993
- [32] JM Gold, G. Rehkemper, SW III Binks, CJ Carpenter, K. Fleming, TE Goldberg, DR Weinberg, “Learning and forgetting in schizophrenia”, *J Abnorm Psychol*, 2000
- [33] DD Miller, NC Andreasen, DS O’Leary, GL Watkins, LL Boles Ponto, RD Hichwa, “Comparison of the effects of risperidone and haloperidol on regional cerebral blood flow in schizophrenia”, *Biol Psychiatry*, 2001
- [34] C. Perlini, “Studio con Risonanza Magnetica del giro temporale superiore e delle sue sottoaree nella schizofrenia: rilevanza per le dimensioni neurolinguistiche”, Tesi di Dottorato, Università degli studi di Verona, Dipartimento di Medicina e Sanità Pubblica sezione di Psichiatria e Psicologia Clinica
- [35] C. Colosimo, “Neuroradiologia”, Edra, 2013
- [36] M. Coriasco, O. Rampado, “Le Sequenze”, Corso Base di Risonanza Magnetica, 2004
- [37] G. Bonmassar, D.P. Schwartz, A.K. Liu, K.K. Kwong, A.M. Dale, J.W. Beldiveau, “Spatiotemporal Brain Imaging of Visual-Evoked Activity Using Intraleaved EEG and fMRI Recordings”
- [38] S.J. Blakemore, D. Bristow, G. Bird, C. Frith, J. Ward, “Somatosensory activations during the observation of touch and a case of vision-touch synaesthesia”
- [39] S. Pisa, “Strumentazione Biomedica II – Risonanza Magnetica Nucleare: hardware”, 2012
- [40] A.Bove, “La sinestesia”, tesi di laurea, Facoltà di Psicologia, CdL in Psicologia clinica e di comunità, Università degli studi di Roma
- [41] G. Vallar, “Comportamento, cervello e stimolazioni transcraniche”, Dipartimento di Psicologia, Università di Milano Bicocca
- [42] F. A. Bricolo, E. Bellamoli, P. Manganotti, G. Serpelloni, “La Stimolazione Magnetica Transcranica: cenni storici e funzionamento”

Siti consultati:

[www.treccani.it](http://www.treccani.it)

[it.wikipedia.org](http://it.wikipedia.org)



