

Lezione del 26/10/2020

Nella lezione precedente abbiamo parlato della modulazione della body ownership nei soggetti sani con la RHI per vedere se nei soggetti sani avevamo una ripercussione sul sistema motorio.

Qui ci poniamo invece il quesito opposto, cioè se possiamo partire dal sistema motorio, down-regolandolo, e vedere se questo abbia una ripercussione sulla body ownership che potrebbe produrre una suscettibilità differente alla RHI.

Tanto più uno è suscettibile all'illusione tanto più ha una disponibilità all'embodiment e quindi avrà una rappresentazione del corpo meno stabile (tanto meno è suscettibile, più la rappresentazione del corpo sarà stabile).

Come possiamo modulare il S. motorio per vedere se una modulazione di esso porta portare ad una modifica della body ownership?

Fossataro: inibire M1 con TMS e vedere cosa succede ai sogg che partecipano alla RHI.

Burin: per inibire la corteccia motoria non si è scelto di agire centralmente (quindi con rTMS) ma si è scelto di agire perifericamente, attraverso l'immobilizzazione meccanica del braccio, quindi si sfrutta un meccanismo fisiologico noto per cui a seguito di una immobilizzazione si ha una modificazione (reversibile) delle funzioni fisiologiche importanti sul sistema motorio, perché l'inutilizzo della mano e la condizione di immobilizzazione producono come effetto, partendo dalla periferia, una down regolazione della corteccia motoria primaria, e quindi vanno a inibire l'eccitabilità corticale di M1, e ciò fa sì che ci sia un aumento della suscettibilità all'illusione.

L'obiettivo dei due studi è sostanzialmente uguale ed è quello di vedere se a seguito dell'inibizione centrale o periferica di M1 cambia la sensibilità all'illusione o meno.

Articolo 1. FOSSATARO: qui c'è la manipolazione applicata centralmente su M1 con la rTMS.

Il soggetto sperimentale fa una procedura di rTMS inibitoria,, per 20': 4 sessioni, alla quale segue la procedura di RHI. La cosa importante è che prima dei venti minuti di rTMS inibitoria vengano registrati 10 MEP a seguito dei single pulse e si da uno stimolo per registrare l'ampiezza del MEP (motor evoked potential). Questo si fa per avere una misura di baseline dell'eccitabilità corticale del nostro soggetto sperimentale e di tutti quelli che partecipano allo studio.

Quindi data un'intensità di questo stimolo qual è l'ampiezza dei MEP che registriamo una questa mano?

Come vi aspettate che cambino questi 10 MEP, quelli presi prima e quelli presi dopo la procedura sperimentale? Come vi aspettate che cambino dopo i 20 minuti di rTMS inibitoria?

I MEP sono meno ampi, questo indipendentemente dalle altre condizioni (come stimolazione sincrona o asincrona).

La procedura sperimentale prevede:

TMS (ripetitiva/sham) + raccolta della misura del drift propriocettivo + RHI + raccolta del drift e questionario + racconta della registrazione dei MEP "pre" e "post" per verificare l'efficacia della rTMS nella modulazione del sistema motorio, andando quindi a vedere la differenza dell'ampiezza dei MEP tra prima e dopo stimolazione.

- Le sessioni sham sono di controllo, viene fatto credere che vi sia una stimolazione come quella di rTMS quando in realtà è solamente una simulazione.

Within subjects: in un gruppo su mano controlaterale rispetto alla stimolazione e nell'altro ipsilaterale rispetto alla stimolazione questo per vedere se c'è una specificità dell'effetto, cioè se la variazione dell'esperienza RHI è prodotta dalla manipolazione di M1 e vedere se c'è un effetto specifico o generalizzato.

Design in entrambi i gruppi è 2x2:

1)hand stimulation: a) syn; b) asyn

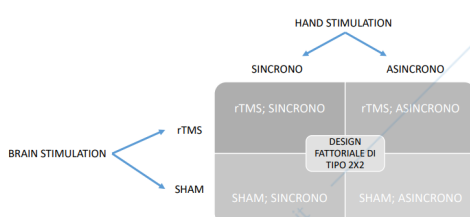
2)brain stimulation: a) rTMS real; b) sham

quindi abbiamo due condizioni di controllo:

1)una stimolazione di controllo per la hand stimulation, quindi la stimolazione della mano, che è la stimolazione asincrona.

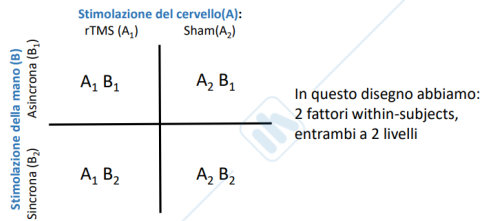
2)una stimolazione di controllo per la brain stimulation, che è la

shame.



Per design fattoriale 2x2 si intende il fatto che si abbiano due fattori, entrambi a due livelli, che si incrociano e combinano tra di loro.

Obiettivo dello studio: dimostrare il ruolo del sistema motorio nella body ownership
Ipotesi: l'effetto della RHI è maggiore dopo la rTMS inibitoria su M1
Analisi: Fattoriale 2 x 2 (within-subjects)



Quindi noi possiamo vedere che per quanto riguarda il fattore della *brain stimulation* abbiamo la rTMS o Sham, di entrambe queste due possibilità abbiamo una versione che si incrocia con i livelli dei fattori *hand stimulation*, per cui abbiamo una rTMS *asincrona* e una rTMS *sincrona*, una Sham *asincrona* e una Sham *sincrona*.

Lo stesso discorso potrebbe essere fatto partendo dai livelli di *hand stimulation*, perché è altrettanto vero che per una *stimolazione asincrona* esiste una versione rTMS e una versione Sham, e per la

stimolazione sincrona esiste una versione rTMS e una versione sham.

il nostro obiettivo è quello di dimostrare il ruolo del sistema motorio nella body ownership, nel vedere se a seguito della stimolazione magnetica transcranica inibitoria di M1 viene modulata la suscettibilità, l'illusione, dei nostri soggetti.

Le variabili dipendenti di interesse sono le tre misure di RHI che andiamo a prendere nel nostro design, quindi il proprioceptive drift, il questionario di embodiment e il questionario di disembodiment, e vogliamo vedere come variano al variare di queste condizioni.

Ogni soggetto viene sottoposto a tutte e 4 le condizioni.

L'ipotesi è che con l'inibizione di M1 ci sia una maggiore illusione di proprietà corporea.

Quindi noi facciamo l'ipotesi che l'effetto della RHI sia maggiore dopo la rTMS inibitoria su M1.

In quale di queste 4 condizioni ci dovremmo aspettare l'effetto maggiore? A1- B2, perchè è la condizione che corrisponde alla stimolazione sincrona, quindi a livello di hand stimulation è la stimolazione che induce l'embodiment, e corrisponde alla rTMS che è la condizione di stimolazione e non alla Sham.

Formulazione delle ipotesi

Esiste un effetto del fattore hand stimulation? (replicare RHI)

H0: non c'è alcuna differenza tra stimolazione sincrona e stimolazione asincrona.

H1: rating al questionario/drift è maggiore nella stimolazione sincrona che in quella asincrona. Quindi ci aspettiamo un **main effect**, un effetto principale del fattore hand stimulation

Esiste un effetto del fattore brain stimulation?

H0: non c'è alcuna differenza tra rTMS e Sham

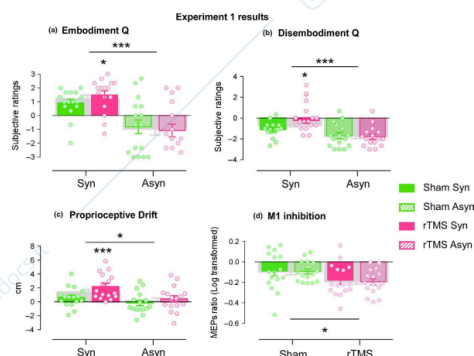
H1: rating al questionario/drift è maggiore dopo rTMS rispetto a Sham. **main effect** di brain stimulation

L'effetto di uno dei due livelli di Hand Stimulation (Syn o Asyn) varia a seconda del livello di del fattore Brain Stim (rTMS o Sham): INTERAZIONE

H0: nessuna interazione tra fattore hand e brain stimulation

H1: c'è interazione, per esempio dopo rTMS l'effetto della stimolazione sincrona è maggiore che dopo la Sham.

- 1) Effetto di Hand Stimulation? In che misure?
 - 2) Effetto di Brain Stimulation? In che misure?
 - 3) Interazione tra Hand Stim e Brain Stim? In che misure?
- MEP: rapporto after/pre (numero negativo, inibizione!)



La nostra ipotesi è che l'effetto della RHI è maggiore dopo la rTMS più che dopo sham, mentre per la stimolazione asincrona che è di controllo non ci aspettiamo che vari molto tra fare la rTMS e Sham.

Risultati "main experiment" (RHI sulla mano controlaterale rispetto all'emisfero cerebrale che ha subito la rTMS inibitoria su M1)
 Le misure del grafico a, b e c mostrano un effetto di interazione perché si nota una

differenza tra rTMS e sham SOLO nella condizione sincrona e non nell'asincrona. Quindi a b e c sono le cose che ci interessano di più. Il grafico "d" ci interessa solo per verificare che sia avvenuta l'inibizione di M1, rappresenta dunque l'ampiezza dei MEP (i 10 MEP reg "pre" e "after" la procedura sperimentale) e vengono rappresentati qui come rapporto tra i MEP registrati "after" e i 10 MEP registrati "pre".

Questa misura è quindi un rapporto, espresso con la scala logaritmica; se ha un andamento negativo vuol dire che abbiamo avuto una riduzione nell'after rispetto al pre, se invece avessimo avuto un andamento positivo avremmo avuto un aumento dell'after rispetto al pre.

Guardando il grafico d, gli istogrammi li vediamo tutti negativi (verdi Sham, rosa rTMS), c'è una differenza significativa che nei grafici viene rappresentata con l'asterisco, quindi asterisco= significatività statistica, qui tutti i rosa sono significativamente più inibiti di tutti i verdi, dopo la rTMS, come atteso, l'ampiezza dei mep è ridotta rispetto alla condizione sham.

C'è diff tra sincrona e asincrona? no, non c'è, perchè questo non è altro che un effetto principale della brain stimulation.

I punti (*nel grafico*) sono i singoli sogg, mentre gli istogrammi rappresentano la media e la deviazione standard. Le differenze significative vengono rappresentate con gli asterischi; si mettono due o più asterischi per indicare i num di zeri dopo la virgola (*p value*). Convenzionalmente si fissa l'effetto di significatività *p value* a 0.005, ma possiamo avere anche significatività che hanno due o tre zeri dopo la virgola, come nei casi rappresentati nei grafici a, b e c.

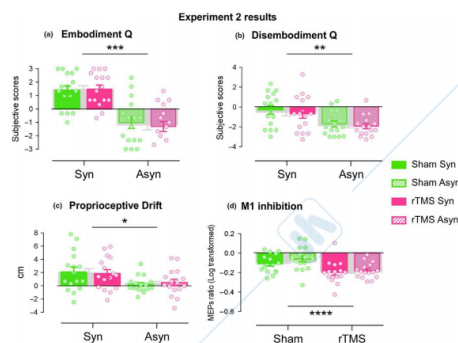
Nel pannello **A** (slide su), noi vediamo due effetti: *uno di hand stimulation*, e l'ombra grigia (dietro verde e rosa) rappresenta la media dei sincroni sia in verde che in rosa, (le due condizioni sincrone indipendentemente dal tipo di stimolazione) che sono tutte più positive rispetto alle asincrone, quindi è un *effetto principale di hand stimulation*, e l'*effetto di interazione*, perchè la parte rosa pieno (cioè di rTMS sincrona) è la più grande di tutte le altre. Questo ragionamento si può estendere anche al pannello **B e C**.

Se si confrontano gli istogrammi grigi si vede l'effetto principale di hand stimulation, in tutti i grafici a, b e c, quando la stimolazione è sincrona (indip da fatto che sia presentata la condizione rTMS e Sham) i valori sono più alti rispetto a quando è asincrona.

Invece per dire che c'è l'*effetto di interazione* ci si basa sul fatto che **SOLO** la condizione rosa piena è significativamente maggiore di tutte le altre condizioni, e che solo all'interno delle sincrone la rTMS è maggiore della sham; se osserviamo ciò che succede nelle condizioni asincrone notiamo che non c'è differenza tra rTMS e Sham.

Quindi per dire che vi è l'effetto di interazione non è sufficiente dire che c'è perchè il rosa pieno è maggiore del verde pieno, ma c'è perchè il rosa p. è maggiore rispetto a **TUTTE** le altre condizioni.

- 1) Effetto di Hand Stimulation? In che misure?
- 2) Effetto di Brain Stimulation? In che misure?
- 3) Interazione tra Hand Stim e Brain Stim? In che misure?



Nel "control experiment", cioè quando la procedura illusoria viene effettuata sulla mano ipsilaterale rispetto all'emisfero che viene stimolato, non ci si aspetta l'effetto perchè M1 (perchè le vie sono crociate); sparisce dunque l'effetto di interazione e abbiamo solo l'effetto principale (in a, b e c) di hand stimulation; cioè rimane vero che la condizione sincrona è sempre maggiore della condizione asincrona, indipendentemente che la procedura sia

shame o rTMS, ma non vediamo più ruolo speciale della stimolazione con rTMS sincrona che vedevano nel grafico precedente (**slide 9**), quindi nel control experiment, in a b e c, abbiamo solo un effetto principale di hand stimulation, e non c'è interazione tra hand stimulation e brain stimulation, perchè la brain stimulation si sta effettuando sull'emisfero "sbagliato" rispetto alla mano su cui si sta effettuando l'illusione.

Per quanto riguarda d, invece, i risultati sono identici a quelli del Main experiment, cioè si vede un effetto di brain stimulation perché in questo caso sono registrati i MEP della mano giusta, cioè quella controlaterale.

Il pannello D ci serve solo per dire che la rTMS che abbiamo fatto, seppur nell'altro emisfero, è stata efficace per modulare l'eccitabilità corticale di M1, in questo caso dell'M1 che non ci interessa perché non comanda la mano su cui stiamo effettuando l'illusione in questo momento.

Ci si è resi conto che alterando centralmente il s. motorio con rTMS si è in grado di modulare la BO rendendo i soggetti maggiormente suscettibili, e ciò si può vedere sia dal questionario che dal drift.

PARTE DI ALICE

The predictive coding theory, secondo questa teoria il Sistema Nervoso agisce come una macchina inferenziale che spiega i fenomeni sensoriali che occorrono sul corpo costruendo modelli probabilistici (quindi cause ed effetti delle sensazioni), e poi compara questi modelli probabilistici con le info sensoriali afferenti, in modo da aggiornare i modelli probabilistici, in questo modo fa sì che ci si possa muovere sempre in un ambiente che è predicibile, ciò è molto importante per garantire la sopravvivenza nell'ambiente.

La RHI ha due condizioni, una sincrona e asincrona.

Nella condizione sincrona il tocco dello sperimentatore è sincrono tra mano del sogg (nascosta) e mano di gomma (visibile), l'info visiva informa il cervello del fatto che sia la mano di gomma ad essere toccata, l'info tattile invece comunica al cervello che ad essere toccata è la mano propria del soggetto.

Quindi si avrà che, a partire dalle due informazioni, quella visiva e quella tattile, si generano due diversi, e in contrasto, modelli predittivi: dall'info visiva si genera un modello predittivo che dice che *non si dovrebbe sentire l'info tattile* perché è sulla mano di gomma che viene esercitata la stimolazione, dall'altra parte però l'info tattile dice che sente il tocco della mano e quindi il modello predittivo tattile *vorrebbe che si vedesse* il tocco della mano. Questo genera un segnale d'errore, per risolvere questo errore il sistema decide di attribuire un peso maggiore all'info visiva e minore all'info tattile, quindi preferirà il modello secondo il quale il tocco che si sente è effettuato sulla propria mano.

Come accade ciò nel cervello?

Esistono delle evidenze sia comportamentali che fisiologiche della down regulation del sistema somatosensoriale.

C'è uno studio in cui ai partecipanti veniva fatta RHI in 3 condizioni: 1) condizione congruente in cui la mano di gomma veniva posizionata in maniera congruente rispetto alla mano reale, 2) condizione real in cui c'era solo la mano reale. 3) condizione incongruente, il tocco era sempre sincrono, ma la procedura di RHI era posizionata in modo tale da non rispettare i vincoli di embodiment, e quindi embodiment non avveniva.

Tramite un sistema di elettroencefalografia hanno registrato i potenziali evocati dal tocco, e cioè come viene modulata l'attività elettroencefalografica durante la rubber hand illusion, e tramite l'analisi *dynamic causal modelling*, che valuta la connettività a partire da una certa area, hanno ricostruito questo modello di connettività effettiva per cui **la connettività interna alla corteccia somatosensoriale primaria (s1) sembrerebbe essere down regolata** mentre **la connettività che parte da aree visive e giunge alle aree di integrazione multisensoriale**, come potrebbe essere alla corteccia premotoria **sembra essere facilitata (up-regulation)**

Secondo questa analisi che prediction si potrebbe fare sullo stato di attività del s. visivo e somatosensoriale durante la RHI? hanno una modulazione che va nella stessa direzione o in direzioni opposte? Ci aspettiamo che il s. visivo sia facilitato, mentre l'altro (s1) inibito durante la RHI.

Metodo psicofisico delle soglie percettive, si valuta lo stato del s. somatosensoriale e del s. visivo dopo l'instaurarsi della RHI.

La soglia percettiva è l'intensità di stimolazione per cui i soggetti riportano di sentire il 50% degli stimoli presentati.

La soglia di luminanza visiva si misura attraverso una procedura in cui il soggetto osserva una croce di fissazione su uno schermo orizzontale, alla dx e sx della croce possono comparire stimoli più o meno

intensi a livello di luminanza, si va a valutare quindi qual è l'intensità di luminanza necessaria per cui il soggetto percepisce gli stimoli nel 50% dei casi.

Basandosi su queste due misure sono stati disegnati 2 esperimenti

Esp 1 (somatos) si valuta come la performance del soggetto di detezione di stimoli a soglia, stimoli tattili sulle mani (o dx o sx o entrambe contemporaneamente), e valuta come prima e dopo l'illusione la detezione di questi stimoli era modulata dalla RHI.

Dopo aver trovato la soglia si effettua un compito di baseline, poi un task di detezione di stimoli tattili. poi si misura il proprioceptive drift, si somministrano due minuti di RHI sincrona o asincrona, e poi di nuovo il compito di detezione degli stimoli; per mantenere l'illusione tra uno stimolo tattile e l'altro venivano inseriti dai 13 a 15 secondi di RHI, e quindi **questo task eseguito dopo l'instaurarsi dell'illusione andava a valutare gli effetti RHI sul task di detezione**. Poi si ripete drift per la misura differenziale, e infine i questionari di embodiment e disembodiment.

La mano su cui veniva fatta l'illusione era la mano dx, questo è importante perché quando c'erano stimoli sia su dx che sx, si poteva vedere se la down regolazione del s. somatosensoriale era circoscritta alla mano su cui era fatto l'illusione (dx) o era generalizzata a entrambe le mani.

Quindi se RHI ha effetto sul sistema controlaterale o se ha effetto sul s. somatosensoriale in generale. Si calcola l'accuratezza unilaterale, cioè di detezione degli stimoli solo su dx o sx, o accurata bilaterale, ovvero di detezione su entrambe le mani contemporaneamente.

Infine viene anche calcolato il numero di omissioni; in neuropsicologia esiste una condizione patologica che si chiama **estinzione tattile** tale per cui i soggetti, se vengono stimolati unilateralmente sono in grado di riportare correttamente gli stimoli, quando la stimolazione è invece effettuata contemporaneamente su entrambe le mani, allora in maniera selettiva omettono sempre lo stimolo che è stato dato sulla mano controlaterale alla lesione cerebrale.

Quello che noi volevamo vedere è se la RHI avesse effetto di down regulation tale da far sì che i soggetti producessero una sorta di estinzione (i soggetti sani).

Se la RHI la faccio solo su una mano, e solo su quella mano si verifica down regolazione, allora è possibile che le performance dei soggetti quando lo stimolo è fatto su entrambe le mani siano peggiorate, nel senso che i soggetti omettono selettivamente gli stimoli dati su mano illusa.

risultati: nella condizione sincrona, questionario di embodiment e disembodiment e drift erano maggiori rispetto alla condizione asincrona, quindi i soggetti hanno esperito illusione.

Invece negli altri pannelli ci sono i risultati delle loro performance nella task di detezione degli stimoli unilaterali, bilaterali e la percentuale di omissione durante gli stimoli bilaterali.

Nel grafico D si vede che solo sulla mano dx su cui era stata effettuata l'illusione, e sono nella condizione sincrona, dopo l'instaurarsi dell'illusione vediamo una diminuzione dell'accuratezza di detezione.

L'analisi era un ANOVA between subject.

Si trova una triplice interazione: 1) l'accuratezza di detezione è minore SOLO dopo che il soggetto ha iniziato ad esperire illusione di RHI. 2) SOLO per la mano dx, 3) SOLO per la condizione sincrona e solo dopo che si è instaurata illusione abbiamo aumento significativo delle omissioni rispetto alle altre condizioni.

I risultati concorrono a confermare che il sistema somatosensoriale è down regolato e inibito dopo instaurarsi dell'illusione, in più i dati su omissione e detezione unilaterale ci dicono che la down regolazione è circoscritta all'emisfero controlaterale alla mano illusa.