

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA
FACOLTA' DI INGEGNERIA



CORSO DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA
DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

TESI DI LAUREA

ANALISI TEMPO-FREQUENZA MULTIVARIATA
DEL SEGNALE EEG DURANTE STIMOLAZIONE
MAGNETICA TRANSCRANICA

Relatore:
Ch.ma Prof.ssa Gianna Maria Toffolo

Correlatori:
Dott.ssa Emanuela Formaggio
Dott.ssa Silvia Francesca Storti

Laureando:
Alessandro Zamboni

Anno Accademico 2009-2010

Alla mia famiglia

INDICE

Sommario	1
Introduzione	3
1. Elettroencefalografia e Stimolazione Magnetica Transcranica	5
1.1 Elettroencefalografia	5
1.1.1 EEG e sonno	14
1.2 Stimolazione Magnetica Transcranica	16
1.3 Coregistrazione EEG-TMS	18
2. Dati e Protocolli	23
2.1 Protocollo con tempo di interstimolazione elevato (8-10 s)	24
2.2 Protocollo con tempo di interstimolazione breve (0.8-3 s)	25
3. Metodi per l'analisi tempo-frequenza	29
3.1 Trasformata wavelet per l'analisi spettrale tempo-frequenza	30
3.2 Analisi di coerenza	33
3.2.1 Coerenza tempo-frequenza	34
4. Implementazione	37
4.1 Pre-processing	37
4.2 Processing	41
4.2.1 Analisi spettrale tempo-frequenza	42
4.2.2 Analisi di coerenza tempo-frequenza	43
5. Risultati	45
5.1 Protocollo con tempo di interstimolazione elevato (8-10 s)	46
5.1.1 Analisi spettrale tempo-frequenza	46
5.1.2 Analisi di coerenza tempo-frequenza	52

5.2	Protocollo con tempo di interstimolazione	
	breve (0.8-3 s)	57
5.2.1	Analisi spettrale tempo-frequenza	
	in veglia	57
5.2.2	Analisi di coerenza tempo-frequenza	
	in veglia	62
5.2.3	Analisi spettrale tempo-frequenza	
	in privazione di sonno	67
5.2.4	Analisi di coerenza tempo-frequenza	
	in privazione di sonno	72
5.2.5	Analisi spettrale tempo-frequenza	
	nel sonno	77
5.2.6	Analisi di coerenza tempo-frequenza	
	nel sonno	82
5.2.7	Confronto tra i due gruppi di studio	82
6.	Conclusioni	87
	Bibliografia	93

SOMMARIO

Lo scopo del presente lavoro è quello di analizzare gli effetti indotti dalla stimolazione magnetica transcranica (TMS) sull'attività cerebrale rilevata tramite un comune elettroencefalogramma (EEG).

Nel primo capitolo si sono illustrati le metodiche elettroencefalografia e della TMS, descritte in modo da dare un'idea al lettore dei principi fisiologici e tecnici che stanno alla base del loro funzionamento. Si è descritta inoltre la metodica di coregistrazione delle due procedure e i possibili artefatti che vengono introdotti nel tracciato EEG.

Nel secondo capitolo sono stati descritti nei dettagli le procedure sperimentali e i protocolli di acquisizione per ciascuno dei due gruppi di soggetti che sono stati oggetto dello studio. Nel capitolo successivo sono spiegati i metodi per l'analisi tempo-frequenza che costituiscono il nucleo di questo lavoro. In particolar modo si sono approfonditi il filtraggio, l'analisi wavelet e la coerenza tempo-frequenza.

Il quarto capitolo illustra l'implementazione dell'analisi tempo-frequenza e delle problematiche incontrate nel corso dello studio. Si affrontano nello specifico l'andamento temporale della potenza relativa e la *wavelet coherence*.

Negli ultimi due capitoli vengono presentati i risultati ottenuti e le conclusioni a cui si è giunti durante lo studio.

INTRODUZIONE

L'obiettivo proposto in questo progetto è quello di analizzare come si modifica l'attività EEG in seguito alla stimolazione magnetica transcranica (TMS).

La TMS è una metodica che consente di stimolare o inibire la corteccia cerebrale in modo transitorio e minimamente invasivo. Le coregistrazioni EEG-TMS permettono di valutare gli effetti corticali della TMS, attraverso la misura dei cambiamenti indotti dalla TMS nell'attivazione neuronale con una risoluzione temporale elevata.

Nel presente lavoro sono stati presi in considerazione due gruppi di soggetti su cui sono stati eseguiti due protocolli differenti: per il primo gruppo si è utilizzato un tempo di interstimolazione elevato (8-10 s) e una frequenza di campionamento di 1024 Hz, mentre per il secondo un tempo di interstimolazione breve (0.8-3 s) e una frequenza di campionamento di 5000 Hz. Inoltre nel secondo gruppo di soggetti le registrazioni sono state eseguite in tre differenti condizioni per ciascun soggetto: veglia, privazione di sonno e sonno. Grazie a queste ulteriori acquisizioni è stato possibile osservare le diverse risposte agli stimoli della TMS in ognuno di questi stati. Per analizzare la modulazione dell'attività oscillatoria dell'encefalo si è utilizzato un elettroencefalogramma a 32 canali.

Data la non stazionarietà del segnale EEG in presenza degli impulsi della TMS si è deciso di applicare tecniche di analisi tempo-frequenza ai dati EEG. Grazie a tali metodiche, adatte ai segnali non-stazionari, è stato possibile monitorare l'andamento temporale degli spettri dei segnali nonché della coerenza tra segnali prelevati su elettrodi differenti: ciò ha consentito di cogliere l'evoluzione dinamica dell'attività oscillatoria neuronale e quegli episodi transitori che le tecniche tradizionali non rilevano.

Per implementare l'analisi tempo-frequenza sono state utilizzate delle funzioni Matlab opportunamente adattate ai differenti tracciati dei soggetti. Il filtraggio dei dati e la selezione degli intervalli privi di artefatti hanno costituito un punto cruciale dell'analisi. Successivamente si è svolto uno studio sull'andamento temporale della potenza wavelet e sulla coerenza tempo-frequenza.

I risultati dell'analisi tempo-frequenza, utilizzata nel presente lavoro, sono stati estesi alle quattro bande di frequenza che caratterizzano l'attività elettrica cerebrale (alpha,

beta, delta e theta) e hanno dato interessanti prove sulla diversa risposta evocata dalla TMS in ciascuna di esse.

1. ELETTROENCEFALOGRAFIA E STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA

1.1 Elettroencefalografia

L'elettroencefalografia è la registrazione dell'attività elettrica dell'encefalo. L'encefalo (dal greco *encephalon*, "dentro la testa") è quella componente del neurasse completamente contenuto nella scatola cranica [1]. Esso costituisce assieme al midollo spinale il sistema nervoso centrale.

Esternamente l'encefalo appare fondamentalmente costituito da due masse voluminose, gli emisferi cerebrali, dalla superficie ricca di solchi e scissure che li suddividono in lobi; internamente è formato da una sostanza grigia e da una sostanza bianca. La sostanza grigia è disposta perifericamente e costituisce la corteccia cerebrale, mentre quella bianca si trova al centro ed è costituita da fasci di fibre nervose e da nuclei di sostanza grigia, che sono importanti centri nervosi. La corteccia cerebrale umana è spessa 2-4 mm e gioca un ruolo centrale in meccanismi mentali complicati come la memoria, la concentrazione, il pensiero, il linguaggio e la coscienza. Essa non è funzionalmente omogenea, ma divisa in centri di localizzazione, ciascuno con compiti differenti. Anatomicamente è suddivisa in quattro lobi distinti: frontale, parietale, occipitale e temporale (Figura 1.1).

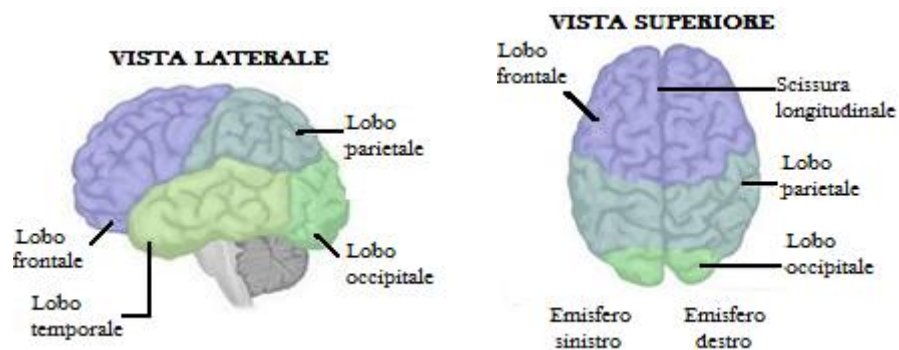


Figura 1.1: Vista laterale (a) e superiore (b) dei lobi che compongono l'encefalo.

Il lobo frontale è deputato, in gran parte, alla programmazione delle azioni e al controllo del movimento, quello parietale alla percezione delle sensazioni somatiche e alla rappresentazione della propria immagine corporea, il lobo occipitale è legato ai meccanismi visivi ed infine quello temporale è connesso con l'udito e con alcuni aspetti dell'apprendimento, del comportamento emotivo e della memoria.

A livello della corteccia cerebrale i due tipi di neuroni più importanti sono le cellule piramidali e non piramidali. Le prime hanno corpi cellulari grandi, di forma piramidale e posseggono lunghi dendriti provvisti di spine (Figura 1.2). Sono neuroni eccitatori di proiezione i cui assoni vanno a terminare in altre regioni cerebrali e nel midollo spinale.



Figura 1.2: Un esempio di cellula piramidale.

La loro caratteristica principale è la disposizione corticale: i loro dendriti apicali attraversano diversi strati corticali e sono sempre orientati perpendicolarmente alla superficie della corteccia. Questa organizzazione dendritica facilita l'integrazione dei vari segnali afferenti. I neuroni piramidali possiedono anche collaterali assoniche ricorrenti che proiettano localmente all'interno dell'area da cui originano. Alcune di queste collaterali possono decorrere per molti millimetri in piani paralleli agli strati corticali. Le connessioni stabilite dalle collaterali assoniche svolgono un importante ruolo funzionale nella genesi dell'attività elettrica globale degli aggregati neurali corticali.

I campi elettrici generati dalle cellule piramidali sono campi "aperti" in cui la corrente extracellulare si estende oltre i limiti del tessuto attivo; questi campi, se sincroni, possono sommarsi ed essere registrati mediante elettrodi posti sullo scalpo.

Le cellule non piramidali invece, si presentano piccole, di forma stellata e hanno assoni corti che proiettano a neuroni locali. Sono spesso disposte radialmente o con

orientamenti casuali ossia non preferenziali rispetto alla superficie della corteccia (a differenza delle piramidali). Questo fa sì che i campi "chiusi" da esse generati non si sommino e che le correnti intra ed extracellulari non producano campi elettrici e magnetici all'esterno (Figura 1.3).

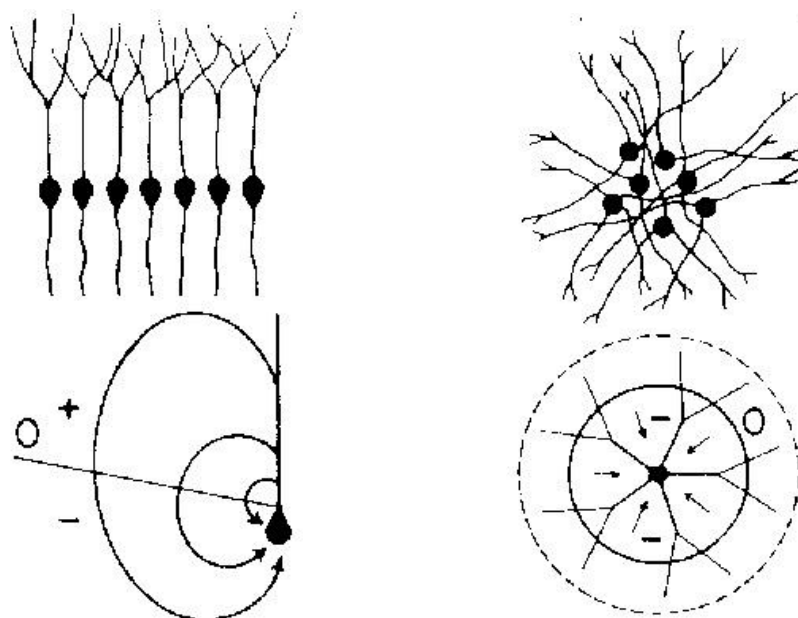


Figura 1.3: Neuroni piramidali (a) disposti parallelamente per cui i loro campi elettromagnetici si possono sommare ed attivare simultaneamente. Neuroni non-piramidali (b) disposti radialmente o con orientamenti casuali per cui generano campi "chiusi" non rilevabili dall'esterno.

I neuroni piramidali corticali svolgono un ruolo predominante nella creazione dei potenziali registrati in superficie, mentre i possibili contributi di altri elementi cellulari, come ad esempio le cellule stellate (non piramidali) non possono essere riconosciuti in modo inequivocabile.

La tecnica dell'elettroencefalografia è stata inventata nel 1929 da Hans Berger, il quale scoprì una differenza di potenziale elettrico tra aghi infissi nello scalpo oppure tra due piccoli dischi di metallo (elettrodi) quando essi sono posti a contatto con la cute sgrassata del cuoio capelluto. La tecnica fu in seguito perfezionata da Herbert Jasper. Nel 1984 si scoprì il principio della decodifica delle onde cerebrali per merito di due scienziati Vinicio De Bortoli e Ugo Licinio, i quali utilizzarono il principio dell'elettroencefalogramma (EEG) come base di partenza per le loro ricerche.

L'elettroencefalografia viene registrata dall'elettroencefalografo; inizialmente si utilizzavano elettroencefalografi analogici, costituiti da un sistema di preamplificatori,

aventi lo scopo di adattare l'impedenza d'ingresso degli amplificatori a quella degli elettrodi, e da un sistema di amplificazione. Il dispositivo di riproduzione del segnale era costituito dalla carta. Successivamente sono seguiti quelli digitali costituiti da un sistema di filtraggio, un sistema di amplificazione, una sezione di campionamento e di conversione analogico-digitale, una sezione di interfaccia per permettere ai computer di gestire gli amplificatori ed infine una sezione di visualizzazione a schermo dei tracciati.

La rappresentazione grafica della registrazione è l'elettroencefalogramma. L'EEG è una misura del flusso di corrente che viene generato dalla somma delle attività di un elevato numero di neuroni. I potenziali di superficie sono principalmente il risultato dell'attività dei neuroni corticali-piramidali disposti in corrispondenza della regione corticale sottostante l'elettrodo.

L'EEG può essere acquisito utilizzando differenti collegamenti fra gli elettrodi e l'amplificatore (montaggio): unipolare, bipolare o a referenza media. Il primo, utilizzato nel presente studio, registra le variazioni di potenziale tra un elettrodo attivo e uno di riferimento. L'elettrodo attivo è posto al di sopra dell'area dove si svolge l'attività neuronale, mentre l'altro è collocato ad una certa distanza dal primo. Il secondo rileva invece la differenza di potenziale elettrico tra due elettrodi attivi qualsiasi. Nel terzo tipo di montaggio i potenziali dei vari elettrodi sono misurati rispetto ad un valore medio ottenuto sommando e mediando tra di loro tutti i potenziali registrati. In ogni caso, il contributo elettrico di ciascun neurone corticale è estremamente piccolo ed il segnale deve attraversare diversi strati di tessuto extra-cerebrale come le meningi, i liquidi che si trovano tra le medesime, le ossa del cranio e la pelle, prima di raggiungere gli elettrodi. L'insieme di queste strutture agisce da filtro del segnale biologico ad origine cerebrale e ne attenua l'intensità. Di conseguenza, sono necessari migliaia di neuroni attivati contemporaneamente per produrre un segnale abbastanza grande da poter essere rilevato. Questo ci fa capire che l'ampiezza del segnale EEG dipende molto da quanto è sincronizzata l'attività dei neuroni implicati. Infatti, se ciascuna cellula riceve la stessa quantità di eccitazione, ma in tempi diversi, i segnali sommati risultano irregolari ed esigui. Al contrario, se tutte le cellule ricevono la stessa eccitazione simultaneamente, i singoli segnali si sommano dando origine ad un campo elettrico più intenso. In questo caso, il numero di cellule attivate e la quantità totale di attivazione possono rimanere invariate, l'unica cosa che cambia è

solo la sincronizzazione dell'attività. Se l'eccitazione contemporanea di questo insieme di cellule è ripetuta molte volte, l'EEG risultante sarà costituito da onde di entità rilevabile e relativamente ritmiche.

La continua fluttuazione della normale attività cerebrale, quindi, induce tra vari punti del cuoio capelluto piccole differenze di potenziale elettrico (nell'ordine dei μV) che vengono amplificate e registrate normalmente per alcuni minuti (in casi particolari fino a 24 ore). Si ottiene in questo modo un tracciato che segna per ciascun elettrodo le variazioni del voltaggio nel tempo. Normalmente gli elettrodi vengono montati secondo uno schema fisso (sistema internazionale 10-20) su tutte le parti del cuoio capelluto. Poiché ogni elettrodo riflette in prima linea l'attività della parte cerebrale più vicina, l'EEG è in grado di fornire informazioni non solo su attività elettriche anomale, ma anche sulla loro localizzazione.

Essendo di esecuzione facile e non invasivo, l'EEG rappresenta un esame di base in neurologia. Assume il suo valore diagnostico maggiore nella diagnosi dell'epilessia, in quanto in questa patologia l'alterazione della normale attività elettrica produce tracciati molto caratteristici che possono essere presenti anche in assenza di crisi epilettiche. Anche nel caso di malattie infiammatorie come meningiti ed encefaliti oppure nelle encefalopatie metaboliche l'EEG è molto utile, perché un tracciato normale esclude questi processi. Altre volte l'EEG può indicare un processo focale come un tumore o un'ischemia cerebrale, nella maggior parte dei casi senza però essere in grado di determinare il tipo di lesione.

Si riportano qui di seguito alcune immagini per evidenziare un esempio di tracciato di un soggetto sano e quello di un soggetto epilettico (Figure 1.4 e 1.5).

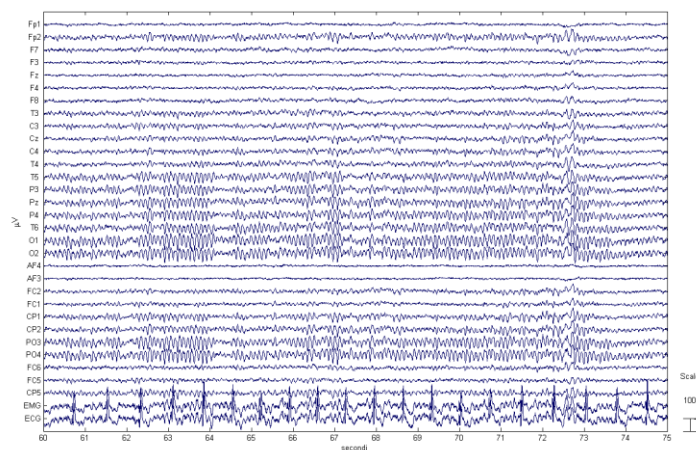


Figura 1.4: Esempio di tracciato EEG di un soggetto sano con finestra temporale di 15 s.

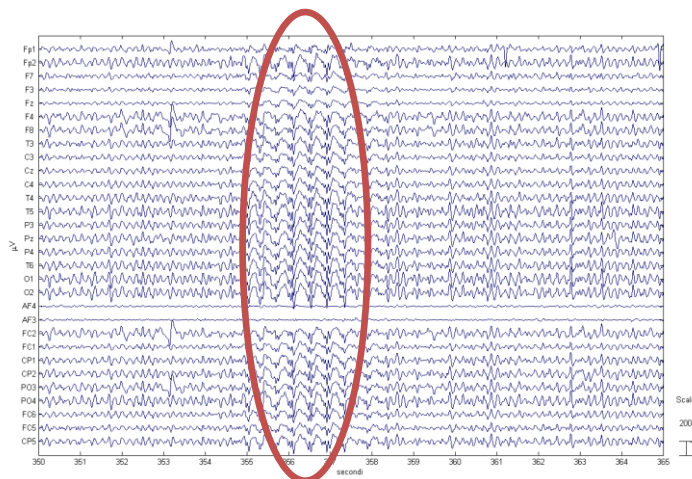


Figura 1.5: Esempio di tracciato EEG di un soggetto epilettico con finestra temporale di 15 s. E' evidenziato un fenomeno lento con sovrapposta un'attività più rapida prevalente in regione fronto-temporale di sinistra con tendenza alla diffusione controlaterale.

Il Sistema internazionale 10-20

La registrazione del segnale EEG avviene tramite il posizionamento di un numero variabile di elettrodi sulla superficie del cranio. Per consentire il paragone di misure successive nello stesso soggetto, o il paragone di misure in soggetti diversi, alla fine degli anni '40 è stato sviluppato un "sistema universale", conosciuto come il sistema internazionale 10-20. Questo sistema descrive l'esatta posizione di ogni elettrodo, consentendo una buona copertura di tutta la superficie encefalica e garantendo che gli elettrodi siano sempre posizionati sopra le stesse aree (anche se la certezza assoluta può solo essere ottenuta sovrapponendo delle immagini di risonanza magnetica). Le linee che descrivono questo sistema, utilizzando come punto di partenza precise localizzazioni anatomiche, disegnano una rete sulla superficie del cranio, ai cui punti di intersezione sono posizionati gli elettrodi. La distanza tra un elettrodo e l'altro è sempre il 10% o il 20% della lunghezza totale della linea, da cui il nome del sistema.

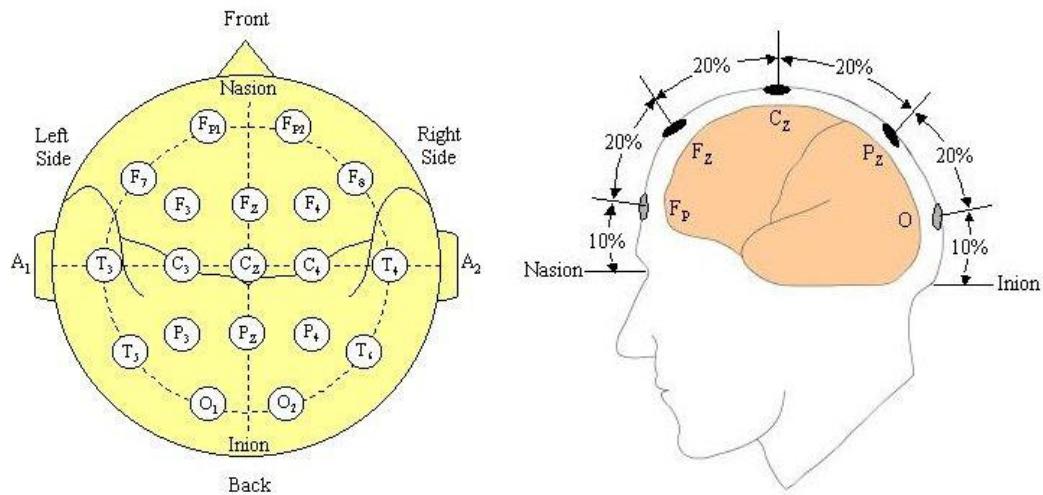


Figura 1.6: Panoramica della distribuzione degli elettrodi nel sistema 10-20 (a). Sezione sagittale che evidenzia la posizione degli elettrodi sulla linea mediana nel sistema 10-20 (b).

I punti di riferimento per la misura percentuale sono i punti preauricolari destro e sinistro, il nasion e l'inion (Figure 1.6b e 1.7a). Ogni posizione di un elettrodo viene denominata usando una lettera e un numero (o talora una seconda lettera).

La lettera prende nome dal lobo cerebrale sottostante (Fp = frontopolare, F = frontale, T = temporale, P = parietale e O = occipitale), tranne che per gli elettrodi C (centrali). Il numero e' pari (2, 4, 6, 8) per il lato destro e dispari (1, 3, 5, 7) per il sinistro, con i valori più bassi in posizione mediale. La posizione sulla linea mediana interemisferica è indicata con la lettera z.

Le fasi della determinazione della posizione degli elettrodi

I tre punti di repera anatomici di riferimento sul cranio sono:

- Il nasion: il ponte nasale
- L'inion: la protuberanza ossea centrale dell'osso occipitale
- il punto preauricolare: la depressione ossea immediatamente davanti al trago.

Si inizia con la misura della distanza tra nasion e inion, seguendo la linea mediana dell'encefalo. Il punto frontopolare Fp viene localizzato al 10% di questa distanza, sopra il nasion. A partire da questo punto, a intervalli del 20% della distanza tra nasion e inion, procedendo verso l'inion, si localizzano i punti Fz, Cz, Pz e O (Figura 1.6b).

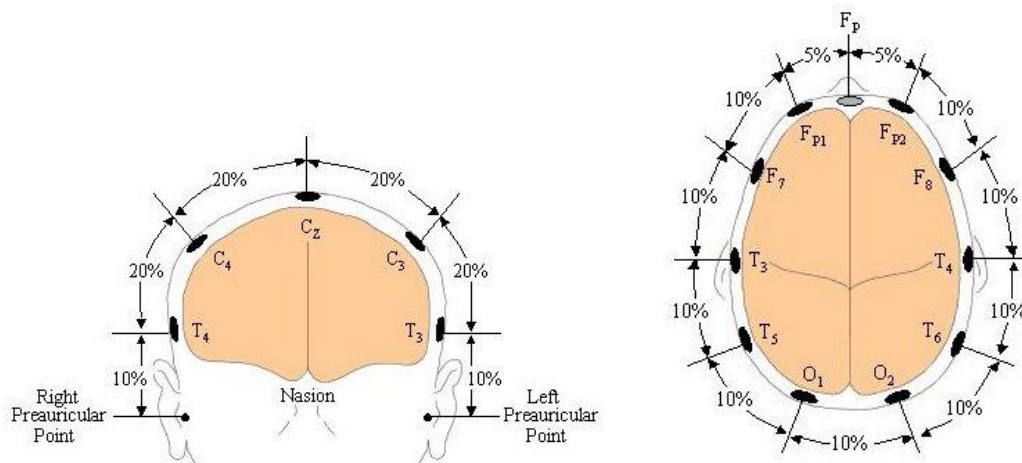


Figura 1.7: Sezione frontale (a) e trasversale (b) che evidenzia la posizione degli elettrodi nel sistema 10-20.

Successivamente si misura la distanza tra i 2 punti preauricolari, passando per Cz. Si localizzano così C3 e T3 a sinistra e C4 e T4 a destra, allontanandosi da Cz di una distanza pari al 20 e al 40% della distanza totale, rispettivamente.

La terza misura è quella della circonferenza cranica, passante per i punti Fp, O, T3 e T4. Si localizza poi il punto Fp1 a una distanza del 5% del totale, a sinistra di Fp; quindi in successione F7, T3, T5, O1, O2, T6, T4, F8 e Fp2, distanziati tra loro di un ulteriore 10% ogni volta (Figura 1.7b).

A questo punto si localizzano: F3, all'incrocio delle linee congiungenti Fp1-C3 e Fz-F7; F4 all'incrocio delle linee congiungenti Fp2-C4 e Fz-F8; P3, all'incrocio delle linee congiungenti C3-O1 e Pz-T5; P4 all'incrocio delle linee congiungenti C4-O2 e Pz-T6. I 19 punti di localizzazione degli elettrodi sono così tutti identificati.

Le onde cerebrali

Solitamente nell'uomo normale la frequenza dei potenziali registrati dalla superficie dello scalpo varia da 1 a 30 Hz e l'ampiezza da 20 a 100 μV . L'ampiezza delle onde dell'EEG è attenuata, oltre che dalla presenza del cranio e dello scalpo, anche da quella delle meningi e del liquido cerebrospinale.

I tracciati EEG presentano un'attività di fondo generalizzata. Sono sempre presenti piccole fluttuazioni di voltaggio del tutto spontanee, solitamente di poche decine di

μV . Questa attività spontanea può essere rivelatrice di diversi stati mentali (attenzione, concentrazione, ecc.), diversi livelli di coscienza (sonno, livelli del coma, ecc.) ed alcuni disturbi patologici come l'epilessia, tumori cerebrali o altri tipi di lesioni focali o più diffuse.

In generale si distinguono poche bande di frequenze o ampiezze dominanti che vengono denominate onde alpha (8-13 Hz), beta (13-30 Hz), delta (0,5-4 Hz) e theta (4-7 Hz). Si può osservarne l'andamento tipico in Figura 1.8.

Le onde alpha sono generalmente associate a uno stato di veglia rilassata e si registrano meglio dai lobi parietali e occipitali. Un'importante caratteristica del ritmo alfa è la sua tendenza a scomparire all'apertura degli occhi e durante l'attività mentale.

Il ritmo beta riflette un'attività più rapida, si distingue solitamente a livello delle aree frontali, ma si può registrare anche in altre regioni corticali, durante l'attività mentale intensa. Tra tutte le onde EEG, le onde beta sono quelle che hanno ampiezza minima e frequenza massima.

Le onde theta sono classificate come attività lenta, si registrano durante alcuni stati di sonno, momento in cui hanno ampiezza maggiore, e in determinate condizioni patologiche.

Infine il ritmo delta, il più lento di tutti, solitamente ha ampiezza maggiore rispetto agli altri. Questa attività è un elemento caratteristico del sonno profondo e di condizioni patologiche come il coma o danni cerebrali diffusi. Il ritmo delta è generalmente più riscontrabile nella zona frontale per gli adulti e in quella posteriore per i bambini.

L'attività elettrica cerebrale ha un'ampia variabilità interindividuale e intraindividuale, poiché si possono osservare importanti differenze non solo tra un individuo e l'altro in rapporto a fattori costituzionali, all'età, al sesso, ma anche nello stesso soggetto in relazione a diverse condizioni quali, ad esempio, livelli di vigilanza e stato psicologico.

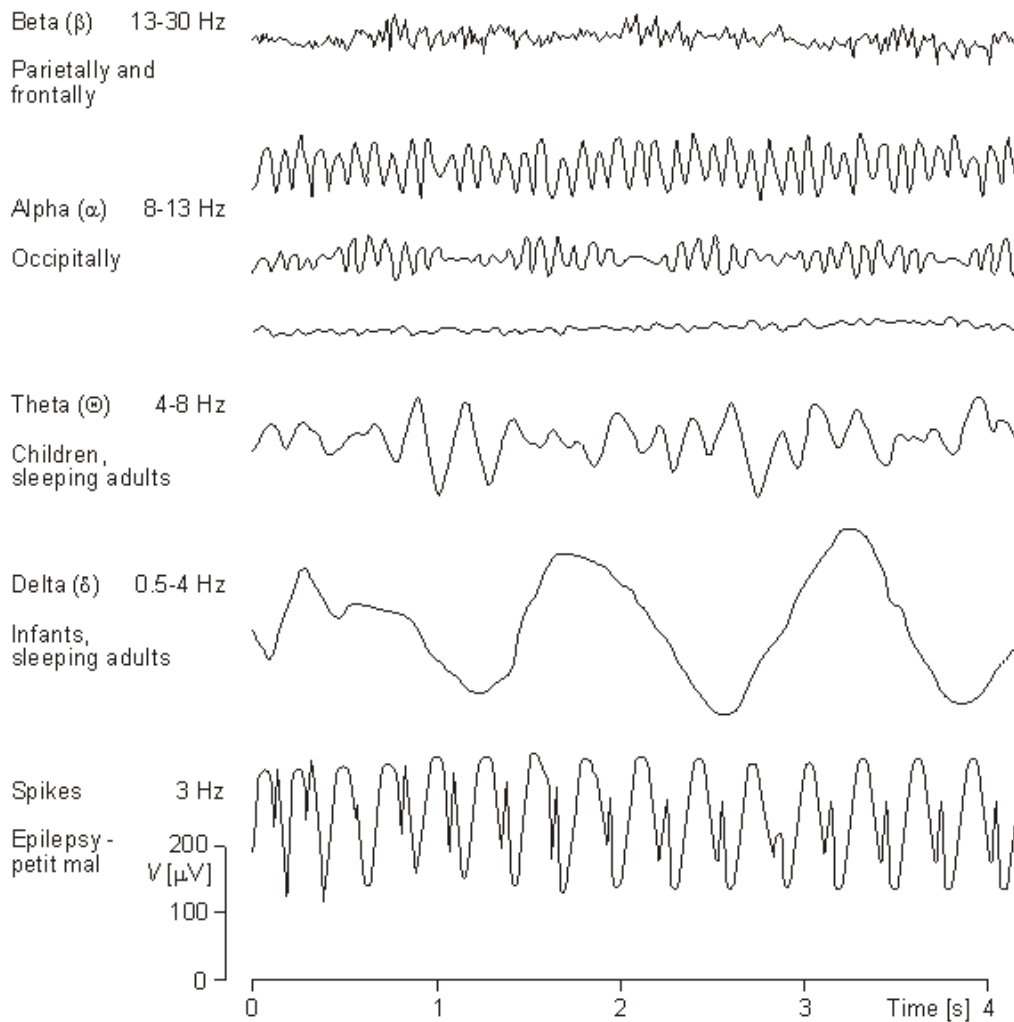


Figura 1.8: Andamento tipico delle onde beta, alpha, theta e delta.

1.1.1 EEG e sonno

È difficile dare una definizione precisa del sonno. Una delle più calzanti è quella data nel 1985 da Fagioli e Salzarulo che lo presentano come "uno stato dell'organismo caratterizzato da una ridotta reattività agli stimoli ambientali che comporta una sospensione dell'attività relazionale (rapporti con l'ambiente) e modificazioni dello stato di coscienza: esso si instaura autonomamente e periodicamente, si autolimita nel tempo ed è reversibile".

Nel 1953 Eugene Aserinsky e Nathaniel Kleitman scoprirono la presenza dei movimenti oculari rapidi (REM) durante il sonno. Questa semplice osservazione permise di differenziare il sonno in una fase REM (con movimenti oculari rapidi) e in una fase non REM (NREM).

Alla fine degli anni '60, dopo la scoperta del sonno REM e NREM e del concetto di ciclicità di queste due fasi all'interno del sonno è nata la necessità di classificare in maniera standard le variazioni elettroencefalografiche che si verificavano durante il sonno in maniera macroscopica. Nel 1968 Rechtschaffen e Kales basandosi sull'analisi dei parametri elettroencefalografici, elettromiografici ed elettrooculografici classificarono il sonno in 5 stadi, 4 stadi NREM (stadio 1; stadio 2; stadio 3; stadio 4) ed uno stadio REM.

Durante lo stadio 1 l'attività alpha diminuisce, il pattern di attivazione scarso, l'EEG è costituito principalmente da onde di basso voltaggio di frequenza mista tra i 3-7 Hz. I movimenti degli occhi sono ancora presenti ma lenti, rotanti e oscillatori (non in opposizione di fase come nella fase REM). L'elettromiogramma mostra un'attività tonica persistente benché di intensità inferiore rispetto alla veglia.

Nello stadio 2 è presente una attività di fondo di voltaggio relativamente basso, con frequenza variabile ma vicina alle onde theta (4-8 Hz). I movimenti degli occhi sono lenti, mentre l'EMG si riduce ulteriormente.

Nello stadio 3 il 20-50% di ogni epoca (convenzionalmente un periodo di registrazione EEG di 30 sec.) deve contenere attività delta ovvero onde EEG di grande ampiezza (>75 microvolt) e bassa frequenza (circa 1-4 Hz). Il tono muscolare in questo stadio è lievemente ridotto ed i movimenti degli occhi praticamente assenti.

Lo stadio 4 è caratterizzato dalla presenza di onde delta, che qui raggiungono la massima ampiezza e la minima frequenza, per più del 50% dell'epoca. I movimenti degli occhi non sono presenti mentre persiste uno stato di attivazione muscolare tonica molto basso. In questa fase l'attività metabolica del cervello è ridotta (minor consumo di ossigeno e glucosio). Se il soggetto si sveglia in questa fase rimane confuso per qualche minuto.

Lo stadio REM è caratterizzato da un EEG a basso voltaggio con frequenze miste. L'EEG del sonno REM ricorda molto quello dello stadio 1 se non per le caratteristiche scariche di onde con la caratteristica morfologia a 'dente di sega'; i movimenti oculari rapidi (da cui appunto la denominazione dello stadio) ed il basso

tono dei muscoli mentonieri. Inoltre questa fase è caratteristica per la paralisi dei muscoli (un'ipotesi di tale fenomeno è che tale paralisi servirebbe per evitare di mimare i sogni) e per i sogni. Il cervello consuma ossigeno e glucosio come se il soggetto fosse sveglio e stesse svolgendo un'attività intellettuale. Se ci si sveglia in questa fase si è perfettamente orientati.

1.2 Stimolazione magnetica transcranica

La Stimolazione magnetica transcranica (TMS) è una tecnica non invasiva di stimolazione elettromagnetica del tessuto cerebrale. Tale metodica può essere utilizzata per studiare il comportamento del cervello ed esplorare l'eccitabilità delle differenti regioni che lo compongono.

La TMS si basa sul principio fondamentale dell'induzione elettromagnetica di Faraday. Il sistema di stimolazione è costituito da condensatori che scaricano in una serpentina di rame, formata da una o più spire (*coil*), un'elevatissima quantità di corrente (5000-6000 A). Le spire, attraversate dalla corrente, inducono un campo magnetico di breve durata (tra 150 e 800 μ s). Il campo magnetico stesso induce un flusso di corrente sotto il *coil* la cui intensità è proporzionale alla conduttività del tessuto che attraversa e alla velocità con cui varia il campo. Negli studi della TMS il *coil* è tenuto a contatto della testa del soggetto e, al momento in cui viene generato il campo magnetico, quest'ultimo passa attraverso lo scalpo e il cranio del soggetto inducendo una corrente nel cervello, la quale stimola il tessuto neuronale.

Il campo magnetico decade velocemente con il quadrato della distanza, per cui si possono stimolare solo le aree più esterne del cervello.

La direzione del flusso di corrente nel *coil* è opposto alla direzione della corrente indotta nei tessuti nervosi. La corrente stimolata, che è massima in un anello sottostante il *coil*, può essere bifasica o monofasica. La direzione e la fase del flusso di corrente determinano quali elementi neuronali vengono attivati dentro la corteccia. Un impulso bifasico può stimolare popolazioni di cellule diverse al contrario di un impulso monofasico. La risposta ad uno stimolo monofasico tende ad essere unilaterale, invece quella ad uno stimolo multifasico può essere bilaterale. Se la

corrente iniziale di un *coil* circolare, posizionato sulla sommità del cranio va in senso orario, allora sarà attivato preferenzialmente l'emisfero sinistro. Cambiando senso alla corrente iniziale attiveremo preferenzialmente l'altro emisfero. I *coil* circolari e larghi producono campi che penetrano molto in profondità e i campi magnetici sono distribuiti attraverso un largo volume di tessuti, cagionando così una stimolazione non focale. *Coil* più piccoli, specialmente quelli "a farfalla", suscitano una stimolazione più focale con l'attivazione dell'area sottostante, ma producono un campo magnetico relativamente più debole e meno penetrante. In entrambi i casi, comunque, lo stimolo rimane confinato all'interno della corteccia cerebrale e non è fisicamente in grado di raggiungere, con le tecnologie attuali, le strutture sottocorticali (Figura 1.9).

Un ulteriore studio ha dimostrato che, qualunque sia la forma del *coil*, il campo elettrico indotto è massimale nei pressi dei suoi bordi e decresce verso il centro.

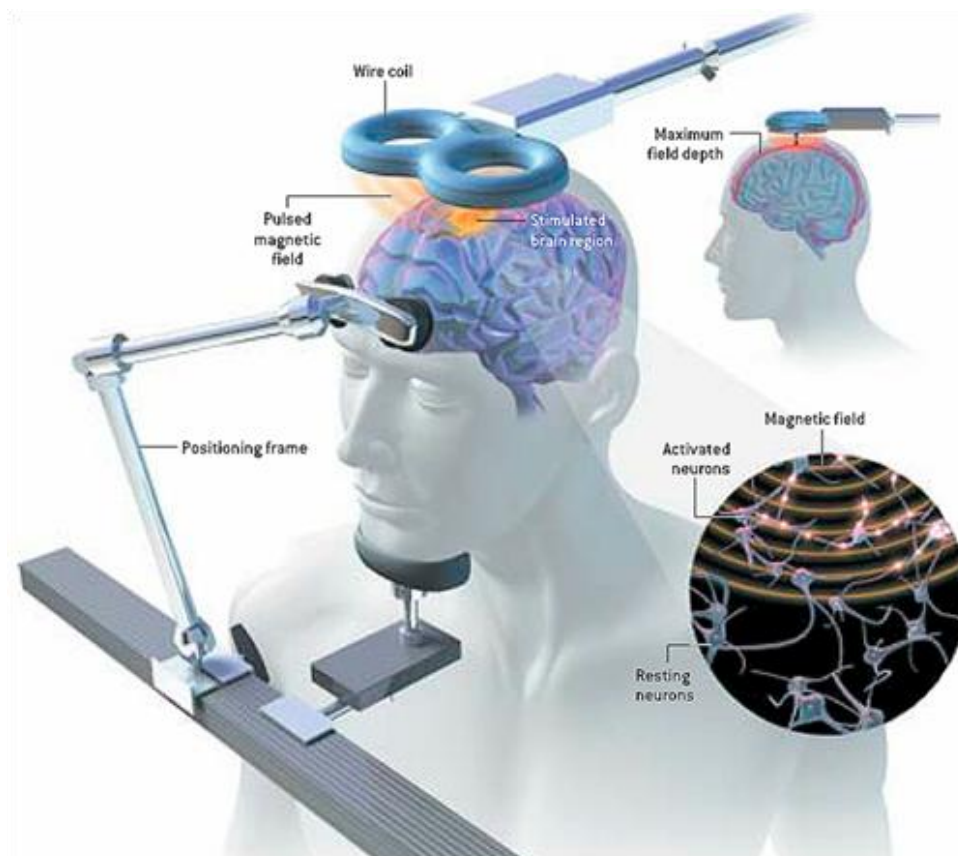


Figura 1.9: Rappresentazione del campo magnetico generato dalla TMS con un coil "a farfalla".

E' conosciuta invece come TMS ripetitiva (rTMS) l'applicazione di un treno di impulsi della stessa intensità ad una singola area cerebrale e ad una data frequenza, compresa in un range da 1 a 20 Hz o più stimoli al secondo [2]. Più la frequenza e l'intensità di stimolazione sono alte, maggiore è l'interruzione delle funzioni corticali durante il treno di stimoli. Comunque, dopo tali effetti immediati durante il treno della TMS stessa, la stimolazione ripetitiva può anche indurre una modulazione dell'eccitabilità corticale. Gli effetti possono andare dall'inibizione alla facilitazione ciò dipende dalle variabili di stimolazione (in particolare dalla frequenza di stimolazione). Basse frequenze di rTMS, intorno ad 1 Hz, possono sopprimere l'eccitabilità della corteccia motoria, mentre stimolazioni a 20 Hz sembrano condurre ad un temporaneo incremento nell'eccitabilità corticale. Mentre questi effetti variano fra i diversi individui, l'effetto a bassa frequenza della rTMS è robusto e duraturo, e può essere applicato alla corteccia motoria e ad altre regioni corticali per lo studio delle relazioni comportamentali del cervello.

1.3 Coregistrazione EEG-TMS

Inizialmente le applicazioni della TMS si sono limitate alla stimolazione della corteccia motoria osservando solo gli effetti riflessi nell'attività muscolare. Successivamente, invece, la TMS è stata combinata con altre metodiche [3]. La combinazione sincronizzata di imaging funzionale e TMS focale mette il ricercatore in grado di stimolare circuiti cerebrali mentre simultaneamente vengono monitorati i cambiamenti nell'attività cerebrale stessa. Tale approccio simultaneo permette di investigare le risposte locali alla TMS ad un livello neurofisiologico, in modo da determinare dal vivo le aree cerebrali che sono affette dalla stimolazione magnetica direttamente o trans-sinapticamente. La TMS è stata applicata simultaneamente con i seguenti metodi di imaging funzionale: la PET (*Positron Emission Tomography*), la SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography*), EEG e fMRI (*functional Magnetic Resonance Imaging*). I diversi approcci per combinare la TMS e le metodiche di imaging funzionale possono essere catalogati in accordo con l'ordine temporale dei metodi. L'imaging funzionale può essere applicato prima, durante, dopo, o sia prima che dopo la stimolazione magnetica. L'imaging funzionale prima della TMS può

essere usato per localizzare con precisione le aree corticali di attivazione durante la performance di alcuni *task* e così ottimizzare l'esatto posizionamento del *coil* per la TMS nell'area identificata. Questo approccio metodologico consente l'indagine sperimentale della rilevanza funzionale di una attivazione cerebrale locale per l'esecuzione di un determinato compito: questo avviene interrompendo transitoriamente l'area corticale identificata e successivamente misurando l'effetto comportamentale di questa lesione funzionale momentanea indotta dalla TMS. L'imaging funzionale durante la TMS è capace di registrare gli effetti attuali della TMS sull'attività corticale, rivelando dal vivo informazioni circa le regioni corticali di eccitabilità, come le connettività funzionali intracerebrali delle aree stimulate. L'imaging funzionale dopo la TMS può essere usato per l'indagine del possibile effetto funzionale a lungo termine della TMS sull'attivazione del cervello, conducendo a conoscenze profonde empiriche riguardo alla plasticità corticale funzionale. La TMS combinata con tecniche di imaging funzionale, dunque, consente un più preciso posizionamento e centramento del *coil* e fornisce informazioni sulla distribuzione del campo magnetico all'interno della corteccia in ambito fisiologico.

La TMS combinata con la registrazione contemporanea dell'EEG permette di ottenere informazioni dirette circa l'eccitabilità e la connettività corticale e permette anche di dedurre le relative reattività per specifiche aree corticali. Inoltre tale tecnica fornisce ai ricercatori un modo unico per testare ipotesi sulle connettività funzionali come riorganizzazione e plasticità neuronale. La coregistrazione di EEG e TMS può essere, quindi, un metodo complementare per la valutazione degli effetti corticali della TMS, essendo il solo metodo che permette di misurare direttamente cosa induce la TMS nell'attivazione neuronale con una risoluzione temporale nell'ordine dei millisecondi. Le variazioni di flusso cerebrale, infatti, avvengono con tempi estremamente più lunghi [4, 5].

Poter misurare l'attività cerebrale negli istanti immediatamente successivi ad un singolo impulso o dopo la rTMS potrebbe essere un importante strumento per investigare connettività corticali e l'eccitabilità in cervelli umani sani o affetti da disturbi. Per esempio, potrebbe rendere in grado di esplorare possibili modifiche della connettività e/o eccitabilità in relazione al moto, all'apprendimento sensoriale, alla riorganizzazione del cervello a seguito di lesioni, alle possibili anomalie di connettività in pazienti schizofrenici e ai normali sviluppi di connessioni nell'infanzia e nell'adolescenza. Il

limite delle analisi dell'EEG è dovuto al fatto che negli istanti in cui si verifica la TMS questa induce artefatti nell'EEG stesso.

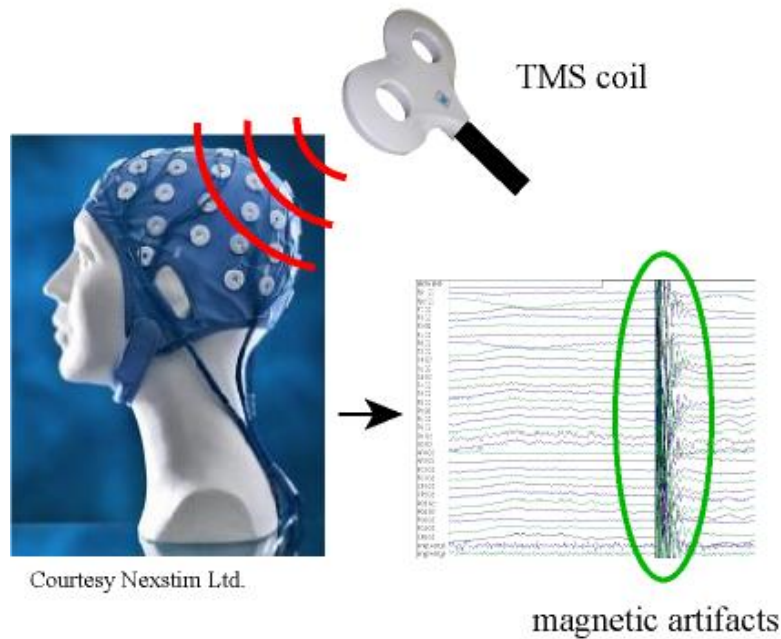


Figura 1.10: Artefatto indotto dalla TMS nell'EEG.

Per artefatto si intende un qualsiasi potenziale non di origine cerebrale che, sovrapponendosi al normale tracciato EEG, modifica, distorce o annulla l'attività elettrica cerebrale. Spesso gli artefatti sono talmente evidenti da essere facilmente identificabili, altre volte possono simulare un'attività elettroencefalografica anomala che può portare a giudizi erranei. In generale, i principali artefatti elettroencefalografici si distinguono in artefatti fisiologici (generati da movimenti oculari o delle palpebre, da attività cardiovascolare, da attività muscolare, da attività elettrodermica, da movimento) e artefatti da apparato ed ambiente di registrazione (generati da cattivo contatto cute-elettrodo, da cattivo contatto elettrodo-morsetto, da interferenze elettriche esterne). Gli artefatti legati alla realizzazione dell'EEG/TMS sono di quest'ultimo tipo. La TMS induce artefatti dovuti all'alto voltaggio del quale ne risentono anche gli elettrodi (Fig. 1.10).

Il primo problema causato dalla TMS è dovuto al fatto che l'alto voltaggio indotto da quest'ultima manda in saturazione gli amplificatori dell'elettroencefalografo per cui, per alcune decine di millisecondi, non è più in grado di acquisire attività cerebrali;

anche usando amplificatori progettati per essere usati all'interno della risonanza magnetica, che non vanno in saturazione poiché hanno l'uscita con un range piccolo superiore all'ampiezza del segnale complessivo acquisito (EEG e potenziale indotto dalla risonanza), il tracciato risultante sarà corrotto dall'artefatto.

Per prevenire la saturazione degli amplificatori dell'EEG è stato progettato un circuito "*sample-and-hold*" che tiene l'uscita degli amplificatori ad un livello costante durante l'impulso. Gli amplificatori vengono ripristinati dopo alcuni millisecondi.

Un altro metodo invece disattiva proprio gli amplificatori per circa 10 ms dal verificarsi dell'impulso. Questi metodi, oltre ad essere molto costosi per via dei loro circuiti, tagliano la parte di tracciato acquisito durante l'impulso [6, 7].

Negli ultimi anni si è poi approfondito un approccio di tipo *off-line* in cui gli artefatti sono rimossi solo dopo la completa acquisizione.

Nei lavori [8] e [9], per esempio, gli autori propongono di rimuovere l'artefatto semplicemente sottraendo l'artefatto medio. Questa strategia è buona per rimuovere gli artefatti fisiologici ma quelli elettrici residui non vengono completamente eliminati.

Nell'articolo di Morbidi et al. [10] viene proposto come metodo offline un filtro di Kalman per rimuovere l'artefatto della TMS. Tale filtro è applicato a sistemi lineari ottenuti dalla combinazione di modelli dinamici, identificati dai dati, che descrivono la generazione dei segnali EEG e TMS. Questo tipo di approccio garantisce l'eliminazione dell'artefatto preservando l'integrità del segnale EEG nelle vicinanze degli impulsi della TMS.

2. DATI E PROTOCOLLI

In questo lavoro si sono analizzati i dati di 2 gruppi di soggetti acquisiti utilizzando protocolli e strumentazioni differenti. All'interno di ciascun gruppo ogni soggetto è stato sottoposto ai medesimi protocolli di stimolazione TMS ed alla contemporanea registrazione EEG. Tutti i volontari erano nelle condizioni di poter chiedere in qualsiasi momento di sospendere la seduta.

Nel primo gruppo sono stati analizzati 5 soggetti (4 uomini e 1 donna) con un'età media di 25.7 anni (deviazione standard (SD)=4.2 anni). Il segnale EEG è stato acquisito con strumentazione Micromed (Treviso, Italia), tramite una cuffia precablata a 30 elettrodi secondo il sistema 10-20, più due elettrodi addizionali per la rilevazione del segnale elettromiografico (EMG) ed elettrocardiografico (ECG). I segnali sono stati registrati con una frequenza di campionamento di 1024 Hz e filtrati già in fase di acquisizione tramite filtri analogici passabanda anti-aliasing (0.15-269.5 Hz).

Il secondo gruppo è composto da 6 soggetti (3 donne e 3 uomini) con un'età media di 28.6 anni (SD=4.7 anni). Il segnale è stato acquisito con strumentazione BrainAmp 32MRplus (Monaco, Germania). L'attività cerebrale è stata monitorata in modo continuo utilizzando una cuffia precablata con 30 elettrodi posizionati secondo il sistema internazionale 10-20; due elettrodi addizionali sono stati utilizzati come terra (Az) e referenza (AFz) seguendo la procedura sviluppata nel lavoro [11] da Gonçalves. Il segnale, acquisito a una frequenza di 5000 Hz, è stato filtrato con un filtro passabanda a 0.1-500 Hz. La frequenza di campionamento è stata di 250 Hz per il soggetto 11 nella fase di veglia e per il soggetto 6 nella privazione di sonno e nel sonno. Per entrambi i gruppi di soggetti la stimolazione magnetica transcranica è stata eseguita tramite un Magstim Rapid Stimulator distribuito dalla Magstim Company Ltd (Londra, Gran Bretagna) che eroga un impulso bifasico generando un campo magnetico massimo di 1.5 T (Figura 2.1). In tutti i soggetti la registrazione dell'EEG è stata fatta prima, durante e dopo ogni stimolo TMS utilizzando il metodo di coregistrazione EEG-TMS suggerito nel lavoro di Manganotti del 2006 [12].



Figura 2.1: Apparecchiatura presente nel laboratorio e utilizzata per la TMS. Sono chiaramente visibili l'unità centrale (in alto) a cui è collegato il coil focale a forma di "8" e i booster situati all'interno del carrello che agiscono da condensatori. Tramite l'unità centrale è possibile selezionare il tipo e l'intensità di ogni stimolo.

2.1 Protocollo con tempo di interstimolazione elevato (8-10 s)

Dopo aver informato il soggetto riguardo l'intero esperimento, lo si fa accomodare su di una poltrona confortevole, dove rimarrà per tutta la seduta. Per l'acquisizione del segnale EEG viene montata una cuffia a 30 canali sul capo del volontario insieme a due coppie di elettrodi, una posta sul torace per la registrazione del segnale ECG e l'altra sopra il ventre del muscolo anductor pollicis brevis (APB) della mano destra per rilevare il segnale EMG. La cuffia utilizzata segue lo schema internazionale 10-20 e il suo posizionamento sul capo del soggetto richiede alcuni istanti in cui l'operatore deve curarsi di posizionare l'elettrodo Cz a metà dei segmenti che, percorrendo la superficie esterna del cranio, congiungono rispettivamente il Nasion con l'Inion e il punto preauricolare destro con il sinistro, i quali rappresentano punti di repere anatomico (vedi paragrafo 1.2.1).

Un'altra procedura molto delicata riguarda la rilevazione delle impedenze a livello dei singoli elettrodi che è eseguita con il software Brain-Quick System Plus fornito dalla Micromed con il quale è possibile conoscere su quali elettrodi operare con ulteriore pasta conduttiva atta, per l'appunto, all'abbassamento dell'impedenza. Allo stesso modo è opportuno utilizzare della pasta conduttiva da frapporre tra elettrodo e superficie corporea per le due coppie di elettrodi poste sul torace e sul ventre della mano previa pulizia della pelle: è infatti importante lavare la pelle in modo da asportare ogni residuo di sudore, frammenti di derma morto così come particelle di grasso e altre impurità [13, 14].

La fase di acquisizione di ogni seduta sperimentale inizia con la registrazione del tracciato basale: il soggetto rimane seduto e con gli occhi aperti per 5 minuti durante i quali viene rilevato il segnale EEG.

La stimolazione è preceduta da una fase altrettanto importante in cui viene definita la soglia motoria del soggetto. La prima fase consiste nella definizione dell'hot spot sopra l'emisfero sinistro, ossia il punto su cui stimolare e dove è necessaria l'intensità di stimolo minore per indurre un potenziale evocato motorio (PEM) a livello periferico. Una volta individuato l'hot spot si passa all'identificazione della soglia motoria, definita come l'intensità di stimolazione tramite TMS che genera almeno 5 PEM con ampiezza picco-picco di 50 μ V su 10 stimolazioni. Come già accennato, l'intensità di stimolazione viene definita come percentuale dello stimolo massimo erogabile dalla strumentazione TMS: la soglia media tra i soggetti è stata di 78.4% (SD=11.86).

La registrazione consiste in 35-40 stimolazioni al 110% della soglia motoria sopra l'area M1 sinistra, intervallate da 8-10 secondi secondo la volontà dell'operatore (Tabella 2.1).

2.2 Protocollo con tempo di interstimolazione breve (0.8-3 s)

Prima di eseguire l'analisi è stato richiesto ai soggetti di dormire regolarmente per almeno cinque giorni. La registrazione in questo gruppo di soggetti ha previsto tre fasi

corrispondenti a tre diverse condizioni per ogni soggetto: veglia, privazione di sonno e sonno. La prima acquisizione in stato di veglia è effettuata tra le ore 13 e 15, la seconda in privazione di sonno è eseguita nella stessa fascia oraria dopo una privazione parziale di sonno. Per quest'ultima fase è stato richiesto ai soggetti di svegliarsi alle 3 del mattino e di rimanere svegli fino al momento della registrazione evitando di assumere sostanze eccitanti come caffè, cola e nicotina. La terza acquisizione nello stato di sonno è registrata in seguito alla seconda fase.

Durante la coregistrazione in veglia e in stato di privazione parziale di sonno, tutti gli individui sono fatti accomodare su una poltrona con i gomiti semiflessi, gli avambracci in posizione prona completamente rilassati e sostenuti dai braccioli della poltrona. Ai soggetti è chiesto di indossare dei tappi auricolari, per evitare gli artefatti da stimolo uditivo, e di tenere gli occhi aperti. La registrazione in sonno è eseguita con i soggetti sdraiati a letto, in una stanza di laboratorio; il capo viene appoggiato su di un cuscino di gommapiuma sagomato *ad hoc* per permettere il corretto posizionamento del coil sullo scalpo.

Per stimolare in modo focale la corteccia è utilizzato, lo stesso coil a forma di "8" del primo gruppo. Il coil è adagiato in tutti i soggetti sopra la posizione dello scalpo in cui si raggiunge il più alto PEM, approssimativamente tra gli elettrodi C3 e P3 con l'impugnatura ruotata di circa 45° in direzione antero-posteriore. Tale posizionamento del coil fa sì che la direzione delle correnti indotte nella corteccia sia antero-posteriore. La posizione del coil è mantenuta costante rispetto al cranio utilizzando una cuffia sulla quale è impresso il sito di stimolazione.

L'intensità dello stimolo viene settata al 110% dell'intensità della soglia motoria, definita come l'intensità di stimolazione più bassa capace di indurre almeno 5 PEM con ampiezza picco-picco di 50 μ V su 10 stimolazioni [15].

Gli stimoli della TMS sono stati scaricati casualmente con un intervallo minimo di 0.8 secondi e massimo di 3 secondi. Durante le fasi di veglia e privazione di sonno sono somministrati circa 150 stimoli, mentre durante il sonno la stimolazione è stata continuata per la sua intera durata (Tabella 2.1).

	Primo gruppo	Secondo gruppo
Numero di Stimoli	35-40 stimoli	> 150 stimoli
Tempo di inter-stimolo	8-10 s	0.8-3 s
Sampling rate	1024 Hz	5000 Hz
Fasi analizzate	veglia	veglia, privazione di sonno e sonno

Tabella 2.1: Riepilogo delle caratteristiche più importanti dei due gruppi di soggetti analizzati.

3. METODI PER L'ANALISI TEMPO-FREQUENZA

In questo capitolo ci si sofferma brevemente sui concetti teorici di base affrontati in questo studio ed impiegati in un secondo momento nell'analisi dei dati decritti nel capitolo precedente. In particolare si discute la motivazione che ci ha spinto ad applicare la trasformata wavelet tempo frequenza e ad affrontare uno studio della potenza spettrale e della coerenza tempo-frequenza.

Lo strumento, posto per eccellenza alla base dello studio del segnale, è l'analisi di Fourier; questa tecnica, sviluppata da J. Fourier nel primo ventennio dell'800, consente di studiare un segnale lineare nel dominio della frequenza, diverso dal suo dominio naturale, il tempo [16].

Tuttavia la trasformata di Fourier, oltre a trattare efficientemente solo problemi lineari, nasconde l'informazione relativa al tempo, così come un segnale nel dominio del tempo, nasconde l'informazione in frequenza che porta con sé.

Gli sforzi mirati a superare tali limiti, hanno portato D. Gabor, nel 1946, alla definizione della *Short Time Fourier Transform* (STFT); questa tecnica consente, attraverso la moltiplicazione del segnale con una funzione "finestra" dal supporto compatto, di considerarlo lineare a tratti, permettendo così anche l'analisi di segnali non lineari e di ottenere una rappresentazione del segnale contemporaneamente nel tempo e in frequenza.

Anche questo tipo di approccio possiede tuttavia una limitazione importante: una volta fissata la "finestra", sia la risoluzione temporale sia quella in frequenza rimangono fisse per tutto il corso dell'analisi, precludendo così la possibilità di modificarle durante l'analisi; inoltre, a causa del Principio di Indeterminazione, una migliore risoluzione temporale fa diminuire quella in frequenza e viceversa. L'analisi wavelet, utilizzata in questo lavoro, nasce in risposta ai limiti che caratterizzano i due tipi di analisi fin qui discussi (Figura 3.1).

Dagli inizi del 1900 si sono susseguiti nel tempo diversi approcci al superamento di queste limitazioni fino ad arrivare al 1975, data che può essere presa come indicativa della nascita dell'analisi wavelet. Morlet J., diversamente da quanto fatto nella STFT

(dove viene tenuta fissa l'ampiezza delle oscillazioni di diversa frequenza), blocca il numero di oscillazioni nella funzione, cambiando invece l'ampiezza attraverso compressioni e allungamenti.

A partire dal 1986 Mallat S. dà un contributo molto importante allo sviluppo di tale analisi formalizzando la teoria wavelet e delineando, in modo particolare, la sua naturale estensione al caso discreto. Fu così enunciata la “Teoria dell’analisi multirisoluzione”.

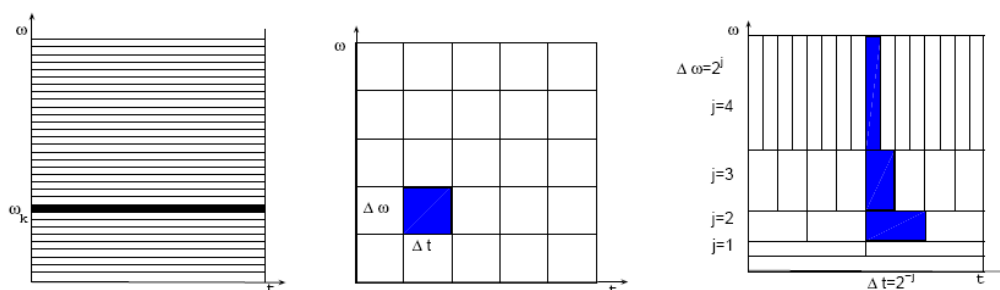


Figura 3.1: Esempio di risoluzione utilizzata nello studio in frequenza. Il piano tempo-frequenza utilizzato per le armoniche elementari dell’analisi di Fourier (sinistra), per le armoniche elementari localizzate delle STFT (centro) e per le wavelets (destra).

L’algoritmo wavelet è considerato, ad oggi, oggetto di grande interesse e le sue molteplici caratteristiche lo rendono duttile e funzionale in diverse discipline tra cui lo studio delle correnti oceaniche, lo studio degli elettrocardiogrammi ad alta risoluzione, in campo astronomico ed anche nelle tecniche di compressione e di riduzione del rumore in un segnale.

3.1 Trasformata wavelet per l’analisi spettrale tempo-frequenza

La STFT definita nel seguente modo:

$$STFT_x(\tau, f) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t)g(t - \tau)e^{-j2\pi ft} dt \quad (3.1)$$

risulta essere una tecnica di analisi a risoluzione fissa, caratteristica che può però costituire una limitazione. La causa di tale limitazione è intrinseca nella presenza della

funzione finestra $g(t)$ a supporto e a banda limitata, che viene modulata con $e^{i2\pi ft}$ e moltiplicata scalarmente con il segnale $x(t)$. Per ottenere un'analisi a risoluzione variabile le risoluzioni relative $\Delta t/t$ e $\Delta f/f$ devono rimanere costanti e questo richiede che all'aumentare della frequenza f aumenti in modo proporzionale la banda Δf . A tale riguardo viene in aiuto una proprietà fondamentale della trasformata di Fourier: comprimendo nel tempo una funzione si ottiene una espansione in frequenza del suo spettro, e viceversa:

$$F \left\{ x \left(\frac{t}{a} \right) \right\} = |a| X(af) \quad (3.2)$$

dove il parametro a è una costante attraverso la quale viene compresso il tempo ed aumentata la frequenza per $a > 1$ e viceversa per $a < 1$.

Da questa considerazione nasce l'idea di sostituire l'operazione di modulazione con l'operazione di scalamento, ovvero anziché moltiplicare il segnale per la finestra $g(t)$ ad ampiezza temporale costante si esegue direttamente il prodotto con lo scalare con scalamenti e traslazioni di un unico prototipo.

Quello che si ottiene prende il nome di trasformata wavelet continua (CWT):

$$CWT_x(a, b) = C_x(a, b) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \psi_{ab}^*(t) dt \quad (3.3)$$

con $\psi_{ab}(t) = \frac{1}{\sqrt{|a|}} \psi \left(\frac{t-b}{a} \right)$, dove la funzione $\psi_{ab}(t)$ prende il nome di wavelet madre; a è il parametro di scalamento, b è il parametro di traslazione. La denominazione wavelet deriva dal fatto che, graficamente, la wavelet madre è una funzione che oscilla e si smorza come una piccola onda.

Nella definizione dei coefficienti wavelet C_x (Equazione 3.3) si nota come sia lasciata piena libertà nella scelta della funzione madre. Questi coefficienti rappresentano il grado di correlazione tra il segnale $x(t)$ e la wavelet madre $\psi_{ab}(t)$ per cui chi effettua l'analisi può scegliere la funzione madre che meglio rappresenta le componenti che si vogliono rilevare. Le uniche condizioni da rispettare in questa decisione sono che la funzione sia a energia finita e che realizzi un filtro passa-banda.

Nel caso di segnali EEG, in cui il concetto di frequenza è di primaria importanza, è utile considerare una famiglia di funzioni ben caratterizzate in frequenza. In questo lavoro si è scelto di utilizzare una funzione con andamento gaussiano sia nel dominio

delle frequenze (con $SD = \sigma_f$), che nel dominio del tempo (con $SD = \sigma_t$) [17, 18]; denominata wavelet Morlet complessa e avente la seguente espressione:

$$w(t, f_0) = A e^{\left(\frac{-t^2}{2\sigma_t^2}\right)} e^{2\pi i f_0 t} \quad \text{con} \quad \sigma_f = \frac{1}{2\pi\sigma_t} \quad (3.4)$$

dove f_0 è la sua frequenza centrale e il fattore di normalizzazione A è introdotto per avere wavelet con energia totale unitaria. A tal scopo si pone

$$A = \frac{1}{\sqrt{\sigma_t\sqrt{\pi}}} \quad (3.5)$$

I due parametri σ_t e σ_f esprimono la dispersione della Morlet nei due domini [19] e la scelta del loro valore è quindi di primaria importanza. Si è quindi introdotto il parametro *osc* che indica il numero di oscillazioni della wavelet ed è così espresso:

$$osc = \frac{f_0}{\sigma_f} \quad (3.6)$$

dove f_0 è la frequenza centrale mentre σ_f è la SD nel dominio delle frequenze. Tale parametro è un numero reale e positivo.

E' ora possibile definire il “*wavelet power spectrum*” come il quadrato del modulo dei coefficienti wavelet:

$$P_x(a, b) = |C_x(a, b)|^2 \quad (3.7)$$

Si può osservare un esempio di analisi tempo-frequenza nella figura 3.3 dove è presente un segmento di 5 secondi relativo all'elettrodo C3, situato con buona approssimazione sopra l'area motoria primaria dell'emisfero di sinistra. In questo caso si è focalizzata l'attenzione sulla banda 6-12 Hz e già una lettura preliminare consente di rilevare la presenza di picchi di attività intorno agli 1.3 e 3.8 secondi centrate intorno ai 9 Hz. Osservando il grafico è possibile apprezzare la qualità e la facilità di interpretazione insite nell'analisi tempo-frequenza: è possibile rilevare la presenza o l'assenza dei picchi di attività e in caso positivo collocare questi eventi nei due domini. Nello sviluppo dei codici Matlab che hanno permesso l'analisi, sono state prese in considerazione le simulazioni effettuate dallo studente De Massari nella sua tesi di laurea [20]. Per cui si è affrontato il problema dell' “effetto bordo”, dovuto al fatto che la CWT continua permette l'analisi di segnali di lunghezza infinita mentre il segnale EEG ha a disposizione un numero finito di campioni; per cui questo troncamento del segnale provoca nei risultati dei disturbi nel bordo della finestra di analisi.

Per risolvere tale artefatto, come suggerito dallo stesso De Massari, si è sfruttata la funzione *padarray* di Matlab che consente di estendere il segnale dato in ingresso scegliendo una particolare modalità. Nel nostro caso si è utilizzato il metodo “*replicate*” che nelle simulazioni di De Massari ha dato il risultato migliore.

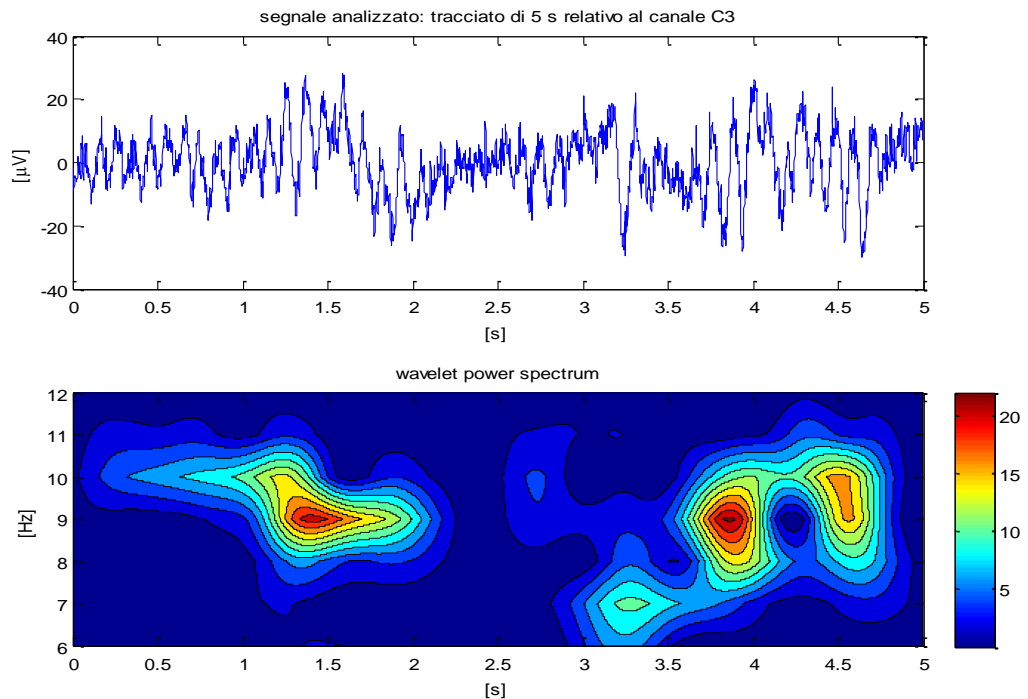


Figura 3.3: Esempio di 5 secondi di segnale registrato dall’elettrodo C3 del terzo soggetto (1) e del corrispettivo spettro di potenza wavelet (2).

3.2 Analisi di coerenza

Lo studio della coerenza è importante per valutare la mutua relazione dei segnali provenienti da due diversi elettrodi e permette di capire se le due aree della corteccia cerebrale analizzate sono funzionalmente correlate. La coerenza C_{xy}^2 è una funzione reale che normalizza il modulo al quadrato dello spettro incrociato P_{xy} tra due processi rispetto agli spettri dei due processi P_x e P_y :

$$C_{xy}^2(\omega) = \frac{|P_{xy}(\omega)|^2}{P_x(\omega) \cdot P_y(\omega)} \quad (3.8)$$

dove gli autospettri P_x e P_y sono le trasformate di Fourier della funzione di autocorrelazione rispettivamente di $x(t)$ e di $y(t)$, mentre P_{xy} è la trasformata di Fourier della funzione di cross-correlazione di $x(t)$ e $y(t)$, detto anche cross-spettro. Se i processi sono indipendenti e a media nulla la coerenza è nulla, mentre assume valore 1 nel caso di processi coincidenti.

3.2.1 Coerenza tempo-frequenza

La scelta di ricorrere all'utilizzo della coerenza tempo-frequenza, rispetto alla coerenza di tipo tradizionale, è dovuta alle caratteristiche del segnale EEG analizzato. Esso, infatti, non rispetta l'ipotesi di stazionarietà nelle immediate vicinanze degli impulsi magnetici dovuti alla TMS. Per cui, nel caso dei protocolli multi-trials eseguiti in questo lavoro, la stazionarietà del segnale nel tempo è stata sostituita dall'ipotesi di stazionarietà tra i trial. Questo metodo si basa dunque sull'assunzione che ogni stimolo provochi sempre la stessa risposta sullo spettro dei processi neuronali.

In letteratura si trovano diversi metodi per studiare la coerenza tempo-frequenza, nel nostro caso si è voluto seguire il lavoro di Zhan et al. secondo cui gli autospettri e i cross-spettri sono calcolati nel dominio tempo-frequenza a partire dai coefficienti wavelet attraverso le seguenti equazioni:

$$P_x(\tau, \omega) = X(\tau, \omega)X^*(\tau, \omega) = |X(\tau, \omega)|^2 \quad (3.9)$$

$$P_y(\tau, \omega) = Y(\tau, \omega)Y^*(\tau, \omega) = |Y(\tau, \omega)|^2 \quad (3.10)$$

$$P_{xy}(\tau, \omega) = X(\tau, \omega)Y^*(\tau, \omega) \quad (3.11)$$

dove P_x e P_y sono gli auto spettri tempo-frequenza rispettivamente del segnale $x(t)$ e del segnale $y(t)$, mentre P_{xy} è il loro cross-spettro tempo-frequenza. In queste formule i coefficienti wavelet sono indicati con le scritture $X(\tau, \omega)$ e $Y(\tau, \omega)$. [21].

Per la *wavelet coherence*, sempre secondo Zhan et al., si propone una stima basata sulla media tra i trial per cui la coerenza tempo-frequenza risulta così definita:

$$\hat{C}_{xy}^2(\tau, \omega) = \frac{|\hat{P}_{xy}(\tau, \omega)|^2}{\hat{P}_x(\tau, \omega) \cdot \hat{P}_y(\tau, \omega)} \quad (3.12)$$

dove gli auto spettri e i cross-spettri tempo-frequenza sono calcolati per ogni trial e successivamente si calcola la media tra le N registrazioni rappresentanti lo stesso evento:

$$\hat{P}_x(\tau, \omega) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |X_n(\tau, \omega)|^2 \quad (3.13)$$

$$\hat{P}_y(\tau, \omega) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |Y_n(\tau, \omega)|^2 \quad (3.14)$$

$$\hat{P}_{xy}(\tau, \omega) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |X_n(\tau, \omega) Y_n^*(\tau, \omega)|^2 \quad (3.15)$$

Nella Figura 3.4 si possono osservare due esempi di applicazione della coerenza tempo-frequenza applicata in questo studio.

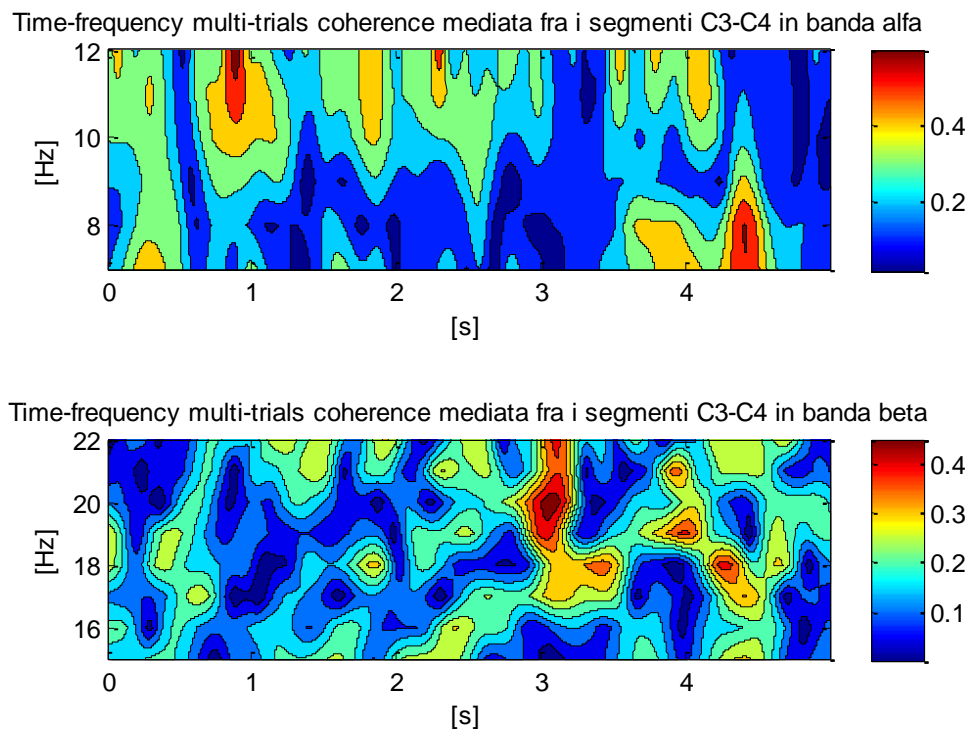


Figura 3.4: Due esempi di coerenza tempo-frequenza utilizzata nel presente studio. Si tratta della coerenza tra le coppie di elettrodi C3-C4 per il soggetto 3, si considerano la banda alfa 7-12 Hz (in alto) e la banda beta 15-22 Hz (in basso).

4. IMPLEMENTAZIONE

In questo capitolo verranno illustrati i passaggi relativi all'implementazione delle tecniche di elaborazione discusse nel terzo capitolo, approfondendo le scelte sostenute e i vari passaggi effettuati nel corso del lavoro.

4.1 Pre-processing

Nel lavoro che anticipa l'elaborazione vera è propria è stato necessario operare un filtraggio per eliminare le frequenze che potevano alterare in modo significativo l'analisi di questo studio.

L'operazione di filtraggio consiste nel modificare lo spettro $X(\omega)$ del segnale $x(t)$ mediante una funzione peso $H(\omega)$, ottenendo

$$Y(\omega) = X(\omega)H(\omega) \quad (4.1)$$

Questa operazione di filtraggio non può essere effettuata direttamente, poiché si ha accesso alla rappresentazione temporale del segnale. Essendo

$$X(\omega)H(\omega) \Leftrightarrow x(t) * h(t) \quad (4.2)$$

ne segue che l'operazione di filtraggio in frequenza corrisponde nel dominio del tempo ad un'operazione di convoluzione. Pertanto, per filtrare in frequenza con la funzione peso $X(\omega)$ occorre disporre di un sistema lineare di risposta impulsiva $h(t)$ e far passare in esso il segnale $x(t)$. Si osservi che il filtraggio in frequenza è necessariamente un filtraggio lineare, poiché solo un sistema lineare effettua l'operazione di convoluzione.

Un filtro di frequenza ideale è, per definizione, un filtro che entro la propria "banda passante" soddisfa le condizioni di non distorsione (ha cioè una funzione di trasferimento del tipo $H(\omega) = Ae^{-j\omega t_0}$) e modifica, per esempio annullandole, tutte le armoniche fuori dalla banda. La sua funzione peso $H(\omega)$ ha quindi valore 1 in una certa banda, detta banda passante, e valore 0 nella banda complementare, detta banda oscura.

Nel presente lavoro si sono utilizzati dei filtri FIR (Finite Impulse Response)

caratterizzati da una risposta all'impulso con un numero finito di campioni. Essi si realizzano mediante l'operazione di convoluzione. Cioè, per ogni campione di uscita prodotto viene calcolata una somma pesata di un numero finito di campioni dell'ingresso. Questi tipi di filtro sono stati implementati in Matlab tramite le funzioni *firpmord* e *firpm* che assicurano fase lineare nella banda passante.

Nel caso del segnale EEG si è visto come il rumore principale sia dovuto all'interferenza di rete e sia localizzato ai 50 Hz, inoltre si è notato come la parte utile del segnale sia compresa tra gli 0 e i 30 Hz. Tenendo conto di queste caratteristiche del segnale EEG si è deciso di applicare al segnale di ogni elettrodo un filtro FIR passa-basso con banda passante 0-30 Hz, banda di transizione compresa tra 30 e 40 Hz e con ripple in banda passante e oscura pari rispettivamente a 0.01 e 0.1.

Oltre a questo filtraggio si è eseguita la sottrazione della media dei campioni e l'eliminazione di eventuali trend di fondo dovuti a effetti di deriva, per tale operazione, effettuata prima dell'analisi spettrale, ci si è serviti della funzione *detrend* di Matlab.

Un esempio sia del filtraggio utilizzato che dell'operazione di *detrend* è osservabile nella Figura 4.1.

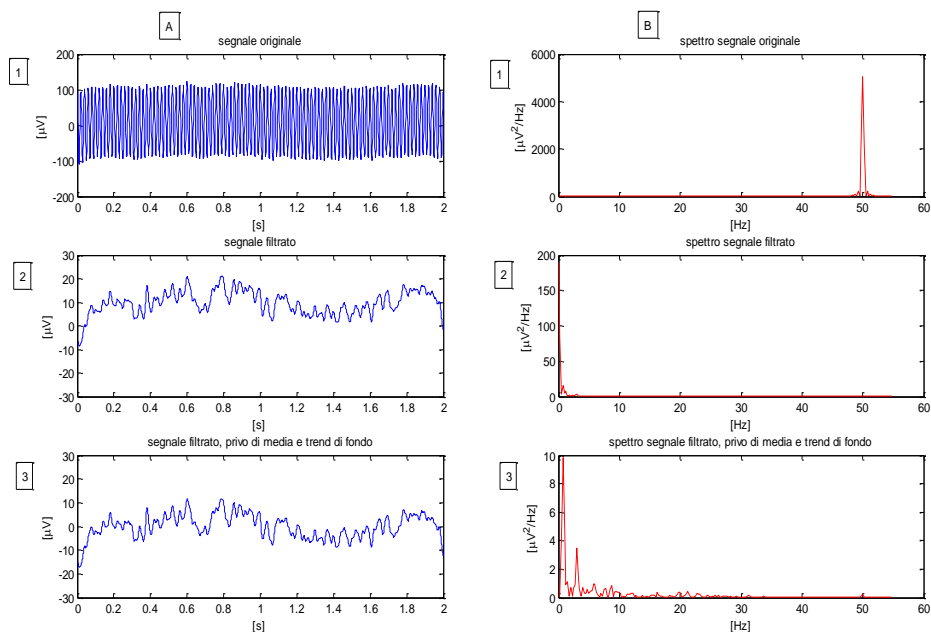


Figura 4.1: Esempi di filtraggio utilizzati in questo lavoro: nella colonna A sono riportati il segnale originale (1), il segnale filtrato tramite un filtro FIR passa-basso (2) e il segnale filtrato privo di media e trend di fondo dopo l'operazione di *detrend* (3). Nella colonna B sono riportati i corrispettivi spettri dei segnali.

All'inizio del lavoro si è posta l'attenzione sui tracciati "grezzi" ricavati dalle registrazioni e importati in Matlab tramite il toolbox gratuito EEGLAB [22].

Anche la semplice importazione dei dati non si è rivelata agevole data l'elevata frequenza di campionamento (5000 Hz) che ha causato un allungamento dei tempi ed alcuni problemi di capacità di memoria della nostra workstation per quanto riguarda i tracciati più estesi come quelli acquisiti nella fase del sonno. Per ridurre l'ingente numero di dati si è ricorso ad un iniziale sottocampionamento (*sampling rate* di 250 Hz).

Una caratteristica, riscontrata dopo la visualizzazione dei tracciati, è stata la notevole durata dell'artefatto da TMS. Essa infatti, solitamente compresa tra i 30 e i 40 ms, nel secondo gruppo di soggetti pare superare i 100 ms come si può ben notare dalla Figura 4.2.

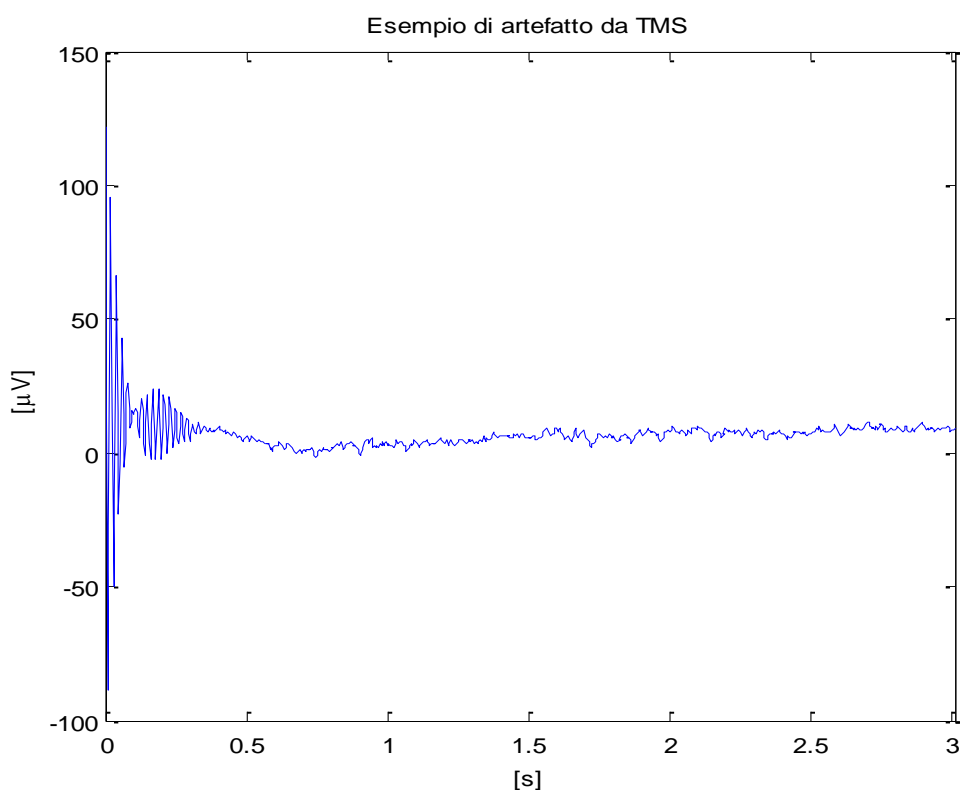


Figura 4.2: Esempio di artefatto da TMS rilevato nel secondo gruppo di soggetti.

Per la successiva analisi si sono considerati come artefatto i primi 130 ms dopo lo stimolo e si è presa come utile la parte rimanente di segnale che precede lo stimolo successivo.

Per entrambi i gruppi di soggetti sono state utilizzate delle epoche della stessa durata per effettuare l'analisi in modo da rendere i risultati confrontabili. Il limite in questo caso è dato dal breve tempo di interstimolo utilizzato nel protocollo del secondo gruppo di soggetti per cui si è deciso di analizzare solo gli intervalli con un tempo di interstimolo maggiore di 2.2 secondi, in modo da ridurre l'analisi ad almeno 2 secondi per ogni intervallo. Per implementare tale operazione è stata creata una funzione in Matlab in grado di selezionare solo questo tipo di intervalli come tracciato EEG utile per l'analisi post-stimolo (Figura 4.3).

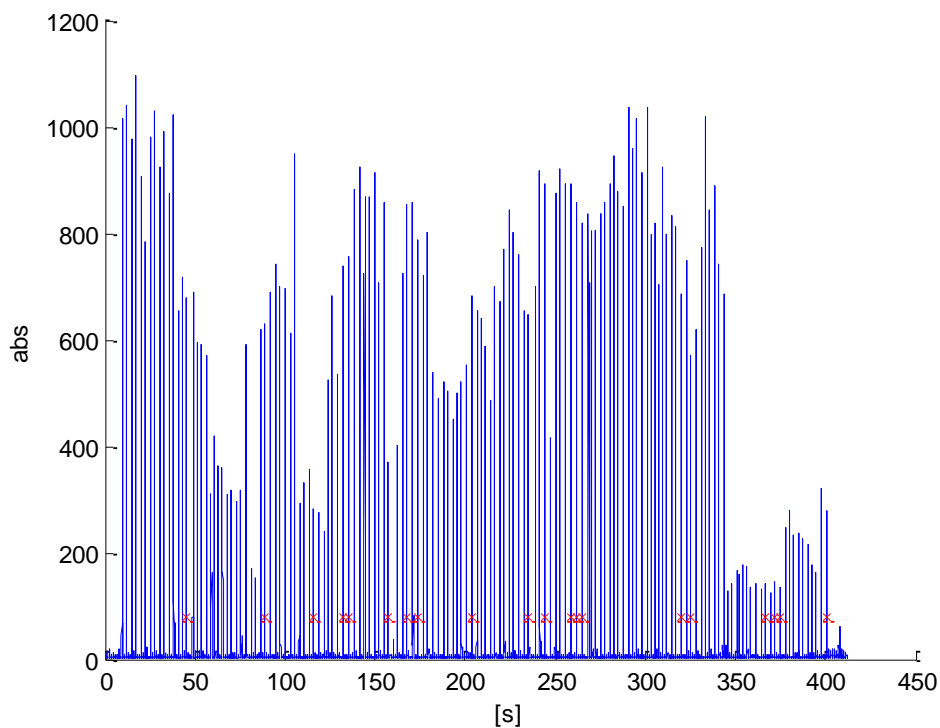


Figura 4.3: Esempio di grafico del modulo della differenza del segnale EEG. In rosso vengono selezionati i marker che rappresentano gli istanti iniziali degli intervalli utili.

Tale funzione, dopo aver fatto il modulo della differenza tra i valori positivi e quelli negativi del segnale EEG, permette di selezionare facilmente gli stimoli della TMS dato che il loro modulo è visivamente più elevato rispetto al tracciato EEG basale.

Per ciascun soggetto si è quindi selezionato visivamente il tracciato basale, in assenza di stimoli, libero da artefatti dovuti al movimento o ad una cattiva adesione cute-elettrodo. Definendo almeno un paio di minuti di tracciato utile per i soggetti del primo gruppo e 7 secondi per quelli del secondo. Questo tracciato è stato suddiviso in

intervalli di 1 secondo e dopo aver calcolato la potenza o la coerenza tempo-frequenza (come spiegato nei capitoli 3.1 e 3.2.1), si è fatta la media tra le varie epoche in modo da creare un riferimento basale con cui confrontare il tracciato post-stimolo nel corso delle diverse analisi.

Sono stati studiati l'andamento temporale della potenza spettrale relativa e la coerenza tempo-frequenza per le bande di frequenza alfa (7-12 Hz), beta (15-22 Hz), delta (1-4 Hz) e theta (4-8 Hz).

Per tali bande si è definito il numero di oscillazioni rappresentato dal parametro *osc* (Equazione 3.8) che ha assunto valore diverso per ogni banda:

- $osc = 12$ per l'analisi in banda alfa (7-12 Hz),
- $osc = 22$ per l'analisi in banda beta (15-22 Hz),
- $osc = 4$ per l'analisi in banda delta (1-4 Hz),
- $osc = 8$ per l'analisi in banda theta (4-8 Hz).

La scelta di adottare la wavelet madre complessa (Equazione 3.6) ha permesso di analizzare sia l'ampiezza che la fase delle varie componenti, risultando adatta al rilevamento dei fenomeni oscillatori.

4.2 Processing

Nello sviluppo delle funzioni in codice Matlab implementate per eseguire l'analisi si sono seguiti due diversi procedimenti a seconda della caratteristica che si voleva approfondire (Potenza o Coerenza tempo-frequenza).

Queste funzioni erano costituite da una parte iniziale comune che comprendeva la parte di pre-processing con il sottocampionamento, l'operazione di *detrend* del segnale e la segmentazione per definire gli intervalli utili per eseguire l'analisi.

Successivamente questi segmenti vengono trascritti nelle matrici che saranno successivamente i parametri di ingresso delle funzioni per il calcolo delle potenze relative e delle coerenze wavelet.

4.2.1 Analisi spettrale tempo-frequenza

Come sviluppo dell'analisi wavelet si è posta l'attenzione sull'evoluzione dello spettro di un segnale e in particolare sull'andamento nel tempo della potenza relativa nei diversi ritmi cerebrali. Con il termine di potenza relativa si intende che la potenza di ogni banda è stata normalizzata rispetto alla potenza totale contenuta nel segnale analizzato compresa, in questo studio, tra 1 e 30 Hz.

Per ogni soggetto si è deciso di considerare solo 9 elettrodi (C3, C4, Cz, F3, F4, Fz, P3, P4 e Pz) ma gli script implementati consentono di riproporre l'analisi per qualsivoglia elettrodo. Per esempio per il soggetto 9 si è dovuto analizzare CP5, (elettrodo più vicino spazialmente a C3) dato che il segnale, proveniente da quest'ultimo, non era analizzabile a causa di artefatti.

Dopo aver selezionato il tracciato basale è stata applicata l'analisi wavelet con la Equazione 3.7 calcolando per ciascun canale la media e la deviazione standard della potenza relativa per ognuna delle bande considerate.

Successivamente, dopo la selezione dei segmenti post-stimolo di almeno 2.2 secondi, si è calcolato, per ognuno di essi, l'andamento temporale della potenza relativa per ogni banda mediando punto per punto l'andamento tra tutti i trial considerati. Il numero di segmenti post-stimolo mediati varia tra i soggetti da un minimo di 50 a un massimo di circa 150 nelle fasi di veglia e di privazione di sonno, mentre diventano circa 500 nel sonno.

Si è quindi visualizzato il grafico di tale andamento riportando, oltre alla potenza relativa di ogni banda nel post-stimolo, anche la media e la deviazione standard del tracciato basale; in modo da evidenziare la differenza tra la condizione di riposo e lo stato attivo. Oltre a questo, come previsto dalla tesi di De Massari [20], si è effettuato un test statistico per valutare se e quando l'andamento medio attivo fosse effettivamente diverso dal valore medio basale. Per far ciò si è implementato un t-test (con $\alpha=5\%$) per poter concludere circa l'effettiva diversità tra le due popolazioni: una rappresentata dai valori medi basali, l'altra dai valori puntuali nel post-stimolo, il tutto preceduto dalla verifica circa la gaussianità delle due popolazioni. In questo modo è stato possibile anche determinare gli istanti di cambiamento, ossia quando le due popolazioni passano dall'essere significativamente diverse alla condizione contraria e viceversa. Un esempio è riportato in Figura 4.4.

Questo tipo di analisi nel secondo gruppo è stato eseguito anche per le fasi di privazione di sonno e sonno, con lo scopo di indagare il diverso comportamento delle varie bande di frequenza analizzate.

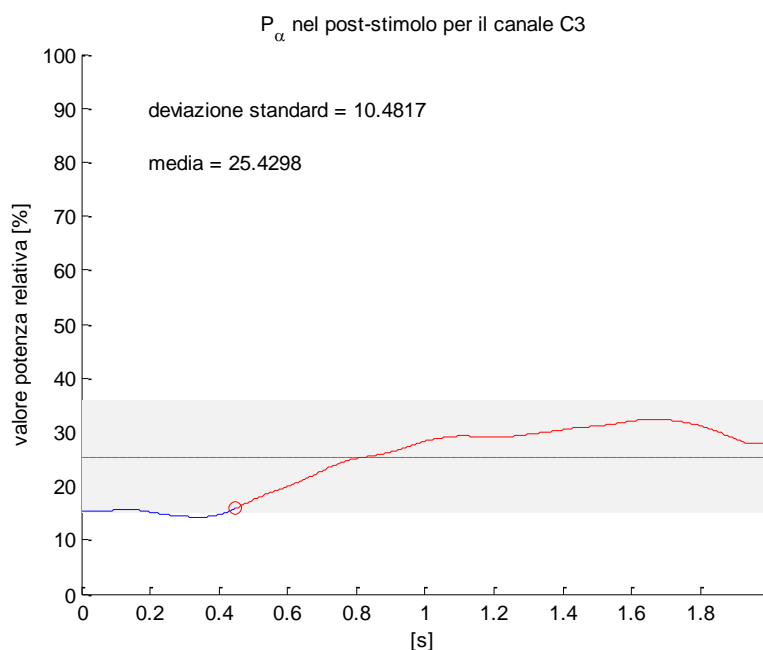


Figura 4.4: Andamento temporale della potenza relativa per il canale C3 del soggetto 7. In blu sono raffigurate le parti statisticamente diverse dal valore basale rappresentato dalla linea rossa tratteggiata. In rosso si trovano le parti che il t-test non considera differenti. La fascia grigia indica la SD del valore basale. Con il cerchio rosso è rappresentato l'istante di cambiamento tra le due condizioni.

4.2.2 Analisi di coerenza tempo-frequenza

Per quanto riguarda l'analisi della coerenza tempo-frequenza si è deciso di studiare il grado di connessione post-stimolo tra l'area motoria ipsilaterale allo stimolo e altre aree della corteccia cerebrale quali l'area motoria controlaterale, le aree frontali, centrali e parietali. Le coppie su cui si è posta l'attenzione sono formate da C3 come primo elettrodo mentre il secondo varia ed è rispettivamente C4, Cz, F3, F4, Fz, P3, P4 e Pz.

Questo tipo di analisi è stata eseguita sui segmenti basali e su quelli post-stimolo già ricavati per lo studio della potenza. Su tali segmenti sono stati stimati i cross-spettri e gli auto spettri medi, utili per il calcolo della coerenza tempo-frequenza (Equazioni 3.13, 3.14 e 3.15).

Anche nel caso della coerenza (Equazione 3.12) si è ritenuto importante comparare l'andamento di tale grandezza nel post-stimolo con l'andamento medio del tracciato privo di stimoli. Tutto è stato raffigurato in grafici dove sono riportati l'andamento della coerenza della coppia di elettrodi in un determinato ritmo cerebrale, il valore medio della coerenza nel tracciato basale e la relativa standard deviation. Un esempio applicativo è osservabile in Figura 4.5.

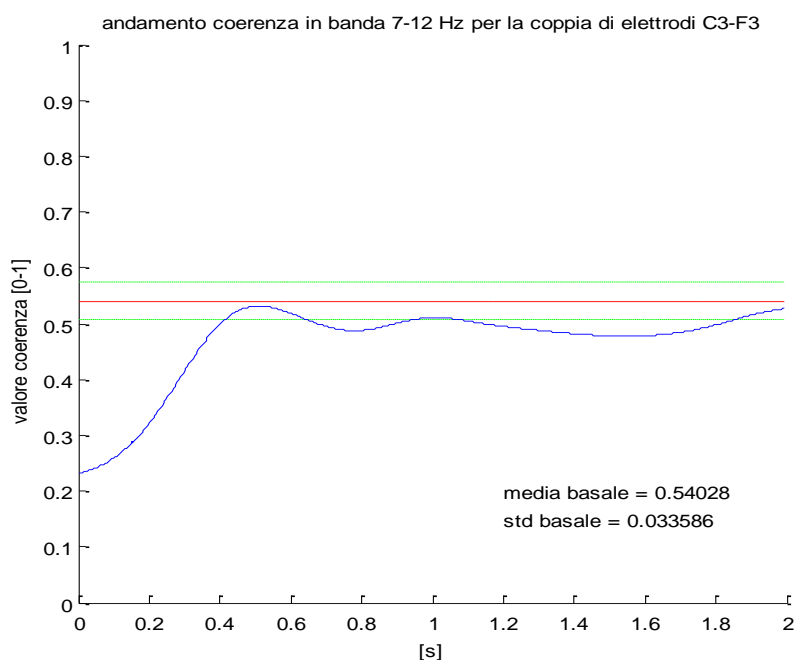


Figura 4.5: Esempio di grafico per l'andamento della coerenza tempo-frequenza nella banda alpha (7-12 Hz) per la coppia di elettrodi C3-F3 del soggetto 11 in privazione di sonno. In rosso è rappresentato il valor medio della coerenza nel tracciato basale mentre in verde la sua SD.

5. RISULTATI

In questo capitolo verranno esposti e discussi dettagliatamente i risultati ottenuti nel corso del lavoro di tesi. Si riportano i grafici riguardanti l'andamento della potenza relativa e della coerenza tempo-frequenza per tutte e 4 le bande di frequenza prese in considerazione, suddividendoli, per quanto riguarda il secondo gruppo di soggetti, nella fase di veglia, privazione di sonno e sonno.

Nei canali di maggior interesse per lo studio si sono analizzate epoche post-stimolo della durata di 2 s. Al fine di rilevare eventuali trend di popolazione si è calcolata la Grand-average, ossia la media inter-soggetto. Si è scelto inoltre di visualizzare anche la media dei tracciati basali di tutti i soggetti, per focalizzare l'attenzione sulla relazione tra i segmenti post-stimolo e quelli in assenza di stimoli.

Per il secondo gruppo di soggetti, per quanto concerne alla fase di veglia, è stato escluso dalla media il soggetto 11 a causa dei risultati completamente diversi dagli altri. Tutti i grafici sono suddivisi per canale di acquisizione nel caso della potenza relativa e per coppia di elettrodi nel caso della coerenza tempo-frequenza. Gli elettrodi considerati per la potenza sono C3, C4, Cz, F3, F4, Fz, P3, P4 e Pz mentre le coppie di elettrodi per lo studio della coerenza sono C3-C4, C3-Cz, C3-F3, C3-F4, C3-Fz, C3-P3, C3-P4 e C3-Pz.

Per entrambi i gruppi e per entrambi i tipi di analisi (potenza wavelet e coerenza tempo-frequenza) le bande analizzate sono: alpha (7-12 Hz), beta (15-22 Hz), delta (1-4 Hz) e theta (4-8 Hz).

La disposizione delle figure è stata studiata per rispettare una disposizione spaziale degli elettrodi come si può notare dalla Figura 1.6a. In tal modo si può osservare meglio la modificazione del segnale per gli elettrodi in prossimità del punto di stimolazione.

In ambito clinico si parla di sincronizzazione quando si rileva un aumento di potenza agli elettrodi, al contrario si parla di desincronizzazione quando vi è un decremento: alla base di queste definizioni vi è il concetto di popolazioni di neuroni. Si è già detto come l'EEG sia un indice dell'attività non del singolo neurone, ma di popolazioni di neuroni, per cui un aumento di potenza del segnale può, in questa ottica, essere

interpretato come l'indice di un'attività più sincronizzata dei vari neuroni, dove le attività dei singoli neuroni si sommano.

5.1 Protocollo con tempo di interstimolazione breve (0.8-3 s)

Il primo gruppo è composto da 5 soggetti. Per analizzare le modificazioni dell'attività oscillatoria di questi soggetti è stata sviluppata un'analisi spettrale tempo-frequenza e lo studio della coerenza tempo-frequenza. Qui di seguito sono proposti i risultati nei due secondi successivi alla stimolazione.

5.1.1 Analisi spettrale tempo-frequenza

In Figura 5.1 è rappresentato l'andamento temporale della potenza relativa in banda alpha (7-12 Hz) per ciascun elettrodo analizzato. In quasi tutti gli elettrodi si nota dal Grand-average una desincronizzazione iniziale dopo lo stimolo e un successivo 'rebound' con il recupero della condizione basale che avviene dopo circa un secondo. Solo per l'elettrodo C3 il recupero della condizione basale è leggermente più ritardato (dopo circa 1.3 s). Questa operazione di 'reset' data dalla TMS è più evidente negli elettrodi C3, C4 e nei frontali; lo è meno nei parietali.

Per quanto riguarda la banda beta (15-22 Hz) si ha una diminuzione iniziale della potenza, meno evidente rispetto alla banda alpha e una più rapida successiva sincronizzazione con un punto di massimo attorno agli 0.8-0.9 s (Figura 5.2), diffusa su tutti gli elettrodi. Confrontando le prime due bande analizzate, per la banda beta il recupero della condizione basale, dopo la desincronizzazione iniziale, avviene in un tempo inferiore (circa 0.5-0.6 s).

La banda delta (1-4 Hz), presente in Figura 5.3, presenta un comportamento opposto rispetto ai ritmi alpha e beta. Inizialmente si ha una sincronizzazione evidente che viene poi smorzata fino al recupero della condizione di riposo la quale avviene dopo circa 0.8 s. Tale fenomeno è particolarmente marcato sull'elettrodo C3 e sugli elettrodi frontali. Negli elettrodi parietali l'aumento della potenza è preceduto da un valore

iniziale più basso della potenza rispetto al valore basale e la sincronizzazione è meno evidente rispetto agli elettrodi frontali e centrali.

Anche nel caso della banda theta (4-8 Hz), in Figura 5.4, si ha una notevole ipersincronizzazione diffusa in tutti gli elettrodi con il successivo recupero della condizione basale che avviene 0.4-0.5 s dopo lo stimolo.

Dai risultati si nota una diversa reattività dei ritmi cerebrali alla stimolazione magnetica, i ritmi veloci (alpha e beta) sono caratterizzati da una riduzione iniziale della potenza con un successivo 'rebound', mentre per i ritmi lenti (delta e theta) si ha un aumento iniziale seguito dal recupero della condizione di riposo.

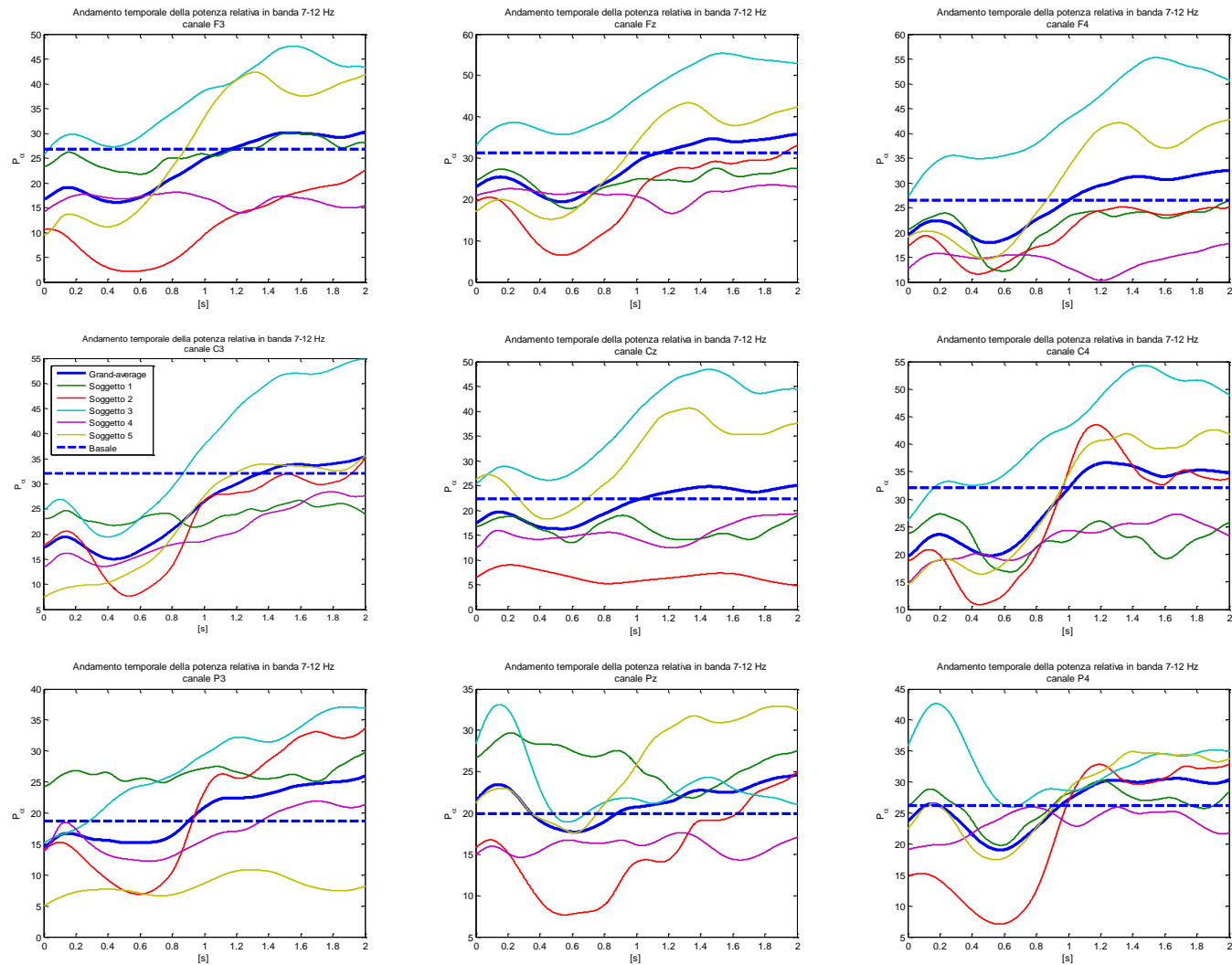


Figura 5.1: Andamento temporale della potenza wavelet in banda alpha (7-12 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

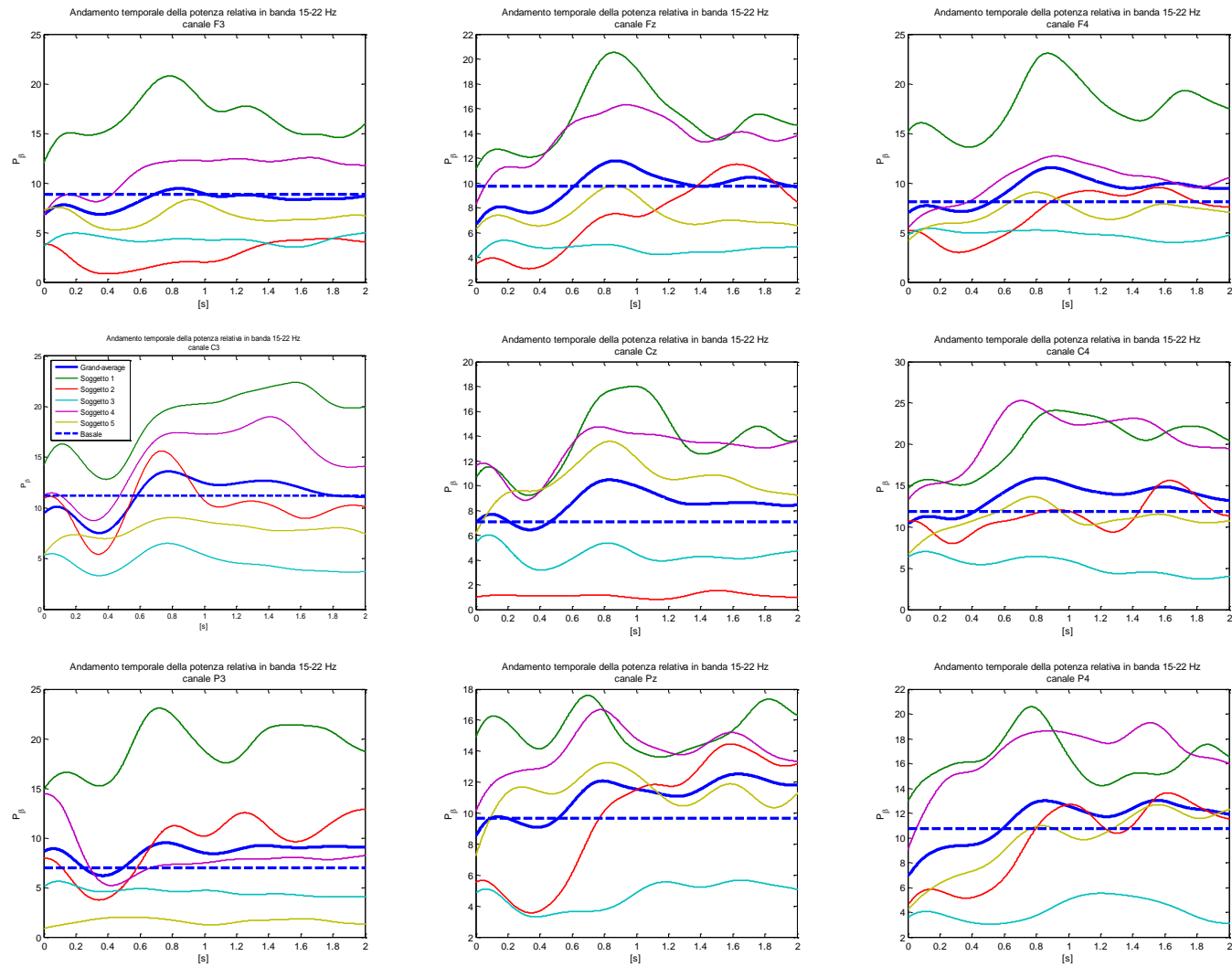


Figura 5.2: Andamento temporale della potenza wavelet in banda beta (15-22 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

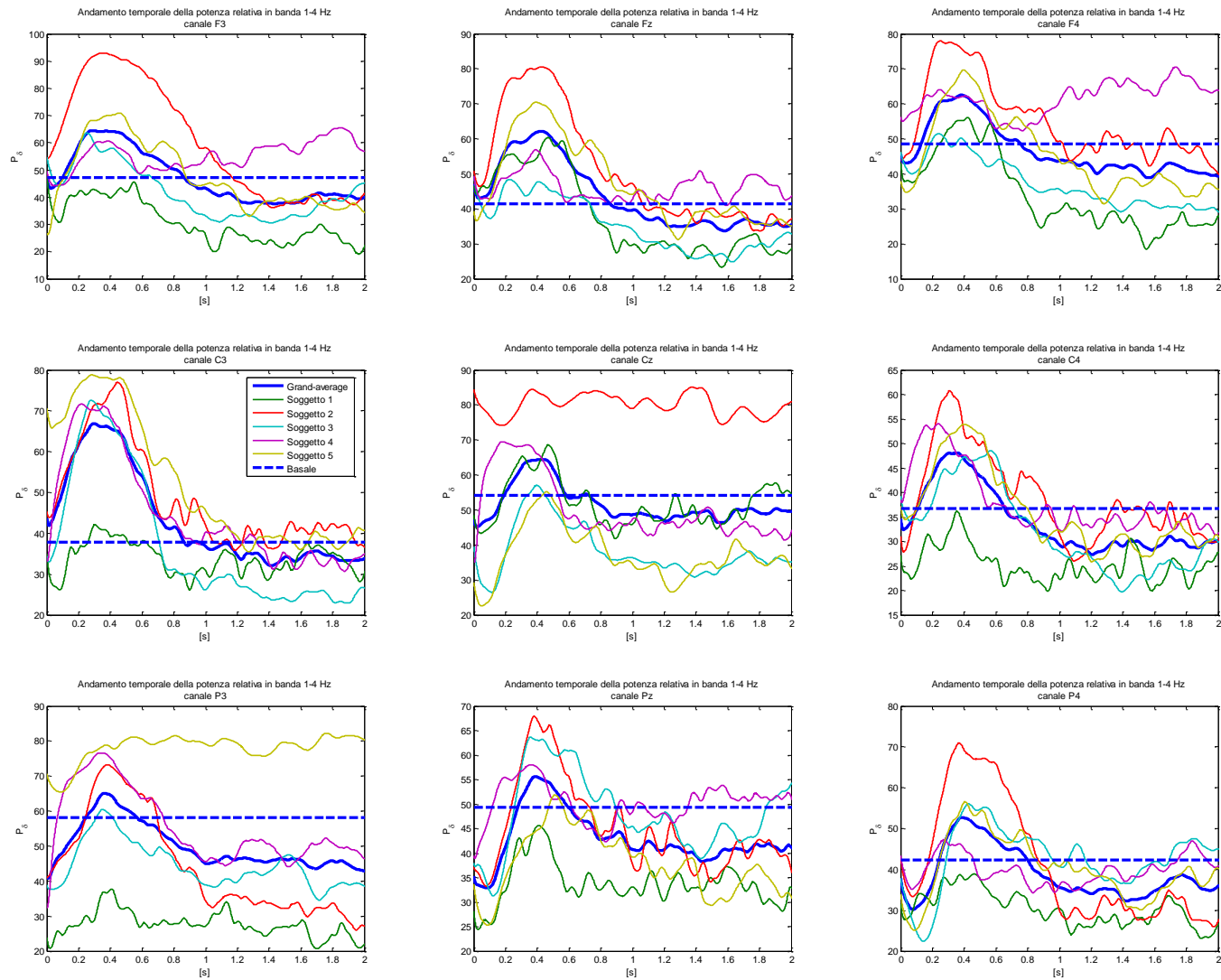


Figura 5.3: Andamento temporale della potenza wavelet in banda delta (1-4 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

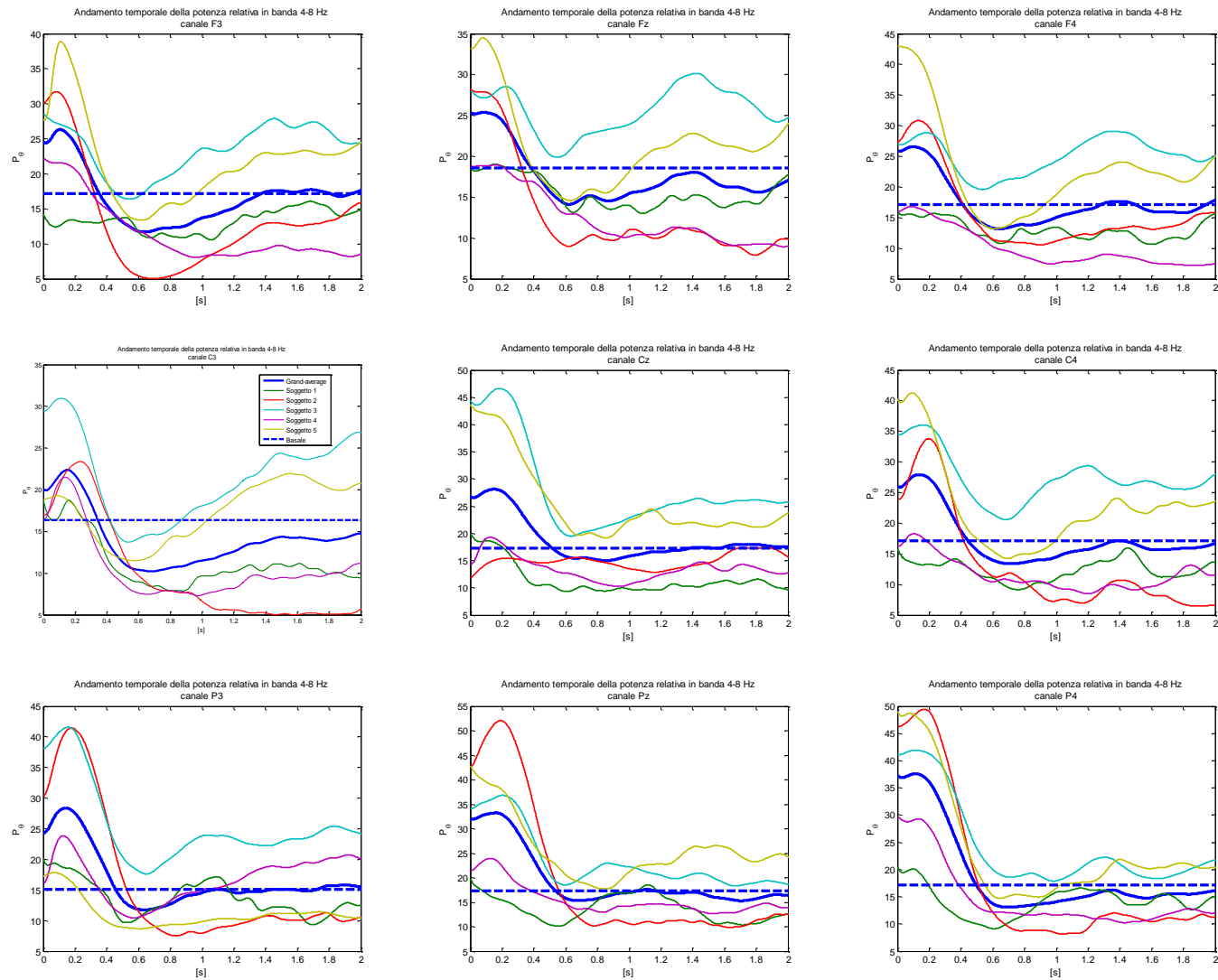


Figura 5.4: Andamento temporale della potenza wavelet in banda theta (4-8 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

5.1.2 Analisi di coerenza tempo-frequenza

Per quanto riguarda la coerenza tempo frequenza in banda alpha (Figura 5.5) si nota un aumento omogeneo tra i soggetti per la coppia di elettrodi C3-C4 a circa 0.3 s dallo stimolo. Per gli elettrodi frontali si ha un andamento simile che inizialmente è inferiore al basale mentre dopo 0.4 s aumenta superando di poco il basale medio, soprattutto per quanto concerne l'elettrodo F4.

Nella banda beta (Figura 5.6) la coerenza sembra non presentare degli andamenti particolarmente significativi, si nota comunque una sua diminuzione con picco minimo attorno ai 0.2-0.3 s per le coppie di elettrodi C3-Cz e C3-P3.

In Figura 5.7 è sono visualizzati gli andamenti per la banda delta in cui la coerenza sembra diminuire dopo lo stimolo. Si osservano due comportamenti differenti per le coppie di elettrodi C3-F4 e C3-Cz, in cui dopo la diminuzione si ha un recupero della condizione basale, e gli elettrodi C3-C4, C3-P3, C3-Pz, C3-P4 in cui non si recupera la condizione di riposo.

Nella Figura 5.8 la coerenza tempo-frequenza per la banda theta non assume dei trend significativi tra C3 e gli elettrodi frontali e centrali, mentre si ha un valore iniziale elevato seguito da una diminuzione della coerenza per le coppie costituite da C3 con i parietali.

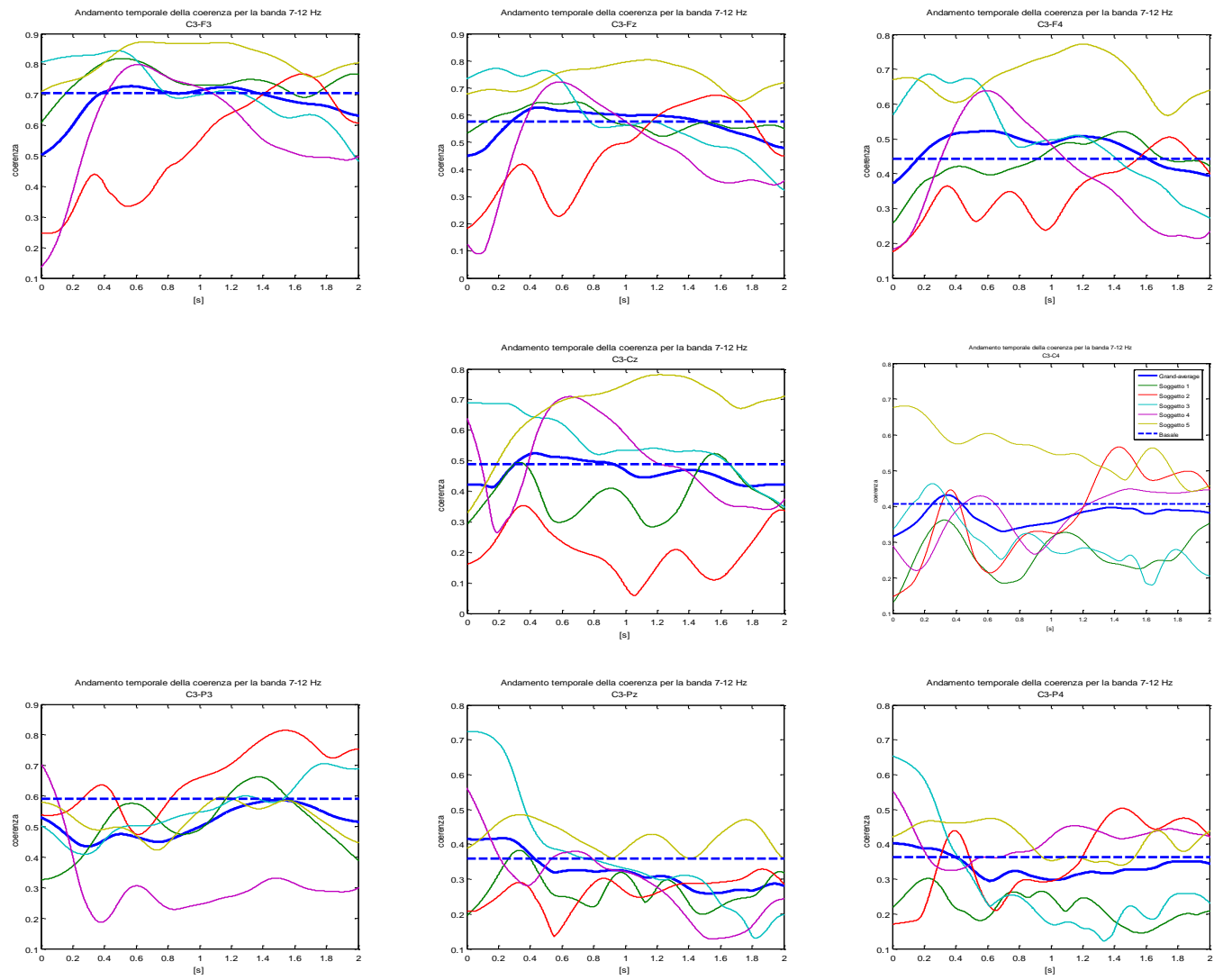


Figura 5.5: Coerenza tempo-frequenza in banda alpha (7-12 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

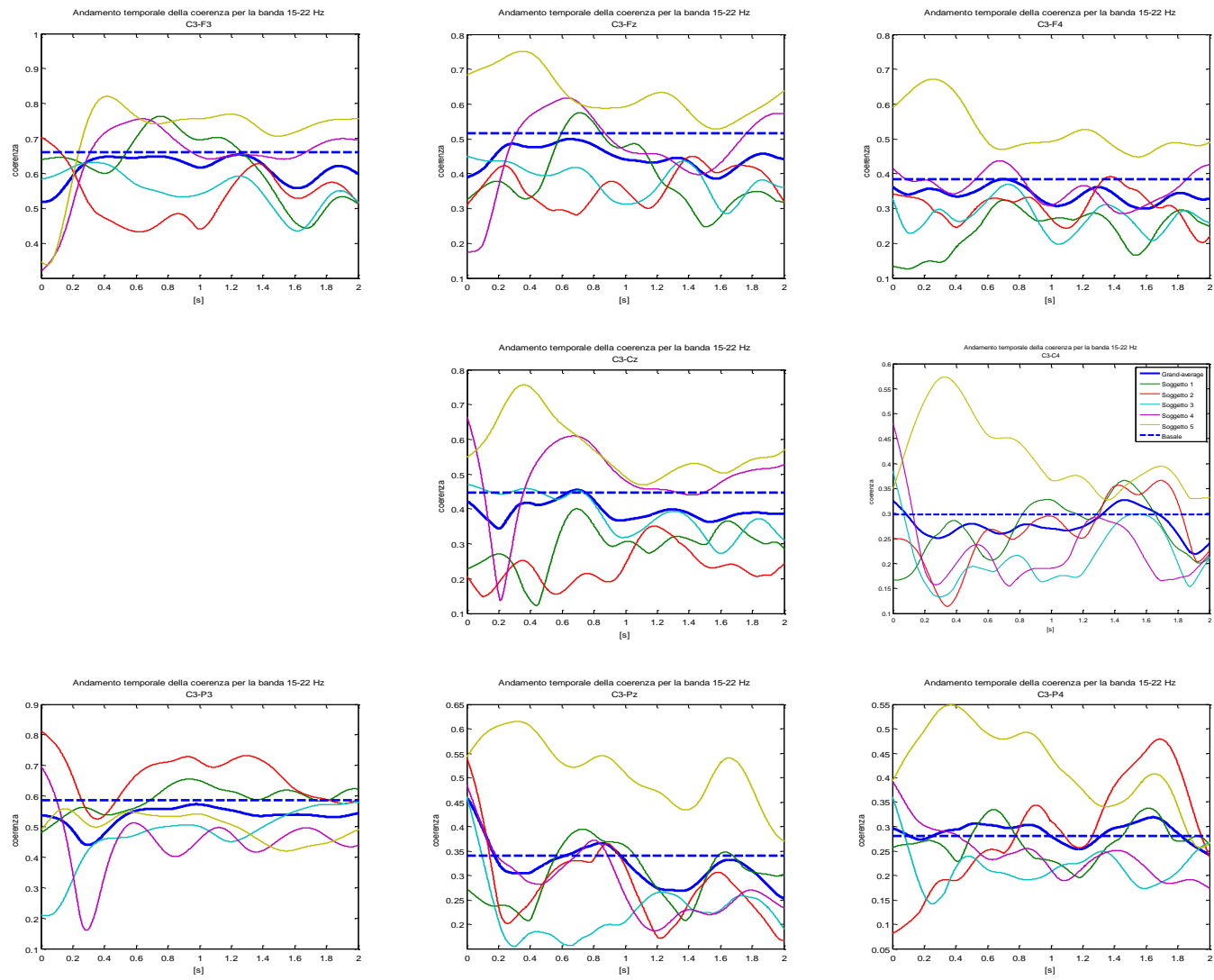


Figura 5.6: Coerenza tempo-frequenza in banda beta (15-22 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

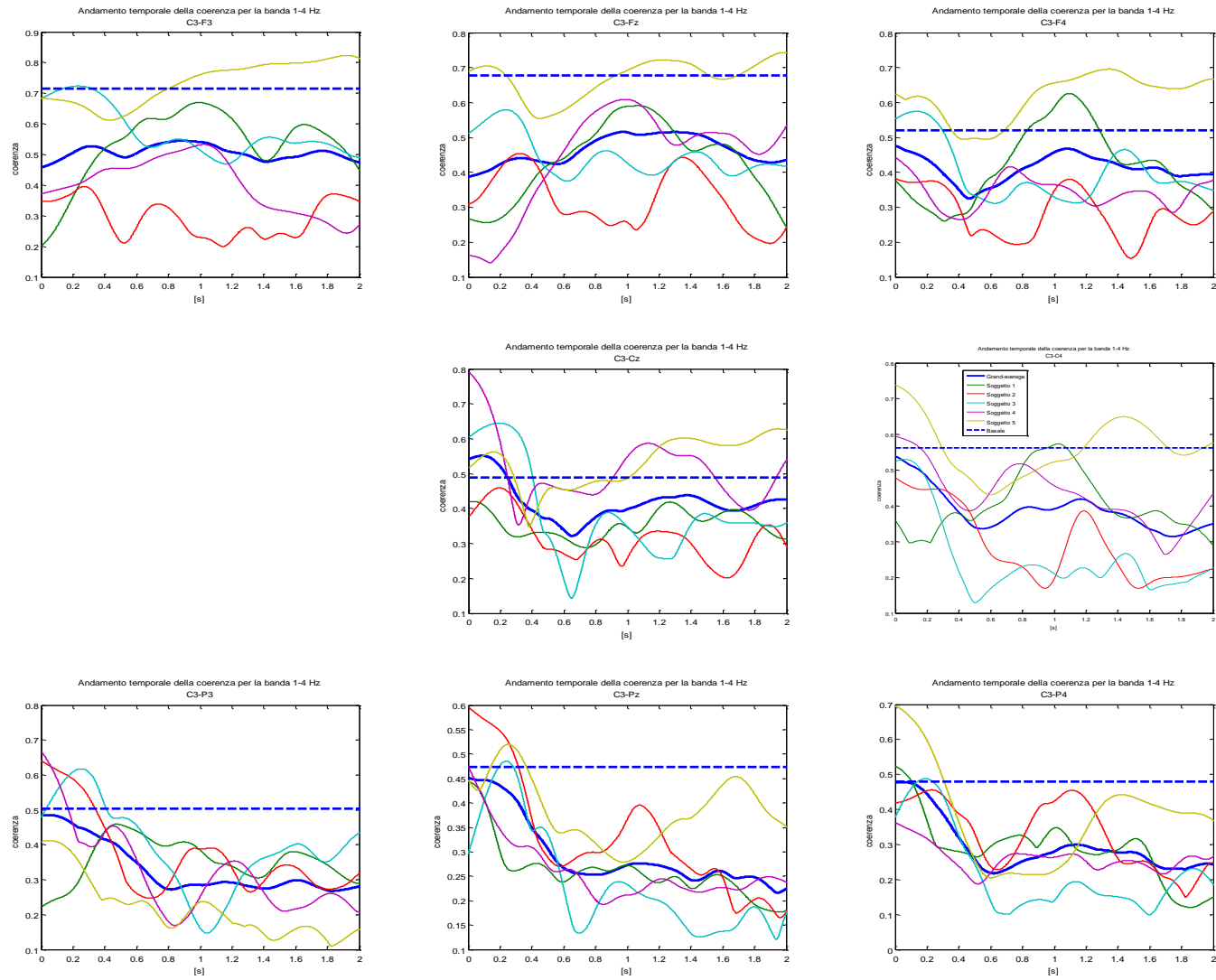


Figura 5.7: Coerenza tempo-frequenza in banda delta (1-4 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

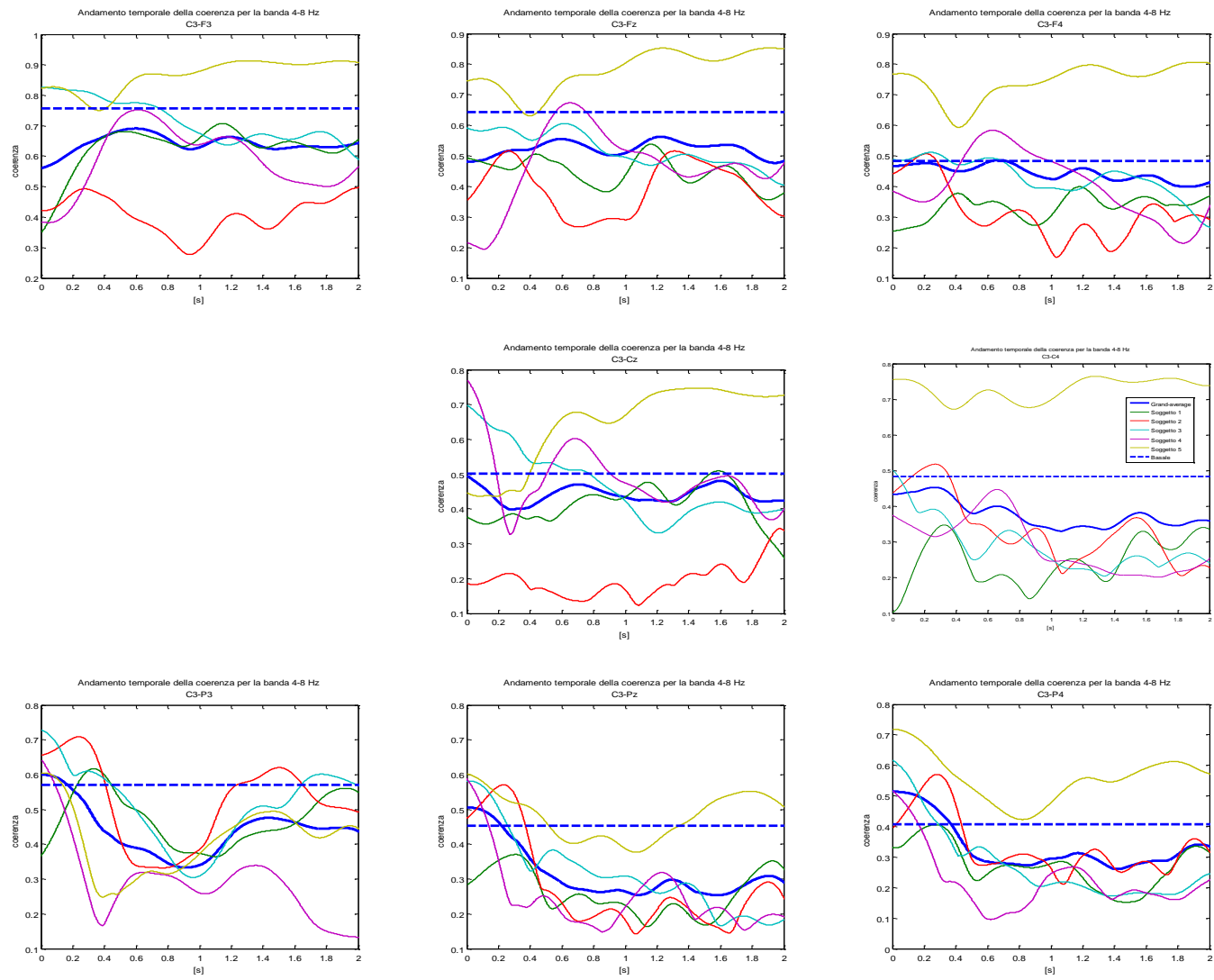


Figura 5.8: Coerenza tempo-frequenza in banda theta (4-8 Hz) del primo gruppo di soggetti. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

5.2 Protocollo con tempo di interstimolazione breve (0.8-3 s)

Il secondo gruppo è costituito da 6 soggetti. In questo caso le registrazioni sono state acquisite in tre differenti condizioni per ciascun soggetto: veglia, privazione di sonno e sonno. Per tutti gli stati è stata eseguita l'analisi spettrale tempo-frequenza e lo studio della coerenza tempo-frequenza.

5.2.1 Analisi spettrale tempo-frequenza in veglia

In condizioni di veglia nella banda alpha si ottengono degli andamenti della potenza wavelet simili a quelli visti per il primo gruppo di studio (Figura 5.9). E' presente un'iniziale desincronizzazione seguita da un 'rebound' che riporta la potenza a valori confrontabili con quelli basali. Questo trend si può notare chiaramente per gli elettrodi C3, C4, F4 e P4.

Per la banda beta (Figura 5.10) osservando la Grand-average si nota una sincronizzazione diffusa con un punto di massimo a circa 0.5-0.6 s dallo stimolo. Tale andamento non è riscontrabile per gli elettrodi Fz e Cz.

Nella Figura 5.11 la banda delta presenta un andamento molto simile a quello del primo gruppo nella stessa banda. Si ha infatti una progressiva sincronizzazione per poi tornare a valori simili a quelli basali in un intervallo di tempo variabile tra i vari elettrodi.

La Figura 5.12 mostra un trend comune a tutti gli elettrodi considerati e prevede una sincronizzazione iniziale quasi istantanea allo stimolo e successivamente una diminuzione della potenza.

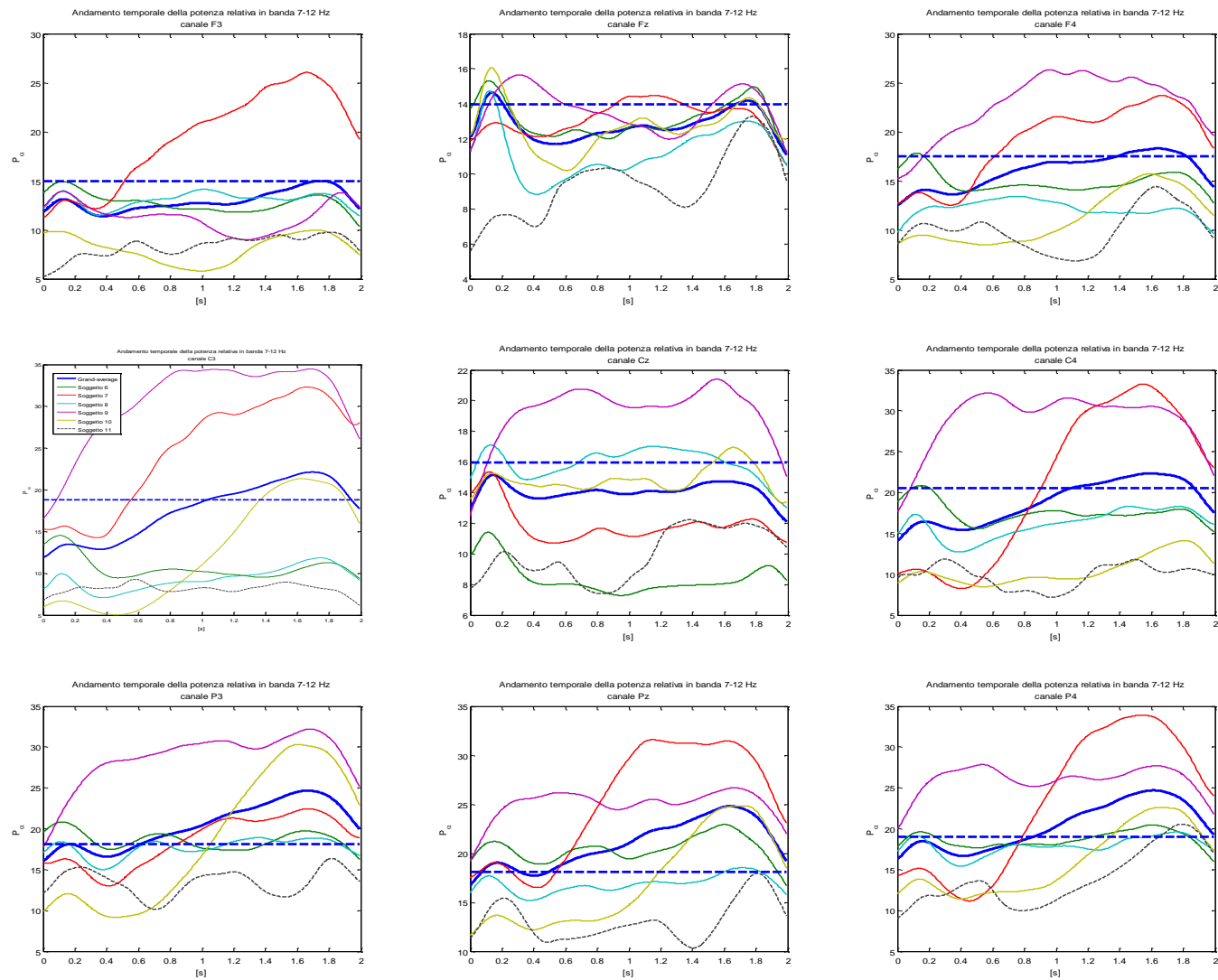


Figura 5.9: Andamento temporale della potenza wavelet in banda alpha (7-12 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

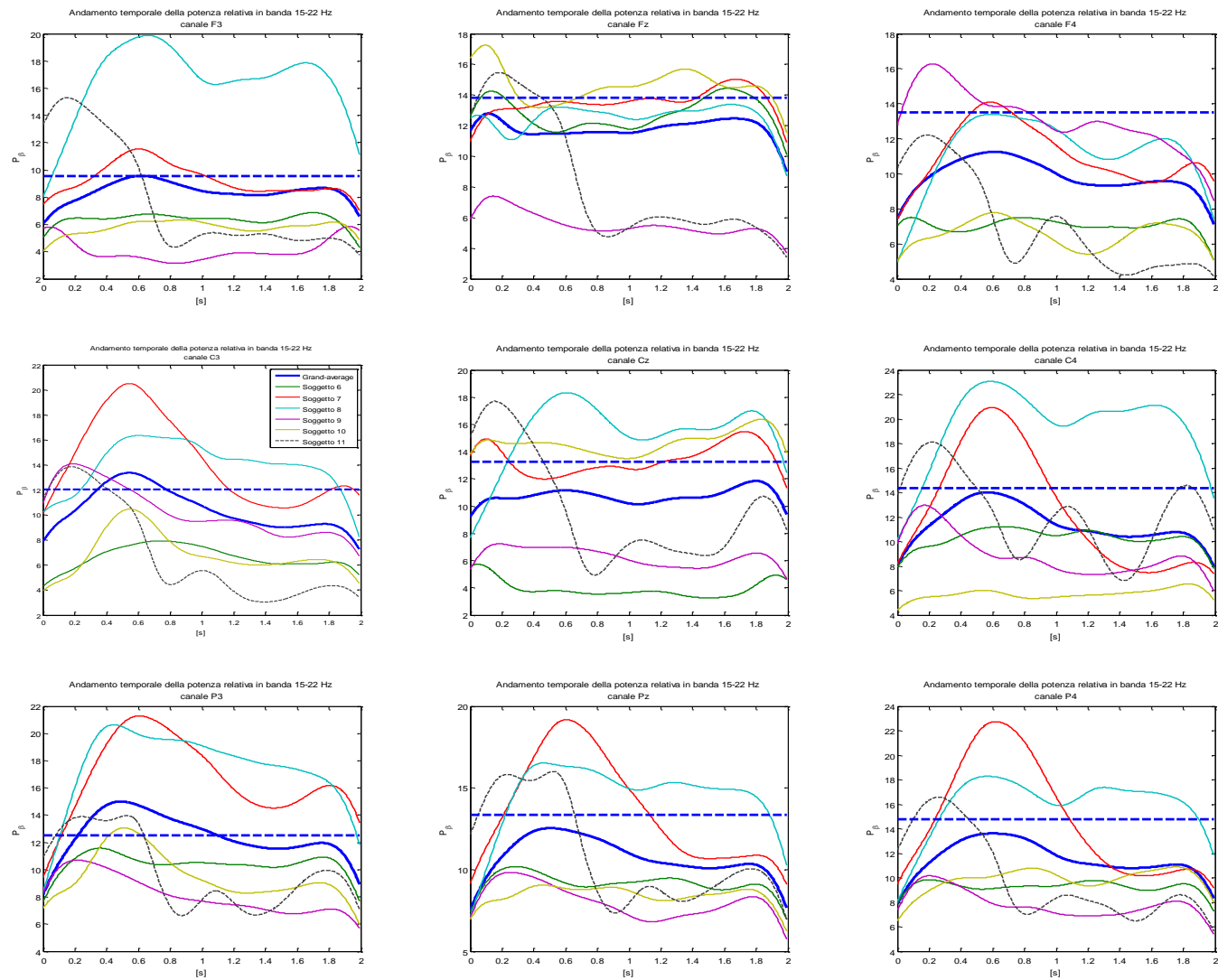


Figura 5.10: Andamento temporale della potenza wavelet in banda beta (15-22 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

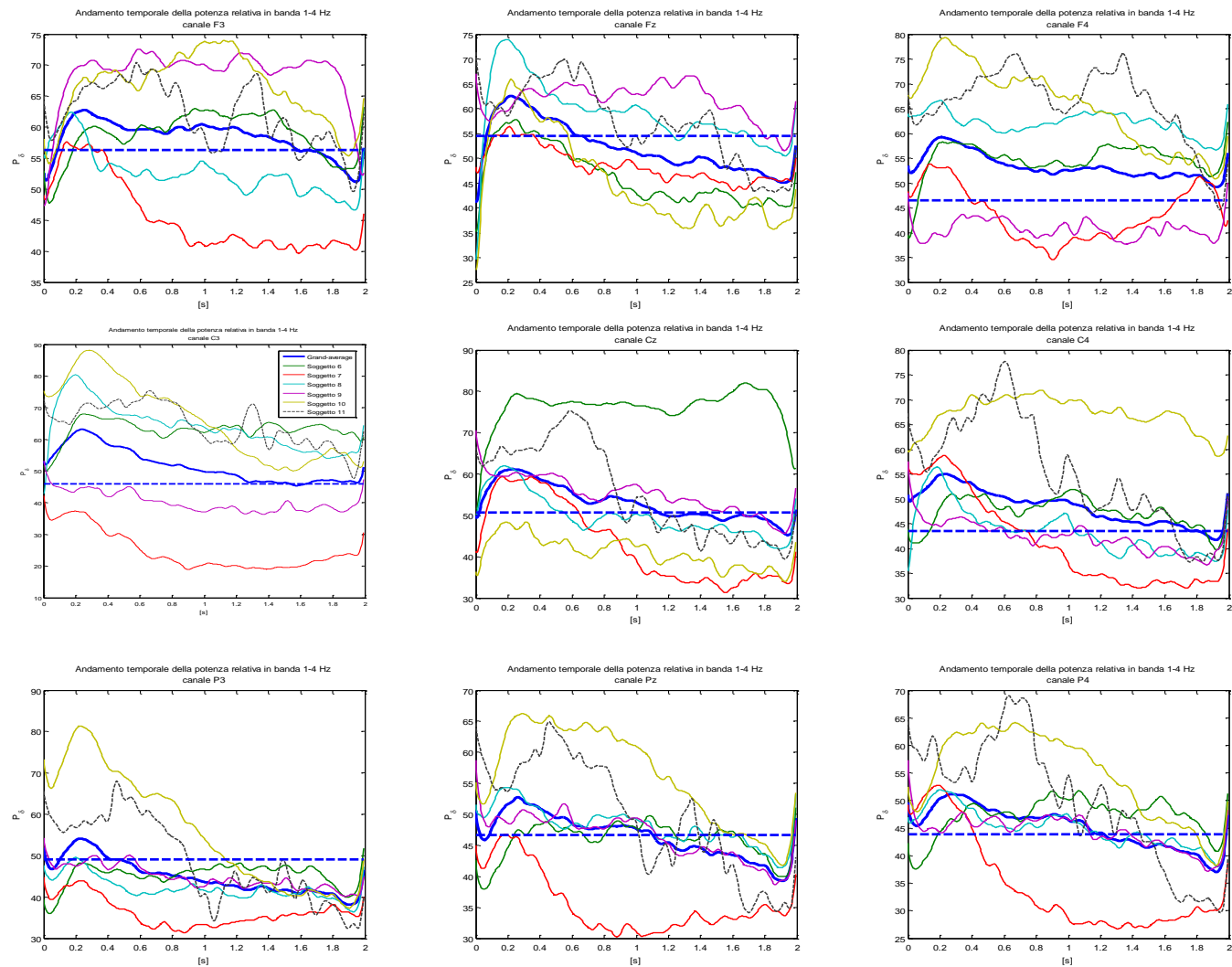


Figura 5.11: Andamento temporale della potenza wavelet in banda delta (1-4 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

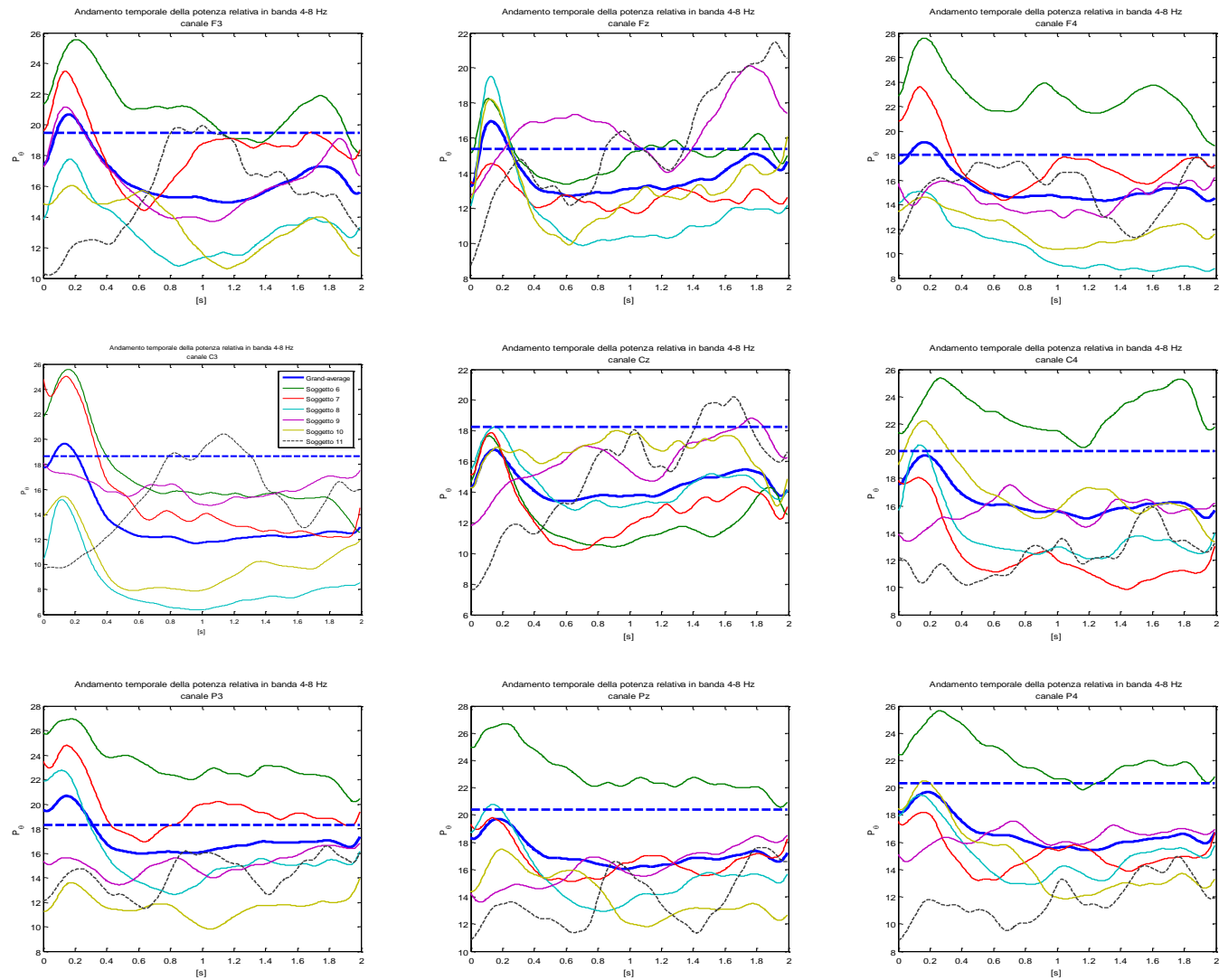


Figura 5.12: Andamento temporale della potenza wavelet in banda theta (4-8Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

5.2.2 Analisi di coerenza tempo-frequenza in veglia

Nell'analisi di coerenza tempo-frequenza per il secondo gruppo in fase di veglia, sono stati ottenuti degli andamenti poco variabili e senza la presenza di trend significativi.

In Figura 5.13 sono visualizzati i grafici per la banda alpha, in cui gli andamenti dimostrano una variabilità della coerenza molto limitata. Per le coppie di elettrodi C3-F4 e C3-P3 la coerenza assume valori molto simili a quello basale medio, mentre per le restanti coppie si ha un valore iniziale più basso della potenza rispetto al valore basale per cui la coerenza si dimostra inferiore rispetto alla condizione di riposo.

Per la banda beta (Figura 5.14) si ha un comportamento del tutto simile alla banda alpha con ancora la presenza di una diminuzione di coerenza rispetto al basale medio per la maggior parte degli elettrodi.

Nella banda delta (Figura 5.15) ancora una volta i trend sono poco variabili e la diminuzione di coerenza rispetto al basale è più evidente nelle coppie che C3 forma con i frontali.

Nella Figura 5.16 sono presenti i risultati per la banda theta con una diminuzione osservabile nelle coppie C3-F3, C3-Fz e C3-Cz.

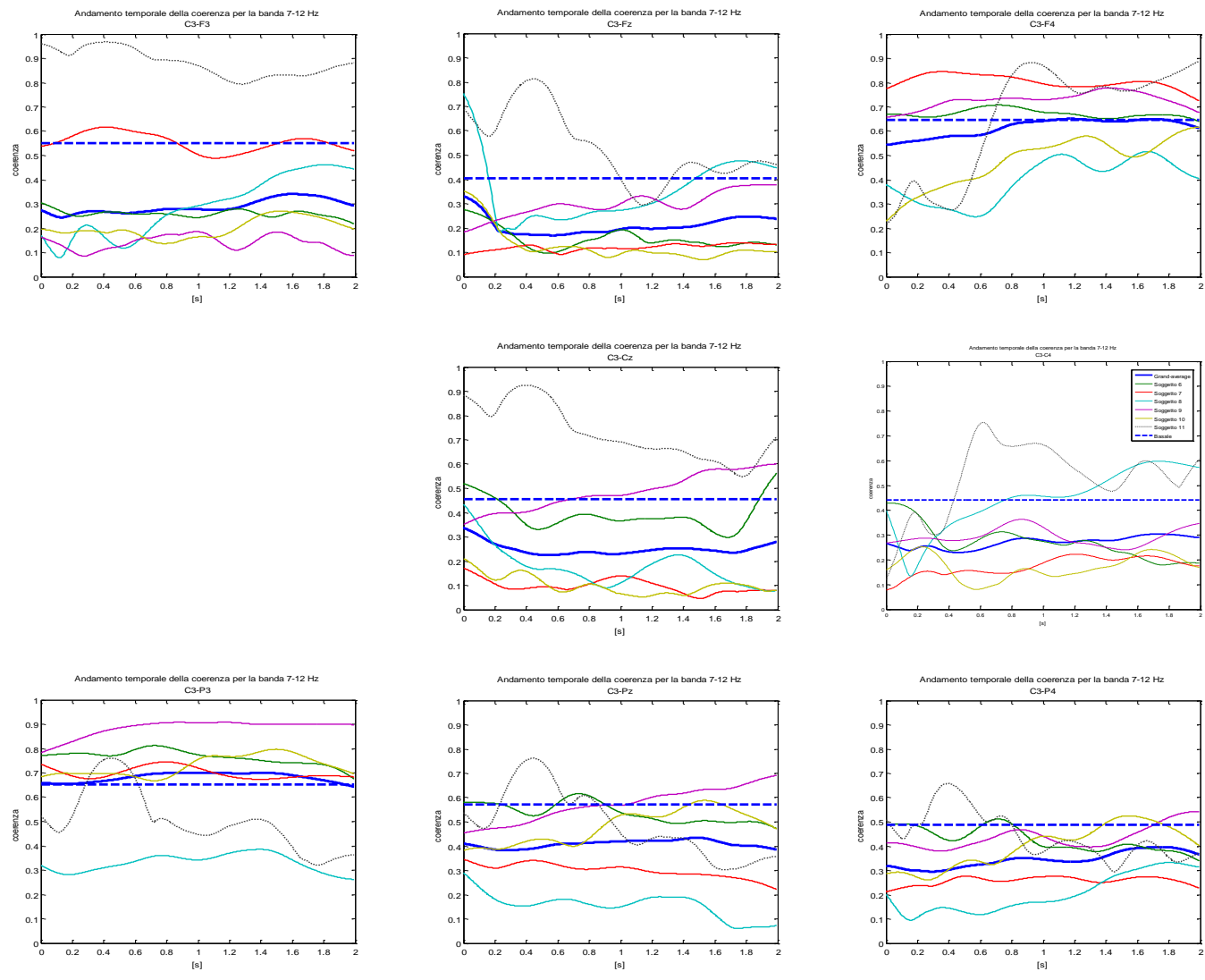


Figura 5.13: Coerenza tempo-frequenza in banda alpha (7-12 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

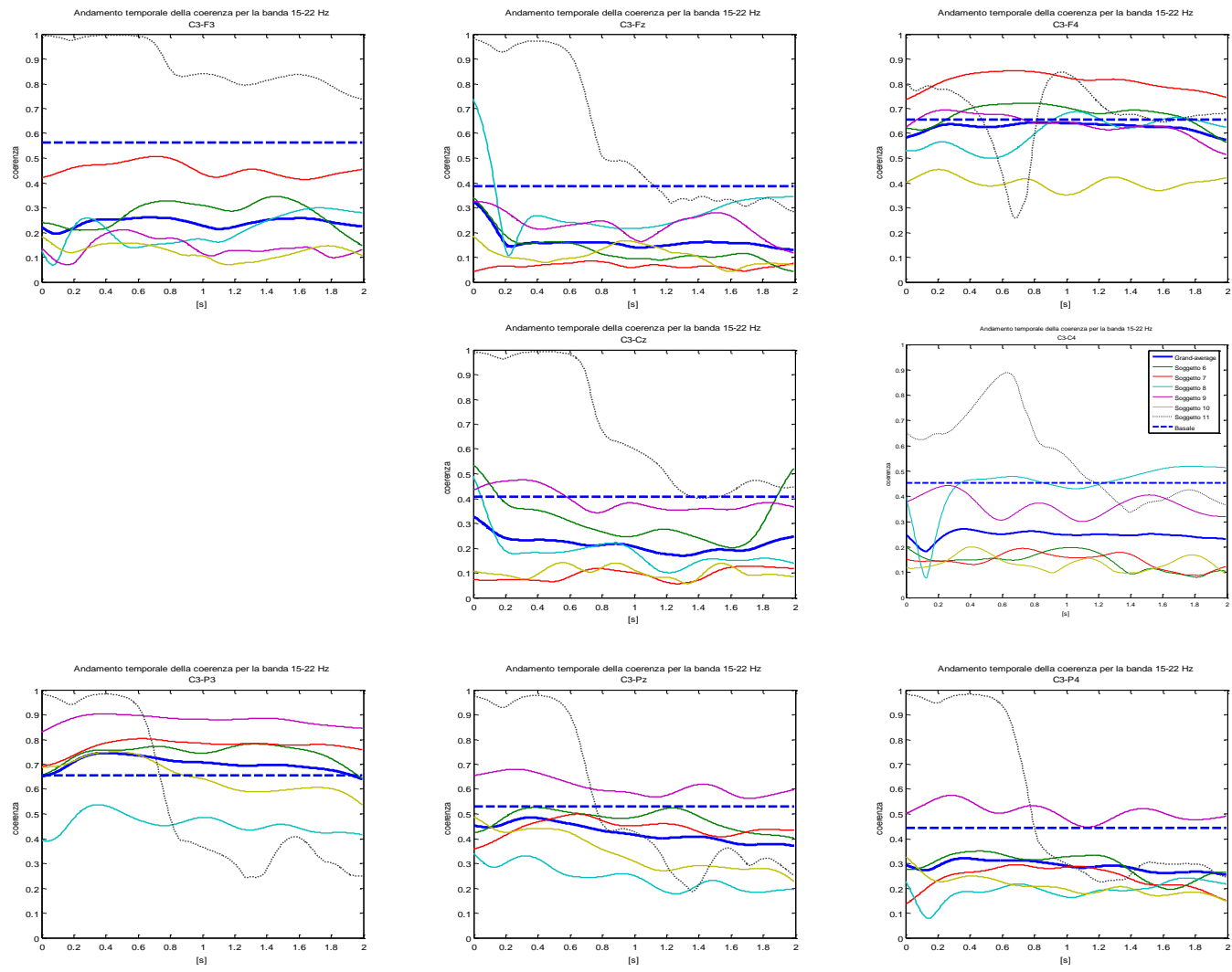


Figura 5.14: Coerenza tempo-frequenza in banda beta (15-22 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

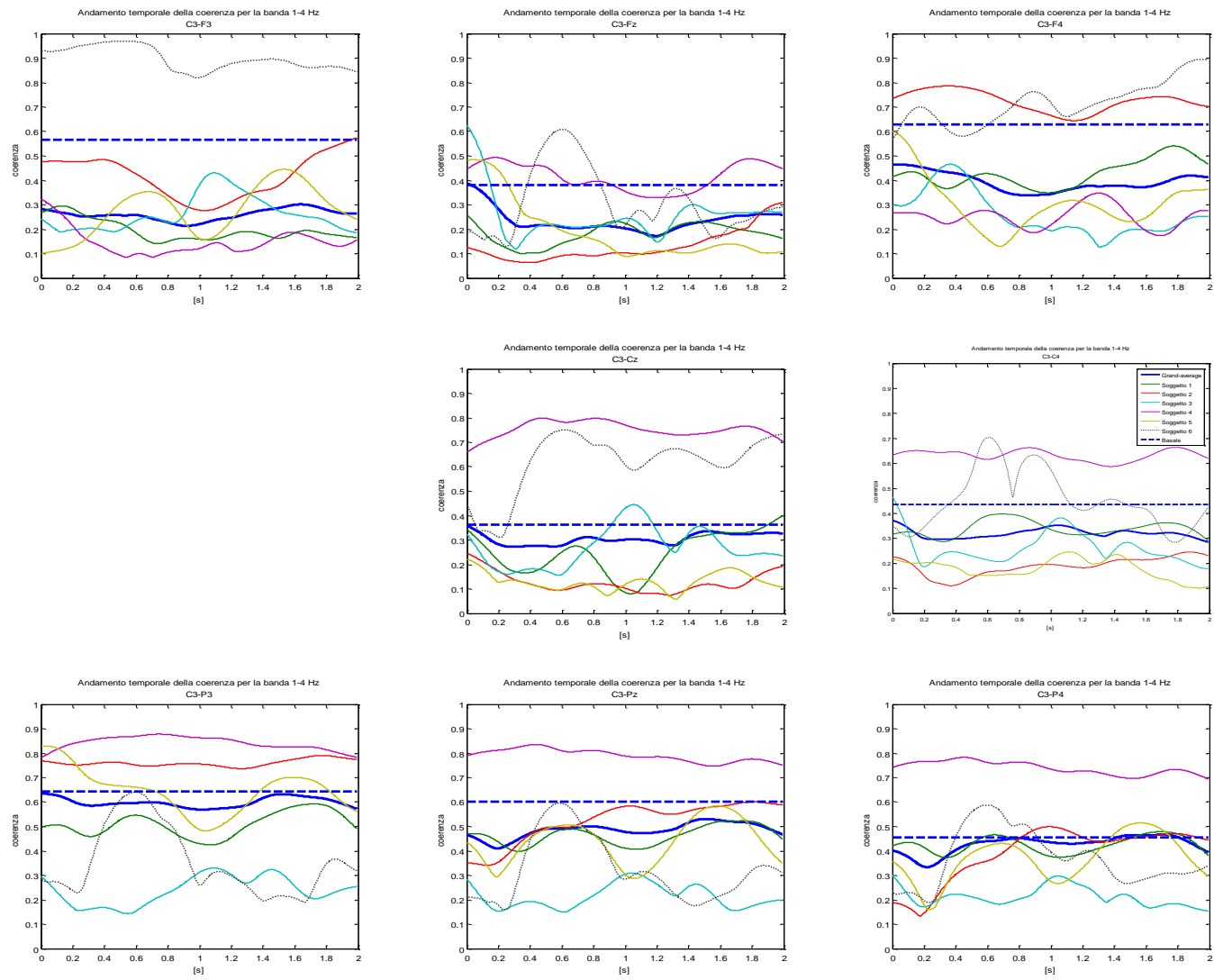


Figura 5.15: Coerenza tempo-frequenza in banda delta (1-4 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

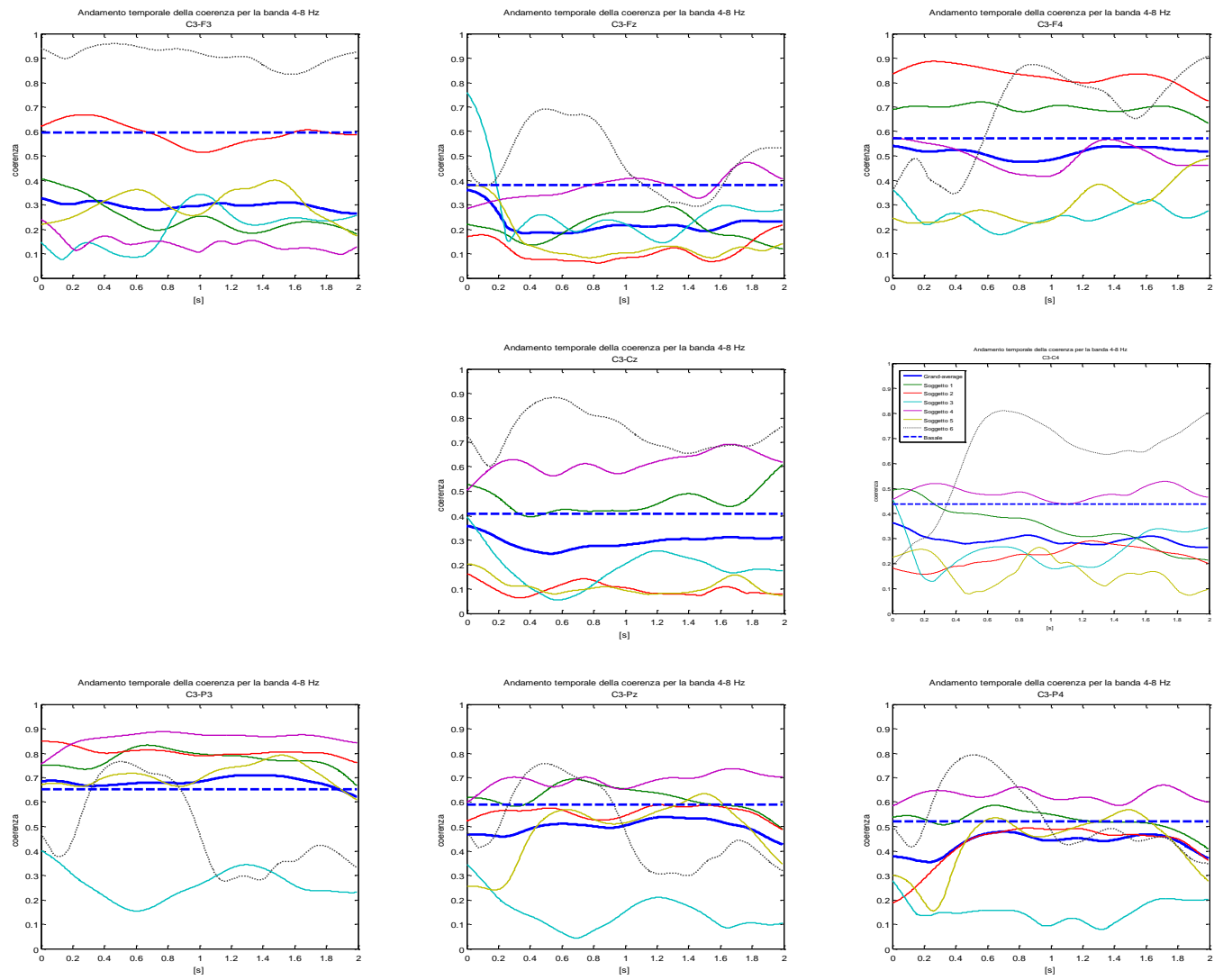


Figura 5.16: Coerenza tempo-frequenza in banda theta (4-8 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di veglia. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

5.2.3 Analisi spettrale tempo-frequenza in privazione di sonno

Nella privazione di sonno si è eseguita l'analisi spettrale in tutte e 4 le bande assunte in questo lavoro.

In Figura 5.17 si nota la banda alpha con il suo tipico andamento, già riscontrato in fase di veglia, che prevede una desincronizzazione iniziale con un successivo 'rebound'. Gli andamenti delle medie rispecchiano gli andamenti di tutti i soggetti, senza lo scostamento di nessun soggetto, rendendo il risultato molto più robusto rispetto a quello della veglia. La desincronizzazione iniziale, rispetto alla condizione di veglia, è maggiore per gli elettrodi F3 ed F4.

Nella banda beta in privazione di sonno (Figura 5.18) si ottengono andamenti simili a quelli già osservati in veglia con una diminuzione iniziale e una successiva sincronizzazione. La sincronizzazione dell'elettrodo C4 è maggiore rispetto alla veglia.

La banda delta, presente in Figura 5.19, è caratterizzata da una sincronizzazione molto evidente sugli elettrodi frontali e su Cz. Tale fenomeno è più rapido rispetto alla condizione di veglia come anche il recupero dei valori caratteristici del basale medio.

Nella Figura 5.20 la banda theta presenta un andamento simile a quello della veglia ma si ha una sincronizzazione maggiore soprattutto per l'elettrodo Cz. Dopo tale fenomeno si ha la diminuzione della potenza fino a recuperare valori simili a quelli basali.

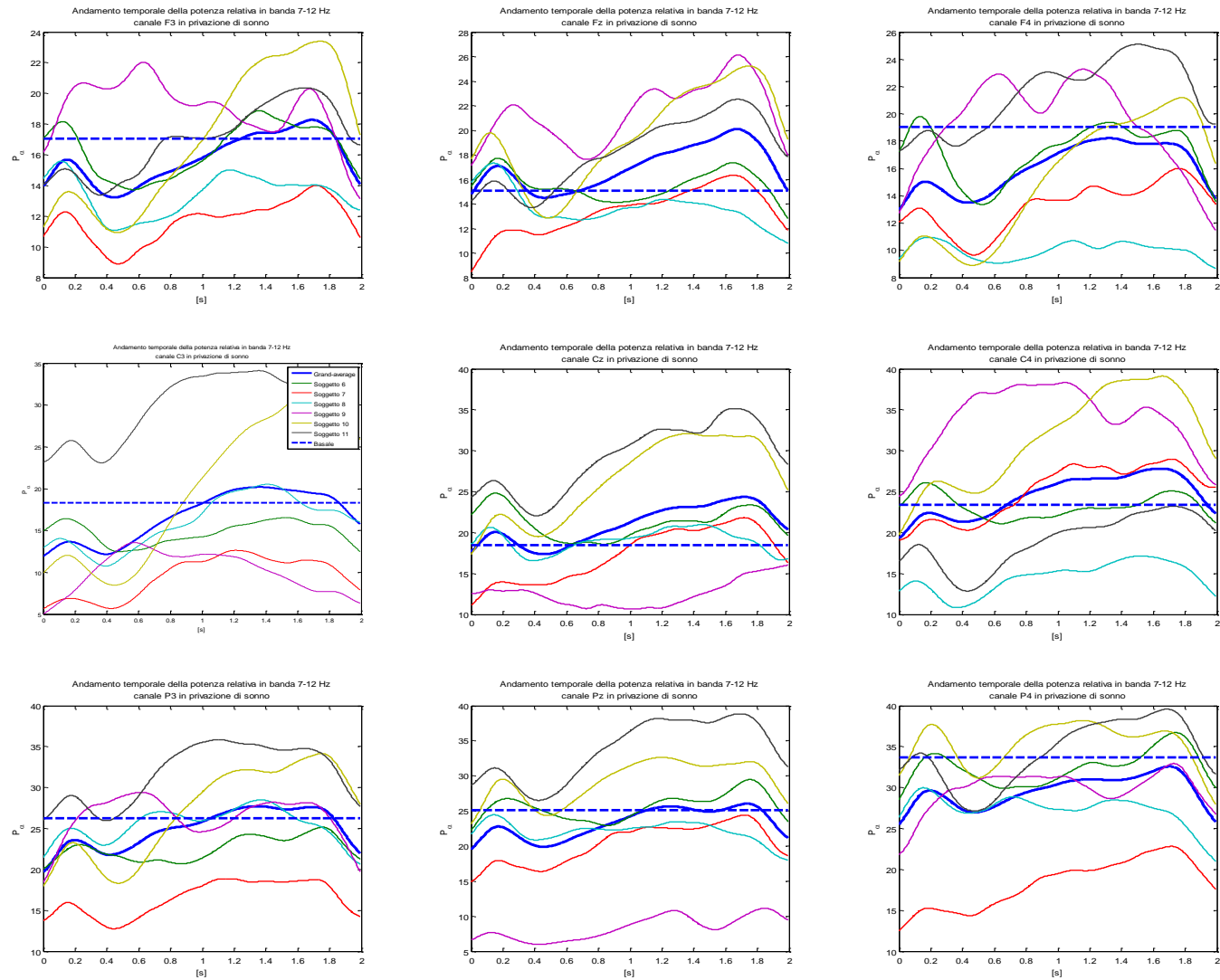


Figura 5.17: Andamento temporale della potenza wavelet in banda alpha (7-12 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

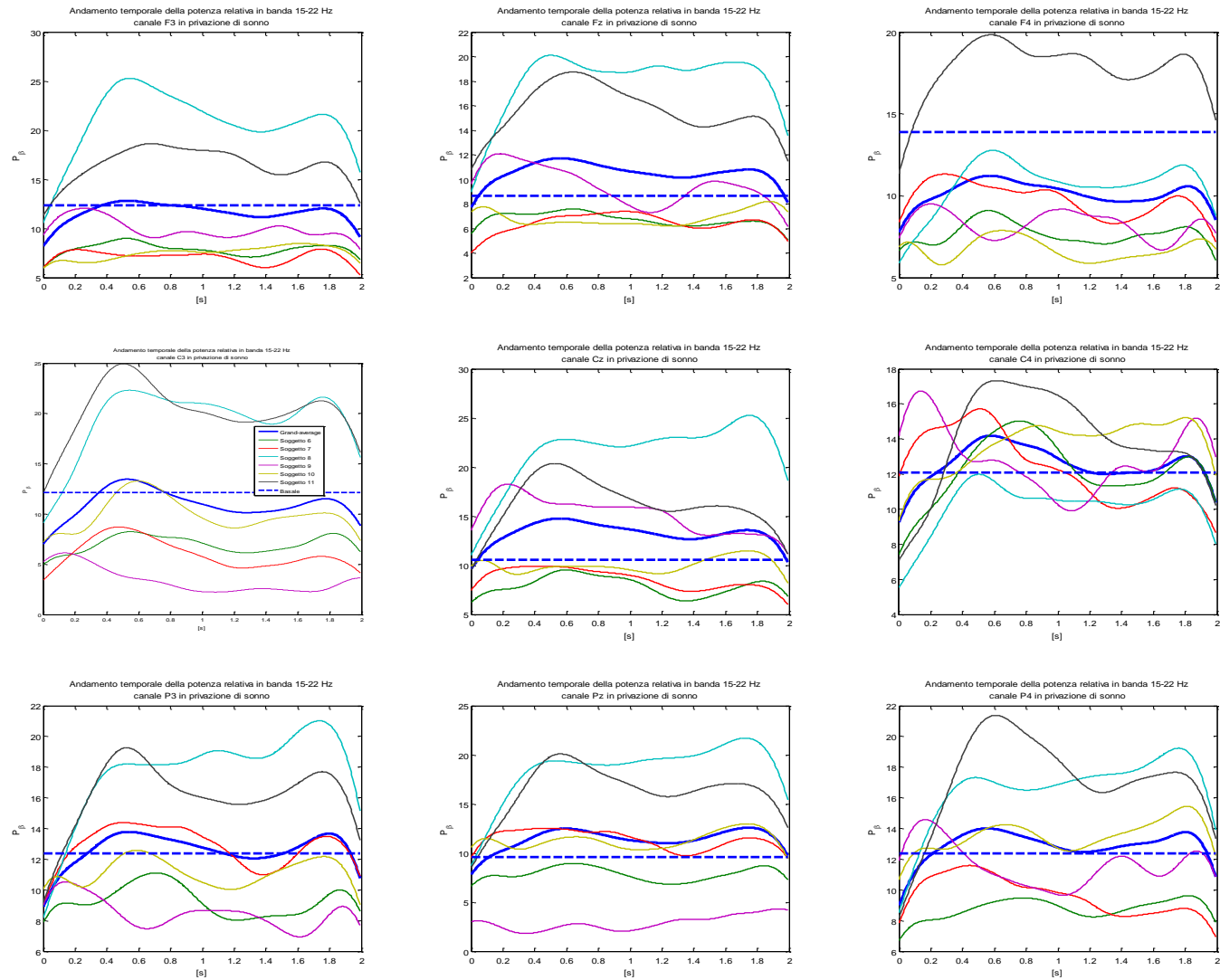


Figura 5.18: Andamento temporale della potenza wavelet in banda beta (15-22 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

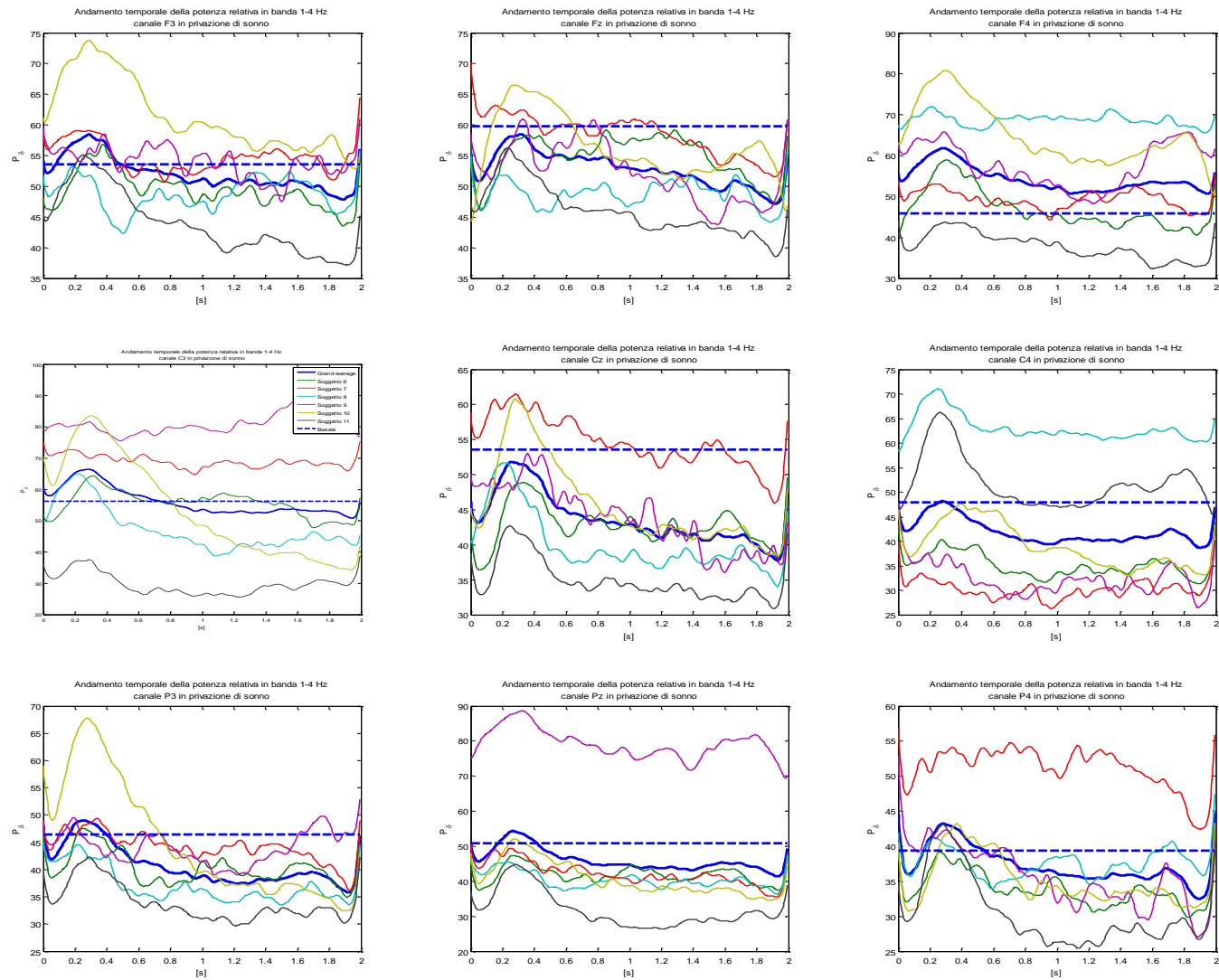


Figura 5.19: Andamento temporale della potenza wavelet in banda delta (1-4 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

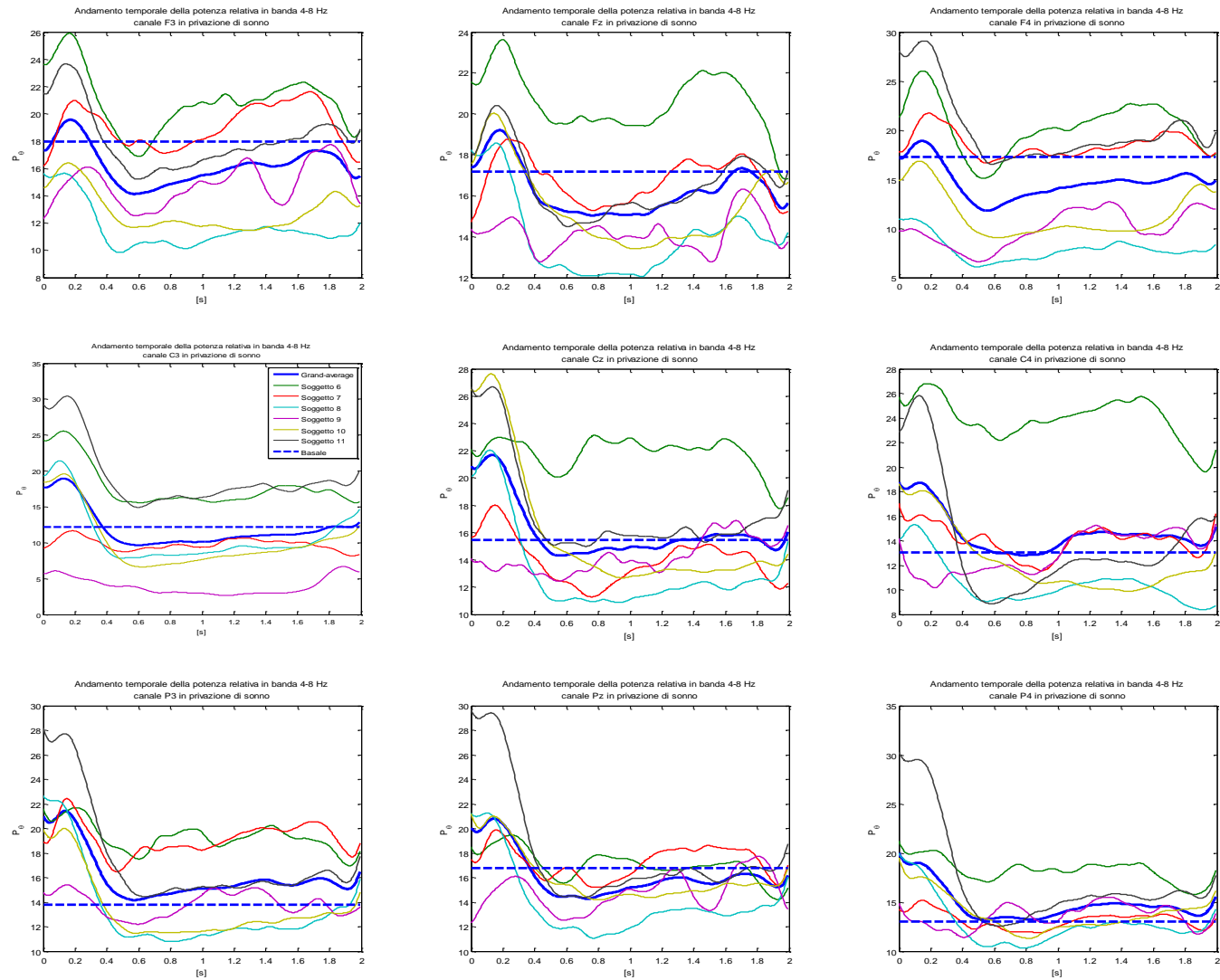


Figura 5.20: Andamento temporale della potenza wavelet in banda theta (4-8 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

5.2.4 Analisi di coerenza tempo-frequenza in privazione di sonno

In privazione di sonno nella banda alpha la coerenza tempo-frequenza non presenta degli andamenti significativi negli elettrodi considerati (Figura 5.21). Le Grand-average rappresentate si mantengono sempre sotto la media basale.

Nella banda beta (Figura 5.22) per le coppie C3-Fz e C3-C4 la coerenza si mantiene ben al di sotto del valore basale medio. Il soggetto 7 presenta in quasi tutti gli elettrodi un andamento quasi costante fino a 1.5 s e poi un notevole aumento della coerenza.

In Figura 5.23 è rappresentata la banda delta per cui non ci sono profondi cambiamenti rispetto a quello che si è visto in fase di veglia. In tutte le coppie di elettrodi, specialmente in C3-Fz le medie delle coerenze tempo-frequenza post-stimolo si mantengono al di sotto del valore basale medio.

La banda theta non è caratterizzata da trend particolari della coerenza. Valori molto simili a quelli basali sono presenti nella coppia di elettrodi C3-P3 (Figura 5.24).

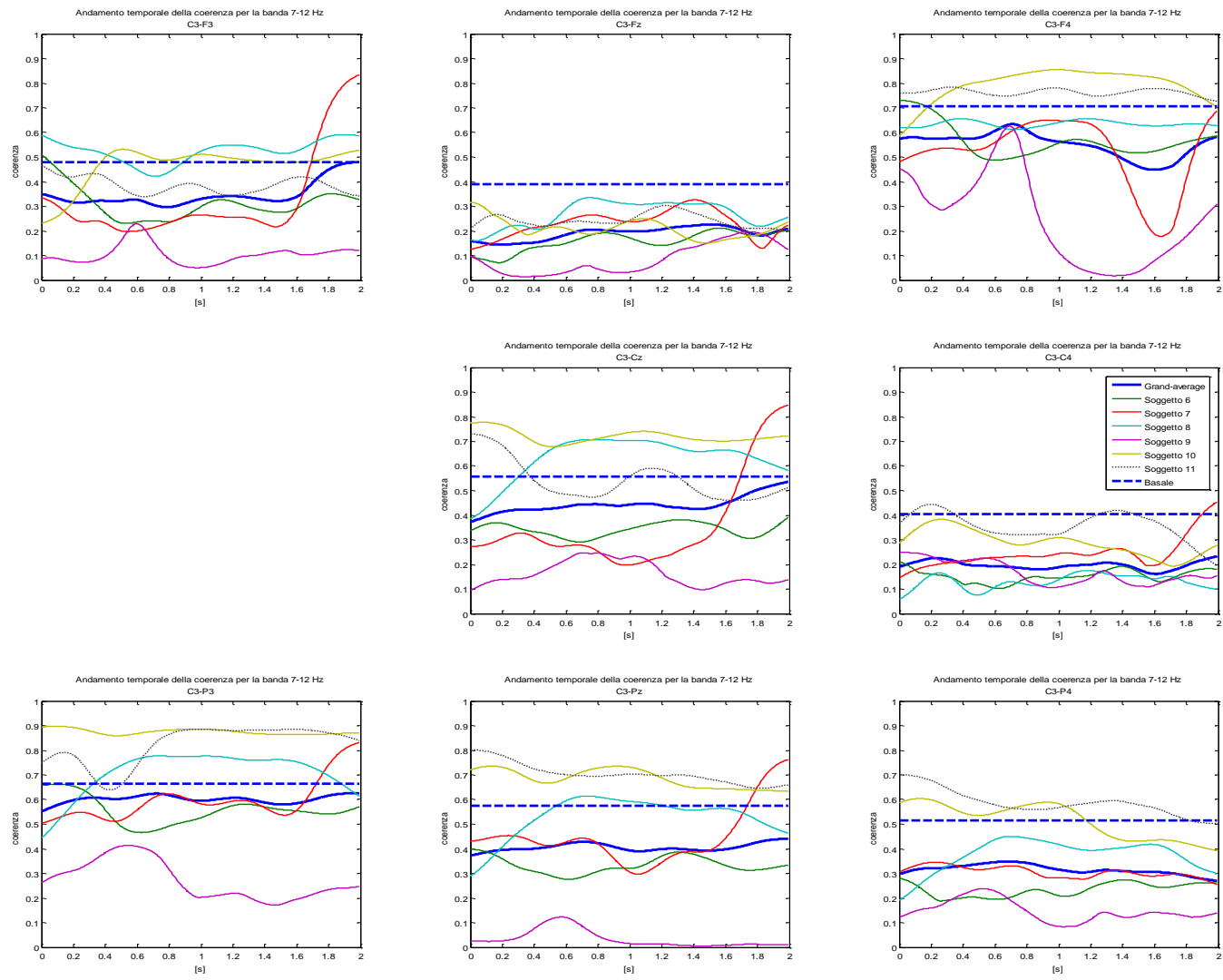


Figura 5.21: Coerenza tempo-frequenza in banda alpha (7-12 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

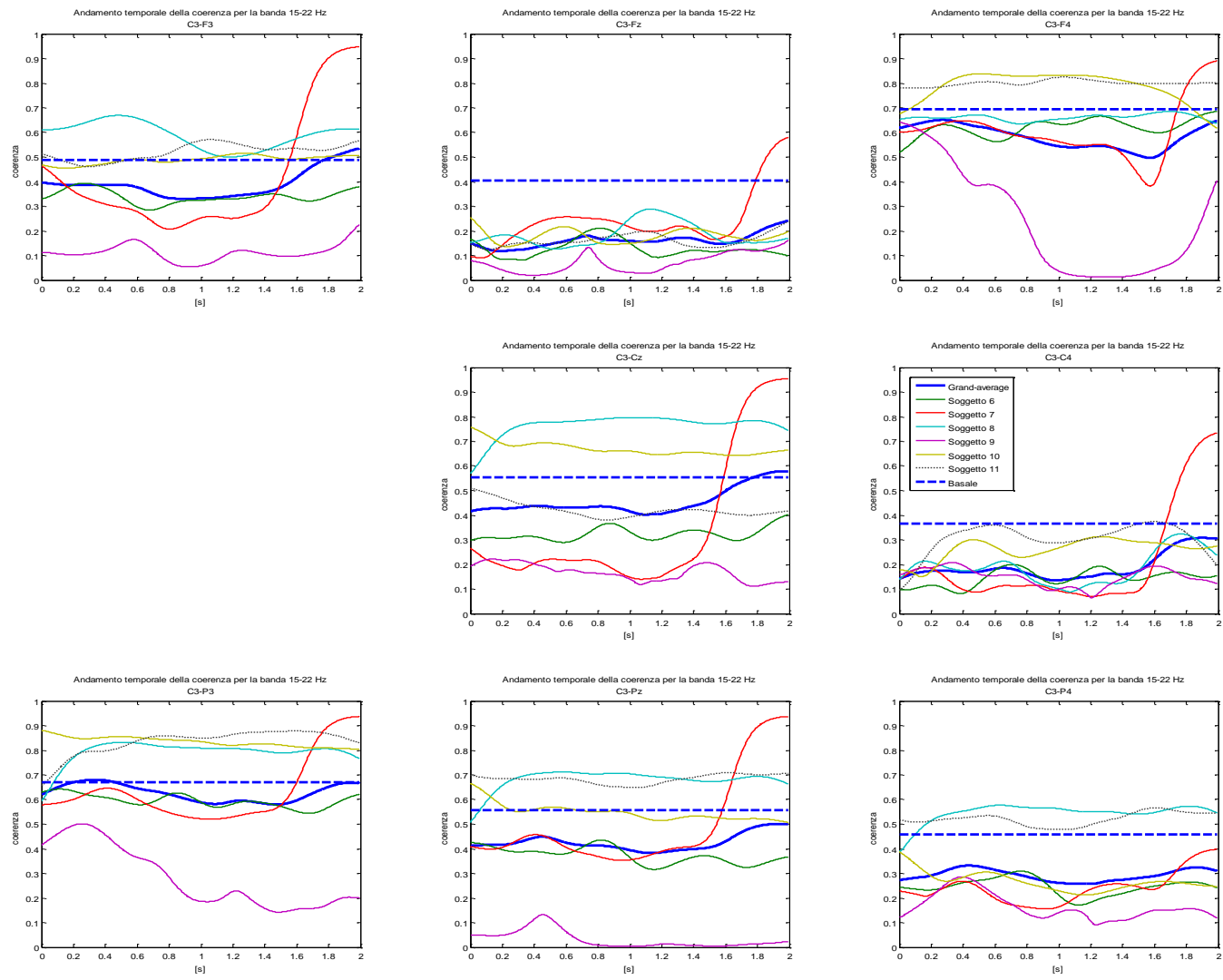


Figura 5.22: Coerenza tempo-frequenza in banda beta (15-22 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

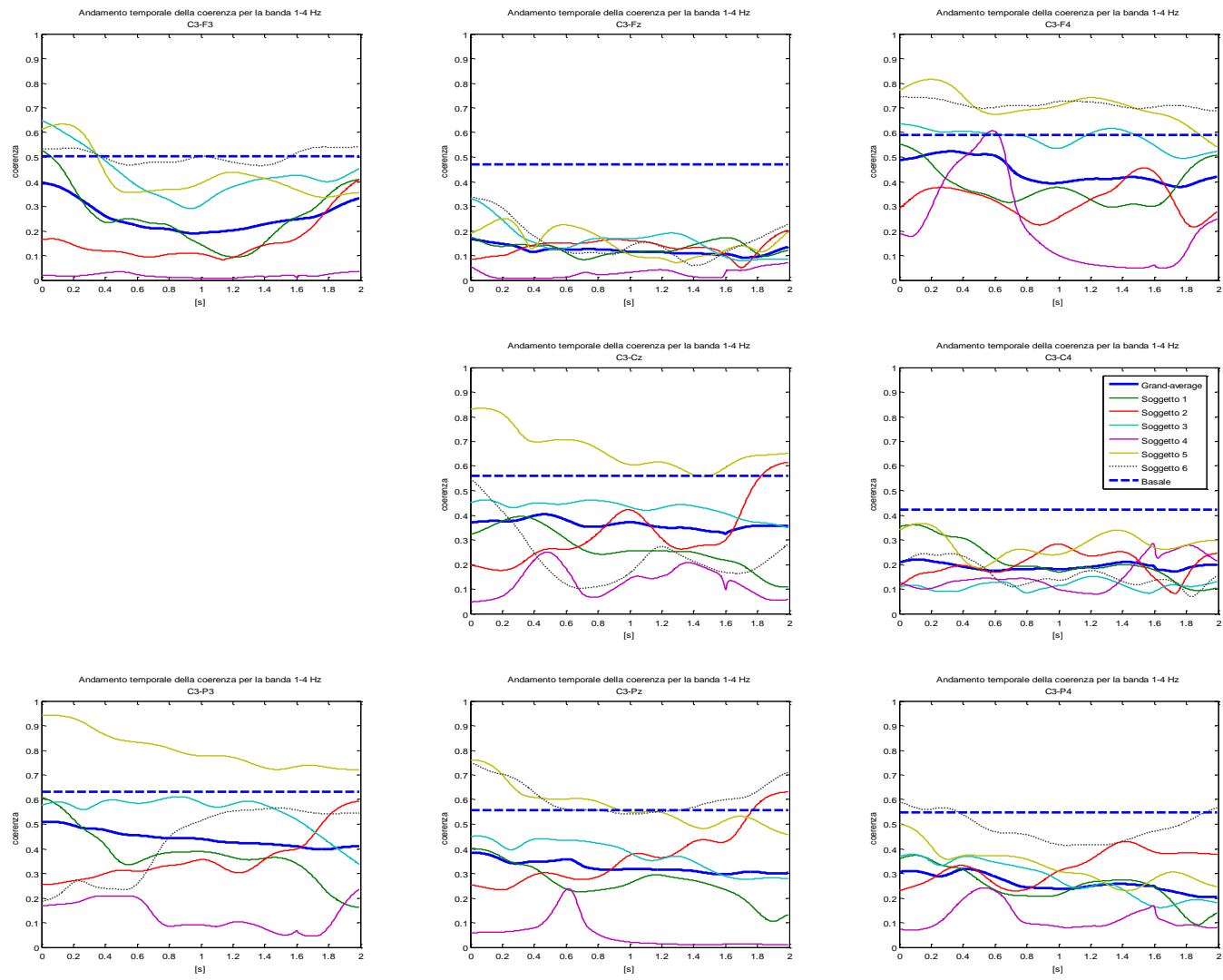


Figura 5.23: Coerenza tempo-frequenza in banda delta (1-4 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

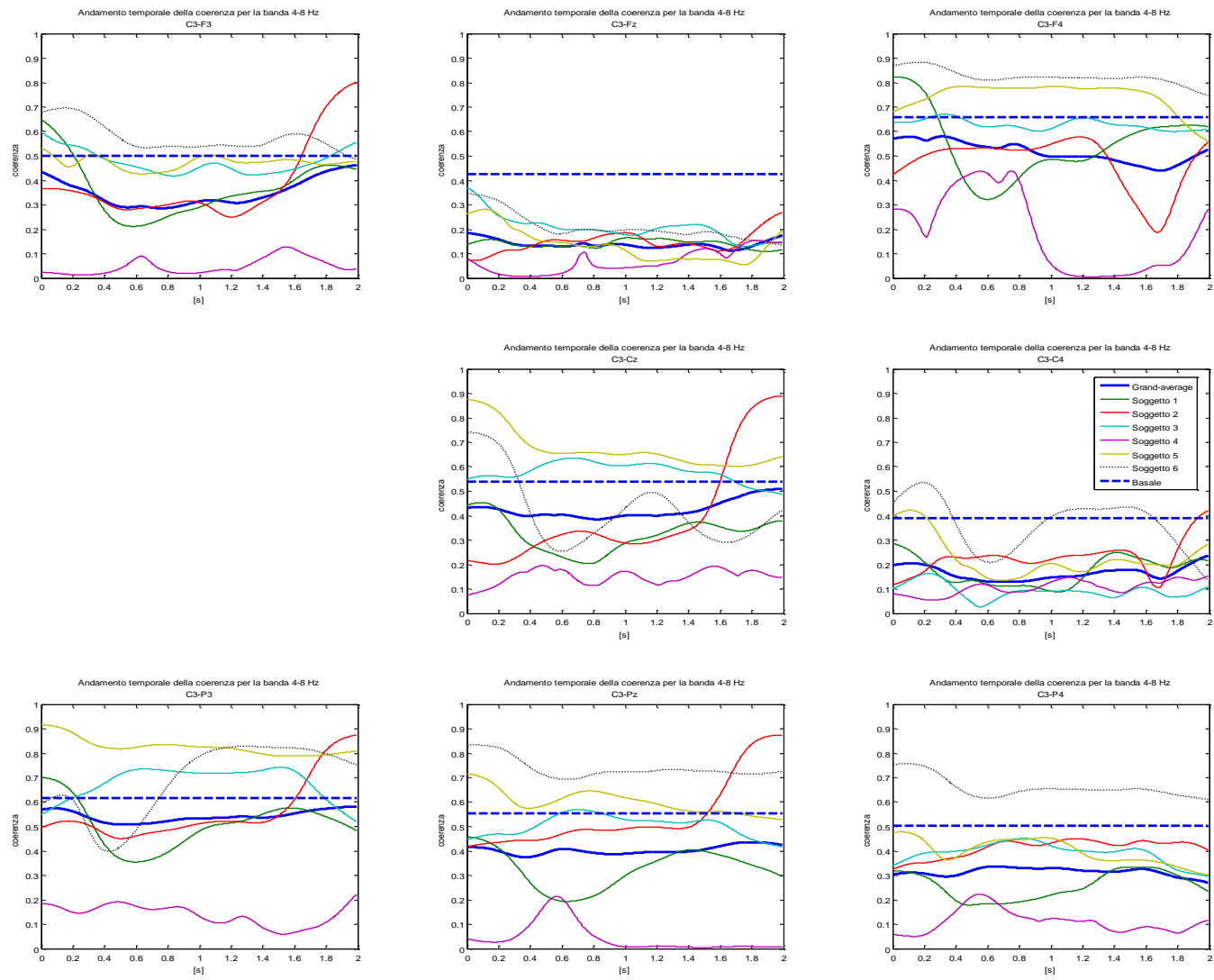


Figura 5.24: Coerenza tempo-frequenza in banda theta (4-8 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di privazione di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

5.2.5 Analisi spettrale tempo-frequenza nel sonno

Nella fase del sonno la potenza wavelet si modifica in modo diverso a seconda della banda di frequenza considerata.

Nella banda alpha (Figura 5.25), per esempio, il trend della potenza sembra essere particolarmente attenuato rispetto alle fasi di veglia e di privazione di sonno. Da questa osservazione può essere escluso solo l'elettrodo F4, che mantiene un comportamento simile. Questo risultato è confermato fisiologicamente dal fatto che nel sonno l'individuo possiede una minore reattività (vedi paragrafo 1.1.1).

Nel ritmo beta (Figura 5.26) non c'è reattività all'interno della finestra temporale considerata.

Diversa è l'influenza del sonno sulla banda delta (Figura 5.27), in cui si nota che l'andamento rimane simile a quello visto nelle fasi di veglia e di privazione di sonno. Per alcuni elettrodi il trend è addirittura più evidente, ad esempio per F3, Cz e C4.

Nel caso della banda theta, presente in Figura 5.28, si nota un aumento del fenomeno di sincronizzazione presente in quasi tutti gli elettrodi. Anche in questo caso la sincronizzazione risulta spesso maggiore rispetto alla condizione di veglia.

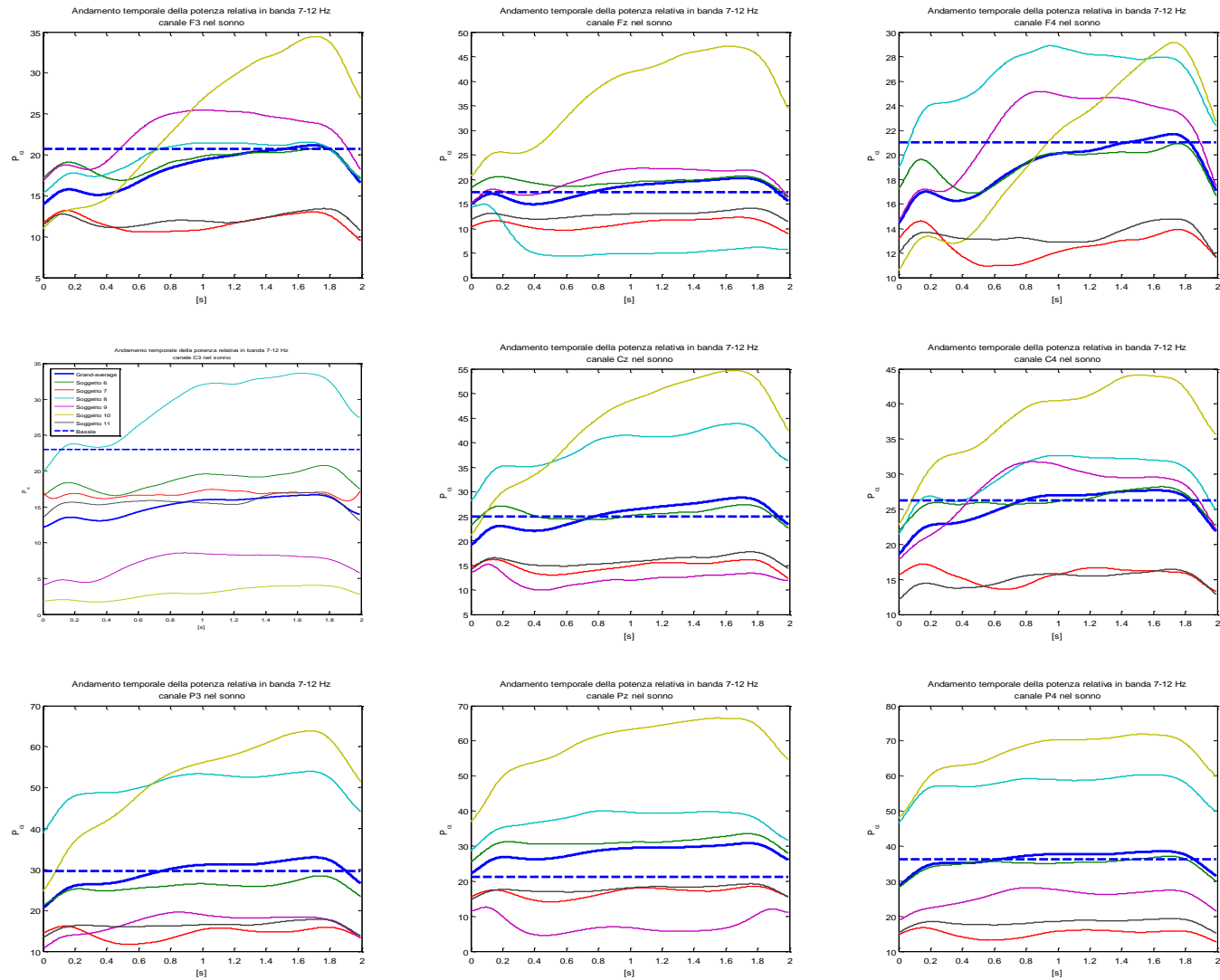


Figura 5.25: Andamento temporale della potenza wavelet in banda alpha (7-12 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

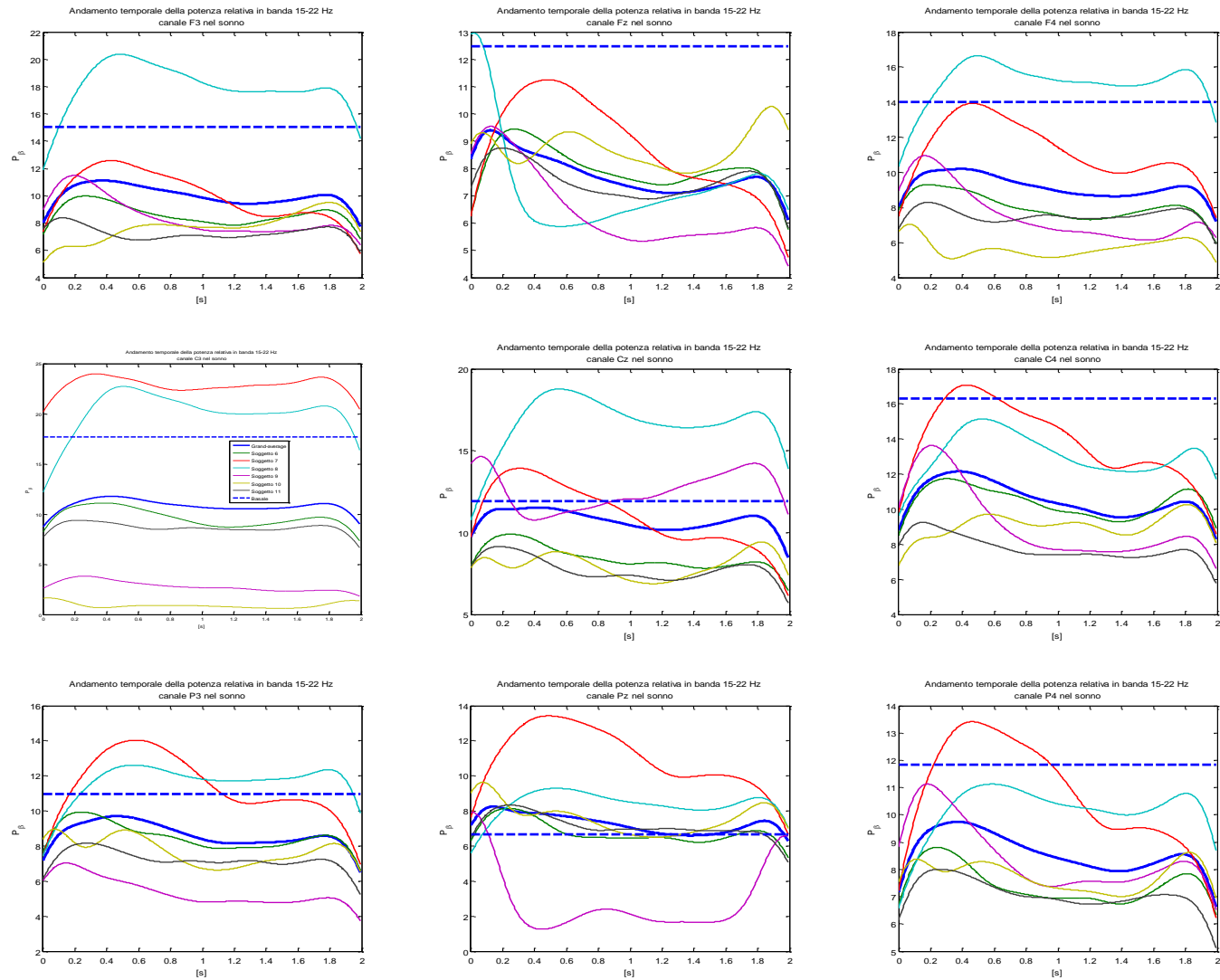


Figura 5.26: Andamento temporale della potenza wavelet in banda beta (15-22 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

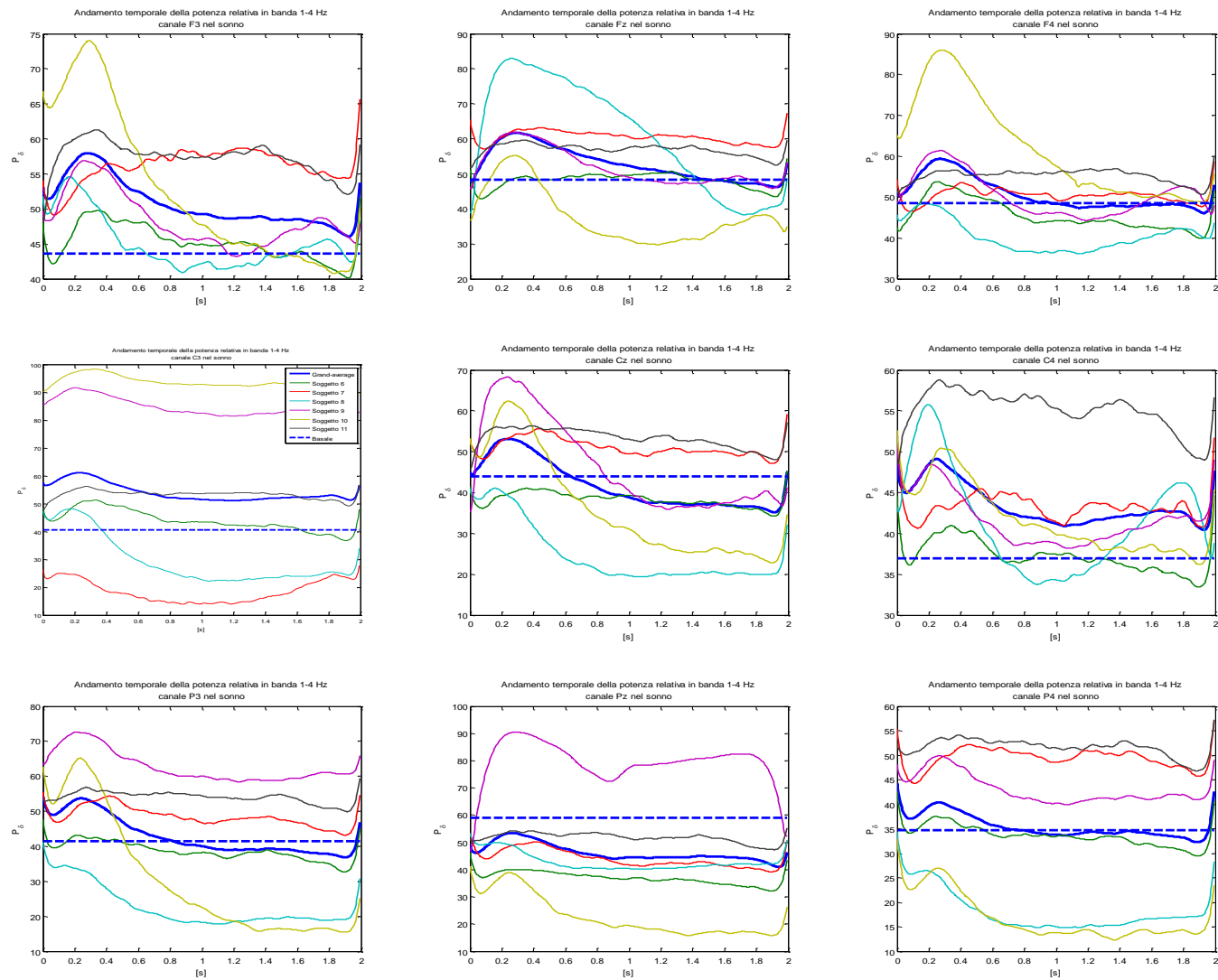


Figura 5.27: Andamento temporale della potenza wavelet in banda delta (1-4 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

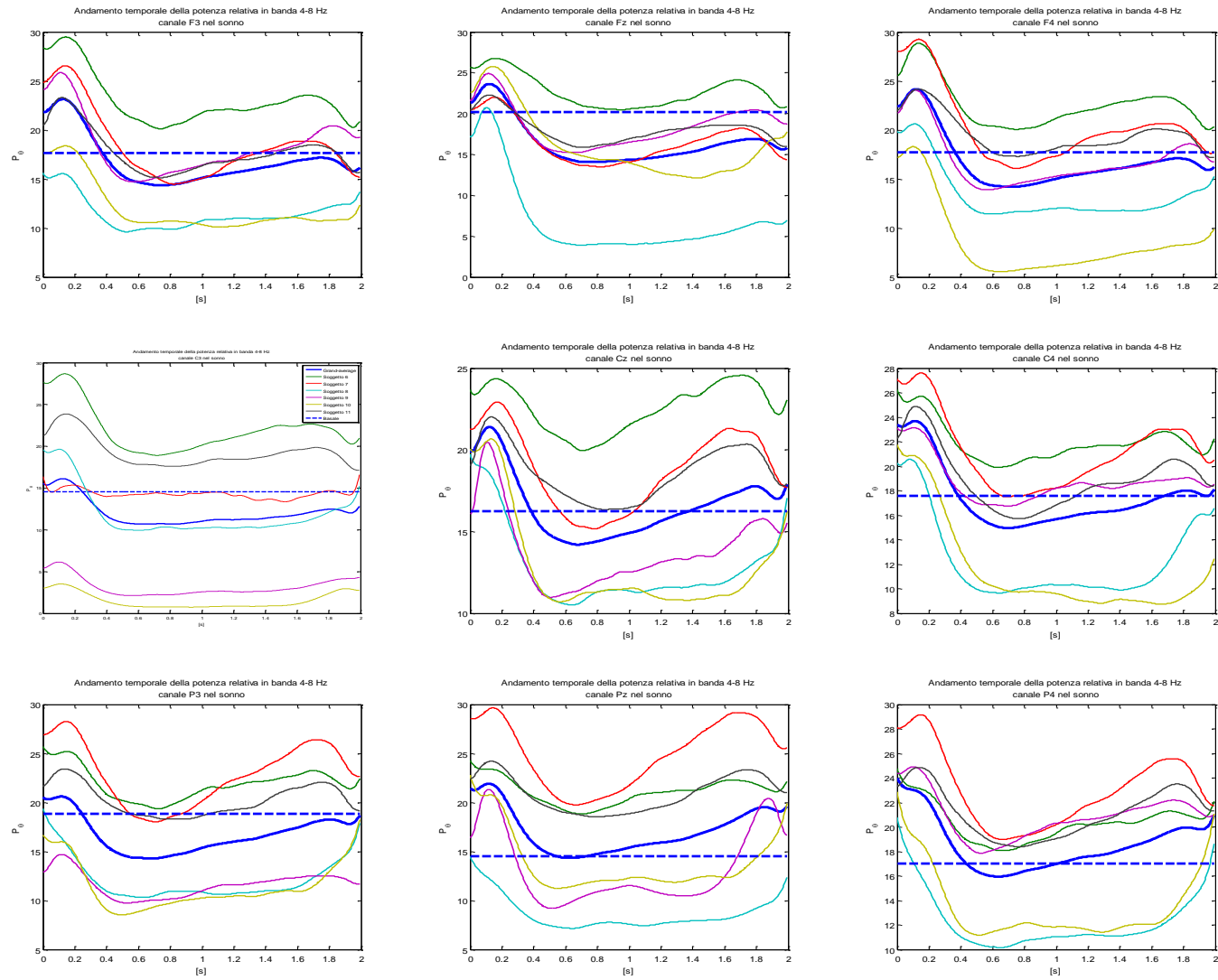


Figura 5.28: Andamento temporale della potenza wavelet in banda theta (4-8 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase di sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a un diverso elettrodo.

5.2.6 Analisi di coerenza tempo-frequenza nel sonno

In condizioni di sonno non si notano andamenti particolari della coerenza tempo-frequenza per le 4 bande analizzate (Figure 5.29, 5.30, 5.31 e 5.32). Dal confronto con le altre fasi (veglia e sonno) si deduce una maggiore e diffusa desincronizzazione tra le aree cerebrali sottoposte all'analisi di coerenza.

5.2.7 Confronto tra i due gruppi di studio

Per quanto riguarda l'analisi spettrale tempo-frequenza confrontando i due gruppi analizzati (primo gruppo vs secondo gruppo in stato di veglia) si può osservare come, nella maggior parte dei casi, gli andamenti di ciascuna delle bande siano confrontabili tra loro sebbene sia rilevabile allo stesso tempo un effetto meno evidente per quanto riguarda i soggetti del secondo gruppo. Probabilmente questo fenomeno è dovuto al breve tempo di interstimolo presente nel secondo gruppo per cui il sistema non riesce completamente a recuperare una condizione di riposo come invece accade in assenza di stimoli magnetici.

Per quanto riguarda, invece, l'analisi di coerenza tempo-frequenza, confrontando nuovamente i due gruppi analizzati (primo gruppo vs secondo gruppo in stato di veglia), la differenza nei risultati può essere imputata al differente tipo di protocollo utilizzato. I brevi tempi di interstimolo che caratterizzano il secondo gruppo sembrano inibire l'effetto della TMS sulla coerenza tra i vari elettrodi.

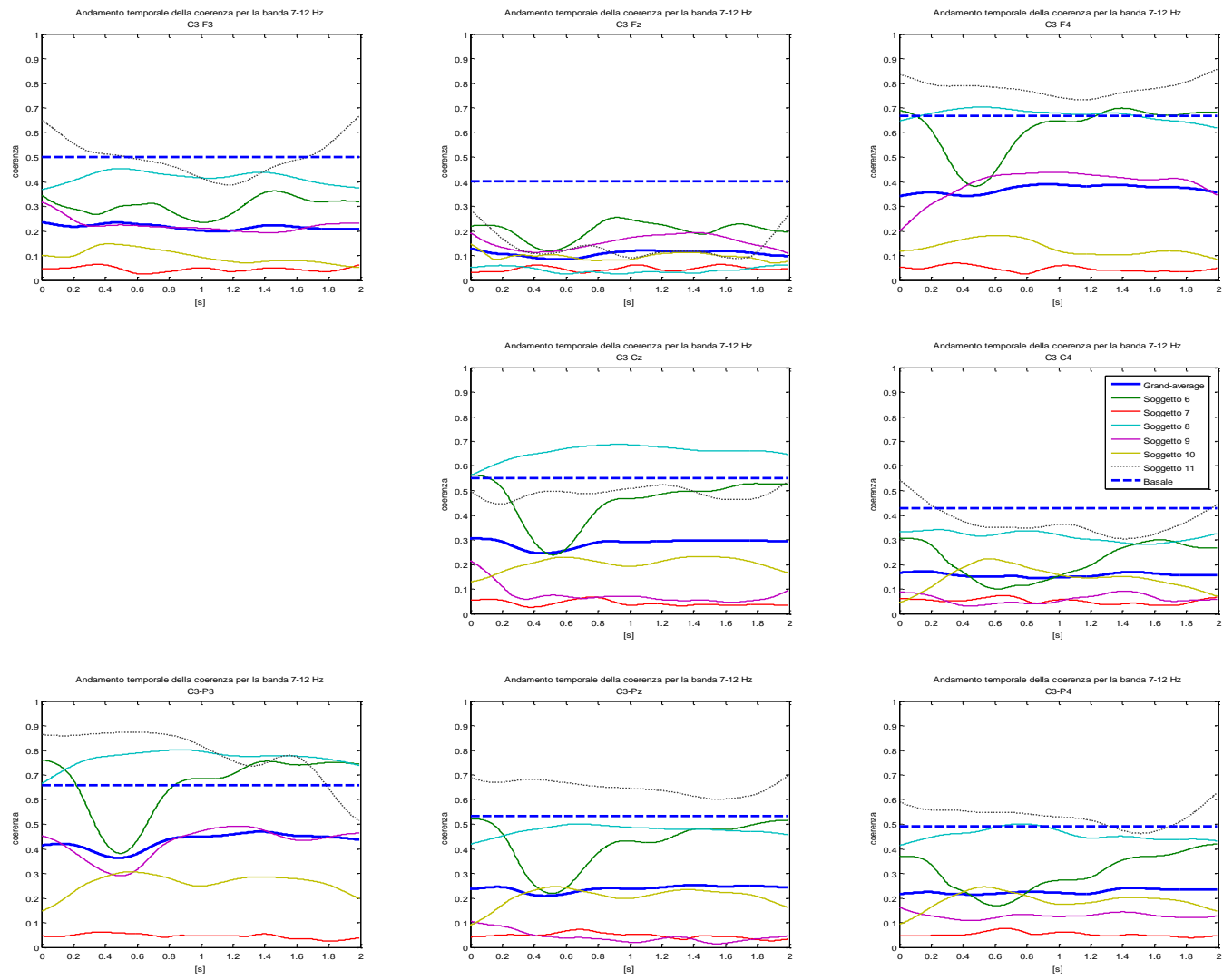


Figura 5.29: Coerenza tempo-frequenza in banda alpha (7-12 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase del sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

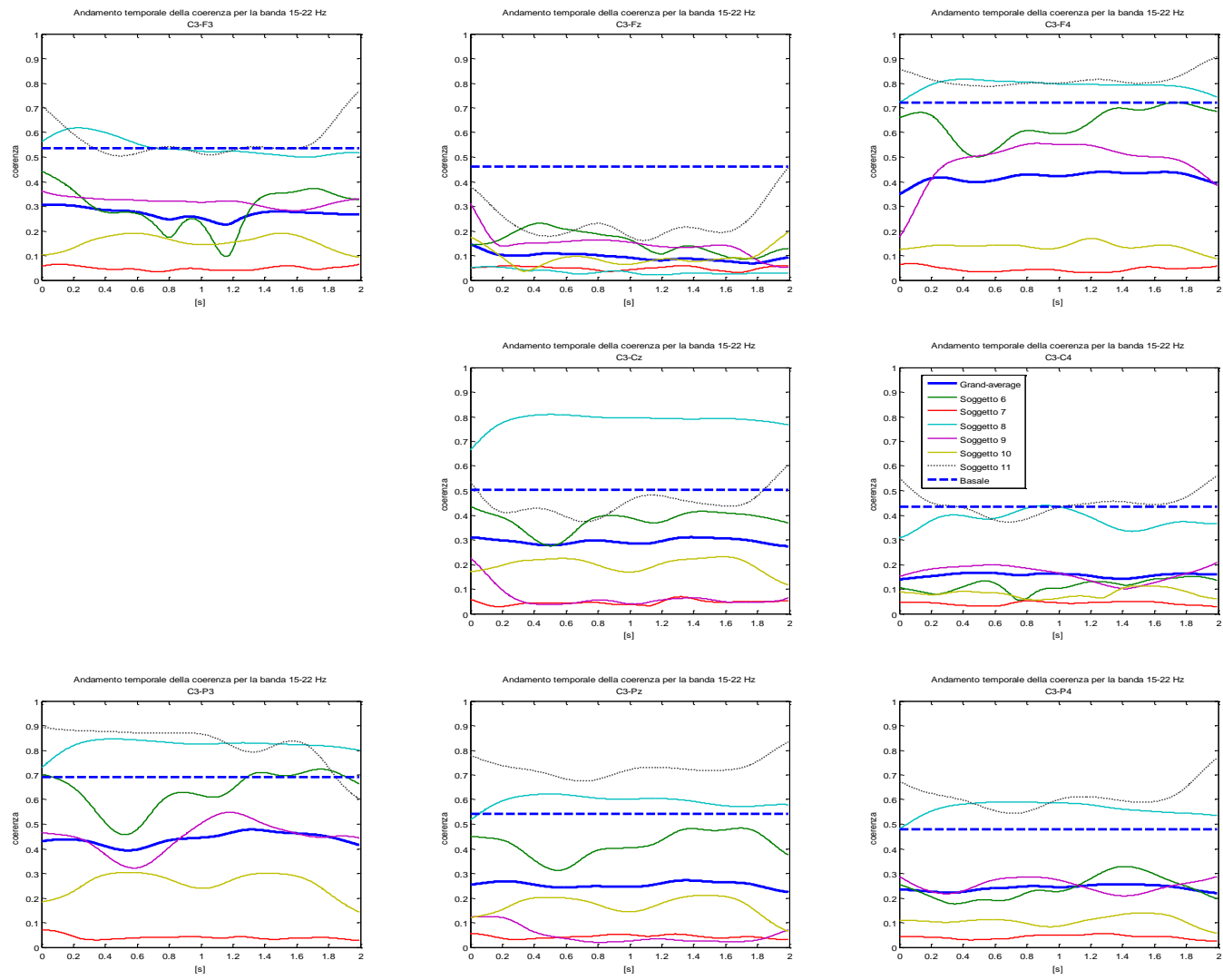


Figura 5.30: Coerenza tempo-frequenza in banda beta (5-22 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase del sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.



Figura 5.31: Coerenza tempo-frequenza in banda delta (1-4 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase del sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.



Figura 5.32: Coerenza tempo-frequenza in banda teta (4-8 Hz) del secondo gruppo di soggetti nella fase del sonno. Sono rappresentati i due secondi successivi allo stimolo. Ogni grafico corrisponde a una diversa coppia di elettrodi.

6. CONCLUSIONI

L'obiettivo di questa tesi è lo studio delle modificazioni indotte dalla TMS nell'attività cerebrale. Infatti la TMS applicata a livello della corteccia motoria dominante, ad una intensità inter-individuale predefinita (110% della soglia motoria), evoca una serie riproducibile di pattern a carico dei differenti ritmi oscillatori dell'encefalo. Il nostro studio evidenzia un elemento non precedentemente noto: le attività oscillatorie dell'encefalo presentano differente reattività alla TMS nelle diverse bande di frequenze osservate e soprattutto sono influenzate dallo stato di vigilanza, in particolare dalla privazione di sonno e dal sonno nei soggetti sani indagati. A tal fine, invece di impiegare le tradizionali tecniche di analisi spettrali e coerenza, ci si è proposti di utilizzare l'analisi tempo-frequenza. Questo passo si è reso necessario dalla caratteristica di non stazionarietà dei segnali derivanti dalla coregistrazione di EEG e TMS.

Grazie all'utilizzo di Matlab, sono state implementate diverse funzioni per studiare l'andamento temporale degli spettri dei segnali in ciascuno dei ritmi cerebrali e la coerenza tempo-frequenza, utile per analizzare le connessioni presenti tra le varie aree dell'encefalo.

Come si può notare dai risultati mostrati nel quinto capitolo si evidenzia un diverso comportamento presente per ciascuna delle bande di frequenza analizzate. Per il ritmo alpha è presente, in entrambi i gruppi di soggetti analizzati, una fase di desincronizzazione nel post-stimolo seguita da un 'rebound' che riporta la potenza relativa in prossimità del suo valore basale. Tale caratteristica ci consente di ipotizzare, così come si narra in letteratura, che la TMS abbia un effetto temporaneo di 'reset' sull'attività cerebrale nelle bande veloci, trascorso il quale l'attività dell'encefalo torna ai suoi valori in assenza di stimoli (Figura 6.1).

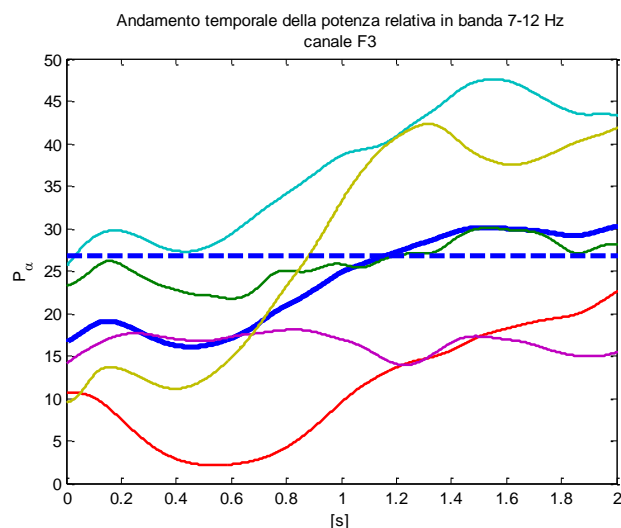


Figura 6.1: Andamento temporale della potenza relativa in banda alpha per il primo gruppo di soggetti.

Nella banda beta si è osservata una breve diminuzione iniziale della potenza seguita da una sincronizzazione presente in entrambi i gruppi di soggetti considerati.

Grande interesse ha presentato l'indagine sui ritmi lenti (delta e theta), i cui dati in letteratura non sono ancora presenti. Lo studio in tal caso ha dato dei risultati sorprendenti dimostrando un effetto opposto rispetto ai ritmi alpha e beta, ossia un effetto iniziale di ipersincronizzazione, terminato il quale, la potenza torna nel range che ha abitualmente in condizione di riposo. Questo fenomeno è presente in modo abbastanza evidente in tutti i soggetti analizzati e per quasi tutti gli elettrodi che sono stati oggetto dello studio.

Confrontando tra loro i grafici corrispondenti dei due gruppi di soggetti si è riscontrato come la variabilità della potenza sia inferiore per il secondo gruppo. Tale caratteristica è stata imputata alla diversa modalità del protocollo di acquisizione: probabilmente il breve tempo di interstimolo presente nel secondo gruppo di soggetti non consente alla potenza di recuperare completamente il suo stato di riposo.

Nelle Figure 6.2 e 6.3 si può osservare il fenomeno appena esposto per quanto riguarda le bande alpha (7-12 Hz) e delta (1-4 Hz). In questi grafici la potenza relativa di ogni soggetto è stata normalizzata rispetto al proprio basale medio.

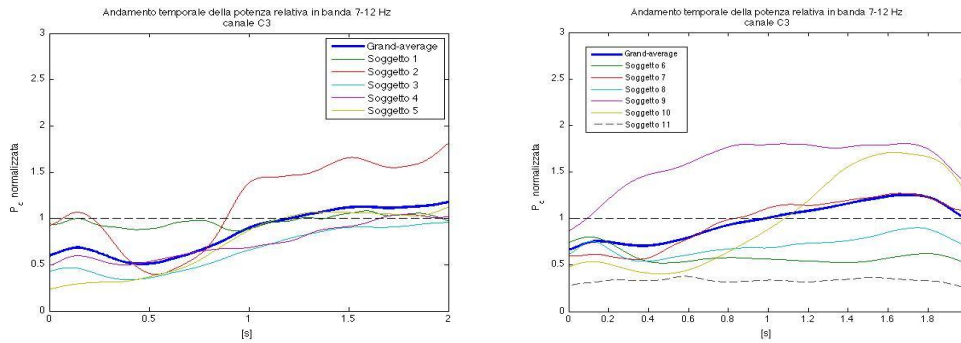


Figura 6.2: Confronto dell'andamento temporale della potenza relativa in banda alpha tra i 2 gruppi di soggetti analizzati. I due grafici sono stati normalizzati rispetto al tracciato basale medio. In blu è presente la Grand-average che dimostra un effetto attenuato della TMS nel secondo gruppo di soggetti.

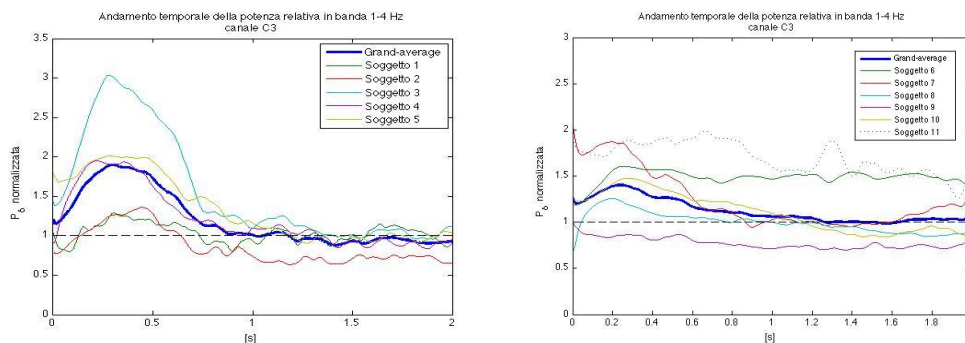


Figura 6.3: Confronto dell'andamento temporale della potenza relativa in banda delta tra i 2 gruppi di soggetti analizzati. I due grafici sono stati normalizzati rispetto al tracciato medio basale. In blu è presente la Grand-average che dimostra un effetto attenuato della TMS nel secondo gruppo di soggetti.

L'analisi della coerenza tempo-frequenza ha dato pochi risultati soddisfacenti, soprattutto per quanto riguarda il secondo gruppo di soggetti in cui l'andamento delle Grand-average risulta essere quasi piatto e l'unica caratteristica comune ad alcuni elettrodi è una diffusa desincronizzazione tra le aree indagate rispetto alla coerenza ricavata dal tracciato privo di stimoli.

Nel primo gruppo lo studio della coerenza wavelet ha permesso di evidenziare un aumento di coerenza (Figura 6.4) tra gli elettrodi C3 e C4 in banda alpha come è riportato in letteratura [31].

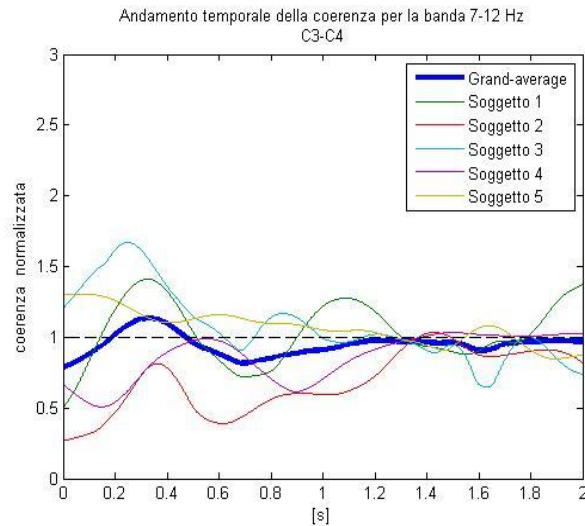


Figura 6.4: Coerenza tempo-frequenza che registra un aumento di coerenza per la coppia di elettrodi C3-C4 per la banda alfa a circa 300 ms dallo stimolo.

Una menzione particolare merita l'analisi dei soggetti del secondo gruppo che sono stati sottoposti all'esame in tre diverse condizioni: veglia, privazione di sonno e sonno.

Anche in questo caso si è evidenziato il diverso comportamento delle bande di frequenza. La differenza tra lo stato di veglia e quello di privazione di sonno è molto limitata. Si possono comunque notare in alcuni elettrodi dei ritmi lenti (delta e theta) delle sincronizzazioni più evidenti rispetto allo stato di veglia.

Per quanto concerne la diversità tra i primi due stati e il sonno si nota come i ritmi veloci risultano essere attenuati nella fase del sonno (Figura 6.5), mentre i ritmi lenti rimangono ad un ampiezza simile o aumentano (Figura 6.6).

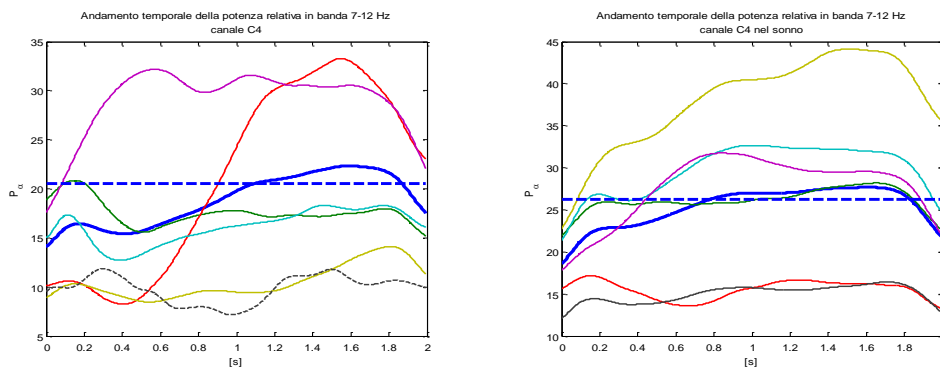


Figura 6.5: Andamento temporale della potenza relativa in banda alpha nello stato di veglia (a) e nel sonno (b). Si osserva una diminuzione della desincronizzazione iniziale e il valore basale medio viene recuperato in un intervallo di tempo inferiore nel caso del sonno.

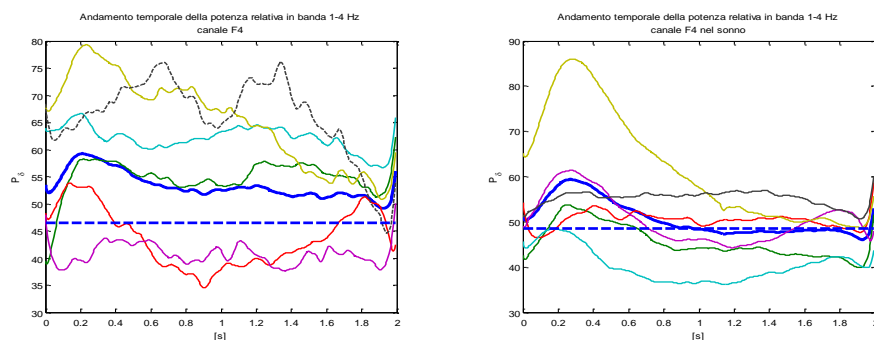


Figura 6.6: Andamento temporale della potenza relativa in banda delta nello stato di veglia (a) e nel sonno (b). Nella veglia il recupero della condizione basale è lento e incompleto mentre nel sonno la sincronizzazione è molto più rapida e definita.

Ciò è giustificato anche dalla fisiologia del sonno secondo cui nei diversi stadi del sonno sono presenti principalmente le onde delta e theta mentre diminuiscono le alpha e le beta (paragrafo 1.1.1).

In conclusione questo studio, nato come integrazione di uno studio già precedentemente avviato, ha permesso di creare un metodo robusto di analisi di potenza wavelet e di coerenza tempo-frequenza applicabile a differenti data set di soggetti in diverse condizioni. In particolare l'applicazione del metodo applicato al secondo gruppo di studio ha permesso di comprendere anche quanto sia importante impostare in acquisizione un corretto tempo di interstimolo tra gli impulsi di TMS al fine di poter valutare appieno la risposta cerebrale ad esso conseguente.

BIBLIOGRAFIA

- [1] G.C. Balboni, et al., “Encefalo in Anatomia Umana”, Ristampa 2000, Milano, Edi. Ermes s.r.l., vol. 3, pag. 50, 1976.
- [2] M. Kobayashi, A. Pascual-Leone, “Transcranial magnetic stimulation in neurology”, *Lancet Neurology* vol. 2, pp. 145-156, 2003.
- [3] A.T. Sack, D.E.J. Linden, “Combining transcranial magnetic stimulation and functional imaging in cognitive brain research: possibilities and limitations”, *Brain Research Reviews*, vol. 43, pp. 41-56, 2003.
- [4] V.V. Nikulin, D. Kičić, S. Kähkönen, R.J. Ilmoniemi, “Modulation of electroencephalographic response to transcranial magnetic stimulation: evidence for changes in cortical excitability related to movement”, *European Journal of Neuroscience*, vol. 18, pp. 1206-1212, 2003.
- [5] S. Kähkönen, J. Wilenius, Soile Komssi, R.J. Ilmoniemi, “Distinct difference in cortical reactivity of motor and prefrontal cortices to magnetic stimulation”, *Clinical Neurophysiology*, vol. 115, pp. 583-588, 2004.
- [6] T. Paus, “Imaging the brain before, during, and after transcranial magnetic stimulation”, *Neuropsychologia*, vol. 37, pp. 219-224, 1999.
- [7] G.W. Price, “EEG-dependent ERP recording: using TMS to increase the incidence of a selected pre-stimulus pattern”, *Brain Research Protocols*, vol. 12, pp. 144-151, 2004.
- [8] G. Fuggetta, E.F. Pavone, V. Walsh, M. Kiss, M. Eimer, “Corticocortical interactions in spatial attention: A combined ERP/TMS study”, *Journal of Neurophysiology*, vol. 95, pp. 3277-3280, 2006.
- [9] G. Thut, J.R. Ives, F. Kampmann, M.A. Pastor, and A. Pascual-Leone, “A new device and protocol for combining TMS and online recordings of EEG and evoked potentials”, *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 141, no. 2, pp. 207-217, 2005.
- [10] F. Morbidi, A. Garulli, D. Prattichizzo, C. Rizzo, S. Rossi, “Application of Kalman filter to remove TMS-induced artifacts from EEG recordings”, *IEEE Transaction on control system technology*, vol.16, no. 6, Novembre 2008.
- [11] S.I. Goncalves, J.C. de Munck, P.J. W. Pouwels, R. Schoonhoven, J.P.A.

- Kuijjer, N.M. Maurits, J.M. Hoogduin, E.J.W. van Someren, R.M. Heethaar, F.H. Lopes da Silva, "Correlating the alpha-rhythm to BOLD using simultaneous EEG/fMRI: inter-subject variability", *NeuroImage*, vol. 30, pp. 203-213, 2006.
- [12] P. Manganotti, L.G. Bongiovanni, G. Fuggetta, G. Zanette, A. Fiaschi, "Effects of sleep deprivation on cortical excitability in patients affected by juvenile myoclonic epilepsy: a combined transcranial magnetic stimulation and EEG study", *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, vol. 77, pp. 56-60, 2006.
- [13] R. Merletti, P.A. Parker, "Electromyography, physiology, engineering and noninvasive applications", IEEE Press, J. Wiley, Usa, 2004.
- [14] D.M. Williams, S. Sharma, M. Bilodeau, "Neuromuscular fatigue of elbow flexor muscles of dominant and non-dominant arms in healthy humans", *Journal of Electromyography and kinesiology*, vol. 12, pp. 287-294, 2002.
- [15] P.M. Rossini, A.T. Barker, A. Berardelli, M.D. Caramia, G. Caruso, R.Q. Cracco et al, "Noninvasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee", *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, vol. 91, pp. 79-92, 1994.
- [16] B. Burke Hubbard, "The world according to wavelets: the story of a mathematical technique in the making", A K Peters Ltd, Wellesley, 1998.
- [17] C. Tallon-Baudry, O. Bertrand, C. Delpuech, J. Pernier, "Stimulus specificity of phase-locked and non-phase-locked 40 Hz visual responses in human", *The Journal of Neuroscience*, vol. 16, pp. 4240-4249, 1996.
- [18] C. Tallon-Baudry, O. Bertrand, C. Delpuech, J. Pernier, "Oscillatory γ -band (30-70 Hz) activity induced by a visual search task in humans", *The Journal of Neuroscience*, vol. 17, pp. 722-734, 1997.
- [19] A. Mouraux, G.D. Iannetti, "Across-trial averaging of event-related EEG responses and beyond", *Magnetic Resonance Imaging*, vol. 26, pp. 1041-1054, 2008.
- [20] De Massari, "Analisi di Coerenza del segnale eeg durante stimolazione magnetica transcranica", Tesi di Laurea, Università degli Studi di Padova, 2008-2009.
- [21] Y. Zhan, D. Halliday, P. Jiang, X. Liu, J. Feng, "Detecting time-dependent coherence between non-stationary electrophysiological signals. A combined

statistical and time-frequency approach”, *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 156, pp. 322-332, 2006.

[22] Delorme A, Makeig S., “EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis”, *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 134, pp. 29-21, 2004.

[23] P. Taylor, V. Walsh, M. Eimer, “Combining TMS and EEG to study cognitive function and cortico-cortico interactions” *Behavioural Brain Research*, vol. 191, pp.141-147, 2008.

[24] G. Fuggetta, A. Fiaschi, P. Manganotti, “Modulation of cortical oscillatory activities induced by varying single-pulse transcranial magnetic stimulation intensity over the left primary motor area: A combined EEG and TMS study”, *NeuroImage*, vol. 27, pp.896-908, 2005.

[25] G. Thut, C. Miniussi, “New insights into rhythmic brain activity from TMS-EEG studies”, *Trends in Cognitive Sciences*, vol. 13(4), pp. 182-189, 2009.

[26] T. Paus, P.K. Sipila, P. Strafella, “Synchronization of neuronal activity in the human primary motor cortex by transcranial magnetic stimulation: an EEG study”, *Journal of Neurophysiology*, vol. 86, pp. 1983-1990, 2001.

[27] S.Cerutti, C. Marchesi, “Metodi avanzati di elaborazione di segnali biomedici”, Bologna: Pàtron Editore, 2004, pp. 191-218.

[28] J.F. Lepage, D. Saint-Amour, H. Thèoret, “EEG and neuronavigated single-pulse TMS in the study of the observation/execution matching system: Are both techniques measuring the same process?”, *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 175, pp. 17-24, 2008.

[29] L.M.F. Doyle Gaynor, A.A. Kühn, M. Dileone, V. Litvak, A. Eusebio, A. Pogosyan, A.G. Androulidakis, S. Tish, P. Limousin, A. Insola, P. Mazzone, V. Di Lazzaro, P. Brown, “Suppression of beta oscillations in the subthalamic nucleus following cortical stimulation in humans”, *European Journal of Neuroscience*, vol. 28, pp. 1686-1695, 2008.

[30] D. Veniero, M. Bortoletto, C. Miniussi, “TMS-EEG co-registration: On TMS-induced artifact”, *Clinical Neurophysiology*, vol. 120, pp. 1392-1399, 2009.

[31] E.R. Kandel, J.H. Schwartz, T.M. Jessell, “Principi di neuroscienze”, seconda edizione, Milano, Casa Editrice Ambrosiana, 1994, pp. 5-18, 791-806.

[32] P. Manganotti, C. Gerloff, C. Toro, H. Katsuta, N. Sadato, P. Zhuang, L.

Leocani, M. Hallett, "Task-related coherence and task related spectral power changes during sequential finger movements", *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, vol. 109, pp. 50-62, 1997.

[33] G. Fuggetta, E.F. Pavone, A. Fiaschi, P. Manganotti, "Acute modulation of cortical oscillatory activities during short trains of high frequency repetitive transcranial magnetic stimulations of the human motor cortex: a combined EEG and TMS study", *Human Brain Mapping*, vol. 29 (1), pp. 1-13, 2008.

RINGRAZIAMENTI

Ora, finalmente, passo la parola al cuore che forte ha battuto in quest'ultimo periodo. Sono stati giorni intensi, concentrati e arricchiti da persone speciali che, con la loro passione per la cultura scientifica, hanno saputo guidarmi in questi sei mesi.

Un grosso grazie alla prof.ssa Toffolo che mi ha dato l'opportunità di affrontare questa bella esperienza e di conoscere il professor Manganotti che sentitamente ringrazio per tutte le cose che mi ha insegnato e per le sue esemplari letture dei risultati ottenuti. Ringrazio il professor Fiaschi che mi ha accolto, con tre famigliari "pacche" sul torace, nel suo reparto.

Meritano una menzione particolare le "ingegnere" Emanuela e Silvia che hanno saputo sempre essermi vicino trasformandosi persino da psicologhe negli ultimi stressanti giorni. Il vostro entusiasmo, le chiacchierate e gli immancabili pranzi da ingegneri non li dimenticherò mai!! Grazie di tutto!

Ringrazio la dott.ssa Alessandra per la pazienza con cui mi ha seguito nella scelta dei tracciati e per la sua grande disponibilità.

Ma oltre agli ultimi sei mesi non si possono dimenticare gli anni universitari conditi dall'apprensione per gli esami, dal "nervosismo silente", dallo studio pazzo all'esu, dalla gioia dei risultati, dalle serate di festa con gli amici...

Ecco...gli amici che sicuramente rimarranno nel mio cuore, l'esperienza di tutti questi anni ci ha fatto crescere insieme per raggiungere quello che inizialmente pareva solo un sogno...

Ricordo con affetto Andrea, Enrico, Bobbina, Picci, Paola, Enrica, Sara, Luca, Scampo, Riky, Pippo, Marta, Roberta, Cristina, Fabio, Ciak, Matteo, Spola, Bruno, Mattia, Laura, Marco, Alberto, Alessandro, Ilaria, Giacomo, Daniele e molti altri...grazie perché anche solo con un vostro sorriso avete reso ancora più bella quest'avventura.

Poi voglio ricordare l'ultimo anno in appartamento, quante emozioni, quanti sorrisi, solo il ricordo dei bellissimi momenti vissuti insieme con Andrea ed Enrico mi commuove ancor'oggi...Grazie per la vostra simpatia, per le esperienze europee condivise, per l'amicizia che ci lega e soprattutto per avermi sopportato per così tanto tempo! Anche se ora siete lontani vi porto con me!

Ora tocca agli amici di Castelcerino e provincia, finalmente è arrivato il momento di pagare da bere e di fare festa, ringrazio tutti per il sostegno e per la vostra amicizia. Un pensiero particolare va senz'altro al Piuba con cui ho condiviso liceo, concerti, esperienze sportive e non; al Beppe che tra bici, palestra e vacanze al limite delle possibilità fisiche non è ancora riuscito ad abbattermi e ad Alex che ha caratterizzato gli anni a Parma e che dall'Inghilterra sicuramente starà pensando a me in questi giorni. Queste tre persone sono amici veri, persone che stimo molto e su cui so di poter sempre contare, grazie di cuore per la vostra preziosa amicizia!

La famiglia è stata sempre fondamentale per me. Spesso sfogavo su di loro le mie preoccupazioni, i momenti di difficoltà e nonostante questo mi sono sempre sentito sostenuto e incoraggiato...

Un pensiero speciale al Guerra, il nonno con cui, oltre alle notti, ho condiviso tante chiacchierate, che mi hanno insegnato e lo fanno tutt'ora una miriade di cose attraverso i racconti lucidi delle sue esperienze passate. Non posso non citare le nonne e in particolare la nonna Imelda che senz'altro dal Cielo mi ha aiutato a coronare questo sogno!

Mamma e papà, grazie per l'investimento economico, per avermi aspettato fino adesso ma ora gioite con me per questo traguardo, grazie soprattutto per i consigli, per le "ramanzine" senza le quali difficilmente sarei arrivato fino a qui.

Checa, una sorella che chiunque vorrebbe avere (forse sono un po' troppo ruffiano??!), grazie per l'esempio che sei sempre stata, per la fiducia che hai sempre riposto in me anche quando io stesso dubitavo delle mie capacità...

L'ultimo grazie va alla persona che da un anno e mezzo ormai ha dipinto di gioia la mia vita e con il suo Amore mi ha dato la forza per superare momenti difficili e intensi. Grazie per avermi sopportato in tutto questo tempo, per i tuoi sorrisi e per non aver mai smesso di credere in me!

Abbraccio forte tutte queste persone e anche quelle che, non meno importanti, ahimè ho dimenticato, Vi ringrazio davvero per essere stati partecipi di questo sogno che oggi finalmente diventa realtà!!!