



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA

***IMPATTO DI DIVERSE PARCELLIZZAZIONI SUL CALCOLO DELLA
CONNETTIVITÀ FUNZIONALE CON EEG AD ALTA DENSITÀ***

Relatore:

Ch.ma Prof.ssa Alessandra Bertoldo

Correlatore:

Ing. Ilaria Mazzonetto

Laureanda:

Silvia Barberini

Anno accademico 2023/2024

Indice

1. Introduzione	5
2. Analisi della connettività funzionale tramite EEG	7
2.1 Il segnale EEG	8
2.1.1 Posizionamento degli elettrodi	9
2.1.2 Limiti dell'EEG.....	10
2.2 Ricostruzione delle sorgenti.....	12
2.2.1 Problema diretto	12
2.2.2 Problema inverso.....	17
2.3 Connettività funzionale	20
2.3.1 Phase Lag Index (PLI).....	21
2.3.2 Network cerebrali	22
2.3.3 Gli atlanti neurali.....	23
3. Materiale e metodi	25
3.1 Acquisizione dei dati e pre-processing	25
3.2 Pipeline dei dati.....	27
3.2.1 Analisi statica della Functional Connectivity.....	27
3.2.2 Analisi dinamica della Functional Connectivity	30
4. Risultati e discussione	32
4.1 Analisi statica della Functional Connectivity	32
4.2 Analisi dinamica della Functional Connectivity	40
5. Conclusione	44
Bibliografia	47

Capitolo 1

Introduzione

Lo studio delle comunicazioni tra le diverse aree del cervello interessa da anni le ricerche dei neuroscienziati per via della complessità delle attività combinate di diverse reti cerebrali [1]. Queste aree risultano essere associabili sia sotto un punto di vista puramente anatomico, sia sotto un punto di vista funzionale. Al fine di mappare le interazioni tra le differenti zone si sono sviluppate nel tempo molteplici tecniche di neuroimaging, la più conosciuta delle quali è la risonanza magnetica funzionale (fMRI). L'fMRI è una tecnica non invasiva risalente al 1990 [2] che misura l'ossigenazione ematica nel tempo (segnale BOLD, Blood Oxygenation Level Dependent) in risposta a diversi stimoli simulati in task specifici; questo permette di individuare l'attivazione cerebrale, in condizioni fisiologiche o patologiche, sotto dei precisi stimoli grazie alla generazione di mappe di attivazione che evidenziano le specifiche aree del cervello attive in quel preciso istante temporale.

Nonostante disponga di un'ottima risoluzione spaziale, l'fMRI presenta dei limiti dal punto di vista della risoluzione temporale. Proprio per questo, spesso le informazioni spaziali derivate dalla risonanza magnetica funzionale vengono integrate con le informazioni derivate dall'elettroencefalografia (EEG). Tramite l'utilizzo di specifici elettrodi posizionati sul cuoio capelluto, l'EEG permette di acquisire ad una risoluzione dell'ordine di ms dei segnali della zona corticale del cervello, analizzabili sia nel dominio del tempo che della frequenza.

Come nel caso della risonanza magnetica funzionale anche lo studio dei segnali elettroencefalografici permette di indagare in che modo determinate aree del cervello collaborino tra di loro al fine di svolgere delle specifiche attività. Oltre alla comprensione dei meccanismi alla base delle funzioni cognitive, queste tecniche permettono anche di individuare delle possibili attività anomale in soggetti affetti da patologie di tipo neurodegenerativo, quali Alzheimer e Parkinson.

Per interpretare in modo efficace tali dati, durante l'analisi si ricorre spesso a degli atlanti cerebrali standardizzati, che dividono il cervello in regioni anatomiche o funzionali, consentendo così di collegare l'attività registrata ad una specifica regione cerebrale. Attraverso la parcellizzazione, ossia la suddivisione del volume cerebrale in aree differenti (parcelle), è possibile ottenere una mappatura delle regioni cerebrali. Al giorno d'oggi sono stati sviluppati molteplici atlanti del cervello umano che consentono di associare l'anatomia del cervello alle funzioni cognitive da esso svolte. Non esistendo un metodo standard di parcellizzazione che ci permetta di identificare in maniera univoca in che modo le reti neurali comunichino tra di loro, la scelta dell'atlante dipende spesso sia dalla tecnica utilizzata che dalle ipotesi dello studio.

Gli atlanti neurali ci permettono dunque di andare a studiare la connettività funzionale tramite l'EEG. Infatti la connettività cerebrale può essere analizzata in maniera differente sulla base delle interazioni tra le varie reti cerebrali. In questo studio si è incentrato sulla connettività funzionale, la quale si basa sulle connessioni statistiche tra le reti neurali, valutando dunque la funzione che esse svolgono e non la posizione anatomica in cui sono collocate.

Lo scopo di questa tesi è stato dunque quello di studiare l'impatto di differenti parcellizzazioni sul calcolo della connettività funzionale con l'ausilio di segnali EEG ad alta densità. In particolare, è stato di nostro interesse lo studio di due specifici atlanti: il Brainnetome e lo Schaefer. L'Atlante Schaefer si basa solo su dati di connettività funzionale, mentre il Brainnetome utilizza un approccio multimodale che combina connettività strutturale e funzionale. Al fine di valutare quale dei due atlanti presenti una miglior parcellizzazione per il calcolo della connettività funzionale sono state svolte delle specifiche analisi statistiche e matematiche.

Capitolo 2

Analisi della Connettività Funzionale tramite EEG

L'analisi della connettività funzionale tramite EEG (elettroencefalografia) consente di esplorare le interazioni tra diverse regioni cerebrali con una risoluzione temporale dell'ordine di ms. Tuttavia, la risoluzione spaziale dell'EEG è limitata, in quanto i segnali registrati provengono dalla superficie dello scalpo, mentre l'attività elettrica cerebrale ha origine all'interno del cervello. Per questo negli ultimi decenni si utilizzano tecniche di ricostruzione delle sorgenti, ossia metodi di analisi il cui obiettivo è stimare le fonti intracerebrali (sorgenti) che generano i segnali osservati in superficie. I montaggi EEG ad alta densità, con un numero di elettrodi superiori al centinaio, migliorano la capacità di affrontare questo problema. Con una maggiore copertura, è possibile infatti raccogliere dati più dettagliati, che consentono l'applicazione di algoritmi di ricostruzione delle sorgenti per stimare con maggiore precisione le aree cerebrali da cui provengono i segnali. La combinazione di montaggi ad alta densità e tecniche avanzate di risoluzione del problema inverso rende l'EEG una potente risorsa per identificare le sorgenti sottostanti l'attività elettrica e mappare con più accuratezza la connettività funzionale tra diverse regioni del cervello. La connettività funzionale viene misurata analizzando le relazioni tra i segnali elettrici registrati in diverse posizioni dello scalpo per poter quantificare l'intensità delle interazioni tra regioni corticali. Queste analisi sono essenziali per comprendere i network cerebrali coinvolti in processi cognitivi complessi, come l'attenzione, la memoria o il linguaggio, e possono fornire importanti informazioni sul funzionamento anomalo di tali network in condizioni patologiche come l'epilessia, la schizofrenia e altri disturbi neurologici e psichiatrici.

2.1 Il segnale EEG

Il segnale EEG è un segnale bioelettrico acquisito a livello dello scalpo mediante degli specifici elettrodi, capaci di misurare l'attività elettrica cerebrale spontanea o evocata. Si ottiene dunque dalla misurazione della differenza di potenziale elettrico generata dalla propagazione del flusso di corrente indotto dai potenziali post-sinaptici dei neuroni piramidali. Il segnale EEG è un'onda complessa caratterizzata da un insieme di onde che si distinguono in base alla loro forma e alla frequenza in cui si presentano (Figura 1). Queste forme d'onda sono cinque [3]:

- *Onda Delta*: questo ritmo si trova a una frequenza compresa tra i 0.5 e i 4 Hz e viene solitamente registrato nella fase di sonno che segue l'addormentamento e precede la fase REM;
- *Onda Theta*: questo ritmo si trova a una frequenza compresa tra i 4 e gli 8 Hz e caratterizza i primi momenti dell'addormentamento in un soggetto sano, ma si presenta anche in molte patologie nei soggetti adulti;
- *Onda Alpha*: questo ritmo si trova a una frequenza compresa tra gli 8 e i 13 Hz e viene solitamente registrato in un soggetto sveglio con gli occhi chiusi in una fase di veglia;
- *Onda Beta*: questo ritmo si trova a una frequenza compresa tra i 13 e i 30 Hz e viene solitamente registrato in un soggetto sveglio ad occhi aperti;
- *Onda Gamma*: questo ritmo si può presentare per frequenze superiori a 30 Hz durante le fasi di piena attività del cervello, quali ad esempio le fasi di apprendimento.

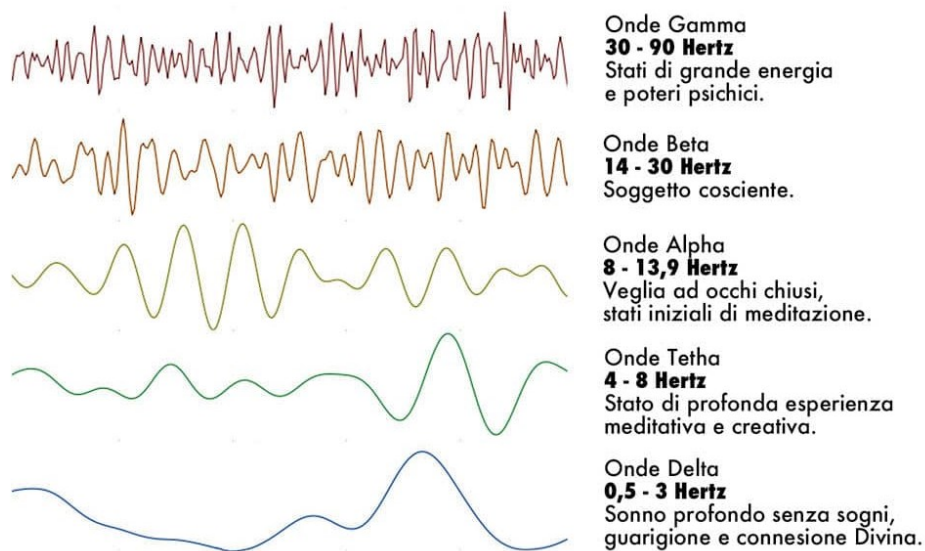


Figura 1: Rappresentazione delle 5 onde osservabili in un EEG e corrispondenti frequenze e stati in cui si presentano [3].

2.1.1 Posizionamento degli elettrodi

La scelta del numero di elettrodi da utilizzare è affidata principalmente a due tecniche: il metodo a bassa densità, anche detto sistema 10-20, e il metodo ad alta densità.

Il sistema a bassa densità prevede l'utilizzo di massimo 21 elettrodi [4]. Viene comunemente chiamato "sistema 10-20" in riferimento alla distanza percentuale tra gli elettrodi: ogni elettrodo deve distare da quello più vicino di una quantità pari al 10% o al 20% della distanza tra i due punti di repere cranici "inion" e "nasion", oppure della distanza tra i punti preauricolari destro e sinistro (Figura 2).

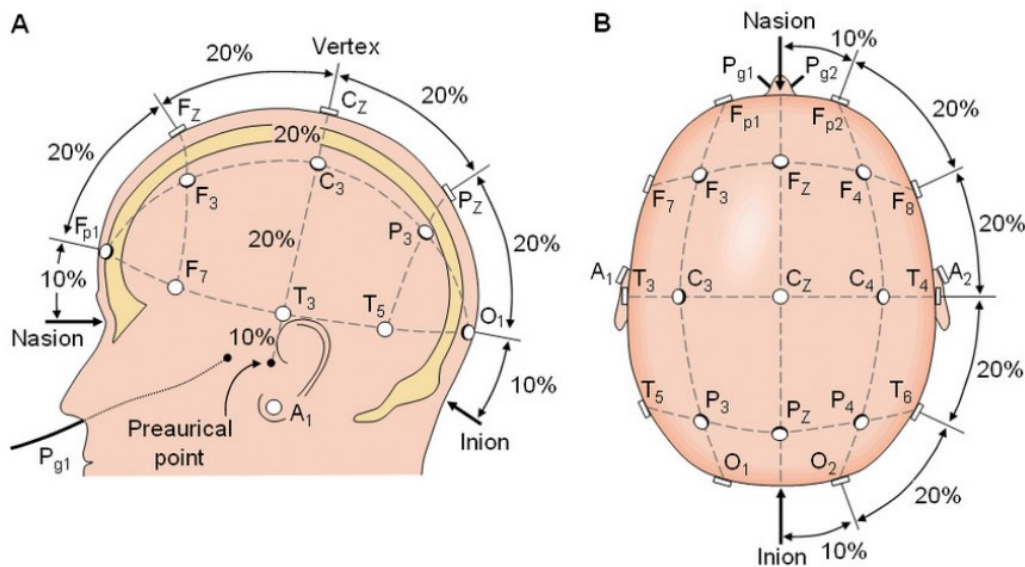


Figura 2. Posizionamento degli elettrodi a bassa densità: (A) Visione laterale, (B) Visione superiore [4].

L'utilizzo di un numero troppo basso di elettrodi può rendere più difficile la localizzazione delle oscillazioni ad alta frequenza, spesso indici di patologie quali epilessia. Questo ha portato allo sviluppo del sistema ad alta densità, il quale prevede l'utilizzo di un numero di elettrodi che varia da 100 a 256 (Figura 3). Queste registrazioni utilizzano un campionamento spaziale più elevato rispetto a quello a bassa densità, permettendo una migliore esplorazione delle regioni temporo-basali. Queste aree sono strettamente stimolate in pazienti affetti da epilessia, dunque lo studio di queste regioni può portare a un miglior trattamento terapeutico di questi soggetti patologici [5]. I costi maggiori e i tempi di configurazione e interpretazione più lunghi sono ben soppesati da una miglior risoluzione spaziale e temporale rispetto al sistema 10-20.

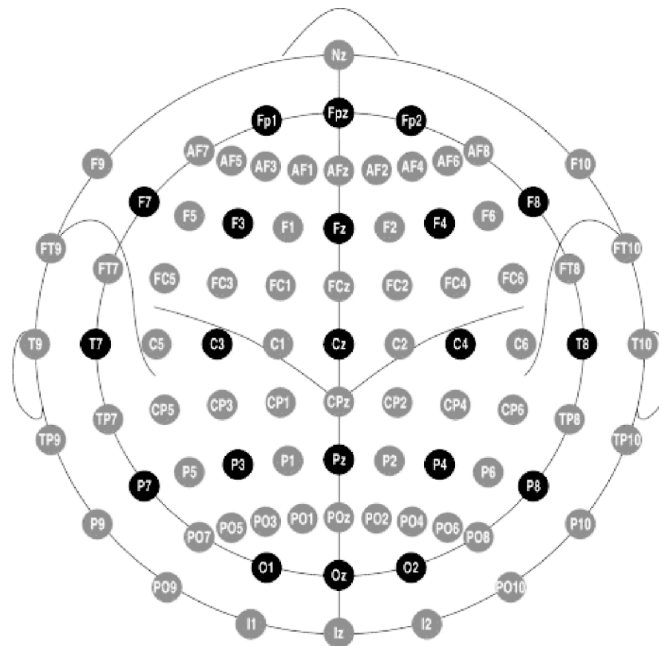


Figura 3: Posizionamento degli elettrodi ad alta densità [4].

2.1.2 Limiti dell'EEG

Come abbiamo visto, l'EEG registra l'attività elettrica prodotta principalmente dai potenziali sinaptici nei neuroni corticali, in particolare nei neuroni piramidali, che sono orientati perpendicolarmente alla superficie della corteccia cerebrale. Tuttavia, questi segnali originati nella corteccia devono attraversare vari strati di tessuto, come il cervello, le meningi, il liquido cerebrospinale, il cranio e lo scalpo, prima di essere rilevati dagli elettrodi. Il termine "volume conduction" descrive il fenomeno fisico attraverso il quale i campi elettrici generati da una sorgente (come l'attività neuronale) si propagano in un mezzo conduttore (i tessuti cerebrali e cranici). Poiché i tessuti che circondano il cervello non sono omogenei e hanno conducibilità elettrica diversa, i segnali EEG sono il risultato di una combinazione complessa di fattori che influenzano il modo in cui l'attività cerebrale viene "trasmessa" in superficie. Una conseguenza importante del volume conduction è che il segnale registrato da un elettrodo non riflette esclusivamente l'attività sottostante immediata, ma può essere influenzato da sorgenti elettriche più distanti. In altre parole, un singolo elettrodo può rilevare l'attività di più regioni corticali, il che rende difficile identificare con precisione l'origine spaziale di un segnale EEG senza tecniche avanzate di analisi. Questo fenomeno può causare cross-talk tra elettrodi, portando a una sovrapposizione dei segnali provenienti da diverse regioni corticali. Dal punto di vista matematico, il volume conduction può essere modellato utilizzando l'equazione di Laplace per descrivere la propagazione del potenziale elettrico in un mezzo conduttivo. Tuttavia, la natura

tridimensionale e la complessità del cranio e dello scalpo, che hanno proprietà di conduttività differenti rispetto al cervello, rendono questi modelli piuttosto complessi. Gli effetti del volume conduction impongono limitazioni significative nell'interpretazione dell'EEG in termini di localizzazione spaziale dei generatori corticali. Per affrontare questo problema, sono stati sviluppati vari approcci metodologici, come le tecniche di sorgente inversa (source localization), che cercano di ricostruire l'attività cerebrale interna a partire dai segnali misurati esternamente.

2.2 Ricostruzione delle sorgenti

L'interpretazione del segnale EEG presenta due sfide principali, note come problema diretto e problema inverso. Il problema diretto riguarda il modo in cui l'attività elettrica generata all'interno del cervello si propaga attraverso i tessuti fino a raggiungere gli elettrodi posti sullo scalpo. Questo processo può essere modellato matematicamente, tenendo conto delle proprietà elettriche dei diversi strati cerebrali (come la corteccia, il liquido cerebrospinale e il cranio) e geometriche. Il problema inverso, invece, rappresenta una sfida ben più complessa: dato un insieme di segnali registrati dagli elettrodi sullo scalpo l'obiettivo è risalire alla posizione e all'attività delle sorgenti intracerebrali che li hanno generati. Poiché esistono infinite configurazioni di sorgenti che possono produrre lo stesso segnale superficiale, il problema inverso è intrinsecamente mal posto, richiedendo l'uso di metodi avanzati di stima e regolarizzazione per ottenere soluzioni fisiologicamente verosimili.

2.2.1 Problema diretto

La risoluzione del problema diretto prevede che venga identificato il potenziale elettrico all'elettrodo data una certa configurazione delle sorgenti di dipoli.

A generare l'EEG sono i potenziali post-sinaptici lungo i dendriti apicali delle cellule piramidali; il posizionamento di questo specifico tipo di neuroni è ortogonale rispetto alla superficie corticale e tra di essi parallelo rispetto agli alberi dendritici, in maniera tale da amplificare i reciproci campi potenziali extracellulari.

La generazione della differenza di potenziale intra ed extracellulare è affidata a un neurotrasmettitore nelle sinapsi eccitatorie, il quale stimola un ingresso di cariche positive all'interno della membrana post-sinaptica, producendo quindi una differenza tra il potenziale interno e quello esterno della cellula neuronale. [6] Questo meccanismo di funzionamento può essere modellato tramite un circuito RC, riportato in Figura 4.

L'interruttore chiuso rappresenta l'ingresso degli ioni positivi a livello del dendrite apicale, permettendo quindi alla corrente di scorrere. I due resistori modellano la resistenza esercitata dal neurone nella zona esterna e interna al passaggio della corrente. I due condensatori rappresentano le differenze di potenziale a riposo misurabili nel dendrite apicale e nel corpo cellulare del neurone, la cui intensità è pari circa a 60 mV. La chiusura dell'interruttore stimola lo scaricarsi del condensatore facendo scorrere una corrente nei due resistori.

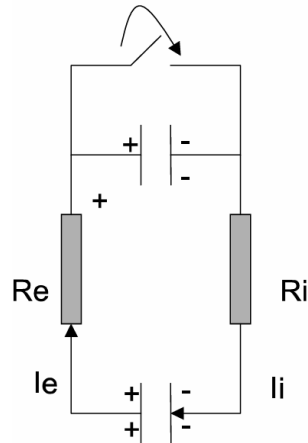


Figura 4: Circuito equivalente semplificato di un neurone [6].

Da questa specifica modellazione del neurone è possibile definire un modello matematico per risolvere il problema diretto.

Formulazione matematica del problema diretto

Nella formulazione del problema diretto si assume che le correnti rispondano a una condizione di quasi-staticità, ovvero vengono considerate quasi stazionarie in ogni istante.

L'equazione di Poisson lega i potenziali d'azione in ogni posizione e le sorgenti. È importante distinguere due casi specifici in cui si risolve l'equazione di Poisson: il caso in cui la conduttività del tessuto sia isotropa, ossia uguale in tutte le direzioni, e il caso in cui sia anisotropa.

Si definisce la divergenza della densità di corrente $J(x,y,z)$ come segue:

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = \lim_{G \rightarrow 0} \frac{1}{G} \oint_{\partial G} \mathbf{J} \cdot d\mathbf{S}$$

È quindi definita dal flusso del vettore densità di corrente attraverso la superficie chiusa ∂G . L'integrale assume segno positivo in caso in cui il flusso sia uscente, negativo in caso in cui il flusso sia entrante. $\nabla \cdot \mathbf{J}$ è anche definita sorgente di densità di corrente e viene indicata con il simbolo I_m :

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = I_m$$

Considerando un volume ridotto nello spazio extracellulare e calcolando la divergenza alle correnti presenti in questa regione, possono verificarsi tre casi specifici. Il primo è il caso in cui nel volume considerato siano presenti sia sorgenti di corrente, ovvero aree che permettono il trasferimento di ioni positivi al soma neuronale, sia pozzi di corrente, ovvero aree che permettono agli ioni positivi di

abbandonare il dendrite apicale. La corrente entrante è pari a quella uscente, non potendosi accumulare; dunque l'integrale di superficie è nullo e la sorgente di densità di corrente è pari a:

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = 0$$

Nel secondo caso il volume presenta unicamente pozzi di corrente, la cui posizione è descritta dal vettore $\mathbf{r}_1(x_1, y_1, z_1)$. In questo caso l'integrale assumerà il valore $-I$ e il volume G avrà una grandezza infinitesimale; avremo dunque una corrente uscente dallo spazio extracellulare in un unico punto, ovvero \mathbf{r}_1 . Questo può essere descritto dall'equazione:

$$-I\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_1)$$

Nel terzo caso il volume presenta solo delle sorgenti di corrente in posizione $\mathbf{r}_2(x_2, y_2, z_2)$, dunque avremo un flusso di corrente positivo entrante nel volume extracellulare; l'equazione diventa dunque:

$$I\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_2)$$

Mettendo insieme queste 3 casistiche otteniamo l'equazione:

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = I\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_2) - I\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_1)$$

La legge di Ohm lega la corrente di densità elettrica \mathbf{J} al campo elettrico \mathbf{E} grazie al tensore di conduttività $\sigma(r)$:

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E}$$

Ricordando che il campo elettrico \mathbf{E} è pari a:

$$\mathbf{E} = -\nabla V$$

Ovvero è opposto al campo scalare del potenziale elettrico, possiamo ottenere l'equazione differenziale di Poisson in forma generica:

$$\nabla \cdot (\sigma \nabla(V)) = -I_m$$

Sostituendo I_m con la formula di $\nabla \cdot \mathbf{J}$ ottenuta prima e trasportandolo in un sistema cartesiano, otteniamo l'equazione per le conduttività isotrope:

$$\frac{\partial}{\partial x} \left(\sigma \frac{\partial V}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(\sigma \frac{\partial V}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(\sigma \frac{\partial V}{\partial z} \right) = -I\delta(x - x_2)\delta(y - y_2)\delta(z - z_2) + I\delta(x - x_1)\delta(y - y_1)\delta(z - z_1)$$

E per le conduttività anisotrope:

$$\begin{aligned} \sigma_{11} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} + \sigma_{22} \frac{\partial^2 V}{\partial y^2} + \sigma_{33} \frac{\partial^2 V}{\partial z^2} + 2 \left(\sigma_{12} \frac{\partial^2 V}{\partial x \partial y} + \sigma_{13} \frac{\partial^2 V}{\partial x \partial z} + \sigma_{23} \frac{\partial^2 V}{\partial y \partial z} \right) + \left(\frac{\partial \sigma_{11}}{\partial x} + \frac{\partial \sigma_{12}}{\partial y} + \frac{\partial \sigma_{13}}{\partial z} \right) \frac{\partial V}{\partial x} \\ + \left(\frac{\partial \sigma_{12}}{\partial x} + \frac{\partial \sigma_{22}}{\partial y} + \frac{\partial \sigma_{23}}{\partial z} \right) \frac{\partial V}{\partial y} + \left(\frac{\partial \sigma_{13}}{\partial x} + \frac{\partial \sigma_{23}}{\partial y} + \frac{\partial \sigma_{33}}{\partial z} \right) \frac{\partial V}{\partial z} \\ = -I\delta(x - x_2)\delta(y - y_2)\delta(z - z_2) + I\delta(x - x_1)\delta(y - y_1)\delta(z - z_1) \end{aligned}$$

La dipendenza dalla conduttività evidenzia l'importanza di avere un modello che descriva bene i vari strati costituenti la testa. Berg et al. [7] modellò la testa utilizzando tre cerchi concentrici rappresentanti, dal più interno al più esterno, rispettivamente il cervello, il cranio e lo scalpo, ognuno

caratterizzato da una conduttività differente. Questo modello non tiene conto però del fatto che i tessuti non hanno una struttura omogenea, ma differiscono da soggetto a soggetto. Modelli della testa più realistici sono ottenibili dalla segmentazione di immagini TC o RM specifiche per ogni individuo. Dato il modello della testa, è necessario applicare delle condizioni al contorno all'interfaccia tra due comportamenti (Figura 5). La prima, anche detta condizione al contorno di Neumann, afferma che non può esserci un accumulo di carica all'interfaccia, dunque la carica entrante deve essere pari alla carica uscente:

$$J_1 \cdot e_n = J_2 \cdot e_n$$

Questa equazione può essere anche riscritta come segue:

$$(\sigma_1 \nabla V_1) \cdot e_n = (\sigma_2 \nabla V_2) \cdot e_n$$

La seconda condizione, anche detta condizione al contorno di Dirichlet, afferma che non ci possa essere discontinuità di potenziale all'interfaccia:

$$V_1 = V_2$$

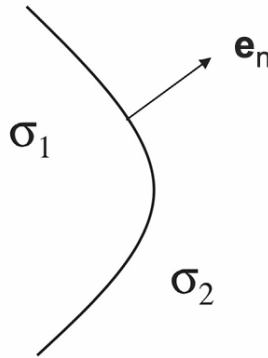


Figura 5: Interfaccia tra i due compartimenti con una conduttività pari a σ_1 e σ_2 e vettore normale all'interfaccia e_n [6].

Il cluster di cellule piramidali attive è stato modellato con un dipolo di corrente. Dato dunque un dipolo elettrico d il cui braccio r_{dip} è posto in mezzo ai due poli, si può misurare la differenza di potenziale V in un punto r sulla superficie dello scalpo:

$$V(\mathbf{r}_{dip}, \mathbf{r}, \mathbf{d}) = d_x V(\mathbf{r}_{dip}, \mathbf{r}, e_x) + d_y V(\mathbf{r}_{dip}, \mathbf{r}, e_y) + d_z V(\mathbf{r}_{dip}, \mathbf{r}, e_z)$$

Dunque, passando alla formulazione algebrica generale del problema diretto, ricordiamo che l'obiettivo è valutare il potenziale elettrico V misurato da un elettrodo situato in posizione r generato da un dipolo elettrico d in posizione r_{dip} . In forma matriciale si riassume nell'equazione:

$$\mathbf{V} = \mathbf{GD} + \mathbf{N}$$

Dove G è la matrice di guadagno, D è la matrice dei dipoli elettrici in diversi istanti temporali e N è una matrice rappresentante il rumore o le perturbazioni.

Risoluzione del problema diretto

I metodi tipicamente usati per risolvere il problema diretto sono il Boundary Element Method (BEM) e il Fine Element Method (FEM).

La tecnica BEM prevede di suddividere il cervello in elementi finiti con tre specifiche interfacce: cervello-cranio, cranio-scalpo e scalpo-aria, dove quest'ultimo mezzo rappresenta un volume non conduttore. Questo metodo non tiene conto però delle anisotropie della conduttività e assume che tutti i tessuti siano omogenei, come si può vedere in Figura 6.

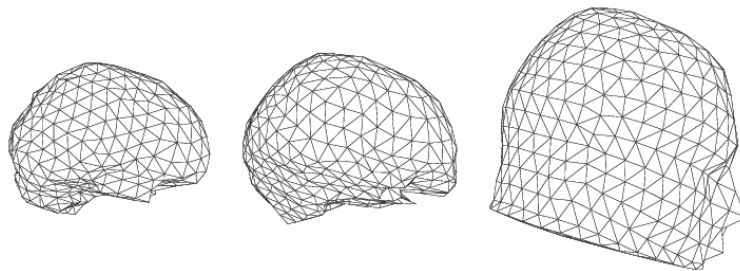


Figura 6: Esempio di una mesh di una testa umana secondo il BEM [6].

Questo problema è superato dalla tecnica FEM, per la quale non sono necessarie le condizioni di omogeneità e isotropia, pagando però con un livello computazionale più elevato. Anche in questo caso la testa viene divisa in tanti piccoli volumi di dimensione differente tra di loro (Figura 7).

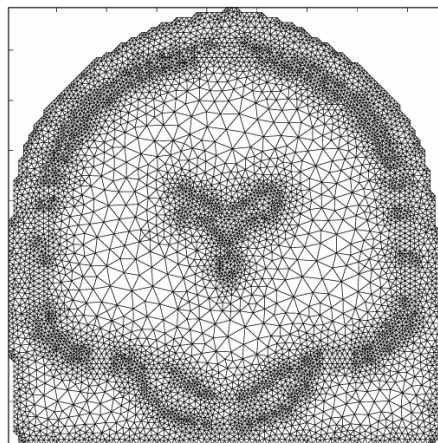


Figura 7: Esempio di una mesh di una testa umana secondo il FEM [6].

Grazie a questi metodi è possibile dunque risolvere il problema diretto, permettendo di passare alla seconda parte della ricostruzione delle sorgenti: la risoluzione del problema inverso.

2.2.2 Problema inverso

La risoluzione del problema inverso prevede che vengano determinate le sorgenti corticali che hanno generato lo specifico potenziale misurato. Questo risulta essere un problema mal posto in quanto non presenta una soluzione univoca, ma è possibile che un segnale sia originato da combinazioni differenti di sorgenti, essendo il numero di dipoli nel cervello umano molto maggiore del numero di elettrodi applicabili. È quindi necessario integrare delle ipotesi a priori di natura matematica, anatomica e neurofisiologica in maniera tale da ottenere una soluzione unica.

Formulazione matematica del problema inverso

Risolvere il problema inverso significa ottenere il potenziale $G(r, r_{dip}, d)$ a un elettrodo posto in r dovuto al dipolo d posizionato in r_{dip} (Figura 8). Dati N elettrodi, p dipoli e T campioni di tempo discreto:

$$M = \begin{bmatrix} m(r_1, 1) & \cdots & m(r_1, T) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ m(r_N, 1) & \cdots & m(r_N, T) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} g(r_1, r_{dip_1}) & \cdots & m(r_1, r_{dip_p}) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ g(r_N, r_{dip_1}) & \cdots & g(r_N, r_{dip_p}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} d_{1,1} e_1 & \cdots & d_{1,T} e_1 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ d_{p,1} e_p & \cdots & d_{p,T} e_p \end{bmatrix}$$

Che espresso in forma matriciale diventa:

$$M = GD + n$$

Dove M è la matrice contenente i dati registrati, G è la matrice dei guadagni, D è la matrice dei dipoli e n è una matrice delle perturbazioni o dei rumori. Dunque la risoluzione del problema inverso prevede di stimare il valore della matrice D , note M dalle misurazioni effettuate e G dalla risoluzione del problema diretto discussa nel paragrafo precedente.

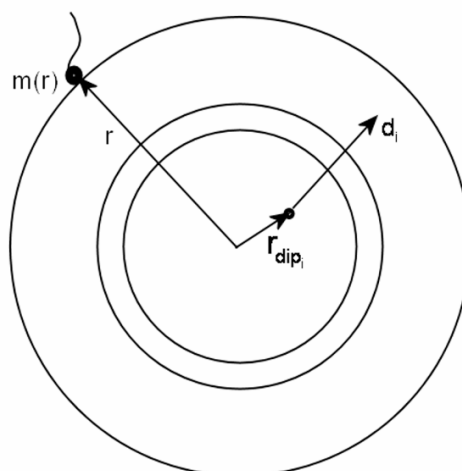


Figura 8: Modello della testa a tre strati [6].

Risoluzione del problema inverso

Sono noti due principali approcci per risolvere il problema inverso: i metodi non parametrici e i metodi parametrici.

Nei metodi non parametrici sono presenti diverse sorgenti di dipolo con posizione e orientamenti fissi nell'intero volume cerebrale o sulla superficie corticale [8]. Non dovendo dunque valutare l'orientazione dei dipoli, questi metodi prevedono la valutazione delle ampiezze e delle direzioni delle sorgenti. Nei metodi parametrici vengono stimate le posizioni dei dipoli elettrici a partire da un numero definito di dipoli definito a priori; dunque in questo caso, oltre all'ampiezza e alla direzione delle sorgenti, verrà valutata anche la posizione.

I metodi non parametrici sono preferibili in certi casi a quelli parametrici in quanto la risoluzione del problema inverso nel primo caso è un problema lineare, mentre nel secondo è un problema non lineare in cui bisogna definire a priori il numero di dipoli presenti. Tra i metodi non parametrici i più utilizzati ci sono il metodo LORETA (Low Resolution Electrical Tomography), con le sue successive derivazioni sLORETA e eLORETA, e il metodo MNE (Minimum Norm Estimates).

Il metodo LORETA fornisce la soluzione al problema inverso utilizzando il vincolo di fonti distribuite uniformemente. La testa viene modellata grazie a un insieme di elementi volumetrici detti voxel, ognuno dei quali può rappresentare una sorgente del potenziale elettrico. Questo metodo a norma minima rende difficile la valutazione delle sorgenti più profonde, in quanto sono privilegiati i dipoli con intensità minori posti in posizioni più vicine allo scalpo. La soluzione al problema inverso secondo LORETA è formulata come segue:

$$\hat{D}_{LOR} = (G^T G + \alpha B \Delta^T \Delta B)^{-1} G^T M$$

Dove \hat{D}_{LOR} è la matrice di orientazione e forza dei dipoli, $B = \Omega \wedge I_3$ è una matrice diagonale per la normalizzazione delle colonne della matrice dei guadagni G , M è la matrice delle misure degli elettrodi. Quando si utilizza il metodo LORETA si possono presentare degli errori di localizzazione maggiori per le fonti più profonde e un numero maggiore di fonti fantasma. È stata dunque implementata una regolarizzazione di questa soluzione, a discapito della valutazione delle sorgenti nello strato superficiale.

Un esempio è il metodo eLORETA (exact Low Resolution Electrical Tomography), il quale offre una maggiore risoluzione spaziale rispetto a LORETA. Questo è possibile in quanto tiene conto della geometria del cranio e della distribuzione delle sorgenti.

Il metodo MNE è basato sulla ricerca della soluzione con potenza minima, adattandosi ai modelli a sorgente distribuita dove l'attività dei dipoli si estende alle aree corticali. Nel caso in cui il numero di elettrodi sia maggiore del numero di dipoli ($N > p$) si utilizza la formulazione:

$$\hat{D}_{MNE} = (G^T G + \alpha I_p)^{-1} M$$

Nel caso in cui il numero di dipoli sia maggiore del numero degli elettrodi ($p > N$) si utilizza la formulazione:

$$\hat{D}_{MNE} = G^T (GG^T + \alpha I_N)^{-1} M$$

La soluzione espressa in maniera generale però prevede che il vettore di rumore n e la forza del dipolo D siano normalmente distribuiti con media nulla e le loro matrici di covarianza, rispettivamente C ed R , siano proporzionali alla matrice identità:

$$\hat{D}_{MNE} = RG^T (GRG^T + C)^{-1} M$$

I metodi LORETA e MNE fanno parte di una classe di soluzioni inverse, detti metodi diretti dei minimi quadrati, basate sull'identificazione delle possibili sorgenti simultaneamente, ma esiste un'altra classe basata sulla decomposizione del sottospazio del segnale.

Una volta scelta la tecnica migliore per la risoluzione del problema inverso, si conclude la fase di ricostruzione delle sorgenti e si può proseguire con l'analisi della connettività funzionale.

2.3 Connettività Funzionale

La connettività cerebrale può essere studiata in tre modi differenti sulla base delle interazioni tra le reti cerebrali: si parla dunque di connettività strutturale, connettività effettiva e connettività funzionale [9]. La connettività strutturale è legata alle caratteristiche anatomiche che legano fisicamente le varie aree del cervello. La connettività effettiva è strettamente legata al concetto causa-effetto, dove si studia in che modo un'unità neurale agisce e comunica con un'altra seguendo una certa direzionalità. La connettività funzionale invece si basa sulle connessioni statistiche tra le reti neurali in sedi anatomiche non per forza connesse tra di loro.

La connettività funzionale può essere studiata mediante metodi non diretti, o di accoppiamento, e metodi diretti, o di causalità. Le relazioni di accoppiamento non diretto non sono caratterizzate da una direzionalità nella comunicazione, mentre quelle dirette spiegano anche come una certa parcella influenzi il comportamento di un'altra. Sia per le stime dirette che in dirette, si ha una distinzione in approcci basati su un modello e in approcci senza modello [10]. In Figura 9 è riportato uno schema in cui sono riportate le varie tecniche utilizzabili per valutare la connettività funzionale.

Il metodo più utilizzato tra quelli non diretti è il coefficiente di correlazione di Pearson, il quale misura la relazione lineare tra due variabili. Una metrica particolarmente usata invece tra i metodi diretti è la causalità di Granger, il quale utilizza un modello lineare autoregressivo adattato al set di dati.

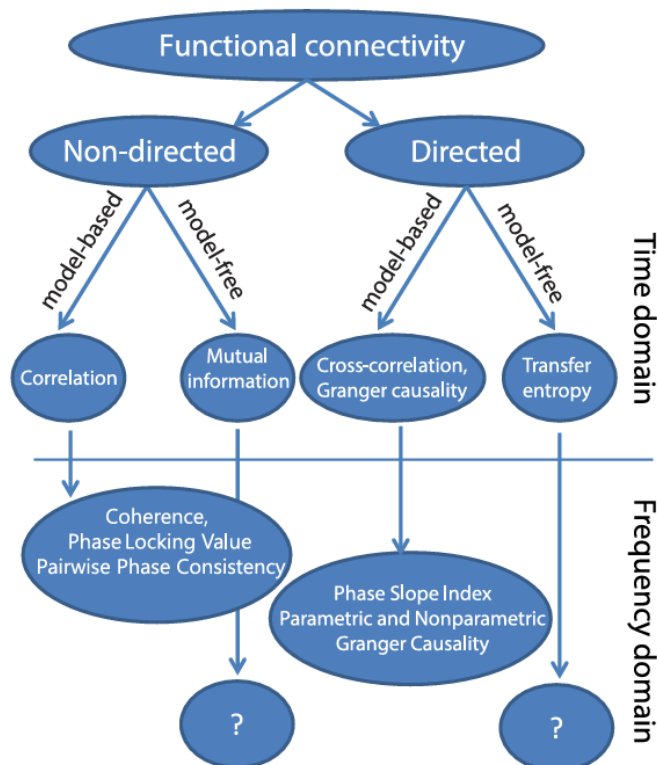


Figura 9: Schema rappresentante i metodi per quantificare la connettività funzionale [10].

Al fine di valutare la connettività funzionale, una categoria di tecniche di particolare interesse sono i metodi basati sulle fasi, secondo i quali uno sfasamento studiato istante per istante è capace di dare informazioni riguardo alle comunicazioni neuronali. Tra questi, uno dei più usati è il Phase Lag Index (PLI).

2.3.1 Phase Lag Index (PLI)

Il PLI è una misura dell'asimmetria della distribuzione delle differenze di fase istantanee tra due segnali [11]. L'indice di asimmetria della distribuzione della differenza di fase si può descrivere mediante una serie temporale di differenze di fase $\Delta\phi(t_k)$, dove $k = 1, \dots, N$ rappresenta i time-points per epoca:

$$PLI = |\langle \text{sign}[\Delta\phi(t_k)] \rangle|$$

Il PLI assume dei valori che variano tra 0 e 1. Quando il PLI è pari a zero significa che non c'è accoppiamento tra le due fasi o che c'è un accoppiamento con una differenza di fase centrata in 0 o $\pm\pi$. Quando il PLI è pari a 1 indica un ritardo di fase coerente tra due serie temporali in cui le differenze di fase sono rappresentate da una distribuzione totalmente asimmetrica. Essendo questo indice espresso in valore assoluto non porta più con sé l'informazione su quale dei due segnali è in anticipo di fase.

Questo indice non è influenzato dal volume conduction. Il PLI si basa sull'idea di scartare le differenze di fase pari a 0 o $\pm\pi$ in quanto c'è un'alta probabilità che questo sfasamento sia causato dal volume conduction [12]. A discapito dell'utilizzo di questo indice c'è però la possibilità di perdere delle interazioni istantanee esistenti e di sottostimare la connettività con ritardi brevi e un basso rapporto segnale rumore [13].

2.3.2 Network cerebrali

Le differenti aree del cervello sono connesse anatomicamente e funzionalmente tra di loro mediante delle reti complesse, dette network cerebrali [14]. Queste reti uniscono i nodi, i quali rappresentano le varie regioni di interesse (ROI), mediante dei collegamenti di natura strutturale, effettiva o funzionale in base al tipo di connettività che si sta studiando. Nel caso specifico della connettività funzionale, i collegamenti rappresentano le correlazioni tra i segnali temporali estratti dalle ROI.

Al fine di definire dei confini precisi che delimitino le nostre regioni di interesse, vengono utilizzate differenti tecniche, tra cui la parcellizzazione del volume cerebrale mediante l'utilizzo di atlanti neurali. Ogni singola parcella estratta dall'atlante è quindi rappresentativa di una specifica ROI da cui verrà poi studiata la connettività funzionale.

Nell'analisi della connettività funzionale cerebrale vengono estratte le serie temporali di ogni ROI, dalle quali viene poi ricavata la relazione temporale con tutte le altre regioni considerate [15]. Il numero di righe e colonne di questa matrice è pari al numero di ROI analizzate; l'intersezione della riga i-esima con la colonna j-esima conterrà un valore che esplica la relazione tra la ROI i-esima e la ROI j-esima, descrivendo quindi la connettività funzionale tra le due regioni (Figura 10).

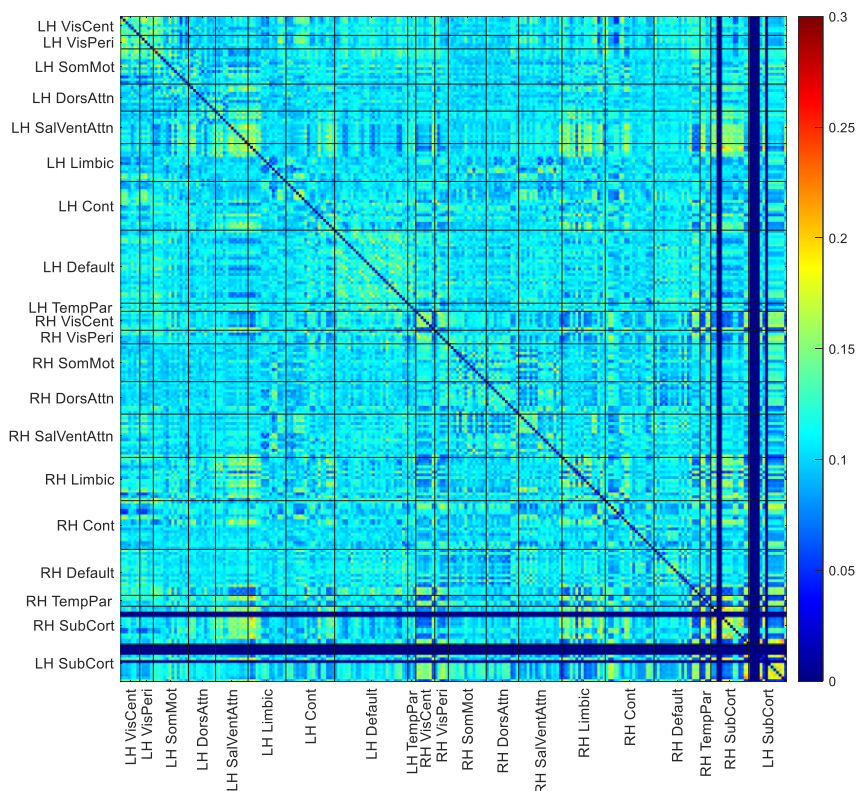


Figura 10: Esempio di un matrice media di Functional Connectivity in cui le etichette laterali riportano i nomi dei vari network per l'emisfero destro e sinistro.

2.3.3 Gli atlanti neurali

Gli atlanti neurali possono essere racchiusi in due tipologie sulla base della tecnica utilizzata per definire i confini tra le varie regioni cerebrali: atlanti funzionali e atlanti anatomici. Gli atlanti anatomici sono basati sullo studio delle connessioni strutturali che realmente sussistono tra le varie aree del cervello. Gli atlanti funzionali seguono invece un raggruppamento basato sulle connessioni statistiche che sussistono tra aree cerebrali anche non confinanti tra di loro; le ROI sono delineate mediante l'unione di voxel considerati simili da un punto di vista puramente funzionale.

In letteratura non è ancora presente un atlante che rappresenti il gold standard per la parcellizzazione del volume cerebrale, per cui è pratica comune andare ad utilizzarne più di uno e confrontarne i risultati ottenuti. In particolare in questo studio sono stati utilizzati due atlanti: il Brainnetome e lo Schaefer.

Il Brainnetome è un atlante a grana fine di tipo funzionale caratterizzato da 210 regioni corticali e 36 regioni sottocorticali [16]. L'Atlante Brainnetome è un atlante basato su una combinazione di informazioni strutturali e connettomiche. Questo atlante integra dati derivanti dalla diffusione della risonanza magnetica (dMRI), che rileva le connessioni anatomiche tra diverse aree del cervello, con i dati funzionali. La suddivisione del cervello avviene combinando informazioni su struttura, funzione e connettività per definire regioni con specifici pattern di connessione.

L'Atlante Schaefer è un atlante basato sulla parcellizzazione funzionale. È stato sviluppato utilizzando dati di risonanza magnetica funzionale (fMRI) provenienti da studi su individui a riposo. Questo atlante suddivide la corteccia cerebrale in base alla connettività funzionale, cioè a come le diverse aree del cervello si attivano insieme durante il riposo o attività cognitive. La suddivisione è effettuata utilizzando un algoritmo di clustering, che raggruppa regioni con simili profili di connettività funzionale. È disponibile in diverse risoluzioni, da 100 a 1000 regioni, permettendo un controllo dettagliato della granularità delle regioni parcellizzate [17].

In questo specifico studio è stato analizzato lo Schaefer a 100, 200, 300, 400 e 600 parcelle. Per quanto riguarda le network è stata utilizzata l'organizzazione della corteccia cerebrale modellata da Yeo et al. [18], la quale prevede la suddivisione del volume cerebrale in sette resting state network: il network visivo (VIS), somatomotorio (MOT), dorsal attention (DAN), salience o ventral attention (SAL), sistema limbico (LIM), default mode network (DMN), temporo-parietale (TEM) e control network (CON).

Poiché lo Schaefer presenta una mappatura unicamente delle regioni corticali, al fine di ottenere una parcellizzazione confrontabile a quella del Brainnetome e che sia esplicativa di tutto il volume cerebrale, l'utilizzo di questo atlante è spesso integrato con l'atlante Tian nella sua formulazione a 16

parcelle sottocorticali. Questo atlante permette di avere una mappatura globale del connettoma e di caratterizzare anche la connettività cortico-sottocorticale [19].

Capitolo 3

Materiali e Metodi

Lo studio del segnale EEG permette di aggiungere un ulteriore strumento utile allo studio della connettività funzionale. Infatti, come già detto nel capitolo precedente, il gold standard delle tecniche di neuroimaging per questo tipo di studi è rappresentato dall'fMRI, la quale è affetta da una scarsa risoluzione temporale. Al contrario, l'EEG risulta essere una tecnica che può affiancare e supportare la Risonanza Magnetica funzionale, in quanto è caratterizzata da una buona risoluzione temporale. In questo capitolo è stato riportato il processo di acquisizione dei dati per questo specifico studio e le differenti tecniche di analisi che sono state applicate.

3.1 Acquisizione dei dati e pre-processing

I dati EEG utilizzati in questo progetto sono stati precedentemente descritti in Celli et al. 2022 [20]. In sintesi, il dataset era composto da 20 soggetti sani (età media 23,1 anni, DS = 2,41, 12 maschi) che hanno effettuato una sessione EEG a riposo di 10 minuti. I dati sono stati registrati con un sistema a 256 canali Hydrocel Geodesic Sensor Net con una frequenza di campionamento di 500 Hz. Durante la registrazione, i partecipanti erano seduti su una sedia all'interno di una gabbia di Faraday schermata acusticamente, con gli occhi chiusi, rilassati e non addormentati.

I dati EEG sono stati pre-elaborati e analizzati utilizzando Matlab (The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA) e funzioni dalla toolbox EEGLAB (versione 14.1.2b70) e dalla toolbox FieldTrip (versione 20221118). Inizialmente, i dati sono stati filtrati con un filtro passa-banda con frequenze di taglio tra 0,5 e 47 Hz, utilizzando due filtri FIR sinc a finestra Kaiser a fase zero (passa-alto: larghezza di banda di transizione = 1 Hz, ordine del filtro = 1812; passa-basso: larghezza di banda di transizione = 2 Hz, ordine del filtro = 908) come suggerito in Widmann et al. [21]. Un algoritmo automatico è stato impiegato per rilevare i canali rumorosi, con i risultati verificati tramite ispezione visiva. I criteri di rilevamento includevano: (i) impedenza superiore a 100 k Ω alla fine della sessione di registrazione; (ii) correlazione con elettrodi vicini inferiore a 0,75; (iii) deviazione standard superiore a 4 rispetto allo spettro medio dei canali; (iv) deviazione standard superiore a 7 nell'analisi di curtosi. I canali contrassegnati dai criteri (i), (ii), o almeno uno dei due criteri (iii)–(iv) sono stati interpolati usando spline sferiche [22]. Successivamente, i dati sono stati riferiti alla media di tutti i canali. L'analisi a componenti indipendenti (ICA) è stata utilizzata per rimuovere artefatti oculari, muscolari e legati al

movimento. L'ICA è stata eseguita utilizzando l'algoritmo fastICA con la funzione tangente iperbolica come criterio di costo. Le componenti indipendenti (IC) sono state classificate in sette categorie (cervello, muscolo, occhio, cuore, rumore dei canali, rumore di linea e altro) usando la toolbox ICLabel [23]. Le componenti identificate come cervello o quelle etichettate come "altro" con cervello come seconda probabilità più alta sono state mantenute. Infine, gli artefatti residui sono stati corretti usando ASR [24].

I dati EEG sono stati poi proiettati nello spazio delle sorgenti. Per affrontare il problema della localizzazione delle sorgenti, il primo passo consiste nel risolvere il problema diretto, che comporta il calcolo dei potenziali sullo scalpo generati dai dipoli all'interno del cervello. Il passo successivo è risolvere il problema inverso, dove, lavorando all'indietro e utilizzando i dati EEG registrati, vengono stimate le sorgenti neurali che meglio spiegano i potenziali misurati.

Il modello della testa è stato costruito sulla base della segmentazione del template MNI T1 MR ICBM152 in cinque tessuti (sostanza bianca, sostanza grigia, liquido cerebrospinale, scalpo e osso). Il valore di conducibilità di ciascun tessuto è stato impostato secondo la letteratura [25]. Le posizioni degli elettrodi EEG del montaggio a 256 canali sono state allineate allo spazio MR applicando una trasformazione che mappava i punti di riferimento cranici dallo spazio degli elettrodi ai corrispondenti punti di riferimento nello spazio MR. Le posizioni degli elettrodi risultanti sono state quindi proiettate sulla mesh superficiale dello scalpo per un allineamento accurato. Le posizioni dei dipoli, corrispondenti alle sorgenti cerebrali, sono state derivate discretizzando la sostanza grigia con una griglia 3D regolare di 4 mm. Ciò ha portato a 17.840 posizioni di dipolo. Per ogni posizione, sono stati considerati tre dipoli unitari diretti lungo le direzioni ortogonali x, y e z. La soluzione diretta modella come le correnti elettriche (le sorgenti) generano differenze di potenziale elettrico sullo scalpo (i dati EEG), in base al modello della testa dato. Questo è stato approssimato numericamente utilizzando il metodo FEM Simbio [26], come implementato nella toolbox FieldTrip. Il problema inverso è stato quindi risolto utilizzando l'algoritmo esatto Low Resolution Brain Electromagnetic Topography (eLORETA) [27], sempre tramite la toolbox FieldTrip.

Per ciascuna posizione del dipolo, le stime lungo gli assi x, y e z sono state combinate utilizzando l'analisi delle componenti principali (PCA), mantenendo solo la prima componente come segnale rappresentativo. I dati delle sorgenti sono stati quindi raggruppati secondo le regioni definite dagli atlanti Brainnetome e Schaefer.

Le serie temporali di ciascuna regione sono state poi filtrate in banda Delta (1 - 4 Hz), Theta (4 - 8 Hz), Alpha (8 - 12 Hz), Beta (13 - 30 Hz) e Gamma (30 - 47 Hz). Per ciascuna banda di frequenza, la matrice di connettività funzionale è stata calcolata utilizzando l'indice di sfasamento (PLI). Il PLI tra due regioni è stato calcolato prendendo il segno delle differenze di fase istantanee e mediandole

su una finestra temporale di 6 secondi [28]. Il PLI cattura la sincronizzazione di fase che non è puramente istantanea, enfatizzando le connessioni con una differenza di fase non zero. Questo aiuta a ridurre i falsi positivi nelle misure di connettività causati dalla conduzione volumetrica o da sorgenti comuni che portano a sincronizzazione a zero ritardo.

3.2 Pipeline dei dati

3.2.1 Analisi statica della Functional Connectivity

Per anni la connettività funzionale è stata studiata unicamente mediante delle analisi di tipo statico, assumendo dunque che le comunicazioni tra le aree cerebrali siano costanti nel tempo. Infatti le analisi riportate di seguito sono state svolte eseguendo la media tra le finestre e assumendo dunque che la connettività funzionale non vari nel periodo di acquisizione dei dati, nonostante la FC sia di natura non stazionaria [29].

Pc o mean?

Le serie temporali rappresentative di una data parcella sono state ricavate in due modi: mediando il valore tra tutti i voxel appartenenti alla parcella (mean), o prendendo la prima componente della Principal Component Analysis (PCA) Questi modi rappresentano gli approcci più utilizzati in letteratura. Al fine di valutare quale dei due dati si presti meglio alle analisi di nostro interesse, è stata calcolata la similarità mediante la “Cosine Similarity” tra i dati calcolati con queste due metriche differenti.

La Cosine Similarity di due vettori rappresentanti un set di dati x e x' è definita come:

$$\cos(\theta) = \frac{\sum_{i=1}^d x_i \times x'_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^d x_i^2} \times \sqrt{\sum_{i=1}^d x_i'^2}}$$

Dove θ è l'angolo compreso tra x e x' ; la similarità tra i due pattern aumenta all'aumentare del coseno di questo angolo [30]. Quindi la Cosine Similarity è una misura della similarità tra due vettori, calcolata come l'angolo tra questi due. Essa assume valori che variano nell'intervallo [-1, 1]:

- Per valori di similarità pari a 1 si dice che i due vettori sono proporzionali, ovvero sono identici tra di loro;

- Per valori di similarità pari a 0 si dice che i due vettori sono ortogonali o decorrelati, quindi non hanno alcun dato in comune e sono differenti in ogni punto;
- Per valori di similarità pari a -1 si dice che i due vettori sono diametralmente opposti.

Dunque in questo studio specifico è stata calcolata la Cosine Similarity tra il vettore rappresentante la media e la prima componente della PCA. Questo è stato fatto sia per l'atlante Schaeffer a 200 parcelle e sia per l'atlante Brainnetome in tutte le 5 bande.

Media e standard deviation

Una volta selezionata una delle due metriche trattate nel paragrafo precedente, è stata calcolata la media e la standard deviation del PLI per lo Schaefer a 200 parcelle al fine di valutare se siano presenti delle aree che comunichino tra di loro in comune a tutti i soggetti. Questo è osservabile se sono presenti delle aree in cui il valore della media sia più alto rispetto che ad altre. Questo tipo di analisi è stata svolta per tutti i 20 soggetti ed è stato ottenuto un risultato medio sia per la media che per la standard deviation, riportato nel capitolo successivo.

Selezione degli atlanti

In questa parte delle analisi si è voluto valutare quale parcellizzazione dell'atlante Schaefer fosse migliore per questo tipo di studi. In particolare sono stati scelti 5 diversi livelli di aggregazione dei voxel: lo Schaefer a 100, 200, 300, 400 e 600 parcelle. Le differenti parcellizzazioni per questo atlante sono state confrontate con il metodo di parcellizzazione utilizzato per il Brainnetome. Per ogni atlante è stata creata una matrice di dimensione [x parcelle × y soggetti] dove in posizione (i,j) è riportato il valore della varianza spiegata dalla prima componente della PCA della parcella i per il soggetto j. Si è deciso di applicare l'analisi delle componenti principali (PCA) in quanto il dataset è ampio e si vuole andare a evidenziare le componenti più importanti. Una volta effettuata la PCA si è estratta la varianza spiegata dalla prima componente, in quanto essa spiega la massima percentuale della variabilità presente nei dati.

Si è investigata successivamente la correlazione tra il numero di voxel contenuti all'interno delle singole parcelle e la varianza spiegata dalla prima componente per quella specifica parcella. La correlazione tra due variabili x e y rappresenta la dipendenza lineare tra queste due e si calcola mediante la seguente formula:

$$r(x, y) = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2][\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2]}}$$

Dove $r(x,y)$ rappresenta il coefficiente di correlazione di Pearson [31].

Il comando “corrcoef” di Matlab restituisce una matrice quadrata R con la seguente struttura:

$$R = \begin{pmatrix} r(x,x) & r(x,y) \\ r(y,x) & r(y,y) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & r(x,y) \\ r(y,x) & 1 \end{pmatrix}$$

Dunque sono stati estratti gli elementi posti al di fuori della diagonale principale. Il coefficiente di correlazione di Pearson assume valori compresi tra -1 e 1 ; essendo interessati a valutare unicamente l'intensità della correlazione e non la direzione di questa, è stato preso il coefficiente in valore assoluto. Infatti $r(x,y)$ e $r(y,x)$ sono uguali in valore assoluto, il segno riporta unicamente se le variabili sono legate da una relazione diretta o inversa.

Confronto tra Schaefer a 200 parcelle e Schaefer a 400 parcelle

Al fine di confrontare le due differenti parcellizzazioni dello Schaefer selezionate nel paragrafo precedente, ovvero 200 e 400 parcelle, è stata calcolata la Cosine Similarity sulle matrici di Functional Connectivity (FC) statiche sia per la banda delta (la più lenta), sia per la banda beta (la più veloce, omettendo la banda gamma che potrebbe essere affetta da artefatti muscolari nonostante lo step di pulizia). In particolare è stata calcolata la similarità tra la matrice di FC media di ogni soggetto contro quelle degli altri 19 per i due differenti atlanti nelle due bande.

Successivamente si è utilizzata la metrica della “node degree” dove il grado di un nodo rappresenta il numero di connessioni che una parcella ha con le altre. La node degree di parcella appartenenti allo stesso network è stata mediata, in modo da ottenere un'informazione media a livello di network [32]. Ciò per valutare se la scelta dell'atlante potesse influenzare i risultati della metrica a livello di network. Il grado di un nodo viene misurato applicando un valore soglia alla matrice di FC. In questo caso è stata utilizzata una soglia al 50° percentile: se il valore analizzato è sopra soglia siamo in presenza di un collegamento esistente, se il valore è sotto soglia il collegamento non è attendibile. Per poter rendere confrontabili il grado dei nodi dei network per i due atlanti è stato normalizzato il dato dividendolo per la dimensione del network.

3.2.2 Analisi dinamica della Functional Connectivity

Molteplici studi, come ad esempio quello di Eichenbaum et al. [33], hanno evidenziato l'importanza di affiancare un'analisi di tipo statico a una di tipo dinamico per lo studio della connettività funzionale. Jia et al. [34] hanno scoperto che le misure di connettività funzionale dinamica spiegano una maggiore varianza nei comportamenti che monitorano l'attenzione, la cognizione, l'emozione e la personalità rispetto alla FC statica. Dunque l'analisi dinamica risulta essere uno strumento particolarmente importante per poter delineare in maniera più chiara i contributi comportamentali di ogni individuo.

L'approccio che tipicamente viene utilizzato in letteratura prevede un'analisi finestrata in cui gli stati che si ripetono nel tempo vengono determinati mediante degli algoritmi di clustering. Il clustering dei dati prevede l'identificazione di raggruppamenti naturali di dati multidimensionali basati su delle misure di similarità, come ad esempio la distanza euclidea [35]. Esistono differenti approcci di clustering: approcci di partizionamento, gerarchici, basati sulla densità. In questo specifico studio è stato utilizzato un approccio di partizionamento, dove i dati sono stati divisi in un numero specifico di cluster; questi algoritmi sono tipicamente di tipo iterativo e convergono a una soluzione ottimale. L'approccio di partizionamento più utilizzato è il K-means: questo prevede la minimizzazione della distanza intra-cluster, dunque l'ottimizzazione della funzione obiettivo:

$$J_{K-means} = \sum_{k=1}^K \sum_{z_p \in C_k} d^2(z_p, m_k)$$

dove m_k è il centroide del cluster e z_p è una misura del dataset C_k . Questo algoritmo parte da K centroidi assegnati in maniera casuale; successivamente ogni dato viene assegnato al cluster, e dunque al centroide, più vicino. Dunque i centroidi vengono ricalcolati in base alle associazioni che sono state fatte e questo processo viene ripetuto ciclicamente fino al raggiungimento della convergenza.

In questo specifico studio è stato applicato il clustering K-means utilizzando la distanza "cosine":

$$d(x, c) = 1 - \frac{xc'}{\sqrt{(xx')(cc')}}$$

Dove x sono le osservazioni e c i centroidi. Dunque la distanza cosine è calcolata come il valore unitario a cui viene sottratto il coseno dell'angolo compreso tra i punti. Ogni centroide è la media dei punti in quel cluster, dopo aver normalizzato tali punti all'unità di lunghezza euclidea.

Il clustering è stato applicato sulla prima componente della PCA applicata alla matrice di FC sia per lo Schaefer a 200 che per quello a 400.

In particolare è stata clusterizzata una banda alla volta e il numero di parcelle comprendeva sia la zona corticale che la zona sottocorticale. È stato analizzato il PLI in finestre da 1 secondo nei primi 5 minuti del segnale; la finestra scorreva a passi di 0,1 secondi.

Al fine di valutare quale fosse il numero ottimale di cluster per questo studio, è stata utilizzata una tecnica di selezione chiamata “silhouette”. La silhouette è basata sul confronto tra coesione del cluster, ovvero quanto sono strettamente correlati gli oggetti che lo compongono, e la separazione tra i cluster, ovvero quanto è ben distinto un cluster dagli altri [36]. Questa si calcola come:

$$S(i) = \frac{b(i) - a(i)}{\max\{a(i), b(i)\}}$$

Dove a è la distanza media del singolo punto i dagli altri nel suo cluster, mentre b è la distanza media minima del punto i dai punti di un altro cluster. Questa visualizzazione grafica permette di valutare se i punti sono stati raggruppati bene e di avere una panoramica generale della configurazione dei dati. La larghezza media della silhouette viene utilizzata per selezionare il numero migliore di cluster in cui dividere il set di dati.

Capitolo 4

Risultati e discussione

In questo capitolo sono riportati i risultati delle analisi che sono state presentate nel capitolo precedente ed è discussa l'affidabilità e le differenze tra gli atlanti utilizzati.

In particolare nella prima parte sono riportati i risultati delle analisi di tipo statico, mentre nella seconda parte sono riportati i risultati inerenti all'analisi di tipo dinamico mediante l'utilizzo delle sliding window.

4.1 Analisi statica della Functional Connectivity

Pc o mean?

In Figura 11 è riportato un grafico che presenta mediante dei boxplot la Cosine Similarity al variare del soggetto: in particolare sono riportati in ascissa il numero del soggetto analizzato e in ordinata il valore della Cosine Similarity ottenuta per i due atlanti. Ciascun boxplot evidenzia come varia a livello di soggetto la Cosine Similarity tra le parcelle di un determinato atlante. L'analisi è stata svolta per tutte le bande, ma essendo i risultati coerenti per le varie frequenze è stato riportato il risultato unicamente in banda delta.

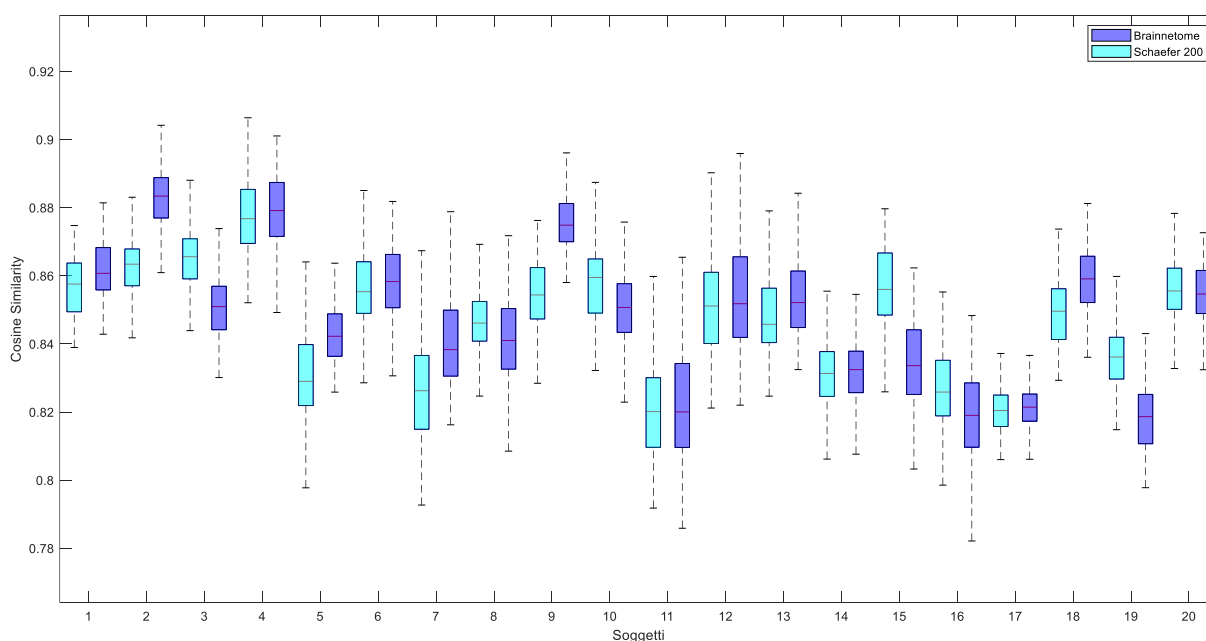


Figura 11: Cosine Similarity tra le metriche pc e mean per gli atlanti Brainnetome e Schaefer a 200 parcelle al variare dei soggetti.

I valori ottenuti oscillano tra 0.9 e 0.8, il che significa che la similarità tra i due vettori, e dunque tra le due metriche, è elevata. In questo caso è stato scelto di utilizzare la metrica della prima componente della PCA in quanto risulta essere più robusta alla presenza di eventuali voxel rumorosi all'interno della parcella. In 7 soggetti su 20, vi è una differenza statistica (Wilcoxon rank-sum, $p < 0.05$) tra i due atlanti.

Media e standard deviation

Di seguito sono riportate le matrici contenenti il dato di media e standard deviation per le 5 bande. In ascissa e in ordinata sono riportate le etichette corrispondenti ai 7 network raggruppati secondo il modello di Yeo et al., prima per l'emisfero cerebrale sinistro e poi per il destro. È importante ricordare che il PLI è stato calcolato in finestre di 6 secondi e poi mediato nel tempo,.. Le zone con dei valori più alti sono indice di una connessione più elevata tra le parcelle contenute in quel network. In generale, in tutte le 5 figure si osserva una certa consistenza tra il dato della media e quello della standard deviation rappresentativo del fatto che le connessioni più alte sono anche quelle che più variano nel nostro campione.

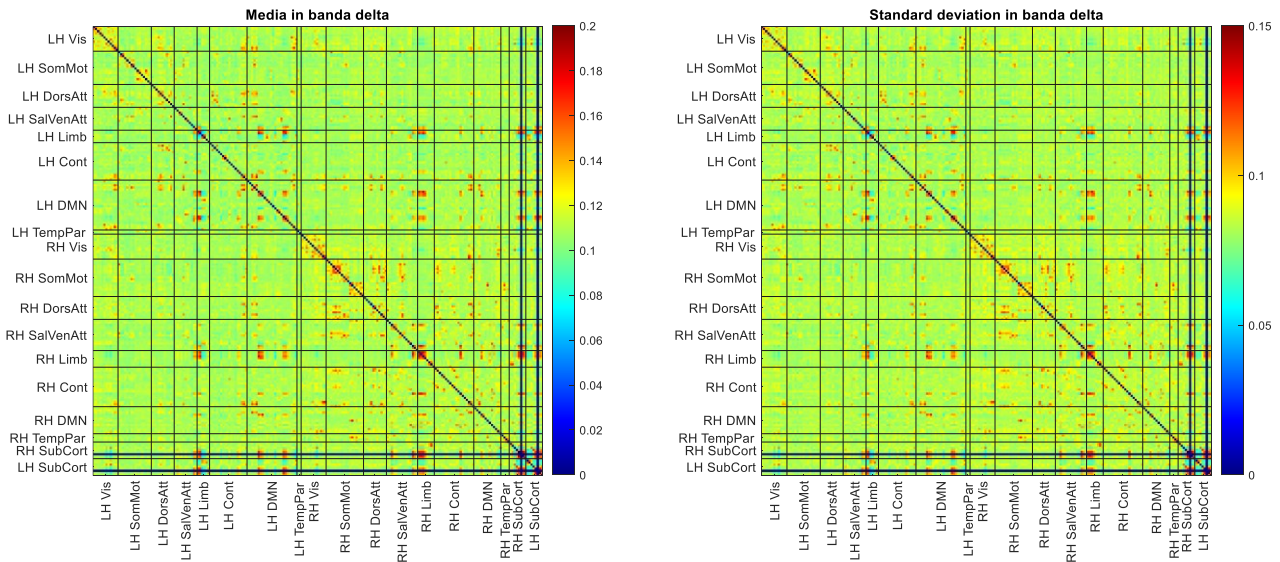


Figura 12: Rappresentazione matriciale di media e standard deviation del PLI per lo Schaefer 200 in banda delta.

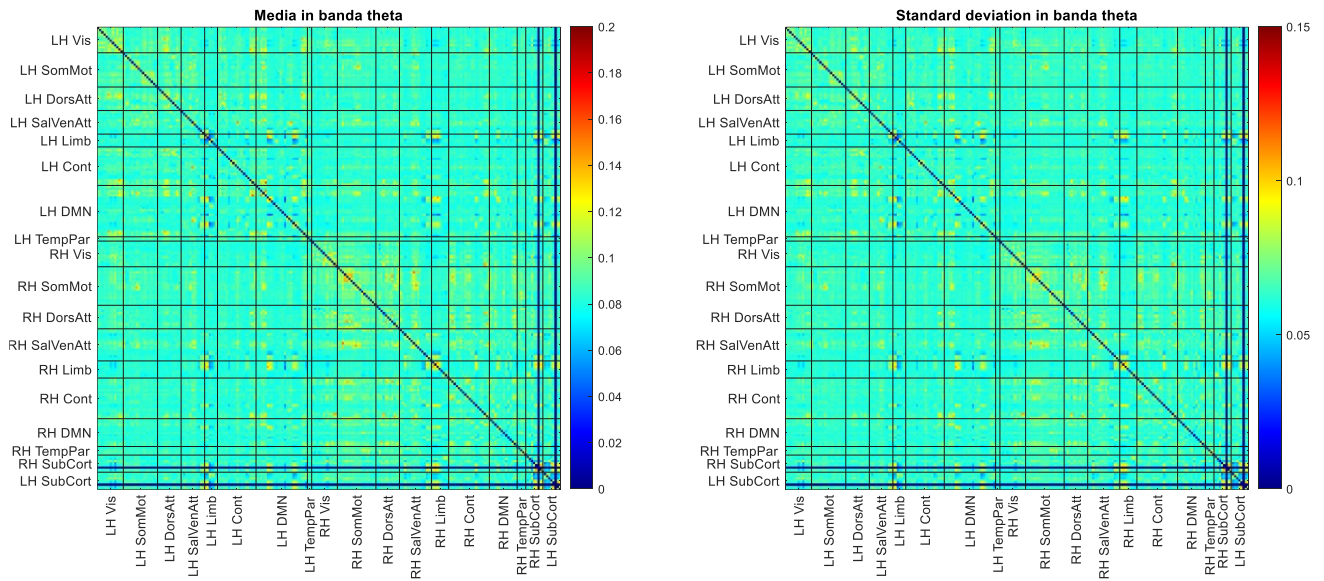


Figura 13: Rappresentazione matriciale di media e standard deviation del PLI per lo Schaefer 200 in banda theta.

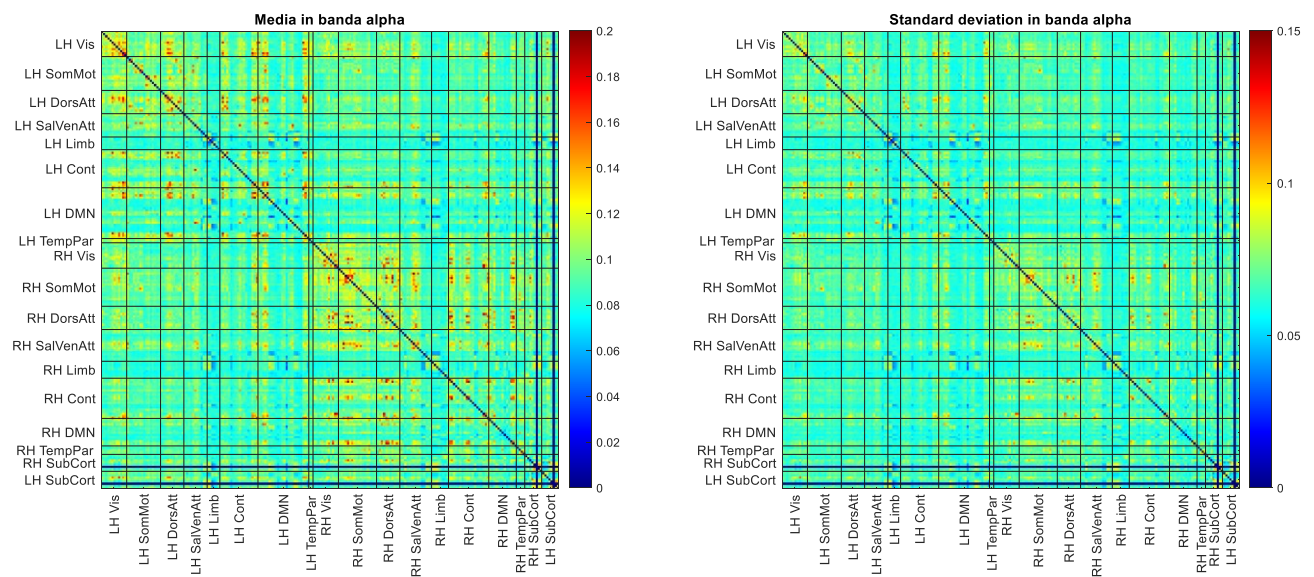


Figura 14: Rappresentazione matriciale di media e standard deviation del PLI per lo Schaefer 200 in banda alpha.

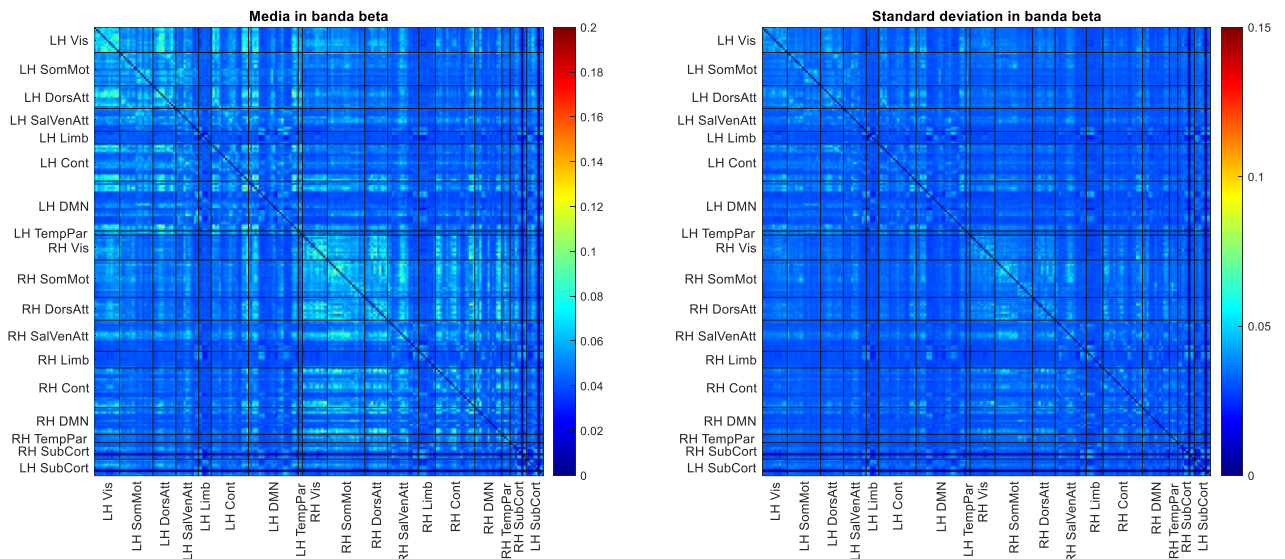


Figura 15: Rappresentazione matriciale di media e standard deviation del PLI per lo Schaefer 200 in banda beta.

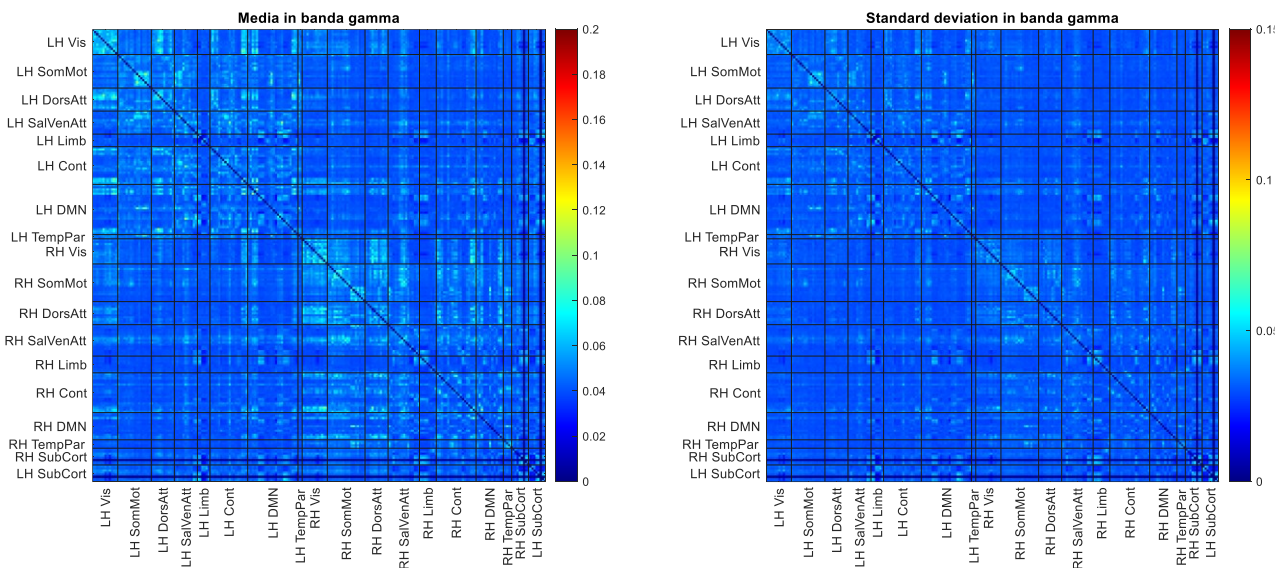


Figura 16: Rappresentazione matriciale di media e standard deviation del PLI per lo Schaefer 200 in banda gamma.

Selezione degli atlanti

Come accennato nel capitolo precedente, dopo aver applicato l'Analisi delle componenti principali alla matrice di FC, è stata estratta la varianza spiegata dalla prima componente, in quanto essa spiega la maggior variabilità osservata nel dato analizzato. In Figura 17 è riportato un istogramma rappresentante la varianza spiegata dalla prima componente della PCA mediata tra i soggetti per i vari atlanti. Questo è stato normalizzato utilizzando la funzione di densità di probabilità. Al fine di rendere più chiara la lettura del dato sono sovrapposte ai vari istogrammi le curve ottenute mediante il Kernel Density Estimation (KDE), le quali approssimano il dato contenuto negli istogrammi.

Come ci si aspetta, da questo grafico si evince che al crescere del numero di parcelle la varianza spiegata dalla prima componente aumenta. Questo è dovuto al fatto che maggiore è il numero di parcelle e minore sarà la loro dimensione, conterranno dunque un numero minore di voxel, quindi la varianza che essa spiegherà sarà più alta rispetto a quella di un atlante con delle parcelle più grandi. Il Brainnetome assume dei valori di varianza spiegata confrontabili con lo Schaefer a 100 e a 200 parcelle, essendo questo un atlante a 246 parcelle.

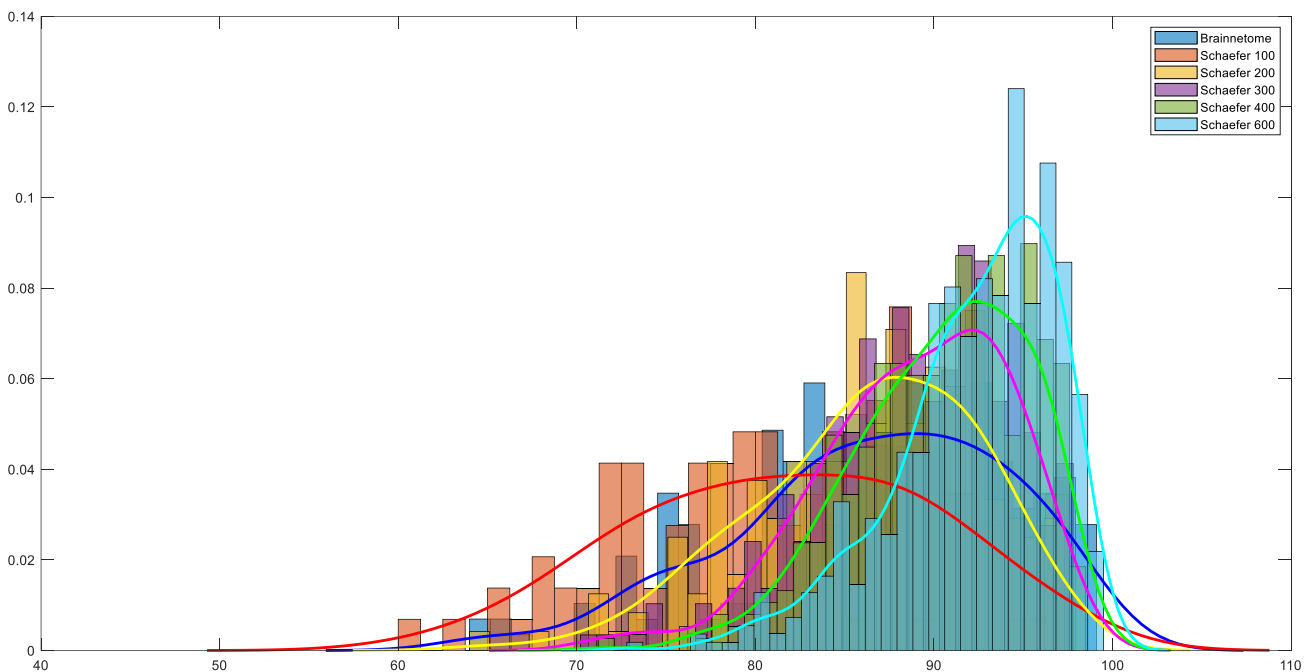


Figura 17: Istogramma e Kernel Density della media tra i soggetti della varianza spiegata dalla prima componente della PCA.

Si è successivamente valutata la relazione tra la varianza spiegata dalla prima componente della PCA e la numerosità della parcella, ovvero il numero di voxel contenuti all'interno della parcella. Per fare ciò è stato calcolato il coefficiente di correlazione di Pearson tra queste due variabili per ogni parcellizzazione dello Schaefer citata prima. I valori di correlazione ottenuti sono negativi, il che significa che all'aumentare dei voxel all'interno della parcella la varianza spiegata dalla prima

componente della PCA decresce, e viceversa. I valori ottenuti nei vari soggetti al variare dell'atlante sono visualizzati nel boxplot in Figura 18. Lo Schaefer a 400 parcelle riporta la correlazione mediana più bassa, mentre il valore più alto si ha per lo Schaefer a 100 parcelle.

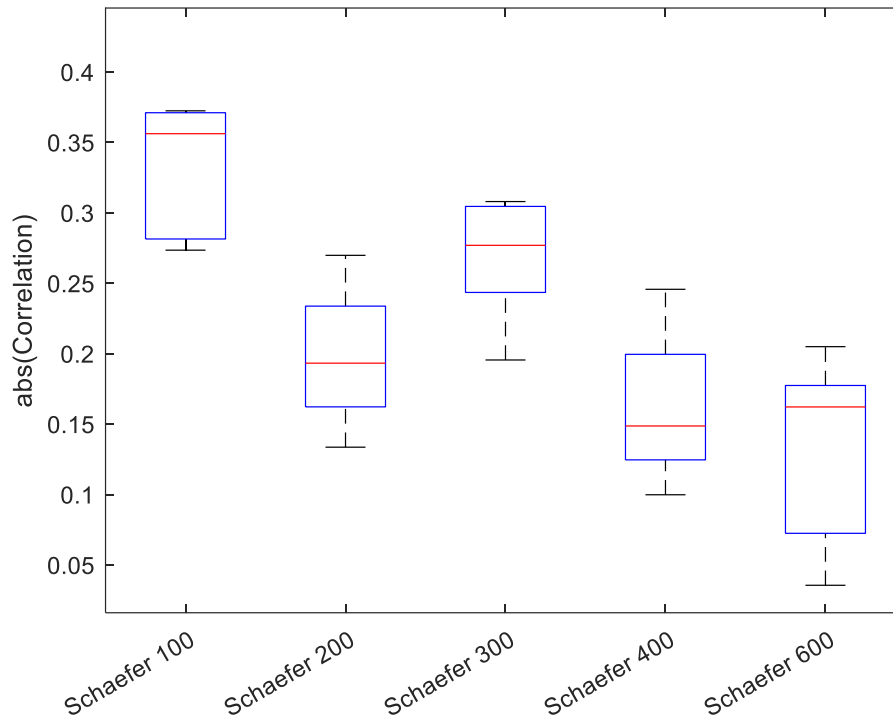


Figura 18: Correlazione in valore assoluto tra il numero di voxel per parcella e la varianza spiegata dalla prima componente della PCA per le differenti parcellizzazioni dell'atlante Schaefer.

Si è deciso dunque di continuare le analisi utilizzando lo Schaefer a 200, essendo quello maggiormente confrontabile con l'atlante Brainnetome, e lo Schaefer a 400, in quanto quest'ultimo presenta la correlazione minore e dunque ci si aspetta che indipendentemente dalla numerosità della parcella si avrà una buona approssimazione del segnale.

Confronto tra Schaefer a 200 parcelle e Schaefer a 400 parcelle

In seguito al calcolo della Cosine Similarity tra le matrici di FC medie statiche, sono stati riportati in Figura 19 e in Figura 20 gli istogrammi normalizzati con la funzione di densità di probabilità per le due differenti bande al fine di avere le stesse altezze per gli istogrammi dei due atlanti; in ogni singolo sottografico è riportata la similarità tra le matrici di FC di un soggetto e quelle degli altri 19, sia per lo Schaefer a 200 che per quello a 400.

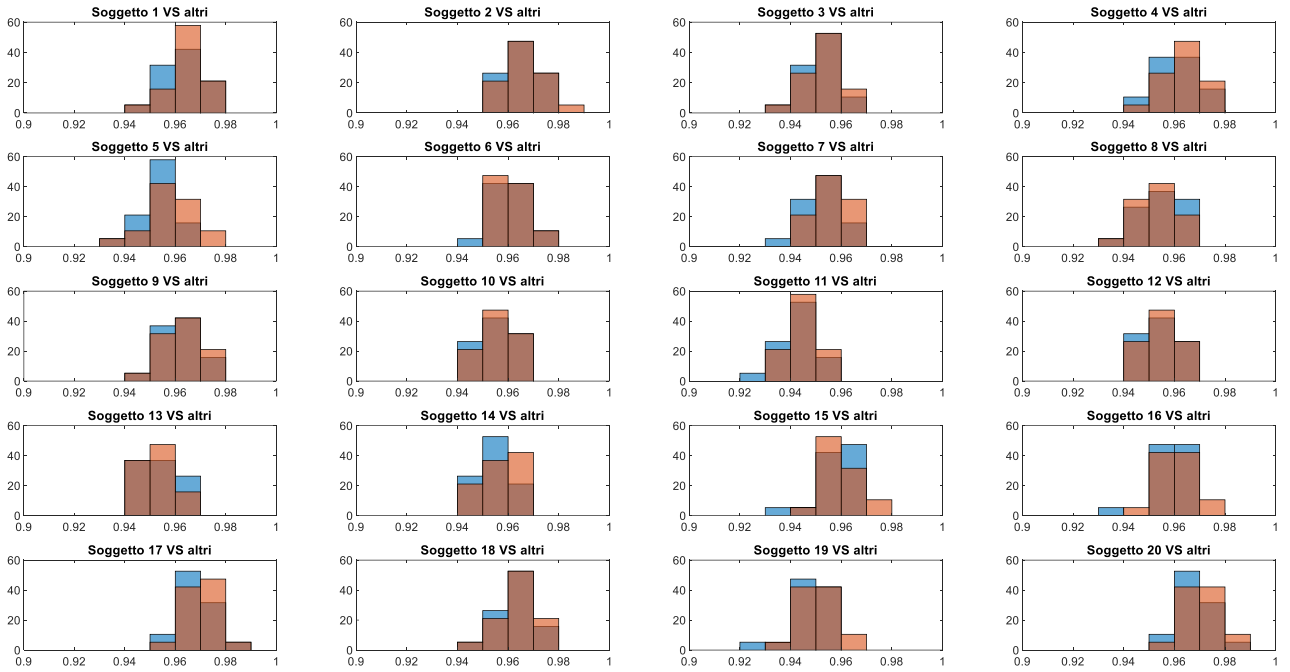


Figura 19: Cosine Similarity tra le matrici di FC statiche di un soggetto contro quelle degli altri per lo Schaefer a 200 (blu) e lo Schaefer a 400 (arancione) in banda delta.

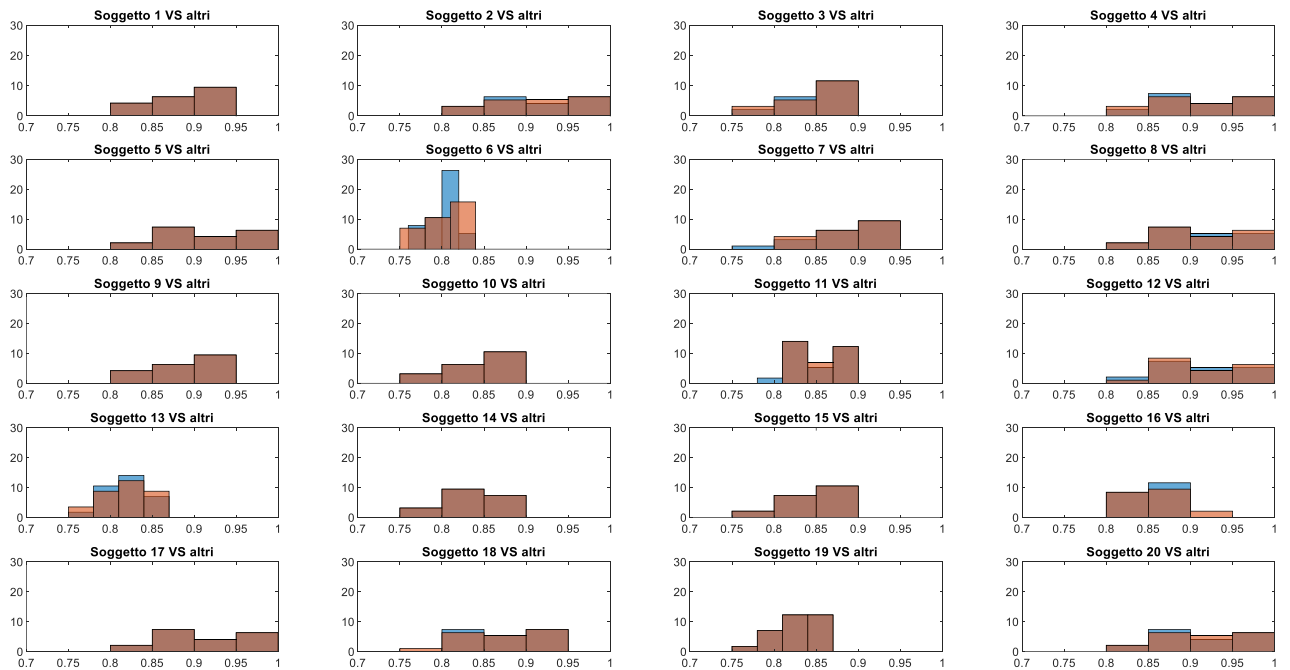


Figura 20: Cosine Similarity tra le matrici di FC statiche di un soggetto contro quelle degli altri per lo Schaefer a 200 (blu) e lo Schaefer a 400 (arancione) in banda beta.

Dalle due figure si osserva come i valori di similarità siano più bassi in banda beta che in banda delta, ma i valori assunti dai due atlanti sono quasi sovrapponibili, evidenziando una variabilità tra le bande, ma non tra le due differenti parcellizzazioni.

Al fine di valutare la differenza tra i due atlanti è stata usata anche la metrica “node degree”, la quale ha permesso di confrontare il grado dei nodi dello Schaefer a 200 con quello dello Schaefer a 400. Come è stato detto precedentemente, il grado dei nodi è stato normalizzato al fine di rendere confrontabili i dati dei due atlanti; infatti i network dello Schaefer a 400 avranno una dimensione maggiore e dunque anche un grado dei nodi superiore per via del maggior numero di parcelle.

In Tabella 1 è riportata la media e la standard deviation (SD) della node degree dei vari network nel campione di soggetti analizzati. Nella terza colonna si vede che tale metrica nei network DAN, LIM, CON, DMN e TEM non risente della scelta dell’atlante. Al contrario nei network VIS, MOT e SAL la metrica dipende dall’atlante.

	Node degree media Schaefer 200	Node degree media Schaefer 400	P_values
Visivo (VIS)	4.16 ± 0.87	4.28 ± 0.87	0.50
Somatotorio (MOT)	2.89 ± 0.61	2.78 ± 0.67	0.10
Dorsal Attention (DAN)	4.53 ± 1.01	3.84 ± 0.84	8.53 · 10 ⁻¹⁰
Saliency (SAL)	3.79 ± 0.83	3.85 ± 0.85	0.38
Limbico (LIM)	7.05 ± 1.16	8.14 ± 1.26	0.002
Control (CON)	2.69 ± 0.66	3.21 ± 0.89	9.33 · 10 ⁻¹⁴
Default mode (DMN)	2.72 ± 0.58	2.52 ± 0.55	4.71 · 10 ⁻⁶
Temporo-parietale (TEM)	16.93 ± 2.95	12.48 ± 2.30	8.26 · 10 ⁻¹²

Tabella 1: media e standard deviation della node degree nei network per lo Schaefer 200 e 400 e p_values della statistica t-test.

4.2 Analisi dinamica della Functional Connectivity

I risultati presentati di seguito riguardano solamente la banda delta e l'atlante Schaefer a 400 parcelle. Il calcolo della silhouette media sui risultati del clustering ha permesso di evidenziare che il numero ottimo di clusters, ossia di stati di connettività funzionale, è 4. In Figura 21 è riportato l'andamento della Silhouette media al variare del numero di clusters (k) calcolati.

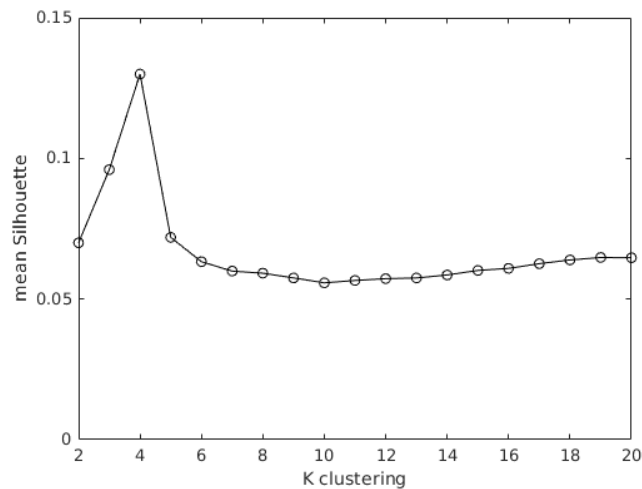


Figura 21: Silhouette media al variare del numero di cluster identificati.

Una volta selezionato il numero di cluster ottimo, sono state calcolate le matrici di connettività funzionale media rappresentative di ciascuno stato all'interno del nostro campione, visualizzate in Figura 22.

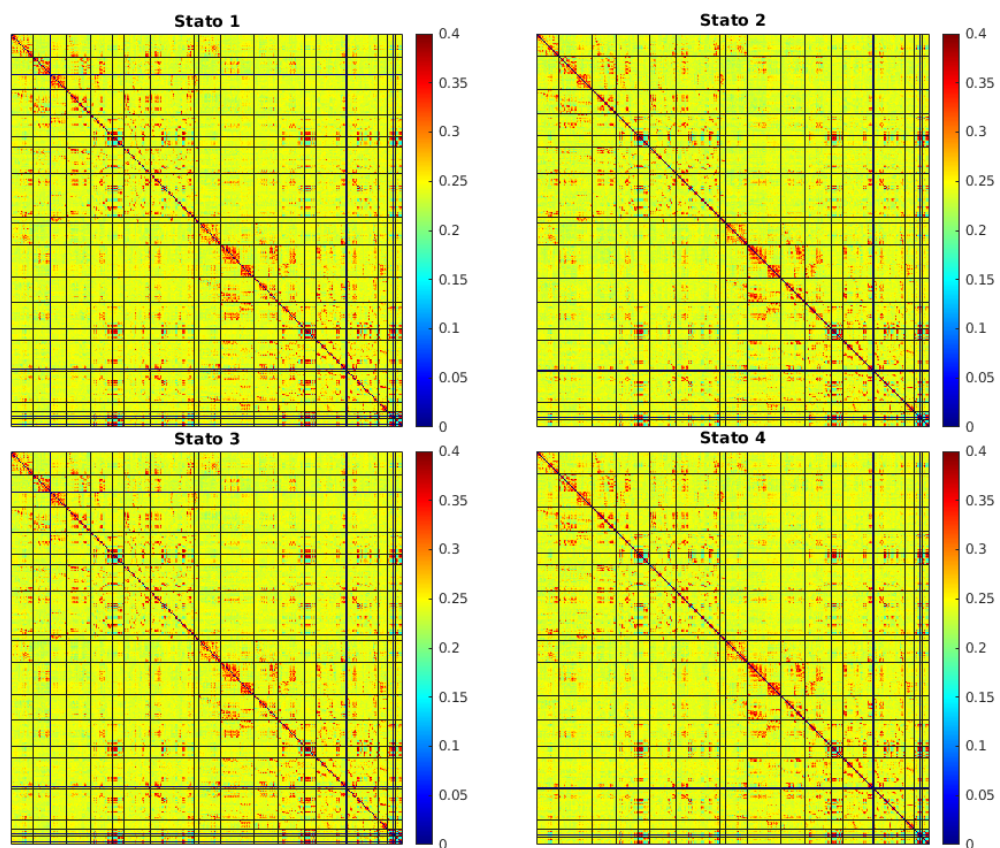


Figura 22: Matrici di FC medie rappresentative dei 4 stati. Ogni riga evidenzia l'appartenenza delle parcelle ad uno specifico network, il cui nome non è stato visualizzato per motivi di spazio. L'ordine con cui sono rappresentati i network è il seguente: network visivo sinistro, network somatomotorio sinistro, dorsal attentional network sinistro, salience network sinistro, network limbico sinistro, network del controllo sinistro, Default Mode Network sinistro, network tempo-parietale sinistro, network visivo destro, network somatomotorio destro, dorsal attentional network destro, salience network destro, network limbico destro, network del controllo destro, Default Mode Network destro, network tempo-parietale destro, sottocorticali destro e sinistro. La colorbar a lato di ciascuna matrice è associata al valore di PLI.

Come si può vedere, le matrici rappresentative dei vari cluster sono molto simili. Al fine di valutare se i quattro clusters fossero effettivamente in grado di evidenziare diversi stati di connessione fra i network all'interno della popolazione in esame, è stata calcolata la node degree di ciascun network al variare del cluster. I valori medi ottenuti sono riportati in Tabella 2.

	Stato 1	Stato 2	Stato 3	Stato 4
Visivo (VIS)	192	190	188	192
Somatomotorio (MOT)	199	197	198	206
Dorsal Attention (DAN)	198	198	200	197
Saliency (SAL)	207	205	208	205
Limbico (LIM)	225	229	228	216
Control (CON)	206	203	207	206
Default mode (DMN)	208	211	205	207
Temporo-parietale (TEM)	212	217	222	218
Sub-corticale (SUBC)	205	205	205	205

Tabella 2: valori medi della node degree per i quattro stati in funzione dei network.

L'ANOVA a 1 via non ha evidenziato differenze significative tra gli stati per nessun network.

In Figura 23 è invece riportato la permanenza di ciascun soggetto nei vari cluster. Come si può vedere lo stato 1 è quello a permanenza maggiore (media: 0.35%, SD: 0.09%), mentre gli altri sono molto simili anche sotto questo aspetto, variando tra 0.19% (SD: 0.13%) a 0.24% (SD: 0.09%).

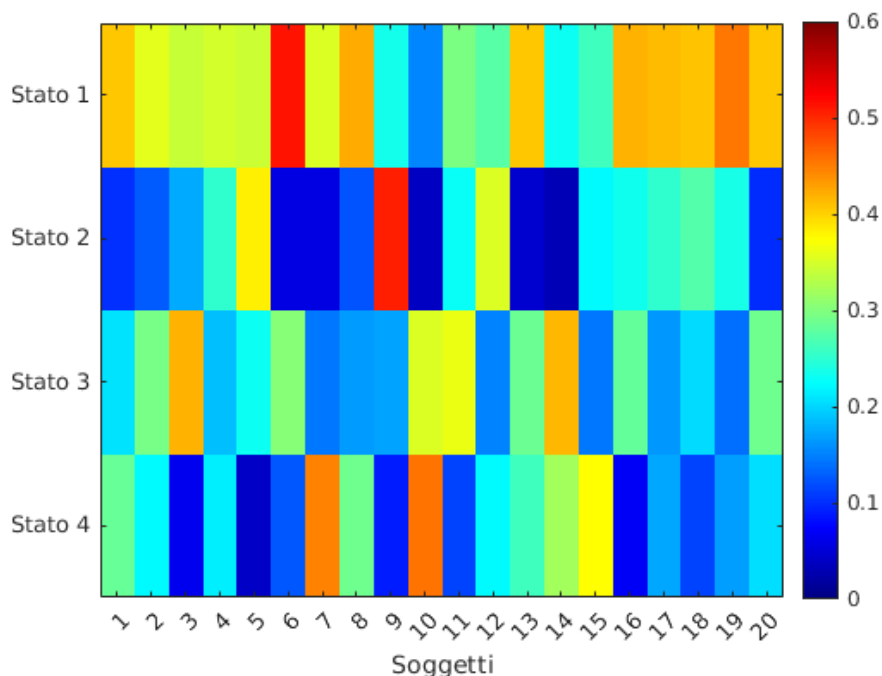


Figura 23: Permanenza di ciascun soggetto nei vari stati. Il codice colore rappresenta la permanenza in percentuale rispetto al totale delle finestre temporali considerate.

I risultati relativi alle altre bande e allo Schaefer a 200 parcelle sono confrontabili. In tutti i casi si trovano stati molto simili tra di loro, non in grado di discriminare finestre temporali in cui ci siano delle variazioni di comunicazione tra i network.

Una possibile causa può essere la media dei dati su finestre temporali fisse: per ottenere stime stabili del PLI, è spesso necessario utilizzare finestre temporali relativamente ampie. Questo approccio attenua il rumore ma, al contempo, smussa i cambiamenti dinamici della connettività che si manifestano su scale temporali più brevi. Inoltre, poiché il PLI ignora l'ampiezza del segnale e si concentra solo sulle differenze di fase, può perdere informazioni rilevanti sulla variazione dell'ampiezza o sull'oscillazione delle connessioni.

Il metodo di clustering scelto, basato su K-means con la *Cosine Similarity*, potrebbe non essere ottimale per rappresentare adeguatamente la complessità dei pattern dinamici di connettività. La tecnica K-means, infatti, assume che gli stati di connettività si distribuiscano in cluster sferici e separabili in modo lineare, una premessa che può essere inadeguata per dati neurofisiologici dinamici, che spesso presentano strutture non lineari o complessi pattern temporali. Anche l'uso della *Cosine Similarity*, che si concentra sulle differenze di angolo tra vettori senza considerare la loro magnitudine, può risultare problematica quando si analizzano cambiamenti sottili e temporanei nelle connessioni funzionali. Questo approccio, seppur ampiamente utilizzato in letteratura con dati di risonanza magnetica funzionale, potrebbe non essere in grado di seguire correttamente oscillazioni deboli o incoerenti.

Capitolo 5

Conclusioni

L'importanza dello studio delle comunicazioni tra regioni cerebrali è cresciuta esponenzialmente negli ultimi anni. Gli strumenti che ad oggi permettono di studiare questo tipo di comunicazioni sono sostanzialmente due: la Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) e l'Elettroencefalografia (EEG). In letteratura esistono molteplici riferimenti che ci permettono di suddividere le aree del cervello in parcelle, ovvero dei voxel che vengono raggruppati tra di loro in quanto sottostanno ad aree del cervello che operano per la stessa funzionalità. In questo studio si è potuto valutare in che maniera le differenti parcellizzazioni impattino sullo studio della connettività funzionale quando si è in presenza di un set di dati acquisito mediante EEG ad alta densità.

Gli atlanti neurali che sono stati utilizzati in questo studio sono il Brainnetome, caratterizzato da 246 parcelle rappresentati la regione corticale e sottocorticale, e lo Schaefer, costituito unicamente da una mappatura della regione corticale, e dunque affiancato dall'atlante Tian che permette di ottenere una mappatura sottocorticale in 16 parcelle.

Il dataset è stato studiato prima mediante delle analisi statiche, assumendo quindi che il segnale fosse costante nel tempo durante l'acquisizione del segnale, e successivamente mediante delle analisi dinamiche, utilizzando una finestra scorrevole.

I risultati dell'analisi statica ci hanno permesso di selezionare prima di tutto due specifiche parcellizzazioni dello Schaefer, ovvero quelle a 200 e 400 parcelle. Entrambe risultano avere una bassa correlazione tra il numero di voxel che costituiscono la parcella e la varianza spiegata dalla prima componente della PCA. Il confronto tra lo Schaefer a 200 e il Brainnetome ha mostrato risultati molto simili: questo può essere dovuto al fatto che il numero delle parcelle è molto simile o al fatto che il segnale EEG risulta essere stabile indipendentemente dal tipo di atlante che viene utilizzato in questo caso. Questo si è potuto valutare utilizzando differenti strumenti matematici e statistici, quali la Cosine Similarity, la Node Degree, la PCA e altri. Dunque indipendentemente dalla tecnica di analisi utilizzati, il risultato ottenuto è stato sempre lo stesso, mostrando dunque una buona similarità tra i due atlanti. Il fatto che le informazioni ricavate utilizzando un atlante a 200 e a 400 parcelle rimangano costanti, è estremamente utile nell'ottica dell'integrazione di dati multimodali. Normalmente, quando si integrano tecniche diverse, la scelta della parcellizzazione si basa sulla tecnica meno risoluta. Questo ha ovviamente il grande svantaggio che molta informazione spaziale viene perduta, riducendo enormemente il potenziale di molte tecniche come, ad esempio, la risonanza magnetica funzionale.

Il Phase Lag Index (PLI) si è rivelato una misura efficace per il calcolo della connettività funzionale statica, in quanto fornisce un'indicazione robusta delle relazioni di fase tra segnali elettrofisiologici quando i pattern di connettività rimangono stabili. Tuttavia, presenta alcune limitazioni nel monitorare la dinamica delle connessioni funzionali, soprattutto in contesti dove queste relazioni cambiano rapidamente.

Bibliografia

- [1] Chiarion G, Sparacino L, Antonacci Y, Faes L, Mesin L. Connectivity Analysis in EEG Data: A Tutorial Review of the State of the Art and Emerging Trends. *Bioengineering* (Basel). 2023 Mar 17;10(3):372. doi: 10.3390/bioengineering10030372. PMID: 36978763; PMCID: PMC10044923.
- [2] Glover GH. Overview of functional magnetic resonance imaging. *Neurosurg Clin N Am*. 2011 Apr;22(2):133-9, vii. doi: 10.1016/j.nec.2010.11.001. PMID: 21435566; PMCID: PMC3073717.
- [3] <https://epilessia-info.forumfree.it/?t=76683376>
- [4] Dattola S, Morabito FC, Mammone N, La Foresta F. Findings about LORETA Applied to High-Density EEG—A Review. *Electronics*. 2020; 9(4):660. <https://doi.org/10.3390/electronics9040660>
- [5] Stoyell SM, Wilmskoetter J, Dobrota MA, Chinappen DM, Bonilha L, Mintz M, Brinkmann BH, Herman ST, Peters JM, Vulliemoz S, Seeck M, Hämäläinen MS, Chu CJ. High-Density EEG in Current Clinical Practice and Opportunities for the Future. *J Clin Neurophysiol*. 2021 Mar 1;38(2):112-123. doi: 10.1097/WNP.0000000000000807. PMID: 33661787; PMCID: PMC8083969.
- [6] Hallez H, Vanrumste B, Grech R, Muscat J, De Clercq W, Vergult A, D'Asseler Y, Camilleri KP, Fabri SG, Van Huffel S, Lemahieu I. Review on solving the forward problem in EEG source analysis. *J Neuroeng Rehabil*. 2007 Nov 30;4:46. doi: 10.1186/1743-0003-4-46. PMID: 18053144; PMCID: PMC2234413.
- [7] Berg P, Scherg M: A Fast Method for Forward Computation of Multiple-Shell Spherical Head Models. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 1994, 90:58-64.
- [8] Grech, R., Cassar, T., Muscat, J. *et al.* Review on solving the inverse problem in EEG source analysis. *J NeuroEngineering Rehabil* 5, 25 (2008). <https://doi.org/10.1186/1743-0003-5-25>
- [9] Chiarion G, Sparacino L, Antonacci Y, Faes L, Mesin L. Connectivity Analysis in EEG Data: A Tutorial Review of the State of the Art and Emerging Trends. *Bioengineering*. 2023; 10(3):372. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10030372>

- [10] Bastos AM, Schoffelen JM. A Tutorial Review of Functional Connectivity Analysis Methods and Their Interpretational Pitfalls. *Front Syst Neurosci*. 2016 Jan 8;9:175. doi: 10.3389/fnsys.2015.00175. PMID: 26778976; PMCID: PMC4705224.
- [11] Stam CJ, Nolte G, Daffertshofer A. Phase lag index: assessment of functional connectivity from multi channel EEG and MEG with diminished bias from common sources. *Hum Brain Mapp*. 2007 Nov;28(11):1178-93. doi: 10.1002/hbm.20346. PMID: 17266107; PMCID: PMC6871367.
- [12] Xie W, Toll RT, Nelson CA. EEG functional connectivity analysis in the source space. *Dev Cogn Neurosci*. 2022 Aug;56:101119. doi: 10.1016/j.dcn.2022.101119. Epub 2022 Jun 9. PMID: 35716637; PMCID: PMC9204388.
- [13] Cohen MX. Effects of time lag and frequency matching on phase-based connectivity. *J Neurosci Methods*. 2015 Jul 30;250:137-46. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.09.005. Epub 2014 Sep 16. PMID: 25234308.
- [14] Rubinov M, Sporns O. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *Neuroimage*. 2010 Sep;52(3):1059-69. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.10.003. Epub 2009 Oct 9. PMID: 19819337.
- [15] Russell A. Poldrack, Analisi della regione di interesse per fMRI, *Neuroscienze cognitive e affettive sociali*, Volume 2, Numero 1, marzo 2007, Pagine 67–70, <https://doi.org/10.1093/scan/nsm006>
- [16] Fan L, Li H, Zhuo J, Zhang Y, Wang J, Chen L, Yang Z, Chu C, Xie S, Laird AR, Fox PT, Eickhoff SB, Yu C, Jiang T. The Human Brainnetome Atlas: A New Brain Atlas Based on Connectional Architecture. *Cereb Cortex*. 2016 Aug;26(8):3508-26. doi: 10.1093/cercor/bhw157. Epub 2016 May 26. PMID: 27230218; PMCID: PMC4961028.
- [17] Alexander Schaefer, Ru Kong, Evan M Gordon, Timothy O Laumann, Xi-Nian Zuo, Avram J Holmes, Simon B Eickhoff, B T Thomas Yeo, Local-Global Parcellation of the Human Cerebral Cortex from Intrinsic Functional Connectivity MRI, *Cerebral Cortex*, Volume 28, Issue 9, September 2018, Pages 3095–3114, <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx179>

- [18] Yeo BT, Krienen FM, Sepulcre J, Sabuncu MR, Lashkari D, Hollinshead M, Roffman JL, Smoller JW, Zöllei L, Polimeni JR, Fischl B, Liu H, Buckner RL. The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol*. 2011 Sep;106(3):1125-65. doi: 10.1152/jn.00338.2011. Epub 2011 Jun 8. PMID: 21653723; PMCID: PMC3174820.
- [19] Tian, Y., Margulies, D.S., Breakspear, M. *et al.* Topographic organization of the human subcortex unveiled with functional connectivity gradients. *Nat Neurosci* **23**, 1421–1432 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00711-6>
- [20] Celli M, Mazzonetto I, Zangrossi A, Bertoldo A, Cona G, Corbetta M. One-year-later spontaneous EEG features predict visual exploratory human phenotypes. *Commun Biol*. 2022 Dec 12;5(1):1361. doi: 10.1038/s42003-022-04294-9. PMID: 36509841; PMCID: PMC9744741.
- [21] Widmann A, Schröger E, Maess B. Digital filter design for electrophysiological data--a practical approach. *J Neurosci Methods*. 2015 Jul 30;250:34-46. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.08.002. Epub 2014 Aug 13. PMID: 25128257.
- [22] Perrin F, Pernier J, Bertrand O, Echallier JF. Spherical splines for scalp potential and current density mapping. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1989 Feb;72(2):184-7. doi: 10.1016/0013-4694(89)90180-6. PMID: 2464490.
- [23] Pion-Tonachini L, Kreutz-Delgado K, Makeig S. ICLabel: An automated electroencephalographic independent component classifier, dataset, and website. *Neuroimage*. 2019 Sep;198:181-197. doi: 10.1016/j.neuroimage.2019.05.026. Epub 2019 May 16. PMID: 31103785; PMCID: PMC6592775.
- [24] Mullen, Tim & Kothe, Christian & Chi, Mike & Ojeda, Alejandro & Kerth, Trevor & Makeig, Scott & Jung, Tzyy-Ping & Cauwenberghs, Gert. (2015). Real-Time Neuroimaging and Cognitive Monitoring Using Wearable Dry EEG. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. pp. 1. 10.1109/TBME.2015.2481482.
- [25] J. Haueisen, C. Ramon, M. Eiselt, H. Brauer and H. Nowak, "Influence of tissue resistivities on neuromagnetic fields and electric potentials studied with a finite element model of the head," in *IEEE*

Transactions on Biomedical Engineering, vol. 44, no. 8, pp. 727-735, Aug. 1997, doi: 10.1109/10.605429.

[26] doi: 10.1088/0266-5611/20/4/007

[27] Pascual-Marqui RD, Lehmann D, Koukkou M, Kochi K, Anderer P, Saletu B, Tanaka H, Hirata K, John ER, Prichep L, Biscay-Lirio R, Kinoshita T. Assessing interactions in the brain with exact low-resolution electromagnetic tomography. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2011 Oct 13;369(1952):3768-84. doi: 10.1098/rsta.2011.0081. PMID: 21893527.

[28] Fraschini M, Demuru M, Crobe A, Marrosu F, Stam CJ, Hillebrand A. The effect of epoch length on estimated EEG functional connectivity and brain network organisation. *J Neural Eng*. 2016 Jun;13(3):036015. doi: 10.1088/1741-2560/13/3/036015. Epub 2016 May 3. PMID: 27137952.

[29] Menon, Sreevalsan & Krishnamurthy, K.. (2019). A Comparison of Static and Dynamic Functional Connectivities for Identifying Subjects and Biological Sex Using Intrinsic Individual Brain Connectivity. *Scientific Reports*. 9. 10.1038/s41598-019-42090-4.

[30] Peipei Xia, Li Zhang, and Fanzhang Li. 2015. Learning similarity with cosine similarity ensemble. *Inf. Sci.* 307, C (June 2015), 39–52. <https://doi.org/10.1016/j.ins.2015.02.024>

[31] Mukaka MM. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med J*. 2012 Sep;24(3):69-71. PMID: 23638278; PMCID: PMC3576830.

[32] <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407908-3.00004-2>

[33] Eichenbaum A, Pappas I, Lurie D, Cohen JR, D'Esposito M. Differential contributions of static and time-varying functional connectivity to human behavior. *Netw Neurosci*. 2021 Feb 1;5(1):145-165. doi: 10.1162/netn_a_00172. PMID: 33688610; PMCID: PMC7935045.

[34] Jia H, Hu X, Deshpande G. Behavioral relevance of the dynamics of the functional brain connectome. *Brain Connect*. 2014 Nov;4(9):741-59. doi: 10.1089/brain.2014.0300. Epub 2014 Sep 25. PMID: 25163490; PMCID: PMC4238311.

[35] Omran, Mahamed & Engelbrecht, Andries & Salman, Ayed. (2007). An overview of clustering methods. *Intell. Data Anal.*. 11. 583-605. 10.3233/IDA-2007-11602.

[36] Rousseeuw, Peter. (1987). Rousseeuw, P.J.: Silhouettes: A Graphical Aid to the Interpretation and Validation of Cluster Analysis. *Comput. Appl. Math.* 20, 53-65. *Journal of Computational and Applied Mathematics.* 20. 53-65. 10.1016/0377-0427(87)90125-7.