



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**DISPOSITIVI MULTIMODALI E PORTATILI PER LE NEUROIMMAGINI:
IL FUTURO DELLE NEUROSCIENZE COGNITIVE?**

Relatore: Prof.ssa Sabrina Brigadoi

Laureanda: Matilde Benatti

ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022

Data di laurea: 16 Novembre 2022

Indice

Capitolo 1 - Neuroscienze cognitive.....	5
1.1 Cosa sono le neuroscienze cognitive.....	5
1.2 I neuroni: unità funzionale del sistema nervoso.....	5
1.3 Tecniche utilizzate nelle neuroscienze cognitive.....	6
Capitolo 2 - Analisi dell'attività elettrica del cervello: l'elettroencefalografia (EEG).....	9
2.1 Attività elettrica neurale.....	9
2.2 Registrazione dei segnali EEG.....	10
2.3 Tecniche per l'analisi di dati EEG.....	13
2.4 Vantaggi e svantaggi della tecnica EEG.....	14
2.5 Applicazioni dell'EEG.....	14
2.6 Fattori da considerare nella scelta del dispositivo EEG.....	15
Capitolo 3 - Analisi dell'attività emodinamica del cervello: fMRI.....	17
3.1 Il segnale "BOLD".....	17
3.2 Pre-elaborazione e analisi di dati fMRI.....	19
3.3 Vantaggi e svantaggi della tecnica fMRI.....	20
3.4 Applicazioni della fMRI.....	21
Capitolo 4 - Analisi dell'attività emodinamica del cervello: fNIRS.....	22
4.1 Imaging ottico.....	22
4.2 Analisi di dati fNIRS.....	23
4.3 Vantaggi e svantaggi della tecnica fNIRS.....	24
4.4 Applicazioni della fNIRS.....	24
4.5 Fattori da considerare nella scelta del sistema NIRS.....	25

Capitolo 5 - EEG-fNIRS wireless.....	27
5.1 Analisi simultanea di attività elettrica ed emodinamica del cervello.....	27
5.2 Realizzazione tecnica di un sistema EEG-fNIRS.....	27
5.3 Vantaggi e svantaggi della tecnologia integrata EEG-fNIRS e del suo utilizzo wireless.....	30
5.4 Applicazioni dei sistemi EEG-fNIRS.....	31
5.5 Il futuro dei sistemi integrati EEG-fNIRS.....	33
Bibliografia.....	35

Neuroscienze cognitive

1.1 Cosa sono le neuroscienze cognitive

Le neuroscienze cognitive derivano dal connubio tra neuroscienze e scienze cognitive. Le neuroscienze sono un campo di studio biomedico che si focalizza sullo studio del sistema nervoso animale; le scienze cognitive sono un campo di interesse di filosofi e psicologi e mirano a comprendere i processi mentali umani. Lo scopo delle neuroscienze cognitive è, dunque, quello di indagare i meccanismi fisiologici che sono alla base delle funzioni cognitive, cioè di quelle abilità necessarie per lo svolgimento di ogni attività (ad esempio, la percezione, l'attenzione, la memoria, l'apprendimento, il pensiero, il linguaggio).

Nonostante siano un campo scientifico relativamente nuovo, le neuroscienze cognitive sono rapidamente diventate una delle aree di ricerca più attive, grazie alle numerose domande che l'essere umano, nel corso della sua evoluzione, ha iniziato a porsi riguardo al suo modo di pensare, di percepire, di ragionare, di relazionarsi con gli altri.

I neuroscienziati cognitivi sostengono che, per comprendere al meglio l'attività cognitiva umana, sia necessario studiare il funzionamento del cervello, oltre al comportamento di individui impegnati in compiti cognitivi. Per comprendere le tecniche di neuroimmagine funzionale principalmente utilizzate dai neuroscienziati, è fondamentale conoscere il sistema nervoso e il suo funzionamento. [1, Ch. 1][2, Ch. 2][3, Ch. 1]

1.2 I neuroni: unità funzionale del sistema nervoso

Alla base del funzionamento del sistema nervoso ci sono i neuroni (Figura 1), cellule che generano e trasmettono i segnali prodotti dal cervello. I neuroni sono costituiti da un corpo cellulare, che funge da centro metabolico e mantiene la cellula in vita. Al di fuori del corpo cellulare si diramano i dendriti, che ricevono impulsi da altri neuroni. Gli impulsi vengono trasmessi da un neurone all'altro da lunghi conduttori chiamati assoni. I neuroni sono, dunque, costituiti da una parte terminale di ricezione e da una parte terminale di trasmissione del segnale. Le interconnessioni tra neuroni, la cui comunicazione avviene tramite le sinapsi, formano i circuiti neurali.

Quando all'interno del neurone non sono presenti segnali, si dice che esso si trova in uno stato di "potenziale a riposo", con una carica elettrica interna di -70 millivolt, negativa rispetto all'esterno. Quando il neurone riceve segnali da altri neuroni attraverso i dendriti, la somma di

questi segnali può essere o non essere sufficiente per innescare il potenziale d'azione, ovvero far sì che il neurone trasmetta il messaggio ricevuto attraverso il suo assone ad altri neuroni. Nel caso in cui venga trasmesso un impulso nervoso lungo l'assone, la carica elettrica all'interno si innalza di +40 millivolt rispetto all'esterno e si genera il potenziale d'azione, che dura circa 1 millisecondo. Dopo di che, il potenziale ritorna al suo stato di riposo, con carica elettrica interna al neurone negativa rispetto a quella esterna. Nel caso in cui, invece, la somma dei potenziali ricevuti dai dendriti non sia sufficiente ad innescare il potenziale d'azione, il neurone rimane silente.

Attraverso lo studio dei neuroni e degli impulsi che viaggiano in essi, le neuroscienze cognitive si occupano di comprendere come questi impulsi contribuiscano al funzionamento mentale. [1, Ch. 1], [2, Ch. 2]

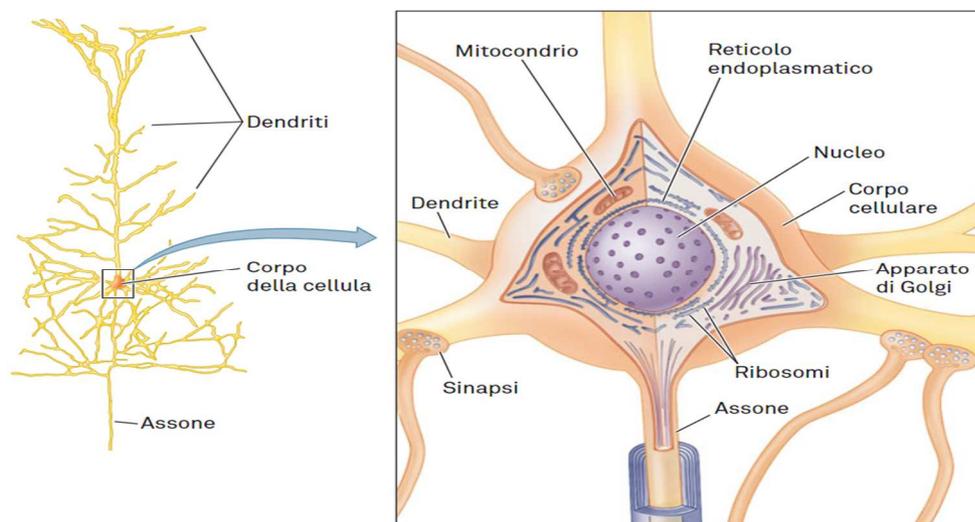


Figura 1: Rappresentazione del neurone e delle tre parti di cui è costituito (corpo cellulare, dendriti e assone). Presa da: [3, Ch. 1]

1.3 Tecniche utilizzate nelle neuroscienze cognitive

Grazie all'unione di elementi delle scienze cognitive e delle neuroscienze, le neuroscienze cognitive hanno accesso a un elevato numero di tecniche di ricerca. I progressi tecnologici hanno permesso di ottenere numerose informazioni riguardo a dove e quando hanno luogo i processi cognitivi e all'ordine temporale di attivazione di parti diverse del cervello.

Gli approcci basati sulle neuroscienze sono di diverso tipo: possono essere studiati i cambiamenti nel comportamento cognitivo dopo che il cervello ha subito alterazioni di

qualche tipo, oppure può essere misurata l'attività cerebrale nel momento in cui viene eseguito un certo compito.

Per quanto riguarda il primo approccio, le alterazioni del cervello che influenzano le funzioni cognitive possono derivare da danni cerebrali, come ictus, traumi o malattie, ma possono anche essere indotte sperimentalmente per studiare il comportamento del cervello nei vari processi cognitivi. Il secondo approccio utilizza tecniche elettrofisiologiche ed emodinamiche per misurare l'attività cerebrale elicitata durante lo svolgimento di un determinato compito cognitivo.

Le varie tecniche utilizzate nelle neuroscienze cognitive si differenziano in base alla precisione nella risoluzione spaziale, cioè nella capacità di discriminare aree cerebrali attive, che si trovano molto vicine tra loro, durante l'esecuzione di un compito, e nella risoluzione temporale, cioè nel riconoscere la durata di tale attivazione. [1, Ch. 1], [2, Ch. 2], [3, Ch. 1]

Tra le principali tecniche impiegate per lo studio del cervello, troviamo la registrazione a unità singola, la risonanza magnetica funzionale (fMRI), l'elettroencefalografia (EEG), i potenziali evento-correlati (ERPs), la tomografia a emissione di positroni (PET), la stimolazione magnetica transcranica (TMS), la magneto-encefalografia (MEG) e la spettroscopia funzionale nel vicino infrarosso (fNIRS).

La registrazione a unità singola è una tecnica molto sensibile ma invasiva che prevede l'inserimento di un micro-elettrodo nel cervello, per studiare l'attività presente nei singoli neuroni. Per valutare il funzionamento di aree più ampie della corteccia cerebrale, è necessario l'utilizzo di altre tecniche.

La fMRI utilizza l'imaging a risonanza magnetica (MRI) per misurare la risposta emodinamica correlata all'attività neuronale del cervello. Quando i neuroni consumano ossigeno, l'ossiemoglobina viene trasformata in deossiemoglobina e quest'ultima provoca distorsioni nel campo magnetico locale. Queste distorsioni sono misurate dalla fMRI, che ha una bassa risoluzione temporale ma un'elevata risoluzione spaziale.

La PET è una tecnica di rilevazione di positroni, particelle atomiche emesse da sostanze radioattive. Ha una soddisfacente risoluzione spaziale, ma una scarsa risoluzione temporale.

L'EEG si basa sulla registrazione dell'attività elettrica del cervello, misurata sulla superficie del cuoio capelluto. Il problema principale di questa tecnica è la presenza di un'attività cerebrale spontanea in grado di contaminare il segnale EEG di interesse prodotto da un certo stimolo. La soluzione a questo problema prevede una ripetizione dello stimolo, in modo da

calcolarne la media e produrre una sola forma d'onda. Questo metodo produce potenziali evento-correlati (ERPs), grazie ai quali è possibile scoprire le tempistiche in cui avvengono i vari processi cognitivi.

La MEG implica la misurazione di campi magnetici prodotti dall'attività elettrica cerebrale. Ha una buona risoluzione spaziale e fornisce informazioni dettagliate riguardo alla durata dei processi cognitivi.

La TMS è una tecnica non invasiva che prevede il contatto tra il cranio di un paziente e una bobina metallica attraversata da un breve impulso di corrente. Viene, in questo modo, prodotto un campo magnetico di breve durata che inibisce le funzioni cognitive nell'area cerebrale interessata. Questa tecnica è applicata ad esempio in psichiatria per la cura della depressione e di disturbi legati all'ansia e all'alimentazione; in neurologia è utile per la riabilitazione cognitiva a causa di traumi o malattie.[1, Ch. 1]

La fNIRS è una tecnica di neuroimaging non invasiva che misura le variazioni di emoglobina ossigenata e deossigenata nei tessuti cerebrali, utilizzando la luce nella gamma di lunghezze d'onda del vicino infrarosso. Viene utilizzata sia per indagare l'attività corticale di soggetti sani, sia per rivelare anomalie delle funzioni cerebrali in pazienti affetti da disturbi neurologici e psichiatrici. [4]

Nei prossimi capitoli verranno trattate in maniera più dettagliata le tecniche EEG, fMRI e fNIRS, in quanto sono le più utilizzate e quelle meno invasive. Dopo una spiegazione approfondita di ciascuna di queste tecniche, un'analisi dei vantaggi e degli svantaggi che le riguardano e una carrellata di applicazioni in cui esse si possono trovare, nell'ultimo capitolo si tratterà della tecnologia multimodale integrata EEG-fNIRS. Essa permette di unire in un unico sistema i vantaggi di entrambe le tecniche e di limitarne le criticità. Inoltre, sempre in questo capitolo, si parlerà dell'utilizzo wireless di questa tecnica, che permette ai neuroscienziati cognitivi di studiare il comportamento umano durante azioni di vita quotidiana e non più soltanto in ambiente ospedaliero o laboratoriale.

Analisi dell'attività elettrica del cervello: l'elettroencefalografia (EEG)

L'elettroencefalografia (EEG) è la tecnica che permette di misurare direttamente l'attività neurale cerebrale a riposo o durante la presentazione di stimoli di varia natura. In quest'ultimo caso, possono essere stimati anche i potenziali evento-correlati (ERPs). Nei prossimi paragrafi, verrà descritta l'origine del segnale misurato con l'EEG, la sua strumentazione, le tecniche utilizzate per l'analisi del segnale EEG, i vantaggi e gli svantaggi di questa tecnica relativamente alla sua applicazione nelle neuroscienze cognitive e, infine, alcuni esempi applicativi.

2.1 Attività elettrica neurale

I neuroni, cellule specializzate alla base del funzionamento del sistema nervoso, comunicano tra loro e con altre strutture non nervose generando e propagando segnali elettrochimici. Un ruolo fondamentale all'interno di questo processo è svolto dalla membrana cellulare, che permette l'entrata di certe sostanze, contenute nel liquido extracellulare, all'interno della cellula attraverso canali ionici e ne impedisce il passaggio ad altre. Questa attività elettrica neurale si articola in tre fasi: quando è in quiete, il neurone ha un potenziale elettrico di riposo, intorno ai -70 mV, dovuto a una distribuzione asimmetrica di ioni positivi e negativi ai due lati della membrana; quando viene stimolato sopra una certa soglia, la membrana diventa instabile e flussi di ioni carichi positivamente o negativamente che entrano e/o escono dalla membrana provocano un potenziale d'azione. In questa fase, l'interno del neurone diventa più positivo rispetto all'esterno (fase di depolarizzazione). Infine, dopo la generazione e lo scaricamento del potenziale d'azione, viene ripristinato l'equilibrio ionico e il neurone torna in stato di riposo (fase di ripolarizzazione).

I neuroni comunicano tra loro tramite sinapsi, che possono essere inibitorie o eccitatorie. Un neurone riceve segnali da molti altri neuroni in termini di potenziali post-sinaptici provenienti da questi altri neuroni.

L'elettroencefalografo (EEG) è uno strumento in grado di registrare graficamente l'attività di vasti gruppi di neuroni, tramite l'applicazione di elettrodi sul cuoio capelluto. Esistono due manifestazioni dell'attività elettrica associata alle cellule neurali: il potenziale d'azione e il potenziale post-sinaptico. I potenziali d'azione non sono adatti a essere registrati dagli elettrodi dell'EEG a causa delle loro tempistiche, dell'orientamento degli assoni e della

manca di sincronia tra cellule neurali circostanti. I potenziali post-sinaptici, invece, generano un campo elettrico abbastanza potente da poter essere rilevato all'esterno del cervello, attraverso il cuoio capelluto. In particolare, i potenziali post-sinaptici dei neuroni piramidali sono i principali generatori dell'EEG misurabile sullo scalpo, grazie alla loro disposizione spaziale (tutti paralleli tra di loro e perpendicolari alla superficie cutanea) e alla loro sincronia temporale.

Il segnale EEG è composto da diverse oscillazioni, fluttuazioni ritmiche e ben definite che riflettono le interazioni tra l'attività inibitoria e quella eccitatoria dei neuroni. Le cellule che si occupano di queste attività sono gli interneuroni e le cellule piramidali: i primi controllano l'inibizione, tramite il rilascio del neurotrasmettitore GABA, mentre le seconde controllano l'eccitazione, tramite il rilascio di glutammato. Le oscillazioni possono essere descritte come una serie di onde di forma sinusoidale con frequenze diverse che si sovrappongono nel tempo.

I potenziali elettrici cerebrali, registrati dall'EEG, possono essere classificati in tre categorie: attività spontanea, potenziali evocati e attività indotta. L'attività spontanea si origina in modo continuo da un processo interno senza l'apporto di stimoli specifici; i potenziali evocati si originano in risposta a uno stimolo (ad esempio, visivo, tattile, uditivo, elettrico, ecc.), sono legati al tempo e alla fase della loro insorgenza e, dunque, possono essere catturati sia dall'analisi nel dominio del tempo sia da quella nel dominio della frequenza; l'attività indotta si origina in risposta a un insieme di eventi e non è temporalmente legata rispetto alla loro insorgenza, quindi può essere catturata solo dall'analisi nel dominio della frequenza. Le oscillazioni evocate e quelle indotte sono entrambe risposte a un evento, ma non devono essere confuse: nell'analisi nel dominio del tempo, le risposte evocate produrranno un'onda chiara, mentre quelle indotte si annulleranno.

I potenziali evocati possono essere distinti in due tipi fondamentali: i potenziali stimolo-correlati dipendono dalle caratteristiche fisiche dello stimolo applicato, mentre i potenziali evento-correlati (ERPs) dipendono dal contenuto informativo dello stimolo e compaiono solo quando il soggetto presta attenzione allo stimolo e gli attribuisce un significato. [5, Ch. 5], [6, Ch. 4]

2.2 Registrazione dei segnali EEG

Il sistema di registrazione dei segnali EEG è costituito da un'unità di acquisizione dei segnali misurati sullo scalpo, da un'unità di elaborazione dei segnali e da un'unità di visualizzazione/memorizzazione dei dati. L'unità di acquisizione impiega degli elettrodi, posizionati su un'apposita cuffia, che viene adattata sulla testa del paziente. Per aumentare il

rapporto segnale-rumore (SNR), l'impedenza scalpo-elettrodo deve essere ridotta. Per fare questo, prima di applicare gli elettrodi, è necessario pulire la pelle della regione di interesse, utilizzando una specifica crema abrasiva che rimuove sebo e cellule morte. Dopo di che, si riempiono gli elettrodi con un gel elettrolitico, il quale ha lo scopo di creare un'adesione costante tra elettrodo e cute, favorendo la conduzione del segnale e compensando gli effetti dovuti a eventuali movimenti.

Gli elettrodi più comunemente utilizzati per le registrazioni EEG sono realizzati in Ag/AgCl (argento/cloruro di argento) affinché il loro potenziale rimanga inalterato. Il cloruro d'argento, infatti, è l'unico materiale in grado di scambiare ioni continuamente e, dunque, non è polarizzabile.

Il tipo di gel elettrolitico dipende dall'apparecchiatura, ma è essenzialmente ad alto contenuto di sale, il che permette l'abbassamento dell'impedenza e, conseguentemente, una buona cattura del segnale elettrico.

Per quanto riguarda il montaggio degli elettrodi, si ricorre a due derivazioni standard, a seconda degli specifici requisiti sperimentali: nella derivazione monopolare il potenziale di ogni elettrodo si misura dall'attività catturata tra ciascuno di questi elettrodi ("attivi") posti sullo scalpo e un elettrodo di riferimento ("inattivo"), posto in un sito elettricamente neutro, che può essere il mastoide, o il lobo dell'orecchio; nella derivazione bipolare, invece, entrambi gli elettrodi, tra i quali si misura il potenziale, sono posti in siti attivi e il segnale rilevato corrisponde alla differenza tra le attività dei due siti. [5, Ch. 5]

Esistono molte cuffie EEG disponibili in commercio, adatte ad applicazioni diverse l'una dall'altra e ciascuna con caratteristiche specifiche date, per esempio, dal numero di canali, dal tipo di connessione tra elettrodi, dal suo tempo di preparazione, dal prezzo.

Alcuni dispositivi EEG sono dotati di sensori aggiuntivi, come l'elettromiogramma (EMG), che rileva le attività muscolari; l'elettrocardiogramma (ECG), che misura la frequenza cardiaca; l'elettrooculogramma (EOG), che controlla il movimento degli occhi. [7]

Uno dei più importanti artefatti endogeni della tecnica EEG è dato dai movimenti oculari. Essi generano un'attività elettrica, che è fondamentale registrare e sottrarre al segnale EEG. La registrazione dell'attività elettrica prodotta dal movimento oculare è resa possibile dal posizionamento di elettrodi aggiuntivi intorno agli occhi del paziente (EOG), applicati sulla pelle con nastri medici non dannosi per la pelle. [5, Ch. 5]

La disposizione degli elettrodi sullo scalpo segue solitamente il sistema internazionale standard 10/20 o i suoi sotto-derivati, 10/10 o 10/5. I numeri indicano la distanza relativa in % tra elettrodi adiacenti posizionati sul cranio (Figura 2). Il Sistema Internazionale 10/20, che è il più comune, prevede che gli elettrodi siano posizionati a una distanza del 10% e del 20% rispetto alla lunghezza della linea mediana, cioè la linea longitudinale che collega l'avvallamento tra naso e fronte (“nasion”) e la protuberanza alla base del cranio (“inion”). La posizione dell'elettrodo viene segnalata con una lettera (F=frontale, C=centrale, T=temporale, P=posteriore, O=occipitale), seguita da un numero pari o dispari, che identifica il lato destro o sinistro del cervello. Il sistema 10/10 o 10/5 permette di ottenere mappe spaziali più dettagliate. [5, Ch. 5] [7]



Figura 2. Rappresentazione di una cuffia EEG con elettrodi inseriti secondo il sistema internazionale standard 10/20. Presa da [5, Ch. 5]

Gli elettrodi sono, poi, collegati con cavi o in modalità wireless all'amplificatore, attraverso un dispositivo di controllo. Un segnale elettrico EEG ha una tensione troppo bassa per poter essere registrata e visualizzata correttamente dai computer; perciò, è necessario un amplificatore che aumenti il segnale di ingresso senza alterarne le caratteristiche intrinseche. L'amplificatore è collegato a un computer, dove viene registrato e visualizzato il segnale EEG.

Le acquisizioni EEG possono essere effettuate sia a riposo sia quando il paziente esegue un compito, con l'obiettivo finale di indagare i processi cognitivi coinvolti. Il compito è

costituito da una sequenza di eventi e si chiama “paradigma sperimentale”; deve essere pensato in base alla tipologia di analisi che si intende effettuare.

L’unità di elaborazione dei segnali, che segue l’unità di acquisizione e precede quella di visualizzazione, prevede che i dati EEG vengano pre-elaborati e analizzati per consentire una loro visualizzazione online. Solitamente poi i dati EEG vengono processati con maggior dettaglio offline, applicando tecniche, tra cui il filtraggio, la correzione di artefatti, la correzione della baseline, il calcolo del potenziale medio in caso di studio di potenziali evocati. [5, Ch. 5]

2.3 Tecniche per l’analisi di dati EEG

Qualsiasi segnale, nel dominio del tempo, può essere decomposto in un insieme di onde sinusoidali di frequenza diversa. Ricombinando queste sinusoidi, si ottiene una ricostruzione perfetta del segnale originale e, utilizzando la tecnica di filtraggio, è possibile attenuare il contributo di alcune di queste frequenze nella rappresentazione del segnale originale. I filtri possono essere di diverso tipo: i filtri passa-alto riducono le frequenze più basse e lasciano passare quelle più alte; i filtri passa-basso riducono le frequenze più alte e lasciano passare quelle più basse; i filtri passa-banda limitano il contenuto del segnale all’interno di un intervallo di frequenze specificato, attenuando le frequenze inferiori al valore minimo e superiori al valore massimo dell’intervallo; i filtri notch rimuovono dal segnale una sola frequenza specifica.

Gli artefatti sono deviazioni elettriche non correlate all’attività neurale. Ne esistono due tipi principali: esogeni ed endogeni. Quelli esogeni sono generati dall’esterno, quelli endogeni sono dovuti all’attività fisiologica. L’eliminazione degli artefatti nel segnale EEG consiste nell’escludere le epoche del segnale contaminate da artefatti. La procedura di correzione di artefatti, invece, prevede di stimare l’artefatto (ad esempio con ICA) e nel “sottrarlo” ai dati grezzi.

La tecnica di calcolo della media (“averaging”) viene impiegata soprattutto per potenziali evocati correlati a eventi: essi, infatti, hanno un’ampiezza molto bassa e l’impatto dell’elaborazione dello stimolo è mascherato dall’attività cerebrale spontanea (di fondo). Per risolvere questo problema, i potenziali vengono registrati attraverso la presentazione di stimoli ripetitivi. In seguito, il segmento di EEG che segue ciascuno stimolo viene estrapolato e allineato rispetto al momento di insorgenza dello stimolo stesso. A questo punto, viene calcolata la media dei vari segmenti EEG per generare una sola forma d’onda. La tecnica di “averaging” si basa su due presupposti: che il potenziale correlato agli eventi (ERP) si verifica

in ogni processo in cui viene presentato lo stimolo di interesse e che il rumore è presente in modo casuale in ogni processo. In teoria, poiché il rumore diminuisce in funzione della radice quadrata del numero di prove, la media di un numero infinito di prove ridurrebbe il rumore a 0, lasciando l'ERP chiaramente visibile e stabile. Tuttavia, non è possibile richiedere ai pazienti di eseguire un numero infinito di prove, dunque ridurre le fonti di rumore nella fase di acquisizione permette di ottenere un buon SNR con un numero ragionevole di prove, senza frustrare i pazienti inutilmente.[1, Ch. 1], [5, Ch. 5]

2.4 Vantaggi e svantaggi della tecnica EEG

Il principale pregio dell'EEG è l'eccellente risoluzione temporale, che permette di studiare eventi di interesse nell'ordine di millisecondi; manca, però, di risoluzione spaziale, perché non esiste una corrispondenza univoca tra il segnale catturato da un elettrodo e la sua sorgente neurale.

È un metodo non invasivo, il che permette di controllare e monitorare l'attività del cervello anche in popolazioni fragili (ad esempio i neonati). Tuttavia, la registrazione del segnale è limitata da eventuali movimenti del paziente e da una ridotta connessione tra elettrodi e cuoio capelluto. [5, Ch. 5]

2.5 Applicazioni dell'EEG

I dispositivi EEG possono fornire informazioni molto utili riguardo lo stato di salute mentale degli umani, i loro pensieri e la loro immaginazione. Sono sei le principali categorie di applicazioni dei dati EEG, in ambito clinico e di ricerca:

- BCI (Brain-Computer Interface): utilizzano i dati EEG in tempo reale per controllare e dirigere i dispositivi meccanici ed elettronici. Questi dispositivi si occupano di realizzare un canale di comunicazione tra il cervello e un dispositivo esterno, senza il coinvolgimento di movimenti muscolari. Vengono utilizzati per aiutare persone con disabilità motorie o che non sono in grado di comunicare con gli altri.
- Neurologia: vengono impiegati segnali EEG in tempo reale per fornire informazioni sull'attività delle onde cerebrali. Questo è di aiuto per la diagnosi e la previsione di molte malattie cerebrali e disturbi cognitivi, come l'Epilessia, il morbo di Parkinson, l'Alzheimer, la Dislessia, disturbi di attenzione, la Schizofrenia, l'ansia, la Sclerosi Multipla, e tanti altri.
- Studi di Neuroscienze: la neuroscienza tenta di capire come si comporta il cervello degli umani quando essi sperimentano stati emotivi e mentali diversi. I ricercatori applicano l'EEG in studi legati alle neuroscienze cognitive, alle neuroscienze

comportamentali, alla neurofisiologia per migliorare la comprensione del funzionamento del cervello sia in soggetti sani che patologici.

- Neuromarketing: è uno dei più recenti rami dell'industria pubblicitaria e mira a comprendere i bisogni, i comportamenti e le emozioni dei consumatori, per imparare a prevederli. Analizzando i segnali EEG, studia le preferenze dei clienti, le loro aspettative e le loro reazioni alla pubblicità televisiva.
- Biometria: si occupa di riconoscere e distinguere le persone utilizzando caratteristiche fisiologiche e comportamentali, come le impronte digitali, la voce, lo sguardo, l'andatura e la postura. Recentemente, lo stato cognitivo e quello emotivo del cervello sono stati utilizzati per la biometria, il che significa che i dati EEG sono stati impiegati nell'identificazione delle persone.
- Soluzioni personalizzate e neuro-feedback: i dispositivi EEG sono stati applicati nella ricerca di un ambiente confortevole, di una migliore qualità di vita e di un potenziamento del processo di apprendimento. Alcune soluzioni EEG personalizzate riguardano lo sport, il fitness, la meditazione e anche finalità educative.[7]

2.6 Fattori da considerare nella scelta del dispositivo EEG

- Tecnologia di progettazione: le cuffie EEG possono essere di tipo "dry" (asciutte) o di tipo "wet" (a secco) e, confrontandole, i ricercatori hanno concluso che le cuffie dry resistono maggiormente al rumore di rete, ma contengono più artefatti da movimento. Inoltre, gli elettrodi sono classificabili anche in base alla necessità di porre del gel elettrolitico o una soluzione fisiologica nell'interfaccia elettrodo-cute.
- Tempo di installazione: gli elettrodi EEG richiedono un tempo di installazione molto più lungo rispetto a quello della maggior parte dei sensori fisiologici. Gli elettrodi a base salina sono più semplici da usare e da applicare, rispetto a quelli basati su gel. Inoltre, dopo l'utilizzo, la pulizia delle cuffie saline richiede meno tempo rispetto a quella dei sensori a gel.
- Qualità e stabilità del segnale: la qualità dei dati EEG catturati dipende da diversi fattori. Uno tra questi è la connessione con lo scalpo. Per ottenere dati EEG stabili, di qualità e affidabili, è necessario assicurarsi che tutti gli elettrodi siano collegati e non perdano la connessione con lo scalpo, durante gli esperimenti. A questo scopo, spesso vengono scelti sensori basati su gel, per la stabilità e la durata della connessione.
- Dimensione delle cuffie: la maggior parte dei dispositivi EEG sono limitati nella regolazione delle dimensioni e quindi necessitano di cuffie diverse per poter

soddisfare esperimenti che coinvolgono persone con grandi differenze nella dimensione della testa.

- Sensibilità a rumori/artefatti esterni: nella raccolta di dati EEG, i pazienti devono sedersi in modo rilassato per evitare che qualsiasi movimento del corpo provochi artefatti nei dati. Per ottenere dati di alta qualità, è necessario che movimenti muscolari, oculari, rumori di rete e altri possibili artefatti, vengano rimossi prima di effettuare l'analisi dei dati.
- Prezzo: la maggior parte dei dispositivi EEG progettati a fini medici o di ricerca, sono molto costosi.
- Software utilizzato: il software che accompagna una cuffia EEG può avere effetti negativi sulla facilità e sull'affidabilità degli esperimenti, oltre che sul costo complessivo. Molto spesso, per questo motivo, vengono utilizzati software "open", contenenti algoritmi più avanzati e recenti.
- Comfort per l'utente: i dispositivi più comodi per l'utente sono quelli a secco o basati su una soluzione salina. Essi, infatti, sono più flessibili nei movimenti, più rapidi nel tempo di configurazione e non richiedono una pulizia dai capelli dell'utente dopo l'esperimento, come accade invece per quelli a base di gel.
- Approvazione CE/FDA: un problema frequente nei dispositivi EEG commerciali è la mancata approvazione CE/FDA. [7]

Analisi dell'attività emodinamica del cervello: fMRI

La fMRI utilizza l'imaging a risonanza magnetica per misurare la risposta emodinamica, una misura indiretta dell'attività neuronale del cervello in risposta alla presentazione di stimoli di varia natura. Nei prossimi paragrafi verrà descritta l'originale del segnale BOLD misurato con la fMRI, le tecniche di analisi dei dati, i suoi vantaggi e svantaggi relativamente alla sua applicazione nelle neuroscienze cognitive e, infine, alcuni esempi applicativi.

3.1 Il segnale "BOLD"

La risonanza magnetica funzionale, nota come fMRI, è una tecnica di neuroimaging con lo scopo di misurare l'attività emodinamica cerebrale. Questa tecnica basa le sue fondamenta su un principio denominato "accoppiamento neurovascolare". Secondo questo principio, attività neurale e flusso sanguigno sono accoppiati tra loro e, dunque, i cambiamenti della prima possono essere rilevati, indirettamente, misurando cambiamenti del secondo. Durante un compito, o in risposta a uno stimolo, in una certa regione, l'attività neurale aumenta e, conseguentemente, anche quella cellulare. L'aumento dell'attività cellulare provoca l'innalzamento del metabolismo, con conseguente aumento della richiesta di glucosio e ossigeno da parte dei neuroni. Il sistema vascolare cerebrale reagisce a questa richiesta con un aumento del flusso ematico cerebrale nelle aree in cui si trovano i neuroni che ne hanno fatto richiesta. Questo comporta un aumento di ossiemoglobina e una diminuzione di deossiemoglobina nelle aree cerebrali che ne hanno fatto richiesta. Le variazioni nella concentrazione di deossiemoglobina nel tempo producono distorsioni nel campo magnetico locale. Queste distorsioni vengono misurate con la fMRI, che fornisce una misura di queste variazioni di concentrazione di deossiemoglobina tramite il segnale BOLD (Blood-Oxygen Level Dependent). Le variazioni del flusso sanguigno locale raggiungono il picco circa 5 secondi dopo l'inizio dell'aumento locale di attività neurale e ritornano alla linea di base circa 25 secondi dopo l'aumento dell'attività. Questo schema è noto come "funzione di risposta emodinamica" (HRF).[1, Ch. 1], [5, Ch. 1]

La strumentazione fMRI consiste in uno scanner contenente un campo magnetico (Figura 3), in cui il partecipante deve essere inserito sdraiato sul lettino. Sopra la testa del paziente viene posta (non a contatto) una bobina, che permette di creare dei campi magnetici aggiuntivi per la misura del segnale fMRI. Le sequenze fMRI più utilizzate sono le sequenze EPI (Echo Planar Imaging), in particolare la gradient-echo single-shot, perché consentono una buona

risoluzione temporale. Gli esperimenti di fMRI che prevedono stimoli vengono solitamente ripetuti più volte per discriminare il vero segnale BOLD dal rumore. Essi si suddividono in due categorie principali: esperimenti eseguiti a riposo, senza la somministrazione di alcuno stimolo, in cui i soggetti devono rimanere svegli e tentare di non pensare a qualcosa in particolare; ed esperimenti che misurano la risposta a un compito assegnato. Questi ultimi prevedono la presentazione di stimoli che attivano una funzione di interesse (FOI). I paradigmi utilizzati possono essere di due tipi: quelli a blocchi contengono periodi prolungati di esposizione a stimoli, mentre quelli evento-correlati prevedono la presentazione casuale di brevi stimoli nel corso del compito. In un paradigma a blocchi semplice, vengono solitamente somministrati due o più stimoli, di cui uno funge da controllo e l'altro, o gli altri, evocano la FOI. La scelta del compito di controllo è fondamentale per determinare la specificità della regione associata alla FOI. I paradigmi evento-correlati vengono utilizzati per studiare le FOI brevi, che non possono essere sostenute per periodi di secondi come nei paradigmi a blocchi.[5, Ch. 1]

La risonanza magnetica funzionale in stato di riposo (rs-fMRI) misura le alterazioni del segnale spontaneo BOLD, in assenza di uno stimolo o dell'esecuzione di un compito da parte del soggetto; perciò, viene utilizzata per misurare l'attività neurale spontanea a bassa frequenza tra regioni a riposo situate in zone distinte tra loro. Questa tecnica è stata, negli ultimi anni, applicata gradualmente a disturbi psichiatrici, come la MDD (malattia da decompressione), l'autismo e la schizofrenia.[8], [9]

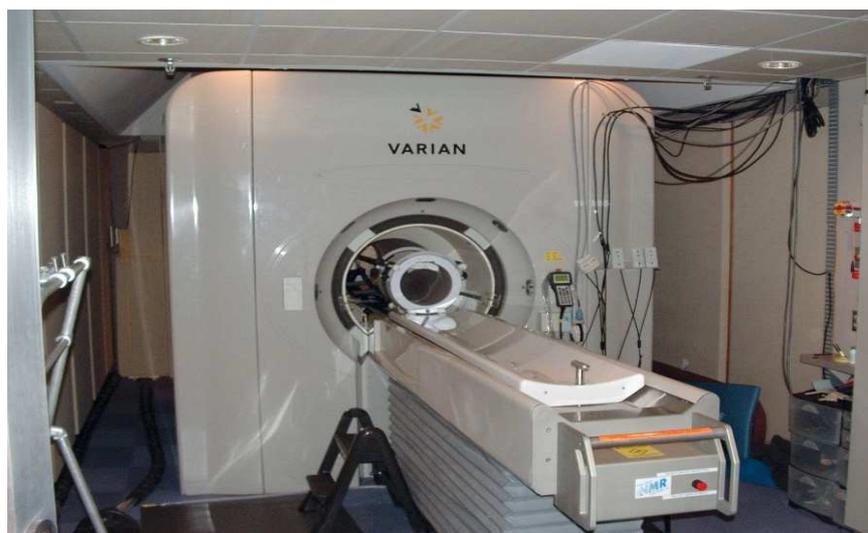


Figura 3. fMRI scanner. Presa da

[20]

3.2 Pre-elaborazione e analisi di dati fMRI

Durante gli esperimenti di fMRI, i movimenti accidentali della testa e gli artefatti da acquisizione possono alterare i dati acquisiti. Inoltre, negli studi di imaging vengono utilizzati più soggetti, ciascuno con una particolare morfologia cerebrale. Per tenere conto di questa variabilità, prima di essere utilizzati per analisi statistiche, è necessario che i dati vengano sottoposti a una serie di fasi di pre-elaborazione: brain extraction, temporal filtering, slice timing, motion correction, spatial smoothing, registration. La “brain extraction” prevede la rimozione di qualsiasi tessuto non cerebrale dalle immagini acquisite; il “temporal filtering” utilizza un filtro passa-alto per correggere piccole distorsioni nei dati; lo “slice timing” mira a correggere le anomalie che possono risultare dall’acquisizione del segnale suddiviso “in fette”, attraverso la correzione della temporizzazione delle fette; la “motion correction” garantisce che la posizione anatomica delle singole regioni cerebrali sia la stessa per tutta la durata dell’acquisizione; lo “spatial smoothing” serve per ridurre il rumore spaziale ad alta frequenza, generato da fattori sperimentali; la “registration” si impegna a spostare tutte le immagini in uno spazio comune, affinché possano essere confrontati dati funzionali tra più soggetti.

Per l’analisi statistica dei dati fMRI sono stati proposti vari metodi, con l’obiettivo comune di identificare le regioni con una variazione significativa del segnale BOLD, in risposta a un compito. Il modello lineare generale (GLM) è uno dei più noti e si basa sull’ipotesi che il segnale BOLD temporale è assunto, in ogni voxel, come la combinazione lineare di diversi segnali di interesse e di un certo rumore (Figura 4).

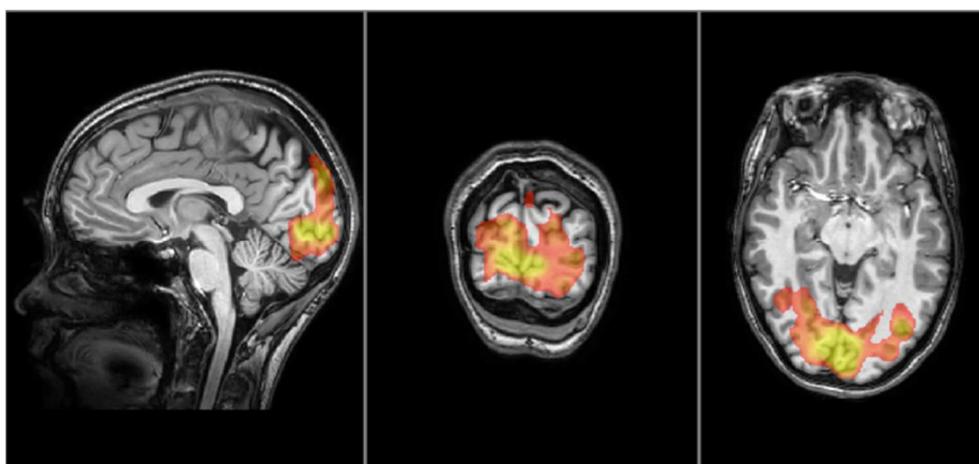


Figura 4. Applicazione del metodo GLM nell’analisi dei dati fMRI. La zona di colore rosso-giallo evidenzia i voxel con attivazione del segnale BOLD. Presa da [5, Ch. 1]

Uno svantaggio di questo modello è che l'analisi statistica viene eseguita per ogni voxel in modo indipendente, nonostante i segnali provenienti da voxel diversi non siano, nella realtà, indipendenti l'uno dall'altro. Questo problema è chiamato "problema del confronto multiplo" e ha richiesto un grande impegno da parte della comunità scientifica per poter essere risolto. A questo scopo, è stata proposta l'analisi delle componenti indipendenti (ICA), metodo che consente di modellare un segnale complesso come composizione lineare di più sorgenti indipendenti. L'ICA può essere eseguita a livello di singolo soggetto o può essere estesa allo studio di reti di connettività funzionale all'interno di un gruppo. Questa tecnica consente di distinguere componenti derivate dal segnale da componenti non classificabili come reti di resting state o correlate con artefatti da movimento, e dunque, può essere utile per la riduzione del rumore.

Un altro approccio allo studio delle interrelazioni tra reti neurali si basa sulla teoria dei grafi, secondo cui la connettività funzionale può essere rappresentata come un grafo, dove gli spigoli rappresentano le connessioni tra i nodi, che simboleggiano le unità funzionali della rete. Ogni nodo è accoppiato a un'area specifica del cervello e le serie temporali fMRI relative a ciascun nodo vengono analizzate per costruire una matrice di connettività funzionale, rappresentazione adiacente del grafo funzionale.[5, Ch. 1]

3.3 Vantaggi e svantaggi della tecnica fMRI

La fMRI ha un'elevata risoluzione spaziale e consente un'esplorazione accurata dell'intero cervello, anche delle aree più profonde. Tuttavia, ha una risoluzione temporale limitata poiché le variazioni nel segnale BOLD, prodotte dall'aumento dell'attività neurale, richiedono tempo. Inoltre, la frequenza di campionamento del segnale è molto bassa (1-2 Hz).

Esistono anche dei limiti al tipo di stimoli che è possibile presentare ai partecipanti. Per esempio, la rumorosità dello scanner può causare problemi a studi che prevedono la presentazione di stimoli uditivi e i compiti motori sono difficilmente eseguibili all'interno di uno scanner di risonanza magnetica, che prevede il posizionamento del paziente in posizione supina. La richiesta al partecipante di restare immobile nello scanner implica anche che alcune popolazioni siano poco adatte a questo tipo di tecnica di neuroimaging (ad esempio, neonati, infanti e bambini, che molto spesso richiedono sedazione per poter eseguire l'esame di risonanza magnetica).

I vantaggi e gli svantaggi della fMRI rendono questa tecnica complementare a quella EEG. Infatti, l'EEG ha un'elevata risoluzione temporale ma una risoluzione spaziale limitata dal numero di elettrodi. Inoltre, essa non permette una buona localizzazione delle sorgenti per

strutture cerebrali profonde. La combinazione di questi due metodi consente di individuare e collegare tra loro la localizzazione anatomica dei segnali cerebrali e la loro esatta evoluzione temporale.[1], [10]

3.4 Applicazioni della fMRI

La fMRI viene sfruttata in diversi ambiti di applicazioni, ma il neurofeedback si è rivelato recentemente un campo di applicazione sempre più in crescita. Attraverso l'impiego di questa tecnica, infatti, è possibile studiare l'effetto dell'attività neuronale autoregolata sul comportamento umano. Un altro importante aspetto di cui si occupa il neurofeedback attraverso la fMRI è la modulazione comportamentale nelle patologie, cioè lo studio di disturbi nella regolazione di emozioni (per esempio il dolore cronico, l'acufene, l'ictus, la depressione e la schizofrenia).[11]

Analisi dell'attività emodinamica del cervello: fNIRS

La fNIRS utilizza la luce per misurare la risposta emodinamica cerebrale, una misura indiretta dell'attività neuronale del cervello in risposta alla presentazione di stimoli di varia natura. Nei prossimi paragrafi verrà descritta l'originale del segnale fNIRS, le tecniche di analisi dei dati, i suoi vantaggi e svantaggi relativamente alla sua applicazione nelle neuroscienze cognitive e, infine, alcuni esempi applicativi.

4.1 Imaging ottico

L'imaging ottico del cervello umano è reso possibile dall'interazione delle diverse lunghezze d'onda della luce con i tessuti biologici. La luce interagisce con i tessuti attraverso due meccanismi fondamentali: l'assorbimento e la dispersione. L'assorbimento consiste nel trasferimento di energia dal fotone al mezzo di trasmissione; la dispersione, invece, prevede l'alterazione del percorso del fotone senza, però, che vari la sua energia. Queste interazioni si verificano con una certa probabilità, che dipende dai coefficienti di assorbimento e dispersione del mezzo in questione. Entrambi i coefficienti, a loro volta, dipendono dalla lunghezza d'onda della luce. Il coefficiente di dispersione per la luce quando attraversa i tessuti biologici è circa 100 volte superiore a quello di assorbimento, il che significa che, per un fotone, la probabilità di essere disperso è 100 volte superiore a quella di essere assorbito.

La NIRS (Near-Infrared Spectroscopy) è il metodo più antico per studiare il cervello umano, sfruttando l'imaging ottico. Questa tecnica sfrutta il fatto che i tessuti biologici (pelle ed ossa) sono trasparenti a particolari lunghezze d'onda della luce (nella finestra del rosso e del vicino infrarosso), ovvero la luce rossa e nel vicino infrarosso riesce a passare attraverso la pelle o il cranio senza essere assorbita. Inoltre, la luce a queste lunghezze d'onda, ha la particolarità di essere assorbita in maniera specifica e differente dall'ossiemoglobina e dalla deossiemoglobina. La fNIRS richiede che la luce rossa e nel vicino infrarosso venga introdotta, attraverso fibre ottiche, in un punto del cuoio capelluto che funge da sorgente e rilevata, sempre attraverso fibre ottiche, in un altro punto, che funge da rilevatore. La coppia sorgente-detettore si chiama canale. La distanza tra emettitore e rilevatore determina la profondità e la posizione del percorso della luce misurata (maggiore la distanza, maggiore la profondità). [5, Ch. 3][12] Solitamente si posizionano più sorgenti e detettori sul cuoio capelluto, in modo da ottenere più canali di misurazione da regioni diverse del cervello.

La più importante applicazione della NIRS è nello studio dell'attivazione funzionale. La fNIRS (functional NIRS) prevede l'applicazione di uno stimolo esterno tale da indurre una risposta emodinamica (HRF), in maniera analoga agli studi fMRI. Infatti, come la fMRI, anche la fNIRS si basa sul principio neurovascolare. L'impatto degli stimoli funzionali sui parametri misurati dalla fNIRS, infatti, provoca un aumento localizzato della concentrazione di ossiemoglobina e una diminuzione di deossiemoglobina. La risposta emodinamica alla stimolazione funzionale raggiunge il suo picco dopo alcuni secondi dall'inizio della presentazione dello stimolo e, una volta terminato lo stimolo, impiega 12-15 secondi per tornare alla linea base.

Come per la fMRI, anche per la fNIRS esistono paradigmi evento-correlati e paradigmi a blocchi. Quelli evento-correlati, che richiedono molte ripetizioni di un singolo e breve stimolo, vengono utilizzati soprattutto in studi su persone adulte; quelli a blocchi, invece, siccome necessitano di meno prove per il recupero della HRF, sono più adatti a neonati o a pazienti ritenuti "difficili da trattare". [5, Ch. 3]

4.2 Analisi di dati fNIRS

L'obiettivo dell'analisi di dati fNIRS è quello di stimare la risposta emodinamica contenuta nei segnali ottici. Questi segnali, però, oltre che della risposta emodinamica, sono composti anche da rumore di misura, artefatti da movimento e varie forme di rumore fisiologico. Il rumore di misura può essere facilmente ridotto mediante filtraggio, ma il movimento e i disturbi fisiologici sono più difficili da gestire e possono mascherare la risposta emodinamica, rendendo complicato il recupero del segnale cerebrale effettivo.

Gli artefatti da movimento possono essere picchi di elevata ampiezza e alta frequenza, facilmente rilevabili nel segnale misurato, ma possono anche essere oscillazioni più sottili, a bassa frequenza e bassa ampiezza, difficili da rilevare. La soluzione principale per rilevare e rimuovere, o quantomeno ridurre, questi artefatti, consiste nell'utilizzo di tecniche di post-elaborazione, basate sulle variazioni intrinseche dell'ampiezza e del contenuto in frequenza del segnale.

Il rumore fisiologico comprende qualsiasi cambiamento nel segnale fNIRS misurato che ha un'origine fisiologica e non è correlato all'attività neurale mirata. Esempi di rumore fisiologico possono essere l'attività cardiaca, la respirazione, le onde vasomotorie e le oscillazioni a bassissima frequenza. L'interferenza fisiologica può provenire sia dal comparto cerebrale che da quello extra-cerebrale. Una soluzione al problema può essere l'impiego di canali a separazione breve (canali SS). Essi sono quasi esclusivamente sensibili agli strati

extra-cerebrali e, dunque, il segnale misurato da questi canali può essere rimosso dal segnale misurato dai canali di separazione standard per minimizzare l'effetto del rumore fisiologico. [5, Ch. 3]

4.3 Vantaggi e svantaggi della tecnica fNIRS

L'elevata risoluzione spaziale e l'accuratezza di localizzazione dimostrate dalla fMRI difficilmente sono raggiungibili dai metodi di imaging ottico a diffusione quindi, se la fMRI è facilmente disponibile e adatta sia alla popolazione che al paradigma scelto, questa tecnica è decisamente preferibile. Tuttavia, la fMRI ha diverse limitazioni, tra cui il posizionamento fisso del partecipante, il costo elevato e il disagio recato al paziente, che ne impediscono l'applicazione ad alcuni gruppi di pazienti (ad esempio, neonati, bambini piccoli e anziani) e l'uso al di fuori di ambienti ospedalieri o laboratori. La fNIRS, invece, non è invasiva, è silenziosa, è a basso costo, è portatile e robusta ad artefatti da movimento, il che la rende adatta allo studio dell'attività cerebrale di tutti quei pazienti a cui è controindicata l'applicazione della fMRI e in tutti i compiti sperimentali difficilmente applicabili in fMRI (ad esempio compiti motori e uditivi)[5, Ch. 3] [13]

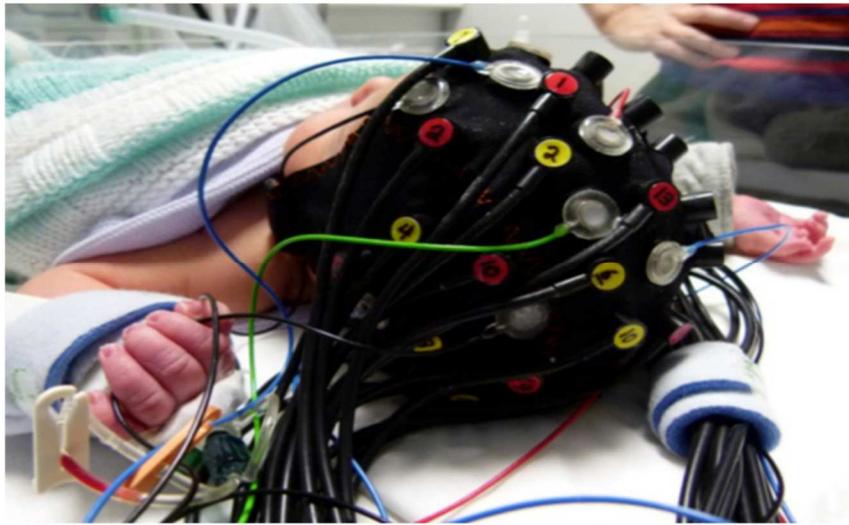
4.4 Applicazioni della fNIRS

L'impiego più rilevante delle tecniche di imaging ottico funzionale riguarda lo studio dei processi cognitivi negli infanti e le applicazioni cliniche neonatali (Figura 5).

Il funzionamento del cervello dei bambini è un importante argomento di ricerca per le neuroscienze cognitive. Ad esempio, due applicazioni su cui si concentrano le tecniche di imaging ottico sono l'elaborazione della voce umana e lo studio delle reti funzionali globali.

La capacità di elaborare suoni vocali viene sviluppata molto presto dagli esseri umani ed è fondamentale per le interazioni sociali. Comprendere in quali zone del cervello avviene questa elaborazione è fondamentale per il neuro-sviluppo e per studiare disturbi come la schizofrenia o l'autismo. La fNIRS è ideale per questo tipo di studi, perché può essere eseguita anche su neonati svegli, a differenza della fMRI.

Le reti funzionali globali svolgono un ruolo importante nella cognizione e nel comportamento umano. Esse possono fungere da biomarcatori per uno sviluppo cognitivo sano e, dunque, è necessario indagare su come e quando emergano nella prima infanzia. Diversi studi hanno riscontrato che le reti funzionali presentano una diminuzione della connettività nei primi tre mesi di vita e poi un aumento della connettività tra i tre e i sei mesi.[5, Ch. 3]



*Figura 5: cuffietta
flessibile adattata sulla
testa di un neonato.
Preso da [5, Ch. 3]*

4.5 Fattori da considerare nella scelta del sistema NIRS

La maggior parte dei sistemi multicanali disponibili in commercio è personalizzabile per quanto riguarda la disposizione delle sorgenti e dei rilevatori. Questo può avere un impatto enorme sulla qualità delle misurazioni di imaging ottico e, perciò, richiede un'attenta riflessione.

Sono molti i fattori che devono essere considerati:

- Separazione sorgente-rilevatore: al suo aumentare, aumenta la profondità raggiunta dal fascio luminoso e di conseguenza aumenta la percentuale di fotoni rilevata che ha attraversato il tessuto cerebrale. Tuttavia, se la separazione è eccessiva, la luce raggiungerà il rilevatore in misura insufficiente perché si possa ottenere una misurazione affidabile. Solitamente, la separazione comunemente selezionata per studi su adulti è di 30 mm.
- Densità dei canali: aumentare il numero di canali per unità di superficie del cuoio capelluto, consente un aumento di ridondanza e l'esperimento risulta, quindi, più affidabile.
- Sovrapposizione dei canali: se si vuole ricostruire tridimensionalmente l'immagine di attivazione cerebrale, è fondamentale che i canali di misura siano reciprocamente informativi. Ciò significa, per esempio, che una variazione nella concentrazione di

emoglobina in un determinato punto del volume di interesse, deve essere osservabile da più canali all'interno dell'array.

- Copertura dell'array: è importante che un array copra un'area sufficientemente ampia da consentire piccoli errori nel posizionamento della cuffia sul cuoio capelluto del soggetto.
- Comfort del soggetto: esso, oltre a essere un requisito etico, influisce anche sulla qualità dei dati ottenuti, poiché il disagio favorisce il movimento e il movimento crea problemi nell'acquisizione dei dati. [5, Ch. 3]
- Qualità del segnale: l'accoppiamento tra sorgente e tessuto è ciò che in primo luogo influenza la qualità del segnale. Questo accoppiamento può variare a causa di follicoli piliferi, sudore e movimento dell'emettitore o del rilevatore. Inoltre, la risposta emodinamica può essere contaminata anche da variazioni del flusso sanguigno e della saturazione, che vengono rilevati durante l'attraversamento degli strati cerebrali da parte della luce.[12]

EEG-fNIRS wireless

5.1 Analisi simultanea di attività elettrica ed emodinamica del cervello

L'attività del cervello può essere misurata sia dal punto di vista elettrico che emodinamico. Per fornire un quadro completo della funzione cerebrale, il neuroimaging funzionale multimodale prevede la combinazione di tecniche differenti, in grado di misurare contemporaneamente entrambe le attività.

La tecnica più comune per valutare l'attività elettrica del cervello è l'EEG. Quelle più comuni, invece, per analizzare l'attività emodinamica, sono la PET, la fMRI e la fNIRS. La PET è una tecnica invasiva, dato che richiede l'iniezione di un tracciante radioattivo.

La fMRI è stata applicata, in studi multimodali, assieme all'EEG, ma, come già detto nel capitolo ad essa dedicato, le limitazioni che la caratterizzano (ad esempio, posizione fissa, costo elevato, disagio del paziente...) ne hanno sempre impedito l'utilizzo su determinati pazienti e al di fuori di ambienti ospedalieri o laboratori.

La fNIRS, invece, grazie alle sue caratteristiche, è perfetta per essere utilizzata, in studi di neuroimaging multimodale, con l'EEG. Entrambe queste tecniche, infatti, sono non invasive, a basso costo, adatte a un monitoraggio dei soggetti a lungo termine. Inoltre, sia per l'EEG che la fNIRS, esiste la loro versione hardware wireless, commercialmente disponibile, che consente l'utilizzo di questi sistemi permettendo ampi movimenti da parte dei partecipanti. [13]

5.2 Realizzazione tecnica di un sistema EEG-fNIRS

Il sistema combinato EEG-fNIRS è formato da tre parti principali: una cuffia multimodale, un'unità EEG-fNIRS e un'interfaccia grafica (GUI) collegata a un dispositivo di comunicazione wireless. (Figura 6)

Il sistema richiede che elettrodi EEG, ed emettitori e rilevatori di luce siano posizionati in un'unica cuffia, in modo da garantire l'integrazione dei vari sensori in un'unica acquisizione. Gli elettrodi EEG vengono posizionati su delle cinghie e tra gli elettrodi EEG e la testa del paziente viene applicato del gel elettrolitico, in modo da garantire un buon contatto elettrico e una qualità del segnale sufficiente. Per quanto riguarda la fNIRS, gli optodi vengono posizionati tra le cinghie EEG ed è molto importante che emettitori e rilevatori rimangano in

posizione e perpendicolari alla superficie. La cuffia presenta due proprietà opposte: la flessibilità, necessaria per garantire un buon adattamento a teste di dimensioni e forme diverse, e la rigidità, per mantenere le componenti esattamente nella loro posizione. Inoltre, questa struttura consente di accedere facilmente ai capelli del paziente per poterli spostare da sotto i sensori, in modo che emettitori e rilevatori possano essere posizionati direttamente a contatto con la pelle, per ridurre l'assorbimento della luce da parte dei capelli.

Oltre alla cuffia, il sistema presenta un'unità EEG-fNIRS che esegue tutti i compiti di controllo e di elaborazione. Questa unità presenta tre diverse parti: un modulo EEG, che si occupa di acquisire i segnali EEG e monitorare e registrare i movimenti del paziente; un modulo NIRS, che ha la funzione di acquisire segnali analogici NIRS e di pilotare le sorgenti NIRS; e un modulo di funzioni generali con lo scopo di stabilire un collegamento wireless con il PC per ricevere istruzioni e inviare dati e di fornire l'alimentazione necessaria per oltre cinque ore di registrazione EEG-fNIRS simultanea e wireless.

Un'altra parte di cui è costituito il sistema è l'interfaccia grafica. Essa è formata da tre moduli: il controllore di comunicazione assicura collegamento wireless ad alta velocità tra il PC e l'unità EEG-fNIRS, la GUI NIRS contiene tutti i processi necessari per la gestione del sistema NIRS e la GUI EEG esegue tutte le funzioni legate al sistema EEG.

L'interfaccia grafica è collegata a un modulo di comunicazione wireless, formato da due componenti Bluetooth, una integrata nell'unità EEG-NIRS, l'altra integrata in una chiave USB, collegata al PC. Il PC può supportare simultaneamente fino a sette canali, corrispondenti a sette dispositivi di acquisizione indipendenti posti in siti diversi sul corpo del paziente. Questo sistema di monitoraggio crea una rete body-area (BAN) per consentire la registrazione dell'attività elettrica ed emodinamica in ogni parte del corpo del paziente. Ciascun dispositivo di acquisizione presenta una maggiore portabilità dovuta alla comunicazione wireless e alle componenti EEG e fNIRS altamente integrate.

Possono esserci due metodi di generazione della luce NIR: i LED e i diodi laser (LD). È spesso preferibile usare i LED, in quanto permettono l'emissione di un maggior numero di fotoni NIR rispetto ai diodi laser. Inoltre, le sorgenti di luce laser sono soggette a un marcato riscaldamento delle giunzioni, per cui è necessario utilizzare fibre ottiche per trasferire la luce al tessuto, mentre i LED possono essere applicati direttamente sulla pelle.

Tra le funzioni del modulo NIRS vi è quella di applicare una sorgente di corrente individuale programmabile per ogni LED. Questo consente alla luce emessa di potersi adattare

automaticamente alle condizioni di acquisizione individuali variabili (ad esempio, i capelli, il colore della pelle, i diversi tipi di tessuto, ecc.) [14]

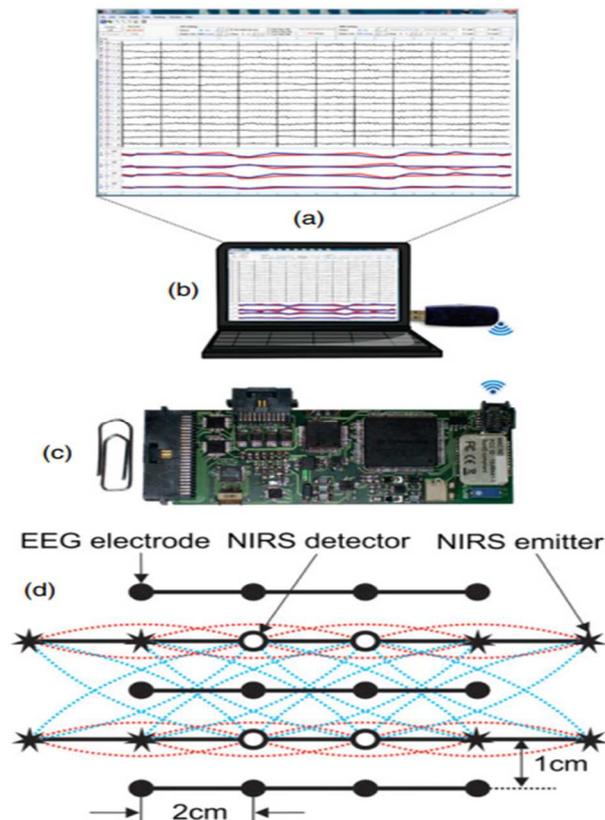


Figura 6: Esempio di parti costitutive di un sistema multimodale EEG-fNIRS.

(a) interfaccia grafica

(b) modulo di comunicazione wireless

(c) unità EEG-NIRS

(d) organizzazione di elettrodi e optodi (con elettrodi EEG disposti in tre linee e optodi NIRS disposti tra le linee EEG).

Le linee rosse e blu indicano una vista dall'alto dell'area indagata dalla NIRS tra emettitori e rilevatori di luce, posti in una linea o tra due linee.

Preso da [14]

La combinazione delle due tecniche EEG e fNIRS pone diverse sfide:

- L'applicazione di elettrodi EEG e di sorgenti e rilevatori fNIRS sulla testa del paziente: lo spazio sulla testa è poco e bisogna organizzarlo al meglio, affinché sia

possibile ospitare fibre ottiche ed elettrodi EEG. Questo problema è diffuso soprattutto per i pazienti più giovani a causa delle dimensioni ridotte della loro testa.

- La ricerca di precisione temporale e sincronizzazione nella registrazione simultanea dei segnali: i sistemi EEG e fNIRS non integrati necessitano di marcatori che blocchino temporalmente i segnali acquisiti e consentano, poi, una loro sincronizzazione offline.
- La possibile formazione di un crosstalk (interferenza elettromagnetica) tra i due sistemi: è un problema serio che può, però, essere risolto attraverso opportuni filtri passa-basso che si impegnano, appunto, a sopprimere la diafonia.
- La comprensione di quali sistemi EEG e fNIRS possano essere combinati nel migliore dei modi: nell'abbinare i due sistemi, ci sono tante caratteristiche da dover tenere in considerazione, come, ad esempio, i vantaggi e gli svantaggi associati ai diversi tipi di elettrodi EEG. Gli elettrodi possono essere umidi o a secco e attivi o passivi. Gli elettrodi a secco sono a contatto diretto con il cranio, ma hanno valori di impedenza più elevati e sono più sensibili ad artefatti da movimento, rispetto a quelli umidi. Questi ultimi, però, non sono adatti a un monitoraggio a lungo termine dei pazienti. Gli elettrodi attivi sono dotati di una fase di pre-amplificazione in grado di ridurre il rumore del segnale EEG, ma sono di dimensioni maggiori rispetto a quelli passivi. Potrebbe, dunque, non essere possibile posizionarli secondo il sistema 10-20, se sulla testa sono applicati anche gli optodi fNIRS. [13]

5.3 Vantaggi e svantaggi della tecnologia integrata EEG-fNIRS e del suo utilizzo wireless

I sistemi EEG-fNIRS indossabili e completamente integrati presentano numerosi vantaggi, soprattutto per un monitoraggio prolungato del paziente, perché consentono di valutare contemporaneamente l'attività elettrica e quella emodinamica del cervello. L'elevata risoluzione temporale dell'EEG si unisce all'efficiente risoluzione spaziale della fNIRS per studiare in maniera approfondita l'attività cerebrale. Ulteriori progressi comprendono l'utilizzo di fotodiodi al silicio con un'alimentazione sicura e a bassa tensione e un accelerometro tridimensionale integrato per il rilevamento di artefatti dovuti al movimento.

Nonostante ciò, i sistemi integrati costituiti da componenti discrete sono soggetti alle seguenti limitazioni: le grandi dimensioni e il peso elevato, che ne limitano l'indossabilità e la comodità; la diafonia tra segnali ottici ed elettrici; la mancata accuratezza nella precisione dei tempi e nella sincronizzazione di segnali EEG e fNIRS; la bassa qualità del segnale e la limitata capacità, degli elettrodi EEG, di registrare segnali a lungo termine.

Per limitare alcune di queste criticità è emersa la tendenza di integrare i due sistemi mediante un microchip. Le tecnologie a microchip presentano vantaggi fondamentali, tra cui una riduzione dell'ingombro, un basso consumo di energia, una migliore sincronizzazione temporale tra le misurazioni EEG e fNIRS, una riduzione del rumore e della diafonia tale da rendere migliore la qualità del segnale. [13]

La tecnica EEG-fNIRS con sistema wireless è un passo importante nell'evoluzione delle neuroscienze cognitive, in quanto consente lo studio del comportamento umano durante azioni di vita quotidiana, senza la necessità di un ambiente ospedaliero o laboratoriale. Inoltre, i dispositivi più comodi per l'utente sono quelli wireless a secco o basati su soluzione salina, in quanto sono più flessibili nei movimenti, più rapidi nel tempo di configurazione e non richiedono una pulizia dai capelli dell'utente dopo l'esperimento, come invece accade per i dispositivi a base di gel. Questi sistemi wireless, però, presentano anche numerose criticità. Innanzitutto, non garantiscono una connessione sempre stabile, il che rappresenta un rischio per la sicurezza dei dati del paziente. Infatti, qualsiasi movimento dei cavi potrebbe alterare i dati durante il trasferimento. Inoltre, i dispositivi senza fili sono alimentati a batteria e, dunque, sono soggetti a una potenziale perdita dei dati quando la batteria è esaurita. Deve essere, quindi, garantita la durata della batteria per tutto il periodo in cui vengono svolti gli esperimenti e questo aumenta la complessità nella raccolta di dati con questi dispositivi.[7]

5.4 Applicazioni dei sistemi EEG-fNIRS

Sono sempre più numerosi i settori in cui possiamo trovare sistemi integrati EEG-fNIRS: la BCI (Brain Computer Interface), la neurologia clinica e la neuroriabilitazione.

L'interfaccia cervello-computer (BCI) è un sistema di intelligenza artificiale che consente la comunicazione tra il cervello e un dispositivo esterno, per mezzo di segnali generati dal cervello, senza il coinvolgimento dei muscoli e del sistema muscolare periferico. La BCI è utile per migliorare la vita di individui con gravi disabilità motorie e la sua procedura consiste in cinque fasi: acquisizione del segnale, miglioramento del segnale, estrazione delle caratteristiche, classificazione e interfacciamento dei comandi. L'attività cerebrale viene misurata attraverso il rilevamento di segnali elettrofisiologici, indotti durante l'esecuzione di compiti specifici, e la determinazione della risposta emodinamica, rappresentata dall'aumento dell'emoglobina dovuto alle attivazioni neuronali che si verificano quando il cervello è impegnato in un compito. Le principali modalità BCI non invasive e migliori in termini di costo e portabilità sono l'EEG e la fNIRS. La scelta di ciascuno di questi metodi dipende dal compito in questione. L'EEG è maggiormente utilizzato per la BCI in compiti di tipo reattivo,

nei quali l'output cerebrale è generato in relazione a uno stimolo esterno. Le BCI basate su fNIRS, invece, sono più comunemente impiegate in compiti attivi, nei quali l'attività cerebrale dipende dall'intenzionalità dell'utente e non da eventi esterni. La maggior parte delle attività mentali e motorie sono oggetto di studio delle BCI attive basate su fNIRS. [15]

Per migliorare ulteriormente le prestazioni della BCI, è stato proposto l'ibrido EEG/fNIRS, che combina i vantaggi di entrambe le tecniche in modo da compensare le loro limitazioni. Vi sono, però, due importanti aspetti che ancora andrebbero approfonditi riguardo alle applicazioni ibride EEG-fNIRS nelle BCI: il primo è lo studio dei diversi ruoli che la fNIRS può ricoprire in differenti sistemi BCI; il secondo è l'analisi dell'efficienza di diverse strutture ibride EEG-fNIRS nelle varie applicazioni. [16]

Negli ultimi decenni, un altro contesto in cui è stato valutato il potenziale clinico dell'EEG-fNIRS è l'epilessia umana. L'epilessia è un insieme diversificato di disturbi neurologici cronici caratterizzati da crisi epilettiche, derivanti da scariche neuronali anomale ed eccessive. Sono stati identificati tre tipi di crisi epilettiche: crisi del lobo frontale, del lobo temporale e dei lobi posteriori. Esse possono durare da alcuni secondi a qualche minuto e sono solitamente accompagnate da manifestazioni cliniche, quali l'alterazione dello stato mentale, movimenti tonici e/o clonici. L'utilizzo della fNIRS in concomitanza con l'EEG consente ai ricercatori non solo di rilevare e monitorare gli eventi epilettici, ma anche di studiarne l'impatto sull'emodinamica e sull'ossigenazione, con l'obiettivo di valutare se l'emodinamica cerebrale potrebbe anticipare le crisi epilettiche e rappresentare quindi un biomarcatore precoce.[17]

Un altro importante ambito in cui è possibile applicare l'EEG-fNIRS è quello della neuroriabilitazione. I disturbi dell'andatura e dell'equilibrio sono i problemi più significativi tra le persone affette da malattie neurologiche e l'EEG e la fNIRS possono fornire una spiegazione dettagliata dei meccanismi neurofisiologici alla base del comportamento motorio e delle lesioni dovute a malattie neurologiche. Negli ultimi anni, la neuroriabilitazione assistita da robot ha permesso un addestramento precoce, intensivo, specifico e multisensoriale per il recupero motorio. Sia l'EEG che la fNIRS sono relativamente poco costose, portatili e non invasive. L'integrazione delle due tecniche consente di superare le limitazioni incontrate dalle singole modalità e aiuta a caratterizzare con precisione l'attività funzionale delle reti neurali coinvolte nella riabilitazione robotica.

Il robot-assisted gait training (RAGT) ha dimostrato essere un promettente intervento neuroriabilitativo per migliorare il recupero della deambulazione nei pazienti dopo un ictus o

dopo lesioni cerebrali. A questo scopo, il RAGT attiva cambiamenti neuroplastici, che vengono misurati dall'EEG-fNIRS. [18]

Le tecniche di rilevamento multimodale che integrano i segnali dell'EEG e della fNIRS hanno attirato una notevole attenzione anche nella valutazione del carico di lavoro mentale. Il carico di lavoro mentale è da tempo un fattore di grande interesse nella progettazione e nell'applicazione di complessi sistemi uomo-macchina. Negli ultimi anni, a livello mondiale, sta iniziando sempre più a essere riconosciuto come un serio problema di salute pubblica. Un lavoratore è in grado di mantenere prestazioni elevate e di essere operativamente affidabile, solo quando il suo carico di lavoro mentale non supera un certo livello. Se il suo carico di lavoro mentale diventa eccessivo, vengono compromesse le sue prestazioni lavorative e questo può portare al fallimento del suo compito e, nei casi più gravi, anche mettere in pericolo la salute o la sicurezza delle persone. La fusione di EEG e fNIRS ha dimostrato un significativo miglioramento nell'accuratezza del rilevamento del carico di lavoro mentale, rispetto al singolo segnale EEG o fNIRS.[19]

5.5 Il futuro dei sistemi integrati EEG-fNIRS

Nel corso degli anni si sta sempre più sviluppando la tendenza a usare dispositivi integrati EEG-fNIRS wireless, tentando di risolvere le criticità legate alle difficoltà implementative di questa tecnologia. I vantaggi, infatti, come già detto in precedenza, sono numerosi: dalla miniaturizzazione del sistema al monitoraggio prolungato del paziente; dalla valutazione simultanea di attività elettrica ed emodinamica del cervello alla possibilità di studiare il comportamento umano durante lo svolgimento di azioni di vita quotidiana.

Le due tecniche possono essere integrate mediante due tipi di approcci: l'unione delle due componenti discrete e l'unione, in un singolo microchip, del circuito di misurazione fNIRS e del circuito di registrazione EEG. Il primo approccio è riuscito a integrare efficacemente EEG e fNIRS in modo da risultare indossabile, ma l'ingombro e il peso di ciascun modulo limitavano l'indossabilità, la comodità e un'applicazione pratica e duratura del sistema. Inoltre, i due circuiti impiegavano convertitori analogico-digitali (ADC) differenti per l'acquisizione dei dati, il che comportava problemi di precisione nella sincronizzazione delle registrazioni. Il secondo approccio, che unisce entrambi i circuiti all'interno di un singolo microchip, consente la riduzione dell'ingombro, del peso, del rumore e della potenza del sistema, migliorando la qualità del segnale e la precisione dei tempi. Tuttavia, anche questa architettura presenta ancora numerose criticità circa la chiarezza nella sua realizzazione.

Il futuro dei sistemi EEG-fNIRS risiederà nel miglioramento del loro design, in modo che diventino sempre più comodi, portatili, leggeri, flessibili e che permettano un monitoraggio a lungo termine. Saranno, dunque, necessari schemi di controllo e interfacce dati più avanzati e una trasmissione di dati ad alta velocità. Un'altra scelta fondamentale per il miglioramento di queste tecnologie è quella del tipo di elettrodi da utilizzare: probabilmente i migliori, per garantire un monitoraggio regolare e a lungo termine, sono gli elettrodi a secco. Essi, infatti, sono leggeri, piccoli, flessibili e sono in grado di stabilire un contatto stabile con il cuoio capelluto, anche attraverso i capelli. [13]

Bibliografia

- [1] Eysenck M.W. and Keane M.T., *Psicologia cognitiva*, Quarta. 2012.
- [2] E. B. 'Goldstein, S. 'Vitali, A. 'Zangrilli, and P. L. 'Bandinelli, *Psicologia cognitiva: connettere mente, ricerca ed esperienza comune*, Quarta. 2016.
- [3] D. 'Purves, R. 'Cabeza, S. A. ' 'Huettel, K. S. ' 'LaBar, M. L. ' 'Platt, and M. G. ' 'Woldorff, *Neuroscienze Cognitive*, 2nd ed. 2015.
- [4] H. Y. Kim, K. Seo, H. J. Jeon, U. Lee, and H. Lee, "Application of functional near-infrared spectroscopy to the study of brain function in humans and animal models," *Molecules and Cells*, vol. 40, no. 8. Korean Society for Molecular and Cellular Biology, pp. 523–532, Jan. 01, 2017. doi: 10.14348/molcells.2017.0153.
- [5] M. Castellaro *et al.*, *Basic neuroimaging: a guide to the methods and their applications*, Second. 2021.
- [6] N. Holt, A. Bremner, E. Sutherland, M. Vliek, M. Passer, and R. Smith, *Psicologia generale: capire la mente osservando il comportamento*, 2nd ed.
- [7] M. Soufineyestani, D. Dowling, and A. Khan, "Electroencephalography (EEG) Technology Applications and Available Devices," *Applied Sciences*, vol. 10, no. 21, p. 7453, Oct. 2020, doi: 10.3390/app10217453.
- [8] J. Sun *et al.*, "Distinct patterns of functional brain network integration between treatment-resistant depression and non treatment-resistant depression: A resting-state functional magnetic resonance imaging study," *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, vol. 120, p. 110621, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.pnpbp.2022.110621.
- [9] L. C. Fadel *et al.*, "A Mouse Holder for Awake Functional Imaging in Unanesthetized Mice: Applications in 31P Spectroscopy, Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging Studies, and Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging," *Biosensors (Basel)*, vol. 12, no. 8, Aug. 2022, doi: 10.3390/bios12080616.
- [10] P. Pindi, J. Houenou, C. Piguet, and P. Favre, "Real-time fMRI neurofeedback as a new treatment for psychiatric disorders: a meta-analysis."
- [11] N. Weiskopf, "Real-time fMRI and its application to neurofeedback," *NeuroImage*, vol. 62, no. 2. pp. 682–692, Aug. 15, 2012. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.10.009.

- [12] D. Patashov, Y. Menahem, G. Gurevitch, Y. Kameda, D. Goldstein, and M. Balberg, “fNIRS: Non-stationary preprocessing methods,” *Biomed Signal Process Control*, vol. 79, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.bspc.2022.104110.
- [13] J. Uchitel, E. E. Vidal-Rosas, R. J. Cooper, and H. Zhao, “Wearable, integrated eeg–fnirs technologies: A review,” *Sensors*, vol. 21, no. 18. MDPI, Sep. 01, 2021. doi: 10.3390/s21186106.
- [14] J. Safaie, R. Grebe, H. A. Moghaddam, and F. Wallois, “Toward a fully integrated wireless wearable EEG-NIRS bimodal acquisition system,” *J Neural Eng*, vol. 10, no. 5, Oct. 2013, doi: 10.1088/1741-2560/10/5/056001.
- [15] M. J. Khan and K. S. Hong, “Hybrid EEG-FNIRS-based eight-command decoding for BCI: Application to quadcopter control,” *Front Neurorobot*, vol. 11, no. FEB, Feb. 2017, doi: 10.3389/fnbot.2017.00006.
- [16] Z. Liu, J. Shore, M. Wang, F. Yuan, A. Buss, and X. Zhao, “A systematic review on hybrid EEG/fNIRS in brain-computer interface,” *Biomedical Signal Processing and Control*, vol. 68. Elsevier Ltd, Jul. 01, 2021. doi: 10.1016/j.bspc.2021.102595.
- [17] K. Peng, P. Pouliot, F. Lesage, and D. K. Nguyen, “Multichannel continuous electroencephalography-functional near-infrared spectroscopy recording of focal seizures and interictal epileptiform discharges in human epilepsy: a review,” *Neurophotonics*, vol. 3, no. 3, p. 031402, Feb. 2016, doi: 10.1117/1.nph.3.3.031402.
- [18] A. Berger, F. Horst, S. Müller, F. Steinberg, and M. Doppelmayr, “Current state and future prospects of EEG and fNIRS in robot-assisted gait rehabilitation: A brief review,” *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 13. Frontiers Media S.A., Feb. 01, 2019. doi: 10.3389/fnhum.2019.00172.
- [19] H. Chu *et al.*, “Optimized electroencephalogram and functional near-infrared spectroscopy-based mental workload detection method for practical applications,” *Biomed Eng Online*, vol. 21, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1186/s12938-022-00980-1.
- [20] “functional magnetic resonance imaging,” *Encyclopedia Britannica*, Aug. 2017.

Ringraziamenti

Mi sembra doveroso, innanzitutto, ringraziare la mia relatrice, la Prof.ssa Sabrina Brigadoi, per la disponibilità e la puntualità con cui mi ha seguita, dal primo giorno, nello scrivere questo elaborato.

Dopodiché, un grazie speciale va a tutti coloro che mi hanno accompagnata in questo percorso di studi.

Grazie alla mia famiglia, in particolare alla mia mamma, a mio papà, a Franco e a Giacomo, per sostenere ogni mia scelta e credere in me e nelle mie capacità più di quanto riuscirò mai a fare io.

Grazie a mia nonna, alla quale dedico questa tesi così come qualsiasi altro successo della mia vita, nel tentativo di dimostrarle anche solo in parte quanto io la ammiri e quanto la sua persona influenzi giorno dopo giorno la mia.

Grazie alla mia persona preferita da ormai più di dieci anni, Marco, che è stato per me forse il più fermo punto di riferimento in questi anni pieni di cambiamenti e dubbi vari.

Grazie a tutti i miei amici: alle mie indiscusse compagne di vita, le Bambose; ai Gringos, agli Stagionali e anche alle mie compagne di cavallo, dell'Università e di Padova. Mi sento molto fortunata ad avervi nella mia vita.

Infine, ringrazio il mio sport, l'Equitazione, da sempre causa delle mie più grandi delusioni come delle migliori soddisfazioni. La passione per questo sport mi ha insegnato che non si è mai stanchi abbastanza per mollare qualcosa a cui si tiene moltissimo.