



**Politecnico
di Torino**

Politecnico di Torino

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

A.A. 2024/2025

Sessione di Laurea Dicembre 2025

Analisi e caratterizzazione dell'artefatto da Stimolazione Magnetica Transcranica sul segnale Elettroencefalografico

Relatore:

Prof. Luca Mesin

Corelatore:

Dott. Giorgio Tonon

Candidate:

Sara Benedetta Saladini

Luana Turchiarulo

Sommario

La Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) è una tecnica neurofisiologica che permette di modulare l'attività cerebrale tramite brevi impulsi magnetici, in maniera non invasiva. L'elettroencefalografia (EEG) registra in tempo reale l'attività elettrica del cervello. L'unione di TMS e EEG consente di stimolare specifiche aree cerebrali e osservare direttamente la risposta alla stimolazione. Tuttavia, la combinazione delle due tecniche è ancora oggi una sfida, in quanto l'impulso TMS genera degli artefatti sul segnale EEG che coprono il segnale cerebrale di interesse.

In questo elaborato è stata condotta un'analisi dell'artefatto da stimolo TMS su EEG, con l'obiettivo di comprenderne la natura e le cause che lo generano, cercando di ridurre il più possibile il suo impatto.

A questo proposito, sono stati sviluppati diversi protocolli sperimentali. Inizialmente, dieci soggetti sani sono stati sottoposti a un protocollo conforme a quelli comunemente utilizzati in ambito clinico, permettendo di identificare i principali problemi discussi in letteratura. Le prove successive, invece, sono state eseguite su un solo soggetto e su un fantoccio, per indagare le variabili che possono influenzare l'artefatto TMS su EEG, in termini di morfologia, ampiezza e durata. In particolare, in corrispondenza a stimoli con intensità utilizzate frequentemente in clinica, si è osservata la presenza di saturazione dell'amplificatore EEG e un artefatto di lunga durata e con poca ripetibilità nella forma. Quindi, per determinare l'ampiezza minima in grado di saturare il sistema, è stato condotto un test di linearità, seguito da prove in condizioni di assenza e presenza di saturazione, variando parametri come l'intensità, la frequenza di campionamento e la dinamica dell'amplificatore. I segnali EEG registrati sono stati successivamente analizzati e elaborati offline per caratterizzare l'artefatto da stimolazione in ogni condizione sperimentale.

I risultati hanno mostrato che l'artefatto indotto dalla TMS sull'EEG è inevitabile, ma che la sua durata e variabilità possono essere significativamente ridotte ponendo l'attenzione sulla dinamica dell'amplificatore EEG, la frequenza di campionamento, il filtro anti-aliasing, l'impedenza del contatto elettrodo-cutanea e la sincronizzazione tra i due sistemi. Selezionando opportunamente tali parametri, è stato osservato un artefatto di brevissima durata e con una forma molto ripetibile tra impulsi successivi, rendendolo meno impattante sul segnale cerebrale e più facile da trascurare o rimuovere.

Indice

| | |
|--|------|
| Elenco delle figure | IV |
| Elenco delle tabelle | VII |
| Elenco degli acronimi | VIII |
| Unità di misura e simboli | X |
| 1 Anatomia e fisiologia del cervello | 1 |
| 1.1 Struttura del sistema nervoso centrale | 1 |
| 1.1.1 Struttura del cervello | 1 |
| 1.1.2 Cellule del sistema nervoso | 3 |
| 1.2 Funzionamento del cervello | 5 |
| 1.2.1 Potenziale d'azione | 5 |
| 1.2.2 Sinapsi | 6 |
| 2 Elettroencefalografia | 8 |
| 2.1 Introduzione al segnale EEG | 8 |
| 2.2 Caratteristiche del segnale EEG | 9 |
| 2.3 Bande del segnale EEG | 10 |
| 2.4 Modalità di acquisizione | 12 |
| 2.5 Artefatti | 14 |
| 3 Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) | 15 |
| 3.1 Principi di funzionamento TMS | 15 |
| 3.2 Protocolli di stimolazione | 17 |
| 3.3 Effetti della TMS | 18 |
| 3.4 Artefatti | 19 |
| 3.5 Strategie per la rimozione dell'artefatto elettromagnetico | 21 |
| 4 Materiali e metodi | 23 |
| 4.1 Strumentazione | 23 |
| 4.1.1 Sistema EEG | 23 |
| 4.1.2 Stimolatore TMS | 25 |
| 4.1.3 Neuronavigatore | 27 |
| 4.2 Protocolli sperimentali | 30 |
| 4.2.1 Prove preliminari | 30 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.2.2 | Analisi di linearità | 34 |
| 4.2.3 | Analisi in assenza di saturazione | 34 |
| 4.2.4 | Analisi in presenza di saturazione | 36 |
| 4.3 | Processing dei segnali | 37 |
| 5 | Risultati | 41 |
| 5.1 | Prove preliminari | 41 |
| 5.2 | Analisi di linearità | 41 |
| 5.3 | Risultati in assenza di saturazione | 42 |
| 5.4 | Risultati in presenza di saturazione | 46 |
| 6 | Discussione | 59 |
| 6.1 | Prove preliminari | 59 |
| 6.2 | Analisi di linearità | 61 |
| 6.3 | Assenza di saturazione | 61 |
| 6.4 | Presenza di saturazione | 63 |
| 7 | Conclusioni e sviluppi futuri | 68 |
| 7.1 | Conclusioni | 68 |
| 7.2 | Sviluppi futuri | 69 |
| A | Documentazione sperimentale | 71 |
| | Consenso informato | 71 |
| | Questionario di idoneità TMS-EEG | 74 |
| | Bibliografia | 75 |

Elenco delle figure

| | | |
|------|---|----|
| 1.1 | Visione laterale delle parti costituenti il sistema nervoso centrale: midollo spinale, tronco encefalico, cervelletto e cervello. | 2 |
| 1.2 | Visione laterale dei lobi del cervello. Creato con BioRender | 3 |
| 1.3 | Struttura anatomica del neurone. Creato con BioRender. | 4 |
| 1.4 | Classificazione strutturale dei neuroni. | 4 |
| 1.5 | Potenziale d'azione. | 6 |
| 1.6 | Sinapsi chimica. Creato con BioRender. | 7 |
| 2.1 | Esempi di forme d'onda dei cinque ritmi cerebrali nell'EEG normale. | 11 |
| 2.2 | Schema elettrico di un montaggio bipolare (a sinistra) e monopolare (a destra). Gli amplificatori differenziali ricevono il segnale dai due ingressi e amplificano la differenza di potenziale presente. | 12 |
| 2.3 | Schema del sistema internazionale 10-20 per il posizionamento di 21 elettrodi EEG: vista laterale (piano trasversale, a sinistra) e vista dall'alto (piano mediano, a destra). | 13 |
| 3.1 | Stimolazione Magnetica Transcranica su soggetto. | 16 |
| 3.2 | Schema circuitale dispositivo TMS | 16 |
| 3.3 | Coil di stimolazione TMS e distribuzione di campo elettrico nel tessuto. | 17 |
| 4.1 | Amplificatore ES-356. | 23 |
| 4.2 | Cuffia EEG waveguard TM | 24 |
| 4.3 | Schema sistema eego TM | 25 |
| 4.4 | Schema e immagine del sistema di stimolazione magnetica transcranica <i>MagPro R30</i> | 26 |
| 4.5 | Forma d'onda bifasica dell'impulso di corrente nella bobina. | 26 |
| 4.6 | Bobina D-B80, vista dall'alto e anteriormente. | 27 |
| 4.7 | Navigatore TMS Localite con alcuni dei suoi componenti: a. camera CCD (sistema di tracciamento ottico), b. tracker di riferimento per il paziente, c. puntatore con tre sferette riflettenti, d. software di navigazione, e. tracker fissato alla bobina TMS posizionata sulla testa. | 28 |
| 4.8 | Schema della sequenza degli step condotti durante le prove preliminari. | 31 |
| 4.9 | Impedenze degli elettrodi su software eego TM | 32 |
| 4.10 | Modello della testa e indicazione della posizione di M1 e della bobina, sull'interfaccia del neuronavigatore. | 32 |
| 4.11 | Soggetto pronto per iniziare l'acquisizione EEG con stimolazione TMS. | 33 |

| | | |
|------|---|----|
| 4.12 | Sequenza delle 3 slides mostrate al soggetto durante l'acquisizione EEG della baseline. | 34 |
| 4.13 | Configurazione canali EEG e valore delle impedenze. | 35 |
| 4.14 | Set-up sperimentale delle prove sul soggetto, con bobina centrata sull'elettrodo C3. | 36 |
| 4.15 | Set-up sperimentale del fantoccio con panno bagnato. | 36 |
| 4.16 | Pipeline di elaborazione segnali EEG. | 37 |
| 4.17 | Rappresentazione topografica del montaggio personalizzato utilizzato nelle acquisizioni a 18 canali. | 38 |
| 5.1 | Prove preliminari, soggetto: sovrapposizione di 100 epoche del canale C3, con intensità 38% (sub-soglia, a sinistra) e 56% (sopra-soglia, a destra), dinamica 150 mV _{pp} e frequenza di campionamento 8000 Hz. . | 42 |
| 5.2 | Distribuzione delle ampiezze picco-picco per 15 ampiezze di stimolazione, canale C3. | 44 |
| 5.3 | Andamento del coefficiente di determinazione R^2 calcolato tramite regressione lineare progressiva. | 44 |
| 5.4 | Topomap dell'ampiezza picco-picco media per le 15 ampiezze di stimolazione. | 45 |
| 5.5 | Soggetto, senza saturazione: sovrapposizione di 50 epoche del canale C3, con intensità 1%, frequenza di campionamento 16384 Hz e dinamica dell'amplificatore 1000 mV _{pp} | 45 |
| 5.6 | Soggetto, senza saturazione: sovrapposizione di 50 epoche riallineate del canale C3, con intensità 1%, frequenza di campionamento 16384 Hz e dinamica dell'amplificatore 1000 mV _{pp} | 46 |
| 5.7 | Soggetto, senza saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi del canale C3, intensità 1%, quattro frequenze di campionamento e dinamica 1000 mV _{pp} | 46 |
| 5.8 | Fantoccio, senza saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi del canale C3, intensità 5%, quattro frequenze di campionamento e dinamica 1000 mV _{pp} | 47 |
| 5.9 | Confronto soggetto-fantoccio senza saturazione (canale C3, dinamica 1000 mV _{pp} , ampiezza 1% - 5%): ampiezza picco-picco media per frequenza di campionamento mostrata tramite grafico a barre. | 48 |
| 5.10 | Confronto soggetto-fantoccio senza saturazione (canale C3, dinamica 1000 mV _{pp} , ampiezza 1% - 5%): durata media per frequenza di campionamento mostrata tramite grafico a barre. | 48 |
| 5.11 | Soggetto, con saturazione: confronto tra dinamiche dell'ampiezza picco-picco per tre ampiezze di stimolazione (24%, 38%, 56%). Per una visualizzazione migliore, i due subplot sono rappresentati con una scala differente. | 49 |
| 5.12 | Soggetto, con saturazione: sovrapposizione di 50 epoche del canale C3, con intensità 56%, frequenza di campionamento 16384 Hz, due dinamiche di acquisizione (150 mV _{pp} a sinistra, 1000 mV _{pp} a destra). . | 49 |

| | | |
|------|---|----|
| 5.13 | Soggetto, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, con intensità 56% e quattro frequenze di campionamento, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b). | 50 |
| 5.14 | Soggetto, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, frequenza di campionamento 16384 Hz e tre intensità di stimolazione, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b). | 51 |
| 5.15 | Fantoccio, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, con intensità 56% e quattro frequenze di campionamento, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b). | 53 |
| 5.16 | Fantoccio, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, con frequenza di campionamento 16384 Hz e tre intensità di stimolazione, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b). | 54 |
| 5.17 | Confronto decadimento soggetto e fantoccio, con saturazione: canale C3, dinamica 1000 mV _{pp} , frequenza di campionamento 16384 Hz, tre ampiezze di stimolazione (24%, 38%, 56%). | 56 |
| 5.18 | Confronto durata tra soggetto e fantoccio, con saturazione: canale C3, dinamica 1000 mV _{pp} , quattro frequenze di campionamento (2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz, 16384 Hz), ampiezza di stimolazione 56%. Le linee tratteggiate indicano la fine dell'artefatto. | 56 |
| 5.19 | Confronto tra soggetto e fantoccio, con saturazione: durata media dell'artefatto sul canale C3 in funzione della frequenza di campionamento e dell'intensità di stimolazione (dinamica 1000 mV _{pp}). Le barre piene rappresentano i dati del soggetto, quelle tratteggiate i dati del fantoccio, mentre le barre di errore indicano la deviazione standard. | 57 |
| 5.20 | Analisi del drift nel canale C3 (ampiezza 56%, dinamica 150 mV _{pp} , frequenza di campionamento 16384 Hz). | 57 |
| 6.1 | Confronto delle ampiezze picco-picco medie degli artefatti ottenuti con esportazione in formato EEG (in blu) e EDF (in arancione), tramite bar chart più barre d'errore che rappresentano media e deviazione standard. I segnali sono relativi al canale C3 di un soggetto stimolato al 38% (80% rMT - Sotto-soglia) e al 56% (120% rMT - Sopra-soglia), con parametri di frequenza di campionamento pari a 8000 Hz e dinamica dell'amplificatore pari a 150 mV _{pp} | 60 |
| 6.2 | Confronto della morfologia dell'artefatto medio nei segnali estratti con formato EEG (in blu) e EDF (in arancione), relativo al canale C3. I dati si riferiscono a una condizione di acquisizione con frequenza di campionamento 8000 Hz, ampiezza di stimolazione 56% (soprasoglia) e dinamica dell'amplificatore 150 mV _{pp} | 60 |
| 6.3 | Schema della catena di acquisizione EEG e dell'effetto del filtro anti-aliasing. | 63 |
| 6.4 | Rappresentazione dell'interfaccia elettrodo-gel-cute: ogni interfaccia è descritta come un condensatore e resistore in parallelo, più una resistenza in serie. | 65 |

Elenco delle tabelle

| | | |
|-----|--|----|
| 2.1 | Bande di frequenza del segnale EEG. | 10 |
| 4.1 | Specifiche tecniche dell'amplificatore eego TM ES-356. | 24 |
| 4.2 | Dati tecnici bobina D-B80. | 27 |
| 4.3 | Caratteristiche del sistema di tracciamento ottico del Localite TMS Navigator. | 29 |
| 4.4 | Specifiche tecniche generali del sistema Localite TMS Navigator. . . . | 30 |
| 5.1 | Prove preliminari: ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto per ciascun soggetto (n = 9), canale C3. | 43 |
| 5.2 | Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto in funzione della frequenza di campionamento, canale C3 (soggetto, senza saturazione). | 44 |
| 5.3 | Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto in funzione della frequenza di campionamento, canale C3 (fantoccio, senza saturazione). | 47 |
| 5.4 | Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 150 mV _{pp} , canale C3 (soggetto, con saturazione). | 52 |
| 5.5 | Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 1000 mV _{pp} , canale C3 (soggetto, con saturazione). | 52 |
| 5.6 | Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 150 mV _{pp} , canale C3 (fantoccio, con saturazione). | 55 |
| 5.7 | Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 1000 mV _{pp} , canale C3 (fantoccio, con saturazione). | 55 |
| 6.1 | Fattori che influenzano la forma e la durata dell'artefatto TMS-EEG e possibili strategie di ottimizzazione. | 67 |

Elenco degli acronimi

ADC Convertitore Analogico-Digitale (Analog-to-Digital Converter).

APB Abduuttore Breve del Pollice (Abductor Pollicis Brevis).

BCI Interfacce Cervello-Computer (Brain-Computer Interfaces).

BSS Separazione Cieca delle Sorgenti (Blind Source Separation).

CCD Dispositivo a Trasferimento di Carica (Charge-Coupled Device).

DC Corrente Continua (Direct Current).

EDF Formato Europeo dei Dati (European Data Format).

EEG Elettroencefalogramma, segnale elettroencefalografico.

ERP Potenziale Evento-Correlato (Event-Related Potential).

FFT Trasformata di Fourier veloce (Fast Fourier Transform).

fs Frequenza di campionamento (Sampling Frequency).

ICA Analisi delle Componenti Indipendenti (Independent Component Analysis).

IFCN Federazione Internazionale di Neurofisiologia Clinica (International Federation of Clinical Neurophysiology).

LPF Filtro Passa-Basso (Low Pass-Filter).

M1 Area Motoria Primaria (Primary Motor Cortex).

MEP Potenziale Evocato Motorio (Motor Evoked Potential).

MNI Montreal Neurological Institute.

MRI Risonanza Magnetica (Magnetic Resonance Imaging).

NIRS Spettroscopia nel Vicino Infrarosso (Near Infrared Spectroscopy).

PA Potenziale d'Azione.

PCA Analisi delle Componenti Principali (Principal Component Analysis).

PET Tomografia a Emissione di Positroni (Positron Emission Tomography).

RC Circuito Resistenza–Capacità (Resistor–Capacitor Circuit).

rMT Soglia Motoria a Riposo (Resting Motor Threshold).

rTMS Stimolazione Magnetica Transcranica ripetitiva (Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation).

SNC Sistema Nervoso Centrale.

TEP Potenziale Evocato dalla TMS (TMS-Evoked Potential).

TES Stimolazione Elettrica Transcranica (Transcranial Electrical Stimulation).

TMS Stimolazione Magnetica Transcranica (Transcranial Magnetic Stimulation).

TTL Logica Transistor–Transistor (Transistor-Transistor Logic).

WT Trasformata Wavelet (Wavelet Transform).

Unità di misura e simboli

Le unità di misura utilizzate nell'elaborato seguono il Sistema Internazionale (SI).
Di seguito sono riportate le principali:

| | |
|------------------|--|
| V | Volt |
| mV | millivolt |
| μ V | microvolt |
| mV _{pp} | ampiezza picco-picco in millivolt |
| A | Ampere |
| Hz | Hertz |
| s | secondo |
| μ s | microsecondo |
| ms | millisecondo |
| Ω | Ohm (resistenza elettrica) |
| pps | Pulses per second (impulsi al secondo, Hz) |

Capitolo 1

Anatomia e fisiologia del cervello

1.1 Struttura del sistema nervoso centrale

Il sistema nervoso centrale (SNC) è composto dal midollo spinale e dall'encefalo, suddiviso a sua volta in tronco encefalico, cervelletto e cervello. Il suo compito è ricevere le informazioni, elaborarle, generare una risposta e inviare l'ordine di agire ai muscoli o alle ghiandole [1]. In Fig. 1.1 è mostrata la visione laterale delle parti costituenti il sistema nervoso centrale.

Il **midollo spinale** si trova all'interno della colonna vertebrale e collega il cervello al resto del corpo e viceversa. È coinvolto in tre tipi di attività funzionali: elaborazione sensitiva, risposte motorie e riflessi. Il **tronco encefalico** si trova alla base del cervello e permette la connessione diretta con il midollo spinale. Le funzioni del tronco encefalico includono il controllo motorio e sensitivo, la regolazione di funzioni autonome come la respirazione, la mediazione di risposte riflesse, l'elaborazione e la trasmissione di funzioni nocicettive, oltre al suo coinvolgimento nello stato di veglia e nella regolazione del sonno. Il **cervelletto** è localizzato nella parte posteriore del cervello ed è associato al movimento, alla coordinazione e all'equilibrio. Il **cervello** è una delle componenti fondamentali dell'organismo e le sue funzioni sono varie e numerose: controlla i movimenti volontari e involontari, il respiro e le funzioni cognitive superiori. Il cervello è contenuto nella scatola cranica ed è costituito all'esterno dalla materia grigia, che forma la corteccia cerebrale, e all'interno dalla materia bianca, composta da assoni mielinici [2].

1.1.1 Struttura del cervello

Il cervello è diviso in due emisferi da una profonda fessura longitudinale: l'emisfero destro e l'emisfero sinistro, i quali rimangono in contatto e comunicano tramite il corpo calloso. Ciascun emisfero può essere suddiviso in quattro lobi: frontale, parietale, occipitale e temporale. I quattro lobi sono separati da tre scissure principali: centrale, laterale e parieto-occipitale. La scissura centrale si estende da una posizione postero-mediale a una antero-laterale e separa il lobo frontale dal parietale. La scissura parieto-occipitale separa il lobo parietale dall'occipitale, mentre la scissura laterale è un solco orizzontale situato lateralmente e separa il lobo temporale dal frontale e dal parietale [3]. In Fig. 1.2 sono mostrati i quattro lobi cerebrali.

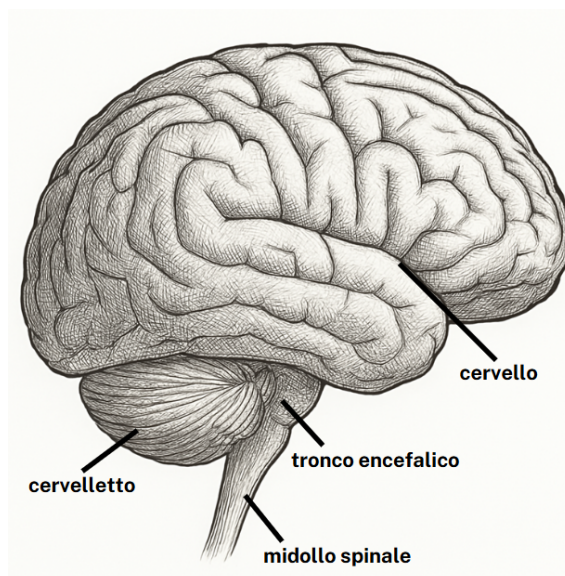


Figura 1.1: Visione laterale delle parti costituenti il sistema nervoso centrale: midollo spinale, tronco encefalico, cervelletto e cervello.

Ogni lobo è specializzato in specifiche funzioni [2][3]:

- **Lobo frontale:** comprende la corteccia motoria primaria, l'area premotoria, l'area di Broca e la corteccia prefrontale. La corteccia motoria primaria e l'area premotoria sono responsabili dell'inizio dei movimenti volontari. L'area di Broca, che si trova nell'emisfero sinistro, è deputata al linguaggio. La corteccia prefrontale, infine, è coinvolta nei processi legati alla personalità, alla capacità previsionale e all'intuito.
- **Lobo parietale:** comprende la circonvoluzione postcentrale che corrisponde approssimativamente alla corteccia dell'area somatosensitiva primaria, responsabile della lettura corticale iniziale delle informazioni tattili e propriocettive. Una parte del lobo parietale dell'emisfero sinistro è coinvolta nella comprensione del linguaggio e la parte rimanente contribuisce all'orientamento nello spazio e nel tempo.
- **Lobo occipitale:** è coinvolto nelle funzioni visive. Riceve le informazioni dal campo visivo controlaterale degli occhi e le elabora e interpreta.
- **Lobo temporale:** una piccola porzione del lobo temporale costituisce la corteccia uditiva primaria. Comunica con l'ippocampo ed è partecipe in risposte emozionali e viscerali; inoltre, è coinvolto in attività complesse riguardanti l'apprendimento e la memoria. L'area di Wernicke è responsabile della comprensione del linguaggio e si trova solitamente nel giro temporale superiore nell'emisfero sinistro.

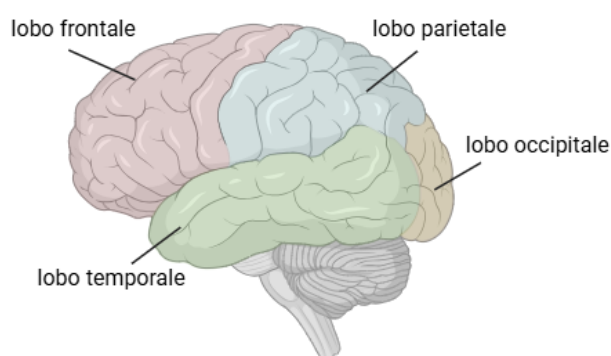


Figura 1.2: Visione laterale dei lobi del cervello. Creato con BioRender

1.1.2 Cellule del sistema nervoso

Le cellule che compongono il sistema nervoso centrale sono i neuroni e le cellule gliali. I **neuroni**, pur condividendo caratteristiche simili alle altre cellule, hanno la capacità di comunicare in modo preciso e rapido. Questa proprietà è dovuta a due caratteristiche: hanno un alto grado di asimmetria morfologica e funzionale e sono eccitabili elettricamente e chimicamente. Le **cellule gliali**, invece, sono meno eccitabili, ma le loro membrane contengono proteine trasportatrici che facilitano l'assorbimento di ioni e proteine, fornendo supporto e protezione ai neuroni [4]. Esistono centinaia di diversi tipi di neuroni ma tutti condividono tre componenti principali, come mostrato in Fig. 1.3:

- **Corpo cellulare:** chiamato anche soma, è il centro metabolico della cellula. Contiene il nucleo, che ospita i geni della cellula, e il reticolo endoplasmatico, dove vengono sintetizzate le proteine.
- **Dendriti:** rappresentano l'apparato principale per ricevere segnali provenienti da altre cellule nervose. Solitamente sono corti e si ramificano ad albero a partire dal corpo cellulare.
- **Assone:** si estende per una certa distanza dal corpo cellulare e trasporta segnali ad altri neuroni. Un assone può trasmettere segnali su distanze che vanno da 0.1 mm a 2 m. Molti assoni sono isolati da una guaina mielinica che viene interrotta in delle porzioni chiamate *nodì di Ranvier*. La conduzione del potenziale d'azione salta da un nodo di Ranvier all'altro, rendendo la propagazione più veloce.

I neuroni possono presentare corpo cellulare, dendriti ed assoni di diversa forma e queste differenze permettono di classificarli in modo diverso. Ad esempio, le cellule piramidali hanno un corpo cellulare approssimativamente triangolare, con i dendriti che emergono sia dall'apice che dalla base: si tratta delle cellule caratterizzanti la corteccia cerebrale. Tuttavia, più che la forma, ciò che distingue un neurone da un altro è il numero di processi che derivano dal corpo cellulare. Secondo questa classificazione i neuroni si dividono in tre grandi gruppi, mostrati in Fig. 1.4 :

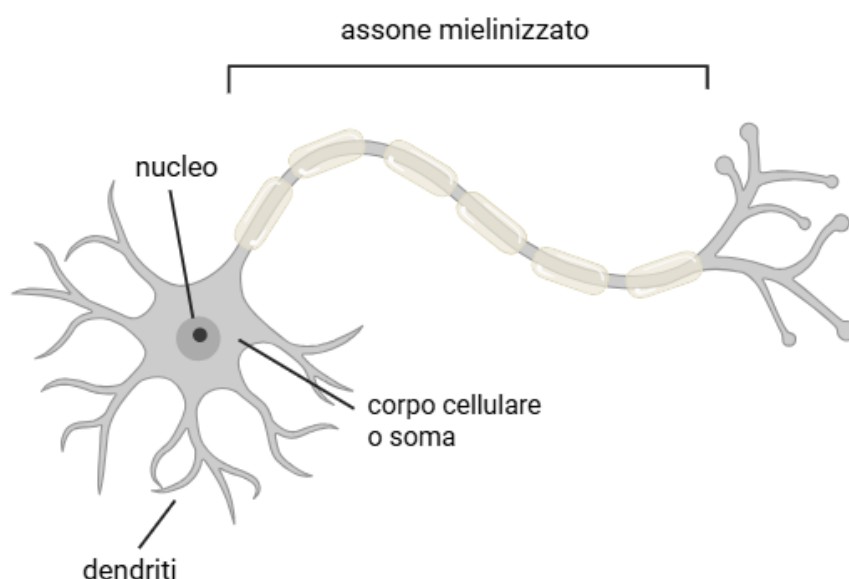


Figura 1.3: Struttura anatomica del neurone. Creato con BioRender.

- **Unipolari:** sono i più semplici poiché sono costituiti da un solo processo che si ramifica, un ramo funge da assone e gli altri funzionano come strutture riceventi.
- **Bipolari:** sono caratterizzati da due processi, una struttura dendritica e un assone. I neuroni recettori che trasmettono segnali di tatto, pressione e dolore al midollo spinale sono varianti di cellule bipolari chiamate cellule pseudo-unipolari.
- **Multipolari:** predominano nei vertebrati. Hanno un singolo assone e molti dendriti che emergono dal soma.

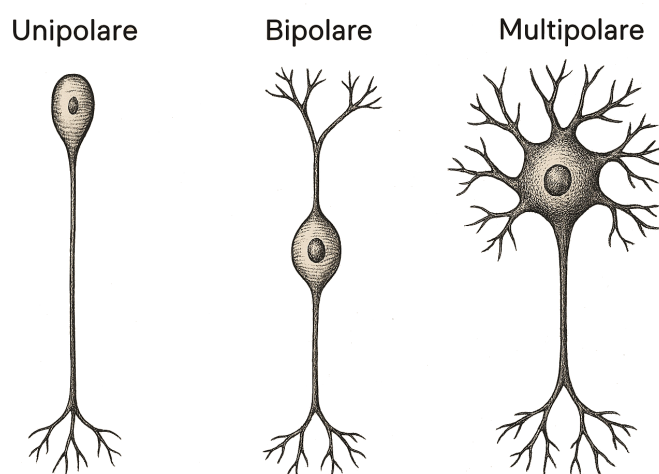


Figura 1.4: Classificazione strutturale dei neuroni.

L'ultima classificazione viene fatta in base alla funzione dei neuroni:

- **Neuroni sensoriali:** o neuroni afferenti, trasportano informazioni dalla periferia al sistema nervoso. Permettono la percezione e la coordinazione motoria.
- **Neuroni motori:** o neuroni efferenti, trasportano le informazioni dal sistema nervoso centrale ai muscoli o alle ghiandole.
- **Interneuroni:** permettono la comunicazione tra neuroni sensoriali e motori. Sono suddivisi in *relè* e *locali*. I relè hanno lunghi assoni e trasmettono segnali su lunghe distanze, i locali hanno assoni corti e creano connessioni vicine.

Si tratta di classificazioni generali ma è importante ricordare che ogni classe funzionale può essere ulteriormente suddivisa.

Le cellule gliali sono la seconda categoria di cellule del sistema nervoso e sono più numerose dei neuroni. Tra di esse troviamo: astrociti, oligodendrociti, cellule di Schwann, microglia ed ependimociti. Hanno diversi ruoli, rispettivamente: forniscono supporto metabolico ai neuroni, formano la guaina mielinica, contribuiscono alla difesa immunitaria del sistema nervoso e favoriscono la circolazione del liquido cerebrospinale [4].

1.2 Funzionamento del cervello

L'attività del cervello è resa possibile grazie alla comunicazione tra i neuroni, che trasmettono informazioni attraverso segnali elettrici e chimici. Gli impulsi elettrici sono chiamati anche potenziali d'azione (PA) e nascono in una regione vicino all'assone. L'assone permette inoltre la propagazione del potenziale d'azione, che viene trasmesso alla cellula bersaglio tramite le sinapsi.

1.2.1 Potenziale d'azione

Il potenziale d'azione è una breve inversione del potenziale di membrana cellulare che passa da circa -70 mV a +30 mV. Quando il potenziale di membrana supera una certa soglia, vi è un cambiamento rapido in esso che genera il PA. Il potenziale d'azione è caratterizzato da diverse fasi [5]:

- **Depolarizzazione:** causata dall'apertura dei canali dello ione sodio che porta un flusso di ioni sodio all'interno della cellula. Si tratta della fase di salita del potenziale di membrana.
- **Ripolarizzazione:** è causata dall'inattivazione dei canali del sodio e l'apertura dei canali del potassio. C'è un flusso di ioni potassio che escono dalla cellula causando la ricaduta del potenziale d'azione che torna ad essere negativo.
- **Iperpolarizzazione:** fase in cui il potenziale è più negativo rispetto al potenziale di riposo, e dura fino alla chiusura dei canali del potassio.

I canali del sodio si inattivano quando la membrana è fortemente depolarizzata e non possono attivarsi nuovamente in questo periodo, impedendo la generazione di un altro potenziale d'azione. Questo intervallo è noto come periodo refrattario assoluto. Esiste anche un periodo refrattario relativo, che si verifica nella fase di iperpolarizzazione; in questo caso può essere generato un potenziale d'azione, ma è necessario uno stimolo più forte. La Fig. 1.5 illustra il potenziale d'azione con le sue fasi caratteristiche.

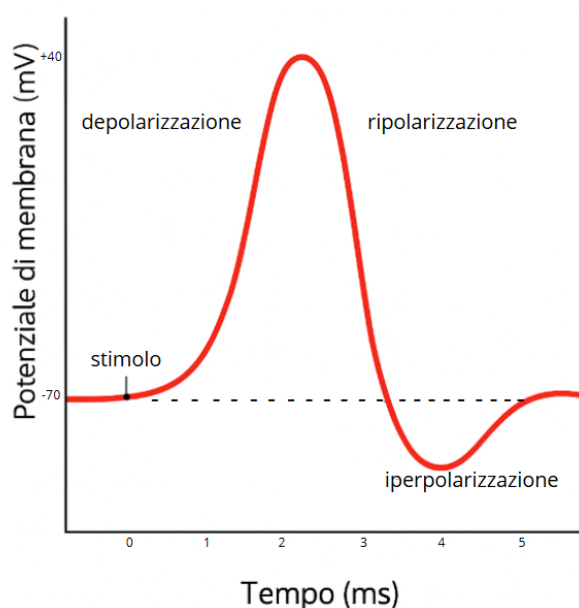


Figura 1.5: Potenziale d'azione.

1.2.2 Sinapsi

Il trasferimento delle informazioni è chiamato trasmissione sinaptica. La sinapsi è il luogo dove c'è la trasmissione delle informazioni da un neurone all'altro e generalmente è localizzata tra il terminale dell'assone e i dendriti. Ci sono due tipi di sinapsi: le sinapsi chimiche e elettriche. Le sinapsi chimiche utilizzano i neurotrasmettitori, trasportati all'interno di vescicole, per trasmettere il segnale, un esempio è mostrato in Fig. 1.6. Tra le membrane della cellula pre- e post-sinaptica c'è una distanza visibile al microscopio, che è maggiore per una sinapsi chimica rispetto ad una sinapsi elettrica. Quest'ultima consente il passaggio diretto della corrente da un neurone all'altro senza la dipendenza dai neurotrasmettitori. Il ritardo sinaptico nelle sinapsi elettriche è significativamente più breve rispetto alle sinapsi chimiche [6]. Le sinapsi chimiche sono le prevalenti e a seconda della tipologia di neurotrasmettitore rilasciato possono aumentare o diminuire la probabilità che la cellula post-sinaptica produca un potenziale d'azione. Il neurotrasmettitore può dunque avere un effetto eccitatorio o inibitorio [5]. L'output di un neurone in realtà dipende dagli input di diversi neuroni, ognuno con un suo grado di influenza. La somma è il processo che determina se un potenziale d'azione può essere generato combinando gli effetti inibitori e eccitatori dei diversi segnali.

La somma può essere [4]:

- **Somma spaziale:** somma di input provenienti da diversi neuroni.
- **Somma temporale:** somma di input ripetuti dallo stesso neurone pre-sinaptico nel tempo.

Una proprietà delle sinapsi chimiche è una notevole capacità di cambiamenti a breve termine che aumentano o diminuiscono l'efficacia sinaptica. I cambiamenti a lungo termine possono dare origine ad ulteriori cambiamenti fisiologici che portano ad alterazioni anatomiche. Le sinapsi chimiche sono modificate funzionalmente e anatomicamente attraverso l'apprendimento e l'esperienza. I cambiamenti nell'efficacia delle connessioni sono in genere a breve termine, le alterazioni anatomiche sono a lungo termine. Questa plasticità funzionale conferisce ad ognuno la propria individualità.

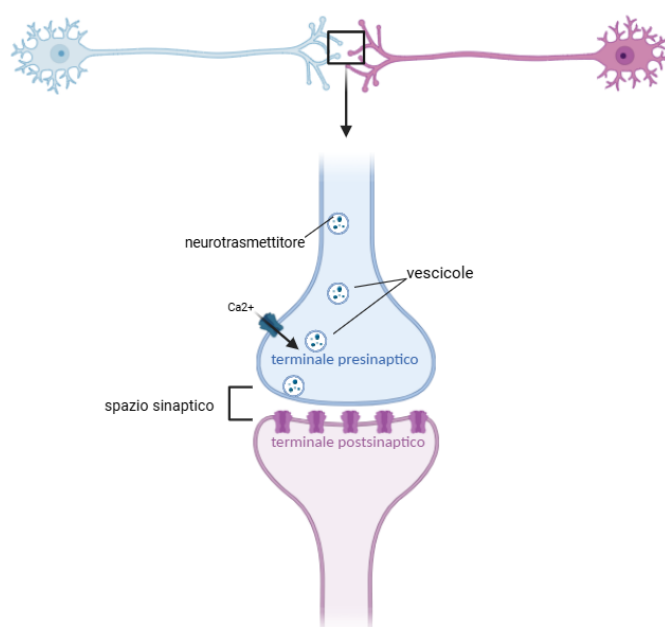


Figura 1.6: Sinapsi chimica. Creato con BioRender.

Illustrazione della comunicazione tramite sinapsi chimica. Quando la membrana presinaptica viene depolarizzata, si aprono i canali del calcio e il calcio entra nella cellula. Le vescicole contenenti il neurotrasmettitore si fondono con la membrana e permettono il passaggio del neurotrasmettitore nello spazio sinaptico. Il neurotrasmettitore si lega ai recettori della membrana postsinaptica causando una depolarizzazione del neurone postsinaptico.

Capitolo 2

Elettroencefalografia

L'elettroencefalografia è una tecnica neurofisiologica che permette di registrare l'attività elettrica del cervello. I neuroni generano dei potenziali elettrici che vengono acquisiti e registrati sotto forma di segnale elettroencefalografico, o elettroencefalogramma (EEG).

2.1 Introduzione al segnale EEG

Il segnale EEG è una misura delle variazioni di potenziale che riflettono l'attività dei neuroni posti nella corteccia cerebrale e viene solitamente registrato tramite elettrodi posti sul cuoio capelluto. L'attività elettrica dei neuroni si manifesta tramite la generazione di potenziali d'azione e di potenziali post-sinaptici. Tuttavia, poiché il contributo dei potenziali d'azione al campo elettrico registrato è trascurabile, l'EEG è principalmente dovuto alla somma dei potenziali post-sinaptici, che sono generati in modo sincrono dai neuroni piramidali corticali e che si estendono fino alla superficie [7].

La testa è formata da tre strati principali: il cuoio capelluto, il cranio e il cervello; tra questi strati sono inoltre presenti altri tessuti, tra cui connettivo, fibroso ed epiteliale. Siccome il segnale viene attenuato da ogni strato presente tra le cellule cerebrali e gli elettrodi, solo grandi popolazioni di neuroni possono generare un potenziale sufficientemente elevato da poter essere rilevato in superficie [8]. Inoltre, l'attività sincronizzata di specifici neuroni piramidali corticali riduce il fenomeno di cancellazione e facilita così l'acquisizione del segnale [9].

L'EEG registrato in assenza di uno stimolo esterno è detto EEG spontaneo; il segnale generato in risposta a uno stimolo interno o esterno è chiamato Potenziale correlato all'evento (ERP, Event-Related Potential) [7].

Il primo scienziato ad aver scoperto e studiato i potenziali elettrici del cervello fu Richard Caton (Regno Unito, 1842-1926), il quale fu in grado di registrare l'attività elettrica del cervello in alcuni animali. Negli stessi anni, molti altri scienziati approfondirono lo studio dei principi dell'EEG, ma è ad Hans Berger (Germania, 1873-1941) che viene attribuito il merito di aver scoperto e misurato per primo l'EEG umano, iniziando la sua ricerca nel 1920 [8].

L'evoluzione dell'EEG è stata un processo continuo, che ha portato allo sviluppo di studi clinici, sperimentali e computazionali. Oggi, l'elettroencefalografia è ampiamente usata in ambito medico e scientifico, grazie al fatto che è una tecnica facilmente accessibile, flessibile, economica, portatile e sicura. Viene impiegata in molteplici applicazioni biomediche, tra cui l'identificazione di disturbi neurologici, l'esplorazione di processi cognitivi (memoria, percezione, attenzione), l'analisi del sonno, la localizzazione di aree danneggiate da infortuni, ictus o tumori, il monitoraggio dell'epilessia, il controllo dell'anestesia e l'implementazione di interfacce cervello-computer (BCI). Inoltre, il segnale EEG può essere integrato con altre modalità di imaging, come la risonanza magnetica (MRI), la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) e la tomografia a emissione di positroni (PET), in modo da raggiungere una conoscenza più approfondita sulla funzione e struttura del cervello [10].

2.2 Caratteristiche del segnale EEG

Il segnale EEG è un segnale complesso, caratterizzato dall'essere non gaussiano, non stazionario e non lineare [11]. Può essere considerato un segnale casuale, in quanto deriva dalla sovrapposizione di milioni di potenziali post-sinaptici nello stesso volume di prelievo. Siccome è prodotto da moltissime sorgenti, è variabile sia in termini di ampiezza che in termini di frequenza.

Un segnale EEG tipico, misurato con elettrodi posizionati sul cuoio capelluto, ha un'ampiezza compresa tra i 10 μV e i 100 μV , che può essere distinta in bassa ($<30 \mu\text{V}$), media (30-70 μV) e alta ($>70 \mu\text{V}$). La banda di frequenza del segnale EEG si estende da circa 0.5 Hz a 100 Hz ed è suddivisa in 5 bande contigue, che verranno descritte in seguito.

Il segnale EEG può essere caratterizzato secondo diverse prospettive:

- **Morfologia:** la morfologia di un segnale EEG si riferisce alla presenza di una frequenza dominante con un andamento ripetitivo. Si parla di polimorfismo quando i potenziali che si succedono appartengono alla stessa banda di frequenza, ma presentano diversa periodicità e ampiezza. Il monomorfismo indica invece la successione regolare di potenziali aventi la stessa frequenza, e spesso anche la stessa ampiezza.
- **Topografia:** la definizione delle aree cerebrali attive, ovvero le regioni in cui un evento elettrico si manifesta, viene determinata sulla base della suddivisione anatomica del cervello in lobo frontale, parietale, occipitale e temporale, sia nell'emisfero destro che in quello sinistro.
- **Simmetria:** due segnali EEG si definiscono simmetrici se si presentano su entrambi gli emisferi con frequenza, ampiezza e durata confrontabili (anche in momenti successivi). Se invece un segnale è presente in un solo emisfero, o se ha caratteristiche diverse sui due lati, viene considerato asimmetrico.

- **Sincronia:** si definiscono sincroni i segnali che presentano determinati eventi elettroencefalografici contemporaneamente sui due emisferi, altrimenti vengono considerati asincroni.

L'EEG è caratterizzato da un'elevata risoluzione temporale, che permette di monitorare l'attività neurale con molta precisione. Tuttavia, la risoluzione spaziale risulta scarsa, in quanto il segnale registrato sul cuoio capelluto è il risultato della sovrapposizione casuale di molteplici sorgenti cerebrali.

In generale, le caratteristiche dei segnali EEG sono molto variabili, in quanto dipendono da persona a persona e variano in base allo stato fisiologico e cognitivo del soggetto al momento della registrazione. Inoltre, fattori come l'età, lo stato psicologico e le condizioni ambientali possono influenzare significativamente il segnale.

2.3 Bande del segnale EEG

Per interpretare l'attività cerebrale, è fondamentale studiare le **caratteristiche spettrali** del segnale EEG. L'analisi in frequenza è uno dei criteri più affidabili per individuare disturbi cerebrali e per approfondire diversi processi neurali. Sono state identificate cinque bande di frequenza, che corrispondono a cinque diversi ritmi, ciascuno associato a specifici stati cognitivi. Queste bande di frequenza, riassunte in Tab. 2.1 e rappresentate in Fig. 2.1, sono: delta (δ), theta (θ), alpha (α), beta (β) e gamma (γ), in ordine crescente di frequenza. Il passaggio da un ritmo a un altro avviene in maniera graduale all'interno del segnale.

| Ritmo | Frequenza (Hz) | Ampiezza (μV) |
|--------------|----------------|----------------------------|
| delta | 0.5–4 | 20–200 |
| theta | 4–8 | 5–100 |
| alpha | 8–13 | 1–200 |
| beta | 13–30 | 1–20 |
| gamma | >30 | 1–20 |

Tabella 2.1: Bande di frequenza del segnale EEG.

- **delta (δ):** 0.5-4 Hz. Il ritmo δ è il più lento in frequenza, ma è quello che presenta l'ampiezza maggiore. Questo succede perché l'EEG è dato dalla somma di segnali di numerosi neuroni, perciò a bassa frequenza è statisticamente più probabile che si verifichino dei processi di somma (interferenza costruttiva), che portano a segnali complessivi di maggiore ampiezza. Negli adulti, la banda delta è associata al sonno profondo o a condizioni patologiche come l'ipossia cerebrale. Nel cervello dei neonati, invece, queste onde sono normali e predominanti [12].
- **theta (θ):** 4-8 Hz. La banda θ è associata all'attività del subconscio. Queste onde possono essere osservate durante la fase di addormentamento o sonno

leggero. Possono derivare anche da episodi di meditazione e rilassamento profondo. Il ritmo theta è considerato anormale in soggetti adulti svegli, ma è normale in bambini sotto i 13 anni. Stimola inoltre la produzione di ormoni della crescita, di serotonina, che aumenta il rilassamento e allevia il dolore, e di ormone corticale, importante per la memoria e l'apprendimento [12].

- **alpha** (α): 8-13 Hz. Le onde alpha sono associate al rilassamento mentale, in uno stato cosciente ma senza attenzione o concentrazione [8]. Sono spesso registrate in adulti svegli con gli occhi chiusi. Questa banda rappresenta un ponte tra la mente cosciente e il subconscio. Anche in questo caso viene prodotto l'ormone serotonina che induce rilassamento [12].
- **beta** (β): 13-30 Hz. La banda beta può essere ulteriormente suddivisa in: β_1 (14-16 Hz), β_2 (17-20 Hz) e β_3 (20-30 Hz). Questo ritmo corrisponde a un aumento di attività neurale nella corteccia cerebrale ed è associato a uno stato di attenzione (β_1) e concentrazione (β_2) [9].
- **gamma** (γ): 30-100 Hz. La banda gamma rappresenta onde cerebrali ad alta frequenza associate alla percezione sensoriale e ai processi cognitivi [9]. Le onde γ sono associate alla tensione e concentrazione e sono registrate durante lo stato di maggior attenzione, lucidità e prontezza. Possono verificarsi anche in condizioni di stress mentale [12].

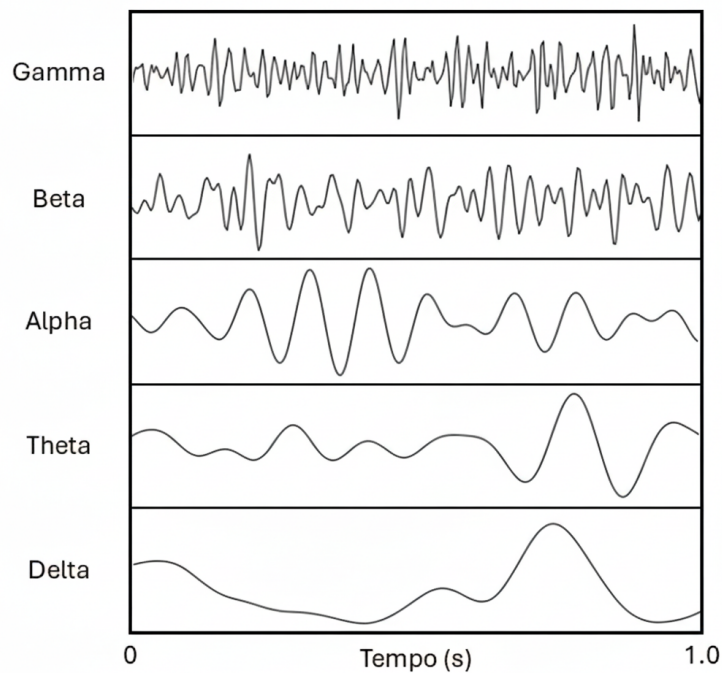


Figura 2.1: Esempi di forme d'onda dei cinque ritmi cerebrali nell'EEG normale.

2.4 Modalità di acquisizione

L'acquisizione del segnale EEG può essere classificata in due categorie principali: invasiva e non invasiva. L'acquisizione invasiva richiede l'inserimento di elettrodi ad ago nella corteccia cerebrale, o in altre regioni del cervello, permettendo di registrare il segnale intracranico. In questo caso, l'ampiezza del segnale risulta maggiore, tra 10 e 20 mV, in quanto vengono bypassati molti tessuti che solitamente causano attenuazione [10]. D'altra parte, l'acquisizione non invasiva usa elettrodi posizionati sulla superficie del cuoio capelluto, senza necessità di impiantare elettrodi. Attualmente, la maggior parte dei metodi di acquisizione del segnale EEG è **non invasiva** ed è questa modalità che sarà approfondita nel seguito.

Gli elettrodi utilizzati nell'EEG non invasivo sono solitamente di tipo circolare e vengono posizionati direttamente sul cuoio capelluto. In base all'applicazione, il numero di elettrodi può variare da 1 a 256, permettendo la registrazione del segnale in parallelo (registrazione multicanale) [13]. Gli elettrodi possono essere fissati con un adesivo (come il collodio) o possono essere inseriti in una cuffia che aderisce alla testa. Per ottenere un segnale di buona qualità, è importante che la resistenza di connessione sia bassa, solitamente inferiore a 5 k Ω , perciò il sito di acquisizione deve essere adeguatamente pulito (con acqua o alcol) e viene applicato un gel o una pasta conduttiva tra gli elettrodi e il cuoio capelluto [7].

Poiché il segnale EEG rappresenta una differenza di potenziali, il tipo di prelievo può essere di due tipologie, schematicamente illustrate in Fig. 2.2:

- **bipolare**: ogni canale rappresenta la differenza di potenziale registrata tra due elettrodi adiacenti.
- **monopolare**: ogni canale registra la differenza di potenziale tra l'elettrodo attivo e un elettrodo di riferimento, posizionato in una regione non elettricamente attiva, come l'orecchio. In alternativa, si può utilizzare come riferimento la media degli output di tutti i canali.

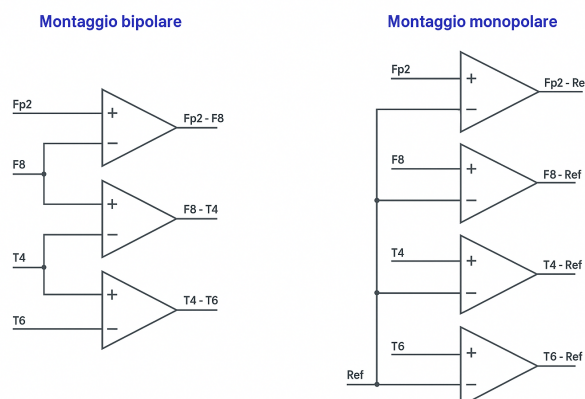


Figura 2.2: Schema elettrico di un montaggio bipolare (a sinistra) e monopolare (a destra). Gli amplificatori differenziali ricevono il segnale dai due ingressi e amplificano la differenza di potenziale presente.

L'EEG dipende fortemente dalla localizzazione degli elettrodi, dato che l'architettura del cervello non è uniforme e la corteccia è organizzata in diverse aree funzionali [13]. È quindi importante utilizzare uno standard per posizionare gli elettrodi sul cuoio capelluto: **sistema 10-20** (Fig. 2.3), definito dalla Federazione Internazionale delle Società per l'Elettroencefalografia e la Neurofisiologia Clinica (IFCN) [8]. Questo sistema di posizionamento degli elettrodi è stato sviluppato per garantire una standardizzazione nelle registrazioni EEG, in modo da migliorare la comparabilità e affidabilità dei dati tra diversi studi e la riproducibilità dei dati di uno stesso soggetto nel tempo. Lo standard 10-20 è pensato per il posizionamento di un minimo di 21 elettrodi, ma può essere esteso per includere più elettrodi, in base alle necessità dello studio. Esistono inoltre altre varianti, come i sistemi 10-10 e 10-5, che utilizzano una maggiore densità di elettrodi, per applicazioni più avanzate o specifiche [14].

Il sistema 10-20 si basa sulla relazione tra la localizzazione di un elettrodo e l'area cerebrale sottostante. I numeri *10* e *20* si riferiscono alla distanza effettiva tra elettrodi adiacenti, pari al 10% o al 20% della distanza totale anteriore-posteriore o destra-sinistra del cranio [13]. Le posizioni degli elettrodi sono determinate da due punti di riferimento: il nasion (N), che si trova tra la fronte e il naso, a livello degli occhi, e l'inion (I), che è la prominenza ossea alla base del cranio sulla linea mediana nella parte posteriore della testa. Ogni posizione, e di conseguenza ogni elettrodo e canale, è identificata da una lettera, che si riferisce al lobo cerebrale sottostante, e da un numero, che indica la posizione e l'emisfero cerebrale corrispondente. Le lettere 'F', 'T', 'C', 'P' e 'O' si riferiscono rispettivamente ai lobi Frontale, Temporale, Centrale, Parietale e Occipitale. I numeri pari indicano le posizioni sull'emisfero destro, mentre i numeri dispari quelle sull'emisfero sinistro. La 'z' si riferisce a un elettrodo posizionato sulla linea mediana [13].

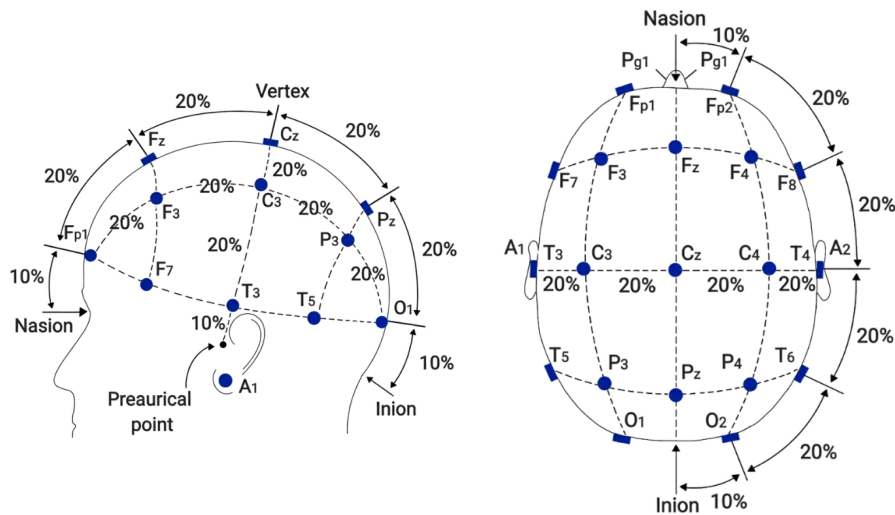


Figura 2.3: Schema del sistema internazionale 10-20 per il posizionamento di 21 elettrodi EEG: vista laterale (piano trasversale, a sinistra) e vista dall'alto (piano mediano, a destra).

Per ottenere le informazioni desiderate, il segnale grezzo registrato dagli elettrodi deve essere amplificato e filtrato, in modo da essere adeguato alla visualizzazione e

al successivo processing.

2.5 Artefatti

Il segnale EEG è altamente sensibile alla contaminazione di artefatti, poiché è caratterizzato da un'ampiezza molto piccola. Gli artefatti sono potenziali elettrici indesiderati, che provengono da sorgenti non cerebrali. Questi devono essere identificati e rimossi, in modo da migliorare l'interpretabilità del segnale.

Gli artefatti possono avere origine elettrica, come la presenza di altri dispositivi elettromagnetici, o origine meccanica, come il movimento di cavi o elettrodi. Inoltre, i segnali EEG sono anche influenzati da segnali fisiologici, come il movimento degli occhi o l'attività muscolare. Nello studio EEG tradizionale, questi contributi fisiologici registrati nel segnale, non provenienti dal cervello, sono considerati artefatti in quanto provocano distorsioni del segnale di interesse. Tuttavia, possono fornire informazioni aggiuntive riguardo i processi cognitivi, se analizzati separatamente [15]. Un ulteriore problema dell'acquisizione del segnale EEG è il rumore, che può sovrapporsi al segnale di interesse ed è generalmente meno identificabile rispetto agli artefatti. La maggior parte del rumore è generata sia nel cervello (rumore interno) che sul cuoio capelluto o dal sistema di acquisizione (rumore esterno o di sistema) [8].

Per ridurre l'impatto di rumore e artefatti sul segnale EEG, il metodo più immediato è l'utilizzo di **filtri**, progettati in modo da non introdurre modifiche o distorsioni al segnale. Tuttavia, questi risultano efficaci solo se la banda di frequenza del segnale e dell'interferenza non si sovrappongono. I filtri passa-alto hanno solitamente una frequenza di taglio di 0.5 Hz e sono utilizzati per rimuovere i disturbi a bassa frequenza, come l'artefatto del respiro. Al contrario, il rumore ad alta frequenza viene attenuato da filtri passa-basso, con frequenze di taglio intorno a 50-70 Hz. L'interferenza di rete può invece essere ridotta tramite un filtro notch (rigetta-banda), centrato alla frequenza di 50 Hz [8]. Nel caso in cui gli spettri del segnale e del disturbo sono invece sovrapposti, è necessario ricorrere a tecniche alternative, come filtri adattivi, il filtro di Wiener e il filtro di Bayes. I filtri adattivi assumono che il segnale e l'artefatto siano scorrelati e regolano dinamicamente i coefficienti adattandosi alle caratteristiche dell'artefatto, attraverso un algoritmo di ottimizzazione [15]. Il filtro di Bayes, invece, è una tecnica di predizione, che usa il segnale registrato per stimare lo stato dell'EEG basandosi sulla probabilità [15]. Il filtro di Wiener, infine, è una tecnica parametrica, basata su un approccio statistico, che produce un filtro lineare tempo-invariante il quale minimizza l'errore quadratico medio tra il segnale stimato e quello originale [16]. Oltre ai filtri, esistono numerose tecniche per la rimozione di artefatti e rumore, tra cui la regressione lineare, la separazione cieca delle sorgenti (BSS), le trasformate wavelet (WT), l'analisi delle componenti principali (PCA) e l'analisi delle componenti indipendenti (ICA).

Non esiste un metodo unico e universalmente ottimale per la rimozione degli artefatti; la scelta dell'algoritmo più adatto dipende dal tipo di segnale EEG, dall'artefatto presente nella registrazione, dal livello di contaminazione e da altri fattori [16].

Capitolo 3

Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS)

La stimolazione magnetica transcranica è una tecnica neurofisiologica emergente per lo studio e la valutazione dello stato funzionale della corteccia cerebrale, con applicazioni in ricerca, terapia e diagnostica [17].

3.1 Principi di funzionamento TMS

La stimolazione magnetica transcranica (TMS) è una tecnica non invasiva per la stimolazione locale del cervello, in cui i neuroni corticali vengono attivati in maniera elettromagnetica. Viene applicato un campo magnetico tramite una bobina posizionata esternamente; la bobina magnetica induce delle correnti elettriche nella corteccia cerebrale, che a loro volta attivano i neuroni (Fig. 3.1).

La TMS si basa sul principio dell'induzione elettromagnetica: un impulso di corrente, breve e intenso ($\sim 5\text{kA}$), che passa in una bobina genera un campo magnetico di durata inferiore a 1 ms e intensità di circa 2 Tesla; a sua volta, questo campo magnetico induce un campo elettrico, la cui intensità è proporzionale alla velocità con cui varia la corrente nella bobina [18]. La relazione è formalmente espressa dalla legge di Faraday (1831):

$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (3.1)$$

dove \vec{E} è il campo elettrico indotto e \vec{B} il campo magnetico generato dalla bobina.

Se la bobina è posizionata sulla testa del soggetto, il campo magnetico attraversa, senza provocare dolore, il cuoio capelluto e il cranio, inducendo un campo elettrico nell'area cerebrale di interesse, che porta all'attivazione dei neuroni corticali. La TMS depolarizza sia i neuroni piramidali che gli interneuroni nella corteccia cerebrale, in base all'orientamento e all'intensità del flusso di corrente indotto nel tessuto corticale [19].

I dispositivi per la TMS comprendono due componenti principali: un generatore di impulsi e una bobina elettromagnetica posta sulla testa del soggetto, a contatto con il cuoio capelluto. Il generatore controlla la forma d'onda e l'ampiezza dell'impulso TMS, mentre il design e il posizionamento della bobina determinano la

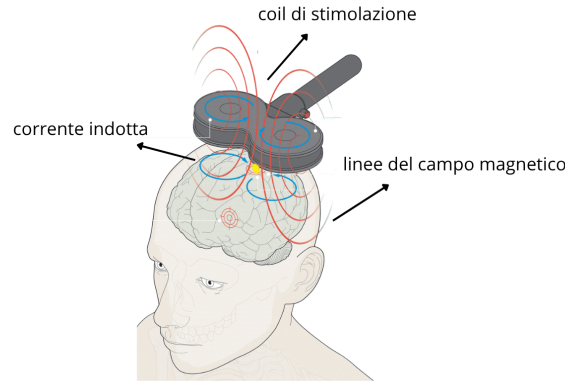


Figura 3.1: Stimolazione Magnetica Transcranica su soggetto.

distribuzione spaziale del campo elettrico indotto nel cervello [20]. Esiste poi un'unità di controllo che consente all'utente di selezionare i parametri e le tempistiche di stimolazione. Il generatore di impulsi contiene uno o più booster, ovvero condensatori in grado di accumulare energia e trasferirla in un tempo molto breve, consentendo una rapida variazione di corrente che massimizza l'induzione magnetica. In Fig. 3.2 è rappresentato lo schema circuitale di un dispositivo per TMS.

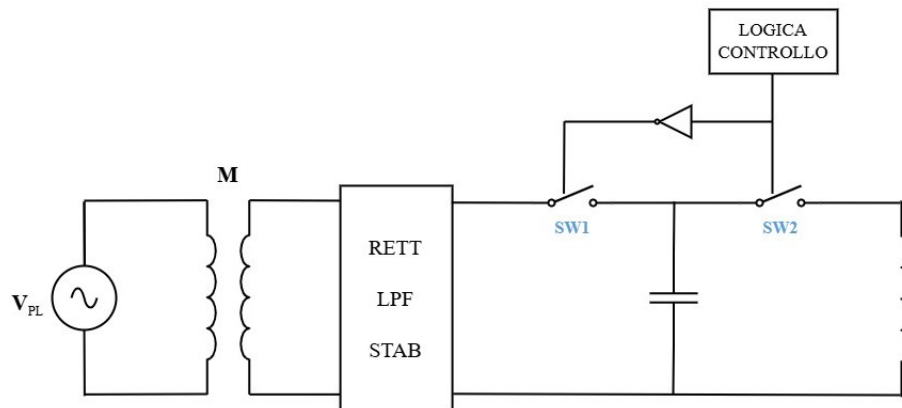


Figura 3.2: Schema circuitale dispositivo TMS

La tensione principale viene innalzata tramite il trasformatore M e successivamente rettificata (da alternata a continua). Il filtro passa-basso (LPF) e lo stabilizzatore regolano e mantengono costante il valore della tensione DC. È presente poi un condensatore, rappresentativo di un sistema di condensatori, che costituisce l'elemento di accumulo di energia. Il carico finale del circuito è invece rappresentato dalla bobina di stimolazione, modellizzata con un induttore. Il flusso di corrente è controllato dagli interruttori SW1 e SW2, pilotati dalla logica di controllo. Il funzionamento del circuito si alterna tra due stati principali: SW1 chiuso e SW2 aperto: il condensatore è collegato all'alimentazione stabilizzata e si carica; SW1 aperto e SW2 chiuso: il condensatore è collegato al carico e l'energia accumulata si scarica velocemente attraverso il circuito induttivo.

La bobina può avere forme diverse, e questo influisce sulle prestazioni della TMS. Il design più semplice è la *bobina circolare*, formata da un singolo avvolgimento. La stimolazione risultante da questo tipo di bobina è poco focalizzata e di dimensioni comparabili a quelle dell'avvolgimento. Un'altra possibile configurazione è la *bobina a 8 o a farfalla*, in cui due coil circolari sono affiancati, con la corrente che scorre in direzioni opposte nei due avvolgimenti. Questo tipo di bobina è il più utilizzato, in quanto permette di avere un campo elettrico indotto molto maggiore e più focalizzato in corrispondenza dell'intersezione tra i due anelli della bobina, come mostrato in Fig. 3.3. Una variazione della bobina a forma di 8 è la *bobina a doppio cono*, dove i due anelli presentano un diametro maggiore, in modo da aumentare la profondità della stimolazione. Inoltre, gli anelli sono inclinati, per migliorare l'accoppiamento del campo magnetico con il cervello [20].

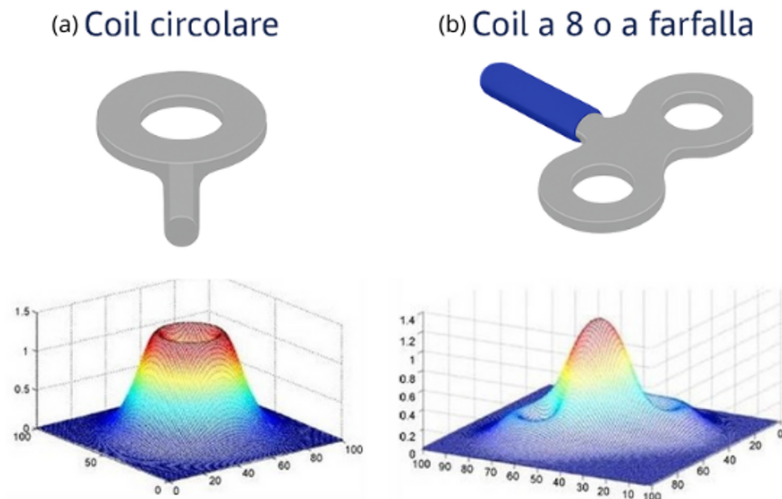


Figura 3.3: Coil di stimolazione TMS e distribuzione di campo elettrico nel tessuto.

L'intensità massima del campo elettrico indotto dalla TMS è sempre superficiale e diminuisce rapidamente all'aumentare della distanza dal punto di stimolazione. Inoltre, il campo elettrico generato da bobine focalizzanti si attenua più velocemente rispetto a quello non focalizzato, risultando in un compromesso tra la profondità della stimolazione e la precisione spaziale della focalizzazione [20]. Tuttavia, l'attivazione trans-sinaptica dei neuroni su cui gli assoni eccitati incidono indurrà correnti postsinaptiche che provocano un'eccitazione o inibizione secondaria delle strutture connesse più profonde. I potenziali postsinaptici sono soggetti a sommatoria spaziale e temporale. Se la sommatoria è sufficientemente ampia, le correnti postsinaptiche daranno luogo a un segnale EEG misurabile [21].

3.2 Protocolli di stimolazione

Esistono diversi protocolli di stimolazione TMS, che hanno reso la tecnica applicabile a diversi ambiti. Tra questi metodi troviamo la TMS a singolo impulso e a coppia

di impulsi, utilizzati principalmente come strumento di diagnosi o ricerca, e la TMS ripetitiva, che invece ha un obiettivo terapeutico ottenuto principalmente attraverso effetti inibitori ed eccitatori [22].

- **Singolo impulso:** la TMS a singolo impulso consiste in una serie di impulsi singoli che produce risposte istantanee i cui effetti decadono immediatamente. Si possono misurare l'ampiezza e la latenza della risposta e utilizzare i risultati come strumento di diagnostica o di indagine. Una delle principali applicazioni è nel campo motorio: il potenziale motorio indotto (MEP) è un potenziale che si può suscitare in un'area della corteccia motoria, che genera una contrazione del muscolo controlaterale. In patologie come la sclerosi multipla, ad esempio, la risposta arriva con una latenza maggiore rispetto ai soggetti sani.
- **Coppia di impulsi (Paired-Pulse TMS):** la stimolazione TMS a coppia di impulsi si compone di impulsi appaiati separati da un intervallo variabile, che serve ad aumentare l'entità della risposta. Come nel caso precedente, vengono tendenzialmente usati come strumento di indagine o diagnosi. Una delle principali applicazioni è la misura dell'integrità delle connessioni neurali per individuare traumi, patologie del motoneurone, tumori e lesioni. Si possono sfruttare anche per la mappatura della corteccia cerebrale.
- **Stimolazione ripetitiva (rTMS):** la stimolazione TMS ripetitiva consiste in un treno di impulsi a bassa o ad alta frequenza. A bassa frequenza, in particolare per frequenze minori di 1 Hz, si ha un effetto inibitorio. Per frequenze maggiori di 2-5 Hz si ha un effetto eccitatorio. Si tratta di una tipologia di stimolazione usata come strumento di tipo riabilitativo: sfrutta la modulazione dell'eccitabilità corticale indotta dalla stimolazione ripetitiva e il suo effetto nel comportamento delle reti neurali.

3.3 Effetti della TMS

Le correnti elettriche indotte nel cervello dalla TMS possono provocare una depolarizzazione delle membrane neuronali, causando l'apertura dei canali ionici voltaggio-dipendenti e portando alla generazione di potenziali d'azione. Le attivazioni sinaptiche che ne derivano, sia eccitatorie che inibitorie, si riflettono direttamente nel segnale EEG, che registra la distribuzione delle correnti post-sinaptiche, permettendo di studiare gli effetti corticali della stimolazione magnetica [23].

In termini di energia richiesta, la stimolazione magnetica è generalmente un metodo poco efficiente per ottenere una risposta neuronale, rispetto alla stimolazione elettrica transcranica (TES), in quanto richiede alta potenza per raggiungere la soglia di attivazione [20]. La TMS, tuttavia, ha il vantaggio importante di essere tollerabile: il cranio è essenzialmente trasparente al campo magnetico, perciò il cuoio capelluto non viene praticamente stimolato. Di conseguenza, la TMS è generalmente indolore e non è necessaria anestesia. Questo consente al paziente di essere lucido durante le sedute sperimentali e può essere incluso svolgendo dei task assegnati.

La stimolazione con TMS produce delle risposte caratteristiche nell'EEG, chiamate TMS-Evoked Potentials (TEPs), che possono durare fino a 300 ms. I potenziali

evocati dalla TMS si ottengono isolando le risposte elettroencefalografiche sincronizzate con la TMS e appaiono come una forma d'onda complessa, composta da una serie di picchi e valli a latenze specifiche. Ognuno di questi viene nominato con una lettera, N o P, che indica la polarità (negativa o positiva), e un numero, che corrisponde alla latenza approssimativa della registrazione (in ms) [24]. Le ampiezze e latenze dei TEP permettono di studiare le funzioni di specifiche strutture e percorsi corticali, in condizioni sia fisiologiche che patologiche.

Una delle applicazioni maggiormente utilizzate della TMS è lo **studio dell'area motoria primaria**: se lo stimolo magnetico viene emesso sulla corteccia primaria, con intensità adeguata, viene indotta una risposta elettromiografica, detta potenziale evocato motorio (MEP), che può essere registrata dal muscolo controlaterale al sito di stimolazione [17]. Questo è utile, ad esempio, per normalizzare l'intensità della stimolazione in base alla soglia di attivazione individuale del soggetto, definita come l'ampiezza minima che evoca una risposta motoria da un muscolo periferico (spesso il pollice) [20]. Successivamente, la TMS è anche stata usata per la stimolazione di aree corticali non motorie, la cui risposta deve essere misurata direttamente dal cervello. È stato dimostrato che influenza sia l'attività delle aree sottostanti il coil, ma anche le strutture corticali distanti dal sito di stimolazione, probabilmente attraverso connessioni sinaptiche e circuiti neuronali [17]. Questo principio è alla base di numerose applicazioni cliniche, tra cui il trattamento della depressione maggiore, il disturbo ossessivo-compulsivo, le emicranie, la riabilitazione post-ictus e il controllo del dolore cronico [25].

La co-registrazione del segnale EEG, ad alta risoluzione temporale, con la TMS permette di studiare l'evoluzione temporale delle componenti attivate dalla stimolazione, permettendo così di valutare non solo la reazione evocata direttamente, ma anche la distribuzione temporale e spaziale del campo magnetico [17].

3.4 Artefatti

L'integrazione della stimolazione magnetica transcranica con l'elettroencefalografia permette di studiare in tempo reale gli effetti della stimolazione. Tuttavia, la registrazione dell'EEG durante la TMS può risultare tecnicamente complessa, in quanto influenzata da una serie di artefatti, fisiologici e strumentali, in aggiunta alle tipiche sorgenti di rumore presenti nell'EEG.

L'artefatto maggiormente indotto dalla stimolazione TMS è l'**artefatto elettromagnetico**. Questo artefatto nasce dall'impulso magnetico che induce correnti elettriche nei circuiti e nei cavi EEG. Ad esempio, un forte impulso magnetico (2-3 Tesla), genera un campo elettrico di 100 mV/mm, producendo picchi nel segnale EEG di ampiezza superiore di molti ordini di grandezza rispetto alla normale attività neurale [26]. Inoltre, essendo l'ampiezza del segnale dell'ordine di numerosi Volt, questo artefatto può portare alla saturazione dell'amplificatore dell'EEG, limitando l'uso dell'acquisizione simultanea EEG-TMS [21]. Per risolvere questo problema, è stata introdotta una nuova procedura di co-registrazione, in cui viene utilizzato un circuito sample-and-hold controllato dall'attivazione dell'impulso TMS: il segnale viene bloccato per alcuni millisecondi immediatamente dopo la stimolazione, in modo da evitare la saturazione dell'amplificatore e permettere la registrazione dell'EEG

successivo alla risposta neurale alla TMS. Bloccare gli amplificatori non permette di studiare, però, cosa accade durante e immediatamente dopo la stimolazione. Esiste perciò una categoria di amplificatori di nuova generazione, compatibili con la TMS, che permettono la registrazione continua del segnale EEG evitandone la saturazione grazie a un'ampia dinamica d'ingresso e componenti resistenti a variazioni magnetiche intense [27]. Questo artefatto è seguito da una componente lenta, chiamata *artefatto di decadimento* o *artefatto di scarica* che può essere costituito da diverse componenti di decadimento con costanti di tempo diverse. Gli impulsi elettromagnetici possono anche caricare capacità parassite che si scaricano e producono un artefatto a decadimento non esponenziale sul segnale registrato, che può durare diverse decine di ms. Ad esempio, la regione compresa tra l'area coperta dal gel conduttivo e lo spazio extracellulare ionico acquoso degli strati cutanei profondi, separati dallo strato corneo dell'epidermide che funge da dielettrico idrofobico, si comporta come un condensatore [28].

Un altro artefatto che deriva dalla strumentazione TMS è *l'artefatto da ricarica*, che si verifica quando il condensatore del dispositivo deve essere ricaricato dopo l'impulso. Questo artefatto può apparire come un picco, un brusco salto del segnale o un decadimento esponenziale, in base al dispositivo TMS usato. Negli stimolatori TMS più nuovi, la tempistica di ricarica del condensatore può essere regolata manualmente; impostandola fuori dalla finestra temporale di interesse, l'artefatto da ricarica può essere ignorato [21].

Un artefatto comune di origine meccanica è quello da movimento di elettrodi, causato dal movimento dell'elettrodo contro il gel elettrolitico e di quest'ultimo contro la pelle. Può verificarsi per diversi motivi: la vibrazione del coil TMS trasmessa agli elettrodi tramite contatto diretto, la forza magnetica repulsiva causata dalla corrente elettrica indotta, movimenti della testa provocati dall'impulso magnetico, l'operatore o la bobina che tocca gli elettrodi [21].

Esistono poi degli artefatti fisiologici, che rientrano nei segnali non desiderati e possono confondersi con i TEP, rendendo più difficile l'interpretazione. Uno dei più comuni è l'artefatto causato dal movimento degli occhi e dalla chiusura delle palpebre. I movimenti oculari possono essere spontanei o provocati dall'impulso TMS; i primi influenzano meno il segnale, in quanto non sono sincronizzati con l'attivazione della TMS, quindi indipendenti e più facilmente isolabili [21]. L'impulso TMS può anche attivare muscoli facciali o del cuoio capelluto, con conseguente registrazione di potenziali muscolari di grande ampiezza nel segnale EEG. La riduzione dell'intensità della TMS o l'uso di bobine più piccole e più focali può essere utile per ridurre l'artefatto muscolare [21]. Infine, la TMS attiva anche alcuni sistemi sensoriali, risultando in potenziali evocati sensoriali nell'EEG. In particolare, la scarica del coil della TMS provoca un rumore di *click*, che causa un potenziale evocato uditivo con una latenza che coincide con il picco del TEP in risposta alla stimolazione. Una possibile soluzione potrebbe essere far indossare al soggetto delle cuffie protettive che mascherino la componente uditiva del coil [19].

Il segnale più informativo in una forma d'onda TEP è l'attivazione corticale generata dall'impulso magnetico, priva di fonti di artefatti strumentali e fisiologici. Questo segnale, privo di interferenze, è ciò che può essere definito *TEP vero*. Viene

ottenuto quando le fonti indesiderate vengono completamente eliminate dai TEP, senza alterare il segnale corticale. Nella pratica, la maggior parte delle procedure esistenti mira a ottenere la migliore approssimazione di un *TEP vero*, riducendo l'influenza di artefatti sia durante l'acquisizione che l'analisi dei dati [24].

3.5 Strategie per la rimozione dell'artefatto elettromagnetico

In letteratura sono presenti diverse strategie per la rimozione, o meglio l'attenuazione, dell'artefatto da stimolo TMS:

- **Strategie basate sul set-up sperimentale:** mirano a ridurre gli artefatti agendo sulla strumentazione e sul protocollo sperimentale, prima della registrazione del segnale.
 - **Posizionamento degli elettrodi rispetto al coil:** è stato dimostrato che se il coil ha direzione perpendicolare rispetto ai cavi EEG, l'artefatto viene particolarmente ridotto rispetto a quando il coil si trova in direzione parallela [29].
 - **Impedenza degli elettrodi:** è stato dimostrato che in condizioni di alta impedenza, il decadimento dell'artefatto è più lento e la sua ampiezza è due volte più grande rispetto alla condizione di bassa impedenza. Viene raccomandata generalmente una impedenza inferiore a $5\text{ k}\Omega$. Per ottenere una bassa impedenza dell'elettrodo la pelle deve essere pulita e applicare una pasta abrasiva, prima della pasta per elettrodi, può aiutare ulteriormente a ridurre la resistenza. Anche piccole perforazioni dell'epitelio sotto gli elettrodi possono ridurre l'artefatto [27].
 - **Rumore di fondo del sistema:** il sistema EEG deve essere caratterizzato da un basso livello di rumore. La stimolazione magnetica viene solitamente ripetuta decine di volte per aumentare il rapporto segnale-rumore [23].
- **Strategie software:** si tratta di tecniche di analisi offline del segnale EEG, proposte perché, anche avendo un ottimo assetto di acquisizione, rimane presente un artefatto residuo importante. Tecniche come i classici filtri, in questo caso specifico, risultano inefficaci.
 - **Independent Component Analysis (ICA):** lo studio delle componenti indipendenti viene utilizzato per separare il segnale cerebrale dall'artefatto, partendo dal presupposto che le registrazioni EEG sono una combinazione lineare di segnali generati da fonti statisticamente indipendenti [30].
 - **Sottrazione dell'artefatto attraverso un segnale di controllo:** viene sfruttata una condizione di controllo per ottenere un artefatto template da sottrarre ai segnali registrati. La condizione di controllo può essere

simulata con una stimolazione magnetica no-task [31], oppure attraverso l'utilizzo di un fantoccio [27].

- **Filtro di Kalman:** dati due modelli dinamici che descrivono la generazione dei segnali EEG e TMS, il filtro di Kalman è un filtro adattivo che applicato alla loro combinazione, permette di isolare il segnale EEG dall'artefatto [32].
- **Trasformata Wavelet:** consente di scomporre il segnale EEG in diverse bande di frequenza e di isolare le componenti associate all'artefatto [33].

L'artefatto TMS varia a seconda del soggetto, del tipo di esperimento e della qualità del segnale registrato, pertanto non esiste un'unica strategia che consenta di eliminare del tutto l'artefatto elettromagnetico.

Capitolo 4

Materiali e metodi

In questo capitolo sono descritti gli strumenti e le metodologie utilizzate per lo studio sperimentale, con riferimento all'acquisizione dei segnali EEG durante la stimolazione magnetica transcranica e alla successiva analisi svolta.

4.1 Strumentazione

4.1.1 Sistema EEG

Per l'acquisizione di segnali elettroencefalografici è stato utilizzato il **sistema eego™ hub** di Ant Neuro, composto dall'amplificatore ES-356 da ricerca (Fig. 4.1) e da un software per la visualizzazione e l'esportazione dei segnali registrati. Il sistema eego™ è progettato per la registrazione di segnali EEG ad alta densità; incorpora 128 canali di ingresso DC (configurazione referenziale) e un canale di ingresso parallelo per il trigger (TTL 7 bit), separato elettricamente dagli input EEG. Tutti gli ingressi sono schermati attivamente.



Figura 4.1: Amplificatore ES-356.

Le specifiche dell'amplificatore includono:

| Caratteristica | Valore |
|----------------------------|---------------------------|
| Risoluzione | 24 bit |
| Impedenza di ingresso | $> 1 \text{ G}\Omega$ |
| Rumore di ingresso | $< 1.0 \mu\text{V}_{RMS}$ |
| Frequenza di campionamento | fino a 16.384 Hz |
| Dinamica di ingresso | 150-1000 mV _{PP} |

Tabella 4.1: Specifiche tecniche dell'amplificatore eego™ ES-356.

Per la rilevazione dei segnali è stata impiegata una **cuffia EEG waveguard™ original** di Ant Neuro, compatibile con il sistema eego™ (Fig. 4.2). La cuffia è dotata di 128 elettrodi, costituiti da pin in Ag/AgCl sinterizzato e circondati da anelli stretti di silicone, organizzati secondo la configurazione ad alta densità 10-5, con elettrodo di riferimento CPz. Inoltre, sono inclusi degli elettrodi ad anello in Ag/AgCl pendenti dalla cuffia, per il ground e quattro canali oculari. La cuffia viene collegata all'amplificatore tramite un cavo schermato e 4 connettori di input.



Figura 4.2: Cuffia EEG waveguard™.

Dopo il posizionamento della cuffia, è possibile controllare la qualità del contatto elettrodo-cute tramite una funzione del software eego™ che calcola le impedenze in tempo reale. Per acquisire dei buoni segnali, è necessario che la resistenza di connessione tra elettrodo e cute sia bassa, perciò è stato impiegato un **gel elettroconduttivo Neurgel** per migliorare il contatto. Il gel ad alta conducibilità è composto principalmente da acqua, glicerina e cloruro di sodio. Viene inserito all'interno dell'anello di silicone degli elettrodi a pin e negli elettrodi ad anello tramite una siringa.

Il software eego™ controlla completamente tutte le impostazioni dell'amplificatore, visualizza i dati in entrata e gestisce l'archiviazione dei dati. L'accesso al database con tutte le registrazioni è previsto per la revisione offline e l'esportazione dei dati.

La Fig. 4.3 mostra una rappresentazione schematica del sistema EEG, comprensivo di amplificatore, cuffia e computer con software di acquisizione.

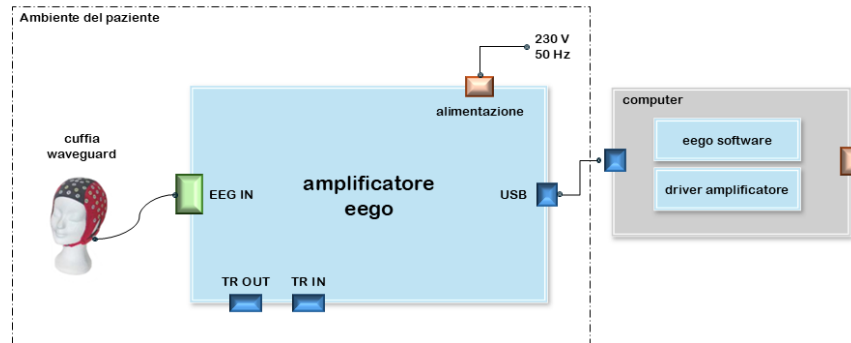


Figura 4.3: Schema sistema eegoTM.

4.1.2 Stimolatore TMS

La stimolazione magnetica è stata effettuata con lo **stimolatore MagPro R30** di MagVenture, illustrato schematicamente in Fig. 4.4a e mostrato in Fig. 4.4b.

Il MagPro R30 pesa 36 kg, è alto 102 cm ed è progettato per la stimolazione cerebrale non invasiva del sistema nervoso centrale e/o periferico. Tramite cavi appositi, è possibile combinare e controllare dispositivi esterni mediante i trigger di ingresso e uscita. Durante gli esperimenti, è stato realizzato un collegamento tra stimolatore MagPro e sistema eegoTM tramite un cavo dedicato, che trasmette un segnale di trigger analogico all'amplificatore con una tensione a 5V; in questo modo, ogni impulso di stimolazione viene marcato temporalmente nei dati EEG, facilitando la successiva analisi.

Il dispositivo consente sia la somministrazione di stimoli singoli, sia la configurazione di protocolli temporizzati, adattabili all'applicazione specifica. In particolare, il dispositivo è uno stimolatore potente ed efficace e può operare fino a una frequenza di stimolazione di 30 pps (impulsi al secondo).

Dall'interfaccia principale è possibile monitorare i seguenti parametri:

- Ampiezza: livello di potenza in uscita, espresso in percentuale rispetto alla potenza massima erogabile;
- Rapporto di/dt reale: valore effettivo misurato ($A/\mu s$) del gradiente di corrente della bobina;
- Stato della bobina: funzione di attivazione/disattivazione della bobina;
- Temperatura bobina: valore reale di temperatura misurato durante la stimolazione. La temperatura di funzionamento deve stare tra i 10 e i 30 °C;
- Tipo di bobina collegata al connettore: rilevato automaticamente dal sistema;

- Stimoli disponibili: numero di impulsi residui calcolato in base alla temperatura, al tipo di bobina e all'ampiezza impostata.

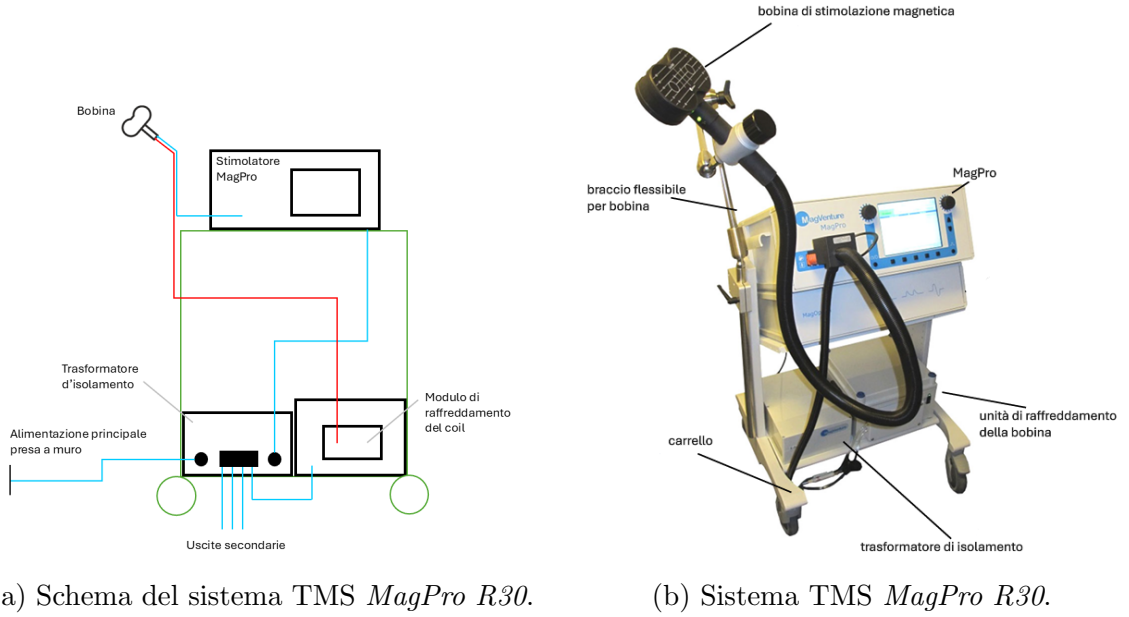


Figura 4.4: Schema e immagine del sistema di stimolazione magnetica transcranica *MagPro R30*.

La forma d'onda utilizzata in tutte le prove sperimentali è di tipo bifasico, l'unica consentita dallo stimolatore *MagPro R30*; è adatta a stimolazioni ripetitive, in quanto la bobina assorbe un quantitativo minore di energia, quindi è in grado di fornire molte stimolazioni prima di surriscaldarsi. L'impulso di corrente segue una sinusoide completa, con periodo di $280 \mu\text{s}$, illustrata in Fig. 4.5. In seguito alla stimolazione vi è una pausa di $200 \mu\text{s}$ e successivamente un tempo di ricarica di 10 ms .

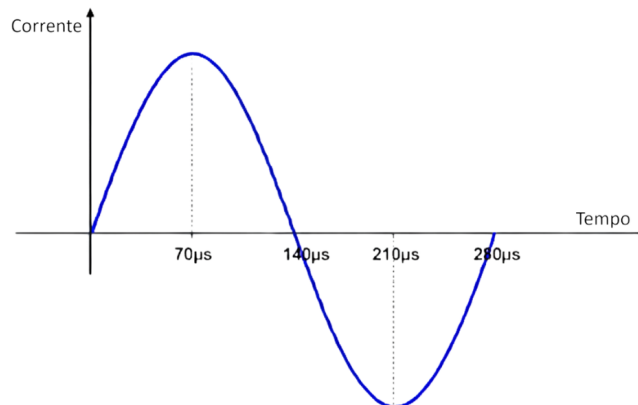


Figura 4.5: Forma d'onda bifasica dell'impulso di corrente nella bobina.

Allo stimolatore è stata collegata la **bobina a farfalla D-B80** (MagVenture), mostrata in Fig. 4.6. Il design a farfalla aperta permette una stimolazione potente



Figura 4.6: Bobina D-B80, vista dall'alto e anteriormente.

e la superficie piegata consente di seguire al meglio le curvature della testa. La bobina presenta le caratteristiche tecniche specificate nella tabella (Tab. 4.2).

Proprietà meccaniche

| | |
|---------------------------------|--------|
| Peso della testa del conduttore | 0.9 kg |
| Lunghezza cavo | 1.7 m |
| Angolo | 120° |

Dati avvolgimento

| | |
|----------------------|---------|
| Diametro interno | 67 mm |
| Diametro esterno | 95 mm |
| Altezza avvolgimento | 12 mm |
| Numero spire | 2x(3+4) |

Proprietà elettriche e magnetiche

| | |
|---|-------------|
| Gradiente dB/dt al centro della bobina a 20 mm di distanza dalla superficie della bobina | 12 kT/s |
| Gradiente dB/dt al centro della bobina a 40 mm di distanza dalla superficie della bobina | 6 kT/s |
| Durata dell'impulso (bifasico) | 280 μ s |

Prestazioni

| | |
|--|-----|
| Numero di stimolazioni erogabili prima del raggiungimento della temperatura massima consentita a partire da una temperatura ambiente di 20 °C, ampiezza di stimolazione 75%, frequenza 1 pps e forma d'onda bifasica | 500 |
|--|-----|

Tabella 4.2: Dati tecnici bobina D-B80.

4.1.3 Neuronavigatore

Il **navigatore TMS Localite** è un sistema di supporto agli utenti TMS che consente un posizionamento preciso della bobina, in termini di target da stimolare e inclinazione. Il posizionamento può essere pianificato sulla base di dati di imaging medico o di coordinate/punti di riferimento anatomici generalizzati (ad es. basati su

set di dati MNI o sul sistema 10-20 utilizzato per l'elettroencefalogramma). Inoltre, il posizionamento della bobina può essere controllato in tempo reale, permettendo il monitoraggio del corretto posizionamento durante l'intera procedura di stimolazione, che può poi essere acquisito e salvato. Si tratta di uno strumento compatibile con stimolatori MagVenture MagPro, con possibilità di controllo diretto dei parametri di stimolazione.

Il navigator TMS Localite (Fig. 4.7) è un sistema completo composto da:

- Software.
- Piattaforma di navigazione: PC, monitor, tastiera, mouse, sistema di tracciamento ottico su carrello piroettante, interfaccia tecnica e pedaliera.
- Strumenti di navigazione: puntatore, tracker di riferimento per il paziente, tracker per le bobine TMS, piastra di calibrazione, sfere riflettenti.
- Accessori di navigazione: supporto e braccio per la bobina.

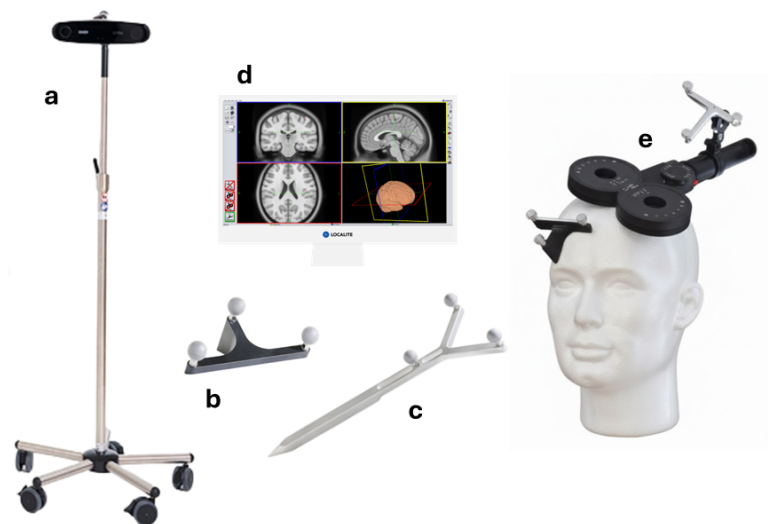


Figura 4.7: Navigatore TMS Localite con alcuni dei suoi componenti: a. camera CCD (sistema di tracciamento ottico), b. tracker di riferimento per il paziente, c. puntatore con tre sferette riflettenti, d. software di navigazione, e. tracker fissato alla bobina TMS posizionata sulla testa.

Il software di base fornisce varie funzioni per la pianificazione e la navigazione; permette di: gestire pazienti e sessioni, calibrare la bobina, fare segmentazione cerebrale, definire il sistema di coordinate, navigare col coil TMS in varie visualizzazioni, registrare marker di stimolazione nelle posizioni del coil.

Per la navigazione, viene utilizzato un sistema di tracciamento ottico, basato su trasmettitori a infrarossi e telecamere CCD, in grado di rilevare la posizione e

l'orientamento degli oggetti di riferimento (tracker) nello spazio 3D. Ciascun tracker è dotato di almeno 3 sfere passive con superficie riflettente, che riflette i raggi infrarossi. I riflessi vengono catturati dalla telecamera CCD e utilizzati per determinare la posizione dei tracker come coordinate spaziali tramite un'elaborazione software. Un tracker di riferimento viene fissato alla fronte del paziente, tramite adesivi monouso, e la sua posizione rispetto alla testa non deve cambiare durante la navigazione. Un secondo tracker viene montato sulla bobina TMS attraverso un supporto sull'impugnatura; la bobina deve essere calibrata prima del posizionamento per la navigazione. È inoltre presente un puntatore, anch'esso provvisto di 3 sfere riflettenti, utilizzato per la scansione dei punti di riferimento anatomici e della superficie della testa. Per il corretto funzionamento del sistema, è importante che la camera di tracciamento sia allineata opportunamente, in modo che tutti gli strumenti rilevabili e le sfere dei tracker rientrino nel campo visivo, visualizzabile in tre prospettive differenti sul software di navigazione.

Le caratteristiche principali sono riassunte nella Tab. 4.3.

| Caratteristica | Descrizione |
|------------------------|---|
| Tecnologia | Sistema di tracciamento ottico a infrarossi basato su telecamere CCD |
| Telecamere compatibili | Polaris Vicra (P6) e Polaris Spectra (P7) |
| Numero minimo di sfere | 3 sfere passive riflettenti per ciascun tracker |
| Precisione teorica | < 0.35 mm |
| Campo visivo ottimale | 1 m (Vicra) – 1.8 m (Spectra) |
| Temperatura operativa | 10–30°C (Vicra), 10–40°C (Spectra) |
| Tempo di riscaldamento | Circa 2 minuti prima dell'uso |
| Allineamento ottimale | Piano del tracker perpendicolare all'asse ottico della camera |
| Utilizzo | Tracciamento in tempo reale di bobina, puntatore e riferimento paziente |

Tabella 4.3: Caratteristiche del sistema di tracciamento ottico del Localite TMS Navigator.

Il navigatore TMS utilizza i dati delle immagini mediche per calcolare un volume. Il software può utilizzare un set di dati anatomici individuali, ricavati da immagini MR-based derivate da dati MRI morfologici e/o funzionali. Se i dati delle singole immagini non sono disponibili, il sistema di navigazione può basarsi su un set di dati standard integrato (cervello medio T1 simmetrico simmetrico non lineare MNI ICBM152), che viene adattato e trasformato per adattarsi all'anatomia della testa del paziente. La trasformazione viene calcolata utilizzando dei punti di riferimento anatomici predefiniti e punti acquisiti sulla superficie della testa, che vengono scansionati tramite puntatore:

- nasion (radice nasale);
- angolo sinistro dell'occhio (esocantione sinistro);
- angolo destro dell'occhio (esocantione destro);
- punto anteriore sul canale uditivo sinistro (punto preauricolare sinistro);
- punto anteriore sul canale uditivo destro (punto preauricolare destro);

- inion (prominenza occipitale);
- superficie nella parte posteriore della testa per il calcolo del punto più posteriore;
- superficie nella parte superiore della testa per il calcolo del punto più alto.

Successivamente, i vari marker possono essere impostati per pianificare il punto di applicazione della bobina sulla testa (entrata) e il punto di stimolazione, manualmente o automaticamente. Può anche essere definita una rotazione per l'entrata, che aggiunge l'orientamento della bobina. Grazie al tracciamento ottico e alla navigazione, la stimolazione risulta accurata e ripetibile.

Nella tabella (Tab. 4.4) sono mostrate le specifiche tecniche generali.

| Parametro | Valore / Descrizione |
|---------------------------|---|
| Tensione di alimentazione | 230 VAC, 50 Hz |
| Consumo elettrico | 300 VA |
| Classe di protezione | Classe I |
| Grado di protezione | IP20 |
| Camera di tracciamento | 30 VDC, 1 A, 30 VA |
| Temperatura operativa | 18–23°C (ambiente) |
| Umidità relativa | Circa 30% |
| Pressione atmosferica | 70–106 kPa |
| Pedaliera | Protezione IPX8 |
| Connessione stimolatore | Interfaccia seriale (RS232 con isolatore) |
| Sistema operativo | PC dedicato con software Localite TMS Navigator 3.0 |

Tabella 4.4: Specifiche tecniche generali del sistema Localite TMS Navigator.

4.2 Protocolli sperimentali

Per lo sviluppo dello studio sull'interazione TMS-EEG sono stati definiti diversi protocolli sperimentali, volti alla caratterizzazione dell'artefatto elettromagnetico indotto dalla stimolazione.

4.2.1 Prove preliminari

Il primo protocollo sperimentale è stato sviluppato basandosi su protocolli standard descritti in letteratura, con caratteristiche simili a quelle impiegate in clinica. Lo schema della sequenza degli step condotti durante le prove preliminari è mostrato in Fig. 4.8. Lo studio ha coinvolto 10 soggetti sani (6 maschi e 4 femmine) con età media pari a 23.4 ± 2.7 anni e mano dominante destra. Tutti i partecipanti hanno preso parte volontariamente allo studio e hanno firmato un consenso informato, contenente informazioni sull'obiettivo, la modalità di svolgimento e i possibili rischi associati alla prova. Prima dell'inizio della sessione sperimentale, è stata inoltre verificata l'assenza di controindicazioni alla stimolazione con TMS e alla registrazione di segnale EEG tramite un questionario di idoneità apposito. Tale modulo

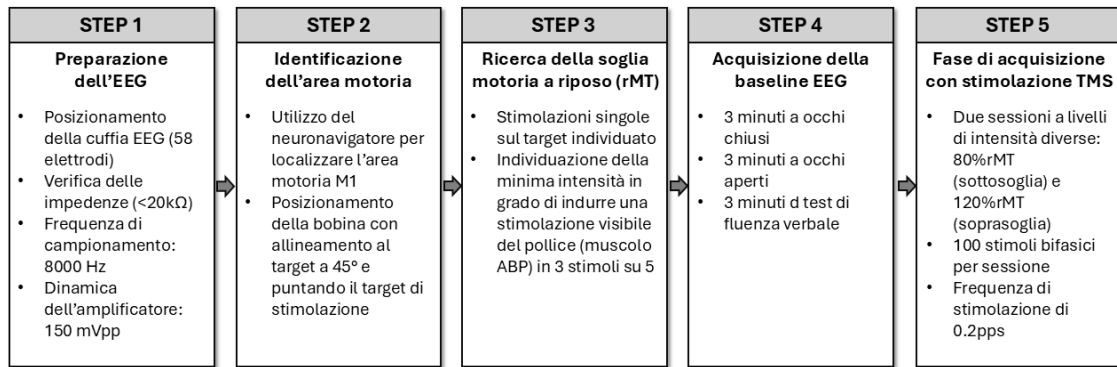


Figura 4.8: Schema della sequenza degli step condotti durante le prove preliminari.

conteneva domande mirate a stabilire se il soggetto presentasse delle condizioni per le quali la sicurezza e l'efficacia della stimolazione magnetica non fossero accertate, come ad esempio episodi di epilessia o convulsioni, traumi cerebrali, presenza di parti metalliche nel cranio o in altre parti del corpo, o l'essere portatore di impianti cocleari, neurostimolatori o pacemaker. Il consenso informato e il questionario di idoneità forniti ai soggetti sono riportati in Appendice A.

Set-up sperimentale

Il soggetto è stato fatto sedere comodamente su una sedia, con un supporto per la testa in modo che potesse rimanere ferma il più possibile. Per attenuare il *click* acustico della stimolazione sono stati forniti dei tappi auricolari.

Dopo aver posizionato correttamente la cuffia EEG sulla testa del soggetto, gli elettrodi sono stati preparati con gel conduttivo, verificando che l'impedenza di ogni canale fosse inferiore a 20 kΩ, in modo da garantire un buon contatto elettrodo-cutanea. Sono stati selezionati 58 canali EEG distribuiti uniformemente sullo scalpo, con elettrodo di riferimento CPz e ground posizionato dietro l'orecchio, in una zona elettricamente neutra. La Fig. 4.9 mostra la funzione del software eegoTM per la misura delle impedenze degli elettrodi utilizzati, evidenziando in verde i contatti con resistenza locale minore di 20 kΩ. Dopo aver selezionato le impostazioni software desiderate (frequenza di campionamento, dinamica, canali), il segnale EEG può essere visualizzato in tempo reale.

Successivamente, mediante il neuronavigatore, è stato creato un modello tridimensionale della testa del soggetto. Per prima cosa sono stati selezionati e memorizzati i punti di repere anatomici necessari alla costruzione del modello, elencati nella sezione 4.1.3. All'interno del modello, è stata identificata l'area motoria nell'emisfero controlaterale alla mano dominante (Fig. 4.10). La bobina per la TMS, dopo un'iniziale calibrazione, viene quindi posizionata nella zona indicata, orientata con un'inclinazione di 45°. Siccome l'area motoria è molto piccola e varia tra individui, viene ricercato manualmente il punto *hot-spot* personale in cui la stimolazione provoca la contrazione massima del muscolo abduttore del pollice (APB), spostandosi leggermente dalla zona indicata dal navigatore. La contrazione risulta osservabile più facilmente se il muscolo è pre-attivato, in quanto la soglia motoria si abbassa, perciò è richiesto di tenere il pollice in tensione durante la ricerca della posizione

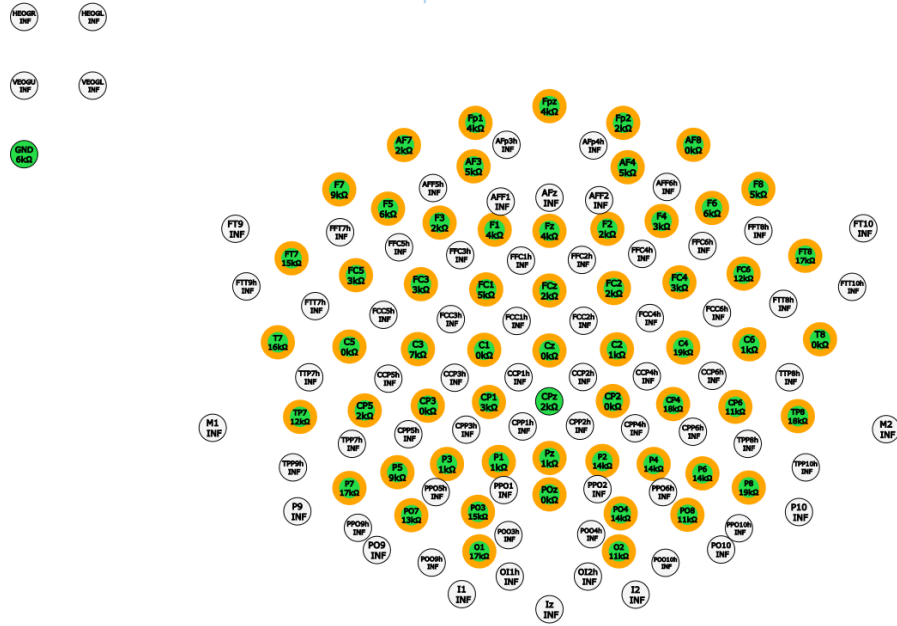


Figura 4.9: Impedenze degli elettrodi su software eego™.

ottimale. Le coordinate spaziali del punto individuato possono essere salvate nel software del neuronavigatore, in modo che la bobina venga sempre posizionata e orientata correttamente e che venga mantenuta allineata al target durante tutta la prova sperimentale.

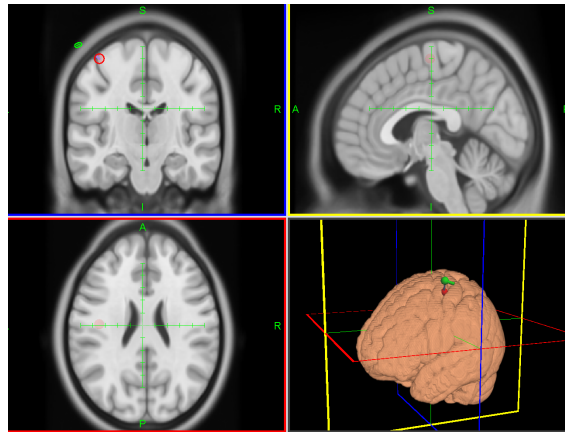


Figura 4.10: Modello della testa e indicazione della posizione di M1 e della bobina, sull'interfaccia del neuronavigatore.

Una volta identificata l'area motoria del soggetto, viene cercata la **soglia motoria a riposo (rMT)** individuale, valutando visivamente la contrazione del muscolo APB. L'individuazione della soglia motoria ha lo scopo di determinare il livello minimo di stimolazione necessario per indurre la contrazione ripetuta del pollice. È stata utilizzata la seguente procedura standard:

1. Stimolazione sull'area motoria M1 contro-laterale alla mano dominante.

2. Applicazione di stimoli singoli ad un'intensità del 70%, in modo da garantire una stimolazione sopra il livello di soglia motoria. In questo caso il muscolo del pollice deve essere rilassato, per individuare il livello di soglia a riposo.
3. Riduzione graduale dell'intensità di stimolazione, mantenendo tra gli impulsi degli intervalli di durata casuale, non inferiore a 3 s.

La soglia motoria è definita come l'intensità di stimolazione in grado di indurre una contrazione muscolare visibile in 3 stimoli su 5 successivi. Nei dieci partecipanti analizzati, la rMT media è risultata pari a $44\% \pm 3\%$.

L'allestimento del set-up sperimentale, mostrato in Fig. 4.11, comprensivo della preparazione degli elettrodi e della ricerca della soglia motoria tramite neuronavigatore, ha richiesto circa 45 minuti per soggetto.



Figura 4.11: Soggetto pronto per iniziare l'acquisizione EEG con stimolazione TMS.

Protocollo di acquisizione

Il protocollo di acquisizione è costituito da due fasi consecutive: una prima parte di registrazione di un segnale di baseline e una parte successiva di registrazione EEG durante la stimolazione TMS. L'acquisizione dei segnali EEG è stata eseguita con una frequenza di campionamento di 8000 Hz e una dinamica dell'amplificatore pari a 150 mV_{pp} .

Il tracciato EEG è stato inizialmente acquisito senza stimolazione TMS, in modo da essere utilizzato come baseline. La registrazione è stata suddivisa in:

- 3 minuti a occhi chiusi;
- 3 minuti a occhi aperti, fissando una croce (bianca su sfondo nero) su uno schermo posto frontalmente ad altezza occhi;
- 3 minuti di task cognitivo: test di fluenza verbale, durante il quale è richiesto al soggetto di pensare a tutte le parole che iniziano con una data lettera.

Per la registrazione della baseline è stato utilizzato un video composto da 3 slides in sequenza, mostrate in Fig. 4.12. Ogni slide riportava le indicazioni che doveva eseguire il soggetto ed è stata mostrata per 3 minuti. Al termine dei primi 3 minuti è stato inserito un *bip acustico*, abbastanza rumoroso da essere sentito anche in presenza dei tappi per le orecchie, che indicava al soggetto di passare alla fase di apertura degli occhi.



Figura 4.12: Sequenza delle 3 slides mostrate al soggetto durante l'acquisizione EEG della baseline.

Nella seconda fase del protocollo, l'area motoria è stata stimolata, mentre il soggetto ha continuato a fissare la croce. La stimolazione ha previsto:

- due sessioni a livelli di intensità diverse: 80%rMT (sottosoglia) e 120%rMT (soprasoglia);
- l'erogazione di 100 stimoli bifasici per sessione;
- una frequenza di stimolazione di 0.2 pps (uno stimolo ogni 5 s).

La durata complessiva del protocollo di acquisizione è stata di circa 30 minuti per soggetto.

Le prove preliminari hanno messo in evidenza alcune criticità: sono stati quindi progettati ulteriori protocolli di approfondimento, per studiare e caratterizzare l'artefatto in diverse condizioni sperimentali, come descritto nelle sezioni seguenti.

4.2.2 Analisi di linearità

La prima prova aggiuntiva condotta è stata un'analisi di linearità, con l'obiettivo di individuare l'intensità di stimolazione minima in grado di causare la saturazione dell'amplificatore EEG. Lo studio è stato effettuato su un soggetto, registrando 18 canali, mostrati in Fig. 4.13, distribuiti uniformemente sulla superficie dello scalpo: Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, FC1, FC2, FC5, FC6, C3, C4, CP1, CP2, CP5, CP6, P3, P4, con riferimento in CPz e ground. Il set-up sperimentale iniziale, che comprende la preparazione del soggetto e degli elettrodi, è stato lo stesso utilizzato durante le prove preliminari. La bobina è stata posizionata in modo da centrare la stimolazione sull'elettrodo C3.

Sono stati erogati 50 impulsi per 15 ampiezze di stimolazione, crescenti da 1% a 15% , per un totale di 750 stimoli. Le impostazioni del software EEG selezionate erano:

- frequenza di campionamento: 16384 Hz;
- dinamica dell'amplificatore: 1000 mV_{pp}.

4.2.3 Analisi in assenza di saturazione

La prova in assenza di saturazione è stata condotta per studiare le caratteristiche dell'artefatto elettromagnetico *pulito*, in condizioni di amplificatore non saturo. Lo studio è stato fatto sia su un soggetto, lo stesso dell'analisi di linearità, che su un fantoccio.

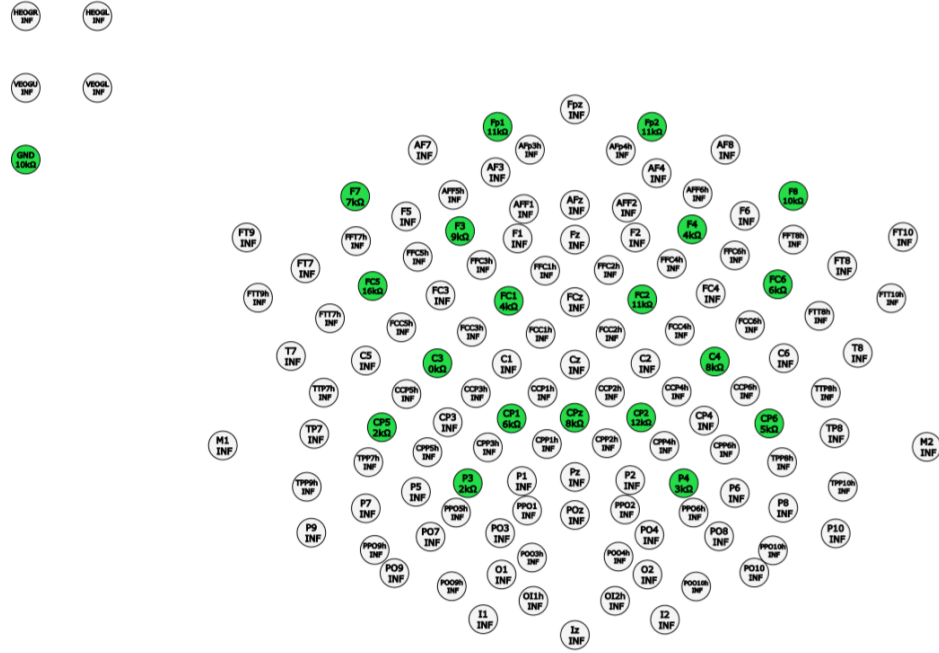


Figura 4.13: Configurazione canali EEG e valore delle impedenze.

Soggetto

Per il soggetto sono stati impiegati 18 canali di registrazione, analoghi a quelli della prova di linearità, con la stimolazione focalizzata sull'elettrodo C3.

Sono stati erogati 50 stimoli per condizione sperimentale, con le seguenti impostazioni di acquisizione:

- ampiezza di stimolazione: 1%;
- frequenze di campionamento: 2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz, 16384 Hz;
- dinamica dell'amplificatore: 1000 mV_{pp}.

Il set-up sperimentale è mostrato in Fig. 4.14.

Fantoccio

Il fantoccio è costituito da una testa di plastica, sulla quale è stato posizionato un panno imbevuto di soluzione elettrolitica (acqua e sale) per garantire un contatto a bassa impedenza. L'acquisizione è stata fatta tramite un singolo canale, C3, con riferimento CPz e ground. La bobina era centrata sull'elettrodo C3. Il set-up sperimentale è mostrato in Fig. 4.15.

Sono stati erogati 50 stimoli per sessione, con le seguenti impostazioni di acquisizione:

- ampiezza di stimolazione: 5% (un'intensità dell'1% non permetteva una buona analisi dei segnali);
- frequenze di campionamento: 2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz, 16384 Hz;
- dinamica dell'amplificatore: 1000 mV_{pp}.



Figura 4.14: Set-up sperimentale delle prove sul soggetto, con bobina centrata sull'elettrodo C3.



Figura 4.15: Set-up sperimentale del fantoccio con panno bagnato.

4.2.4 Analisi in presenza di saturazione

L'analisi in presenza di saturazione è stata condotta per analizzare l'artefatto elettromagnetico in condizioni simili a quelle utilizzate in clinica, ma variando diversi parametri. Sono state effettuate molteplici prove, su un soggetto e un fantoccio.

Soggetto

Per il soggetto sono stati impiegati i 18 canali di registrazione e la bobina è stata centrata per stimolare l'area corrispondente all'elettrodo C3. È stato utilizzato il valore di soglia motoria a riposo individuale determinato durante la prova preliminare dello stesso soggetto.

Sono stati erogati 50 stimoli per condizione (150 impulsi totali per sessione), con le seguenti impostazioni del software :

- ampiezze di stimolazione: 50% rMT, 80% rMT, 120% rMT, che nel soggetto in esame corrispondevano alle seguenti intensità: 24%, 38% e 56% (rMT = 47%);
- frequenze di campionamento: 2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz, 16384 Hz;
- dinamica dell'amplificatore: 150 mV_{pp}, 1000 mV_{pp}.

Fantoccio

La prova sul fantoccio, costituito dalla testa di plastica con il panno imbevuto di soluzione elettrolitica, è stata condotta acquisendo il canale C3, sul quale era centrata la stimolazione. Sono stati utilizzati gli stessi parametri della prova sul soggetto: intensità assoluta 24%, 38% e 56%, stesse frequenze di campionamento e stesse dinamiche dell'amplificatore.

4.3 Processing dei segnali

I segnali EEG registrati durante le prove sperimentali sono stati elaborati offline, per estrarre ed analizzare le caratteristiche significative dell'artefatto elettromagnetico in base alle varie condizioni di acquisizione.

Per l'elaborazione dei dati è stato utilizzato il linguaggio di programmazione Python, mediante la libreria MNE specifica per l'analisi e la visualizzazione di segnali cerebrali (EEG e MEG). MNE è una libreria open-source che fornisce un'implementazione robusta e validata delle principali procedure di processing, filtraggio, segmentazione e visualizzazione dei segnali EEG.

L'analisi è stata eseguita in più fasi sequenziali, che includono estrazione e pre-processing, segmentazione, riallineamento, caratterizzazione e visualizzazione. La pipeline di elaborazione dei segnali EEG, descritta in seguito, è rappresentata schematicamente in Fig. 4.16.

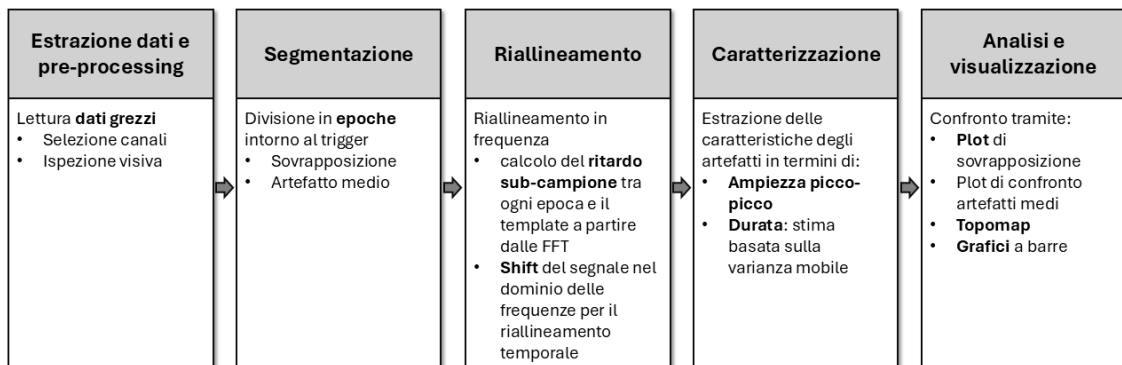


Figura 4.16: Pipeline di elaborazione segnali EEG.

Estrazione dati e pre-processing

I segnali EEG sono stati estratti dal software eegoTM in formato Brainvision (.eeg). Nelle prove preliminari, era stato utilizzato il formato EDF (European Data Format), ma questo ha causato un taglio nella dinamica del segnale.

A partire dai dati grezzi, è possibile selezionare i canali utilizzati nel montaggio della cuffia (Fig. 4.17) e visualizzarli a schermo, per una prima ispezione qualitativa.

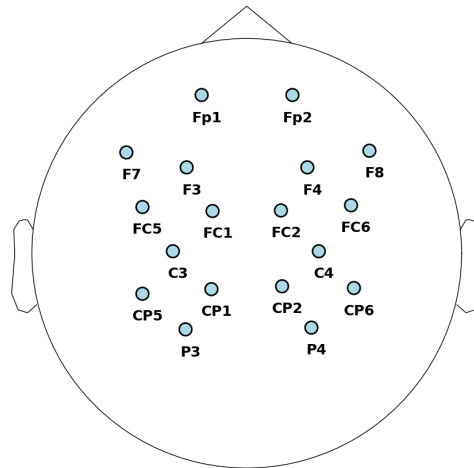


Figura 4.17: Rappresentazione topografica del montaggio personalizzato utilizzato nelle acquisizioni a 18 canali.

Segmentazione

I dati estratti dal sistema eegoTM includono anche le informazioni sui trigger; in particolare, sono presenti codici distinti per l'inizio e la fine della registrazione e per ogni impulso generato dallo stimolatore TMS. È quindi possibile filtrare i trigger di interesse, ottenendo un elenco di campioni sincronizzati con l'impulso. Attorno a questi punti, il segnale in ogni canale viene diviso in epoche: è stato considerato un intervallo da -0.01 s a 0.1 s intorno alla stimolazione. Tale intervallo di 110 ms consente di isolare bene la componente dell'artefatto elettromagnetico, che si manifesta in corrispondenza immediata dell'impulso.

L'estrazione delle epoche è stata effettuata mediante il modulo *mne.Epochs* di MNE-Python. Tale modulo permette di estrarre per ogni trigger una finestra temporale compresa tra un istante di inizio e un tempo finale generando un insieme di epoche allineate temporalmente all'istante dello stimolo. È possibile applicare una correzione della baseline pre-stimolo: l'opzione *baseline=(None,0)* consente di sottrarre per ciascuna epoca il valore medio del segnale nell'intervallo pre-stimolo ($t < 0$). Questa operazione è stata effettuata per confrontare gli artefatti solo in certe condizioni sperimentali, indicate in seguito.

Una volta che il segnale viene suddiviso in epoche, è possibile sovrapporle per studiare la variabilità dell'artefatto in stimoli successivi e estrarre l'artefatto medio tramite la media delle epoche (averaging).

Riallineamento

Un problema riscontrato nell'analisi EEG-TMS è la variabilità temporale dell'artefatto: se l'impulso TMS si verifica in un punto temporale casuale tra due campioni EEG, il primo campione EEG dopo la TMS catturerà l'artefatto in diverse posizioni, portando a una ridotta sovrapposizione dei tracciati delle epoche. È quindi possibile applicare ai segnali un riallineamento in frequenza con l'obiettivo di correggere la non perfetta sincronizzazione delle singole epoche. Il procedimento si basa su due fasi consecutive:

1. Calcolo del **ritardo sub-campione** tra epoche (funzione **delay**): per ogni epoca viene stimato il ritardo frazionario relativo a un'epoca di riferimento, analizzando la fase della trasformata di Fourier (FFT). Il metodo utilizza un algoritmo iterativo di Newton-Raphson per la determinazione dello sfasamento tra le due epoche con alta precisione.
2. **Shift frazionario** di ogni epoca (funzione **freshift**): una volta stimato il ritardo sub-campione per ogni epoca, viene applicato uno shift nel dominio delle frequenze per allinearle temporalmente. Per tale scopo, la FFT del segnale viene moltiplicata per un'esponenziale complessa $e^{j2\pi f\theta}$, che corrisponde a uno spostamento temporale di θ campioni.

Questo metodo è stato applicato per valutare la variabilità temporale dell'artefatto, tuttavia le analisi successive sono state condotte sui segnali originari per non introdurre ulteriori trasformazioni.

Caratterizzazione

L'analisi successiva consiste nell'estrazione delle caratteristiche degli artefatti in termini di ampiezza picco-picco e durata media.

L'**ampiezza picco-picco** (V_{pp}) rappresenta la differenza tra il valore massimo e il valore minimo di un segnale all'interno di una finestra temporale di analisi:

$$V_{pp} = V_{max} - V_{min} \quad (4.1)$$

Per ciascuna epoca è stato determinato il valore di ampiezza picco-picco dell'artefatto, quindi questi valori sono stati mediati per ottenere una stima complessiva in base alle diverse condizioni sperimentali.

La **durata** dell'artefatto è stata stimata implementando un metodo basato sulla varianza mobile del segnale, definita come:

$$\sigma^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 \quad (4.2)$$

dove N è il numero di campioni della finestra temporale, x_i è il valore del segnale al campione i e \bar{x} è la media del segnale all'interno della finestra. La lunghezza della finestra temporale viene adattata in base alla frequenza di campionamento del segnale, variando tra 2 ms (a 2000 Hz) e 0.6 ms (a 16384 Hz).

Inizialmente viene calcolata la varianza di baseline, considerando una porzione del tracciato precedente all'artefatto, da -0.01 s a -0.002 s prima del trigger. Su questa baseline, viene definita una soglia dinamica per il rilevamento della fine dell'artefatto, calcolata come:

$$\text{Soglia} = \mu_{\text{var_baseline}} + k \cdot \sigma_{\text{var_baseline}} \quad (4.3)$$

dove $\mu_{\text{var_baseline}}$ è la media della varianza di baseline, $\sigma_{\text{var_baseline}}$ la sua deviazione standard e k è un fattore moltiplicativo empirico ($k = 3$). La durata dell'artefatto è definita come il momento in cui la varianza del segnale ritorna sotto la soglia di baseline. Per ottenere una stima globale, viene calcolata la media della durata degli artefatti delle varie epoche.

Per quanto riguarda l'analisi di linearità, è stata svolta un'elaborazione aggiuntiva. Per definire quantitativamente il limite di linearità, è stata condotta un'analisi di regressione lineare progressiva tra l'ampiezza picco-picco media e l'intensità di stimolazione. In particolare, è stato calcolato il coefficiente di determinazione R^2 , indice della forza della relazione lineare tra le variabili analizzate. Il valore di R^2 è stato ottenuto includendo progressivamente un'intensità di stimolazione in più, ed è definito come:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_i (y_i - \bar{y})^2} \quad (4.4)$$

con y_i i valori reali della variabile indipendente (ampiezza picco-picco media), \hat{y}_i i valori predetti dal modello di regressione lineare e \bar{y} la media dei valori reali della variabile. Il valore soglia di $R^2=0.95$ è stato utilizzato per identificare il punto oltre al quale il comportamento dell'amplificatore non risulta più lineare.

Analisi e visualizzazione

Per facilitare l'interpretazione dei risultati e il confronto tra diverse condizioni sperimentali, i segnali sono stati rappresentati in diversi grafici temporali e mappe topografiche.

Le epoche vengono sovrapposte per evidenziare la variabilità temporale tra stimolazioni successive. Per confrontare differenti set-up sperimentali, invece, vengono mostrati gli artefatti medi sovrapposti in ciascuna condizione. Prima del confronto, alle epoche è stata applicata la correzione della baseline, al fine di rimuovere l'offset presente e rendere le diverse condizioni comparabili. Questa operazione permette di uniformare il livello di partenza delle epoche, garantendo che eventuali differenze osservate siano relative al segnale reale e non alla presenza di offset. Nella maggior parte dei casi, per queste analisi è stato preso in considerazione il canale C3, sul quale la stimolazione era centrata.

Le mappe topografiche rappresentano la distribuzione del segnale su tutto lo scalpo. Dunque, consentono di valutare visivamente l'influenza di certi parametri sperimentali considerando simultaneamente tutti i canali acquisiti.

Infine, i dati relativi ad ampiezza picco-picco e durata sono stati organizzati in tabelle riassuntive, boxplot e grafici a barre per facilitare un confronto quantitativo.

Capitolo 5

Risultati

In questo capitolo sono presentati i risultati principali ottenuti tramite le prove sperimentali precedentemente descritte. Le sezioni sono organizzate in accordo con i protocolli applicati, così da evidenziare il flusso del lavoro svolto sullo studio dell'artefatto indotto dalla stimolazione TMS.

5.1 Prove preliminari

Questa sezione include i risultati delle prove preliminari condotte su 10 soggetti sani. In Fig. 5.1 è mostrata la sovrapposizione di 100 epoche relative al canale C3 del segnale acquisito su un soggetto con rMT pari al 47% di intensità assoluta. L'ampiezza di stimolazione corrispondente è del 38% per le stimolazioni sottosoglia (80% rMT) e del 56% per quelle soprasoglia (120% rMT), la dinamica utilizzata è di 150 mV_{pp} e la frequenza di campionamento 8000 Hz. Si osservano due picchi principali, uno positivo e uno negativo, seguiti da un lento decadimento che riporta il segnale al livello di baseline pre-stimolo. I picchi dell'artefatto risultano non perfettamente allineati nel tempo e presentano variazioni in forma e ampiezza tra le diverse epoche. Per quanto riguarda la morfologia dell'artefatto, la maggior parte delle epoche presenta il picco inferiore troncato, in entrambe le condizioni di stimolazione. Sono stati calcolati i valori di ampiezza picco-picco e durata dell'artefatto per ogni soggetto, riportati nella tabella Tab. 5.1. I dati di un soggetto sono stati esclusi dall'analisi a causa dell'assenza dei trigger nel segnale registrato. La media inter-soggetto dell'ampiezza picco-picco risulta pari a 63.0 ± 1.6 mV per le stimolazioni sotto-soglia e 63.6 ± 1.9 mV per quelle soprasoglia. La durata media dell'artefatto è pari a 14.2 ± 5.3 ms e 20.3 ± 6.8 ms rispettivamente, evidenziando una maggiore durata temporale dell'artefatto a intensità di stimolazione più elevate e una moderata variabilità tra soggetti.

5.2 Analisi di linearità

L'analisi di linearità ha permesso di determinare il limite di ampiezza di stimolazione oltre il quale l'amplificatore entra in saturazione e perde linearità.

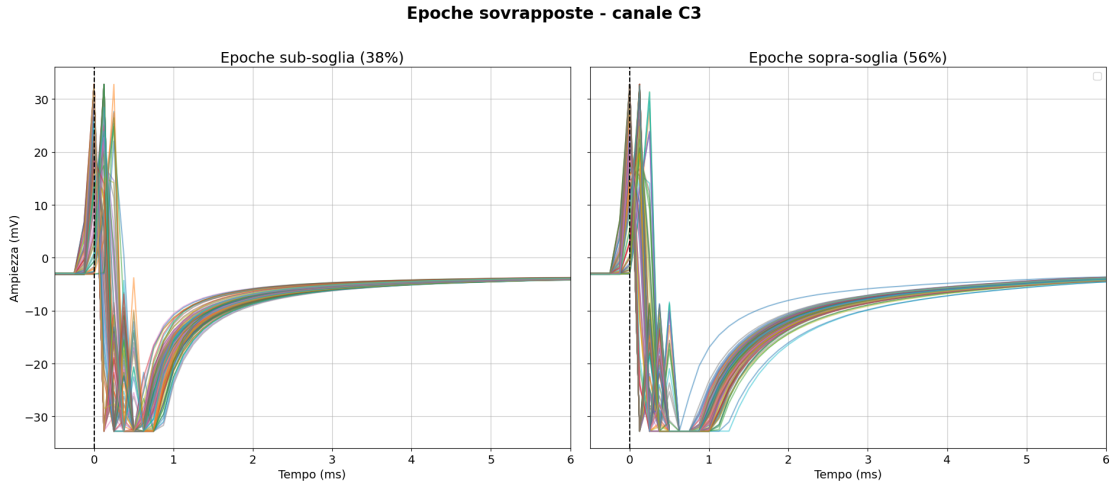


Figura 5.1: Prove preliminari, soggetto: sovrapposizione di 100 epoche del canale C3, con intensità 38% (sub-soglia, a sinistra) e 56% (sopra-soglia, a destra), dinamica 150 mV_{pp} e frequenza di campionamento 8000 Hz.

La Fig. 5.2 mostra la distribuzione delle ampiezze picco-picco delle epoche del canale C3 per ciascuna delle 15 ampiezze di stimolazione, con una rappresentazione tramite boxplot. L'ampiezza media dell'artefatto mostra un incremento evidente con l'aumento dell'intensità fino al 6%. Nei livelli successivi, la distribuzione si appiattisce e l'ampiezza picco-picco media si stabilizza intorno a ~ 1.0 V, corrispondente alla massima dinamica impostata sull'amplificatore.

Per definire quantitativamente il limite di linearità dell'amplificatore, è stata applicata la regressione lineare progressiva descritta nella sezione 4.3 di processing dei segnali. Il grafico in Fig. 5.3 mostra l'andamento del coefficiente di determinazione R^2 , calcolato includendo progressivamente un'intensità in più. Prendendo in considerazione una soglia di R^2 pari a 0.95, si osserva che il comportamento lineare risulta mantenuto fino al 6% di intensità e viene perso quando si include nella regressione la stimolazione di intensità 7%.

Infine, in Fig. 5.4 sono riportate le mappe topografiche relative a ciascun livello di intensità, costruite a partire dai valori di ampiezza picco-picco media di ogni canale selezionato. All'aumentare dell'ampiezza di stimolazione, si nota un aumento progressivo dell'ampiezza picco-picco dell'artefatto (fino al limite di linearità) e un'estensione della regione cerebrale interessata dalla stimolazione. Si osserva inoltre una diminuzione dell'ampiezza picco-picco con l'aumentare della distanza dal punto stimolato.

5.3 Risultati in assenza di saturazione

Per studiare le caratteristiche dell'artefatto in assenza di saturazione, le analisi sono state condotte utilizzando un'ampiezza di stimolazione minima, la dinamica massima dell'amplificatore e diverse frequenze di campionamento.

| Soggetto | rMT (%) | Ampiezza stim. | A _{pp} (mV) | Durata (ms) |
|-------------------|---------------|----------------|----------------------|-------------------|
| 1 | 46 | 80% rMT | 64.28 ± 2.30 | 21.01 ± 1.29 |
| | | 120% rMT | 64.21 ± 2.44 | 23.04 ± 1.32 |
| 2 | 41 | 80% rMT | 64.09 ± 2.93 | 7.21 ± 1.78 |
| | | 120% rMT | 65.26 ± 0.85 | 15.98 ± 3.21 |
| 3 | 41 | 80% rMT | 61.67 ± 4.16 | 10.48 ± 1.41 |
| | | 120% rMT | 61.83 ± 4.22 | 12.05 ± 1.52 |
| 4 | 39 | 80% rMT | 64.98 ± 1.35 | 12.63 ± 1.29 |
| | | 120% rMT | 64.78 ± 1.75 | 14.67 ± 1.61 |
| 5 | 44 | 80% rMT | 65.53 ± 0.00 | 12.97 ± 0.47 |
| | | 120% rMT | 65.53 ± 0.00 | 26.33 ± 5.12 |
| 6 | 45 | 80% rMT | 64.33 ± 2.18 | 24.63 ± 2.14 |
| | | 120% rMT | 62.77 ± 3.79 | 28.44 ± 1.32 |
| 7 | 47 | 80% rMT | 60.32 ± 5.57 | 10.86 ± 1.74 |
| | | 120% rMT | 61.07 ± 5.40 | 19.46 ± 1.51 |
| 8 | 42 | 80% rMT | 61.15 ± 5.62 | 13.16 ± 2.31 |
| | | 120% rMT | 60.07 ± 4.69 | 14.41 ± 0.56 |
| 9 | 48 | 80% rMT | 61.95 ± 4.62 | 8.14 ± 1.42 |
| | | 120% rMT | 62.52 ± 4.37 | 15.00 ± 8.77 |
| Media ± SD | 44 ± 3 | 80% rMT | 63.0 ± 1.6 | 14.2 ± 5.3 |
| | | 120% rMT | 63.6 ± 1.9 | 20.3 ± 6.8 |

Tabella 5.1: Prove preliminari: ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto per ciascun soggetto (n = 9), canale C3.

Il grafico in Fig. 5.5 mostra la sovrapposizione di 50 epoche relative al canale C3, acquisite con frequenza di campionamento pari a 16384 Hz. Si osserva che gli artefatti presentano i picchi non tagliati e non è presente alcun decadimento lento per il ritorno al livello di baseline. La morfologia è simile in tutte le epoche, ma queste risultano sfasate temporalmente tra loro. In Fig. 5.6 sono rappresentate le stesse epoche dopo l'applicazione delle funzioni di riallineamento, utilizzando come template l'artefatto della prima epoca. Dopo il riallineamento, i tracciati risultano più sovrapponibili. Il ritardo medio calcolato tra le epoche è risultato di 0.114 campioni, corrispondenti a 6.96 μ s.

Lo studio successivo riguarda l'analisi del segnale a diverse frequenze di campionamento. Il grafico in Fig. 5.7 mostra la sovrapposizione degli artefatti mediati su 50 epoche del canale C3, selezionato dai segnali acquisiti a 2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz e 16384 Hz. Al crescere della frequenza di campionamento, si registra un aumento dell'ampiezza picco-picco e una diminuzione della durata dell'artefatto medio. I risultati quantitativi sono mostrati nella tabella Tab. 5.2.

La stessa analisi è stata condotta utilizzando i dati acquisiti dal fantoccio, per

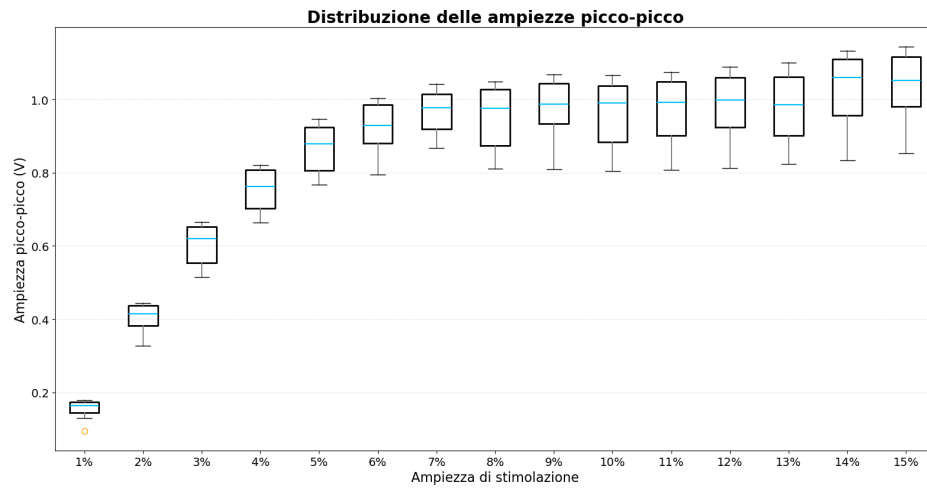


Figura 5.2: Distribuzione delle ampiezze picco-picco per 15 ampiezze di stimolazione, canale C3.

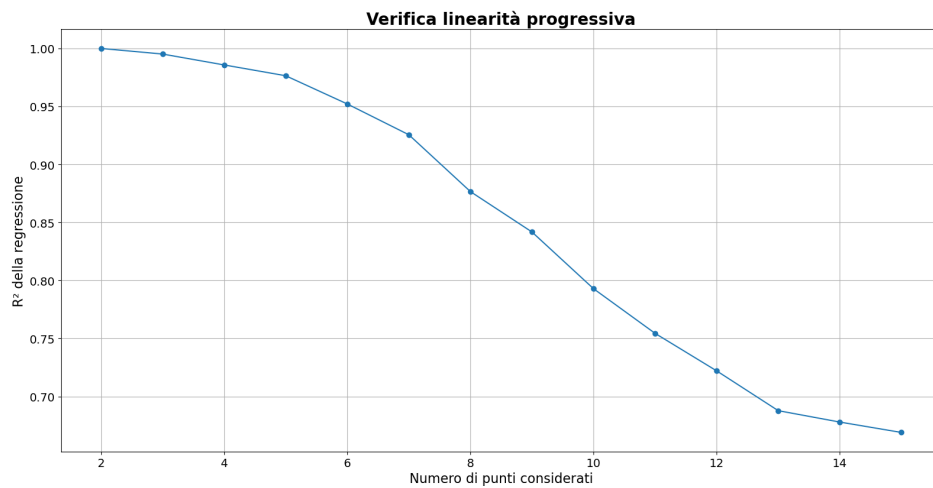


Figura 5.3: Andamento del coefficiente di determinazione R^2 calcolato tramite regressione lineare progressiva.

| Frequenza (Hz) | Ampiezza PP Media (mV) | Durata Media (ms) |
|-------------------|---------------------------|----------------------|
| 2000 | 2.73 ± 0.78 | 1.44 ± 0.31 |
| 4000 | 15.36 ± 3.33 | 0.93 ± 0.14 |
| 8000 | 66.59 ± 8.89 | 0.67 ± 0.13 |
| 16384 | 161.76 ± 14.43 | 0.52 ± 0.09 |

Tabella 5.2: Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto in funzione della frequenza di campionamento, canale C3 (soggetto, senza saturazione).

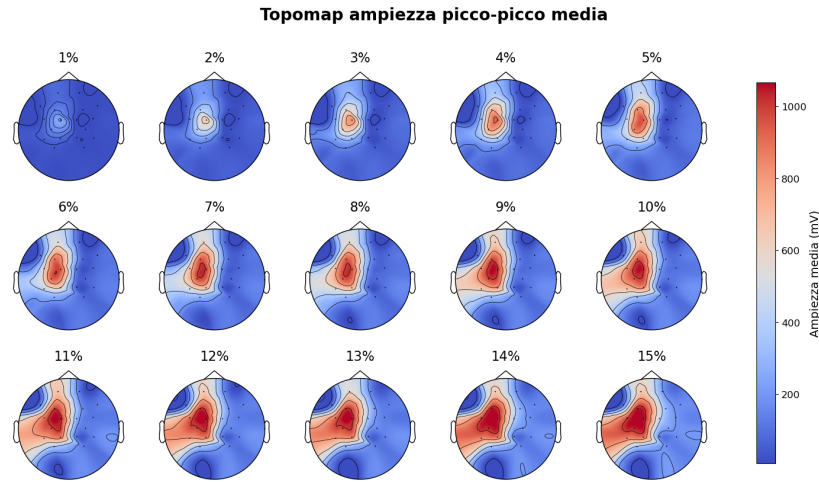


Figura 5.4: Topomap dell'ampiezza picco-picco media per le 15 ampiezze di stimolazione.

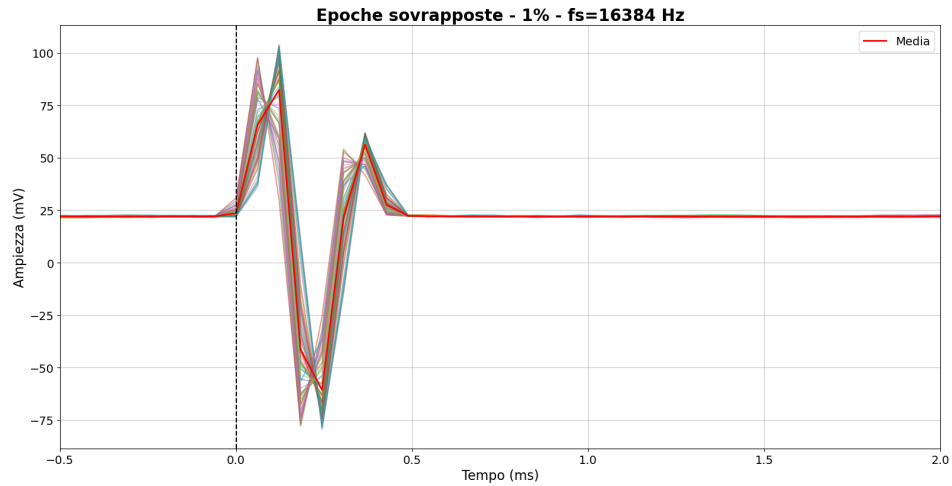


Figura 5.5: Soggetto, senza saturazione: sovrapposizione di 50 epoche del canale C3, con intensità 1%, frequenza di campionamento 16384 Hz e dinamica dell'amplificatore 1000 mV_{pp} .

verificare la riproducibilità dei risultati ottenuti in assenza di componenti biologiche. In Fig. 5.8 è mostrata la sovrapposizione degli artefatti medi a diverse frequenze di campionamento, mentre la tabella Tab. 5.3 presenta le analisi quantitative sull'ampiezza picco-picco media e la durata media degli artefatti, che confermano i risultati ottenuti dall'analisi sui dati del soggetto: la morfologia degli artefatti medi è simile, così come gli andamenti delle ampiezze picco-picco e delle durate.

Infine, i grafici in Fig. 5.9 e Fig. 5.10 presentano un confronto diretto tra soggetto e fantoccio. Il confronto non può essere fatto in termini assoluti, in quanto vengono prese in considerazione due ampiezze di stimolazione differenti ma entrambe

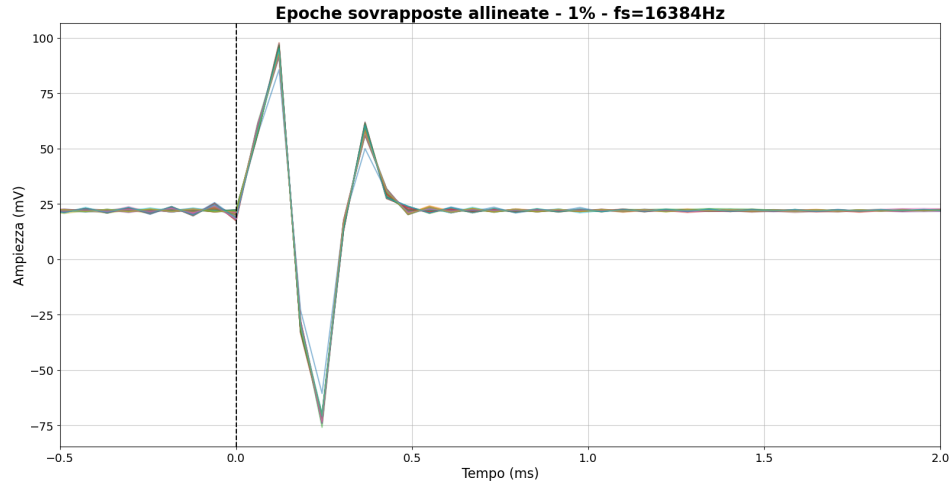


Figura 5.6: Soggetto, senza saturazione: sovrapposizione di 50 epoche riallineate del canale C3, con intensità 1%, frequenza di campionamento 16384 Hz e dinamica dell'amplificatore 1000 mV_{pp}.

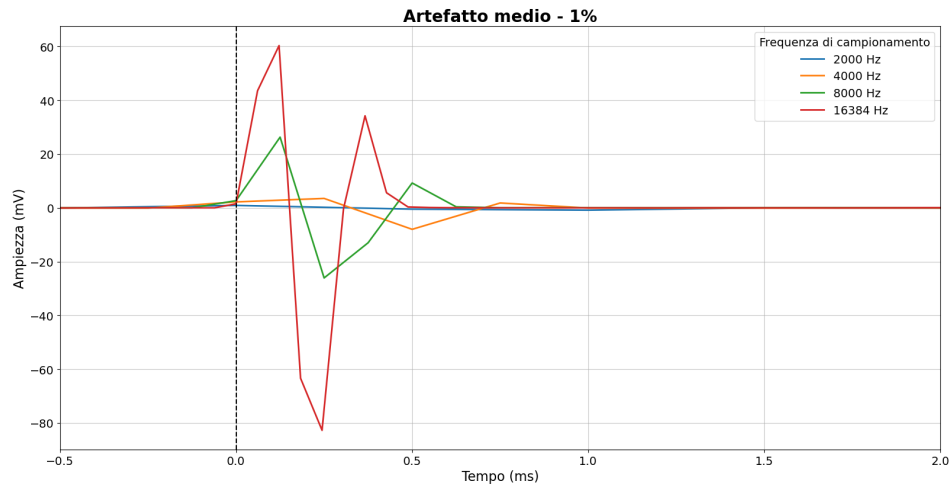


Figura 5.7: Soggetto, senza saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi del canale C3, intensità 1%, quattro frequenze di campionamento e dinamica 1000 mV_{pp}.

le condizioni mostrano lo stesso trend, con ampiezza crescente e durata decrescente all'aumentare della frequenza di campionamento.

5.4 Risultati in presenza di saturazione

La saturazione è stata analizzata su due dinamiche di ingresso (150 mV_{pp}, 1000 mV_{pp}), utilizzando ampiezze di stimolazione maggiori (50% rMT, 80% rMT, 120% rMT) e diverse frequenze di campionamento (2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz, 16384 Hz).

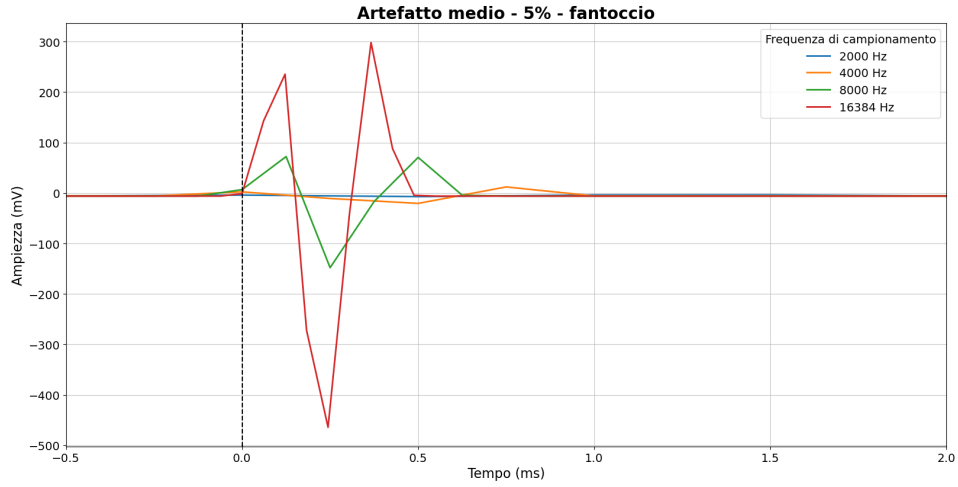


Figura 5.8: Fantoccio, senza saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi del canale C3, intensità 5%, quattro frequenze di campionamento e dinamica 1000 mV_{pp}.

| Frequenza (Hz) | Ampiezza PP Media (mV) | Durata Media (ms) |
|-------------------|---------------------------|----------------------|
| 2000 | 7.98 ± 2.45 | 1.81 ± 0.24 |
| 4000 | 52.11 ± 15.43 | 1.06 ± 0.30 |
| 8000 | 298.32 ± 53.34 | 0.69 ± 0.08 |
| 16384 | 797.59 ± 45.90 | 0.55 ± 0.06 |

Tabella 5.3: Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto in funzione della frequenza di campionamento, canale C3 (fantoccio, senza saturazione).

La presenza di saturazione risulta evidente dall'analisi dell'ampiezza picco-picco, che per le tre intensità di stimolazione analizzate è prossima al limite della dinamica impostata, come mostrato in Fig. 5.11.

In Fig. 5.12 è mostrata la sovrapposizione di 50 epoche del segnale acquisito con una frequenza di campionamento di 16384 Hz e un'ampiezza di stimolazione pari al 56%, confrontando le due dinamiche di ingresso dell'amplificatore per evidenziarne l'effetto sulla morfologia dell'artefatto.

Considerando gli artefatti medi, i grafici in Fig. 5.13 confermano che al crescere della frequenza di campionamento, anche in presenza di saturazione, l'ampiezza picco-picco aumenta e la durata diminuisce. Analizzando invece le diverse ampiezze di stimolazione si può notare che la durata dell'artefatto aumenta con l'intensità, come mostrato nelle Fig. 5.14, che rappresentano l'artefatto medio su C3 a tre intensità, con frequenza di campionamento 16384 Hz e dinamica 150 mV_{pp} e 1000 mV_{pp} rispettivamente. L'ampiezza picco-picco invece risulta pressoché la stessa, in quanto con tutte le ampiezze di stimolazione si raggiunge la saturazione. Morfologicamente, si può inoltre notare la presenza, in tutti i casi, di un decadimento del segnale dopo

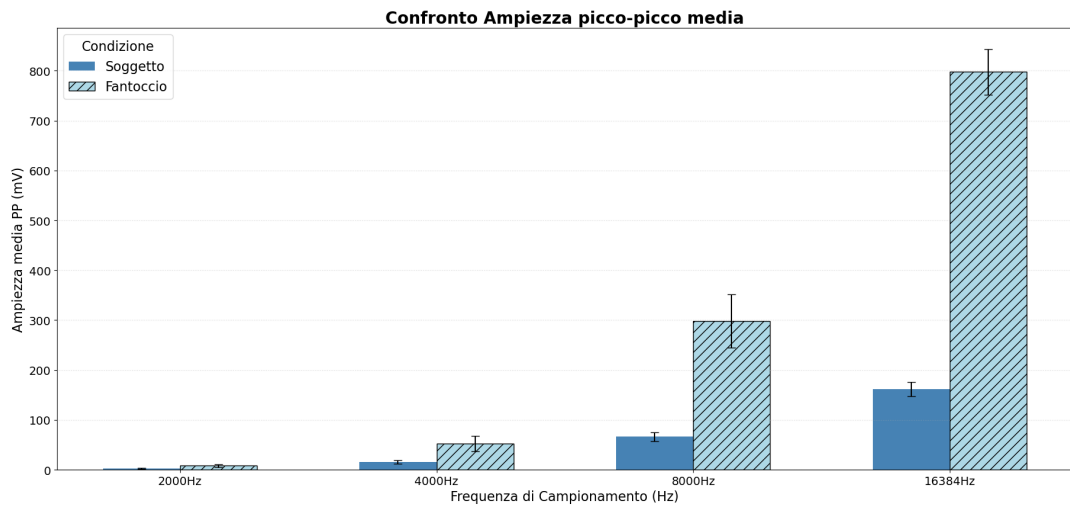


Figura 5.9: Confronto soggetto-fantoccio senza saturazione (canale C3, dinamica 1000 mV_{pp}, ampiezza 1% - 5%): ampiezza picco-picco media per frequenza di campionamento mostrata tramite grafico a barre.

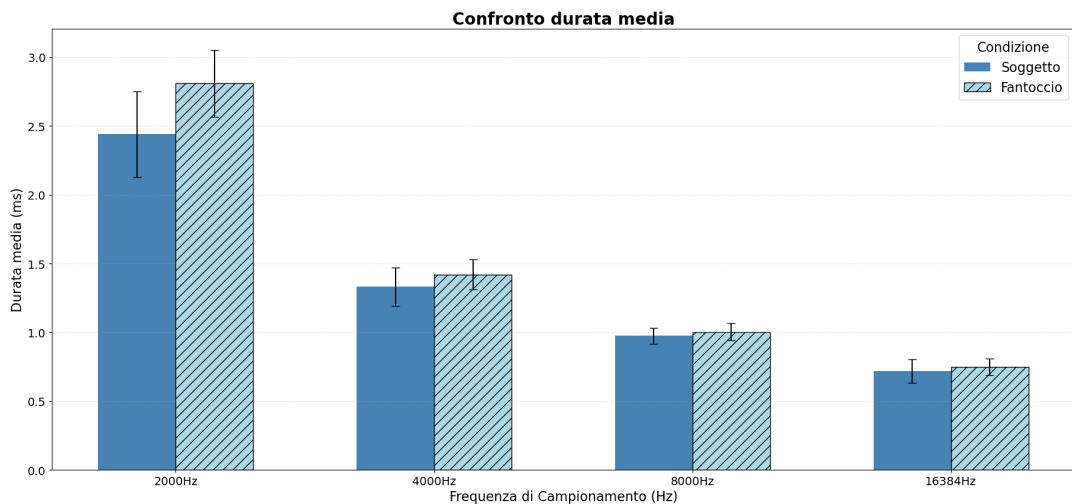


Figura 5.10: Confronto soggetto-fantoccio senza saturazione (canale C3, dinamica 1000 mV_{pp}, ampiezza 1% - 5%): durata media per frequenza di campionamento mostrata tramite grafico a barre.

lo stimolo, che dal picco negativo torna lentamente al valore di baseline, estendendo significativamente la durata complessiva dell'artefatto. Questo decadimento ha un'ampiezza maggiore per intensità di stimolazione maggiore, come si può osservare nel grafico in Fig. 5.14.

Le tabelle Tab. 5.4 e Tab. 5.5 riassumono quantitativamente i valori calcolati di ampiezza picco-picco e durata medi, in tutte le condizioni studiate sul soggetto.

Le prove sperimentali con saturazione sono state effettuate con le stesse modalità anche su un fantoccio. In Fig. 5.15 è mostrata la sovrapposizione degli artefatti

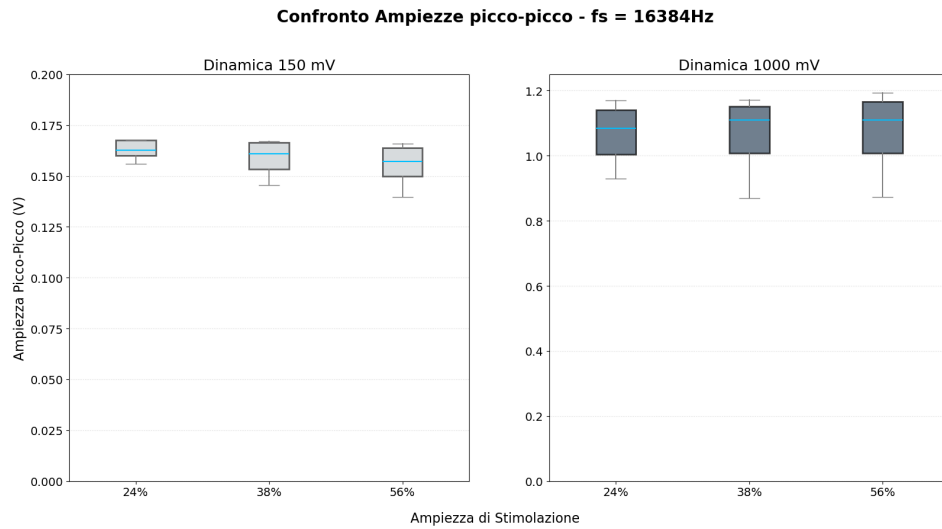


Figura 5.11: Soggetto, con saturazione: confronto tra dinamiche dell'ampiezza picco-picco per tre ampiezze di stimolazione (24%, 38%, 56%). Per una visualizzazione migliore, i due subplot sono rappresentati con una scala differente.

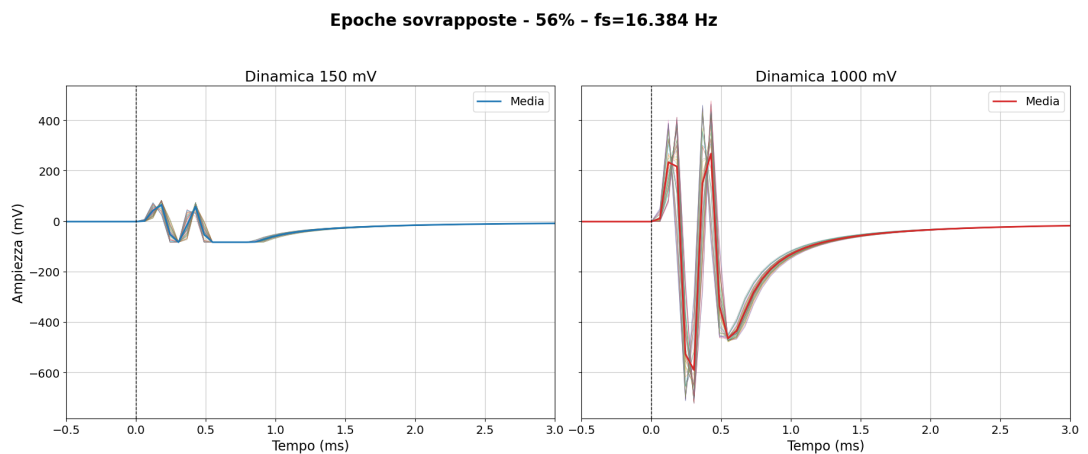


Figura 5.12: Soggetto, con saturazione: sovrapposizione di 50 epoche del canale C3, con intensità 56%, frequenza di campionamento 16384 Hz, due dinamiche di acquisizione (150 mV_{pp} a sinistra, 1000 mV_{pp} a destra).

medi relativi al canale C3, con ampiezza di stimolazione 56%, quattro frequenze di campionamento a confronto e due dinamiche di acquisizione. In Fig. 5.16 è rappresentata la sovrapposizione degli artefatti medi ottenuti con tre ampiezze di stimolazione, relativi al segnale acquisito su C3, con frequenza di campionamento pari a 16384 Hz, e due dinamiche dell'amplificatore. Si nota che i tre artefatti medi risultano pressoché sovrapponibili e che il decadimento, nel caso del fantoccio, risulta essere di ampiezza significativamente minore e evidente visivamente solo nel caso di dinamica a 150 mV_{pp}.

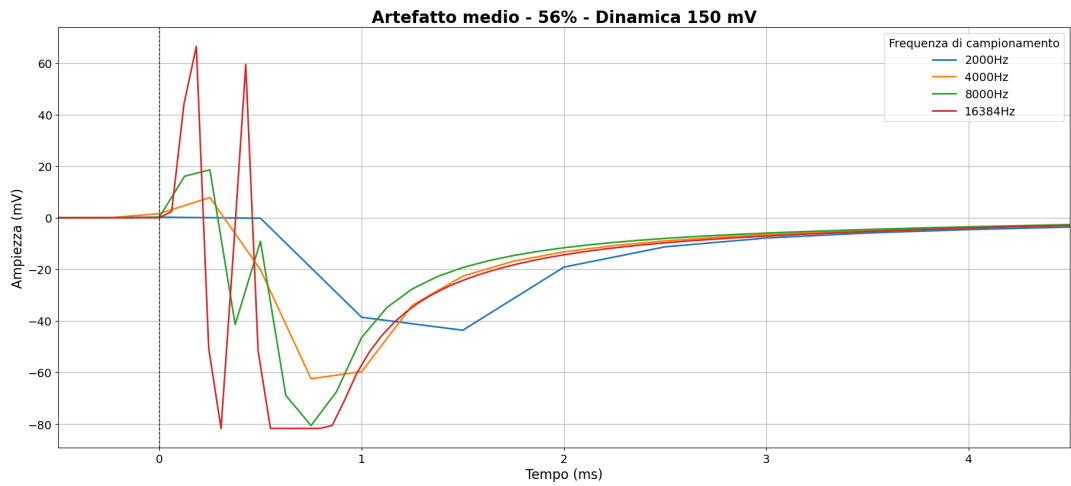
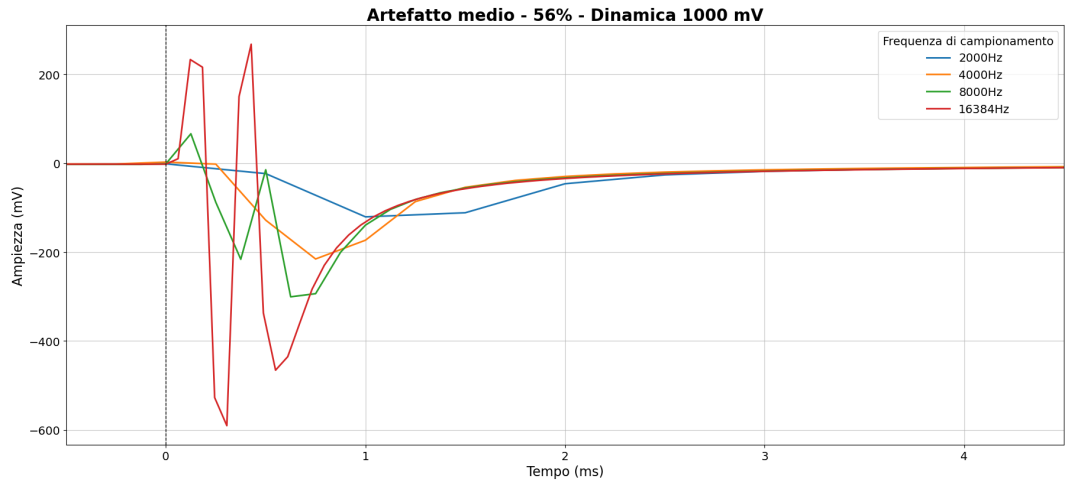
(a) Dinamica 150 mV_{pp}.(b) Dinamica 1000 mV_{pp}.

Figura 5.13: Soggetto, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, con intensità 56% e quattro frequenze di campionamento, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b).

Le tabelle Tab. 5.6 e Tab. 5.7 presentano i valori di ampiezza picco-picco e durata medi calcolati dai segnali acquisiti sul fantoccio, in ogni condizione sperimentale.

Per un confronto sulla morfologia dell'artefatto, i grafici in Fig. 5.17 mostrano la sovrapposizione degli artefatti medi su soggetto e fantoccio, acquisiti con gli stessi parametri di ampiezza di stimolazione, frequenza di campionamento e dinamica. È messa in evidenza la differenza di ampiezza del decadimento, che per il soggetto risulta molto maggiore, soprattutto ad intensità di stimolazione più alta.

La presenza del lento decadimento rende l'artefatto sul soggetto di durata maggiore rispetto a quello del fantoccio, dove tale componente è assente o notevolmente

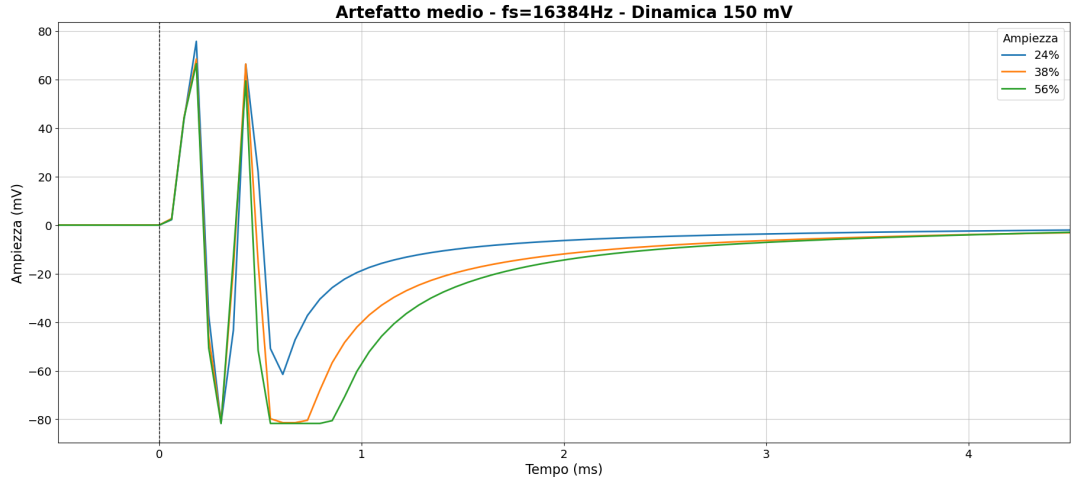
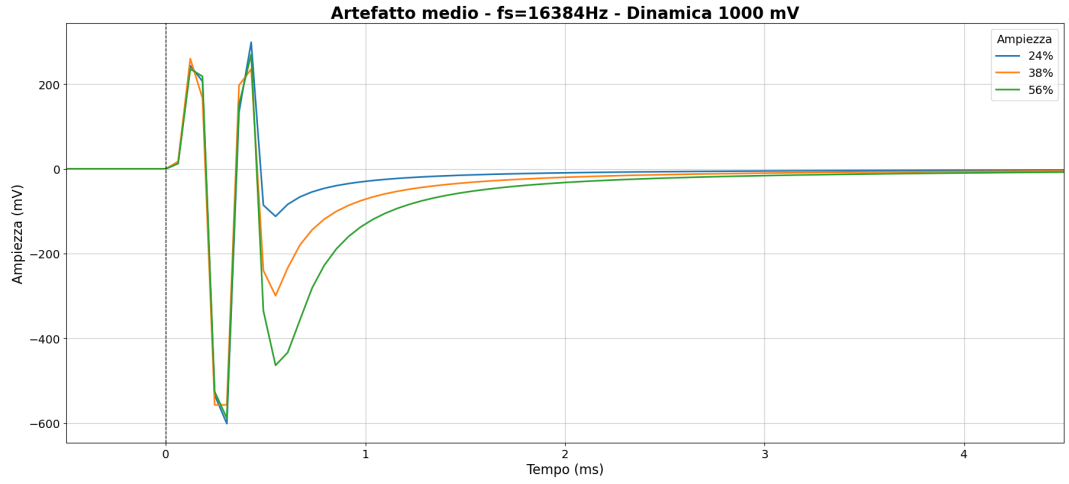
(a) Dinamica 150 mV_{pp}.(b) Dinamica 1000 mV_{pp}.

Figura 5.14: Soggetto, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, frequenza di campionamento 16384 Hz e tre intensità di stimolazione, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b).

ridotta. In Fig. 5.18 sono riportati i segnali medi sul canale C3 relativi alle quattro frequenze di campionamento, con ampiezza di stimolazione 56% e dinamica di acquisizione 1000 mV_{pp}, a confronto tra soggetto e fantoccio. É evidenziata la fine dell'artefatto calcolata dalla funzione descritta nella sezione 4.3 e si osserva come, in tutte le condizioni riportate, la durata risulti maggiore nel soggetto rispetto al fantoccio, riducendosi progressivamente al crescere della frequenza di campionamento in entrambi i casi. Per una valutazione quantitativa finale del confronto tra soggetto e fantoccio, il grafico a barre in Fig. 5.19 riporta la durata media dell'artefatto per ogni frequenza di campionamento e ampiezza analizzate, nel caso di dinamica

| Soggetto - Dinamica 150 mV _{pp} | | | |
|--|-----------------|-------------------------|----------------|
| Frequenza (Hz) | Ampiezza (%) | A _{pp} (mV) | Durata (ms) |
| 2000 | 24 | 13.56 ± 0.61 | 8.01 ± 0.82 |
| | 38 | 45.33 ± 2.84 | 8.04 ± 0.13 |
| | 56 | 49.19 ± 4.21 | 13.09 ± 2.33 |
| 4000 | 24 | 22.66 ± 2.37 | 6.43 ± 0.31 |
| | 38 | 61.99 ± 2.37 | 9.37 ± 1.91 |
| | 56 | 79.33 ± 1.61 | 14.01 ± 1.79 |
| 8000 | 24 | 77.77 ± 5.80 | 6.51 ± 0.25 |
| | 38 | 113.00 ± 7.97 | 6.88 ± 0.09 |
| | 56 | 112.30 ± 6.24 | 7.05 ± 1.44 |
| 16384 | 24 | 163.19 ± 4.00 | 4.86 ± 0.22 |
| | 38 | 159.46 ± 6.83 | 6.35 ± 0.21 |
| | 56 | 156.52 ± 8.27 | 5.44 ± 1.75 |

Tabella 5.4: Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 150 mV_{pp}, canale C3 (soggetto, con saturazione).

| Soggetto - Dinamica 1000 mV _{pp} | | | |
|---|-----------------|-------------------------|----------------|
| Frequenza (Hz) | Ampiezza (%) | A _{pp} (mV) | Durata (ms) |
| 2000 | 24 | 50.15 ± 2.97 | 7.47 ± 2.92 |
| | 38 | 73.58 ± 2.22 | 7.68 ± 0.26 |
| | 56 | 128.46 ± 6.75 | 9.78 ± 3.11 |
| 4000 | 24 | 110.42 ± 19.45 | 7.56 ± 0.35 |
| | 38 | 137.20 ± 10.74 | 7.43 ± 0.20 |
| | 56 | 237.38 ± 10.90 | 7.51 ± 0.42 |
| 8000 | 24 | 456.70 ± 74.29 | 7.11 ± 0.28 |
| | 38 | 459.94 ± 74.85 | 6.87 ± 0.19 |
| | 56 | 441.39 ± 23.96 | 7.69 ± 0.22 |
| 16384 | 24 | 1069.08 ± 79.29 | 3.68 ± 0.15 |
| | 38 | 1067.10 ± 97.84 | 4.47 ± 0.25 |
| | 56 | 1080.95 ± 91.37 | 5.56 ± 0.26 |

Tabella 5.5: Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 1000 mV_{pp}, canale C3 (soggetto, con saturazione).

1000 mV_{pp}.

Si sottolinea che la stima della durata fornita dalla funzione implementata in Python è influenzata da diversi fattori, come il livello di rumore, la stabilità del

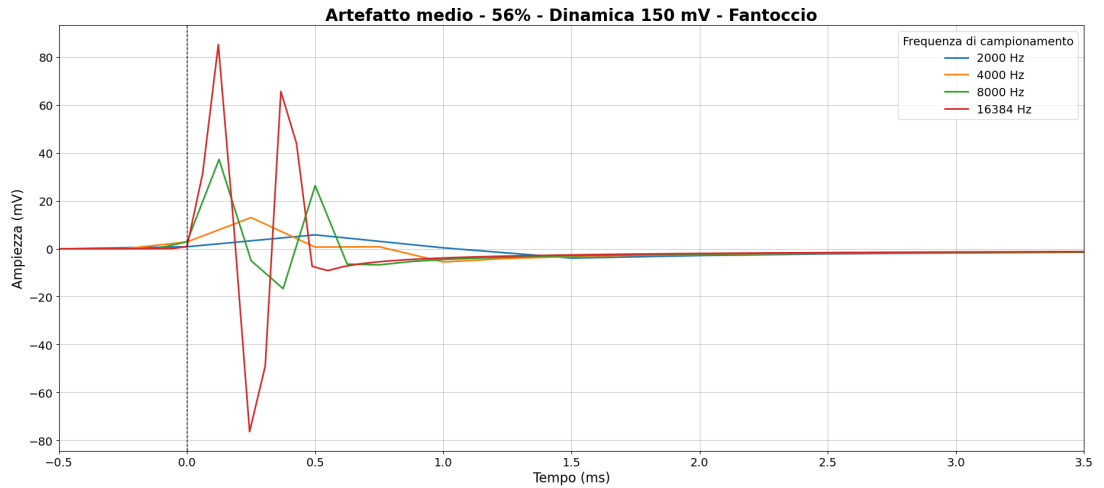
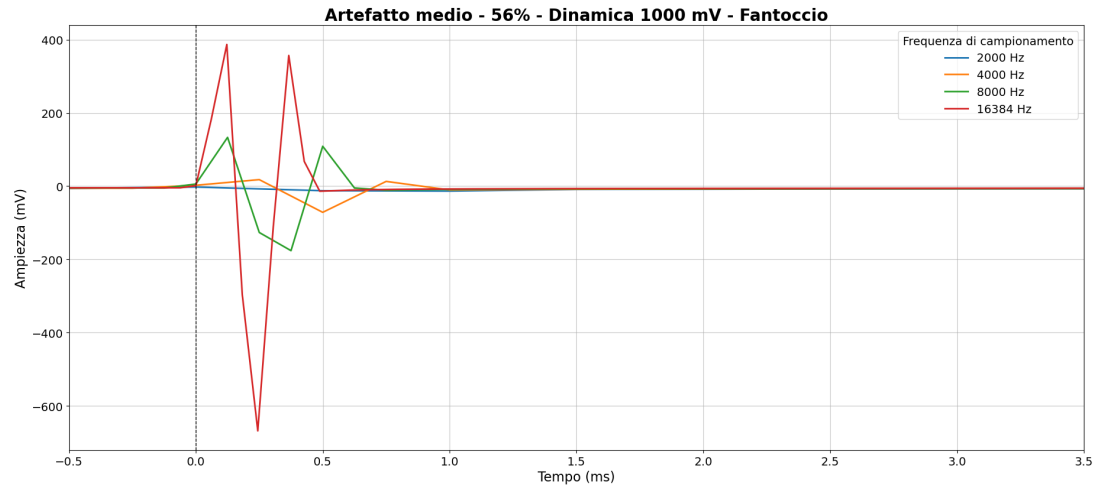
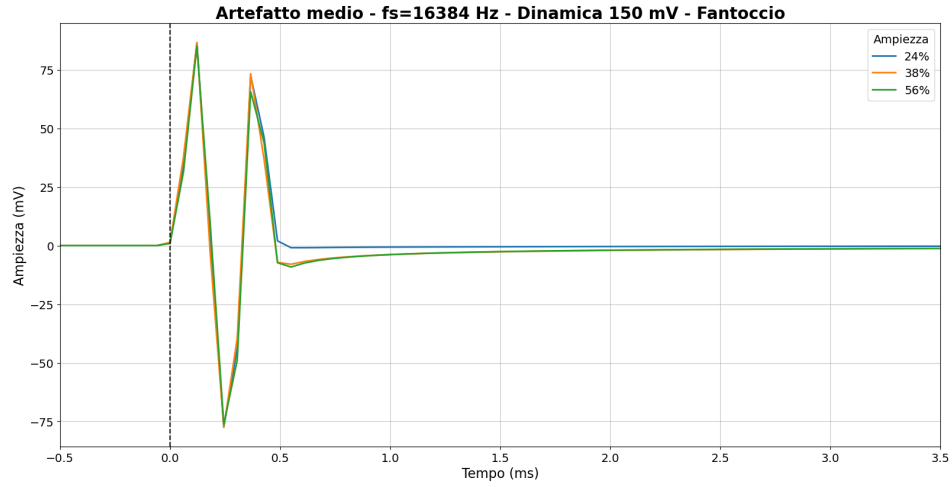
(a) Dinamica 150 mV_{pp}.(b) Dinamica 1000 mV_{pp}.

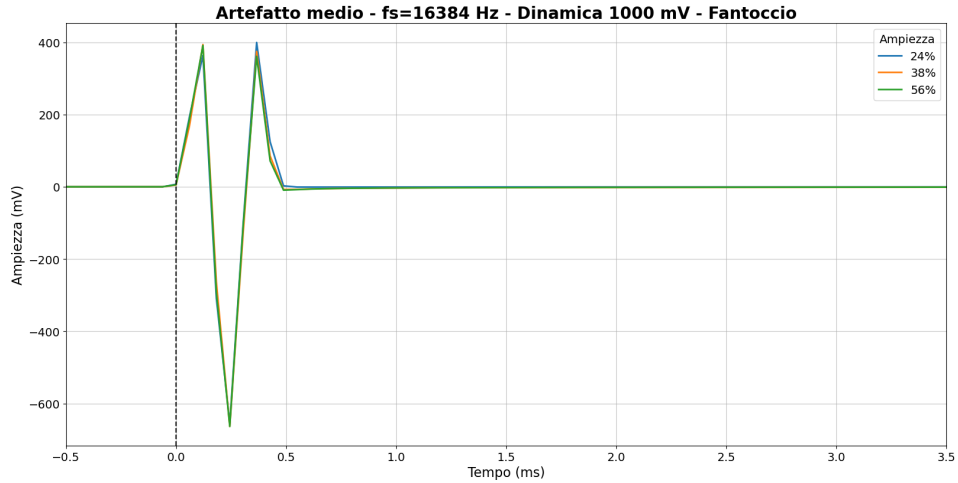
Figura 5.15: Fantoccio, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, con intensità 56% e quattro frequenze di campionamento, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b).

segnale di baseline e la presenza di componenti residue a lento decadimento. Di conseguenza, la misura ottenuta deve essere interpretata come una stima approssimata e dipendente dalle specifiche condizioni sperimentali.

Un'analisi aggiuntiva è stata condotta sulla prova del soggetto effettuata con ampiezza di stimolazione pari al 56% della massima intensità erogabile, dinamica dell'amplificatore pari a 150 mV_{pp} e frequenza di campionamento di 16384 Hz, al fine di valutare la presenza di un eventuale drift nel segnale. In Fig. 5.20 è riportata la sovrapposizione delle epoche del segnale grezzo e dopo la correzione della baseline (pannello a, rispettivamente a sinistra e a destra). Nel segnale grezzo è



(a) Dinamica 150 mV_{pp}.



(b) Dinamica 1000 mV_{pp}.

Figura 5.16: Fantoccio, con saturazione: sovrapposizione degli artefatti medi su C3, con frequenza di campionamento 16384 Hz e tre intensità di stimolazione, per le due dinamiche di acquisizione (a) e (b).

evidente la presenza di un offset iniziale diverso da 0, che viene rimosso mediante la sottrazione della baseline. Inoltre, viene riportato uno scatter plot che presenta l'offset per ciascuna epoca (pannello b), evidenziando un andamento crescente. Tale progressione indica la presenza di un drift del segnale nel canale analizzato. Infine, nel pannello (c) è riportato lo zoom nella zona di saturazione del segnale, sia per le epoche grezze che dopo la correzione della baseline. Si osserva che, mentre nel segnale grezzo le epoche saturano allo stesso livello, le epoche corrette mostrano un'apparente differenza nei livelli di saturazione.

| Fantoccio - Dinamica 150 mV_{pp} | | | |
|---|-----------------|-------------------------|------------------|
| Frequenza (Hz) | Ampiezza (%) | A _{pp} (mV) | Durata (ms) |
| 2000 | 24 | 7.83 ± 0.42 | 9.84 ± 0.74 |
| | 38 | 9.41 ± 1.58 | 19.10 ± 2.67 |
| | 56 | 9.71 ± 0.34 | 21.14 ± 1.92 |
| 4000 | 24 | 13.97 ± 2.18 | 7.75 ± 0.86 |
| | 38 | 18.24 ± 3.68 | 16.58 ± 2.43 |
| | 56 | 18.69 ± 2.97 | 15.50 ± 1.41 |
| 8000 | 24 | 81.43 ± 12.29 | 5.83 ± 0.56 |
| | 38 | 79.55 ± 9.00 | 12.99 ± 1.04 |
| | 56 | 78.55 ± 10.50 | 13.47 ± 1.21 |
| 16384 | 24 | 165.99 ± 2.79 | 2.13 ± 0.14 |
| | 38 | 165.23 ± 3.56 | 5.38 ± 0.31 |
| | 56 | 164.27 ± 4.20 | 5.12 ± 0.49 |

Tabella 5.6: Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 150 mV_{pp}, canale C3 (fantoccio, con saturazione).

| Fantoccio - Dinamica 1000 mV_{pp} | | | |
|--|-----------------|-------------------------|-----------------|
| Frequenza (Hz) | Ampiezza (%) | A _{pp} (mV) | Durata (ms) |
| 2000 | 24 | 10.16 ± 2.30 | 4.57 ± 0.45 |
| | 38 | 18.36 ± 3.09 | 9.62 ± 1.01 |
| | 56 | 18.26 ± 3.00 | 8.70 ± 1.32 |
| 4000 | 24 | 74.01 ± 19.72 | 2.90 ± 0.34 |
| | 38 | 96.31 ± 23.82 | 6.87 ± 0.56 |
| | 56 | 103.62 ± 24.25 | 6.33 ± 0.70 |
| 8000 | 24 | 479.79 ± 41.61 | 1.95 ± 0.26 |
| | 38 | 464.41 ± 54.10 | 4.94 ± 0.45 |
| | 56 | 469.68 ± 47.35 | 4.78 ± 0.47 |
| 16384 | 24 | 1087.30 ± 85.88 | 0.76 ± 0.06 |
| | 38 | 1092.15 ± 80.24 | 1.87 ± 0.15 |
| | 56 | 1087.52 ± 88.08 | 1.99 ± 0.42 |

Tabella 5.7: Ampiezza picco-picco e durata media dell'artefatto, dinamica 1000 mV_{pp}, canale C3 (fantoccio, con saturazione).

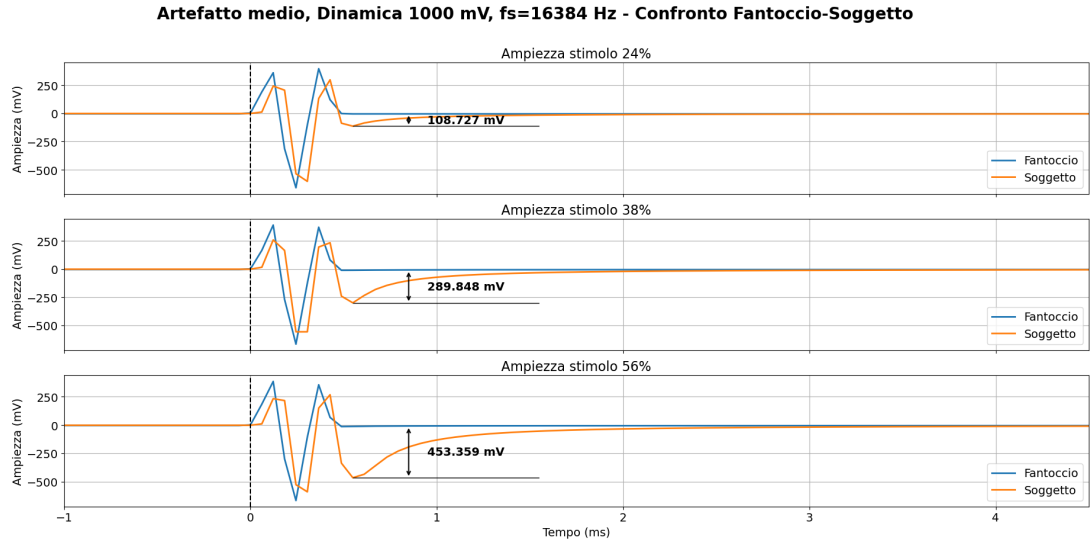


Figura 5.17: Confronto decadimento soggetto e fantoccio, con saturazione: canale C3, dinamica 1000 mV_{pp}, frequenza di campionamento 16384 Hz, tre ampiezze di stimolazione (24%, 38%, 56%).

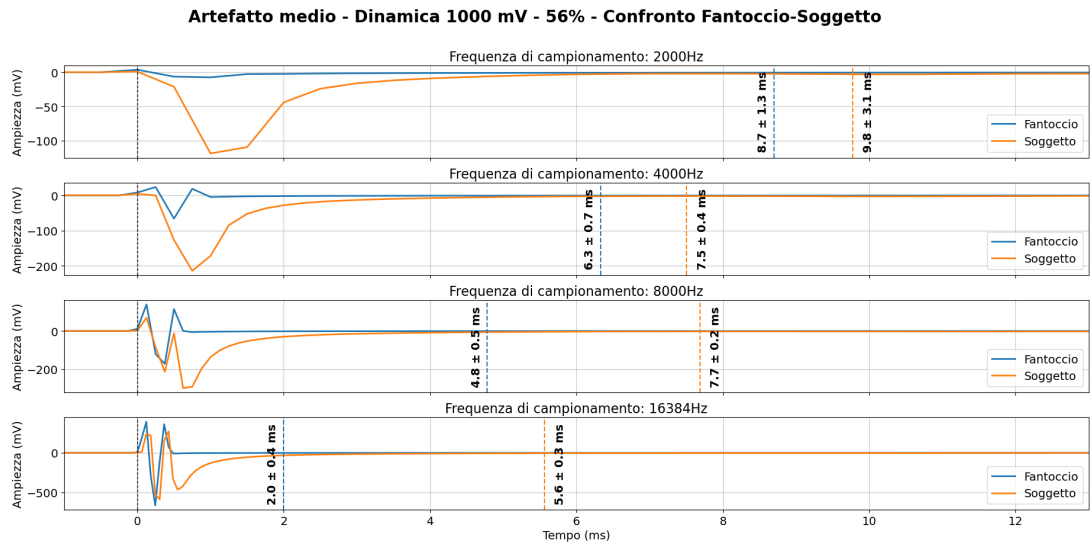


Figura 5.18: Confronto durata tra soggetto e fantoccio, con saturazione: canale C3, dinamica 1000 mV_{pp}, quattro frequenze di campionamento (2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz, 16384 Hz), ampiezza di stimolazione 56%. Le linee tratteggiate indicano la fine dell'artefatto.

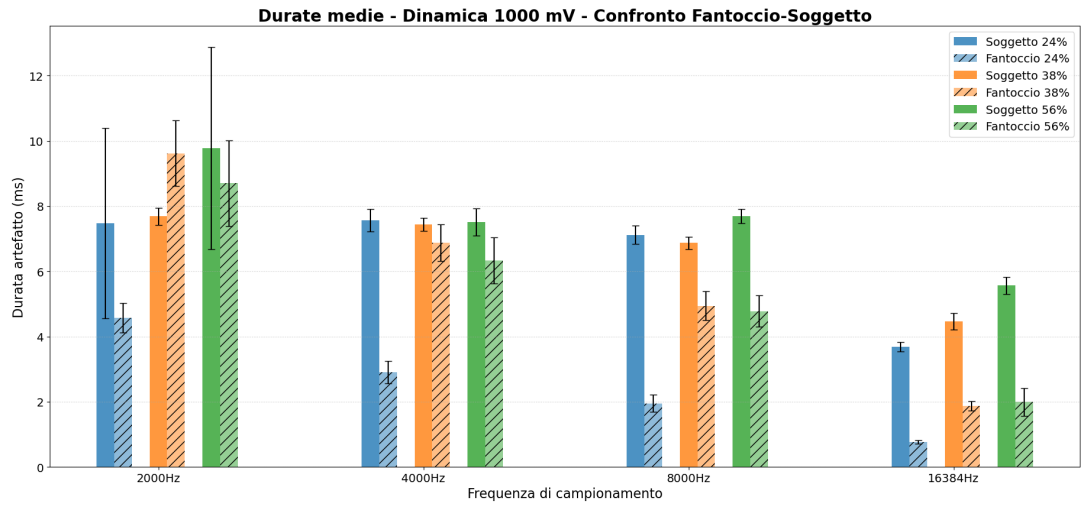


Figura 5.19: Confronto tra soggetto e fantoccio, con saturazione: durata media dell'artefatto sul canale C3 in funzione della frequenza di campionamento e dell'intensità di stimolazione (dinamica 1000 mV_{pp}). Le barre piene rappresentano i dati del soggetto, quelle tratteggiate i dati del fantoccio, mentre le barre di errore indicano la deviazione standard.

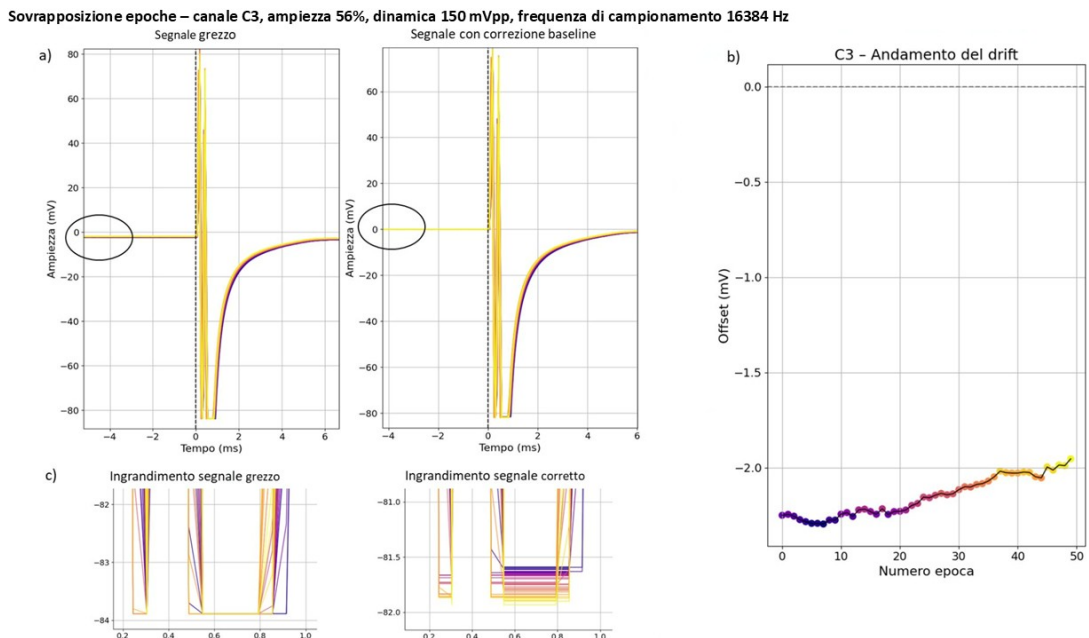


Figura 5.20: Analisi del drift nel canale C3 (ampiezza 56%, dinamica 150 mV_{pp}, frequenza di campionamento 16384 Hz).

Nel complesso, le analisi condotte hanno permesso di caratterizzare approfonditamente la morfologia e le principali proprietà dell'artefatto indotto dallo stimolo TMS nel segnale EEG. Queste osservazioni costituiscono la base per le considerazioni presentate nella successiva sezione di discussione.

Capitolo 6

Discussione

In questo capitolo viene riportata una proposta di discussione dei risultati presentati nel capitolo 5. Le sezioni sono suddivise come in precedenza, in modo da evidenziare come le deduzioni effettuate abbiano portato allo sviluppo delle prove successive.

6.1 Prove preliminari

In Fig. 5.1 sono state mostrate le epoche relative alle stimolazioni sottosoglia e sopra-soglia, per un singolo canale e un soggetto. Oltre alla presenza di artefatti non allineati tra loro e rispetto al trigger, con variabilità in ampiezza e forma, ciò che risulta subito evidente è la presenza di numerosi picchi troncati. Questa *forma tagliata* dei segnali è tipica di fenomeni di saturazione dell'amplificatore, che avviene quando l'ampiezza in ingresso supera i limiti in tensione dell'hardware. Tuttavia, dall'analisi dei valori quantitativi (Tab. 5.1), è possibile notare che l'ampiezza picco-picco mediata tra i soggetti è pari a 63.6 mV, ben sotto la dinamica dell'amplificatore utilizzata (150 mV). Queste considerazioni hanno portato a sospettare che i segnali fossero troncati a causa del **formato di esportazione dei dati** oltre che per **fenomeni di saturazione dell'amplificatore**. Confrontando i dati di uno stesso soggetto esportati una volta in EDF (European Data Format) e una volta in .EEG (BrainVision), si è notato che il formato EDF ha mostrato alcune problematiche nella rappresentazione dei segnali. In particolare, dopo l'esportazione in EDF, i tracciati risultavano alterati sia in ampiezza sia nella forma d'onda, con evidenti fenomeni di saturazione digitale e riduzione dell'escursione del segnale. Queste distorsioni sono probabilmente dovute alle limitazioni strutturali del formato EDF, che porta a un errato mapping tra valori digitali e valori fisici, causando una compressione dell'ampiezza reale (Fig. 6.1) e una deformazione del segnale (Fig. 6.2).

Per le indagini successive, si è optato quindi per l'esportazione nel formato BrainVision .EEG che sembra preservare l'integrità del segnale.

Dall'analisi dei valori quantitativi rimanenti (Tab. 5.1), invece, è possibile notare una durata dell'artefatto mediata tra i soggetti pari a 14.2 ± 5.3 ms per le stimolazioni sotto-soglia e 20.3 ± 6.8 ms per le stimolazioni sopra-soglia: l'artefatto copre il segnale cerebrale per una durata non trascurabile e la sua ampia variabilità lo rende non eliminabile con tecniche classiche di processing offline.

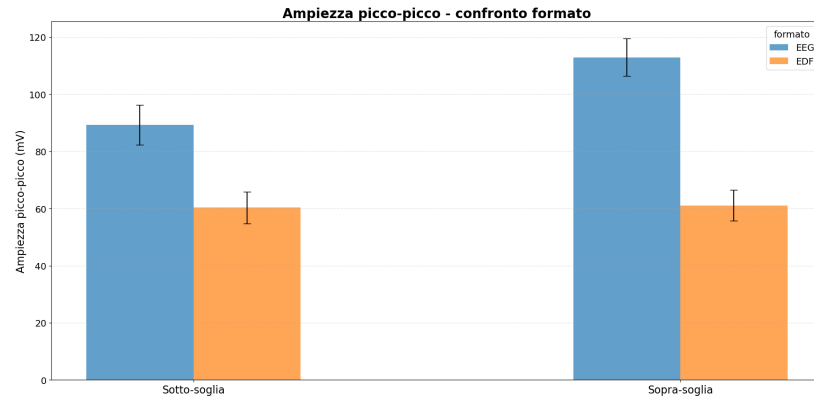


Figura 6.1: Confronto delle ampiezze picco-picco medie degli artefatti ottenuti con esportazione in formato EEG (in blu) e EDF (in arancione), tramite bar chart più barre d'errore che rappresentano media e deviazione standard. I segnali sono relativi al canale C3 di un soggetto stimolato al 38% (80% rMT - Sotto-soglia) e al 56% (120% rMT - Sopra-soglia), con parametri di frequenza di campionamento pari a 8000 Hz e dinamica dell'amplificatore pari a 150 mV_{pp}.

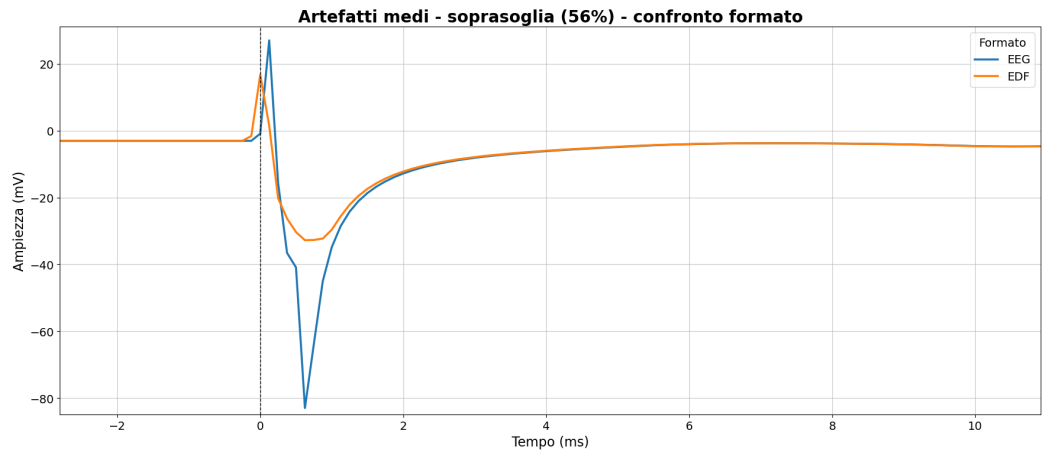


Figura 6.2: Confronto della morfologia dell'artefatto medio nei segnali estratti con formato EEG (in blu) e EDF (in arancione), relativo al canale C3. I dati si riferiscono a una condizione di acquisizione con frequenza di campionamento 8000 Hz, ampiezza di stimolazione 56% (soprasoglia) e dinamica dell'amplificatore 150 mV_{pp}.

L'insieme delle criticità rilevate ha portato all'implementazione di successive analisi che, variando i parametri uno per volta, cercassero di trovare una motivazione alle problematiche individuate. Data l'idea di una possibile saturazione, la prova successiva è stata un'analisi che permettesse di determinare il limite di ampiezza di stimolazione oltre il quale l'amplificatore entra in saturazione e perde le caratteristiche di linearità.

6.2 Analisi di linearità

La Fig. 5.2 mostra la distribuzione delle ampiezze picco-picco delle 50 epoche del canale C3, rappresentata tramite box-plot, per ciascuna delle 15 ampiezze di stimolazione considerate, con parametri di dinamica dell'amplificatore e frequenza di campionamento pari a 1000 mV_{pp} e 16384 Hz rispettivamente, i massimi possibili.

L'ampiezza media dell'artefatto mostra un incremento evidente con l'aumento dell'intensità fino al 6%. Nei livelli successivi, la distribuzione tende ad appiattirsi e l'ampiezza picco-picco media si stabilizza intorno a 1.0 V, corrispondente alla massima dinamica impostata sull'amplificatore. Questo comportamento suggerisce l'ingresso del sistema di acquisizione in regime di saturazione. L'andamento del coefficiente di determinazione mostrato in Fig. 5.3 conferma la perdita del comportamento di linearità a partire da un'intensità di stimolazione pari al 7%.

Questo risultato evidenzia che, impostando parametri comunemente impiegati nella registrazione EEG (ad esempio dinamica 150 mV_{pp}, sufficiente per l'acquisizione di segnale cerebrale) e stimolando con delle ampiezze tipicamente utilizzate in contesti clinici (come 80% rMT), l'amplificatore si troverebbe sempre in regime di saturazione. Infatti, in questo caso, con una dinamica dell'amplificatore notevolmente superiore (1000 mV_{pp}), l'ampiezza di picco-picco raggiunge il limite della dinamica già a partire da un'intensità di stimolazione pari al 7%.

Le analisi successive sono state condotte con intensità di stimolazione che non portassero alla saturazione del sistema, in modo da eliminare la componente di non-linearità e valutare l'influenza di altri parametri.

6.3 Assenza di saturazione

Nei risultati delle prove condotte in assenza di saturazione, così come esemplificato in Fig. 5.5, gli artefatti non presentano più picchi troncati o appiattiti in alcuna epoca. Inoltre, rispetto ai segnali delle prove preliminari, si osserva che non è presente alcun decadimento lento per il ritorno al livello di baseline. Questo suggerisce che la saturazione possa causare non solo una morfologia dell'artefatto alterata rispetto a quella reale, ma anche l'introduzione di una componente di decadimento lento che ne prolunga la durata.

Va tuttavia considerato che la TMS, con un'ampiezza di stimolazione così bassa, non è in grado di stimolare i tessuti nervosi, in quanto è caratterizzata da una scarsa profondità di penetrazione. Di conseguenza, oltre all'assenza di saturazione, in queste condizioni sperimentali vengono trascurati altri fattori rilevanti, quali l'effetto del volume conduttore e il contatto elettrodo-gel-cute, che verranno indagati nelle prove successive.

Dallo stesso grafico si nota che, nonostante tutte le variabili che possono essere trascurate al fine dell'analisi, la forma dell'artefatto rimane simile tra le epoche, ma esse non risultano perfettamente coincidenti. Sulla base di questa osservazione, è stato applicato un riallineamento in frequenza, che ha reso i tracciati più sovrapponibili (Fig. 5.6). Da tale analisi è stato dedotto che il **sistema EEG e il generatore TMS non sono perfettamente sincronizzati**: l'impulso, di durata molto breve,

può infatti verificarsi in un punto temporale casuale compreso tra due campioni consecutivi, portando all'ottenimento di un artefatto variabile in forma e ampiezza, in quanto campionato diversamente. Inoltre, se il picco cade esattamente su un istante di campionamento, l'amplificatore EEG può raggiungere o superare il limite massimo della dinamica; se invece il picco si colloca tra due campioni, il valore registrato risulta attenuato, simulando un'apparente assenza di saturazione.

Anche dopo il riallineamento, nonostante i segnali risultino ampiamente più simili nella forma, non appaiono ancora perfettamente coincidenti, a causa di diversi fattori residui:

- **Vibrazione meccanica:** leggere oscillazioni della bobina ad ogni scarica, che cambiano la geometria dei campi e le correnti indotte.
- **Movimento della testa:** spostamento della testa dopo ogni impulso, soprattutto nel caso di ampiezze di stimolazione più elevate. In generale, comunque, risulta difficile mantenere per lungo tempo la stessa posizione.
- **Cambiamento corrente indotta:** fluttuazione del rapporto dI/dt reale e aumento della temperatura della bobina con l'aumentare del numero di stimolazioni.

Mantenendo costante l'intensità di stimolazione all'1% e la dinamica dell'amplificatore a 1000 mVpp, sono state eseguite più acquisizioni variando la frequenza di campionamento. Così come mostrato nella Fig. 5.7 e nella Tab. 5.2, al crescere della frequenza di campionamento si registra un aumento dell'ampiezza picco-picco e una diminuzione della durata dell'artefatto medio.

La diminuzione dell'ampiezza picco-picco al diminuire della frequenza di campionamento è dovuta all'**effetto del campionamento** sui segnali di breve durata e ad alto contenuto in frequenza. Poiché l'impulso TMS ha una durata di 280 μ s, a frequenze di campionamento relativamente ridotte (ad esempio 2000 Hz o 4000 Hz, corrispondenti a intervalli di campionamento di 0.5 ms e 0.25 ms), l'impulso può cadere parzialmente o completamente tra due campioni successivi. In tal caso, il picco massimo dell'artefatto non viene catturato, e l'ampiezza registrata risulta sottostimata rispetto a quella reale. A frequenze di campionamento più elevate (8000 Hz e 16384 Hz), l'intervallo tra campioni si riduce (rispettivamente 125 μ s e 61 μ s), migliorando la probabilità che il picco dell'impulso sia effettivamente campionato. Di conseguenza, l'ampiezza picco-picco apparente aumenta, riflettendo in modo più accurato l'ampiezza reale dell'artefatto indotto dalla stimolazione.

Un ragionamento analogo vale per la durata stimata dell'artefatto. A basse frequenze di campionamento, il segnale di impulso viene rappresentato da un numero inferiore di campioni e la risposta registrata appare allargata nel tempo a causa dell'interpolazione implicita tra punti distanti. Inoltre, a frequenze di campionamento inferiori sono tipicamente associati **filtri anti-aliasing** che tagliano a frequenze più basse (Fig. 6.3). Il filtro anti-aliasing è un filtro passa-basso analogico, posto a monte del convertitore analogico-digitale (ADC), che ha la funzione di prevenire il fenomeno dell'aliasing, ossia la sovrapposizione di componenti con frequenze superiori a Nyquist ($f_s/2$) sullo spettro del segnale campionato. La presenza di un filtro

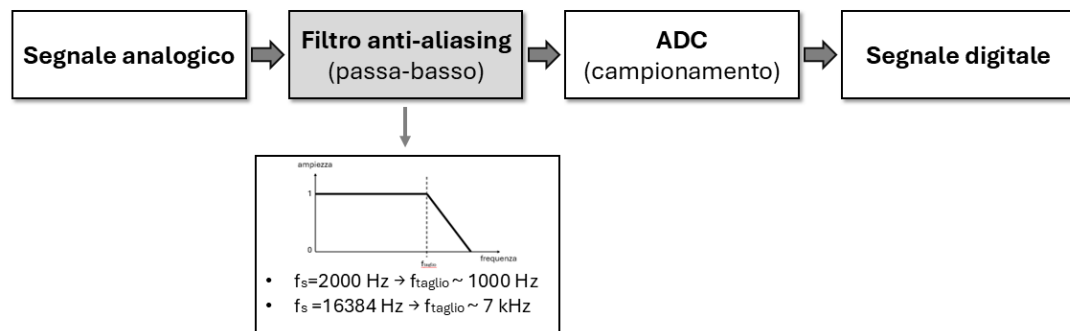


Figura 6.3: Schema della catena di acquisizione EEG e dell'effetto del filtro anti-aliasing.

passa-basso che taglia a frequenze più basse comporta un artefatto più *smussato* e di conseguenza più prolungato nel tempo.

La stessa analisi è stata condotta anche su un fantoccio, ottenendo lo stesso comportamento al variare della frequenza di campionamento. Ciò dimostra che le cause di questo comportamento non sono attribuibili ad alcuna componente fisiologica umana (Tab. 5.3 e Fig. 5.8). Dai grafici di confronto tra soggetto e fantoccio (Fig. 5.9 e Fig. 5.10) emerge nuovamente lo stesso trend, con ampiezza crescente e durata decrescente all'aumentare della frequenza di campionamento. Si osservano valori mediamente più elevati per il fantoccio, ma ciò è dovuto al fatto che la stimolazione è stata eseguita con un'ampiezza del 5 %, mentre per il soggetto era dell'1 %. Tale scelta è stata necessaria poiché la geometria del fantoccio non consente di avvicinare la bobina nella stessa misura in cui è possibile farlo con un soggetto umano: un'ampiezza dell'1 % non avrebbe quindi generato alcun segnale rilevabile. Di conseguenza, i valori ottenuti non sono confrontabili in termini assoluti ma servono solo per mostrare la tendenza a ottenere lo stesso comportamento al variare dei parametri e in assenza di saturazione.

6.4 Presenza di saturazione

Per caratterizzare in modo approfondito la natura dell'artefatto TMS su EEG, nelle prove finali sono stati impostati diversi parametri di ampiezza di stimolazione (50% rMT, 80% rMT, 120% rMT), sempre in relazione allo stesso soggetto con ampiezza rMT pari al 47%, diverse frequenze di campionamento (2000 Hz, 4000 Hz, 8000 Hz, 16384 Hz) e due dinamiche di ingresso dell'amplificatore (150 mV_{pp}, 1000 mV_{pp}).

Con la frequenza di campionamento di 16384 Hz, la più elevata che permette di rappresentare nel modo più accurato l'artefatto, si osserva che in entrambi i casi di dinamica, l'ampiezza picco-picco raggiunge il limite massimo. Ciò conferma che, per tutte e tre le ampiezze di stimolazione utilizzate, il sistema opera in condizioni di saturazione (Fig 5.11). In Fig. 5.12 è riportato un esempio rappresentativo, dove sono confrontati gli stessi segnali (canale C3, ampiezza 56%, frequenza di campionamento 16384 Hz) rispetto alle due dinamiche dell'amplificatore: nel caso della dinamica

a 150 mV_{pp} la saturazione è constatabile visivamente, in quanto la componente di decadimento dell'artefatto risulta completamente troncata.

I grafici in Fig. 5.13a e Fig. 5.13b continuano a confermare i risultati ottenuti nelle prove precedenti: al crescere della frequenza di campionamento, l'ampiezza picco-picco apparente aumenta e mentre la durata apparente diminuisce. Nei casi di frequenza di campionamento minore, come detto precedentemente, la riduzione dell'ampiezza picco-picco non riflette un effetto reale, ma è dovuta al fatto che l'artefatto non viene catturato correttamente a causa delle limitazioni imposte dal campionamento discreto. Lo stesso ragionamento sui problemi di campionamento e sul filtro anti-aliasing illustrato nella sezione precedente si applica anche per il fenomeno di diminuzione apparente della durata al crescere della frequenza di campionamento.

Avendo preso in considerazione tre ampiezze di stimolazione diverse in queste prove, è stato condotto anche un confronto tra le diverse intensità. In Fig. 5.14a e in Fig. 5.14b viene mostrato il confronto dei segnali ottenuti con le tre ampiezze di stimolazione diverse, con la stessa frequenza di campionamento a 16384 Hz e dinamica 150 mV_{pp} e 1000 mV_{pp}. Si osserva che le ampiezze picco-picco nei tre casi sono circa equivalenti, in quanto tutti e tre i segnali sono ottenuti da ampiezze di stimolazione che portano il sistema di acquisizione in regime di saturazione. La differenza principale riguarda la durata dell'artefatto, che risulta visivamente maggiore al crescere dell'intensità di stimolazione, indipendentemente dalla dinamica impostata. Tale tendenza è confermata quantitativamente dai valori mostrati in Tab. 5.4 e Tab. 5.5, nella maggioranza dei casi. Il comportamento osservato potrebbe essere attribuibile alla presenza di una *maggiore saturazione* alle intensità più elevate, oppure a fenomeni legati all'interfaccia *elettrodo-gel-cute*.

Per approfondire l'origine di questa componente di decadimento lento che sembra prolungare la durata dell'artefatto con l'aumentare dell'ampiezza di stimolazione, sono state condotte prove analoghe su un fantoccio, in modo da eliminare la componente biologica e isolare i possibili effetti di natura puramente strumentale.

In generale, dalle Fig. 5.15 e 5.16 si osserva che le considerazioni precedenti rimangono valide anche nel caso del fantoccio. L'aumento della frequenza di campionamento comporta un incremento dell'ampiezza picco-picco apparente e una diminuzione della durata apparente, mentre l'aumento dell'intensità di stimolazione, porta ad un aumento della durata dell'artefatto, anche se con un effetto meno marcato rispetto al soggetto. Tali comportamenti sono coerenti con quanto discusso in precedenza, poiché le motivazioni non dipendono dalla componente biologica umana, ma sono attribuibili rispettivamente alle limitazioni del campionamento e del filtro anti-aliasing, e alle non linearità dell'amplificatore che in condizioni di saturazione può generare una componente artefattuale a rilascio lento e/o all'interfaccia elettrodo-soluzione elettrolitica, che può introdurre effetti capacitivi residui.

Considerando i grafici di confronto tra soggetto e fantoccio (Fig. 5.17 e 5.18), insieme al grafico a barre riassuntivo di tutte le prove condotte con dinamica 1000 mV_{pp} (Fig. 5.19), si osserva visivamente e quantitativamente che la componente di decadimento dell'artefatto è notevolmente ridotta nel fantoccio e, di conseguenza, anche le tempistiche di durata dell'artefatto sono inferiori.

La differenza presente tra fantoccio e soggetto potrebbe essere dunque attribuibile alla presenza della componente biologica. In particolare, ogni interfaccia presente nel sistema (interfaccia elettrodo-gel e interfaccia gel-cute) genera un potenziale di semicella e si crea una situazione biofisica che può essere modellata elettricamente come un condensatore e una resistenza in parallelo, con una resistenza aggiuntiva in serie (Fig. 6.4) [34]. Ad esempio, l'area coperta dal gel conduttivo e gli strati cutanei profondi (spazio extracellulare ionico acquoso), separati dallo strato corneo dell'epidermide che funge da dielettrico idrofobico, si comporta come un condensatore [28]. Da un punto di vista elettrico, ogni circuito resistivo-capacitivo (RC) è caratterizzato da una costante di tempo $\tau = R \cdot C$. In risposta all'impulso TMS, il circuito RC si carica e si scarica secondo la propria costante di tempo e la risposta complessiva registrata risulta dalla somma di più componenti di decadimento. La resistenza del contatto gel-cute è solitamente dominante rispetto alla resistenza elettrodo-gel, quindi più responsabile dell'artefatto lungo, ma entrambe contribuiscono alla polarizzazione residua. In questo studio, il contributo relativo all'interfaccia elettrodo-gel è stato minimizzato mediante l'utilizzo di elettrodi non polarizzabili Ag/AgCl che permettono un trasferimento di carica tra elettrodo e gel grazie a una reazione di ossidoriduzione reversibile. Grazie all'utilizzo di elettrodi non polarizzabili, l'interfaccia elettrodo-gel è principalmente resistiva. Utilizzando invece elettrodi polarizzabili, che si comportano come condensatori, l'interfaccia elettrodo-gel presenterebbe un'elevata impedenza capacitiva [21]. Pertanto, dato che l'interfaccia elettrodo-gel è stata resa quanto più resistiva minimizzando la componente capacitiva, il decadimento residuo osservato nel caso del soggetto è attribuibile maggiormente all'**interfaccia elettrodo-cute** e **l'effetto dei tessuti biologici**.

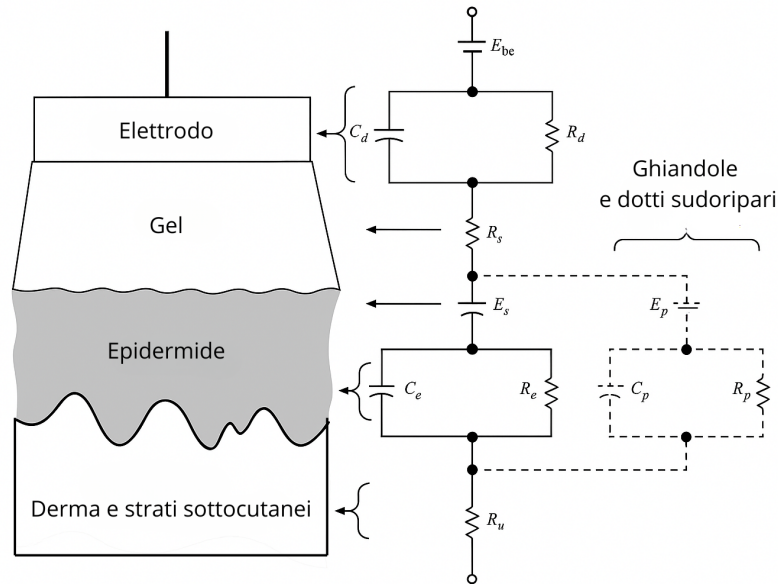


Figura 6.4: Rappresentazione dell'interfaccia elettrodo-gel-cute: ogni interfaccia è descritta come un condensatore e resistore in parallelo, più una resistenza in serie.

Inoltre, è stato utilizzato il segnale ottenuto stimolando sul canale C3 con un'ampiezza pari al 56%, una dinamica dell'amplificatore di 150 mV_{pp} e una frequenza di

campionamento di 16384 Hz, al fine di dimostrare la presenza di drift. La Fig. 5.20 mostra i diversi passaggi utilizzati per evidenziare questo fenomeno. Nelle epoche grezze sovrapposte si osserva un offset pre-stimolo che fa sì che il segnale non parta da zero; tale offset viene rimosso applicando la correzione della baseline. Lo scatterplot a destra riporta il valore medio dell'offset pre-stimolo per ogni epoca, mostrando chiaramente un andamento crescente, indicativo della presenza di un drift. Dall'ingrandimento nella zona di saturazione si nota che, a seguito della correzione della baseline, le epoche sembrano saturare in punti differenti. Il drift rappresenta una variazione lenta e progressiva dell'offset del segnale nel tempo: ciò implica che, quando si applica la correzione della baseline, tutte le epoche vengono riallineate a zero, trasladole verso l'alto o verso il basso in funzione dell'offset rilevato. Questa correzione può far apparire una variazione nel livello di saturazione delle varie epoche, che tuttavia è dovuta esclusivamente al drift e non a un cambiamento reale del segnale.

In conclusione, l'analisi delle prove condotte su soggetto e fantoccio conferma che l'artefatto da stimolazione in condizioni di saturazione dipende da una combinazione di effetti, sia strumentali che biologici. In particolare, la non linearità dell'amplificatore in regime di saturazione e i limiti del campionamento contribuiscono alla distorsione iniziale del segnale, mentre la presenza del lento decadimento nel caso umano è principalmente attribuibile alle proprietà elettriche del volume conduttore tissutale e all'interfaccia elettrodo-cute.

A partire dalle osservazioni riportate nei paragrafi precedenti, nella tabella 6.1 sono sintetizzati i principali fattori che contribuiscono alla generazione di un artefatto TMS su EEG di lunga durata e variabile, includendo sia parametri strumentali sia sperimentali, con le corrispondenti strategie di ottimizzazione individuate in questo studio.

| Fattore | Effetto sull'artefatto | Ottimizzazione |
|---|---|--|
| Frequenza di campionamento | A frequenze più basse l'artefatto risulta attenuato e temporalmente più lungo. | Utilizzare la massima frequenza di campionamento disponibile per rappresentare il picco in modo accurato. |
| Dinamica dell'amplificatore | Saturazione del segnale (picchi troncati) quando l'ampiezza dell'artefatto supera la dinamica impostata. Inoltre perdita di linearità e generazione di una componente di decadimento. | Impostare la dinamica massima disponibile, nonostante la saturazione sia spesso inevitabile con le ampiezze cliniche. |
| Sincronizzazione TMS-EEG | Disallineamento temporale tra impulso e campionamento, che causa variazioni apparenti in forma e ampiezza. | Assicurarsi che l'impulso sia sempre campionato nello stesso punto temporale, migliorando la ripetibilità del segnale. |
| Interfaccia elettrodo-gel-cut | Componente di decadimento lento dovuta agli effetti resistivo-capacitivi (RC) delle interfacce. | Assicurare un contatto stabile gel-cut per ridurre la resistenza e l'effetto capacitivo. |
| Resistenza elettrodi | Allungamento dell'artefatto a causa della nascita di una componente di decadimento dovuta all'interfaccia elettrodo-gel. | Utilizzare elettrodi Ag/AgCl non polarizzabili, ridurre le impedenze di contatto con il gel. |
| Movimento relativo soggetto-bobina | Variazione delle correnti indotte e del campo magnetico. | Posizionare il soggetto in modo stabile, riducendo i movimenti involontari. |
| Formato di esportazione dei dati EEG | Distorsioni in ampiezza e forma dovute a limitazioni del formato digitale. | Utilizzare formati che preservino l'integrità del segnale, in termini di dinamica e risoluzione. |

Tabella 6.1: Fattori che influenzano la forma e la durata dell'artefatto TMS-EEG e possibili strategie di ottimizzazione.

Capitolo 7

Conclusioni e sviluppi futuri

7.1 Conclusioni

In questo studio è stata indagata una delle principali problematiche associate alla combinazione tra TMS ed EEG. La misurazione delle risposte elettroencefalografiche alla TMS consente di studiare la risposta corticale alla stimolazione in tempo reale. Tuttavia, tale combinazione è resa complessa dal fatto che i segnali cerebrali sono coperti da artefatti indotti dalla stimolazione, i quali possono essere di origine sia fisiologica che strumentale. L'artefatto che influenza maggiormente il segnale EEG è causato dall'impulso TMS, che provoca una forte perturbazione elettrica dei segnali registrati. L'insieme delle prove condotte ha permesso di caratterizzare in modo approfondito l'artefatto, per cercare di ridurlo il più possibile in durata e variabilità, in modo da renderlo trascurabile o eliminabile. Inoltre, un ulteriore contributo consiste nell'aver fornito una spiegazione più approfondita di alcuni fenomeni già osservati in letteratura, ma non sempre giustificati dal punto di vista fisico e strumentale.

Le analisi preliminari sono state condotte su dieci soggetti, seguendo i protocolli presentati in letteratura. I segnali ottenuti hanno effettivamente evidenziato diverse criticità: artefatti troncati, fortemente variabili tra le epoche e di lunga durata (tra le decine e le centinaia di ms). Le problematiche sono state inizialmente attribuite a fenomeni di saturazione dell'amplificatore e, successivamente, ricondotte anche al formato di esportazione dei dati (*EDF*). L'adozione del formato BrainVision *.EEG* ha garantito la corretta rappresentazione del segnale.

L'analisi di linearità successiva ha dimostrato che, con parametri comunemente utilizzati in clinica (stimolazioni di intensità pari almeno all'80% rMT e dinamiche dell'amplificatore EEG pensate per segnali dell'ordine del μV) [35], l'amplificatore EEG opera in regime di saturazione, perdendo dunque il comportamento lineare.

Le prove in assenza di saturazione hanno mostrato artefatti con picchi non troncati o appiattiti e un'assenza di componenti di decadimento, suggerendo che la saturazione introduca una componente che prolunga la durata dell'artefatto. È stata osservata, però, una variabilità morfologica tra le epoche dello stesso canale, attribuita a una mancata sincronizzazione tra il sistema di stimolazione magnetica transcranica e il sistema EEG, che determina un campionamento variabile del picco dell'impulso. La frequenza di campionamento, inoltre, si è rivelata un parametro

critico: frequenze basse sottostimano l'ampiezza picco-picco e sovrastimano la durata apparente dell'artefatto, a causa sia dei limiti del campionamento di un impulso di durata dell'ordine delle centinaia di μs , sia della presenza di filtri anti-aliasing che causano uno smussamento del segnale. Una sincronizzazione accurata tra i due sistemi potrebbe ridurre la variabilità morfologica tra le epoche, consentendo l'utilizzo di frequenze di campionamento più basse. In tal caso, non sarebbe necessario riprodurre fedelmente l'artefatto originale, ma piuttosto ottenere un artefatto ripetibile e con minore variabilità, in modo da poterlo rimuovere efficacemente tramite tecniche di elaborazione del segnale. Rimane tuttavia il fatto che altre problematiche possono compromettere la ripetibilità dell'artefatto, come la vibrazione della bobina, i movimenti della testa del soggetto e le variazioni della corrente effettivamente indotta.

Le prove in presenza di saturazione hanno confermato che la saturazione genera una distorsione della forma dell'artefatto e un prolungamento della sua durata, accentuato con l'aumentare dell'intensità di stimolazione. La saturazione non è però l'unica causa: le prove condotte sul fantoccio hanno portato a valutare l'interfaccia elettrodo-cute come la maggiore responsabile della componente di decadimento dell'artefatto. Sono state distinte, quindi, le cause di natura strumentale da quelle di natura biologica. Una parte del decadimento è dovuta alla perdita della linearità dovuta alla saturazione dell'amplificatore e agli effetti capacitivi dell'interfaccia elettrodo-gel, che però possono essere notevolmente ridotti con l'utilizzo di elettrodi non polarizzabili. L'interfaccia gel-cute invece, è un'interfaccia prevalentemente capacitiva, che contribuisce maggiormente alla componente di decadimento dell'artefatto e all'aumento della sua durata.

In sintesi, la scelta appropriata dei parametri di acquisizione (alta dinamica, elevata frequenza di campionamento, sincronizzazione tra i due sistemi) è cruciale per ottenere dei segnali con artefatti meno variabili e senza distorsioni di forma e ampiezza. Inoltre, è importante minimizzare l'impatto dell'interfaccia elettrodo-gel-cute per ottenere artefatti di breve durata. Con una selezione ottimale di tali parametri, è possibile ottenere artefatti dell'ordine di pochi millisecondi; in queste condizioni, può risultare vantaggioso l'impiego di un amplificatore dotato di switch che si aprono per alcuni millisecondi contemporaneamente all'impulso di stimolazione per evitare la registrazione dell'artefatto. L'effetto residuo sarebbe un artefatto di transitorio dovuto alla chiusura del circuito, ma trattandosi di un fenomeno ripetibile e prevedibile, può essere ulteriormente ridotto mediante tecniche di elaborazione del segnale.

7.2 Sviluppi futuri

Nonostante i risultati ottenuti abbiano permesso di analizzare e chiarire diversi aspetti del fenomeno, lo studio presenta alcune limitazioni legate al numero di soggetti analizzati, alla strumentazione utilizzata e ai parametri sperimentali adottati. In prospettiva futura, potrebbe essere utile ampliare l'analisi valutando ulteriori parametri o caratterizzando meglio quelli già esaminati.

In questo lavoro, è stata impiegata un'unica tipologia di bobina; tuttavia, anche la scelta della bobina influenza significativamente il segnale EEG registrato durante la stimolazione. La bobina utilizzata nello studio ha un design a farfalla, che permette una stimolazione focalizzata. Inoltre, essendo piegata, consente di seguire al meglio la curvatura del capo, riducendo la distanza tra bobina e testa e ottenendo una maggiore profondità di stimolazione. Altre tipologie di bobina, a parità di intensità di stimolazione, produrrebbero un campo magnetico meno profondo, richiedendo quindi un incremento dell'intensità per ottenere effetti comparabili. Un aumento di ampiezza di stimolazione comporterebbe però problemi quali la saturazione del sistema EEG e un maggior artefatto da polarizzazione dell'elettrodo. Sarebbe dunque importante estendere le prove condotte testando diverse tipologie di bobina di stimolazione.

In letteratura è inoltre evidenziato che l'orientamento della bobina rispetto ai cavi EEG influisce sulla morfologia dell'artefatto registrato. Si potrebbe quindi estendere lo studio utilizzando una cuffia EEG che permetta di variare la distribuzione dei cavi e studiare come la loro geometria influenzi il segnale registrato.

Per approfondire l'effetto delle interfacce elettrodo-gel-cut e del volume conduttore, lo studio potrebbe essere esteso includendo diverse tipologie di elettrodi, in termini di forma, materiale o tecnologia. In particolare, l'utilizzo di elettrodi a secco consentirebbe di eliminare la componente introdotta dal gel, isolando meglio i contributi delle interfacce.

Lo studio presentato è stato condotto in un primo momento su dieci soggetti e, successivamente, su un solo soggetto per approfondire alcune variabili specifiche. Per confermare e consolidare le conclusioni ottenute, sarebbe opportuno ripetere le prove su un campione più ampio, in modo da ottenere una validazione statistica dei risultati.

Infine, questo lavoro si è focalizzato solo sull'artefatto dominante provocato dalla stimolazione TMS. Tuttavia, ci sono altri artefatti da tenere in considerazione, come quelli muscolari e da movimento (particolarmente evidenti a intensità elevate), i blink, l'artefatto uditivo legato al 'click' della bobina, l'artefatto da ricarica del circuito TMS e l'artefatto meccanico causato dalla vibrazione del coil.

L'analisi di tutti questi contributi permetterebbe di ottenere una comprensione più completa e dettagliata dei fenomeni che influenzano la registrazione EEG durante la stimolazione TMS.

Appendice A

Documentazione sperimentale

CONSENSO INFORMATO ALLA PARTECIPAZIONE A UNO STUDIO SPERIMENTALE

Titolo dello studio: Analisi dell'attività cerebrale mediante EEG dopo stimolazione magnetica transcranica (TMS)

Responsabili dello studio: Andrea Bolla, Luana Turchiarulo, Sara Benedetta Saladini, Tomas Altea

Email: s324525@studenti.polito.it, s322717@studenti.polito.it, s327393@studenti.polito.it, s316967@studenti.polito.it

1. Scopo dello studio

Lo scopo dello studio è quello di analizzare l'attività cerebrale utilizzando la registrazione elettroencefalografica (EEG) dopo la stimolazione magnetica transcranica (TMS) per l'analisi dell'artefatto elettromagnetico e la valutazione dei network cerebrali. In particolare, verrà stimolata la corteccia motoria M1 che induce una contrazione muscolare del pollice controlaterale.

2. Modalità di svolgimento

La partecipazione consiste in una sessione sperimentale della durata indicativa di circa 90 minuti, presso la sede di GEA soluzioni, Via Spalato 72/A.

Durante l'esperimento:

- Verranno applicati elettrodi con gel conduttivo per registrare l'attività elettrica cerebrale (EEG).
- Verranno applicate brevi stimolazioni magnetiche non invasive sulla testa (TMS).
- Al soggetto verrà richiesto di rimanere fermo il più possibile per la durata dell'esperimento. Solo nella fase iniziale sarà richiesto di svolgere anche un task cognitivo.

3. Rischi e disagi

La TMS e l'EEG sono tecniche sicure e ampiamente utilizzate nella ricerca.

Tuttavia, potrebbero verificarsi:

- leggere contrazioni muscolari o formicolii durante la stimolazione;
- lieve fastidio cutaneo per l'uso di gel o elettrodi EEG, con la possibilità che i capelli si sporchino.

Al termine dell'esperimento verranno forniti fazzoletti e acqua per una prima pulizia, ma potrebbe comunque essere necessario un lavaggio successivo per rimuovere completamente il gel.

In caso di disagio, potrai interrompere l'esperimento in qualsiasi momento.

Controindicazioni alla TMS includono:

epilessia, impianti metallici nel cranio, pacemaker, protesi elettroniche, gravidanza sospetta. In tali casi non è possibile partecipare allo studio: compilare il successivo modulo di idoneità per capire se è possibile partecipare allo studio.

4. Volontarietà della partecipazione

La partecipazione è completamente volontaria. Ci si può ritirare in qualsiasi momento, senza dover dare spiegazioni e senza alcuna conseguenza.

5. Trattamento dei dati personali

Tutti i dati raccolti saranno anonimizzati e utilizzati esclusivamente per fini scientifici. Nel rispetto del Regolamento UE 2016/679 (GDPR), i dati verranno archiviati in modo sicuro e potranno essere trattati solo dal personale autorizzato coinvolto nel progetto. In qualunque momento si può richiedere l'accesso, la rettifica o la cancellazione dei dati scrivendo alle mail indicate sopra.

6. Dichiarazione e firme

Io sottoscritto/a _____
nato/a il _____, dichiaro:

- di aver letto e compreso le informazioni riportate in questo modulo;
- di essere stato/a informato/a in modo chiaro e completo sullo studio;
- di aver avuto la possibilità di porre domande;
- di accettare volontariamente di partecipare allo studio.

Data: _____

Firma del partecipante: _____

QUESTIONARIO DI IDONEITÀ TMS-EEG

Descrizione del protocollo sperimentale

Il presente studio ha l'obiettivo di indagare l'attività cerebrale tramite l'utilizzo combinato di EEG (elettroencefalogramma) e TMS (stimolazione magnetica transcranica). La partecipazione prevede una fase iniziale di registrazione EEG in tre condizioni (riposo a occhi chiusi, occhi aperti, e durante un semplice compito cognitivo), seguita da una fase di stimolazione TMS applicata sulla corteccia motoria primaria.

Durante la stimolazione, saranno erogati stimoli magnetici singoli mentre il partecipante fissa una croce su uno schermo. Gli stimoli verranno somministrati a intensità variabile in due sessioni distinte, con brevi pause tra una sessione e l'altra. L'intera durata dell'esperimento sarà di circa 90 minuti.

Questionario

1. Nome e Cognome
2. Email
3. Data di nascita
4. Numero di telefono
5. Sesso
6. Mano dominante
7. È affetto/a da epilessia o ha mai avuto crisi convulsive?
8. Ha mai avuto episodi di svenimento o sincope? Se sì, descriva in quali circostanze.
9. Ha mai subito un trauma diagnosticato come commozione cerebrale o associato a perdita di coscienza?
10. Soffre di grave cefalea?
11. Ha problemi di udito o soffre di acufeni?
12. È portatore di impianti cocleari?
13. È in stato di gravidanza o sussistono possibilità che lo sia?
14. Presenta parti metalliche nel cervello, nel cranio o in altre parti del corpo (ad es. schegge, frammenti, clip)? Se sì, indicare il tipo di metallo.
15. È portatore di un neurostimolatore impiantato (ad esempio, DBS, epidurale/subdurale, VNS)? Se sì, indicare quale.
16. È portatore di un pacemaker cardiaco o di linee intracardiache? Se sì, indicare quale.
17. È portatore di un dispositivo per la microinfusione di farmaci?
18. Sta assumendo farmaci attualmente? Se sì indicare quali.
19. È stato mai sottoposto a stimolazione magnetica transcranica (TMS) in passato? Se sì, ha avuto dei problemi?
20. È stato mai sottoposto a esami con risonanza magnetica (MRI) in passato? Se sì, ha avuto dei problemi?
21. È stato mai sottoposto a ECT in passato? In caso affermativo, ci sono stati problemi?
22. Ha difficoltà a stare seduto tranquillamente per lunghi periodi (45-60 min)?
23. Ha malattie della pelle o lesioni del cuoio capelluto in fase attiva?
24. Ha mai avuto gravi reazioni cutanee ai cosmetici o gel conduttivi? Elencare eventuali allergie.

Bibliografia

- [1] Cindy L Stanfield, William J Germann, Mary Jane Niles, and Joseph G Cannon. *Fisiologia*. EdiSES, 2009.
- [2] John Nolte and Francesco Osculati. *Anatomia funzionale del sistema nervoso dell'uomo*. Piccin, 1991.
- [3] T Bui and JM Das. Neuroanatomy, cerebral hemisphere, Jul 2023. Updated 2023 Jul 24.
- [4] Eric R. Kandel, James H. Schwartz, Thomas M. Jessell, Steven A. Siegelbaum, and A. J. Hudspeth. *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill Education, New York, 5 edition, 2013.
- [5] Mark Bear, Barry Connors, and Michael A Paradiso. *Neuroscience: Exploring the brain, enhanced edition: Exploring the brain*. Jones & Bartlett Learning, 2020.
- [6] MJ Caire, V Reddy, and MA Varacallo. *Physiology, Synapse*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2023. Aggiornato il 27 marzo 2023.
- [7] Katarzyna Blinowska and Piotr Durka. Electroencephalography (eeg). In *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*. Wiley, 2006.
- [8] Saeid Sanei and Jonathon A. Chambers. *EEG Signal Processing and Machine Learning*. Wiley, second edition, 2021.
- [9] Ramnivas Sharma and Hemant Kumar Meena. Emerging trends in eeg signal processing: A systematic review. *SN Computer Science*, 2024.
- [10] A. Chaddad, Y. Wu, R. Kateb, and A. Bouridane. Electroencephalography signal processing: A comprehensive review and analysis of methods and techniques. *sensors*, 23, 2023.
- [11] D. Puthankattil Subha, Paul K. Joseph, Rajendra Acharya U, and Choo Min Lim. Eeg signal analysis: A survey. *Journal of Medical Systems*, 34:195–212, 2008.
- [12] J Satheesh Kumar and P Bhuvaneshwari. Analysis of electroencephalography (eeg) signals and its categorization - a study. *Procedia Engineering*, 38:2525–2536, 2012.
- [13] Siuly Siuly, Yan Li, and Yanchun Zhang. *EEG Signal Analysis and Classification*. Springer Nature, 2016.
- [14] Robert Oostenveld and Peter Praamstra. The five percent electrode system for high-resolution eeg and erp measurements. *Clinical Neurophysiology*, 112:713–719, 2001.
- [15] Dasa Gorjan, Klaus Gramann, Kevin De Pauw, and Uros Marusic. Removal of movement-induced eeg artifacts: current state of the art and guidelines. *Journal of Neural Engineering*, 19, 2022.

- [16] Jose Antonio Urigüen and Begoña Garcia-Zapirain. Eeg artifact removal—state of the art and guidelines. *Journal of Neural Engineering*, 12, 2015.
- [17] C. Bonato, C. Miniussi, and P.M. Rossini. Transcranial magnetic stimulation and cortical evoked potentials: A tms/eeg co-registration study. *Clinical Neurophysiology*, 117:1699–1707, 2006.
- [18] Simone Rossi, Mark Hallett, Paolo M. Rossini, Alvaro Pascual-Leone, and The Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clinical Neurophysiology*, 120:2008–2039, 2009.
- [19] Nigel C. Rogasch and Paul B. Fitzgerald. Assessing cortical network properties using tms-eeg. *Human Brain Mapping*, 34:1652–1669, 2013.
- [20] Lari M. Koponen and Angel V. Peterchev. Transcranial magnetic stimulation: Principles and applications. In Bin He, editor, *Neural Engineering*, pages 245–270. Springer, third edition, 2020.
- [21] Julio C. Hernandez-Pavon, Domenica Veniero, Til Ole Bergmann, Paolo Belardinelli, Marta Bortoletto, Silvia Casarotto, Elias P. Casula, Faranak Farzan, Matteo Fecchio, Petro Julkunen, Elisa Kallioniemi, Pantelis Lioumis, Johanna Metsomaa, Carlo Miniussi, Tuomas P. Mutanen, Lorenzo Rocchi, Nigel C. Rogasch, Mouhsin M. Shafi, Hartwig R. Siebner, Gregor Thut, Christoph Zrenner, Ulf Ziemann, and Risto J. Ilmoniemi. Tms combined with eeg: Recommendations and open issues for data collection and analysis. *Brain Stimulation*, 16(2):567–593, Mar-Apr 2023.
- [22] Eric M. Wassermann, Charles M. Epstein, Ulf Ziemann, Vincent Walsh, Tomas Paus, and Sarah H. Lisanby. *The Oxford Handbook of Transcranial Stimulation*. Oxford University Press, Oxford, UK, 2008.
- [23] Risto J. Ilmoniemi and Drazen Kicić. Methodology for combined tms and eeg. *Brain Topography*, 22(4):233–248, January 2010.
- [24] Faranak Farzan and Marta Bortoletto. Identification and verification of a ‘true’ tms evoked potential in tms-eeg. *Journal of Neuroscience Methods*, 378, 2022.
- [25] Cleveland Clinic. Transcranial magnetic stimulation (tms), 2022. Accessed: 27/03/2025, Medically reviewed on 29/08/2022.
- [26] Julio C. Hernandez-Pavon, Dimitris Kugiumtzis, Christoph Zrenner, Vasilios K. Kimiskidis, and Johanna Metsomaa. Removing artifacts from tms-evoked eeg: A methods review and a unifying theoretical framework. *Journal of Neuroscience Methods*, 376, 2022.
- [27] Domenica Veniero, Marta Bortoletto, and Carlo Miniussi. Tms-eeg co-registration: On tms-induced artifact. *Clinical Neurophysiology*, 120(7):1392–1399, 2009.
- [28] S. Casarotto, M. Fecchio, M. Rosanova, G. Varone, S. D’Ambrosio, S. Sarasso, et al. The rt-tep tool: Real-time visualization of tms-evoked potential to maximize cortical activation and minimize artifacts. *Journal of Neuroscience Methods*, 370:109486, 2022.
- [29] Hiroshi Sekiguchi, Yasuyuki Takeuchi, Tamami Kadota, Hiroshi Kohno, and Kenji Nakajima. Tms-induced artifacts on eeg can be reduced by rearrangement of the electrode’s lead wire before recording. *Clinical Neurophysiology*, 122(5):984–990, 2011.

- [30] A. Hyvärinen and E. Oja. Independent component analysis: algorithms and applications. *Neural Networks*, 13(4):411–430, 2000.
- [31] Gregor Thut, John R. Ives, Frank Kampmann, Maria A. Pastor, and Alvaro Pascual-Leone. A new device and protocol for combining tms and online recordings of eeg and evoked potentials. *Journal of Neuroscience Methods*, 141(2):207–217, 2005.
- [32] Fabio Morbidi, Andrea Garulli, Domenico Prattichizzo, Cristiano Rizzo, and Simone Rossi. Application of kalman filter to remove tms-induced artifacts from eeg recordings. *IEEE Transactions on Control Systems Technology*, December 2008.
- [33] P. Chrapka, H. de Bruin, and G. Hasey. Application of wavelet based denoising techniques to rtms evoked potentials. In *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, pages 4736–4739. IEEE, 2012.
- [34] John G. Webster and Amit J. Nimunkar. *Medical Instrumentation: Application and Design*. Wiley, Hoboken, NJ, 5th edition, 2020.
- [35] Ana Hernández-Sauret, Ona Martín de la Torre, and Diego Redolar-Ripoll. Use of transcranial magnetic stimulation (tms) for studying cognitive control in depressed patients: A systematic review. *Frontiers in Psychology*, 14:1182363, 2023.