UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

"STUDIO DELL'INTERAZIONE TRA L'ELETTROENCEFALOGRAMMA E LA STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA PER L'ANALISI DELLE ATTIVITA' CEREBRALI"

Relatore: Prof. Chiara Dalla Man

Laureando: Omar Arab

ANNO ACCADEMICO 2022 –2023

21 novembre 2023

Sommario

Dopo una panoramica sullanatomia del sistema nervoso umano e sul suo funzionamento, questa tesi si propone di illustrare le tecnologie dell'elettroencefalogramma (EEG), della stimolazione magnetica transcranica (TMS) e del loro impiego combinato. La combinazione tra EEG e TMS rappresenta un campo di ricerca affascinante nel panorama della neuroscienze moderne. Questa tesi si propone di esplorare in profondità questa interazione dinamica, mettendo in luce i meccanismi neurofisiologici sottostanti e le implicazioni che essa offre in termini di comprensione delle attività cerebrali e di potenziali applicazioni terapeutiche.

Indice

1 Introduzione **1**

2 Cenni anatomici sul cervello **3**
2.1 **Sistema nervoso** . . . 3
2.1.1 **Cellule nervose** . . . 3
2.1.2 **Aree funzionali della corteccia cerebrale** . . . 4
2.2 **Genesi del potenziale d'azione** . . . 5
2.2.1 **Canali ionici** . . . 6
2.2.2 **Potenziali post-sinaptici** . . . 8

3 EEG: elettroencefalogramma **9**
3.1 **Strumentazione** . . . 9
3.2 **Analisi dei dati EEG** . . . 12
3.3 **Potenziali evocati** . . . 18

4 TMS **21**
4.1 **TMS: Stimolazione Magnetica Transcranica** . . . 21
4.1.1 **Principi fisici della TMS** . . . 21
4.1.2 **Parametri di stimolazione della TMS** . . . 22
4.1.3 **Applicazioni TMS** . . . 24

5 Interazione tra TMS ed EEG **29**
5.1 **Interazione tra EEG e TMS** . . . 29
5.1.1 **Coregistrazione di TMS ed EEG** . . . 29

6 Conclusioni **35**

Bibliografia **37**

Capitolo 1

Introduzione

Nel corso degli ultimi decenni è avvenuto un rapido sviluppo nell'ambito delle tecnologie neurali. Queste innovazioni hanno rivoluzionato gli approcci utilizzati nella trattazione e nell'analisi di alcune patologie che affliggono il sistema nervoso. Queste malattie colpiscono per lo più soggetti in età avanzata portando a conseguenze gravi o addirittura invalidanti e mostrando alterazioni nei normali processi motori e cognitivi che hanno sede nel sistema nervoso. Come ogni innovazione in ambito scientifico, anche quelle riguardanti il cervello hanno incontrato nel loro percorso di crescita delle criticità sia in termini etici che in termini tecnici. Queste ultime si sono presentate come difficoltà nell'implementazione delle nuove tecnologie, ovvero nel rendere concreto ciò che già da tempo aveva solide fondamenta teoriche. Inoltre, sono state riscontrate grandi difficoltà anche nella rimozione dei fattori di disturbo, nel garantire la stabilità dei nuovi sistemi e nell'avere dati affidabili sui quali lavorare.
Il crescente aumento di malattie nervose quali ad esempio la depressione o l'anoressia nervosa ha portato all'esplorazione di soluzioni diverse rispetto al trattamento farmacologico tradizionale che in alcuni pazienti non sempre dimostra una grande efficacia. In questo scenario instabile, dove il trattamento farmacologico sortiva i suoi effetti terapeutici sulle malattie nervose in maniera non sufficientemente commisurabile allo stato patologico del paziente, la stimolazione magnetica transcranica (TMS) si è presentata come rimedio alternativo per il miglioramento delle condizioni del malato. La TMS si è imposta anche come ottimo strumento di indagine fornendo molte informazioni riguardo la connettività e la reattività corticale grazie all'impiego simultaneo di tecniche di neuroimaging. Lo strumento di registrazione maggiormente utilizzato contemporaneamente alla TMS è l'elettroencefalografia (EEG) che permette di evidenziare come gli impulsi magnetici interferiscano con la regolare attività cerebrale. Gli effetti della TMS variano in base alla modalità di erogazione dell'impulso, in base alla forma della bobina che è prevista nella strumentazione e infine in base alla zona dello scalpo a cui si sottopone il trattamento.
Questo lavoro di tesi ha l'obiettivo di dare una descrizione sul funzionamento dell'elettroencefalografo e della stimolazione magnetica transcranica per discutere e analizzare la variazione dell'attività cerebrale e l'apporto terapeutico a malattie come la depressione.

Dopo una parte introduttiva riguardante la fisiologia del sistema nervoso, si illustrano i principi di funzionamento della strumentazione per EEG E due metodologie d'analisi del segnale ovvero la *Short Time Fourier Transform* e la *trasformata Wavelet*. In seguito si passa alla spiegazione della strumentazione per TMS e all'efficacia clinica che essa dimostra in alcuni casi. Infine verrà descritta l'interazione tra i due dispositivi trattati con particolare attenzione ai potenziali evocati dalla TMS (TEP) e agli artefatti generati in fase di acquisizione.

Capitolo 2

Cenni anatomici sul cervello

Prima di potersi addentrare nell'analisi delle strumentazioni biomediche dell'EEG e della TMS è necessario innanzitutto avere chiari i processi neurofisiologici che stanno alla base dei fenomeni riscontrati visivamente nello studio dei dati rilevati da queste due tecnologie. Per fare ciò è necessario dare una panoramica generale sul sistema nervoso e sul suo funzionamento.

2.1 Sistema nervoso

Il sistema nervoso è una rete di neuroni la cui caratteristica principale è quella di generare, modulare e trasmettere informazioni tra tutte le diverse parti del corpo umano. Questa proprietà consente di svolgere molte funzioni importanti, come la regolazione delle funzioni vitali del corpo (battito cardiaco, respirazione, digestione), delle sensazioni e dei movimenti corporei. In definitiva, le strutture del sistema nervoso coordinano tutto ciò che ci rende umani: la coscienza, la cognizione, il comportamento e i ricordi.
Il sistema nervoso si compone di due parti principali:

- il Sistema nervoso centrale (SNC) cioè il centro di integrazione e di comando dell'organismo, composto dall'encefalo e dal midollo spinale
- il sistema nervoso periferico (PNS), che rappresenta il tramite tra il SNC e il corpo, è ulteriormente suddiviso in sistema nervoso somatico (SNS) e sistema nervoso autonomo (SNA) ed è composto dall'insieme delle fibre nervose e dei gangli dei due sottosistemi che lo compongono.

2.1.1 Cellule nervose

Il sistema nervoso è costituito da due tipi di cellule: neuroni e le cellule gliali.

Neuroni

I neuroni, o cellule nervose, sono le principali unità strutturali e funzionali del sistema nervoso. Ogni neurone è costituito da un corpo (soma) e da una serie assoni o dendriti. Il corpo della cellula nervosa contiene gli organelli cellulari ed è il luogo in cui vengono generati gli impulsi neurali (potenziali d'azione). Gli assoni derivano dal corpo, collegano i neuroni tra loro e con altre cellule del corpo, consentendo il flusso degli impulsi neurali. Esistono due tipi di proiezioni neurali che differiscono per struttura e funzione: gli assoni e i dendriti.
Gli assoni sono lunghi e conducono gli impulsi lontano dal corpo del neurone.
I dendriti sono corti e agiscono per ricevere gli impulsi da altri neuroni, conducendo il segnale elettrico verso il corpo della cellula nervosa.

Ogni neurone ha un solo assone, mentre il numero di dendriti varia. In base a questo numero, si distinguono quattro tipi strutturali di neuroni: multipolari, bipolari, pseudounipolari e unipolari.
La morfologia dei neuroni li rende altamente specializzati per lavorare con gli impulsi neurali; essi generano, ricevono e inviano questi impulsi ad altri neuroni e a tessuti non neurali.
I neuroni si differenziano in due tipologie in base alla direzionalità del segnale elettrico: neuroni efferenti e afferenti.
I neuroni efferenti (motori o discendenti) inviano impulsi neurali dal SNC ai tessuti periferici, istruendoli sul loro funzionamento.
I neuroni afferenti (sensoriali o ascendenti) conducono impulsi dai tessuti periferici al SNC. Questi impulsi contengono informazioni sensoriali.
Quando l'impulso arriva alla sinapsi, innesca il rilascio di sostanze chimiche chiamate neurotrasmettitori dall'estremità dell'assone. Questi neurotrasmettitori si legano alla membrana della cellula effettrice provocando eventi biochimici all'interno e generano un nuovo potenziale d'azione.

Cellule gliali

Le cellule gliali, chiamate anche neuroglia o semplicemente glia, sono cellule più piccole non eccitatorie che agiscono a sostegno dei neuroni. Non propagano potenziali d'azione ma, mielinizzano i neuroni, mantengono l'equilibrio omeostatico, forniscono supporto strutturale, protezione e nutrimento ai neuroni in tutto il sistema nervoso.
Questa serie di funzioni è assicurata da quattro diversi tipi di cellule gliali.
Le glia mielinizzanti producono la guaina mielinica che isola gli assoni. Sono chiamate oligodendrociti nel sistema nervoso centrale e cellule di Schwann nel sistema nervoso periferico.
Gli astrociti (SNC) e le cellule gliali satelliti (SNP) condividono entrambi la funzione di sostenere e proteggere i neuroni.
Altri due tipi di cellule gliali si trovano esclusivamente nel SNC: le microglia che sono i fagociti del SNC e le cellule ependimaliche che rivestono invece il sistema ventricolare del SNC. Il sistema nervoso centrale non ha un equivalente gliale della microglia, poiché il ruolo fagocitario è svolto dai macrofagi.
La maggior parte degli assoni è avvolta da una sostanza isolante bianca chiamata guaina mielinica, prodotta dagli oligodendrociti e dalle cellule di Schwann. La mielina avvolge un assone in modo segmentario, lasciando spazi non mielinizzati tra i segmenti, chiamati nodi di Ranvier. Gli impulsi neurali si propagano solo attraverso i nodi di Ranvier, saltando la guaina mielinica. Questo aumenta notevolmente la velocità di propagazione degli impulsi neurali.

2.1.2 Aree funzionali della corteccia cerebrale

La corteccia cerebrale è divisa in sei lobi: frontale, temporale, parietale, occipitale, insulare e limbico. Ciascun lobo del cervello presenta caratteristiche di superficie che hanno ognuna una propria funzione. Questi lobi non sono anatomicamente separati l'uno dall'altro da alcuna barriera, ma sono fisicamente continui l'uno con l'altro, o interconnessi attraverso vie neurali al fine di lavorare insieme per elaborare e sintetizzare le informazioni.

Dal punto di vista funzionale invece il cervello può essere suddiviso come segue: aree sensoriali, motorie ed associative. Le aree sensoriali interpretano gli impulsi sensoriali, le aree motorie controllano il movimento muscolare e le aree associative si occupano dei processi emotivi ed intellettuali.
L'area sensoriale primaria è situata subito dopo il solco centrale del cervello nel giro postcentrale del lobo parietale. Quest'area riceve le sensazioni dai recettori cutanei muscolari e viscerali in varie parti del corpo. Ogni punto dell'area riceve sensazioni da parti specifiche del corpo. L'area che riceve uno stimolo specifico ha estensione proporzionale al numero di recettori coinvolti. Vi è anche un'area sensoriale secondaria che è una piccola regione nella parete posteriore del sulcus laterale ed è coinvolta in processi sensoriali meno importanti di quelli che riguardano l'area primaria.
Posteriormente all'area sensoriale primaria si trova l'area di associazione sensoriale. Essa riceve input dal talamo, da altre porzioni inferiori del cervello e dall'area sensoriale primaria. Il suo ruolo è quello

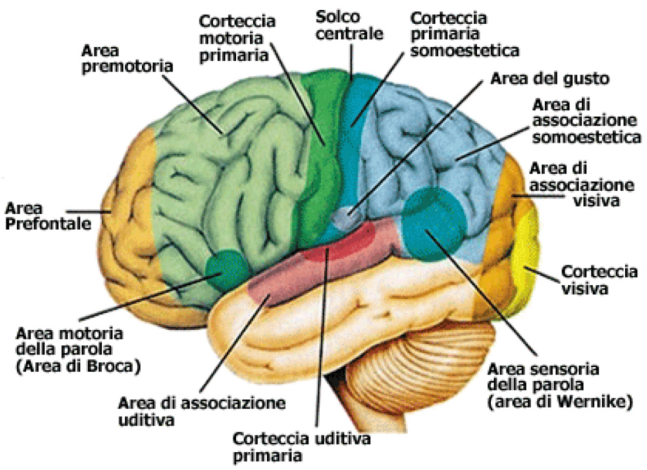

Figura 2.1: Aree funzionali del cervello. Figura adattata da [2]

di integrare e interpretare le sensazioni. Quest'area permette ad esempio di determinare l'esatta forma e consistenza di un oggetto senza guardarlo, di determinare l'orientamento di un oggetto rispetto ad un altro mentre vengono percepiti e di percepire la relazione tra una parte del corpo e l'altra. Un altro ruolo dell'area di associazione sensoriale è la memorizzazione di esperienze sensoriali passate.
Altre aree sensoriali sono area visiva primaria, area di associazione visiva, area uditiva primaria, area di associazione uditiva, area gustativa primaria, area olfattiva primaria, area di Wernicke.

L'area motoria primaria si trova nel giro precentrale del lobo frontale. Come l'area sensoriale primaria, l'area motoria primaria è costituita da regioni che controllano specifici muscoli o gruppi di muscoli. La stimolazione di un punto specifico dell'area motoria primaria provoca una contrazione muscolare, di solito sul lato opposto del corpo. L'area premotoria è anteriore alla primaria. Si occupa di attività motorie apprese, di natura complessa e sequenziale, ad esempio, la scrittura. Pertanto, l'area premotoria controlla i movimenti abili.
L'area del campo visivo frontale nella corteccia frontale è talvolta inclusa nell'area premotoria Quest'area controlla i movimenti volontari di scansione dell'occhio. Per esempio, la ricerca di una parola in un dizionario. Anche le aree del linguaggio sono parti significative della corteccia motoria. La traduzione del discorso o delle parole scritte in pensieri coinvolge le aree sensoriali (primaria uditiva, associazione uditiva, visiva primaria, associazione visiva e gnostica). La traduzione dei pensieri in discorsi coinvolge l'area motoria del linguaggio, situata nel lobo frontale, appena al di sopra del solco cerebrale laterale. Da quest'area, una sequenza di impulsi nervosi viene inviata alla regione premotoria che controlla i muscoli della laringe, faringe e bocca. Gli impulsi nervosi dall'area premotoria al muscolo danno luogo a contrazioni specifiche e coordinate che consentono di parlare.

2.2 Genesi del potenziale d'azione

L'individuazione del potenziale di membrana, caratterizzante alcune cellule, è stato un fattore fondamentale nella comprensione della generazione e della propagazione del potenziale d'azione. Il potenziale di membrana è la differenza di potenziale misurata tra l'interno e l'esterno della cellula. La tensione misurata dipende dalla diversa concentrazione di particelle cariche dentro e fuori la cellula che avviene sia a causa della presenza di un gradiente di concentrazione che da una differente permeabilità dei diversi ioni coinvolti nel processo.
Le particelle cariche sono disposte in modo da avere una prevalenza di ioni potassio (K+) all'interno della cellula rispetto all'esterno ed una preponderanza di ioni sodio (Na+) al di fuori della membrana

piuttosto che dentro la cellula. Una tale differenza di concentrazione è alla base di uno squilibrio chimico ed elettrico dei diversi ioni. Questo squilibrio scompare per ogni ione al suo potenziale di equilibrio, una tensione alla quale la forza chimica (gradiente di concentrazione) che agisce sullo ione è uguale e opposta alla forza elettrica (gradiente di carica) che agisce sullo ione. Gli ioni possono fluire in entrambe le direzioni attraverso la membrana, a tensioni diverse dal potenziale di equilibrio, ma è molto più probabile che uno ione attraversi la membrana da un'alta concentrazione a una bassa concentrazione (secondo il gradiente chimico) o dal lato in cui c'è un maggior numero di ioni con carica simile a quello in cui ci sono meno ioni con carica simile (secondo il gradiente elettrico). La relazione tra la forza motrice chimica e il potenziale di equilibrio è data dall'equazione di Nernst:

$$E = \frac{RT}{zf} ln \frac{[X]_e}{[X]_i} \tag{2.1}$$

A causa di queste differenze di concentrazione, e poiché una cellula a riposo è selettivamente permeabile al K+, il potenziale di membrana a riposo è vicino al potenziale di equilibrio per il potassio. Quando gli ioni potassio si muovono lungo il loro gradiente di concentrazione (dall'interno, dove la concentrazione di K+ è alta, all'esterno, dove la concentrazione di K+ è bassa), il potenziale di membrana a riposo tende al potenziale di equilibrio, che è di circa -60 millivolt (mV), in base alla concentrazione fisiologica di K+, all'interno e all'esterno della cellula. Se la permeabilità selettiva cambia verso un altro ione, il potenziale di membrana si sposta verso il suo potenziale di equilibrio. Questa variazione della permeabilità selettiva è alla base del potenziale d'azione.

2.2.1 Canali ionici

Generalmente le membrane fosfolipidiche risultano impermeabili agli ioni, pertanto vi è un'altra modalità di passaggio di questi ultimi dall'esterno all'interno della cellula e viceversa. L'attraversamento, in accordo con il modello a mosaico fluido utilizzato per descrivere la doppia membrana fosfolipidica, è reso possibile dalle proteine aventi sia domini extracellulari che citoplasmatici. Queste proteine creano dei pori che permettono il passaggio delle particelle cariche e sono chiamati canali ionici.
I canali ionici sono spesso voltaggio-dipendenti, ovvero il passaggio degli ioni dipende dal valore del potenziale di membrana.La maggior parte dei canali ionici sono chiusi al potenziale di riposo della membrana.La depolarizzazione della membrana provoca l'apertura dei canali secondo un processo denominato "attivazione". L'attivazione comporta una deformazione della proteina che modifica il suo stato morfologico per permettere il passaggio dello ione. Si riescono ad identificare dunque due stati confromazionali del canale: aperto e chiuso.
Un terzo stato, ossia quello inattivo, è la conseguenza di un'attivazione più prolungata: una porzione del canale può bloccare il poro aperto. L'inattivazione avviene mediante un ripiegamento dell'ansa tra il terzo e il quarto dominio, occludendo il poro dal versante interno. Questo processo di autoblocco determina la cessazione del flusso ionico attraverso il canale. I canali si riprendono dall'inattivazione dopo che la tensione ritorna al potenziale di membrana a riposo, o si iperpolarizza.
E' importante puntualizzare come ogni diverso canale ionico subisca queste modifiche conformazionali ad una tensione e ad un tasso di velocità caratteristici. Ad esempio, i canali del sodio si aprono con una probabilità crescente in un intervallo di potenziali di membrana compreso tra circa -60 mV e circa -10 mV. A tensioni maggiori di 0 mV, la probabilità di apertura dei canali del sodio non aumenta ulteriormente. Anche i canali del potassio voltaggio-dipendenti si aprono con probabilità crescente a tensioni che iniziano a circa -60 mV, tuttavia essi si aprono molto più lentamente dei canali del sodio. Questo ritardo tra l'apertura dei canali Na+ e l'apertura dei canali K+ è fondamentale per la forma e la durata del potenziale d'azione.

Attivazione dei canali Na+

La depolarizzazione del potenziale di membrana oltre un dato valore "di soglia" dà luogo a un potenziale d'azione. Come detto precedentemente, i canali Na+ voltaggio-dipendenti si aprono con una probabilità crescente durante la depolarizzazione. La soglia viene raggiunta quando la quantità di Na+ che entra nella cellula è maggiore dell'efflusso di K+ a riposo e quando la variazione del potenziale di membrana con l'afflusso di Na+ attiva i canali Na+ vicini. La prima condizione è necessaria perché l'efflusso di K+ dovuto al gradiente di concentrazione e alla permeabilità selettiva a riposo al K+ tende a mantenere il potenziale di membrana a riposo vicino al potenziale di equilibrio di circa -60 mV. La seconda condizione è necessaria perché lo stimolo depolarizzante iniziale (spesso un potenziale sinaptico eccitatorio) è di solito una depolarizzazione non sufficientemente ampia per aprire molti canali del sodio. Gli ioni sodio, tuttavia, sono carichi positivamente e possono quindi influenzare il campo elettrico "percepito" dai canali Na+ vicini. Quando una quantità sufficiente di Na+ entra nella cellula, questi ioni depolarizzano il potenziale di membrana in misura sufficiente ad attivare altri canali Na+. A loro volta, questi canali si aprono, lasciando entrare ancora più Na+ nella cellula e portando all'attivazione di altri canali. In altre parole, il potenziale d'azione è un ciclo rigenerativo a feedback positivo, uno dei pochi presenti in natura. Quindi, un aumento della permeabilità selettiva al Na+ determina un afflusso di sodio e uno spostamento del potenziale di membrana verso il potenziale di equilibrio.
L'afflusso iniziale di Na+ nella cellula è noto come "fase ascendente" di un potenziale d'azione. Quando il Na+ carico positivamente entra nella cellula, la membrana si depolarizza finchè la tensione diventa meno negativa o addirittura supera lievemente il livello di 0 mV. Nella trattazione del potenziale è fondamentale definire la conduttanza. Essa è l'attitudine quantitativa di un conduttore a farsi percorrere dalla corrente. É importante in particolare definire la conduttanza in relazione allo ione Na+. Quando tutti i canali ionici in una membrana sono chiusi, la resistenza della membrana è elevata e la conduttanza è scarsa o nulla. Quando i canali si aprono, la conduttanza aumenta e la corrente ionica scorre attraverso i canali aperti. Quando si aprono altri canali, la conduttanza continua ad aumentare fino a quando tutti i canali Na+ disponibili sono aperti. In conclusione, l'aumento della permeabilità selettiva (aumento della conduttanza) all' Na+ provoca la depolarizzazione del potenziale di membrana verso il potenziale di equilibrio del sodio, producendo così la fase ascendente del potenziale d'azione. Tutti questi eventi si verificano in un tempo inferiore a 1 ms, il tempo necessario ai canali del Na+ per attivarsi.

Inattivazione dei canali Na+ e attivazione dei canali K+

Dopo che i canali sono rimasti aperti per circa un millisecondo, si inattivano con il meccanismo di blocco dei pori precedentemente discusso, portando a una diminuzione della conduttanza del sodio. L'inattivazione dei canali del sodio è il primo passo che porta alla ripolarizzazione della membrana; la diminuzione della permeabilità selettiva al Na+ fa sì che il potenziale di membrana si allontani dal potenziale di equilibrio del sodio e si sposti verso il normale potenziale di membrana a riposo (che è dovuto a una permeabilità selettiva al K+). Questa parte del potenziale d'azione è chiamata "fase di caduta". Sebbene l'inattivazione dei canali del Na+ possa, da sola, terminare il potenziale d'azione, l'attivazione dei canali del K+ fornisce un meccanismo di sicurezza per terminare il potenziale d'azione.Un aumento della conduttanza del K+ tenderà a portare il potenziale di membrana verso tensioni più negative, contribuendo così alla fase discendente del potenziale d'azione. La chiave di questo contributo è che i canali K+ si attivano lentamente rispetto ai canali Na+ ovvero con un lieve ritardo.

Il potenziale d'azione risulta coerente con la formula del "tutto o nulla" poichè ad un fallito superamento della soglia di attivazione corrisponde una mancata generazione del potenziale d'azione stesso. Una seconda peculiarità del potenziale d'azione è che, una volta iniziato, la membrana risulta, per un determinato periodo di tempo, refrattaria.Il periodo di innecitabilità è composto dal periodo refrattario assoluto e da quello relativo.

Il periodo refrattario assoluto dura all'incirca 1 ms nel quale un secondo potenziale non può partire a prescindere dall'intensità dello stimolo che lo genera. Il periodo refrattario relativo, invece, ha una durata di 5-15ms e durante questo periodo un potenziale graduato più intenso di quello necessario a raggiungere il valore di treshold può avviare un secondo potenziale d'azione.
I potenziali d'azione si propagano lungo la membrana cellulare. Il flusso di ioni attraverso i canali attivati genera correnti locali, trasportate da campi elettrici, che depolarizzano sezioni adiacenti di membrana, attivano i canali del Na+ e generano un potenziale d'azione in questa nuova sezione di membrana. La distanza su cui si propaga la corrente locale dipende dalla resistenza della membrana e dalla resistenza citoplasmatica interna. I neuroni hanno una maggiore velocità di propagazione quando il loro diametro è maggiore, riducendo la resistenza interna, o quando sono mielinizzati, aumentando di fatto la resistenza di membrana.

2.2.2 Potenziali post-sinaptici

La sinapsi è la regione in cui il segnale elettrico viene trasmesso da un neurone presinaptico ad un altro neurone (postsinaptico). Nei mammiferi la maggior parte delle sinapsi sono di tipo chimico ovvero dipendono dal rilascio di una sostanza chimica: il neurotrasmettitore. Gli "elementi" che caratterizzano le sinapsi sono il bottone sinaptico, la fessura sinaptica (20-40 nm), la membrana dendritica post-sinaptica. Il potenziale d'azione arriva nel bottone sinaptico e fa avvenire la fusione delle vescicole con la membrana cellulare, in un processo detto esocitosi causando il rilascio del loro contenuto nello spazio extra-cellulare. Il neurotrasmettitore rilasciato si lega con dei recettori presenti sulla membrana post-sinaptica causando l'apertura di canali ionici ligando-dipendenti. I flussi ionici creati vanno ad iperpolizzare o a depolarizzare la membrana andando a generare rispettivamente o un potenziale postsinaptico inibitorio (PPSI), che causa l'apertura dei canali Cl o un potenziale postsinaptico eccitatorio (PPSE) che apre i canali calcio e sodio.
Al contrario di quanto riscontrato con i potenziali d'azione, i potenziali post-sinaptici sono potenziali graduati e non obbediscono dunque alla "legge del tutto o nulla". L'ampiezza di questi potenziali è proporzionale all'intensità della causa che li ha generati ovvero di quanto neurotrasmettitore è stato rilasciato.
Il potenziale post-sinaptico ha una durata maggiore rispetto al potenziale d'azione e ampiezza ridotta anche perchè essa degrada durante il percorso e non rimane costante. Vista la piccola ampiezza, una singola sinapsi non è in grado di innescare il potenziale d'azione nel neurone postsinaptico; pertanto i dendriti di un singolo neurone ricevono migliaia di sinapsi e i potenziali postsinaptici generati si sommano nel tempo e nello spazio secondo un processo chiamato integrazione sinaptica.

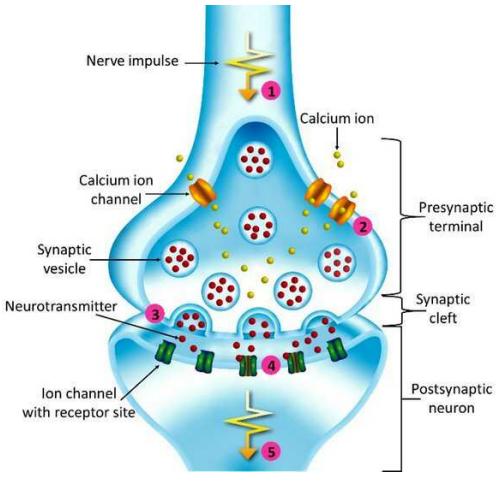

Figura 2.2: Sinapsi nel cervello umano. Figura adattata da [1].

Capitolo 3

EEG: elettroencefalogramma

L'elettroencefalogramma misura un fenomeno macroscopico che riflette l'attività sincronizzata di ampie popolazioni di neuroni. Questi segnali sono chiamati potenziali di campo. Essendo la corteccia cerebrale la struttura dell'encefalo più vicina allo scalpo, ovvero dove vengono posizionati gli elettrodi, allora il tracciato rifletterà principalmente l'attività dei neuroni corticali. La corteccia cerebrale è composta da 6 strati funzionali detti strati corticali. I neuroni nella corteccia sono di due tipi: piramidali e non piramidali. I neuroni piramidali, come si evince dal nome, hanno una forma a piramide con la base in basso e l'apice rivolto verso la superficie corticale. Questi neuroni sono caratterizzati da un lungo dendrite apicale che sale dall'apice del soma attraverso gli strati corticali,raggiunge e termina nello strato più superficiale della corteccia dove si ramifica. I dendriti apicali dei neuroni piramidali sono organizzati in tal modo che essi risultino paralleli gli uni agli altri e che siano anche perpendicolari alla superficie corticale. La loro particolare organizzazione rende i potenziali postsinaptici di tali neuroni i principali generatori dell'EEG di superficie. Risulta necessario specificare , prima di descrivere il funzionamento della strumentazione EEG, che i potenziali d'azione contribuiscono soltanto in minor parte ai potenziali EEG sullo scalpo. Questo è dovuta alla disomogenea organizzazione degli assoni nella corteccia ed è dovuto anche alla breve durata del potenziale d'azione che genera una scarica asincrona degli assoni. D'altra parte i flussi di correnti sinaptiche durano di più (tra i 10 e 100 ms) ed è possibile la somma dei potenziale nonostante la presenza di asincronismo.

3.1 Strumentazione

Sebbene gli elettrodi non facciano parte a tutti gli effetti della macchina per EEG, essi sono spesso inclusi nella descrizione dell'apparecchiatura. La parte della strumentazione nella quale viene inserita l'estremità terminale opposta a dove è posizionato l'elettrodo è chiamata jack box. Un cavo di ingresso schermato a connettori multipli collega ogni elettrodo al selettore di elettrodi. Utilizzando il selettore di elettrodi, è possibile selezionare qualsiasi coppia di elettrodi e collegarli all'ingresso di qualsiasi amplificatore. Deve essere incluso un pannello d'ingresso contenente non meno di 23 connettori affinchè vengano rispettate le raccomandazioni dell'IFCN. Tuttavia, poichè spesso è auspicabile una migliore risoluzione spaziale dell'attività EEG, sono necessari canali aggiuntivi, quindi una maggiore capacità in termini di input si traduce in un segnale migliore. Il sistema di input include anche il calibratore che fornisce una precisa tensione di alimentazione, nel range dell'attività dell'EEG, all'ingresso di tutti gli amplificatori. L'amplificatore è un dispositivo che amplifica i potenziali recepiti dall'attività celebrale per un milione di volte.
Gli amplificatori della strumentazione EEG non sono come gli amplificatori tradizionali, essi godono dell'ausilio di una varietà di filtri e di sistemi di controllo che permettono di ottenere in output un segnale chiaro e preciso.

Elettroencefalografo multicanale

L'elettroencefalografo multicanale è lo strumento per la registrazione e la visualizzazione dell'evoluzione temporale dell'attività elettrica cerebrale acquisita contemporaneamente da più elettrodi in posizioni differenti dello scalpo. La rilevazione e il posizionamento devono rispettare alcuni standard imposti. La strumentazione è composta da diverse parti che insieme concorrono alla rilevazione di un biopotenziale che rispetto ad altri rilevati in diverse zone del nostro corpo risulta essere molto più piccolo.

Elettrodi

Gli elettrodi hanno una struttura semplice che consiste in una superficie di contatto in metallo ed un filo isolato che termina con un jack per la connessione con il jack boxe.
La riproduzione della forma d'onda è funzione dell'impedenza dell'elettrodo, che è funzione della resistenza e della capacità dell'elettrodo stesso. Gli elettrodi prevalentemente usati sono quelli composti in cloruro d'argento con una dimensione che va dai 4 ai 10 millimetri. Questi elettrodi reversibili riproducono il segnale in modo più efficace rispetto ai corrispettivi modelli realizzati con materiali diversi come oro, argento o platino. Le resistenze di contatto degli elettrodi devono essere alte, più precisamente attorno al valore dei 5000 ohm. Se cosi non fosse si generebbero degli artefatti che porterebbero ad un erronea visualizzazione del segnale perchè i campi elettrici presenti nei pressi della strumentazione generano delle piccole correnti indotte che alterano il tracciato. L'alta impedenza serve a rendere evidenti questi potenziali per poter conseguentemente filtrare il segnali ed eliminarli o eventualmente attenuarli. Gli elettrodi utilizzati in EEG devono essere il più possibile immuni ad interferenze esterne. Essi consentono di convertire i segnali elettrici neurali da un mezzo a conduzione ionica ad un mezzo a conduzione elettronica. Possiamo individuare 5 tipi di elettrodi ovvero elettrodi a disco, elettrodi a coppetta, elettrodi fissi mediante cuffie, elettrodi ad ago ipodermici ed elettrodi speciali.

Posizionamento degli elettrodi

Gli elettrodi posizionati sullo scalpo devono rispettare delle posizioni precise, seguendo il posizionamento standard riconosciuto a livello internazionale e riproducibile denominato "sistema internazionale 10-20". Tale sistema è stato originariamente proposto per il posizionamento di un numero ristretto di elettrodi, più precisamente 21. Il sistema fa riferimento a 4 reperi anatomici principali: il nasion, l'inion (insieme definiscono la linea mediana antero-posteriore) e i due punti preauricolari. I numeri 10-20 fanno riferimento al fatto che gli elettrodi sono posti a distanze pari al 10 o al 20 percento della lunghezza delle linee ideali costruite a partire dai punti di repere. A ciascun elettrodo è assegnata una sigla composta da una lettera ed un numero. Le lettere indicano le aree dello scalpo mentre i numeri indicano il lato del cranio nel quale si trova l'elettrodo: dispari se ci troviamo nel lato sinistro pari se siamo nel lato destro. In particolare bisogna posizionare 8 elettrodi per lato, 3 nella linea mediana e 2 come elettrodi auricolari di riferimento.

Recentemente è stato proposto un nuovo sistema 10-10 che prevede l'uso di 75 elettrodi posti lungo 11 linee sagittali e 9 coronali permettendo, quindi, l'identificazione di 75 posizioni sullo scalpo. Un'ulteriore innovazione tecnologica ha introdotto il sistema 10-5 che usufruisce di 300 elettrodi.

Amplificatori

I segnali elettrici prodotti dal cervello sono nell'ordine dei microvolt pertanto necessitano di essere amplificati in modo tale che abbiano un'energia abbastanza grande da poter essere visualizzati. Di norma un amplificatore aumenta il segnale di una fattore che può arrivare fino ad un milione. Il fattore di amplificazione è chiamato guadagno e può essere calcolato come il rapporto tra la tensione d'uscita e quella d'ingresso. Solitamente il guadagno è descritto come una grandezza logaritmica adimensionale

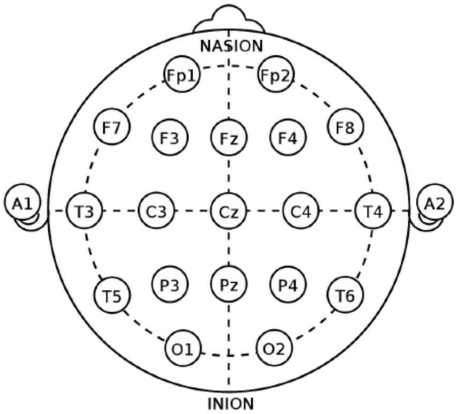

Figura 3.1: configurazione 10-20. Figura adattata da [3].

e si misura in decibel(dB).
La misura della differenza di potenziale tra due elettrodi è misurata mediante un amplificatore differenziale che, come si evince dal nome, amplifica la differenza tra le tensioni dei due elettrodi. Quando, come nel nostro caso, l'importanza è incentrata sul rilevamento di una tensione piccola come la differenza di potenziale tra i due elettrodi, gioca un ruolo fondamentale il rapporto di reiezione di modo comune (CMRR). Esso altro non è che una misura della tendenza di un dispositivo di rigettare i segnali di ingresso comuni a entrambi gli inressi. Di norma il CMRR degli amplificatori costituenti i dispositivi per l'elettroencefalografia hanno valori compresi tra 80 e 100 dB. Possono esserci differenze tra il CMRR che pensiamo di ottenere e quello effettivamente misurato e ciò dipende dai valori dei parametri dell'amplificatore utilizzato, quali le resistenze di ingresso dell'amplificatore differenziale rispetto alle altre resistenze di ingresso del resto del circuito. Un'altra specifica che deve essere rispettata è quella di avere una resistenza di ingresso elevata nell'ordine dei Mohm.

Filtri

Il fatto che le differenze di potenziale oscillino in funzione del tempo implica che i segnali registrati abbiano una certa larghezza di banda. Per la maggior parte delle indagini EEG il segnale registrato è compreso tra 1 Hz e 70 Hz. L'informazione andrebbe persa se la risposta in frequenza del canale di registrazione avesse banda inferiore all'intervallo di frequenza del segnale EEG. In caso contrario, ovvero se la frequenza del canale di registrazione avesse banda più larga, avremmmo delle informazioni irrilevanti per l'analisi che vogliamo effettuare e potenzialmente portatrici di rumore che potrebbe compromettere il segnale. Per ovviare a queste difficoltà i canali di registrazione sono dotati di filtri passa basso e filtri passa alto regolabili grazie ai quali la risposta in frequenza si mantiene nella banda d'interesse.
Gli amplificatori della strumentazione EEG hanno una risposta in frequenza lineare su un'ampia gamma di tensioni d'ingresso. Per una registrazione standard, il filtro passa alto non deve avere una frequenza di taglio superiore ad 1 Hz affinchè non vi sia perdita di informazioni necessarie. Una distorsione del segnale può avvenire anche nel caso in cui il filtro passa basso abbia una frequenza di taglio inferiore a 70 Hz.

Convertitore analogico-digitale

I parametri che caratterizzano il convertitore analogico digitale sono la frequenza di campionamento f_s e il numero b di bit del convertitore (parametro detto anche risoluzione). La frequenza di campionamento ha un valore che va 256 Hz fino ad arriva a 5 kHz ed è preferibile adottare una frequenza grande al fine di di ridurre al minimo la limitazione di banda del segnale in fase di acquisizione. Gli EEG di comune uso adottano risoluzioni di 12 o 16 bit. Il numero di questi ultimi stabilisce un compromesso tra l'ampiezza dell'intervallo di valori da codificare e l'errore di quantizzazione.

Ulteriori sistemi di controllo per l'EEG

Per un segnale complesso come quello elettroencefalografico può diventare necessario implementare dispositivi e tecniche di controllo per garantire la corretta lettura del tracciato. Tra questi troviamo il controllo dei singoli canali con guadagni e filtri caratteristici per ognuno di loro. Fondamentale è l'uso di una segnale di calibrazione. Spesso si tratta di un impulso rettangolare con una tensione che va dai 2 μV ad un mV. Questo segnale viene fatto passare attraverso tutti gli stadi dell'elaborazione EEG, dal primo stadio di amplificazione fino alla scrittura, in modo da testare le prestazioni dell'intera macchina.
Un'ulteriore procedura di controllo è l'*electrod switch control*, si tratta di un test da eseguire all'inizio e alla fine di ogni registrazione. Dato che l'impedenza dipende dalla frequenza ,la misura delle impedenze in AC deve essere effettuata in un range che spazia tra i 10 e 30 Hz. L'utilizzo degli ohmmetri in DC va evitato per eliminare la polarizzazione degli elettrodi e anche per non incorrere in correnti elevate. In ogni caso la corrente che attraversa l'elettrodo non deve superare 100 μA.
La regolazione della sensibilità insieme al segnale di calibrazione permette di impostare una stessa sensibilità per tutti i canali in modo da ottenere degli output coerenti con gli ingressi che vengono forniti.

3.2 Analisi dei dati EEG

Gli elettroencefalogrammi (EEG) sono stati utilizzati per molti decenni per studiare le complesse dinamiche spazio-temporali dei processi cerebrali. Grazie all'eccellente risoluzione temporale, gli EEG possono catturare cambiamenti transitori nell'attività cerebrale, identificare il comportamento oscillatorio e studiare la dipendenza incrociata tra le componenti EEG. Poiché gli EEG misurano indirettamente l'attività elettrica neuronale, possono essere utilizzati per dedurre le proprietà statistiche del processo stocastico cerebrale sottostante. Una di queste proprietà statistiche è lo spettro (o spettro di potenza) che scompone la variabilità totale dell'EEG in base al contributo delle oscillazioni a diverse frequenze. La maggior parte degli approcci all'analisi degli EEG si concentra immediatamente sulla modellazione statistica e sulla stima dello spettro.Un approccio alla stima dello spettro utilizzando il tracciato EEG consiste nell'adattare un modello parametrico nel dominio del tempo. Si potrebbe anche stimare lo spettro senza ricorrere ad un modello parametrico.In questo ultimo approccio, gli EEG vengono considerati come sovrapposizione di sinusoidi con diverse frequenze e ampiezze. Le ampiezze vengono calcolate utilizzando la trasformata di Fourier (FFT). Le grandezze al quadrato di queste ampiezze, spesso chiamate periodogrammi, sono gli analoghi dei dati dello spettro definito su frequenze discrete.
Prima di analizzare il segnale vi è una pre-elaborazione che consiste nel filtraggio dei dati e nella rimozioni degli artefatti. La rimozione degli artefatti è un procedimento molto impegnativo; la loro generazione può avere diverse cause tra le quali possiamo includere movimenti della testa del paziente durante l'acquisizione, problemi di natura strumentale, come ad esempio elettrodi e cavi malfunzionanti oppure uno scorretto posizionamento degli elettrodi. Gli artefatti portano alla visione di un segnale con una frequenza anormale e una forma non aspettata. Un altro step nell'analisi dei dati è l'estrazione delle caratteristiche che possono essere derivate utilizzando varie tecniche di elaborazione del segnale,la più usata delle quali è la trasformata di Fourier come detto poc'anzi.
Il metodo di Fourier categorizza il segnale in quattro bande di frequenza :

- ritmo delta: onde con contenuto frequenziale tra 1 Hz e 4Hz e con ampiezza tra 20 e 200 μV. Si tratta di onde lente riscontrabili prevalentemente nei neonati ma che si possono individuare anche negli adulti nelle fasi di sonno profondo non-REM e riconducibili nella maggior parte dei casi ad uno stato inconscio profondo.

- ritmo theta: onde con contenuto frequenziale tra i 4 e i 7 Hz e ampiezza compresa tra 20 e 100 μV. Sono predominanti durante le fasi di addormentamento e di sonno. Queste onde sono localizzate nella regione temporo-parietale.

- ritmo alpha: onde con contenuto frequenziale tra 8 Hz e 13Hz, e ampiezza tra i 20 e 50 μV. Identificano uno stato di coscienza a riposo. Sono predominanti nello stato di veglia rilassata ad occhi chiusi e sono localizzate in egual misura su entrambi gli emisferi, più in particolare sono associate al lobo occipitale.

- ritmo beta: onde con contenuto frequenziale che va da 13 a 30 Hz e caratterizzato da una bassa ampiezza compresa tra 5 e 30 μV. Sono identificabili quando l'individuo è in uno stato di coscienza vigile o quando è in corso un'attività mentale intensa. Si localizzano nelle regioni celebrali frontali e centrali.

La fase di processing del segnale EEG prevede l'estrazione dei parametri mediante metodi statistici. Essi possono essere utilizzati sia per la pre-elaborazione che per la post-elaborazione del segnale. Alle volte viene usata una o più combinazioni di più metodi per ottenere una migliore precisione dei dati estratti.

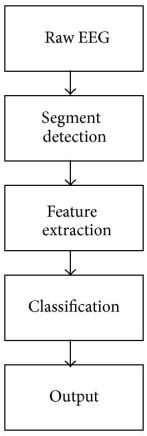

Figura 3.2: Processing segnale EEG. Figura adattata da [5].

L'analisi statistica può includere sia metodi lineari che metodi non lineari. I metodi di estrazione principali presi in considerazione sono la Short Time Fourier Transform e la trasformata Wavelet.

- Short Time Fourier Transform (STFS) : questo metodo mappa il segnale in una funzione bidimensionale di frequenza e tempo. I segnali EEG nel dominio tempo-frequenza vengono recuperati utilizzando lo spettrogramma, applicando una trasformata di Fourier di breve durata al segnale. La trasformata di Fourier classica non si propone come metodo ottimale nel caso in cui il segnale trattato sia di tipo non stazionario, questo perchè essa non fornisce un'analisi simultanea tempo-frequenza. In taluni casi viene usata la trasformata veloce di fourier(FFT). Per effettuare un'analisi ulteriormente più accurata si predilige l'uso della Short Time Fourier Transform. Questa trasformata si presenta come un miglior approccio in quanto divide il segnale in tanti piccoli segmenti di breve durata spostando la finestra temporale con una certa sovrapposizione secondo un procedimento detto *windowing*. A seconda della funzione di finestratura temporale, uno spettrogramma viene classificato come a banda stretta o a banda larga. Se la finestra temporale è breve, allora la sua trasformata di Fourier sarà a banda larga, mentre una finestra con durata più lunga si traduce in uno spettrogramma a banda stretta.
  L'equazione della STFT di un segnale è data dall'equazione:

$$S(m,k) \;=\; \sum_{n=0}^{N-1} s(n+mN')\; w(n)\; e^{-j\frac{2\pi}{N}nk} \tag{3.1}$$

dove
k=[0:K] è il coefficiente di Fourier k-esimo
K=N/2 è l'indice di frequenza corrispondente alla frequenza di Nyquist.
S(m,k) indica lo spettrogramma in tempo-frequenza con indice m.
N è la lunghezza del segmento finestra.
N' il passo di spostamento della finestra temporale
w(n) è il metodo di finestratura di una sequenza di N punti.

N' idealmente dovrebbe essere più piccolo di N per produrre una sovrapposizione tra le finestre temporali. S dipende dalla tipologia della funzione finestra, infatti è possibile usare diverse forme di finestra come ad esempio la tipologia simmetrica, quella unimodale e quella gaussiana. Lo spettrogramma contiene un compromesso tra risoluzione temporale e risoluzione in frequenza: una finestra ampia fornisce una minore localizzazione nel tempo e una maggiore precisione in frequenza. La finestra estrapola una fetta temporale del segnale dove le caratteristiche spettrali sono pressochè costanti. Lo spettrogramma è definito come :

$$A(m,k) \;=\; \frac{1}{N}|S(m,k)|^2. \tag{3.2}$$

La scelta della funzione dipende dalla frequenza minima necessaria affinchè si possano distinguere due componenti in termini di ampiezza. Deve essere garantito un buon compromesso tra la risoluzione in frequenza e la risoluzione temporale, in quanto una funzione finestra più ampia comporta una buona risoluzione in frequenza ma scarsa in quella temporale e viceversa. Il layout di uno spettrogramma è solitamente il seguente: l'asse x rappresenta il tempo, l'asse y rappresenta la frequenza e la terza dimensione è l'ampiezza (contenuto spettrale) di una coppia frequenza-tempo, che viene codificata a colori. Questi dati tridimensionali possono essere usati per creare un grafico 3D in cui l'ampiezza è rappresentata come altezza sull'asse z, si preferisce tuttavia limitarsi a grafici 2D per una comprensione ottimale dei dati.
Uno studio condotto sull'efficacia del metodo che utilizza STFT nell'analisi del tracciato EEG prevedeva che la registrazione avvenisse quando il paziente scriveva e quando il paziente immaginava di scrivere. L'obiettivo dell'esperimento era visualizzare differenze ed uguagliannze nei tracciati nei due casi. Il segnale è stato acquisito da individui maschi che utilizzano la mano destra con età compresa tra 20-27 anni. I dati ottenuti sono stati preprocessati filtrandoli con un filtro passabanda con range di frequenze che va da 8 a 30 Hz per eliminare rumori e frequenze indesiderate. Dopo la fase di preprocessing è stata calcolata la STFT sul segnale EEG. La larghezza della finestra è stata variata da 0.1 a 0.8 secondi per ottenere un risultato ottimale. Conseguentemente è stato creato uno spettrogramma modificato in modo tale da poter tracciare solo le frequenze con l'ampiezza più elevata utilizzando una soglia. I risultati ottenuti dimostrano come il tipo di finestra e la dimensione di quest'ultima influenzino la risoluzione in frequenza dello spettrogramma.

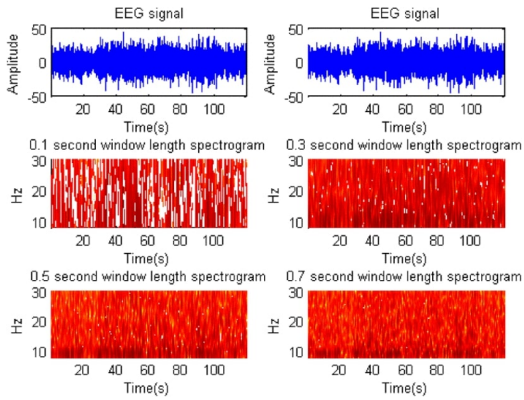

Figura 3.3: Variazione dello spettrogramma al variare della finestra. Figura adattata da [6]

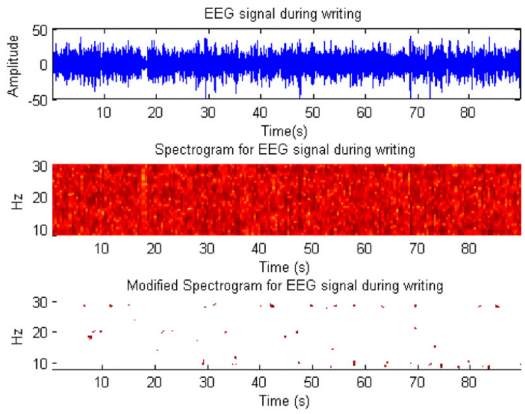

Figura 3.4: Spettrogramma del paziente durante la scrittura reale. Figura adattata da [6].

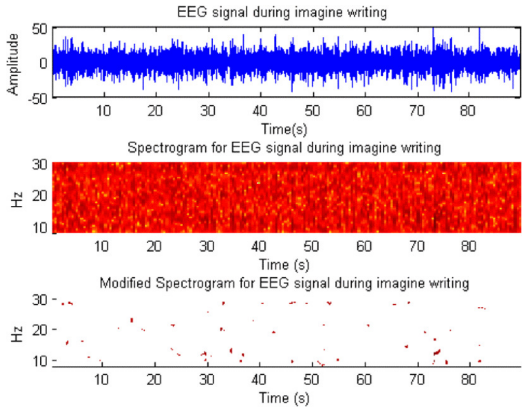

Figura 3.5: Spettrogramma del paziente durante la scrittura immaginaria. Figura adattata da [6].

- Trasformata Wavelet: dato che il segnale EEG non è un segnale stazionario, l'utilizzo della trasformata di Fourier non si rivela la strategia più ottimale da adottare. Un'alternativa è rappresenta dalla trasformata Wavelet. Quest'ultima si è rivelata un efficace strumento di analisi in tempo-frequenza per segnali non stazionari in quanto unifica diversi strumenti sviluppati per l'elaborazione dei segnali. Vi è un'ampia scelta di famiglie di wavelet per caratterizzare i segnali e la selezione della wavelet appropriata si dimostra cruciale per un'efficace analisi del segnale. A seconda del segnale biologico da analizzare, la wavelet madre, ovvero la forma d'onda di base, viene scelta in base al tipo di analisi da eseguire e in base ai requisiti dello sperimentatore.
  La Wavelet è la rappresentazione di un segnale mediante l'uso di una forma d'onda oscillante di lunghezza finita o a decadimento rapido. Una famiglia Wavelet $\psi_{a,b}$ (t) è un insieme di funzioni elementari generati dalle dilatazioni e traslazioni di un'iniziale Wavelet madre ψ(t)

$$\psi_{a,b}(t) = \frac{1}{\sqrt{|a|}}\psi(\frac{t-b}{a}) \tag{3.3}$$

  dove a,b appartengono al dominio dei numeri reali e rappresentano rispettivamente il parametro di scala e il parametro di traslazione. Il parametro di scala determina la frequenza di oscillazione e la lunghezza della wavelet, mentre il parametro di traslazione deciderà la posizione.
  La trasformata Wavelet può essere implementata con una coppia di filtri appositamente progettati chiamati *quadrature mirror filter pairs* (QMFs). Le risposte in frequenza dei due filtri separano le componenti ad alta e bassa frequenza del segnale di ingresso. Il punto di divisione è solitamente compreso nel punto medio tra 0 Hz e la metà della frequenza di campionamento dei dati (la frequenza di Nyquist). L'uscita del filtro passabasso viene immessa in un'altra coppia di filtri QMFs identica alla precedente. Quest'operazione può essere ripetuta in modo ricorsivo come un algoritmo ad albero o piramidale, ottenendo un gruppo di segnali che divide lo spettro

del segnale originale in bande d'ottava con misurazione via via più grossolane nel tempo, mentre l'ampiezza di ciasciuna banda si restringe e diminuisce in frequenza. L'algoritmo ad albero può essere implementato utilizzando i coefficienti Wavelet come coefficienti dei filtri passa alto e i coefficienti di scala come coefficienti dei filtri passabasso.

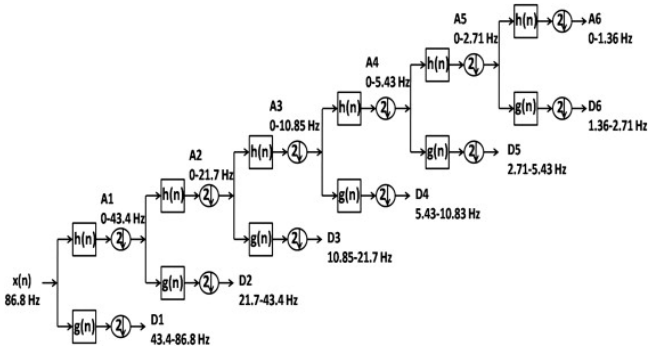

Figura 3.6: Decomposizione Wavelet con algoritmo ad albero al sesto livello. Figura adattata da [7].

Come già detto, un metodo convenzionale per l'analisi in tempo-frequenza è la STFT ma con l'ausilio della *Continuos Wavelet Transform* con diverse funzioni Wavelet può arricchire l'analisi con maggiori dettagli. Una funzione continua Wavelet può essere applicata ad un segnale EEG, portando alla generazione di uno spettrogramma diverso per ogni tipologia di wavelet madre scelta.
Consideriamo $X_{stft}(\tau, \omega)$ la STFT del segnale x(t) e definiamo w(t) come la funzione finestra. Consideriamo inoltre X_{cwt}(a,b) come la trasformata continua Wavelet del segnale x(t). Le due trasformate definite sono calcolate come segue

$$X_{stft}(\tau, \omega) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) w(\tau - t) e^{-j\omega t}\, dt \tag{3.4}$$

$$X_{cwt}(a, b) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \psi *_{a,b} (t)\, dt \tag{3.5}$$

dove ψ* rappresenta la versione scalata e traslata della wavelet madre. Di seguito sono rappresentati alcuni esempi di forme d'onda wavelet comunemente utilizzate nello studio del tracciato elettroencefalografico.

Le funzioni Wavelet sono state ampiamente utilizzate nell'analisi dell'EEG in pazienti affetti da epilessia. Nello specifico, si usa nelle EEG interictali ovvero nelle fasi che intercorrono tra le crisi, che si presentano con picchi transitori. Il rilevamento automatico di tali picchi è molto utile dal punto di vista clinico. È stato messo a punto un approccio basato sulle wavelet per caratterizzare gli spike interictali. Nella figura seguente nel segna EEG il picco epilettico è contrassegnato da una S ed è seguito da due artefatti da movimento. Nel pannello inferiore è invece raffigurata

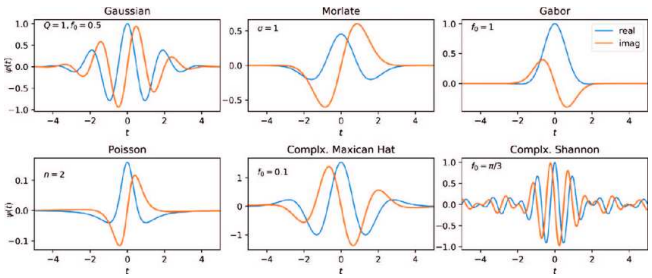

Figura 3.7: Funzioni Wavelet continue. Figura adattata da [7].

la trasformata wavelet del segnale. Si può notare che a scale più piccole, i coefficienti Wavelet hanno valori più grandi (blu indica un valore basso mentre il rosso indica un valore alto) per gli indici temporali corrispondenti all'occorenza del picco, mentre per gli artefatti i coefficienti Wavelet aumentano monotonicamente all'aumentare della scala. Questo contrasto che si genera per via delle diverse caratteristiche dei coefficienti Wavelet alla base dei picchi e degli artefatti può essere sfruttato per costruire un sistema di rilevamento dei picchi. Questa metodologia diminuisce la possibilità di imbattersi in falsi picchi.

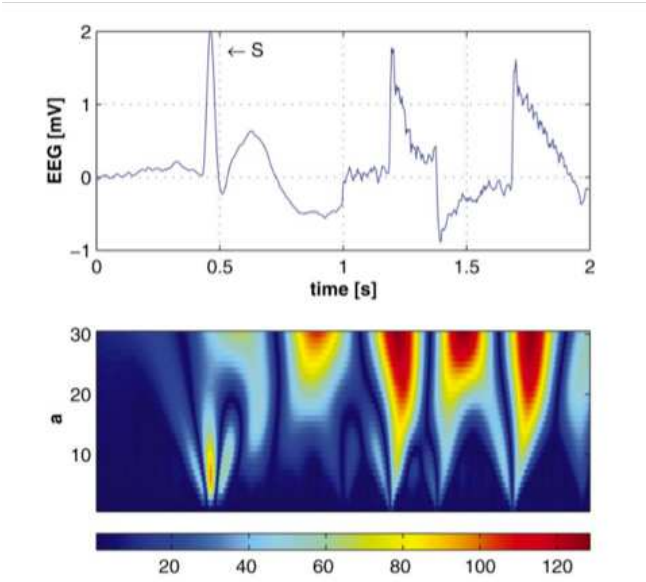

Figura 3.8: Individuazione degli spike interictali. Figura adattata da [8].

3.3 Potenziali evocati

I potenziali evocati o risposte evocate vengono rilevati attraverso l'elettroencefalogramma (EEG) utilizzando elettrodi di superficie posizionati sulla superficie del cranio. Mentre l'EEG fornisce un'analisi dell'attività elettrica cerebrale di base, i potenziali evocati rappresentano una specifica modifica nel segnale bioelettrico che deriva dalla stimolazione di una via sensoriale o da un evento motorio. Questi potenziali sono caratterizzati da oscillazioni del potenziale elettrico, presentando una forma d'onda che comprende una serie di deflessioni positive e negative, identificate come componenti. Ciascuna di queste componenti è generalmente considerata come il riflesso di potenziali post-sinaptici (sia eccitatori che inibitori) sincronizzati in un gruppo di neuroni corticali, capaci di generare campi di ampiezza sufficiente per essere rilevati in superficie. La localizzazione di queste componenti consente di identificare l'area corticale attiva in risposta a uno stimolo specifico. Tuttavia, la determinazione della fonte sottostante non è sempre immediata con questo tipo di dati ed è nota come "problema inverso", poiché può avere numerose soluzioni potenziali. Nei casi degli studi sui potenziali evento-correlati, vengono esaminati i seguenti parametri:

- Latenza: il periodo di tempo trascorso tra l'applicazione dello stimolo e l'apparizione della componente.
- Topografia: la posizione sulla superficie cranica in cui si registra l'ampiezza massima della componente
- Ampiezza: l'entità della deviazione rispetto al livello di base della componente.

Le fluttuazioni spontanee sono immediatamente rilevabili nei tracciati dell'elettroencefalogramma (EEG), mentre le variazioni evocate presentano un'ampiezza molto bassa, tipicamente nell'intervallo di 1-3 microvolt (V) ed è spesso coperta dall'attività di fondo. Per questo motivo, per registrare i potenziali evocati, si utilizza la presentazione di stimoli ripetitivi, come stimoli visivi o uditivi. Successivamente, i tracciati vengono sottoposti a procedure standard di elaborazione, tra cui la scomposizione in "epoche" discrete sincronizzate con gli eventi stimolanti. I campioni di segnale vengono quindi mediati, un processo fondamentale nelle tecniche di elaborazione dei potenziali evocati. Mediante la tecnica di mediatazione, è possibile ottenere la risposta cerebrale media a uno stimolo o a un evento, sommando diverse epoche sincronizzate con lo stimolo o l'evento stesso. Questo metodo consente di evidenziare l'attività evocata rispetto al rumore di fondo, che è fondamentalmente casuale rispetto all'evento. In questo modo, la risposta media rappresenta la risposta evocata, le cui componenti, come picchi positivi o negativi, sono correlate ai vari stadi di elaborazione delle informazioni sensoriali o degli eventi nel cervello. Una volta isolata la risposta evocata, si può procedere all'analisi delle fonti delle sue componenti, studiandone la localizzazione. Per fare ciò, si sfruttano le variazioni nello spettro di potenza del segnale causate dalla stimolazione sensoriale o dagli eventi. Il metodo comporta il calcolo dello spettro dei segnali post-stimolo e il confronto con lo spettro dei segnali pre-stimolo. A seconda del tipo di stimolo (visivo, uditivo, ecc.) e della posizione dell'elettrodo, alcune bande di frequenza potranno mostrare variazioni rispetto allo spettro pre-stimolo.

I potenziali evocati possono essere suddivisi in due categorie fondamentali:

1) Potenziali Stimolo-correlati: dipendono dalle caratteristiche fisiche dello stimolo e la loro latenza rientra nell'ambito temporale della percezione. In generale, le caratteristiche di tali segnali sono influenzate dalle proprietà fisiche dello stimolo applicato, come il tono e l'intensità per il sistema uditivo, il contrasto, la luminanza e la frequenza spaziale per il sistema visivo, e l'intensità e la modalità di stimolazione per il sistema somatosensoriale, tra le altre.

2) Eventi-correlati o ERPs (Event Related Potentials): la loro generazione è legata al contesto psicologico (evento) in cui avviene la stimolazione e la loro latenza rientra nell'ambito temporale dei processi legati all'attenzione e alla cognizione. Questi potenziali, a differenza di quelli stimolo-correlati, dipen-

dono dal contenuto informativo dello stimolo e compaiono solo quando il soggetto presta attenzione allo stimolo e gli attribuisce significato.

I segnali ERPs rivestono un'importanza fondamentale nel campo delle neuroscienze poiché contribuiscono a comprendere come le funzioni cognitive e le relative manifestazioni comportamentali ed esperienze soggettive siano correlate all'attività cerebrale.

Le componenti dei potenziali evocati sono associate a diverse funzioni cerebrali e possono essere descritte in termini di funzioni cognitive basate sull'attività cerebrale registrata sulla superficie del cranio. Queste componenti spesso sono identificate mediante sigle. Ad esempio:

- P1: La latenza di questa componente è solitamente di 50 ms dopo l'inizio dello stimolo uditivo o 100 ms dopo lo stimolo visivo. Si ritiene che questa componente sia un indicatore neurofisiologico dell'attenzione allo stimolo sensoriale.
- N1: Questa componente riflette l'attenzione selettiva alle caratteristiche dello stimolo e ai processi di riconoscimento dei pattern. Di solito appare circa 100 ms dopo l'inizio dello stimolo visivo e mostra la sua massima ampiezza nelle aree frontocentrali. Esiste anche una componente N1 uditiva, composta da due parti, con una latenza di circa 100 ms sopra il sito centrale e circa 165 ms sopra il sito posteriore.
- P2: La componente P2 è associata a vari compiti cognitivi, tra cui l'attenzione selettiva e la memoria a breve termine. Si osserva anche in risposta a stimoli uditivi, insieme alla componente N1, ma è meno localizzata e risulta sensibile a parametri fisici dello stimolo, come l'alta o bassa intensità del suono.
- N2: Questa componente è caratterizzata da una notevole variabilità tra gli individui e ha diverse interpretazioni psicologiche, tra cui la discriminazione dello stimolo. Il picco N170 fa parte del complesso N2 ed è associato al riconoscimento dei volti umani.
- P300: La P300 è un potenziale positivo che compare solo in risposta a stimoli "target" ed ha una distribuzione caratteristica nelle derivazioni posteriori, in particolare nelle zone centro-parieto-occipitali. La P300 non riflette una funzione cognitiva specifica, ma è una rappresentazione complessiva dei molteplici processi cerebrali coinvolti nel mantenimento della memoria di lavoro. La latenza della P300 esprime il tempo necessario al soggetto per riconoscere appieno lo stimolo atteso, mentre l'ampiezza è inversamente proporzionale alla probabilità oggettiva e soggettiva di apparizione dello stimolo significativo, nonché alla quantità di informazioni da esso trasmesse al soggetto. La P300 segue temporalmente la componente N2.

In ambito diagnostico, i potenziali evocati più comunemente utilizzati includono quelli somatosensoriali, quelli visivi e quelli uditivi. Lo studio del potenziale può portare alla scoperta di insorgenze di malattie che colpiscono le vie afferenti del sistema nervoso grazie all'individuazione di difetti o anomalie sensoriali.

Potenziali evocati visivi
Nei potenziali evocati visivi, la stimolazione coinvolge l'uso di uno schermo luminoso che presenta alternanza tra scacchi bianchi e neri, mantenendo costante la luminosità complessiva. Gli occhi vengono esaminati separatamente attraverso la presentazione di 100 o più stimoli visivi. La registrazione avviene utilizzando un elettrodo attivo posizionato nella regione occipitale e un elettrodo di riferimento posizionato frontalmente o sul lobo di un orecchio.

Potenziali evocati uditivi
Per i potenziali evocati uditivi, si utilizza uno stimolo sotto forma di un breve "click" con frequenze comprese tra 500 e 2000 Hz e un'intensità di 65-70 dB. La registrazione avviene mediante un elettrodo neutro posizionato sul padiglione auricolare dello stesso lato. Questi potenziali evocati acustici sono impiegati per diagnosticare diversi tipi di sordità. Nel caso della sordità di conduzione, che coinvolge il problema nell'orecchio medio, la latenza dei potenziali aumenta in proporzione al grado di perdita

uditiva. Nel caso della sordità sensoriale, associata a problemi nell'orecchio interno, la latenza aumenta in misura minore, soprattutto a livelli avanzati di deficit uditivo. In entrambi i casi, le latenze interpicco rimangono nei limiti della normalità.

Potenziali evocati somatosensoriali
potenziali somatosensoriali sono generati attraverso impulsi elettrici applicati al nervo mediano per l'arto superiore o al nervo tibiale posteriore o al nervo peroneo per l'arto inferiore, utilizzando 500 o più stimoli. La registrazione viene eseguita con un elettrodo attivo posizionato sulla regione parietale contralaterale, corrispondente alla corteccia somatosensoriale, e un elettrodo neutro posizionato nella regione frontale o biauricolare. Le latenze assolute dei potenziali somatosensoriali sono influenzate da variabili periferiche, come l'altezza del soggetto e la temperatura degli arti. Nella pratica clinica, la valutazione della normalità si basa sulla latenza interpicco e sulle differenze tra i due lati. Questi potenziali sono utilizzati per diagnosticare patologie sistemiche del midollo spinale e del cervello. In alternativa, la stimolazione magnetica, meno dolorosa, può sostituire quella elettrica.

Capitolo 4

TMS

4.1 TMS: Stimolazione Magnetica Transcranica

Negli ultimi trent'anni la popolarità della stimolazione magnetica transcranica (TMS) è cresciuta in modo esponenziale grazie alla sua capacità di stimolare il cervello in modo non invasivo. Tuttavia, molte domande sul suo meccanismo d'azione sono ancora senza risposta anche se di recente sono stati compiuti importanti progressi combinando la TMS con altre modalità di neuroimaging.

4.1.1 Principi fisici della TMS

La TMS è una tecnica in grado di stimolare e modulare in modo non invasivo l'eccitabilità del cervello attraverso l'induzione elettromagnetica di un campo elettrico. La legge di Faraday ci dice che l'esposizione di un materiale a un campo magnetico variabile nel tempo provoca l'induzione di un campo elettrico. L'entità del campo elettrico evocato e la corrente da esso prodotta sono direttamente proporzionali alla variazione nel tempo del campo magnetico indotto dalla TMS:

$$\nabla \times E = dB \tag{4.1}$$

Dove ∇ indica il rotore, E il campo elettrico, B il campo magnetico e t il tempo. Nella TMS una corrente elettrica (che può arrivare fino a 8kA) viene generata da un condensatore e successivamente scaricata in un solenoide costituito da 5-20 spire di filo, chiamato bobina. La bobina produce un impulso magnetico fino a 2 Tesla(T) con un tempo di salita di 200μs e durata 1ms, che a sua volta induce un campo direttamente nella corteccia cerebrale. Il circuito interno di un dispositivo TMS è costituito da tre elementi principali : un condensatore di potenza, un induttore(altro non è che la bobina di stimolazione) e un interruttore che collega le due parti quando è chiuso.Questa struttura è comune a tutti i dispositivi TMS monofasici.
Quando la TMS viene applicata al cervello, le correnti elettriche indotte causano una depolarizzazione transitoria e non invasiva delle membrane cellulari e quindi l'attivazione neuronale nell'area stimolata. Questo meccanismo è stato dedotto dall'applicazione della TMS alla corteccia motoria primaria. L'applicazione della TMS in quest'area induce una depolarizzazione dei neuroni del tratto cortico-spinale, che genera un potenziale evocato motorio (MEP) registrabile nel muscolo controlaterale. Le caratteristiche dei MEP, come l'ampiezza e la latenza, sono utilizzate sia in ambito clinico per valutare il corretto funzionamento e l'efficienza del tratto cortico spinale, sia in ambito di ricerca per indagare la fisiologia della corteccia motoria. La dimensione del MEP riflette l'eccitabilità del sistema cortico-spinale e aumenta all'aumentare dello stimolo. Questi potenziali sono uno dei pochi "effetti visibili"

che la TMS genera quando viene applicata al cervello e attualmente la maggior parte delle conoscenze sui meccanismi fisiologici di questa tecnica si basa sulla loro analisi.

4.1.2 Parametri di stimolazione della TMS

L'indagine degli effetti fisiologici e comportamentali prodotti dai diversi parametri della TMS è un argomento di centrale importanza. Vi è infatti una significativa variabilità intraindividuale e interindividuale nelle risposte alla TMS. Alcuni fattori dipendenti dal soggetto possono in parte spiegare questa variabilità, come ad esempio lo stato di vigilanza e la distanza tra lo scalpo e la corteccia cerebrale. Tuttavia, la maggior parte della variabilità può essere spiegata da fattori dipendenti dalla TMS, tra cui le caratteristiche della bobina, la forma dell'impulso e il protocollo di stimolazione.

Caratteristiche della bobina

Le caratteristiche della bobina determinano la diffusione del campo magnetico indotto dalla TMS, influenzando così la corrente elettrica indotta nel cervello. In primo luogo, la forma della bobina definisce dove sarà proiettato il focus della stimolazione. Le prime bobine TMS utilizzate erano circolari ed erano costituite da 5-20 spire che avevano un diametro esterno che andava da 8 cm fino ad arrivare a 15cm in modo che il campo magnetico fosse più intenso sotto il centro della bobina. Tuttavia, la corrente indotta risultava più forte vicino al bordo esterno della bobina, rendendo in tal modo la stimolazione non focale. Per questo motivo le bobine circolari sono utilizzate principalmente in clinica per la valutazione del tempo di conduzione cortico-spinale. Si può ottenere una stimolazione più focale, ma meno efficiente, se si inclina la bobina rispetto alla superficie del cuoio capelluto. Attualmente la maggior parte delle applicazioni cliniche prevede l'uso una di una bobina "a figura di 8". Questa configurazione consiste in due bobine rotonde affiancate in modo che la corrente elettrica fluisca nella stessa direzione nel punto di giunzione, in modo che i campi elettrici indotti siano massimi al di sotto di questo punto. La focalità della stimolazione dipende dall'intensità della stimolazione stessa. Ad un'intensità di soglia, l'area stimolata dalle bobine "a figura di 8" è di circa 1-2 cm^2. Tuttavia, è necessario tenere conto del fatto recenti studi di TMS condotti in parallelo con un'acquisizione EEG hanno mostrato che la stimolazione si diffonde trans-sinapticamente su aree connesse. La configurazione con le due bobine poc'anzi descritta però ha dei limiti in termini di penetrazione della stimolazione. La profondità di stimolazione dipende in maniera significativa dalla distanza tra le bobine e lo scalpo.Per aumentare la profondità raggiungibile dalla strumentazione per TMS si può modificare la forma delle bobine per ottenere una stimolazione mirata e più intensa.Un esempio sono le bobine a doppio cono che sono piegate a forma di "cappello" sferico. Gioca un ruolo di grande rilievo anche la grandezza delle bobine infatti minore sarà la dimensione di quest'ultime maggiore sarà la focalità ma verrà penalizzato il campo elettrico indotto. Un altro fattore degno di nota è il posizionamento della bobina in termini di orientamento e direzione. L'orientamento deve essere regolato sulla base di quale area si vuole stimolare .

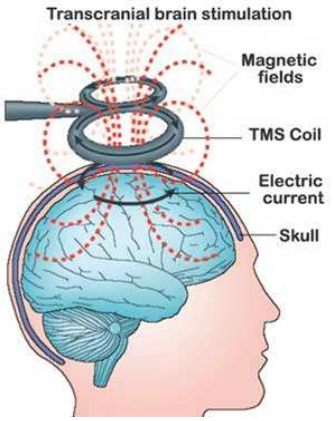

Figura 4.1: bobina a figura di 8. Figura adattata da [9]

Caratteristiche della forma d'onda dell'impulso

Nelle applicazioni della TMS si utilizzano principalmente due forme d'onda dell'impulso: monofasica e bifasica. La forma d'onda monofasica è generata da un interruttore o da un diodo nello stimolatore, che impedisce alla corrente della bobina di scorrere in senso inverso, per cui dopo un periodo di salita la corrente scende a zero.

Negli stimolatori bifasici, invece, la corrente della bobina ha due picchi, uno positivo e uno negativo. Molti studi hanno dimostrato che usando una forma d'onda piuttosto che l'altra si perviene ad una efficienza diversa nell'evocare i MEP. In particolare, gli stimolatori monofasici evocano MEP più elevati quando la corrente scorre in direzione postero-anteriore. Quando si utilizza uno stimolatore bifasico, la direzione antero-posteriore sembra essere più efficace. Tuttavia, con i dispositivi monofasici si producono latenze più lunghe in direzione postero-anteriore, mentre con i dispositivi monofasici si producono latenze più lunghe in direzione antero-posteriore. Numerosi studi hanno indagato la relazione tra la forma d'onda e gli effetti di lunga durata della TMS ripetitiva (rTMS) dimostrando che gli impulsi monofasici possono essere più efficaci di quelli bifasici. La strumentazione tradizionale purtoppo si limita alla produzione quasi esclusiva di impulsi bifasici, tuttavia l'innovazione tecnologica ha reso possibilela realizzazione di nuovi dispositivi cTMS (controllable TMS)in grado di rilasciare impulsi rTMS ad alta frequenza con forme d'onda diverse.

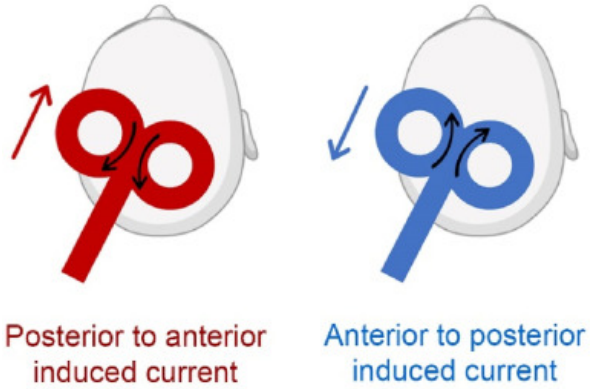

Figura 4.2: Corrente in direzione antero-posteriore e in direzione postero-anteriore. Figura adattata da [9].

Caratteristiche dei protocolli di stimolazione
L'intensità della TMS è adeguata in base alla soglia motoria o fosfenica(percezione transitoria di luce). La soglia motoria a riposo è definita come l'intensità più bassa richiesta per evocare almeno cinque su dieci MEP con un'ampiezza da picco a picco di 50μV da un muscolo della mano rilassato. La soglia dei fosfeni, invece,è definita come l'intensità più bassa alla quale i fosfeni sono percepiti in almeno 5 su 10 stimolazioni. Come implicazioni fisiologiche dell'intensità della TMS abbiamo un reclutamento di popolazioni neuronali più numerose, inoltre a seconda della frequenza di stimolazione, si possono distinguere tre principali protocolli di TMS:

- TMS a singolo impulso(spTMS): vengono erogati singoli impulsi per studiare i tempi dei processi cognitivi,per scopi clinici come per esempio testare l'integrità del tratto cortico-spinale.
- TMS ad impulsi accoppiati (ppTMS): due impulsi, denominati impulso di condizionamento e impulso di prova, vengono erogati in un breve intervallo interstimolo su una o due aree cerebrali per indagare l'attività intracolrticale inibitoria o eccitatoria e la connettività cortico-corticale.
- TMS ripetitiva(rTMS): vengono erogati treni di impulsi a bassa o ad alta frequenza per studiare i processi di plasticità a fini terapeutici e di ricerca.

4.1.3 Applicazioni TMS

Come detto precedentemente, la TMS può essere somministrata con impulsi singoli, accoppiati o ripetitivi. Ogni tipo di stimolazione fornisce un effetto diverso e il suo utilizzo dipende dalle informazioni che si vogliono ottenere con la TMS.

TMS a impulso singolo
La TMS ad impulso singolo è utilizzata nella valutazione della fisiologia motoria. Essa fornisce misure di eccitabilità cortico-spinale, informazioni sull'integrità funzionale delle strutture neuronali intracorticali, della conduzione cortico-spinale e cortico-nucleare. L'ampiezza del potenziale motorio evocato viene utilizzata per esaminare l'integrità e l'eccitabilità del tratto cortico-spinale.Questa misura però non è in grado di distingure tra la provenienza, in termini di aree cerebrali, dei diversi contributi dell'eccitabilità che l'ha causata. Infatti, i pazienti con disfunzioni a qualsiasi livello del tratto cortico-spinale possono mostrare anomalie nell'ampiezza o nella latenza dei MEP. Bisogna inoltre tenere conto del fatto che vi è una grande variabilità inter ed intraindividuale anche nei volontari sani che allarga la gamma dei valori accettabili nell'analisi della fisiologia motoria. In caso di patologie si può riscontrare un forte cambio nel valore della soglia motoria; in persone affette da sclerosi multipla, colpite da ictus o che hanno lesioni a livello celebrale vi è di norma un aumento della soglia motoria mentre una diminuzione è osservabile in pazienti colpiti da amiotrofia. Un ulteriore parametro per l'individuazione di un disturbo del movimento è il CSP (cutaneous silent period), altro non è che un breve periodo di inattività elettromiografica dopo l'evocazione di un MEP e che solitamente dura pochi centesimi di millisecondo. Il CSP si origina molto probabilmente a causa dei meccanismi inibitori corticali e una sua durata anomala è riconducibile ad uno stato di patologia. Un'altra misura fornita dalla spTMS è la conduzione motoria centrale che è calcolata come la differenza tra il tempo di conduzione periferica e la latenza del MEP evocato nel muscolo bersaglio. Anche in questo caso un valore inatteso nel tempo misurato si traduce in una patologia.
Negli ultimi anni la TMS è stata impiegata anche nell'indagine dei processi cognitivi in particolar modo per quanto riguarda percezione, attenzione, apprendimento, linguaggio, memoria e consapevolezza. La spTMS a tal proposito è stata utilizzata per interferire con i processi cognitivi in corso in modo da ottenere un'accurata descrizione dei tempi di elaborazione cerebrale. Negli studi che concernono la cognizione, gli impulsi vengono applicati in momenti precisi durante un compito cognitivo al fine di indagare l'esatto momento in cui un'area cerebrale è coinvolta nel compito stesso. Piuttosto che utilizzare la stimolazione magnetica come strumento per interrompere l'attività di un'area corticale bersaglio, al giorno d'oggi viene usata come uno strumento per indurre del "rumore neurale" nella normale attività cerebrale. A seconda del livello di rumore rispetto all'attività neurale l'effetto della TMS può risultare in un'interruzione o una facilitazione di una prestazione basata su un task spe-

cifico. Purtroppo la bassa risoluzione spaziale della TMS rende difficile la comprensione dell'effetto degli impulsi sulla cognizione, in quanto risulta impossibile negare che la stimolazione si diffonda in regioni celebrali connesse all'area stimolata, come si può osseravare in numerosi esperimenti condotti con l'utilizzo di TMS e tecniche di neuroimaging in modo simultaneo.

TMS a impulsi accoppiati

TMS per i meccanismi inibitori ed eccitatori La TMS a impulsi accoppiati è un utile strumento d'analisi per i meccanismi inibitori ed eccitatori intracorticali.Come precedentemente detto,nei protocolli ad impulsi accoppiati vengono utilizzati due stimoli: lo stimolo condizionante (CS) e lo stimolo di prova,test stimulus(TS). L'intervallo tra questi due stimoli è fondamentale per produrre effetti diversi sul MEP che dipende appunto dalla lunghezza dell'intervallo e dall'intensità dello stimolo. Con uno stimolo condizionante sotto soglia vi sono i presupposti per poter studiare le interazioni inibitorie e facilitatorie nella corteccia. Le risposte inibitorie hanno un'origine acido gamma-amminobutirrica (GABA) che è il principale neurotrasmettitore inibitorio del cervello. Le risposte facilitanti hanno invece un'origine glutammatergica, che è il principale neurotrasmettitore eccitatorio nell'essere umano. Se l'intervallo tra i due stimoli è molto breve, non superiore quindi ai 5 ms, il MEP di prova evocato da un TS soprasoglia viene inibito secondo un fenomeno chiamato inibizione intracorticale a breve intervallo interstimolo. L'eccitazione intracorticale di un MEP viene invece osservata a intervalli compresi tra 8 e 30 ms.Secondo vari studi farmacologici agenti sull'efficacia dei neurotrasmettitori i processi di inibizione ed eccitazione hanno per lo più sede all'interno della corteccia motoria.

PpTMS per le interazioni corticali
La ppTMS può essere usata per testare la connettività corticale erogando lo stimolo di condizionamento su un'area connessa alla corteccia motoria. L'ipotesi effettuata dai ricercatori si basa sul fatto che se l'impulso condizionante modula il MEP del test, allora ci deve essere un'interazione tra l'area di condizionamento e la corteccia motoria. Un esempio che si può prendere in considerazione è il paradigma di inibizione interemisferica in cui uno stimolo soprasoglia viene somministrato ad una corteccia motoria , seguito da un secondo stimolo di prova somministrato all'altra corteccia motoria dopo 4-30 ms. Si riesce a studiare nelle condizione poste le interazioni interemisferiche e i tempi di conduzione transcallosale. Per intervalli tra i due stimoli compresi tra 7-15 ms l'eccitabilità della corteccia motoria controlaterale alla stimolazione è inibita. Risulta importante evidenziare che l'entità e la durata dell'inibizione sono correlate all'intensità dello stimolo condizionante. In pazienti affetti da interneuroni transcallosali o corticali sono state riscontrare interazioni anomale o assenti tra le due cortecce motorie. L'approccio descritto è stato usato per studiare altre connessioni come le interazioni parietali-motorie, premotorie e frontali-motorie. L'uso di questo metodo è stato esteso anche allo studio del ruolo delle reti funzionali attivate durante l'esecuzione di un compito cognitivo.

TMS ripetitiva
La rTMS consiste in treni di impulsi TMS erogati ad una certa frequenza temporale. Questa metodologia produce un effetto sull'eccitabilità di un'area stimolata che può durare ben oltre la durata dell'applicazione dello stimolo.L'entità degli effetti dipende da parametri di stimolazione quali: frequenza dello stimolo, durata dell'applicazione e numero totale di stimoli somministrati. Per la sua capacità di generare effetti di lunga durata la rTMS è stata ampiamente utilizzata nell'indagine dei processi di plasticità, negli studi cognitivi e nelle applicazioni cliniche.

RTMS per lo studio dei processi di plasticità
La stimolazione con frequenza superiore a 1Hz viene definita rTMS ad alta frequenza mentre se la frequenza è inferiore ad 1 Hz si definisce rTMS a bassa frequenza. Generalmente è stato constatato che che un protocollo di rTMS a bassa frequenza produce un effetto inibitorio sull'eccitabilità corticale, mentre è comunemente osservabile un effetto facilitante dopo un protocco di rTMS ad alta frequenza. Gli esperimenti condotti hanno suggerito che gli effetti a breve termine potrebbero derivare da eccitabilità neurale prodotta da spostamenti nell'equilibrio ionico intorno alle popolazioni neurali,

mentre gli effetti a lungo termine sono correlati a cambiamenti nell'efficacia delle sinapsi tra i neuroni corticali. Nella letteratura riguardante la rTMS esiste una notevole variabilià inter ed intraindividuale in termini di dimensione, direzione e durata degli effetti della stimolazione. La variabilità osservata è riconducibile solo in parte al soggetto a causa per esempio della differente anatomia,differente livello di attività corticale al momento della stimolazione, a fattori genetici e interferenze a causa di trattamenti farmacologici. Bisogna anche tenere conto del fatto che gli effetti studiati sono riservati quasi esclusivamente all'area M1 della corteccia(corteccia motoria primaria) attraverso i MEP.

RTMS nell'indagine dei processi cognitivi
La rTMS è stata utilizzata nell'indagine di un'ampia gamma di processi cognitivi. Nel corso di questi studi l'impulso può essere trasmesso durante un task oppure separatamente ad esso. Nel primo caso la rTMS viene somministrata durante un compito, di solito in brevi treni di impulsi ad alta frequenza per interferire con il processo cognitivo in corso come per esempio: la denominazione di immagini, il ragionamento analogico, la denominazione delle immagini, la memoria episodica, la memoria fonologica, la memoria di lavoro e la memoria prospettica. Nel caso in cui la stimolazione avvenga separatamente al compito si procede secondo il seguente ordine :" compito-rTMS-compito". Bisogna tenere conto del fatto che gli effetti fisiologici della rTMS non portano necessariamente ad un effetto comportamentale nella stessa direzione. Nella maggior parte dei casi si usa il secondo approccio in quanto evita fattori di disturbo non specifici della stimolazione che intaccano i risultati aspettati. Sebbene il suo meccanismo sia ancora poco compreso, la rTMS a 1HZ è il protocollo più frequentemente utilizzato nell'indagine dei processi cognitivi quali : l'udito spaziale, la memoria di lavoro, il processo decisionale , la percezione temporale e i processi di apprendimento.

TMS in ambito terapeutico
Sebbene i meccanismi degli effetti più duraturi della TMS siano ancora in fase di studio, esistono numerose prove in ambito neuropsichiatrico che la TMS provoca effettivamente cambiamenti neuroplastici che possono migliorare i risultati terapeutici. Gran parte della ricerca clinica sulla TMS è stata condotta su una popolazione adulta per poi essere estesa anche a pazienti anziani. Sono stati esaminati gli effetti della TMS in pazienti geriatrici con ictus, Alzheimer e MDD.

Riabilitazione da ictus
I cambiamenti neuroplastici secondari alla terapia fisica per il trattamento dell'ictus sono stati misurati con la TMS. Ad esempio, è possibile generare una mappa della rappresentazione corticale di un muscolo misurando l'ampiezza dei MEP risultati da impulsi TMS applicati ad una griglia di aree selezionate della corteccia motoria. Queste mappe di rappresentazione corticale possono poi essere confrontate per osservare la riorganizzazione corticale in seguito a esercizi di training motorio comportamentale. Inoltre i MEP evocati della TMS possono essere utilizzati per misurare l'inibizione e l'eccitazione corticale inter e intraemisferica, che può essere usata per indicizzare i cambiamenti neuroplastici indotti da varie terapie utilizzate nella neuroriabilitazione post-ictus. Oltre a misurare gli effetti della terapia fisica, la TMS può essere utilizzata per applicare direttamente i suoi effetti neuroplastici e terapeutici. Per esempio, uno studio ha dimostrato che applicando treni di rTMS a 10 Hz a pazienti con emiparesi che completavano alternativamente prove pratiche di un compito motorio sequenziale con le dita in cui producevano sequenze di 7 cifre dei numeri da 1 a 4 premendo dei pulsanti. Nel corso di una sessione, i pazienti che hanno ricevuto la rTMS hanno mostrato un miglioramento significativo dell'accuratezza e della velocità dei movimenti. L'aiuto dato dalla TMS nell'ambito della neuroriabilitazione dopo l'ictus è stat più volte dimostrata. Un ulteriore studio ha utilizzato la rTMS a 5 Hz in combinazione con la terapia fisica per dieci sessioni ha prodotto miglioramenti clinici migliori alla sola terapia fisica. Oltre al recupero della funzione motoria, la TMS può anche favorire il recupero delle funzioni linguistiche nell'afasia. In pazienti con lesioni frontali sinistre, dieci sessioni di rTMS a 1 Hz applicate all'emisfero non affetto nell'arco di 2 settimane hanno portato a un miglioramento della denominazione delle immagini.

Demenza e declino cognitivo
I cambiamenti dell'inibizione e nell'eccitazione intracorticale evidenziati dalla TMS possono tornare utili nella distinzione tra decadimento cognitivo lieve, malattia dell'Alzheimer, invecchiamento normale e invecchiamento anormale. All'Alzheimer è associata un'aumentata eccitabilità corticale motoria. Questa ipereccitabilità può servire come indicatore di un meccanismo compensatorio di riorganizzazione corticale in cui le aree motorie secondarie vengono reclutate per aiutare l'esecuzione dei movimenti. La TMS svolge dunque un ruolo importante nel migliorare la validità incrementale del processo di valutazione neurodiagnostica per i pazienti con sospetta anomalia cognitiva. Oltre a funzionare come strumento diagnostico, vi sono indicazioni che la TMS possa agire sulla corteccia per migliorare la funzione della memoria nei pazienti. A titolo esemplificativo, l'applicazione della rTMS a 5 Hz applicata alla corteccia prefrontale in soggetti aventi capacità memoria compromessa ha permesso loro di portare a termine un compito mnemonico che consisteva nell'associare a determinati volti l'opportuno nome. Questo suggerisce che la rTMS ha favorito il reclutamento di una rete neurale aggiuntiva che ha portato a prestazioni migliori. In un diverso studio sono stati somministrati treni di 0,6 s di rTMS a 20 Hz alla corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra o destra, mentre i pazienti completavano un compito di denominazione di immagini. L'rTMS ha migliorato l'accuratezza del compito rispetto ai pazienti che non l'avevano ricevuta. Si è verificato un miglioramento del reclutamento della rete neurale per quel determinato task da portare a termine.

Depressione nei pazienti anziani
La depressione è classificata come una malattia neuropsichiatrica comune che affligge maggiormente gli adulti anziani. Per gli adulti, la ricerca ha dimostrato che la TMS è efficace nel ridurre i sintomi depressivi. Il trattamento consiste in 6 settimane di sessioni di rTMS ad una frequenza di 10 Hz applicate alla corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra. La TMS rappresenta una via alternativa nella cura della depressione perchè in soggetti anziani si presentano complicanze quali interazioni non efficaci con il farmaco somministrato o la sensibilità al farmaco stesso. Purtroppo però è stato scoperto che la risposta alla rTMS nei pazienti giovani risulta molto migliore rispetto a quella dei pazienti anziani rendendo così l'età un predittore negativo del beneficio terapeutico. Lo scarso risultato ottenuto dall'applicazione della stimolazione magnetica trascranica ripetitiva nei pazienti anziani ha trovato la sua causa principale nel fatto che nelle persone in età avanzata la distanza tra scalpo e corteccia aumenta. Lo spazio che si crea è dovuto principalmente all'atrofia della corteccia motoria e della corteccia prefrontale. Viene naturale dunque pensare di dover trasmettere uno stimolo d'intensità più forte poichè l'intensità del campo magnetico diminuisce con l'aumentare della distanza. Studi recenti hanno confermato l'efficacia di questa intuizione.

Capitolo 5

Interazione tra TMS ed EEG

5.1 Interazione tra EEG e TMS

La combinazione di TMS ed elettroencefalografia ha permesso di effettuare esperimenti per esaminare in modo non invasivo gli stati cerebrali e le loro dinamiche nelle aree corticali motorie e non motorie, i meccanismi di plasticità normali e anormali e le interazioni tra meccanismi eccitatori e inibitori. Pertanto, la combinazione tra TMS ed EEG amplia notevolmente la portata delle informazioni neurofisiologiche che possono essere raccolte per condurre studi che implicano l'uso della stimolazione magnetica in concomitanza con l'uso dell'elettromiografia per sondare le funzioni cerebrali ed associarle alle dovute aree cerebrali rendendo così l'interazione tra questi dispositivi uno strumento molto potente per lo studio delle popolazioni cliniche.

5.1.1 Coregistrazione di TMS ed EEG

Come abbiamo visto, la TMS prevede la generazione di brevi campi magnetici variabili nel tempo che, grazie al principio di conduzione elettromagnetica, inducono un campo elettrico in un conduttore vicino, in questo caso il cervello umano. Il campo generato dalla TMS nella corteccia depolarizza i neuroni, provocando un breve periodo di accensione neurale sincronizzata nell'area sottostante alla bobine che genera il campo magnetico. Quando vengono applicati sulla corteccia motoria, gli impulsi TMS soprasoglia possono depolizzare direttamente o per via trans-sinaptica i neuroni corticospinali, con conseguente attivazione dei muscoli della periferia innervati dalla regione corticale stimolata. Queste attivazioni muscolari evocate dalla TMS noti come MEP vengono registrate con l'elettromiografia e la loro ampiezza fornisce un indice di eccitabilità corticospinale. Anche se estremamente utile per misurare proprietà corticali come l'eccitazione, l'inibizione, la plasticità e la connettività, vi sono due limiti principali limiti della TMS-EMG. In prima istanza, i protocolli TMS-EMG sono limitati al sistema motorio e non possono essere facilmente trasferiti a regioni non motorie a causa della loro dipendenza dall'output motorio. In secondo luogo, il MEP non è influenzato solo dai meccanismi corticali, ma anche dall'eccitabilità corticale e dalle proprietà muscolari. Per superare questi ostacoli, la TMS ricorre a tecniche di neuroimaging che misurano in maniera diretta l'attività cerebrale come ad esempio l'EEG. Quando un impulso TMS viene applicato alla corteccia, si ottiene una depolarizzazione dei neuroni sottostanti e l'attivazione trans-sinaptica di reti corticali locali e distali. Quest'attività può essere registrata con gli elettrodi EEG posizionati sullo scalpo dove la sommatoria dei potenziali sinaptici produce una serie di deflessioni positive e negative, visibili nel segnale EEG, denominate potenziali evocato dalla TMS (TEP, TMS-evoked potential). Il TEP è una misura della reattività corticale, infatti le variazioni della sua ampiezza e latenza riflettono i cambiamenti nell'attività corticale della regione stimolata. La combinazione di TMS ed EEG ad alta risoluzione permette

di misurare la risposta iniziale all'impulso TMS, ma anche di quantificare e caratterizzare la diffusione dell'attivazione che segue nel dominio del tempo, dello spazio e della frequenza.

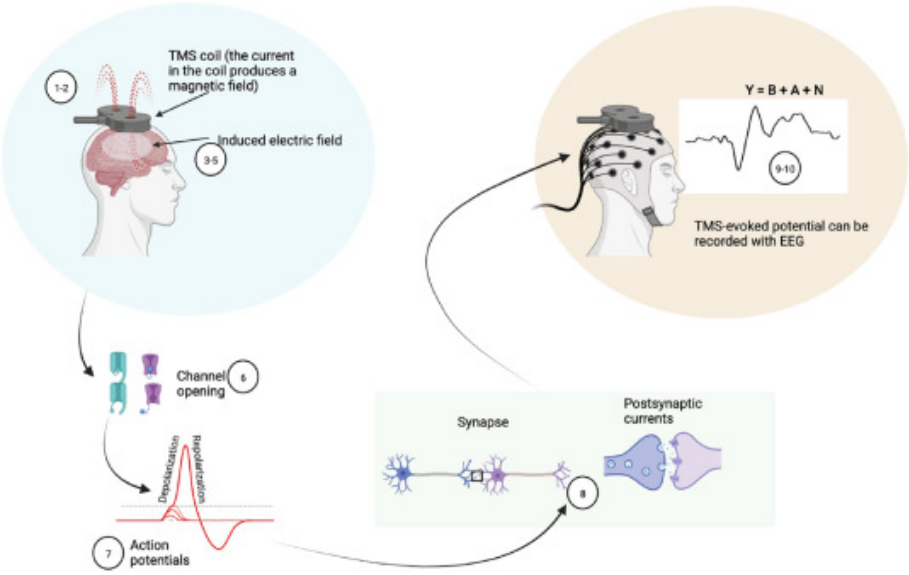

Figura 5.1: Utilizzo simultaneo di TMS ed EEG. Figura adattata da [12]

Sebbene l'origine precisa delle TEP sia ancora da determinare si pensa che coinvolgano la sommatoria spaziale e temporale di potenziali post-sinaptici eccitatori e inibitori originati dall'attività di una grande popolazione di neuroni piramidi corticali e di interneuroni. Gli studi sugli animali che esplorano gli elementi neurali attivati dalla TMS possono fornire indicazioni sulla probabile origine dei segnali corticali. Per esempio, le registrazioni di singoli neuroni in primati non umani in seguito a TMS soprasoglia hanno dimostrato che l'impulso di TMS attiva i neuroni piramidili così come quelli non piramidali dimostrando che questa attivazione dura più di 200 ms a livello di popolazione neuronale ed è una tempistica che coincide con la durata del TEP. I modelli biofisici della TMS possono anche fornire informazioni importanti sulla fonte dei segnali cerebrali evocati registrati tramite EEG. Gli studi suggeriscono che l'anatomia cerebrale, l'orientamento e la posizione della bobina influenzano notevolmente la corrente indotta nel cervello fornendo un quadro di riferimento per capire le variazioni della forma d'onda TEP registrata in diverse posizioni del cuoio capelluto.I vari studi basati sull'ampia letteratura riguardante la neurofisiologia relativa i potenziali evocati supporta l'idea che il segna EEG evocato della TMS possa riflettere diversi livelli di attivazione corticale.

Artefatti non fisiologici

Gli artefatti non fisiologici sono generati principalmente dalla strumentazione TMS e hanno natura elettromagnetica o meccanica.

Artefatto elettromagnetico

L'artefatto elettromagnetico è il più grande generato dall'impulso TMS. È di natura elettromagnetica ed è prodotto dalla forza elettromotrice indotta nelle spire. Questo artefatto può essere dell'ordine di diversi volt, mascherando così i segnali celebrali e saturando l'utilizzo degli amplificatori EEG andando a limitare così l'uso simultaneo di TMS ed EEG. Questo artefatto purtroppo non può essere evitato. Tuttavia, sono stati sviluppati amplificatori EEG compatibili con la TMS che permettono la gestione di questo segnale indesiderato. La migliore strategia a disposizione al momento è quella di ridurre al minimo la durata dell'artefatto. Questo è possibile utilizzando un'adeguata frequenza di campionamento e una frequenza di taglio suffcientemente alta per i filtri passa-basso anti-aliasing.

Artefatti da ricarica
Questo artefatto si produce quando i condensatori, che immagazzinano la carica elettrica necessaria per la TMS vanno incontro al processo di carica. L'artefatto in questo caso, a seconda della tipologia del macchinario TMS, può essere un picco, un brusco salto di segnale o anche avere la forma di un decadimento esponenziale. La generazione di questo segnale disturbo può corrompere le registrazioni EEG e può essere confuso per un segnale dell'attività cerebrale. Nei nuovi dispositivi TMS, la tempistica della ricarica del condensatore è impostabile manualmente, pertanto l'artefatto di ricarica può essere ritardato e impostato in modo che si verifichi fuori dalla finestra temporale di nostro interesse. Quando non è possibile regolare il ritardo, è importante determinare l'esatta insorgenza della ricarica eseguendo delle registrazioni di prova in modo da poter facilitare la rimozione offline e l'interpolazione dei segnali non corrotti.

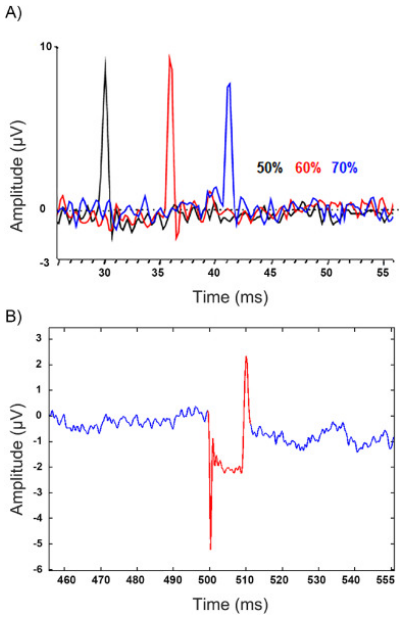

Figura 5.2: Esempio delle alterazioni del segnale registrato per via dell'artefatto da ricarica. Figura dattata da [12].

Artefatti da decadimento
In molti casi, l'interfaccia elettrodo-pelle può essere polarizzata dalle correnti elettriche tra il gel elettrolitico e l'elettrodo di registrazione. Quando un elettrodo è polarizzato, potrebbero essere necessarie centinaia di millisecondi dopo l'impulso TMS affinchè le cariche si riequilibrino. Questo porta tipicamente ad un decadimento esponenziale della carica e la corrente di decadimento è proporzionale alla tensione di polarizzazione rimanente. L'artefatto può essere costituito da diverse componenti di decadimento con costanti di tempo diverse. Gli artefatti da decadimento possono essere minimizzati scegliendo materiali dell'elettrodo e dell'elettrolita non polarizzabili e con una bassa impedenza di contatto. Assicurando la migliore conduttanza possibile tra il cuoio capelluto e l'elettrodo, si può ridurre la costante di tempo del comportamento capacitvo del complesso elettrodo-pelle, riducendo in tal modo la durata dell'artefatto. Inoltre , basse impedenze della pelle hanno dimostrato di ridurre le dimensioni del segnale di disturbo.

Artefatti da movimento dell'elettrodo
L'artefatto da movimento ha origine meccanica. Esso è causato dal movimento dell'elettrodo contro il gel elettrolitico e di quest'ultimo contro la pelle. Questo artefatto può originarsi dalla vibrazione della bobina TMS trasmessa agli elettrodi per contatto diretto, da contrazioni muscolari o movimenti della testa, dall'operatore che erroneamente tocca gli elettrodi e infine dallo stiramento della pelle a causa dei movimenti del paziente provocando cosi spostamenti del potenziale cutaneo. Gli artefatti da movimento che sono indotti dall'erogazione dell'impulso sia direttamente che indirettamente di solito si verificano entro i primi 10 ms dopo l'impulso e sono spesso mascherati dagli artefatti descritti

precedentemente. Per impedire la generazione di questa tipologia di artefatto si pone un sottile strato di schiuma tra la bobina e gli elettrodi e in alcuni laboratori si avvolge la cuffia EEG con uno strato di cellophane.

Artefatti fisiologici

Le contrazioni dei muscoli cranici, le risposte uditive ai click della bobina e i potenziali evocati somatosensoriali sono tutti segnali fisiologici indotti dall'impulso TMS ma che non sono desiderati perchè si possono confondere con i potenziali evocati dalla stimolazione magnetica e portare ad errori nell'interpretazione del tracciato ottenuto.

Artefatto da battito delle palpebre e da movimenti oculari
Gli artefatti da battito di ciglia si verificano spontaneamente e sono molto comuni nelle registrazioni EEG tradizionali. Nel caso della TMS gli artefatti oculari possono essere indotti come parte di un riflesso di spavento dovuto al click continuo della bobina. Una riduzione di questo artefatto può essere ottenuta addestrando il soggetto. I movimenti oculari non derivanti dalla TMS, sono meno gravi in termini di rumore rispetto a quelli indotti dalla stimolazione magnetica in quanto i primi non sono legati al tempo dell'impulso TMS quindi sono statisticamente indipendenti dall'attività evocata e quindi più facili da rimuovere dai dati utilizzando delle tecniche opportune.

Artefatto muscolare cranico
Questi artefatti possono essere indotti dall'impulso TMS quando vengono stimolati i muscoli che circondano la testa e possono contaminare fortamente l'EEG. Si tratta di risposte tempo dipendenti da non confondere con normali artefatti muscolari generati da movimenti del paziente o dall'attività muscolare. Gli artefatti muscolari evocati dalla TMS sono spesso deflessioni bifasiche e sono fino a 3 ordini di grandezza più forti delle risposte neuronali. Inoltre, hanno una durata variabile che dipende dal muscolo attivato. Gli artefatti muscolari raggiungono il picco entro pochi millisecondi dell'erogazione dell'impulso, influenzando così pesatemente le prime risposte alla TMS. I principali muscoli coinvolti sono i muscoli del collo, del viso, frontali, temporali e masseteri a seconda del posizionamento della bobina. La contrazione dei muscoli craniali può portare a movimenti dell'elettrodo generando così l'artefatto non fisiologico da movimento. Una soluzione pratica per ridurre gli artefatti muscolari è quella di spostare la posizione e cambiare l'orientamento della bobina TMS. Ciò non è sempre possibile, infatti in alcuni casi non possiamo spostarci dalla zona target che deve essere coinvolta ai fini della ricerca. Un'altra idea è quella di utilizzare bobine più piccole e focali ma ancora una volta questa scelta deve essere concorde alla tipologia di indagine che stiamo effettuando.

Artefatti uditivi
Nel suo funzionamento la bobina della TMS genera un forte click.È stato dimostrato che questo suono produce un potenziale evocato uditivo. Queste risposte sono espresse in una finestra temporale che va dai 100 ai 200 ms e possono confondere l'analisi dell'attività cerebrale evocata dalla TMS. Le risposte uditive possono essere smorzate combinando mascheratura del rumore e protezione dell'udito in modo che il click della bobina sia attenuato e risulti impercettibile. Una parte del suono viene comunque trasmessa all'orecchio interno attraverso la conduzione ossea ma si può attenuare utilizzando un pezzo di schiuma tra la bobina e il cuoio capelluto. L'efficacia della procedura di smorzamento uditivo deve essere convalidata empiricamente per ogni studio condotto. Sono possibili diversi setup per evitare questo artefatto quali la riproduzione di rumore bianco negli auricolari che il paziente dovrà mettersi o l'utilizzo di frequenze appositamente studiate.

Risposte somatosensoriali
La TMS può provocare una co-stimolazione somatosensoriale periferica mediante diversi meccanismi come :

- attivazione dei meccano-recettori per la vibrazione della bobina

- attivazione diretta degli assoni sensoriali a causa dell'impulso
- attivazione di interi fasci di nervi cranici sensoriali
- contrazione dei muscoli cranici che possono dare origine a raffiche di afferenze da parte di fibre afferenti al muscolo

Questa costimolazione perifocale può indurre potenziali evocati somatosensoriali e risposte oscillatorie indesiderate. Non esiste una soluzione condivisa a questo segnale indesiderato perchè la strategia migliore deve adattarsi all'obiettivo dello studio che si sta effettuando. Tuttavia, piccoli cambiamenti nel posizionamento della bobina possono risultare d'aiuto perchè riducono in parte la stimolazione periferica dei tronchi nervosi.

Capitolo 6

Conclusioni

La ricerca condotta sulle applicazioni dell'EEG e della TMS ha fornito importanti contributi alla comprensione del funzionamento del cervello umano e alle possibilità di modulazione delle attività cerebrali. Le due tecniche si sono dimostrate strumenti potenti per indagare i processi neurali sottostanti a una vasta gamma di fenomeni cognitivi e comportamentali, aprendo nuove prospettive nella diagnosi e nel trattamento di disturbi neurologici e psichiatrici.
L'EEG ha permesso di registrare l'attività elettrica del cervello con alta risoluzione temporale, consentendo la misurazione di eventi neurali in tempo reale. Questa tecnologia è stata utilizzata per studiare la dinamica cerebrale durante attività cognitive, come l'elaborazione di informazioni sensoriali, la memoria, l'attenzione e il sonno. L'EEG ha dimostrato di essere un prezioso strumento diagnostico in contesti clinici, contribuendo alla valutazione di disturbi epilettici, demenze e altre condizioni neurologiche. D'altra parte, la TMS ha permesso di modulare l'attività cerebrale attraverso la stimolazione non invasiva. Questa tecnica è stata applicata con successo per investigare la causalità tra regioni cerebrali e comportamenti specifici, aprendo nuove prospettive per la riabilitazione e il trattamento di disturbi neuropsichiatrici. La combinazione di EEG e TMS ha fornito un'approccio integrato, consentendo la registrazione delle risposte neurali indotte dalla stimolazione magnetica e rafforzando la comprensione dei circuiti cerebrali coinvolti in varie funzioni cognitive.
Nonostante i numerosi vantaggi offerti dalla TMS, essa porta con sè anche molte limitazioni e problematiche. Tra limitazioni riscontrate si ricordano una profondità di penetrazione limitata, una forte variabilità individuale, che porta ad una risposta differente a seconda del paziente, effetti temporanei e di breve durata. Alle volte sono visibili effetti collaterali come dolori locali o cefalea dopo la seduta di stimolazione. É importante notare anche che i dispositivi TMS sono costosi e richiedono personale addestrato per l'uso. Essendo inoltre la TMS una tecnica relativamente recente gli effetti a lungo termine risultano ancora in parte incogniti. La ricerca negli ultimi anni è stata direzionata nello studio di tali effetti.
L'integrazione dell'EEG e della TMS rappresenta in ogni caso un approccio promettente per la ricerca neuroscientifica e la pratica clinica. Queste tecniche hanno già portato a importanti scoperte sul funzionamento del cervello umano e offrono nuove opportunità per lo sviluppo di interventi terapeutici mirati. Nonostante le sfide tecniche e le questioni etiche che sorgono, l'uso combinato di EEG e TMS permette di continuare a gettare luce sui misteri del cervello umano e di migliorare la vita di coloro che soffrono di disturbi neurologici e psichiatrici.

Bibliografia

[1] D. U. Silverthorn, M. Passatore, F. Vellea Sacchi et al., *Fisiologia umana : un approccio integrato / Dee Unglaub Silverthorn ; edizione italiana a cura di Magda Passatore, Silvestro Roatta, Franca Vellea Sacchi*. Pearson, 2020.

[2] J. D. e. a. Power, «Functional network organization of the human brain», 2011.

[3] M. E. Avanzolini Guido, *Strumentazione Biomedica, progetto e impiego dei sistemi di misura*. patron, 2015.

[4] C. Egri e P. C. Ruben, «Action Potentials: Generation and Propagation», in *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley Sons, Ltd, 2012.

[5] E. Carrera, R. G. Emerson e J. Claassen, «Chapter 24 - Evoked Potentials», in *Monitoring in Neurocritical Care*, P. D. Le Roux, J. M. Levine e W. A. Kofke, cur., Philadelphia: W.B. Saunders, 2013, 236–245.e3.

[6] A. Zabidi, W. Mansor, Y. K. Lee e C. W. N. F. Che Wan Fadzal, «Short-time Fourier Transform analysis of EEG signal generated during imagined writing», in *2012 International Conference on System Engineering and Technology (ICSET)*, 2012, pp. 1–4.

[7] T. Gandhi, B. K. Panigrahi e S. Anand, «A comparative study of wavelet families for EEG signal classification», *Neurocomputing*, vol. 74, n. 17, pp. 3051–3057, 2011.

[8] N. Bajaj, «Wavelets for EEG Analysis», in nov. 2020.

[9] P. Lioumis e M. Rosanova, «The role of neuronavigation in TMSEEG studies: Current applications and future perspectives», *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 380, p. 109 677, 2022.

[10] P. Julkunen, V. K. Kimiskidis e P. Belardinelli, «Bridging the gap: TMS-EEG from lab to clinic», *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 369, p. 109 482, 2022.

[11] T. Wagner, F. Fregni, U. Eden et al., «Transcranial magnetic stimulation and stroke: A computer-based human model study», *NeuroImage*, vol. 30, n. 3, pp. 857–870, 2006.

[12] S. Casarotto, M. Fecchio, M. Rosanova et al., «The rt-TEP tool: real-time visualization of TMS-Evoked Potentials to maximize cortical activation and minimize artifacts», *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 370, p. 109 486, 2022.