

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia Generale

Corso di laurea triennale in Scienze Psicologiche

Cognitive e Psicobiologiche

Tesi di Laurea:

**Il ruolo dei campi oculari frontali nel tagging inibitorio:
uno studio con TMS.**

**The role of frontal eye fields in inhibitory tagging: a TMS
study.**

Relatore: Prof. Gianluca Campana

Laureanda: Angela Silvestri

Matricola: 2047617

Anno Accademico 2023/2024

SOMMARIO

ABSTRACT	4
1. INTRODUZIONE	5
1.1 L'attenzione visiva spaziale	6
1.1.1 Definizione, teorie, caratteristiche	6
1.1.2 Cattura attentiva e processi attentivi	9
1.1.3 Basi neurali dell'attenzione	10
1.2 I campi oculari frontali	11
1.2.1 Localizzazione e funzione dei FEF	11
1.2.2 Neuroni di tracciamento "putativo" in FEF: alcuni studi precedenti	12
1.2.3 Ruolo dei neuroni FEF nel tagging inibitorio e implicazione nell'esperimento.	15
1.3 Multi-item localization task (MILO)	17
1.3.1 Gli studi di Thornton e Horowitz	18
1.3.2 Descrizione del compito e utilizzo nel presente studio	20
2. METODOLOGIA	22
2.1 Etica, consenso informato, modulistica	22
2.2 Partecipanti	22
2.3 Strumentazione utilizzata.....	23
2.3.1 Stimolazione magnetica transcranica (TMS)	23
2.3.2 Neuronavigazione.....	25
2.4 Stimoli.....	27
2.5 Procedura sperimentale.....	28
3. RISULTATI	31
3.1 Analisi statistica dei dati con grafici	31
4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONE	37
5. BIBLIOGRAFIA.....	38

ABSTRACT

In seguito agli innumerevoli studi volti ad approfondire la conoscenza sul funzionamento delle aree visive e della cattura dell'attenzione visuospatiale, sono stati individuati alcuni neuroni nei campi oculari frontali (*Frontal Eye Fields*– FEF), che sembrano svolgere una funzione di “*inhibitory tagging*” e, quindi, potrebbero contribuire alla selezione delle informazioni visive di rilievo, discriminandole e distinguendole da quelle non rilevanti. Questo meccanismo consente al nostro cervello di concentrarsi sulle caratteristiche salienti dell'ambiente visivo, ignorando le informazioni superflue.

L'esperimento qui condotto è volto ad indagare questo processo di inibizione associato ai neuroni dei FEF, durante un compito di ricerca visiva. Per fare ciò abbiamo utilizzato il “*Multi-Item Localization task*” (MILO task), compito nel quale viene chiesto al partecipante di cliccare in ordine crescente su una sequenza di numeri rappresentata su palline da biliardo, numerate da 1 a 8, nel minor tempo e in modo più accurato possibile. Il compito viene eseguito dal soggetto due volte, prima e dopo la stimolazione magnetica transcranica (*Transcranial Magnetic Stimulation* – TMS). La stimolazione viene somministrata a bassa frequenza (1Hz) per ottenere un effetto inibitorio e ha una durata di circa 25 minuti.

L'obiettivo della presente ricerca è quello di acquisire una miglior comprensione del funzionamento delle aree cerebrali deputate all'attenzione visiva spaziale. Dallo studio ci aspettiamo che, in seguito alla stimolazione TMS, i tempi impiegati per completare il MILO task siano maggiori rispetto a quelli registrati previa stimolazione, in particolare i tempi di risposta agli ultimi item della serie nella condizione “*remain*”. Questo a causa della riduzione dell'inibizione delle aree cerebrali deputate al riconoscimento delle posizioni occupate dagli stimoli precedentemente selezionati.

In seguito ad analisi statistica dei risultati ottenuti dopo le sessioni sperimentali, è emerso che non risulta esserci significatività nei risultati. In particolare, non è stato trovato alcun effetto causale della stimolazione TMS dei FEF nell' “*inhibitory tagging*”.

1. INTRODUZIONE

William James definiva in termini classici: *“Tutti sanno cos’è l’attenzione. Essa consiste nella chiara e vivida presa di possesso della mente da parte di uno dei molti e possibili oggetti su cui può soffermarsi il pensiero. La sua essenza può venire riassunta con le parole focalizzazione, concentrazione consapevole del nostro pensiero. Essa implica di dover trascurare alcune cose per potersi occupare esclusivamente di altre.”* (William James, 1890).

L’attenzione è un processo cognitivo volto all’individuazione degli stimoli rilevanti e alla loro elaborazione. Gli stimoli visivi non sono rappresentati tutti allo stesso modo, infatti: *“Se il cervello avesse una capacità infinita di elaborazione dell’informazione, non ci sarebbe bisogno di meccanismi attenzionali.”* (Mesulam, 1985).

In ogni istante della giornata i nostri organi di senso prendono in analisi una vasta quantità di informazioni provenienti dall’ambiente, mentre l’uomo solitamente è impiegato ad eseguire un compito. Essendo l’attenzione un sistema di elaborazione a capacità limitata, per il completamento del compito è necessario selezionare le informazioni rilevanti. Infatti, solo una piccola porzione del flusso di informazioni in entrata risulta esserlo. Questo dato di fatto indica che i sistemi sensoriali ed il cervello devono disporre di mezzi funzionali per selezionare le informazioni. Se questo processo di selezione non esistesse, le informazioni irrilevanti finirebbero per sopraffare quelle di rilievo e non riusciremmo a portare a termine i nostri compiti.

Sono molteplici le definizioni che possiamo ricavare circa il concetto di attenzione, basandosi sul contesto in cui questo termine viene usato e sul sistema sensoriale deputato all’elaborazione dello stimolo verso cui la nostra attenzione viene posta. In questo elaborato mi focalizzerò principalmente sul sistema visivo e, dunque, sull’attenzione visiva spaziale. Analizzerò, inoltre, come specifiche aree cerebrali, in particolare quelle dei campi oculari frontali (*Frontal eye fields* - FEF) intervengono nei processi attentivi e come siano in grado di modularli, talvolta facilitandoli. Indagherò, infine, il ruolo dei neuroni presenti nella FEF nel tagging inibitorio (*inhibitory tagging*), processo che dovrebbe agire per segnalare le porzioni di spazio che sono già state visionate dal nostro sistema visivo.

1.1 L'attenzione visiva spaziale

L'attenzione visiva spaziale è il processo attraverso il quale discerniamo e concentriamo la nostra percezione su stimoli visivi specifici presenti nell'ambiente circostante. Tale meccanismo risulta essere fondamentale nel filtrare le informazioni visive, dirigendo l'attenzione verso ciò che risulta essere pertinente ai nostri scopi ed interessi. Nota è la metafora della lente di ingrandimento, secondo cui “*gli oggetti che cadono sotto il fuoco dell'attenzione vengono ingranditi*”. Ciò implica la capacità di selezionare gli stimoli visivi, di distribuire l'attenzione su diverse aree dello spazio visivo e di adattarsi agli stimoli visivi rilevanti per la sopravvivenza e l'adattamento all'ambiente. Tuttavia, poiché l'attenzione visiva rappresenta una risorsa cognitiva limitata, siamo obbligati ad effettuare scelte in merito alla priorità, cosa che può determinare fenomeni come la “cecità da inattenzione”, ovvero la mancata percezione di stimoli visivi evidenti, quando siamo concentrati su altri compiti. La comprensione dell'attenzione visiva risulta cruciale nel campo della psicologia cognitiva e in quello della psicologia della percezione.

1.1.1 Definizione, teorie, caratteristiche

Possiamo definire l'attenzione visiva, da una prospettiva psicologica, come un processo cognitivo fondamentale che consente agli individui di selezionare e concentrare la percezione su specifici stimoli visivi dell'ambiente circostante. Questo meccanismo ha lo scopo di selezionare le informazioni rilevanti, mentre filtra e ignora quelle irrilevanti, svolgendo, in questo modo, un ruolo chiave nell'ottimizzazione delle risorse cognitive e nella gestione efficace dell'input sensoriale. Dal punto di vista neuroscientifico, l'attenzione visiva è una funzione neurale complessa, caratterizzata dall'attivazione selettiva di reti neurali periferiche e centrali, ma tratterò di questo nei prossimi paragrafi.

L'attenzione visiva spaziale può assumere forme sia esplicite che implicite. Nella sua forma esplicita implica movimenti del capo e degli occhi per posizionare la fovea¹ su un'area specifica dello spazio al fine di esaminarne i particolari. Invece, per quanto concerne l'attenzione implicita, in essa non si verifica alcun movimento fisico; infatti, consiste nella fissazione di un punto nello spazio mentre l'attenzione viene spostata ad altre aree circostanti. Questa tipologia di attenzione viene definita da Helmholtz e Hermann (1894) “*cover*” o nascosta.

¹ Regione più sensibile della retina, deputata all'elaborazione dei dettagli visivi.

Studi cognitivi hanno individuato diverse caratteristiche funzionali dell'attenzione visiva spaziale. Può essere diffusa, estendendosi sull'intera porzione spaziale, oppure focalizzata, concentrata cioè su una singola posizione. La dimensione del campo attentivo varia in base alle esigenze del compito, ma un'espansione eccessiva può compromettere l'efficienza di elaborazione delle informazioni.

Un'ampia gamma di ricerche scientifiche ha esaminato l'esplorazione visiva. Durante questo procedimento, i nostri occhi rimangono fissi per brevi intervalli, noti come fissazioni, interrotti da movimenti rapidi e repentini chiamati saccadi. La durata di una fissazione è stimata intorno ai 300 millisecondi, mentre le saccadi sono molto più veloci (20 millisecondi). Durante le fissazioni, avviene l'acquisizione delle informazioni visive, poiché gli occhi sono stabili su un punto specifico dello spazio. Le saccadi, invece, interrompono questa visione continua e portano ad uno spostamento dello sguardo su aree dell'ambiente differenti. Questi segmenti di spazio visivo vengono poi integrati in una rappresentazione fluida e dinamica degli oggetti presenti nell'ambiente. In genere, i punti di fissazione degli occhi non sono casuali, ma corrispondono alle aree della scena che contengono la maggiore quantità di informazioni. Queste ultime comprendono principalmente le caratteristiche visive che rendono unica la scena rispetto ad altre simili. Nonostante, solitamente, prestiamo attenzione nella direzione verso cui è rivolto il nostro sguardo, esistono diverse tipologie di attenzione verso uno stimolo visivo senza la necessità di spostare i nostri occhi (Posner e Raichle, 1994). Posner, nel suo paradigma, conferisce l'accezione "endogeno" al controllo volontario della persona in risposta a obiettivi interni, ed "esogeno" all'attenzione attirata automaticamente da stimoli esterni. Inoltre, Posner, all'interno del suo paradigma, distingue tre aspetti dell'attenzione, ciascuno collegato a una rete cerebrale differente. Il primo è collegato all'allerta, il secondo all'orientamento dell'attenzione e il terzo al controllo esecutivo (Posner e Rothbart, 2007).

Le teorie classiche sull'attenzione visiva, discusse in studi scientifici di rilievo, offrono un quadro concettuale per comprendere il funzionamento di questo processo cognitivo fondamentale. Tra queste, la "Teoria del filtro attentivo" di Broadbent, proposta da Donald Broadbent negli anni '50 del '900, suggerisce che l'attenzione funzioni come un filtro volto alla selezione degli stimoli più rilevanti per l'elaborazione visiva, ignorando gli altri nella parte iniziale del processo percettivo. Anne Treisman negli anni '60 avanza

la “Teoria del filtro tardivo”, nella quale suggerisce che tutti gli stimoli vengano elaborati superficialmente, ma solo quelli rilevanti superino un filtro per un'elaborazione più precisa e completa in una fase successiva. Il “Modello a due stadi” di Deutsch e Deutsch, proposto da Jacques e Eleanor Deutsch nel 1963, sostiene che tutti gli stimoli sono elaborati, ma solo quelli rilevanti per gli obiettivi o le aspettative dell'individuo ricevono una risposta comportamentale. Infine, il “Modello a capacità limitata” di Kahneman, sviluppato da Daniel Kahneman negli anni '70, concettualizza l'attenzione come una risorsa cognitiva a capacità limitata che richiede una distribuzione efficiente in base all'entità delle richieste. Queste teorie hanno fornito un fondamento teorico essenziale per lo sviluppo di modelli più avanzati nell'ambito della psicologia cognitiva, contribuendo così alla comprensione più approfondita dell'attenzione visiva.

Diverse sono le teorie, nel panorama della ricerca sull'attenzione visiva, ad aver contribuito ad una comprensione più approfondita di questo processo fondamentale nella percezione umana. Tra queste, il “Modello della teoria dell'integrazione delle Caratteristiche” (FIT) di Anne Treisman propone che l'attenzione visiva faciliti l'integrazione delle caratteristiche visive codificate separatamente in oggetti unitari (analisi delle caratteristiche in parallelo in moduli specializzati e integrazione grazie all'attenzione visiva). Allo stesso modo, la “Guided Search Theory”, proposta da Jeremy Wolfe, suggerisce che l'attenzione visiva sia influenzata da caratteristiche oggettuali e dalla conoscenza dell'ambiente. La “Teoria della ricerca visiva”, promossa da John Duncan e colleghi, esplora i meccanismi sottostanti all'individuazione degli oggetti in contesti visivi complessi. Infine, il modello “*Load Theory of Attention*”, sviluppato da Nilli Lavie, suggerisce che la capacità dell'attenzione sia influenzata dal carico cognitivo dell'attività svolta. Queste teorie offrono approcci distinti e talvolta complementari per comprendere l'attenzione visiva e continuano a guidare la ricerca in questo campo cruciale della psicologia. Abbiamo utilizzato queste teorie come base teorica della nostra ricerca e approfondirò la funzionalità dell'attenzione anche a livello neuronale.

1.1.2 Cattura attentiva e processi attentivi

La cattura attentiva consiste nel fenomeno in cui l'attenzione viene attratta in modo involontario e automatico da uno stimolo che si distingue per specifiche caratteristiche dall'ambiente circostante. Questo fenomeno si manifesta quando uno stimolo appare all'improvviso, oppure nelle situazioni in cui presenta attributi visivi o sonori peculiari, che lo rendono più saliente rispetto ad altri stimoli presenti nella scena. Un tipico esempio della cattura attentiva è possibile trovarlo nella figura di un oggetto luminoso in un ambiente buio, oppure un suono improvviso in un ambiente silenzioso. Questi fenomeni possono suscitare un'attrazione dell'attenzione, anche se non sono significativi per l'attività principale che si sta svolgendo. Questo tipo di cattura attentiva è spesso associato a stimoli di alta salienza che si distinguono per il colore, la luminosità, il movimento o l'intensità sonora. La cattura attentiva può influenzare l'esecuzione di compiti specifici, determinando un'interruzione temporanea o una deviazione dall'attività in corso, nei confronti dello stimolo che ha suscitato l'attenzione. Tuttavia, sebbene la cattura attentiva possa essere potenzialmente nociva, può anche fornire un vantaggio evolutivo, consentendo agli individui di trovare rapidamente stimoli dannosi per la sopravvivenza ed agire per la difesa personale. Dunque, la cattura attentiva costituisce un importante meccanismo attraverso cui gli individui orientano la propria attenzione verso stimoli di rilievo nell'ambiente, contribuendo alla loro capacità di percepire e rispondere alle evenienze in modo rapido ed efficiente.

Per quanto concerne la successiva analisi delle informazioni presenti nello spazio, possiamo categorizzare due tipologie di selezione: la selezione per caratteristiche e quella per posizione. La prima si basa sul riconoscimento rapido di attributi del target come forma, colore e grandezza. Le caratteristiche che possono essere selezionate così facilmente corrispondono a caratteristiche primitive della visione, cioè il suo "alfabeto", e catturano immediatamente la nostra attenzione. Queste sono basate sulle proprietà dei campi recettivi come orientazione, dimensione, colore, contrasto, movimento, profondità. Per le proprietà più complesse, l'identità non è disponibile senza attenzione volontaria. Occorre, dunque, portare la nostra attenzione su un elemento alla volta per identificare la caratteristica e trovare il bersaglio, si tratta quindi di un processo più lento. Questa tipologia di attenzione è presente all'interno del MILO task, compito utilizzato nel

presente studio che richiede un'attenzione selettiva per rilevare un particolare target, in questo caso il numero.

1.1.3 Basi neurali dell'attenzione

Come avviene per la maggior parte delle funzioni cognitive, si presume che non esista un'area cerebrale specifica deputata ai processi attentivi, ma che questa abilità sia regolata attraverso l'attivazione di network cerebrali. A seconda del sistema sensoriale coinvolto (visivo, uditivo, tattile), vengono attivate le aree cerebrali pertinenti, ma l'interesse di questo elaborato è volto verso l'attenzione visiva.

La corteccia frontale svolge un importante ruolo nel controllo esecutivo, mentre il lobo parietale interviene nel controllo spaziale e nella localizzazione. Altre regioni coinvolte comprendono il sistema limbico, con il compito di regolatore delle risposte emotive e motivazionali agli stimoli visivi, e le vie talamiche, deputate alla trasmissione delle informazioni visive verso le aree corticali.

Uno dei primi studi pionieristici sulle basi neurali dell'attenzione, condotto da Posner e Petersen nel 1990 (Posner e Petersen, 1990), identifica due principali sistemi attenzionali: il sistema attenzionale anteriore, che coinvolge la corteccia cingolata e la corteccia supplementare motoria, ed il sistema attenzionale posteriore, che comprende la corteccia parietale posteriore, il collicolo superiore e il pulvinar. Il primo sistema permetterebbe al soggetto di dirigere volontariamente la propria attenzione, mentre il secondo sistema consentirebbe allo stimolo stesso di guidare l'attenzione. Inoltre, in aggiunta ai due sistemi, nell'emisfero destro è localizzato il sistema di vigilanza, che comprende il locus ceruleus e il sistema noradrenergico, il cui compito è quello di attivare uno stato di allerta.

Questa prospettiva viene successivamente rivalutata da Corbetta e Shulman nel 2002 (Corbetta e Shulman, 2002). Essi trovarono vie alternative al sistema anteriore e posteriore, introducendo il concetto di sistema attenzionale dorsale e ventrale. Secondo questa concezione moderna, l'attenzione visiva è governata da due sistemi distinti: il primo sistema coinvolge la corteccia parietale posteriore dorsale e frontale, includendo i campi oculari frontali, di rilevanza in questo elaborato (IPs-FEF), mentre il secondo sistema, prevalentemente attivo nell'emisfero destro, comprende la corteccia temporo-parietale e la corteccia ventro-frontale (TPJ-VFC). Il sistema attenzionale dorsale è responsabile della selezione consapevole degli stimoli e delle risposte motorie, mentre

nel sistema attenzionale ventrale l'attenzione viene catturata automaticamente da parte degli stimoli. Tuttavia, questi due sistemi interagiscono frequentemente tra loro, poiché l'attenzione può necessitare sia di uno spostamento volontario che automatico.

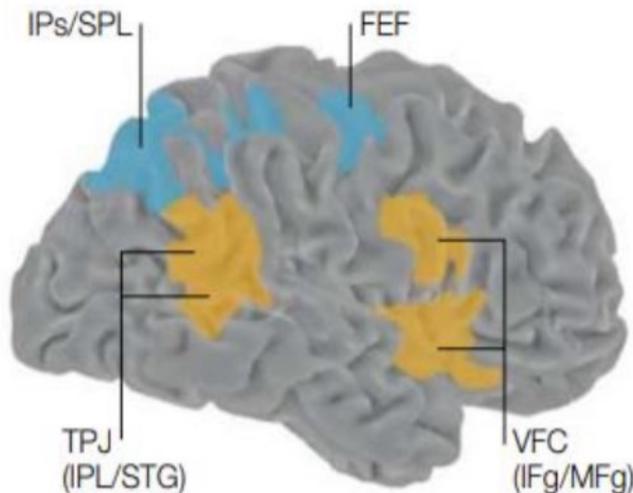


Figura 1. In figura vengono rappresentati i sistemi che regolano l'attenzione, in accordo con l'ipotesi di Corbetta e Shulman. Il sistema dorsale (blu) comprende le aree IPs e FEF, mentre il sistema ventrale (giallo) comprende le aree TPJ e VFC.

1.2 I campi oculari frontali

1.2.1 Localizzazione e funzione dei FEF

Di particolare rilevanza in questo studio appaiono le aree cerebrali dei campi visivi frontali (*Frontal Eye Fields* - FEF). I FEF, situati nella parte anteriore della corteccia cerebrale del lobo frontale (area 8 di Brodmann), sono responsabili del controllo dei movimenti oculari volontari. Movimenti oculari volontari sono, per esempio, le saccadi, movimenti rapidi che consentono di spostare rapidamente lo sguardo all'interno della scena visiva. Queste regioni cerebrali sono essenziali per la percezione visiva, essendo collegate ai muscoli extra oculari indirettamente. L'area FEF contribuisce alla coordinazione integrata dell'attenzione visiva e dei movimenti oculari in contesti di attività cognitive e comportamentali complesse. Se stimolati elettricamente, le regioni FEF causano un movimento involontario degli occhi nella direzione opposta rispetto al sito di stimolazione. In caso di danneggiamento, può avvenire la perdita della capacità nel guidare lo sguardo lateralmente in entrambe le direzioni e nel fissare oggetti nella porzione di campo visivo periferico. Inoltre, una loro disfunzione può compromettere la

capacità di avviare movimenti oculari volontari e il riflesso di fissazione visiva². I FEF sono in stretta connessione con aree cerebrali coinvolte nel controllo del movimento, consentendo in questo modo un'integrazione fluida tra la percezione visiva e l'azione motoria. Una moltitudine di evidenze suggeriscono che l'area corticale FEF giochi un ruolo rilevante nei processi sensoriali. È parte di un sistema di trasmissione molto rapido che include i collicoli superiori, i nuclei dorsali mediali e i percorsi ascendenti dei campi oculari. In aggiunta ai campi visivi supplementari, al solco intraparietale e al collicolo superiore, i FEF costituiscono una delle aree cerebrali più importanti coinvolte nella generazione e nel controllo dei movimenti oculari, specialmente in direzione controlaterale. Queste regioni lavorano sinergicamente per coordinare la percezione visiva e l'azione motoria degli occhi, consentendo una rapida risposta agli stimoli visivi presenti nell'ambiente circostante ai quali si sta ponendo attenzione visuo-spaziale.

1.2.2 Neuroni di tracciamento “putativo” in FEF: alcuni studi precedenti

Negli ultimi anni sono stati individuati dei neuroni nelle aree FEF che vengono definiti neuroni di tracciamento “putativo”. La loro individuazione è avvenuta grazie all'utilizzo di tecniche di registrazione neuronale, dalle quali emergono attività correlate al movimento oculare volontario, in particolare nelle situazioni in cui i soggetti (animali o umani) eseguono un compito che richiede di effettuare movimenti oculari diretti o un'attenzione visiva di tipo selettivo. Tecniche di registrazione elettrofisiologiche quali elettroencefalogramma (EEG), elettrocorticografia (EcoG) o l'elettrofisiologia su singola cellula, hanno permesso la registrazione delle attività elettriche dei neuroni in FEF durante l'esecuzione di compiti visuo-motori. In questo modo è stato possibile identificare in modo preciso i neuroni con attività correlata direttamente a quella dei movimenti oculari. Lo studio approfondito e mirato dei neuroni di tracciamento “putativo” permette di ampliare ed approfondire le conoscenze circa la funzione delle regioni cerebrali dei FEF e la loro connessione con aree coinvolte nell'attenzione visiva. In aggiunta, questi studi contribuiscono alla comprensione dei meccanismi neurali collegati all'orientamento dello sguardo, nonché selezione dei bersagli visivi ed esecuzione di movimenti oculari volontari. Per analizzare in modo approfondito studi

² Capacità di stabilizzare lo sguardo fissando un oggetto specifico, mantenendolo sulla fovea.

correlati ai neuroni presenti nelle regioni FEF, di seguito saranno presentati alcuni degli studi più rilevanti in questo ambito, che hanno condotto alle nostre ipotesi di ricerca.

Uno tra i primi studi che prende in esame i FEF, in particolare quelli di sinistra, nota come questi siano deputati al ricordo delle informazioni del dove e, dunque, della localizzazione spaziale dei target. Campana et al. (2007) hanno esaminato il ruolo delle aree cerebrali coinvolte nella memoria implicita a breve termine (priming percettivo) di caratteristiche di uno stimolo base, in particolare la posizione spaziale e la direzione del movimento. Grazie all'utilizzo della stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (rTMS), è stato indagato l'effetto della modulazione dell'attività neurale sul giro angolare destro e FEF. I risultati hanno mostrato che la stimolazione dell'area FEF sinistra ha ridotto selettivamente l'effetto di priming per la posizione spaziale, senza influenzare ed incidere sul priming per la direzione del movimento. Questi risultati suggeriscono che i neuroni dei FEF hanno un ruolo importante nella memoria implicita a breve termine per la posizione spaziale, confermando e ampliando le precedenti scoperte riguardanti l'importanza dell'area visiva V5/MT nella memoria implicita per caratteristiche come la direzione del movimento o il colore (Banissy et al., 2012). Inoltre, questi risultati supportano l'ipotesi secondo cui la memoria per le caratteristiche di uno stimolo base, come la posizione spaziale e la direzione del movimento, sia mantenuta all'interno di aree sensoriali specializzate, deputate alla risposta delle caratteristiche primarie dello stimolo. In particolare, suggeriscono un ruolo significativo dei FEF nella gestione di informazioni visuospatiali, indipendentemente dai movimenti oculari. In sintesi, lo studio fornisce evidenze sull'importanza dei FEF nella memorizzazione della posizione spaziale, contribuendo ad ampliare la comprensione della distribuzione delle funzioni visive all'interno del cervello.

Un ulteriore studio che risulta essere molto interessante per la comprensione del funzionamento dei FEF viene condotto da Mirpour et al. (2019). Nello studio gli autori hanno rilevato la presenza, all'interno della corteccia FEF, di particolari neuroni che sembrerebbero essere deputati al tagging inibitorio delle porzioni di spazio o item già visionati. In particolare, neuroni delle aree spaziali già prese in considerazione sembrerebbero ridurre al minimo la propria attivazione, permettendo un'analisi più dettagliata delle aree non ancora analizzate. In compiti di ricerca visiva, quali il compito proposto nell'esperimento (MILO task), questo meccanismo neuronale spiegherebbe i

tempi di reazione via via sempre minori, a mano a mano che porzioni di spazio vengono visitate. Per verificare la loro ipotesi di studio, sono stati registrati i dati neurali di 231 neuroni nelle aree FEF di due macachi rhesus maschi, durante l'esecuzione di un compito di "foraggiamento visivo" (*visual foraging*). Nel compito gli animali devono individuare i bersagli target ai quali è legata una ricompensa, all'interno di uno span di 5 bersagli uguali ed in presenza di 5 distrattori. Solo 33 dei 38 neuroni di tracciamento "putativo" hanno contribuito all'analisi. Si è scoperto, infatti, che i neuroni di tracciamento "putativo" tracciano chiaramente i distrattori che sono stati fissati prima e debolmente tutti i distrattori, riducendo la loro attivazione. Questi neuroni hanno mostrato una risposta elevata agli oggetti fissati in precedenza, risposta che è iniziata prima della fine della saccade, suggerendo una rimappatura delle informazioni attraverso movimenti oculari. Le persone, dunque, sembrerebbero creare una mappa dello spazio prima che il compito inizi. L'attività in questi neuroni sembrerebbe non essere soppressa durante la fissazione attiva e mantenuta, con risposte motorie minime e stabili durante lo studio. Nonostante ciò, questi neuroni risultavano essere indistinguibili dal resto della popolazione FEF, grazie all'ausilio di classificazioni tradizionali delle saccadi guidate dalla memoria. Questo studio precursore propone, dunque, che i neuroni di tracciamento putativo in FEF possano tenere traccia di tutti gli elementi che sono stati fissati durante i processi di ricerca visiva e che questo segnale possa essere propagato tramite la rimappatura. Questi neuroni potrebbero svolgere un ruolo molto importante, che consiste nell'invio di un segnale di tagging inibitorio alla corteccia parietale (Mirpour et al., 2019).

Taylor et al. (2007) hanno investigato l'effetto della stimolazione magnetica transcranica (TMS) sui FEF, durante un compito di orientamento visuo-spaziale. I soggetti, infatti, dovevano visualizzare stimoli periferici composti da 5 quadrati concentrici, che apparivano per breve tempo in uno dei due segnaposti quadrati, nel campo visivo sinistro o destro. Veniva chiesto di rispondere il più velocemente possibile a un sottoinsieme di stimoli visivi designati come stimoli di risposta. Indizi centrali a forma di freccia precedevano lo stimolo visivo periferico. I soggetti dovevano rispondere solo agli stimoli che apparivano nella posizione indicata dall'indizio. Sono stati utilizzati potenziali evocati degli ERP e compiti cognitivi per valutare gli effetti della stimolazione TMS della FEF sulla percezione e sull'attenzione nella corteccia visiva. I risultati hanno indicato che i FEF hanno un'influenza causale sulla modulazione dell'attività visiva nelle

aree posteriori, quando viene assegnata l'attenzione di tipo “endogeno”. Questi cambiamenti sono stati osservati in particolare modo nell'emisfero ipsilaterale alla stimolazione. Inoltre, l'attività indotta dalla stimolazione di FEF ha influenzato l'attività corticale visiva in corso previa stimolazione visiva diretta, suggerendo un impatto precoce e persistente sulla modulazione dell'attenzione visiva. In sintesi, lo studio fornisce prove convincenti dell'effetto causale della stimolazione della corteccia FEF sull'attività visiva e sull'attenzione, contribuendo alla nostra comprensione della funzione di questa area cerebrale e dei meccanismi coinvolti nell'orientamento attento (Taylor et al.,2007).

Da questa trattazione si evince che il ruolo delle corteccie FEF, ed in particolare i neuroni all'interno della corteccia, risultano essere fondamentali per la soppressione automatica delle porzioni di spazio già visitate, facilitando la nostra ricerca visiva del bersaglio, rendendola molto più veloce ed efficiente. Questa informazione risulta utile per il presente elaborato, in quanto il nostro obiettivo è di confermare questa funzionalità dei neuroni presenti in FEF, grazie all'ausilio del MILO task e della TMS.

1.2.3 Ruolo dei neuroni FEF nel tagging inibitorio e implicazione nell'esperimento.

Per chiarezza di contenuto, prima di passare alla descrizione dell'ipotetico ruolo dei FEF nei confronti del tagging inibitorio testato nel nostro studio, ruolo già ampiamente visionato in letteratura nel paragrafo precedente, ritengo opportuno riportare uno studio esemplificativo dell’*“inhibitory tagging”* nella ricerca visiva.

Il concetto di etichettatura inibitoria viene introdotto da Raymond Klein nel 1988 ed ha suscitato un vasto interesse nell'ambito della ricerca visiva. Klein ha riportato che durante la ricerca visiva seriale si manifesta l'inibizione del ritorno, in cui i tempi di reazione per individuare piccoli punti aumentano nelle posizioni precedentemente occupate da distrattori in un compito di ricerca visiva (Klein, 1988). Tuttavia, studi successivi non hanno confermato pienamente questa ipotesi. In particolare, nello studio condotto da Takeda e Yagi (2020) è emerso che l'etichettatura inibitoria sembra essere più robusta nelle condizioni in cui gli elementi della ricerca visiva sono mantenuti, anche al momento in cui vengono presentati i piccoli punti da rilevare (immediatamente dopo aver eseguito il compito di ricerca visiva). In questo caso, infatti, l'incremento dei tempi di reazione nella condizione in cui i piccoli punti comparivano nella stessa posizione occupata dai distrattori (che erano dei cerchi o delle C) era maggiore se la ricerca visiva

era di tipo inefficiente/seriale. Questo suggerisce come l'”*inhibitory tagging*” sia un effetto attentivo basato sugli oggetti (Takeda e Yagi, 2000). Klein ha suggerito che quando viene impedito il ritorno dell'attenzione agli elementi visitati in precedenza, la ricerca può migliorare in termini di efficienza, evitando riesami non utili dei distrattori rifiutati. Tuttavia, la ricerca sull'etichettatura inibitoria ha mostrato risultati contrastanti. Infatti, mentre alcuni studi hanno supportato l'idea di Klein, altri non hanno confermato tale effetto. In conclusione, sebbene l'etichettatura inibitoria possa giocare un ruolo cruciale nella ricerca visiva, la sua manifestazione e la sua efficacia dipendono da una serie di fattori, tra cui la natura del compito di ricerca e la presenza degli elementi di ricerca. Ulteriori ricerche sono necessarie per comprendere in modo esaustivo questo fenomeno e le sue implicazioni per la percezione visiva e l'attenzione.

Il tagging inibitorio, come appena descritto da Klein (1988), si riferisce alla tendenza dell'attenzione a inibire o a ritardare il ritorno verso una posizione già esaminata. I FEF, come abbiamo già visto, sono noti per il loro ruolo nel controllo dell'attenzione visiva e nei movimenti oculari. I meccanismi di controllo inibitori sono importanti in molteplici comportamenti per prevenire l'esecuzione di movimenti che, essendo stati pianificati, sono risultati non essere più necessari. Esempi di questo possono essere osservati in una serie di sport, come il cricket e il baseball, dove la scelta tra l'esecuzione o l'inibizione di uno swing della mazza deve essere fatta in un breve intervallo di tempo.

Ulteriori studi, più recenti, hanno suggerito che i neuroni nei FEF potrebbero essere coinvolti nel processo di tagging inibitorio. Ad esempio, Muggleton et al. (2010) hanno esaminato la correlazione tra l'attività neurale nei FEF e il tagging inibitorio utilizzando tecniche di neurostimolazione (TMS). Nella sperimentazione è stato utilizzato un compito di go-no go. La stimolazione magnetica transcranica (TMS) su FEF di destra non ha prodotto alcun effetto per quanto concerne la generazione della risposta (impulsività, indicizzata dai tempi di reazione RT al segnale go), ma ha ridotto il controllo inibitorio (indicizzato sia dalla percentuale delle risposte non inibite dal segnale no go, che dai tempi di reazione al segnale di no go).

I risultati di tali studi potrebbero suggerire che l'attività neurale nei FEF possa essere coinvolta non solo nell'inibizione delle risposte, ma anche nel processo di tagging inibitorio, influenzando il controllo dell'attenzione visiva e la capacità di inibire il ritorno dell'attenzione verso porzioni di spazio (o verso oggetti) già visitate. Tuttavia, è

importante notare che la comprensione esatta di come i neuroni in FEF contribuiscano al tagging inibitorio richiede ulteriori ricerche e studi. Al fine di approfondire la comprensione dei meccanismi attraverso cui i neuroni specifici, ipoteticamente identificati e localizzati nelle aree FEF, contribuiscono alla ricostruzione dettagliata di mappe visive riguardanti posizioni precedentemente osservate, con conseguente modulazione dell'attività neuronale, ci avvaliamo della descrizione e dell'analisi di un compito fondamentale per la nostra ricerca: il compito MILO.

1.3 Multi-item localization task (MILO)

Il “*Multi-Item Localization task*” (MILO task) è stato originariamente concepito da Thornton e Horowitz nel 2004, come strumento di indagine nel campo della ricerca visiva, per esplorare il contesto temporale e spaziale di tale processo (Horowitz e Thornton, 2004; Thornton e Horowitz, 2008). A differenza dei convenzionali compiti di ricerca visiva, che coinvolgono il rilevamento di un singolo target tra diversi elementi distrattori, il MILO task richiede ai partecipanti di individuare e selezionare tutti i target in una sequenza specifica, valutando in questo modo la pianificazione anticipata durante la ricerca e la capacità di inibire le risposte ai target precedentemente individuati. Nonostante alcune somiglianze con il “*Trail Making Test*” (TMT), il MILO task si distingue per la sua capacità di registrare il tempo di reazione in risposta ad ogni singolo target nella sequenza (RT) e per la possibilità di manipolare il display in tempo reale, il che conduce ad importanti scoperte e risultati sperimentali. Ad esempio, è emerso che i partecipanti pianificano anticipatamente almeno un elemento durante la ricerca sequenziale (Thornton e Horowitz, 2004). È stato osservato che il controllo inibitorio nel MILO task è sensibile al carico cognitivo complessivo: all'aumentare della complessità del compito, ad esempio richiedendo ai partecipanti di alternare due sequenze come nel TMT-B, si è verificata una perdita della capacità di sopprimere le risposte ai target precedenti, con conseguenti divergenze nelle funzioni RT tra le condizioni “*vanish*” e “*remain*” verso la fine della sequenza. Tali scoperte forniscono una solida base per l'utilizzo del MILO task come strumento di indagine per esaminare i meccanismi inibitori e la pianificazione anticipata durante la ricerca visiva, che in questo elaborato ipotizziamo essere collegati al funzionamento di specifici neuroni presenti nelle cortecce FEF.

1.3.1 Gli studi di Thornton e Horowitz

Segue ora una presentazione degli studi più illustri che hanno permesso l'ideazione del MILO task e la sua applicazione anche in ambiti clinici della neuropsicologia. Lo studio precursore (Thornton e Horowitz, 2004) formula la struttura del MILO task con la localizzazione e la selezione di sequenze alfabetiche di lettere target, ponendo come obiettivo la loro individuazione in ordine alfabetico attraverso interazioni grazie all'utilizzo del mouse. Le prestazioni vengono esaminate sia manipolando la scomparsa o la permanenza dei target (condizioni “*vanish*” e “*remain*”), sia prospetticamente, variando le posizioni future dei target e dei distrattori. I risultati dello studio indicano la capacità da parte degli osservatori di pianificare anticipatamente le loro azioni e di ignorare i target precedentemente selezionati, influenzando il processo di localizzazione e selezione. I parametri dell'attività, come tipo di sequenza, lunghezza, complessità e presenza di distrattori, possono essere facilmente e sistematicamente manipolati per esplorare le implicazioni del compito nella ricerca visiva. I risultati mostrano che entrambe le condizioni influenzano il tempo di reazione seriale (SRT), indicando che i target, dopo esser stati selezionati, sembrano essere ignorati, anche se rimangono visibili nello schermo (“*remain*”). Infatti, le curve degli SRT delle due condizioni sembrano sovrapporsi con molta precisione. Una probabile motivazione potrebbe risiedere nel fatto che gli osservatori sembrano sviluppare una mappa interna delle posizioni degli obiettivi, escludendo le posizioni precedentemente visitate dalla futura ricerca. L'effetto dell'inibizione del ritorno potrebbe giocare un ruolo importante in questo processo, le posizioni visitate in precedenza potrebbero essere etichettate come “già visitate” e, dunque, ignorate durante la ricerca successiva. La componente prospettica del MILO task mostra che gli osservatori pianificano anticipatamente le loro azioni. La valutazione di questa componente si è ottenuta mescolando le posizioni future del bersaglio e del distrattore, dopo ogni risposta. Questo ha portato all'intuizione che gli osservatori generalmente pianificano in anticipo almeno un obiettivo da visitare in futuro. Tuttavia, il vantaggio della pianificazione diminuisce man mano che le informazioni sugli obiettivi futuri sono disponibili più avanti nel tempo. Concludendo possiamo dire che il MILO task proposto in questo primo studio fornisce un mezzo efficace per esplorare i contesti temporali e spaziali della ricerca visiva e dell'azione, evidenziando l'importanza delle azioni passate e future sulle prestazioni attuali.

Nel primo decennio degli anni 2000, dopo la pubblicazione del MILO task nel 2004, sono stati applicati perfezionamenti al compito e al suo sistema computerizzato. Nel 2008, Thornton e Horowitz hanno migliorato l'app del MILO task, aumentando la precisione dei tempi di reazione, rendendo l'interfaccia utente più intuitiva, e introducendo strumenti avanzati per l'analisi dei dati, migliorando l'affidabilità e la personalizzazione dell'apparecchiatura. Questi perfezionamenti hanno potenziato la qualità e l'affidabilità delle ricerche scientifiche effettuate con questo strumento (Thornton and Horowitz, 2008).

Gli autori Thornton e Horowitz hanno condotto un ulteriore studio nel 2020, utilizzando l'attività MILO per esaminare come l'aggiunta di compiti intercalati influenzi la ricerca visiva attraverso due sequenze, simili alle varianti A e B del Trail Making Test (TMT). Il *Trail Making Test* (TMT) è una valutazione neuropsicologica standard che comprende due parti distinte: TMT-A e TMT-B. Nel TMT-A, i partecipanti devono collegare una serie di numeri in ordine crescente, valutando l'attenzione visiva e la coordinazione visuo-motoria. Nel TMT-B, devono alternare tra numeri e lettere, valutando abilità di *set-switching* e controllo inibitorio. Il TMT-B richiede più tempo per essere completato rispetto al TMT-A e mette maggiormente alla prova le funzioni esecutive. Entrambe le parti del test sono utilizzate per valutare le funzioni cognitive, soprattutto quelle legate alle abilità esecutive e all'attenzione. Nei blocchi misti del MILO task, in cui i partecipanti alternavano tra lettere e numeri, è emerso un modello a “zig-zag” nei tempi di reazione, suggerendo che la ricerca si focalizzava su coppie successive di bersagli. I modelli di tempo di reazione (SRT) per le condizioni “*vanish*” e “*remain*” erano molto simili nei blocchi sequenziali, ciò sta a significare che i partecipanti riuscivano ad ignorare gli obiettivi passati. Si è riscontrata una differenza significativa nei SRT tra le due condizioni nei blocchi misti, indicando una disfunzione del tagging inibitorio. Questo suggerisce che l'aumento del carico cognitivo nel MILO task misto, simile a quello richiesto nel TMT-B, interferisca con la capacità di ignorare le posizioni passate durante la ricerca visiva. Inoltre, suggeriscono che l'aggiunta di manipolazioni simili TMT al MILO task potrebbe fornire una potenza diagnostica per identificare individui con specifici deficit neuropsicologici del controllo inibitorio (Thornton e Horowitz, 2020).

Proprio a questo riguardo, descrivo brevemente come il MILO task nel 2021 è stato applicato all'ambito clinico, in particolare nel riconoscimento della disfunzione dovuta alla compromissione cognitiva vascolare. Richards et al. (2021), hanno utilizzato il MILO task per valutare la performance di pazienti con compromissione cognitiva vascolare (*Vascular Cognitive Impairment* - VCI) da lieve a moderata. L'obiettivo principale consisteva nel confrontare le performance nelle condizioni "vanish" e "remain". Si ipotizzava che i partecipanti con VCI avrebbero presentato delle difficoltà a ignorare le località già visitate nella condizione "remain", a causa di deficit nelle funzioni cognitive e attentivo-inibitorie, associate alla malattia, ottenendo tempi di reazione molto elevati. I partecipanti con VCI sono stati confrontati con un gruppo di adulti sani e un gruppo di giovani adulti. I risultati hanno mostrato differenze significative tra i gruppi, suggerendo che il MILO task può essere utile nel rilevare cambiamenti cognitivi e comportamentali associati alla VCI. I risultati hanno evidenziato un rallentamento generale delle performance nei partecipanti con VCI, in aggiunta ad una maggiore incidenza di errori, soprattutto nella condizione "remain", e soprattutto negli ultimi item della sequenza. Gli autori hanno suggerito che questi rallentamenti nelle performance dei partecipanti con VCI potrebbero essere attribuiti a deficit nel controllo inibitorio (in particolare nel tagging inibitorio), piuttosto che a problemi di memoria. Tale scoperta potrebbe avere importanti implicazioni nella comprensione e nella gestione della malattia, oltre che nelle conseguenze sulla vita quotidiana (Richards et al., 2021).

In conclusione, gli studi hanno dimostrato che il MILO task può essere uno strumento utile anche per la valutazione delle performance cognitive nei pazienti e nelle persone sane, inoltre potrebbe contribuire alla comprensione dei meccanismi sottostanti al tagging inibitorio, nonché le sue implicazioni nel contesto della vita quotidiana.

1.3.2 Descrizione del compito e utilizzo nel presente studio

A partire dal nostro interesse nello studio dell'implicazione dei neuroni presenti nelle corteccie FEF nei compiti di ricerca visiva e nell'attenzione visuo-spaziale, e data la validità del MILO task nell'analizzare il meccanismo di tagging inibitorio, è sembrata opportuna la sua implicazione sperimentale nel presente studio. Le sequenze di prova variano in lunghezza e consistono in lettere o cifre, con possibilità di configurazione del display differenti, per includere diversi elementi e tipi di sequenze. Il compito rimane fisso e costante: selezionare ogni elemento consecutivo nel modo più rapido possibile, in

ordine crescente nel caso dei numeri, in ordine alfabetico nel caso delle lettere. Risulta molto importante il tempo di completamento, combinato all'accuratezza di selezione dei target. La selezione avviene tramite tocco diretto su uno degli elementi con un dito (iPad) o con il mouse (computer), senza limiti di tempo prestabiliti. Se un elemento viene selezionato in ordine errato nella sequenza, si commette un errore, con conseguente visualizzazione di una schermata di errore e ritardo prima della prova successiva. Al termine della sessione completa, la prova sarà sostituita automaticamente.

L'impiego del paradigma MILO sostiene l'ipotesi circa l'eventuale disattivazione dei neuroni FEF, dopo l'analisi di specifiche porzioni dello spazio. Eventuali discrepanze nei tempi di reazione tra le condizioni “*vanish*” e “*remain*” potrebbero derivare dall'effetto distrattore delle palline presenti nella scena visiva durante il compito nella condizione “*remain*”: nella condizione “*vanish*” il numero dei distrattori diminuisce di una unità ad ogni target selezionato, mentre nella condizione “*remain*” resta costante. Nonostante ciò, esperimenti condotti da Thornton e Horowitz, come analizzato precedentemente, dimostrano una sovrapposizione delle curve RT tra le due condizioni, caratterizzata da un'iniziale fase di risposta lenta (T1 elevati) seguita da una convergenza verso tempi di reazione sempre più brevi. Tale fenomeno sembra essere correlato ad un meccanismo di marcatura inibitoria da parte dei neuroni FEF, i quali sembrano inibire aree specifiche dello spazio (o oggetti specifici nello spazio), nella condizione “*remain*”. L'applicazione della stimolazione magnetica transcranica (TMS) a una frequenza di 1 Hz mira all'inibizione dei neuroni FEF. Questo intervento dovrebbe impedire ai neuroni in FEF di inibire le porzioni di spazio già esplorate, facilitando la ricerca visiva. Di conseguenza, nei partecipanti soggetti a TMS sui FEF, ci si aspetta una prolungata latenza di risposta nella condizione “*remain*”, poiché dovrebbe esserci la necessità di esaminare attentamente tutte le porzioni dello spazio, senza il supporto inibitorio tipico dei neuroni FEF. Si prevede che le curve dei tempi di reazione tra le due condizioni divergano, con la curva relativa alla condizione “*remain*” superiore a quella relativa alla condizione “*vanish*”. Il capitolo successivo di questo elaborato si concentrerà sulla descrizione dettagliata della metodologia sperimentale utilizzata.

2.METODOLOGIA

2.1 Etica, consenso informato, modulistica

Nella ricerca neuropsicologica, “*L’etica svolge un ruolo cruciale nel garantire il rispetto dei principi fondamentali di beneficenza, non-maleficenza, autonomia e giustizia nei confronti dei partecipanti*”. Per fare ciò, è necessario conformarsi in modo rigoroso ai protocolli etici e alle linee guida accettate a livello internazionale. Nel consenso informato sono fornite le indicazioni dettagliate sullo studio, gli obiettivi, le caratteristiche per l’idoneità alla partecipazione ed alla stimolazione TMS e, dunque, i potenziali rischi e benefici attesi. Inoltre, viene richiesto il consenso volontario da parte del partecipante in assenza di una coercizione esterna. Di rilevante importanza è la protezione della “*privacy*” e la assoluta confidenzialità delle informazioni e dati ottenuti. I dati vengono anonimizzati e utilizzati per statistiche di insieme, da cui non è possibile risalire alle prestazioni del singolo partecipante.

Il monitoraggio etico deve essere costante durante lo svolgimento dello studio, ciò permette di individuare possibili problemi e risolverli tempestivamente. Risulta fondamentale il rispetto dei diritti e del benessere dei partecipanti. Nella prima sessione della nostra sperimentazione, i partecipanti hanno firmato un consenso informato in linea con le regole etiche in ambito sperimentale internazionali, approvato dal comitato etico della ricerca psicologica dell’Università di Padova (area 17). In aggiunta al consenso informato, è stato proposto un questionario, in modo da valutare la conformità dei soggetti ad essere sottoposti a stimolazione magnetica transcranica, escludendo dallo studio coloro che, sulla base di specifiche caratteristiche, potrebbero avere una aumentata probabilità di incorrere in effetti indesiderati.

2.2 Partecipanti

Hanno partecipato allo studio 12 studenti, di cui 7 femmine e 5 maschi, di età compresa tra i 19 ed i 25 anni, prevalentemente frequentanti corsi di psicologia all’Università di Padova. I partecipanti hanno ricevuto, per le 3 sessioni dello studio, un compenso di 25 euro. La misura del campione è stata determinata prima della raccolta dei dati, sulla base di studi precedenti (Thornton e Horowitz, 2020), che indicavano come dimensione minima del campione, necessaria per rilevare cambiamenti significativi nel modello dei tempi di reazione (*Serial Reaction Times* - SRT), di circa 9 partecipanti. Ai

partecipanti è stato assegnato casualmente l'ordine delle aree cerebrali da stimolare (rFEF, IFEF e Cz) con TMS nelle 3 sessioni, attraverso una procedura di randomizzazione a blocchi. Tutti i partecipanti hanno riportato di possedere una visione normale o corretta a normale. Erano naïf per quanto concerne lo scopo della ricerca, fino al termine delle sessioni sperimentali.

2.3 Strumentazione utilizzata

Per verificare le ipotesi dello studio sono state utilizzate diverse strumentazioni. Il compito MILO è stato presentato attraverso l'uso di un computer, con schermo di dimensioni pari a 53x32 cm. Inoltre, sono stati utilizzati macchinari per la stimolazione magnetica transcranica (TMS) e per la neuronavigazione. Il programma per questa procedura è stato installato su un computer Mac (Apple). Per permettere una posizione fissa e comoda durante la stimolazione TMS, abbiamo utilizzato un poggia-mento fisso sul tavolo davanti al computer. Inoltre, per mantenere il “coil” della TMS in modo stabile e preciso durante la stimolazione, è stato utilizzato un braccio meccanico.

2.3.1 Stimolazione magnetica transcranica (TMS)

Nel seguente studio è stata utilizzata la stimolazione magnetica transcranica (*Transcranial Magnetic Stimulation* - TMS), una tecnica non invasiva che permette di modulare il funzionamento di specifiche regioni cerebrali e di osservare gli effetti comportamentali e percettivi. La TMS sfrutta la legge dell'elettromagnetismo di Faraday-Neumann-Lenz (1831). Il meccanismo della TMS consiste, infatti, nell'invio di un breve impulso elettrico (200-300 μ s) ad una bobina elettrificata posta sullo scalpo del soggetto. Questo genera un breve impulso magnetico perpendicolare all'orientamento dell'impulso elettrico. Di conseguenza, il campo magnetico induce una corrente elettrica temporanea sulla superficie corticale sottostante, causando in questo modo una depolarizzazione neurale, principalmente nei neuroni situati nelle vicinanze della bobina (“coil”), con effetti che possono essere di natura eccitatoria o inibitoria, a seconda dell'intensità e della frequenza della stimolazione. La TMS presenta numerosi vantaggi, come la possibilità di investigare le relazioni causali tra regioni cerebrali connesse, senza provocare lesioni o riorganizzazione plastica del cervello. Inoltre, è utile per studiare dissociazioni utilizzando siti corticali diversi, o lo stesso sito con compiti differenti. Tuttavia, vi sono anche delle limitazioni all'utilizzo della TMS, come l'incerta precisione nella

localizzazione delle aree corticali stimulate e la variabilità individuale della densità della corrente, in base all'impedenza e alla geometria dei tessuti cerebrali.

Esistono diversi tipi di TMS tra cui: ad impulso singolo (*single pulse*), impulsi doppi o accoppiati per esplorare la connettività funzionale, la TMS ripetitiva (rTMS), che può essere applicata online durante la presentazione dello stimolo o offline prima dell'attività, e theta burst (Parkin et al.,2015). I suoi effetti variano in base alla frequenza: inibitoria se inferiore a 1 Hz, eccitatoria se superiore a 1 Hz. Gli effetti della stimolazione permangono per circa la metà del tempo totale di stimolazione (25 minuti di stimolazione, effetto per 12-13 minuti). L'efficacia della stimolazione TMS dipende dalla focalizzazione del “*coil*”, spesso a forma di otto (*figure-of-eight*) per una maggiore precisione, e dall'intensità della corrente impostata su una soglia individuale per ogni soggetto, basata su una risposta motoria misurabile. Per affrontare le criticità, come l'accuratezza della stimolazione, la TMS viene spesso integrata con tecniche di neuronavigazione e neuroimaging (fMRI). Tuttavia, la TMS può causare effetti collaterali rari come crisi epilettiche, problemi di udito e mal di testa, tutti descritti nel consenso informato.

Nel presente studio è stato utilizzato il macchinario "Magstim rapid 2-pulses TMS" con un “*coil*” raffreddato ad aria, per evitare il suo surriscaldamento. Per ridurre gli effetti interferenti del rumore di questo macchinario, sono state usate cuffie e tappi auricolari. Per valutare l'effetto reale della stimolazione è stata usata una condizione di controllo, stimolando un sito corticale neutro (Cz).

In conclusione, la TMS consiste in una potente metodologia per studiare la causalità nelle relazioni tra cervello e comportamento, nonché le funzionalità delle diverse aree cerebrali, sebbene presenti limitazioni che richiedono accorgimenti specifici per garantire la precisione e l'affidabilità dei risultati.



Figura 2. Foto esplicativa del funzionamento TMS.

2.3.2 Neuronavigazione

Non potendo osservare direttamente il cervello dei partecipanti, risulta difficoltoso comprendere con precisione la localizzazione delle aree cerebrali stimulate con la tecnica della TMS. La localizzazione di queste aree può essere eseguita con diversi metodi che variano per grado di accuratezza e costi. I metodi di localizzazione sono: l'uso di punti di riferimento anatomici esterni (usato nella fase iniziale del nostro studio per localizzare l'area motoria della mano), metodi funzionali e neuronavigazione. Nel presente studio utilizziamo l'ultima.

La neuronavigazione è in grado di ricostruire immagini tridimensionali neuro-anatomiche del cervello, e risulta essere cruciale nell'esperimento per la localizzazione precisa dei rFEF e dei lFEF. Ci sono diverse tipologie di neuronavigazione tra cui: neuronavigazione con immagini proprietarie e attivazioni fMRI, la neuronavigazione con immagini proprietarie MRI e la neuronavigazione basata su un sistema di coordinate. In questa modalità si trovano manualmente le aree di interesse basandosi sulla struttura morfologica del cervello, con l'utilizzo di un atlante. Si normalizza la scansione cerebrale del paziente e si adatta ad un cervello modello, avendo risonanza magnetica funzionale o anatomica del soggetto. Essendo queste tecniche di neuronavigazione molto dispendiose in termini di risorse e di tempo, la tecnica utilizzata in questo studio, in accordo con la strumentazione presente nel laboratorio TMS, è quella di neuronavigazione senza immagini proprietarie. Questa tecnica richiede un supporto hardware e software. Nel nostro laboratorio è presente il sistema "Polaris", che consiste in telecamere ad infrarossi per il tracciamento ottico, supportate dal software "Brainsight TMS". Le telecamere emettono impulsi di luce infrarossa, che vengono riflessi da marcatori ottici. Questi marcatori sono costituiti da 3 palline riflettenti, lungo le 3 dimensioni dello spazio. Un sistema di coordinazione viene posto sul capo del partecipante (*subject tracker*), uno su un marker per la localizzazione puntuale delle aree (*pointer tool*) e uno sulla bobina della TMS (*coil tracker*), come riportato nella Figura 3B. Una volta rilevati i segnali riflessi dai marcatori, le telecamere trasmettono i dati al software di navigazione presente nel computer. Il software utilizzato nel presente studio è il "Brainsight TMS" (versione 2.3.8), che venne introdotto sul mercato negli anni 2000. Questo utilizza un template dell'"International Consortium for Brain Mapping" del Montreal Neurological Institute (ICBM152), realizzato con la media delle scansioni dei cervelli di 152 soggetti sani

(MNI). A partire da questo database si misurano le coordinate di riferimento del cervello del partecipante creando una descrizione accurata del suo scalpo. Questo sistema fornisce un feedback visivo in tempo reale, risultando fondamentale durante la stimolazione TMS. Infatti, quando la traiettoria di stimolazione devia, il sistema di neuronavigazione rileva immediatamente la deviazione, permettendo correzioni tempestive.

In sintesi, attraverso la triangolazione tra le posizioni dei “trackers”, i punti di riferimento bene definiti sullo scalpo e il sistema di telecamere ad infrarossi, la forma del cranio del partecipante viene adattata in modo automatizzato al template MNI, consentendo di localizzare in modo accurato le aree corticali di interesse (FEF).



Figura 3. A. Sistema di telecamere ad infrarossi durante TMS. B. Sistema dei marcatori.

2.4 Stimoli

Nel presente studio è stato utilizzato il MILO task per confermare l'ipotesi circa la causalità delle cortece FEF nel processo di tagging inibitorio, durante un compito attentivo di ricerca visiva. Gli stimoli, descritti nel capitolo 1.3.2, vengono presentati su uno sfondo uniforme di colore grigio chiaro. L'area di visualizzazione centrale è delineata da un sottile rettangolo di linea nera. Non è presente una croce di fissazione al centro dello schermo. Gli elementi target sono delle palline da biliardo di color rosso, con al centro un cerchio bianco, all'interno del quale sono riportati dei numeri, da 1 a 8, per un totale di 8 palline (Figura 4). Ogni pallina ha il diametro di 85 pixel, con un angolo visivo sotteso di $1,8^\circ$. Inoltre, le palline presentano una leggera ombreggiatura per fornire un effetto tridimensionale. La sequenza dei bersagli numerati viene distribuita nello schermo in modo casuale ad ogni prova. L'unico vincolo sulla posizione consiste nella distanza di almeno 0,5 DVA tra gli elementi. Il compito consiste nel premere con il mouse le 8 palline in ordine crescente, nel minor tempo e con maggior precisione possibile. All'inizio del trial le palline compaiono sullo schermo tutte 8, ciò che cambia è che nella condizione "vanish" gli stimoli scompaiono dallo schermo dopo essere stati cliccati, mentre nella condizione "remain" rimangono presenti sullo schermo anche dopo esser stati cliccati.

All'inizio del compito compare una schermata grigia su cui si seleziona la dicitura "collect data". La pagina si adatta all'intero schermo. Dunque, compare una pagina con le indicazioni circa i 4 training iniziali (in seguito dei 32 trial), nella quale quando il partecipante è pronto, clicca un tasto centrale con la scritta "continue", con l'indicazione di rispondere quanto più veloce. Nel caso in cui il partecipante sbagliasse, un feedback riporta l'errore e sostituisce la prova ("Ooopsh!! That was incorrect!"). Il feedback non ha una durata fissa, ma può essere modulato dal partecipante. In caso di risposta corretta, alla fine di ogni prova compare una scritta che riporta il tempo di completamento (per esempio: "Great job!! That took 7 seconds."). Per procedere nel compito, il partecipante seleziona il tasto "continue" al centro della schermata. Non sono presenti schermate nere. Gli stimoli rimangono visibili fino al momento in cui vengono selezionati tutti con un click del mouse, su ciascuna sequenza. Il tempo di risposta può variare a seconda della velocità del partecipante (con una media di 6-7 secondi). Generalmente, per completare entrambi le sessioni da 32 trial, i partecipanti impiegano dai 10 ai 15 minuti.

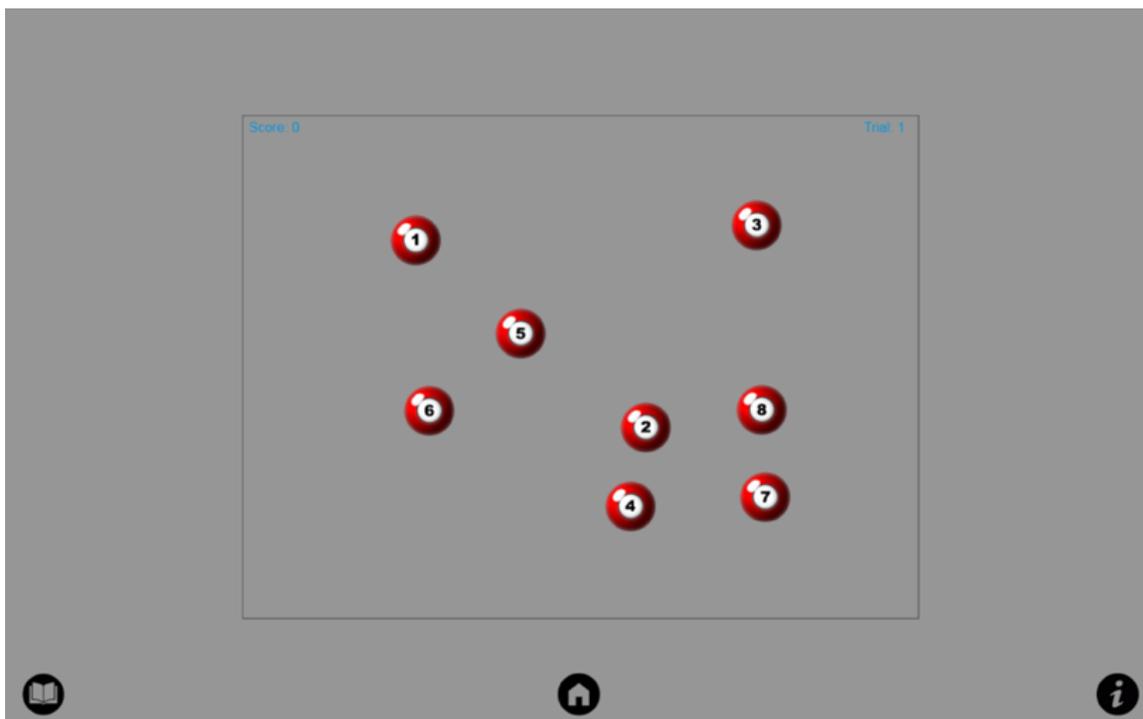


Figura 4. Stimoli visivi e immagine esplicativa della schermata del compito MILO.

2.5 Procedura sperimentale

L'esperimento è stato eseguito nel laboratorio TMS (E03), presente presso il Dipartimento di Psicologia Generale dell'Università di Padova, in condizioni di scarsa illuminazione, in assenza di luci che provochino un'interferenza e un abbagliamento dello schermo. Il partecipante, al suo arrivo, firmava il consenso informato ed il questionario sulla sicurezza per la stimolazione TMS. In seguito, veniva fatto accomodare su una sedia disposta davanti ad un computer e il mento veniva fatto appoggiare sopra una mentoniera, alla distanza di circa 68,5 cm dallo schermo. Veniva spiegato il MILO task, che doveva essere eseguito prima della stimolazione TMS. Ai partecipanti venivano proposte 4 sessioni iniziali (*training*) di familiarizzazione con il compito di ricerca e con il metodo di risposta del computer e del mouse. Una volta terminata la sessione di training, aveva inizio la sessione sperimentale costituita da 2 blocchi di 32 trial ciascuno, ognuno contenente 16 prove "*vanish*" e 16 "*remain*", presentate con ordine casuale. Quando un partecipante commetteva un errore, la prova veniva sostituita ed aggiunta al termine del blocco, in modo tale che un blocco terminasse solo quando il soggetto aveva completato con successo 32 prove. Una volta terminato il MILO task, il partecipante veniva posto al centro del laboratorio, gli veniva fatta indossare una cuffia per la rilevazione delle

coordinate craniche. Si identificava l'Inion, il Nasion e, a metà tra questi due, l'area Cz. In seguito, spostandosi di 3 cm lateralmente nell'emisfero controlaterale alla mano dominante, localizzavamo l'area motoria della mano, formulando una griglia con gli adesivi 3x3. A questo punto si procedeva con la stimolazione TMS a singolo impulso, per rilevare la soglia motoria del partecipante. Inizialmente si poneva la TMS al 65%, per trovare il sito di stimolazione del primo muscolo interosseo dorsale (o un altro muscolo della mano, nel caso non si riuscisse a localizzare il primo), che causava una contrazione visibile. Una volta localizzata l'area procedevamo con la stimolazione TMS utilizzando un metodo dei limiti modificato; ovvero: abbassando gradualmente l'intensità di stimolazione sino a quando non osservavamo più un movimento della mano, e poi aumentando di nuovo l'intensità sino a quando non elicitavamo nuovamente un movimento visibile. La procedura procedeva sino a quando non si trovava la soglia, ovvero quel valore di intensità della TMS per cui nel 50% dei casi la mano si muoveva. Il 90% di questo valore di soglia è stato utilizzato per la stimolazione TMS delle aree FEF (o Cz, nella condizione di controllo). Dunque, si procedeva con la registrazione nel template MNI sul cranio del partecipante, controllando l'accuratezza. Si localizzava, attraverso la neuronavigazione, il sito di stimolazione e si collocava un adesivo. Si faceva accomodare il partecipante sulla mentoniera fissata sulla scrivania, in modo tale che il partecipante assumesse una posizione comoda per i 25 minuti di stimolazione. Fissavamo il "coil tracker" su un'apposito braccio meccanico, utilizzando il sistema di localizzazione delle 3 palline riflettenti dei raggi ad infrarossi; quindi, localizzavamo in modo preciso l'area FEF deputata a quella sessione. Infatti, nelle 3 sessioni, in modo randomizzato, abbiamo stimolato FEF di destra (right FEF o rFEF), FEF di sinistra (left FEF o lFEF) e il vertice del cranio (Cz) come sito di controllo. Una volta localizzata in modo preciso l'area di stimolazione, fissato il "coil" in modo sicuro al braccio meccanico e dopo averlo posizionato perpendicolarmente allo scalpo, si procedeva con la stimolazione TMS. Venivano fatte indossare delle cuffie o dei tappi auricolari al partecipante, per attutire il rumore del sistema di raffreddamento del "coil". A questo punto si settava la TMS a "single pulse" con intensità pari al 90% del valore soglia precedentemente trovato. Si avviava la stimolazione TMS ad 1 Hz, per un totale di 1500 impulsi, della durata di circa 25 minuti. Terminata la sessione di stimolazione, il partecipante veniva sottoposto alla

seconda sessione del MILO task, uguale alla prima sessione. Questa procedura è stata ripetuta in modo uguale nelle 3 sessioni.

Ci aspettiamo che, in seguito a stimolazione inibitoria dei FEF, e dunque inibizione dell'ipotetico ruolo di tagging inibitorio dei neuroni presenti in FEF, i tempi di completamento di ogni trial nella seconda sessione del MILO task siano significativamente maggiori, soprattutto negli ultimi item selezionati della condizione “*remain*”. Per calcolare questo effetto procederemo a calcolare i valori di pendenza (*slope*) delle curve dei SRT in funzione del numero di item nella sequenza.

3.RISULTATI

Le analisi dei dati ed i grafici sono stati condotti tramite l'utilizzo dei programmi Excel e Jasp. Sono state utilizzate delle analisi della varianza (*Analysis of Variance* - ANOVA) a misure ripetute. Obiettivo principale di questa tipologia di analisi statistica consiste nel valutare gli effetti di una o più variabili indipendenti o predittori su una variabile dipendente di interesse, che in questo caso erano i SRT. Successivamente sono state analizzate anche le *slopes* delle regressioni lineari, che descrivono l'andamento dei SRT in funzione del numero di item. Tali *slopes*, se negative, possono infatti indicare la presenza di un trend di decremento dei SRT all'aumentare del numero di item, grazie alla riduzione progressiva del numero di elementi nella condizione “*vanish*”, oppure per la presenza di un meccanismo di tagging inibitorio nella condizione “*remain*”.

3.1 Analisi statistica dei dati con grafici

I predittori presi in considerazione nell'ANOVA sono 3: il numero di item, le condizioni “*vanish*” e “*remain*” e le condizioni pre e post stimolazione TMS, per ciascuna delle tre aree cerebrali stimulate (Cz, IFEF, rFEF). Risultano, dunque, 3 analisi che si focalizzano sui SRT, ovvero il tempo impiegato dai partecipanti a rispondere a ciascun item successivo (per esempio RT2-RT1). Il numero di item appare essere significativo per tutte le aree cerebrali stimulate ($p < 0,001$). Questo conferma l'ipotesi che i tempi diminuiscano progressivamente nel progredire della sequenza numerica, quindi all'aumentare del numero di item. Inoltre, nelle ANOVA, circa in tutte le aree stimulate non risulta significativa l'interazione tra le condizioni “*vanish*” vs “*remain*” e il numero di item, confermando la presenza del meccanismo di “*inhibitory tagging*” ($p \gg 0,05$).

Il fatto che i SRT non aumentino in modo sostanziale, nemmeno nella condizione in cui gli item rimangono nello schermo (“*remain*”), conferma la presenza di un meccanismo deputato ad inibire le porzioni di spazio (o gli item) già analizzate. Questo conferma e supporta la letteratura vista nel capitolo 1 circa il MILO task e la sua capacità di individuare la presenza dell’ “*inhibitory tagging*”.

Per quanto concerne l'area Cz, oltre alle significatività sopra notate, che valgono per tutte le aree, si riscontra una significatività del fattore tempo, quindi per l'interazione delle condizioni pre- e post- stimolazione ($F_{2,9}=5,489$; $p=0,039$; $\eta^2=0,006$). Questo sembrerebbe non essere dovuto dalla stimolazione TMS, dato che il sito neutro Cz è tipicamente di controllo, ma dal miglioramento della prestazione dei partecipanti con la

pratica ripetuta durante le sessioni (Figura 5). Inoltre, vi è un effetto di significatività anche per le condizioni “*vanish*” e “*remain*” ($F_{2,9}=10,732$; $p=0,007$; $\eta^2=0,012$): la condizione in cui gli item svaniscono sembra essere generalmente più veloce, avendo SRT minori (Figura 5). Intuitivamente, nella condizione in cui gli item rimangono sullo schermo, seppur la presenza dell’ “*inhibitory tagging*” faciliti la ricerca, si crea un lieve rallentamento nelle risposte, dovuto alla maggior interferenza degli item. Nella condizione “*vanish*” scompaiono e ciò velocizza ulteriormente la ricerca. Questi dati servono da controllo per le stimolazioni su lFEF e rFEF.

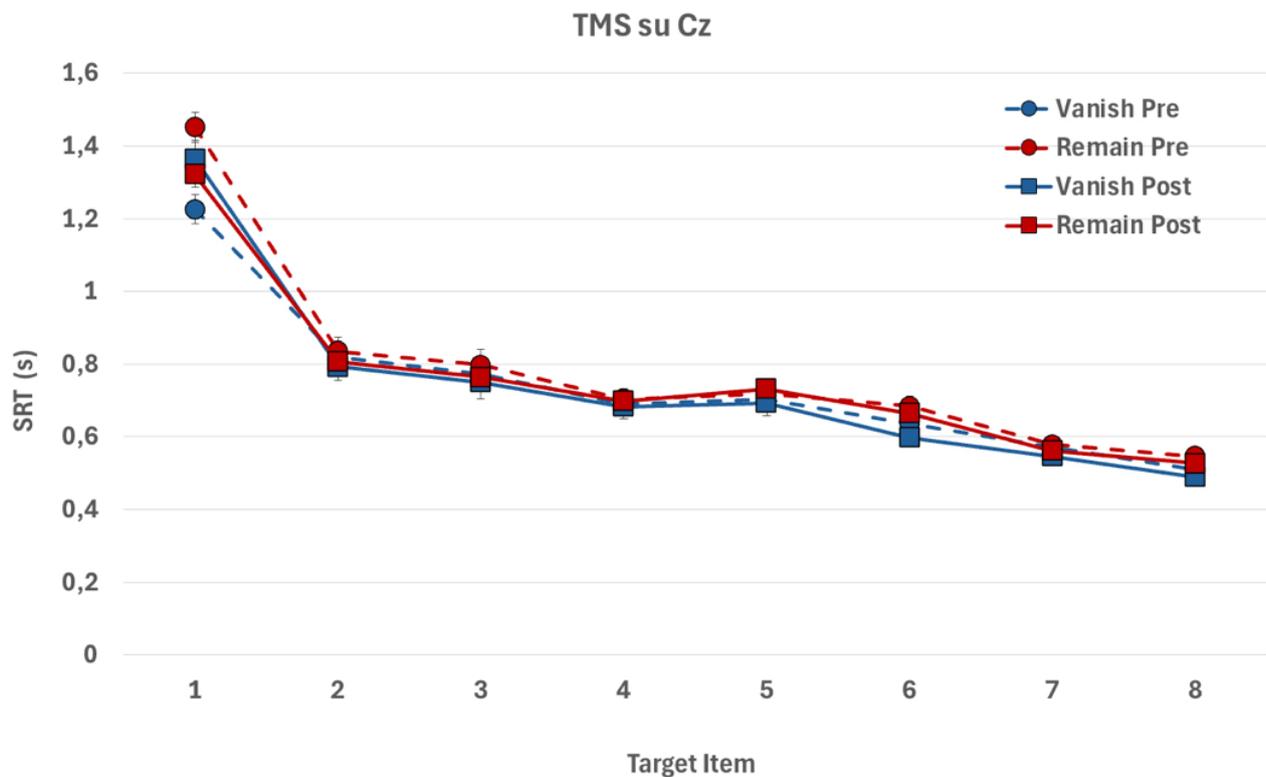


Figura 5. Modelli delle medie SRT in Cz, in funzione di item successivi nella sequenza (1-8), nelle condizioni: *vanish* pre-stimolazione, *vanish* post-stimolazione, *remain* pre-stimolazione, *remain* post-stimolazione.

Nell'analisi ANOVA condotta su IFEF risultano essere significativi, oltre al numero di item, solamente la condizione “*vanish*” vs “*remain*” ($F_{2,9}=28,401$; $p<0,001$; $\eta^2=0,025$), in cui si conferma che la condizione in cui gli item svaniscono ha SRT mediamente più veloci. Ciò non cambia il fatto che, anche nella condizione in cui gli item rimangono, il trend di facilitazione permane. Non risulta significativa la condizione temporale pre- e post- stimolazione TMS ($F_{2,9}=0,013$; $p=0,911$). Le due linee, infatti, pre- e post- stimolazione, sono quasi sovrapposte (Figura 6). Infine, non risulta significativa la condizione temporale pre- e post- stimolazione TMS rispetto alle due condizioni “*vanish*” e “*remain*” ($F_{2,9}=0,462$; $p=0,511$), ipotesi dello studio, suggerendo l'inefficacia della stimolazione IFEF nell'inibire l'“*inhibitory tagging*”. Ipoteticamente, nella condizione “*remain*”, in seguito ad inibizione dei IFEF, i tempi SRT di risposta sarebbero dovuti aumentare significativamente.

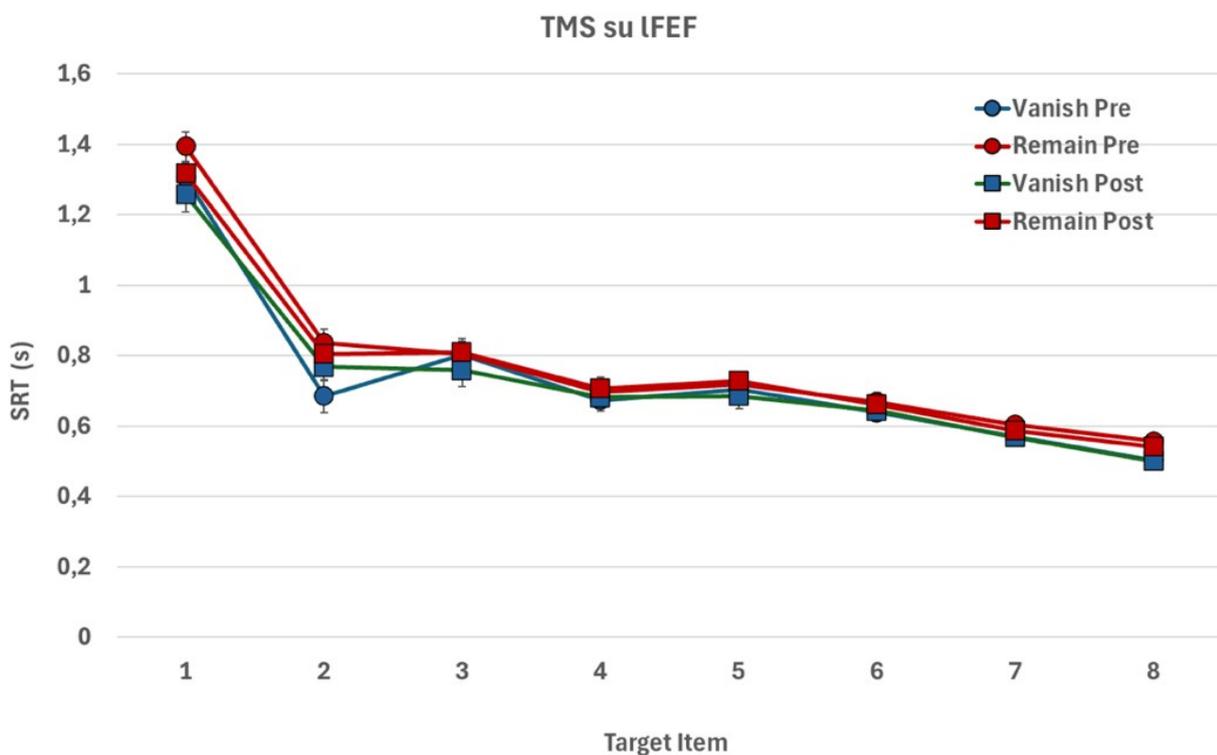


Figura 6. Modelli delle medie SRT in IFEF, in funzione di item successivi nella sequenza (1-8), nelle condizioni: *vanish* pre-stimolazione, *vanish* post-stimolazione, *remain* pre-stimolazione, *remain* post-stimolazione.

Infine, per quanto riguarda i rFEF, si nota una tendenza verso la significatività per il “*vanish*” e “*remain*” ($F_{2,9}=4,487$; $p=0,058$; $\eta^2=0,003$). Questo potrebbe indicare una lieve differenza tra le condizioni, per cui SRT della condizione in cui gli item svaniscono siano minori (Figura 7). Il fattore tempo (pre-post) della stimolazione TMS ($F_{2,9}=0,951$; $p=0,350$) e la sua interazione con le due condizioni “*vanish*” e “*remain*” ($F_{2,9}=0,756$; $p=0,403$), risultano non significativi, confermando quanto trovato per i lFEF. Sembra, dunque, non esserci alcun effetto della stimolazione nei risultati al MILO task.

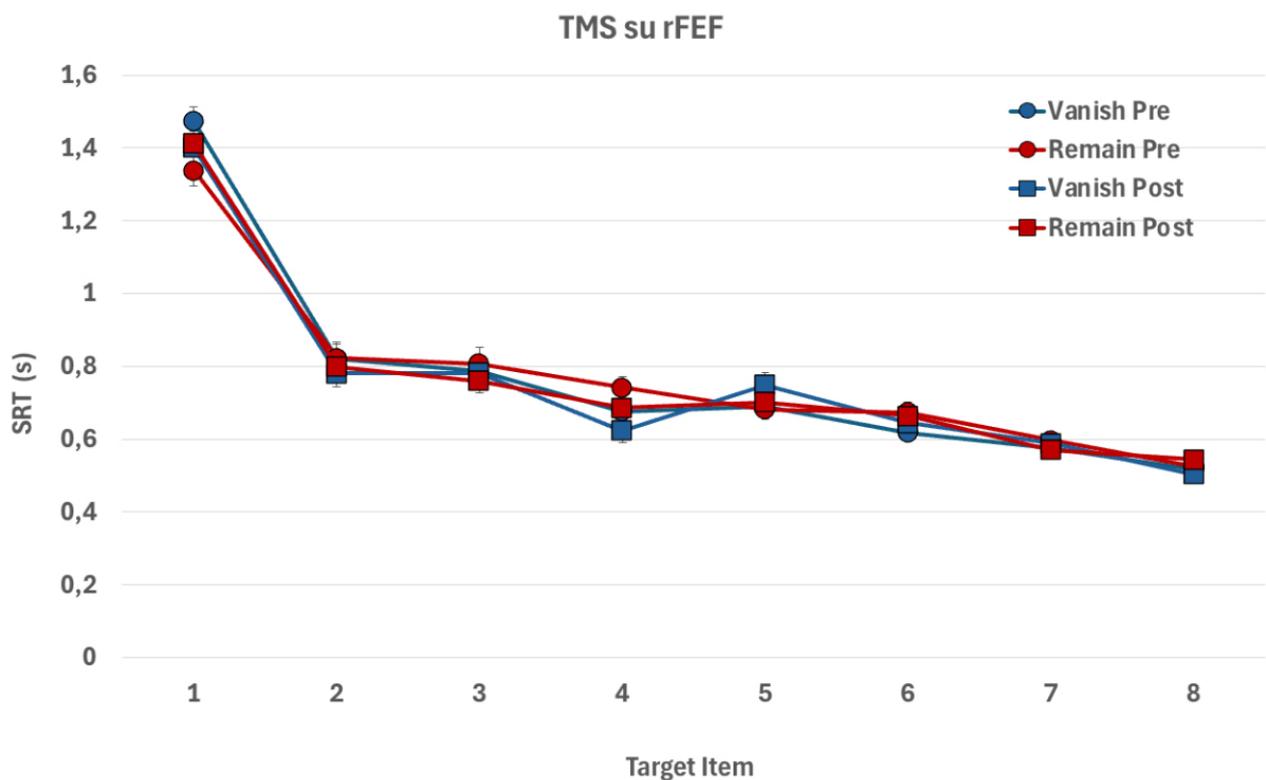
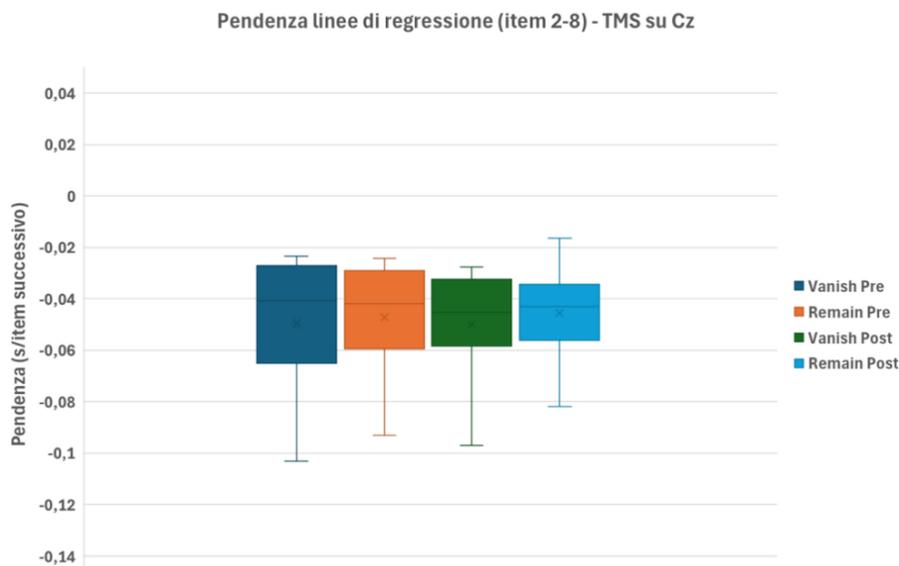


Figura 7. Modelli delle medie SRT in rFEF, in funzione di item successivi nella sequenza (1-8), nelle condizioni: *vanish* pre-stimolazione, *vanish* post-stimolazione, *remain* pre-stimolazione, *remain* post-stimolazione.

Sono state eseguite ulteriori tre analisi, una per ogni area cerebrale, prendendo in considerazione le pendenze delle rette che descrivono i SRT in funzione del numero di item. Queste sono definite “*slopes*” e forniscono informazioni sulla direzione e sulla velocità di variazione dei dati.

Dalla loro analisi non risulta nulla di significativo in nessuna delle condizioni ($p > 0,05$), con una tendenza alla significatività nella condizione di stimolazione su rFEF ($F_{2,9} = 3,724$; $p = 0,080$; $\eta^2 = 0,095$) nella variabile “*remain*” pre-post stimolazione TMS. Questo fenomeno potrebbe essere attribuito alla riduzione dei RT nelle risposte iniziali ai primi item, piuttosto che a un incremento dei RT nelle risposte agli ultimi item. Pertanto, anche in questa analisi sembra non esserci l’effetto causale della stimolazione TMS sul meccanismo dell’”*inhibitory tagging*”. Infatti, se l’ipotesi dello studio fosse verificata, dovremmo trovare delle *slopes* nelle condizioni post-stimolazione TMS, in particolare nella condizione “*remain*”, meno pendenti rispetto alla condizione previa stimolazione sulla stessa area considerata. Dai grafici sotto riportati, invece, nell’area IFEF le intercette delle rette sembrano essere molto simili nelle condizioni “*vanish*” e “*remain*” rispetto al pre- e post- TMS, senza una variazione significativa in “*remain*” (linee di media abbastanza uguali). Nel grafico dei rFEF, invece, notiamo che la pendenza delle *slopes* nella condizione post- TMS “*remain*” sembra essere inferiore rispetto alla condizione previa stimolazione. Questo, però, si nota anche per la condizione “*vanish*” post-stimolazione e necessita, dunque, di maggior approfondimento. Come detto sopra, inoltre, questo effetto sembra dovuto ad una maggior velocità di risposta nei primi item della sequenza.



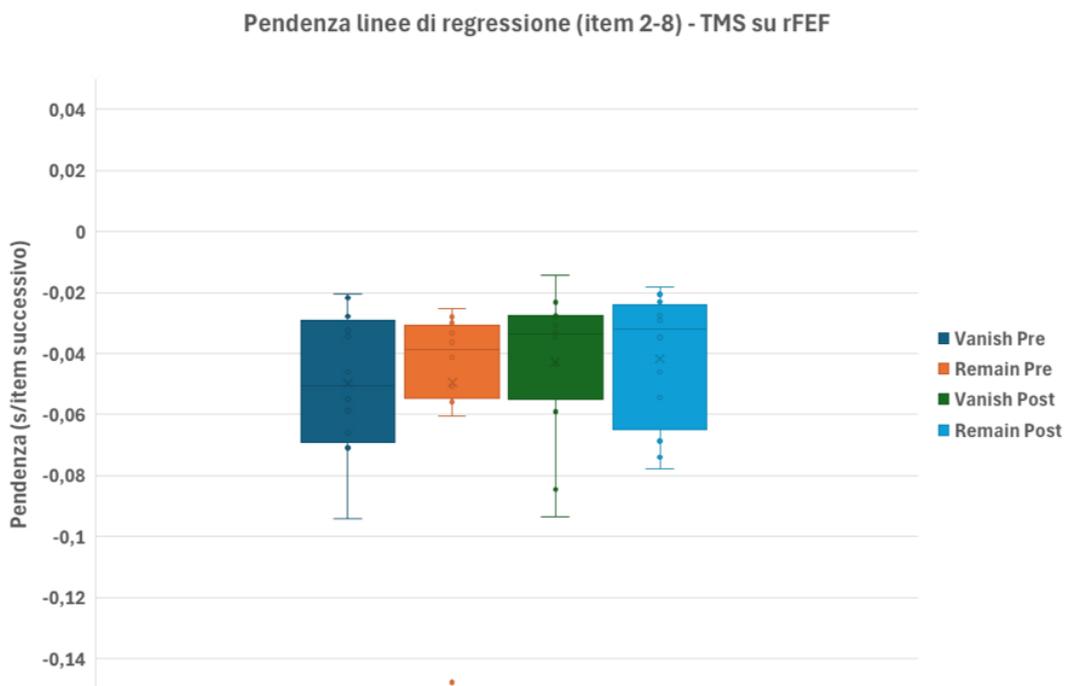
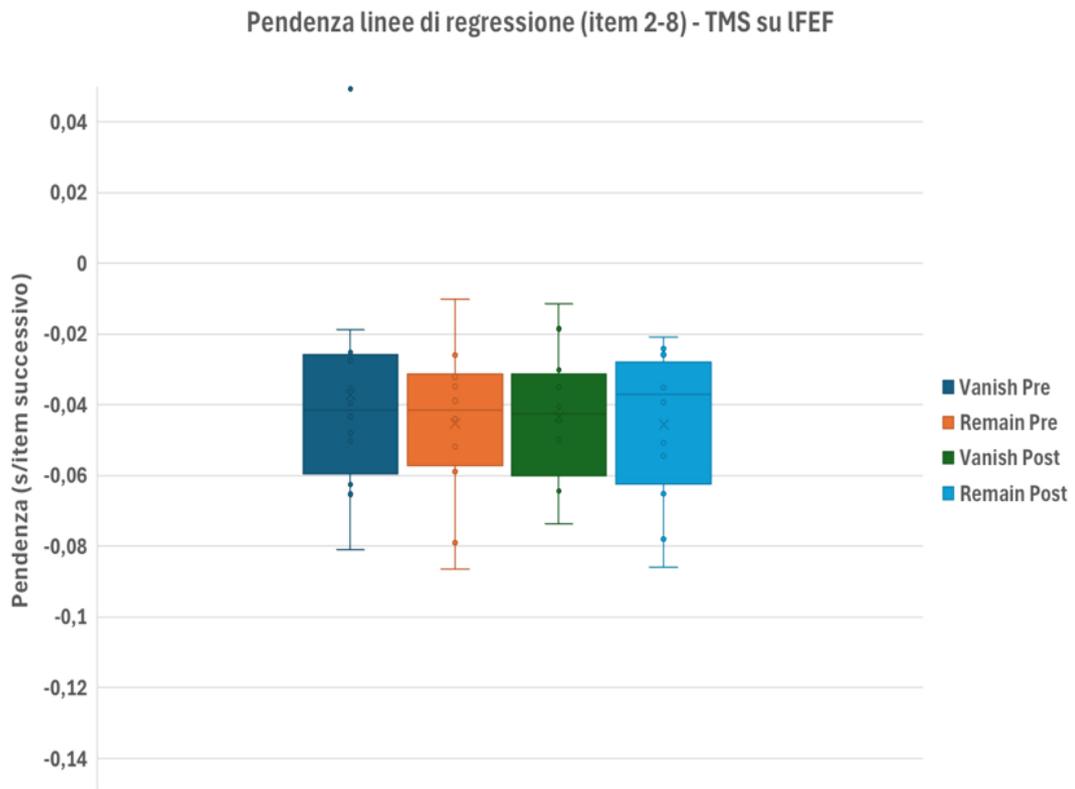


Figura 8. Grafici boxplot delle *slopes* nelle condizioni “*vanish*” e “*remain*”, pre- e post-stimolazione TMS.

4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONE

Dalla dettagliata analisi dei dati, non è risultata alcuna significatività dovuta dalla stimolazione TMS delle aree FEF, sia nelle differenze dei tempi di reazione (SRT), sia nelle tempistiche impiegate nelle singole risposte (RT). Inoltre, la stimolazione TMS di queste aree non sembra essere implicata nell'inibizione dell'"*inhibitory tagging*", in quanto non vi sono sostanziali differenze nelle pendenze di risposta nelle due condizioni "*vanish*" e "*remain*", prima e dopo la stimolazione. Questo potrebbe essere dovuto dalla difficoltà di una localizzazione precisa ed individualizzata delle aree FEF e dal numero ridotto del campione preso in analisi in questo studio.

Questa mancanza di significatività potrebbe essere indagata ulteriormente con immagini MRI di proprietà di ogni partecipante, avendo la possibilità di conoscere in modo più preciso l'anatomia delle aree cerebrali, essendoci un'elevata variabilità interpersonale. La localizzazione delle aree cerebrali, in assenza di MRI di ogni partecipante, potrebbe non essere sufficientemente accurata. Un'altra spiegazione plausibile potrebbe risiedere nel fatto che il meccanismo dell'"*inhibitory tagging*" potrebbe trovarsi altrove, o potrebbe essere una proprietà di un network, come per esempio la rete attenzionale fronto-parietale, invece di essere localizzato in una singola area o dovuto dall'attività di un numero ristretto di neuroni nei FEF. Sarebbe auspicabile riproporre l'esperimento utilizzando un numero di partecipanti maggiore, per avere miglior accuratezza nei dati. La presenza dell'effetto dell'"*inhibitory tagging*" durante il MILO task è comunque confermata, come riportato dagli illustri autori Thornton e Horowitz, e senza nessuna ulteriore informazione circa i network implicati in questo processo. Questo risulta dall'assenza d'interazione tra le condizioni "*vanish*" vs "*remain*" e il numero di item nella condizione post-stimolazione.

Per concludere, l'ipotesi dello studio sperimentale circa l'effetto della stimolazione TMS sui FEF, ipoteticamente coinvolti nell'"*inhibitory tagging*", analizzata grazie all'utilizzo del MILO task, non è stata sostenuta dai risultati qui analizzati. Servirebbe, dunque, un approfondimento adeguato ed una riproduzione del disegno sperimentale, essendo una funzione molto utile ed interessante del nostro sistema percettivo e cerebrale.

5. BIBLIOGRAFIA

- Banissy, M. J., Walsh, V., & Muggleton, N. G. (2012). A disruption of colour priming following continuous theta burst transcranial magnetic stimulation. *Cortex*, 48 (10), 1359–1361. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2012.02.009>
- Campana, G., Cowey, A., Casco, C., Oudsen, I., & Walsh, V. (2007). Left frontal eye field remembers “where” but not “what.” *Neuropsychologia*, 45(10), 2340–2345. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.02.009>
- Corbetta, M., Kincade, J. M., & Shulman, G. L. (2002). Neural systems for visual orienting and their relationships to spatial working memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 14(3), 508–523. <https://doi.org/10.1162/089892902317362029>
- Deutsch, J. A., & Deutsch, D. (1963). Attention: Some theoretical considerations. *Psychological Review*, 70(1), 80–90. <https://doi.org/10.1037/h0039515>
- Duncan, J., & Humphreys, G. W. (1989). Visual search and stimulus similarity. *Psychological review*, 96(3), 433-458.
- Faraday, M. (1831). Experimental researches in electricity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 121, 125-162.
- Horowitz, T. S., & Thornton, I. M. (2008). Objects or locations in vision for action? Evidence from the MILO task. *Visual Cognition*, 16 (4), 486–513. <https://doi.org/10.1080/13506280601087356>
- James, W. (1890). *The principles of psychology, Vol. 1*. Henry Holt and Co. <https://doi.org/10.1037/10538-000>
- Kahneman, D. (1973). *Attention and effort* (Vol. 1063, pp. 218-226). Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Klein, R. (1988). Inhibitory tagging system facilitates visual search. *Nature*, 334, 430–431. <https://doi.org/10.1038/334430a0>
- Klein, R. M. (2000). Inhibition of return. *Trends in Cognitive Sciences*, 4 (4), 138-147. [https://doi.org/10.1016/S1364-6613\(00\)01452-2](https://doi.org/10.1016/S1364-6613(00)01452-2)
- Lavie, N. (1995). "Perceptual load as a necessary condition for selective attention." *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 21(3), 451-468.
- Mesulam, M. M. (1985). *Principles of behavioral neurology*. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company.
- Mirpour, K., Bolandnazar, Z., & Bisley, J. W. (2019). Neurons in FEF keep track of items that have been previously fixated in free viewing visual search. *Journal of*

- Neuroscience*, 39 (11), 2114–2124. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.1767-18.2018>
- Muggleton, N. G., Chen, C., Tzeng, O. J. L., Hung, D. L., & Juan, C. (2010). Inhibitory control and the frontal eye fields. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22 (12), 2804–2812. <https://doi.org/10.1162/jocn.2010.21416>
- Parkin, B. L., Ekhtiari, H., & Walsh, V. F. (2015). Non-invasive human brain stimulation in cognitive neuroscience: A primer. *Neuron*, 87 (5), 932–945. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.07.032>
- Posner, M. I., & Petersen, S. E. (1990). The attention system of the human brain. *Annual Review of Neuroscience*, 13(1), 25–42. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.13.030190.000325>
- Posner, M. I., & Raichle, M. E. (1994). *Images of mind*. Scientific American Library/Scientific American Books.
- Posner, M. I., & Rothbart, M. K. (2007). Research on attention networks as a model for the integration of psychological science. *Annual Review of Psychology*, 58(1), 1–23. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.58.110405.085516>
- Richards, E., Thornton, I. M., Bayer, A., & Tales, A. (2021). Inhibitory control deficits in vascular cognitive impairment revealed using the MILO task. *Neuropsychologia*, 155, 107794. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2021.107794>
- Takeda, Y., & Yagi, A. (2000). Inhibitory tagging in visual search can be found if search stimuli remain visible. *Perception & Psychophysics*, 62 (5), 927–934. <https://doi.org/10.3758/bf03212078>
- Taylor, P. C. J., Nobre, K., & Rushworth, M. (2007). FEF TMS affects visual cortical activity. *Social Science Research Network*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4054546>
- Thornton, I. M., & Horowitz, T. S. (2004). The multi-item localization (MILO) task: Measuring the spatiotemporal context of vision for action. *Perception & Psychophysics*, 66 (1), 38–50. <https://doi.org/10.3758/bf03194859>
- Thornton, I. M., & Horowitz, T. S. (2020). Searching through alternating sequences: working memory and inhibitory tagging mechanisms revealed using the MILO task. *i-Perception*, 11(5), 204166952095801. <https://doi.org/10.1177/2041669520958018>
- Treisman, A. M., & Gelade, G. (1980). A feature-integration theory of attention. *Cognitive Psychology*, 12 (1), 97–136.
- Wolfe, J. M., Cave, K. R., & Franzel, S. L. (1989). Guided search: An alternative to the feature integration model for visual search. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 15(3), 419–433.