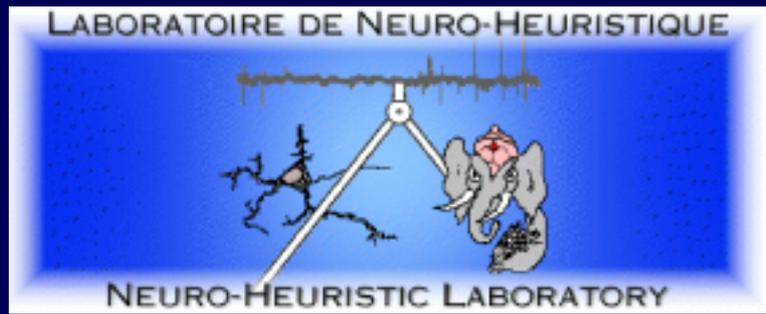


<http://www.neuroheuristic.org>

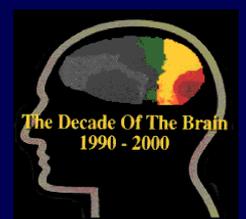


Virtual laboratory



The possibility to use remote computers for data analysis represents an important goal of the Laboratory of Neuro-heuristics. We developed a user-friendly computational framework based on the features provided by the Java language. This represents an important step towards the implementation of a 'virtual laboratory', where colleagues from all over the world and from developing countries, in particular, get an access to cutting-edge techniques of scientific data analysis.

The first transdisciplinary WWW site in Switzerland
Also the first site in Swiss Neuroscience and Neuroinformatics
Serving since April 1995



In our Laboratory **TRANSDISCIPLINARITY** is a living word.
Transdisciplinarity means collaborative work between teammates educated in different disciplines.
Transdisciplinarity means participation of people having different cultural background.
Transdisciplinarity means a joint effort between young and senior scholars.
Transdisciplinarity means coexistence of multiple languages.

Laboratorio di «Neuroeuristica»

Rapporto di attività 1995-1999

* * * * *

Lausanne

Gennaio 2000

Laboratorio di «Neuroeuristica»

*Institut de Physiologie
Faculté de Médecine
Université de Lausanne
Rue du Bugnon 7
CH-1005 Lausanne
Svizzera*

*Telefono: + 41.21.692.5532
x.5516
Fax: + 41.21.692.5505*

Internet:
www.neuroheuristic.org

Il Laboratorio di Neuroeuristica è nato all'inizio del 1995 presso l'Istituto di Fisiologia dell'università di Losanna (Svizzera) con lo scopo di sviluppare le ricerche in elettrofisiologia dei centri nervosi superiori e applicarle allo studio di processi integrati legati ai sistemi sensoriali. A seguito di precedenti finanziamenti che Alessandro Villa aveva ricevuto dall'Unione Europea e dal Fondo Nazionale Svizzero della Ricerca Scientifica è stato possibile riunire un'équipe di ricercatori di varie nazionalità e con diverse formazioni specialistiche e quindi avviare i primi passi del Laboratorio. Negli anni successivi le collaborazioni internazionali e i contratti di ricerca hanno avuto un grande sviluppo e queste pagine documentano la vivacità del lavoro che viene svolto attualmente. È pure importante sottolineare che il personale del Laboratorio di Neuroeuristica partecipa attivamente a diverse attività docenti in seno alla Facoltà di Medicina e alla Facoltà di Scienze dell'Università di Losanna e accoglie regolarmente degli studenti che hanno scelto temi di neuroscienze integrative per la Tesi di Laurea o di Dottorato.

Ambito teorico

Il metodo scientifico è tradizionalmente basato sul postulato di un mondo esteriore oggettivo. Tale convinzione è sostenuta da un procedimento razionale, che fa appello alle leggi meccaniche di causalità e di determinismo. Tale procedimento, brillantemente sviluppato da Cartesio nel XVII secolo, è alla base dell'empirismo classico e a fondamento dello sviluppo delle scienze fisiche e tecniche, che hanno modellato la nostra cultura tecnologica. L'impiego di metodi positivisti e riduzionisti hanno tuttavia mostrato dei limiti nei propri campi di applicazione. Ad esempio, per comprendere l'apparizione della turbolenza, la teoria di Kolmogorov ha progredito solo attraverso un nuovo paradigma che ha introdotto la nozione di «caos» e di attrattore strano.

I limiti del metodo classico sono ancora più evidenti nella ricerca biomedica, poiché essa si confronta costantemente con i processi patologici e di invecchiamento. L'apparente stabilità dell'individuo non è che un'illusione, poiché tutto l'organismo vivente rinnova senza fine la quasi totalità delle molecole che lo compongono. Questa catena incessante di anabolismo e catabolismo, che ha luogo in ogni cellula, è il primo fattore di consumo di energia nel Vivente. La violazione apparente della teoria termodinamica classica non può essere compresa senza postulare che la dissipazione di energia diventi la sorgente di un nuovo stato della materia, più stabile del precedente. Alla discontinuità tra i

livelli di organizzazione si accompagna un flusso di informazioni, la cui misura e quantificazione ci sfugge ampiamente, viste le dimensioni metriche dello spazio euclideo in cui il procedimento scientifico classico si è evoluto.

Nello studio delle funzioni cerebrali, il concetto stesso di conoscenza non può essere concepito indipendentemente dai suoi fondamenti neurobiologici e dalla sua relazione con la rappresentazione mentale, la logica e le teorie computazionali delle capacità cognitive animali e umane. Lo studio *in vivo* dell'attività del cervello non può dunque ignorare i meccanismi che organizzano il suo substrato materiale. In particolare, la morte in tempi rapidi di una grande proporzione di cellule nervose, tra il 20 e l'80% a secondo delle aree cerebrali, che hanno già raggiunto uno stadio di maturazione avanzato costituisce una discontinuità notevole, verosimilmente necessaria per il passaggio a uno stadio superiore di organizzazione.

E' largamente accettato che i sistemi biologici presentano un grado di imprecisione genetico ed epigenetico, che può danneggiare mortalmente alcune cellule in sviluppo. Ma la morte neuronale programmata, o *apoptosi*, interessa le cellule che hanno già espresso buona parte del materiale genetico che le caratterizza, e che, nella maggioranza dei casi, hanno già stabilito delle connessioni funzionali con altre cellule. Il beneficio di un tale processo, caratterizzato dapprima da una iperproduzione e successivamente dalla perdita di un gran numero di cellule, non è certamente facile da capire per quanto esso differisce dalla logica dell'ontogenesi classica. Almeno due punti attirano la nostra attenzione: primo, lo sviluppo di un organismo è un caso paradigmatico di una serie progressiva di tappe costruttive durante le quali si assiste all'aumento delle cellule, alla crescita e maturazione degli organi e alla differenziazione delle loro funzioni biochimiche e fisiologiche; secondo, la morte cellulare programmata rappresenta l'unico caso nella vita di un individuo in cui la perdita consistente di cellule non corrisponde a un processo patologico o di invecchiamento. Queste osservazioni ci suggeriscono che le possibili strategie da adottare per cercare di comprendere il funzionamento cerebrale si urtano con il «problema di scala» posto dagli stessi oggetti studiati, siano essi a livello molecolare, cellulare, individuale o addirittura sociale.

Una strategia transdisciplinare

La strategia di ricerca basata sulla causalità «bottom-up», vale a dire la transizione da un livello di complessità inferiore verso livelli di complessità crescente, generalmente scelta dai neurobiologi, appare potenzialmente necessaria e sufficiente ma inaccessibile alla sperimentazione, a causa dell'impossibilità di esaminare simultaneamente tutti gli elementi cellulari di un cervello, per quanto primitivo esso sia. Una strategia «top-down», vale a dire una strategia che partendo da un livello di complessità elevato, con l'aiuto di «scatole nere», si dirige verso una complessità inferiore, sembra essere più facile da realizzare,

ma non è sufficiente per capire i fondamenti dell'attività cerebrale. L'attribuzione stessa dei meccanismi funzionali a un livello elevato o inferiore di organizzazione è il frutto di un'interpretazione riduzionista e ambivalente del problema. Il confronto tra le causalità «bottom-up» e «top-down» potrà sviluppare una metamorfosi verso un altro tipo di procedimento nelle neuroscienze. Dalla nostra prospettiva, la metamorfosi ha luogo quando si verifica una combinazione essenzialmente nuova e imprevista delle proprietà preesistenti. All'alba del XXI secolo, un tale procedimento deve necessariamente fare appello alle nuove scienze e tecnologie che costituiscono il motore del progresso emergente, di cui la biologia molecolare e l'informatica sono sicuramente tra gli strumenti più importanti.

Un tale genere di procedimento, basato su un approccio transdisciplinare nelle neuroscienze (vale a dire un procedimento che supera le divisioni esistenti tra le discipline), permette l'elaborazione dell'ambito teorico dal quale si sviluppa la neuroeuristica o neuristica (che deriva dal greco *neuron* «nervo» e *heuriskein* «trovare», «scoprire»). In questo ambito facciamo riferimento alle relazioni dinamiche che le complesse conoscenze acquisite dalle neuroscienze hanno messo in luce tramite un procedimento non riconducibile a una semplice sommazione di informazioni, poiché essa si rinnova incessantemente ad ogni passo del suo progredire verso la scoperta scientifica.

Personale***Responsabile***

Dr. Alessandro E.P. Villa

Ricercatori

Dr. Igor V. Tetko

Dr.ssa Maria Antonietta Farré Castany

Dr. Pierre Dutoit

Studenti

Jan Eriksson, dottorando

Sean Hill, dottorando

Daniel Huber, dottorando

Luciana Carota, laureanda (univ. di Bologna)

Javier Iglesias, laureando

Alexandre Kuhn, laureando

Céline Mariéthoz, laureanda

Abdellatif Najem, laureando (univ. di Ginevra)

Personale tecnico

(in comune con gli altri laboratori dell'Istituto di Fisiologia dell'Università di Losanna)

Christian Haerberli, ingegnere elettronico

Michel Jadé, ingegnere meccanico

André Singy, operaio specializzato in meccanica

Danièle Dufour, operaia allo stabulario

Collaborazioni esterne

T. Aksenova, Accademia delle Scienze, Kiev, Ucraina

D. Brillinger, Università della California, Berkeley, USA

P. Calissano, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma

M. Celio, Università di Friburgo, Svizzera

A. Celletti, Università "Tor Vergata", Roma

H. Dedieu, Politecnico Federale di Losanna, Svizzera

C. Depeursinge, Politecnico Federale di Losanna, Svizzera

F. Donati, Inselspital, Berna, Svizzera

M. Fabiani, Università del Missouri, Columbia, USA

G. Gratton, Università del Missouri, Columbia, USA

F. Grize, Università di Losanna, Svizzera

M. Hajòs, Università di Oxford, Inghilterra

M. Hasler, Scuola Politecnica Federale di Losanna, Svizzera

J. Huuskonen, Università di Helsinki, Finlandia

B. Hyland, Università di Otago, Nuova Zelanda

A.G. Ivakhnenko, Accademia delle Scienze, Kiev, Ucraina

T. Landis, Ospedale Universitario di Ginevra, Svizzera

D. Livingstone, ChemQuest Ltd., Inghilterra

L. Martignon, Istituto Max Planck, Berlino, Germania

S. Perrig, Ospedale Universitario di Ginevra, Svizzera

A. Riehle, CRNC, C.N.R.S., Marsiglia, Francia

J. Rouat, Université du Quebec, Chicoutimi, Canada

E. Rouiller, Università di Friburgo, Svizzera

T. Ruusuvirta, Università di Jivaskyla, Finlandia

B. Schwaller, Università di Friburgo, Svizzera

V. Sinitsky, Ministero della Sanità, Kiev, Ucraina

V. Storozhuk, Accademia delle Scienze, Kiev, Ucraina

J. Taylor, King's College, Londra, Inghilterra

E. Vaadia, Hebrew University, Gerusalemme, Israele

J.-F. Vibert, Ospedale Universitario St. Antoine, Parigi, Francia

W. Welsh, Università del Missouri, St. Louis, USA

W. Zielinski, Food and Drug Administration, USA

**Organizzazione di
manifestazioni
scientifiche**

- 1997 : Simposio “Temporal Patterns and Brain Dynamics” (organizzatore : A. Villa), Settima Conferenza Internazionale su Reti Neurali Artificiali, Losanna 8-10 ottobre, patrocinata dalla European Neural Network Society e dal Politecnico Federale di Losanna.
- 1998 : Simposio “Human and Medical Imaging” (organizzatore : A. Villa), Quinta Conferenza Mondiale su Scelte Umane e Computer (HCC-5) : Computer e Reti nell’Era della Globalizzazione, Ginevra 25-28 agosto, patrocinato dalla Federazione Internazionale per il Trattamento dell’Informazione (IFIP) e dalla Facoltà di Economia e Commercio dell’Università di Losanna.
- 1999 : “Il virtuale, una nuova visione del mondo?” (membro del comitato scientifico organizzatore : A. Villa), Sion (Vallese, Svizzera) 7-8 ottobre 1999, Inter- et transdisciplinarietà: Foro su arte, scienza e tecnica, serie di simposi organizzati dall’Istituto Universitario Kurt Bösch.

Contratti

- Contratto del Fondo Nazionale Svizzero della Ricerca Scientifica, Berna, “Automatic complex sound recognition based on physiological coding principle” (A. Villa, H. Dedieu, M. Hasler e Y. de Ribaupierre, 1996-1998).
- Contratto binazionale con il Fondo Nazionale Svizzero della Ricerca Scientifica e il Medical Research Council (Gran Bretagna), “Electrophysiological and pharmacological characterisation of the brain 5-HT neurone” (A. Villa e M. Hajòs, 1996-1997).
- Sovvenzione dell’Istituto della Enciclopedia Italiana, Roma, “Frontiere della Vita – Frontiers of Life” (A. Villa, 1997-1998).
- Contratto con l’INTAS del Consiglio d’Europa per lo sviluppo della ricerca scientifica in Ucraina, INTAS-UA, “Development and Application of a Volume Learning Algorithm Artificial Neural Network in 3D Quantitative Structure-Activity Relationship Studies” (I. Tetko e D. Livingstone, 1997-1999).
- Sovvenzione di Novartis, Basilea, “Electrophysiological properties of cortical neurons in Parvalbumin-deficient mice” (A. Villa e M. Celio, 1997-1998).
- Sovvenzione dell’Ufficio Federale per l’Educazione e la Ricerca (Berna) “Computational Neuroscience” (A. Villa e A. Kuhn, 1998).
- Contratto con l’INTAS del Consiglio d’Europa per lo sviluppo della ricerca scientifica nei paesi dell’ex-URSS, INTAS-OPEN, “Computer Assisted Neurophysiology by Distributed Java Program” (A. Villa, coordinatore, 1998-2000).

- Contratto con l'INTAS del Consiglio d'Europa per lo sviluppo della ricerca scientifica nei paesi dell'ex-URSS, INTAS-OPEN, "Dopaminergic and glutamatergic interaction in neocortex of awaked brain" (A. Villa, coordinatore, 1998-2001).
- Contratto con il Fondo Nazionale Svizzero della Ricerca Scientifica, "Bio-inspired methods for automatic recognition of complex auditory signals" (A. Villa, H. Dedieu e M. Hasler, 1999-2001).
- Contratto con il National Science Foundation (NSF) degli USA, "Statistical evaluation of Hebbian learning in biological recordings of neural networks" (D. Brillinger, A. Villa, 1999-2002).
- Donazioni private a sostegno degli studenti in formazione.

Attività di ricerca

Negli ultimi anni il filo conduttore delle nostre ricerche è stato lo studio del processo di integrazione sensomotoria, con particolare riferimento alla modalità sensoriale uditiva, mediante un intenso interscambio che unisce la sperimentazione animale e la simulazione informatica. A parte poche eccezioni, il modello animale che abbiamo prescelto è il roditore, spesso il ratto e recentemente il topo. Il tema dei nostri studi è stato sviluppato lungo diverse linee di ricerca che si ricollegano tra loro e che possiamo identificare come segue: (1) studio delle interazioni funzionali tra i centri nervosi superiori; (2) modulazione «non specifica» dell'informazione nei circuiti talamici e corticali; (3) studio comportamentale del processo sensomotorio; (4) modelli neuromimetici e reti di neuroni artificiali che consentono di simulare e integrare progressivamente i risultati delle ricerche sperimentali; (5) sviluppo di nuovi metodi di analisi dell'attività neuronale.

1. Interazioni funzionali

Da molti anni la caratteristica principale del nostro metodo elettrofisiologico consiste nell'utilizzo di elettrodi multipli per la registrazione dell'attività nervosa. Tale metodo consente di studiare le interazioni funzionali (per differenziarle dalle interazioni strutturali rilevate dagli studi anatomici) tra siti di registrazione all'interno di una stessa regione del cervello o tra regioni diverse, anche in emisferi diversi. Abbiamo cominciato ad acquisire esperienza in tale campo da circa 15 anni e abbiamo progressivamente sviluppato numerosi strumenti necessari alla gestione dell'enorme quantità di dati generati da tali esperimenti. Nell'animale siamo attualmente in grado di registrare simultaneamente l'attività di 31 neuroni distribuiti in varie regioni del cervello. Benché questo numero di cellule sia molto piccolo rispetto alla quantità di neuroni presenti nel cervello le tecniche attuali di discriminazione del segnale elettrico non ci consentono di fare di più con cellule registrate *in vivo* e preferiamo mettere l'accento sulla qualità dei segnali, piuttosto che sul loro numero. Contemporaneamente alle serie

temporali dei potenziali d'azione (detti «spike trains» in inglese), possiamo registrare sia l'attività multiunitaria che i potenziali locali di campo e i potenziali evocati. Nell'uomo proseguiamo i lavori intrapresi precedentemente sull'analisi dell'elettroencefalogramma e recentemente abbiamo stabilito una collaborazione con neurologi e neurochirurghi per l'analisi degli elettrocorticogrammi che vengono effettuati appena prima degli interventi chirurgici.

1.1. Nel roditore anestetizzato

La corteccia cerebrale è stata talvolta assimilata a «una macchina che parla a se stessa», visto il numero esorbitante di interazioni cortico-corticali in confronto alle altre connessioni. Bisogna però considerare che tale macchina riceve informazioni precise dal mondo esterno tramite il talamo, e che le sue efferenze, anche quelle non direttamente collegate ad una risposta motoria, sono in grado di influenzare e alterare la percezione e il comportamento dell'individuo in risposta a delle informazioni sensoriali che riceverà ulteriormente. Il lavoro che noi effettuiamo sul modello animale anestetizzato, essenzialmente nel ratto e nella cavia, consente lo studio degli effetti che la corteccia cerebrale esercita sulle strutture sottocorticali. Il metodo prevalentemente utilizzato in questi lavori è stato l'inattivazione reversibile della corteccia per abbassamento della temperatura tissurale. Abbiamo studiato le interazioni tra diverse regioni talamiche tramite vari metodi statistici sia nel dominio temporale, con il metodo della crosscorrelazione, che nel dominio delle frequenze, con il metodo del bispettro calcolato anche tra i potenziali di campo. Tale lavoro ha mostrato che il grado di sincronia tra siti talamici lontani tra loro centinaia di micron, a volte anche millimetri, dipende dalle caratteristiche temporali dell'attività corticale afferente. E' un risultato importante perché indica che la corteccia cerebrale può controllare in quale misura il talamo parla a se stesso. In una situazione estrema, quando la corteccia è totalmente disattivata, le interazioni funzionali intratalamiche sono frequenti. Tali interazioni hanno come conseguenza che le informazioni sensoriali ascendenti possono difficilmente essere decomposte per formare indici percettivi trattati in modo parallelo da diversi «canali». Tuttavia c'è il vantaggio che le varie regioni talamiche sono informate globalmente degli stimoli ricevuti. Al contrario, quando l'attività corticale è consistente, l'inibizione intratalamica è forte e l'informazione sensoriale è decomposta in un gran numero di moduli di trattamento paralleli. Le caratteristiche temporali dell'attività corticale sono quindi determinanti per regolare dinamicamente questo trattamento dell'informazione a livello talamo-corticale, che può essere assimilato a un filtraggio adattativo.

Poiché il tema centrale delle nostre ricerche è l'integrazione sensomotora, ci siamo successivamente interessati al ruolo che le proiezioni efferenti della sostanza nera (parte reticolata), centro di controllo motore, possono esercitare verso il talamo. Studiando l'effetto della ketamina, un farmaco incluso nella miscela di anestetici

somministrati durante gli esperimenti acuti, i nostri risultati hanno mostrato che tale droga può cambiare in maniera radicale la sincronia all'interno della sostanza nera (parte reticolata), sia localmente che tra sezioni distanti centinaia di micron. Oltre alla sua azione anestetizzante, la ketamina è anche un antagonista non competitivo del recettore glutamatergico di tipo NMDA e pertanto consente di studiare indirettamente il ruolo delle proiezioni corticofughe, che utilizzano notoriamente il glutammato come neurotrasmettitore eccitatorio.

1.2. Nel ratto cronico

Lo sviluppo più importante che abbiamo reso possibile negli ultimi anni è stato senza dubbio l'attuazione di un sistema originale di acquisizione dati per la registrazione extracellulare di potenziali d'azione e potenziali di campo nel ratto cronico. Tale sistema è frutto di un lavoro del nostro gruppo di ricerca e dei tecnici dell'Istituto di Fisiologia dell'università di Losanna. Le registrazioni e il protocollo sperimentale sono controllati tramite un calcolatore connesso a dei moduli elettronici costruiti presso la nostra officina. Il sistema è modulare e dopo il primo prototipo abbiamo interamente duplicato l'installazione. Oltre ai segnali elettrofisiologici, il nostro sistema consente l'acquisizione di eventi comportamentali, come l'istante preciso del passaggio dell'animale attraverso un rivelatore di posizione, e il controllo dell'accensione e dello spegnimento dei segnali usati nei programmi di condizionamento.

Come negli esperimenti con l'animale anestetizzato possiamo registrare fino a 31 neuroni simultaneamente, ma ci limitiamo generalmente a una quindicina di cellule scegliendo i segnali più stabili. Grazie a tali strumenti, abbiamo più progetti in corso che cercano di stabilire l'esistenza e il significato delle interazioni funzionali tra i neuroni, attraverso varie collaborazioni con visitatori stranieri provenienti da Oxford, Jyvaskyla, Roma e Dunedin. Abbiamo potuto registrare l'attività elettrica nella corteccia parietale di ciascun emisfero, in varie regioni non omologhe della corteccia, nella corteccia e talamo uditivi simultaneamente, così come nella corteccia prefrontale (regione infralimbica) e nel nucleo dorsale del rafe mediano. Le registrazioni sono state effettuate durante vari stadi di veglia e sonno o durante l'esecuzione di compiti comportamentali complessi. Questa varietà di situazioni e di siti di registrazione ci consente di valutare meglio i limiti e le capacità dei nostri apparecchi e di migliorarne gradatamente le qualità grazie alla concezione modulare che ne è alla base. Persino i labirinti usati per i test comportamentali sono stati costruiti con dei requisiti particolari, per tener conto delle debolissime correnti elettriche misurate in elettrofisiologia.

Lo studio delle interazioni funzionali intracorticali durante l'effettuazione di un paradigma comportamentale permette di studiare un aspetto fondamentale della preparazione dell'atto motorio. E' possibile, ci chiedamo, che un soggetto anticipi lo stimolo atteso quando la presentazione dello stimolo stesso dipende da un suo atto volontario? Tramite le tecniche di rilevamento di pattern spazio-temporali di

potenziali d'azione, abbiamo potuto dimostrare che delle reti neurali distribuite generano un'attività elettrofisiologica predittiva della scelta comportamentale che il soggetto attuerà al momento della presentazione dello stimolo. Ciò si riflette sia nell'esecuzione (percentuale di risposte corrette) sia nei tempi di reazione.

1.3. Nel topo transgenico

A livello del talamo e della corteccia, il bilanciamento degli effetti eccitatori e inibitori è determinante affinché il trattamento dell'informazione si svolga in modo ottimale. Se tale bilanciamento non è ben regolato, si avrà come conseguenza l'impedimento del corretto funzionamento delle vie corticofughe e, in alcuni casi, l'apparizione di un'attività parossistica che può condurre alla crisi epilettica. Esistono quindi buone ragioni per considerare tali attività patologiche come il risultato di importanti alterazioni sia delle interazioni funzionali intrinseche alla corteccia che di quelle tra la corteccia e le strutture sottocorticali ad essa associate. La quasi totalità delle cellule inibitrici del talamo e della corteccia utilizzano il neurotrasmettitore GABA. Tali cellule sono ulteriormente caratterizzate dall'espressione specifica di alcune proteine tampone dello ione Calcio (Ca^{2+}), come la parvalbumina, calretinina e calbindina.

Sulla base di tali conoscenze, abbiamo cominciato lo studio delle interazioni tra siti corticali diversi su dei ratti transgenici che hanno la particolarità di essere completamente deficienti dell'una o dell'altra, o di più d'una, delle proteine tampone dello ione Ca^{2+} . Osservazioni preliminari effettuate da M. Celio e B. Schwaller dell'Istituto di Istologia ed Embriologia dell'università di Friburgo (Svizzera), e dai loro collaboratori della ditta farmaceutica Novartis (Basilea), hanno mostrato che le cellule inibitrici non sono scomparse ma sono presenti anche negli individui totalmente privi di proteine tampone. Tuttavia in questi individui è stata osservata una fortissima alterazione della suscettibilità allo sviluppo di crisi epilettiche. Le analisi delle registrazioni di potenziali d'azione multipli e di potenziali di campo hanno mostrato che il mancato funzionamento degli elementi inibitori delle reti neuronali corticali e talamiche modifica la propagazione delle onde parossistiche di attività alterandone soprattutto la «qualità», vale a dire la dinamica sinaptica, e non la «quantità» di inibizione, vale a dire la concentrazione di neurotrasmettitore rilasciato dalle cellule inibitrici. Tale lavoro proseguirà provando ad interferire sul funzionamento di particolari popolazioni di interneuroni inibitori e di chiarire la parte di deficit talamico in relazione al deficit corticale.

1.4. Nell'uomo

L'applicazione di metodi di analisi spettrale lineare e nonlineare allo studio elettroencefalografico di pazienti affetti da demenza senile di tipo Alzheimer ha permesso di familiarizzarci con tale tipo di dati e di stringere contatti con diversi gruppi di ricerca medica in Europa e negli

Stati Uniti. Tali analisi si effettuano su delle popolazioni di pazienti affetti da patologie psichiatriche e neuropsicologiche ben identificate. I risultati interessanti che abbiamo ottenuto su modelli animali di epilessia ci hanno ulteriormente avvicinato al mondo clinico, in particolare al Gruppo di valutazione neurologica prechirurgica Vaud-Ginevra, presso l'ospedale universitario di Ginevra, che tratta la maggior parte dei pazienti affetti da epilessia temporale che devono subire un'asportazione del lobo temporale anteriore. Dall'autunno 1998, abbiamo cominciato ad analizzare gli elettrocorticogrammi effettuati immediatamente prima delle operazioni chirurgiche e gli elettroencefalogrammi registrati durante gli intervalli che separano due attacchi di epilessia, in pazienti il cui esame patologico e la valutazione clinica indicano la presenza di alterazioni a livello dell'amigdala o dell'ippocampo. Lo scopo del nostro lavoro è di determinare l'esistenza di correlazioni tra le interazioni funzionali rilevate dall'analisi bispettrale degli elettrocorticogrammi e la localizzazione presunta del *focus* epilettogeno eseguita dai clinici sulla base degli esami che vengono abitualmente effettuati in ospedale. Tali esami non sono sempre in grado di fornire indicazioni dettagliate sulla localizzazione del *focus* epilettogeno e i risultati delle nostre analisi completeranno i dati a disposizione dei neurochirurghi in modo che possano eseguire il loro intervento con la maggior precisione possibile.

2. Modulazione «non specifica»

Nel cervello esistono diversi raggruppamenti di neuroni che formano una rete di connessioni molto estesa e diffusa. Invece di trasmettere un'informazione precisa (sensoriale o motoria), tali cellule modulano l'attività di grandi popolazioni di neuroni, ad esempio nel talamo e nella corteccia cerebrale, tramite proiezioni molto ramificate che mettono una cellula in contatto anche con decine di migliaia di neuroni talamici e corticali. L'azione di tali vie modulatrici non si limita semplicemente a rendere più o meno eccitabili le cellule postsinaptiche, ma modula indirettamente le interazioni funzionali tra le regioni collegate, modificando la loro sincronizzazione e la dinamica della loro attività. Per capire meglio la natura di tali modulazioni, ci siamo interessati a tre vie implicate nel processo di integrazione sensomotora.

2.1. Via colinergica della base del telencefalo

La proiezione colinergica che ha origine nei nuclei del setto mediale è all'origine della maggior parte delle innervazioni colinergiche della neocorteccia, e si proietta anche verso il nucleo reticolare del talamo. Un'alterazione di tale via è spesso associata a deficienze cognitive sensomotorie e in particolare mnestiche tipiche della demenza di Alzheimer. Nel ratto, anche in età adulta, tali cellule colinergiche possiedono dei recettori di debole affinità per il fattore di crescita neuronale (NGF); invece le cellule che appartengono all'altra grande via modulatrice colinergica, che parte dal ponte e dal mesencefalo, non evidenziano tali recettori. Abbiamo perciò cercato di modificare

selettivamente i livelli di attivazione delle proiezioni colinergiche della base del telencefalo sia aumentandole, tramite infusione di NGF nel ventricolo laterale, sia diminuendole, tramite iniezione di anticorpi monoclonali, specifici per il ricettore all'NGF, accoppiati a una tossina che provoca la degenerazione delle cellule bersaglio. Le analisi delle registrazioni elettrofisiologiche effettuate dopo questi trattamenti farmacologici suggeriscono che questa via colinergica agisce sul nucleo reticolare del talamo alterando in conseguenza le interazioni funzionali osservate nel talamo dorsale, mentre a livello della neocorteccia un'attivazione colinergica provoca una condivisione eccessiva dell'informazione tra colonne corticali adiacenti, determinando così un'attività disordinata, una sorta di «cacofonia cerebrale». Tali risultati mostrano inoltre che uno squilibrio nella modulazione può condurre a dei disturbi cognitivi simili a quelli riscontrati in bambini affetti da sindrome di Williams, caratterizzati da un aumento cospicuo di NGF nel sangue.

2.2. Sistema dopaminergico mesocorticolimbico

Gli assoni provenienti dai neuroni dopaminergici della parte ventrale del tegmento mesencefalico innervano soprattutto la parte anteriore del telencefalo, compresa la corteccia frontale e prefrontale, e alcune regioni del sistema limbico. Il malfunzionamento di tale sistema è stato associato a patologie psichiatriche quali la schizofrenia e costituisce il modello sperimentale per lo studio dei neurolettici, la cui azione antipsicotica è fortemente associata al blocco dei recettori dopaminergici di tipo D₂. In collaborazione con il Servizio Psichiatrico del Ministero della Sanità del governo ucraino e il Dipartimento di Elettroencefalografia Clinica dell'Inselspital di Berna, stiamo valutando l'effetto del sulpiride, un antagonista selettivo (ma di debole affinità) del recettore D₂, sulle interazioni tra aree corticali tramite registrazioni elettroencefalografiche. Le nostre osservazioni mostrano che questo farmaco altera in modo rilevante lo spettro dell'attività corticale, in particolare il dominio delle frequenze, modificando il trattamento dell'informazione nel senso di una diminuzione della coerenza interemisferica, ma influenzando poco sulla sincronia.

Per comprendere meglio tali processi a livello corticale, studiamo l'effetto della dopamina sulla trasmissione glutamatergica anche su un modello animale. Tramite microelettrodi di vetro *multibarrels*, registriamo l'attività extracellulare nella corteccia cerebrale del gatto cronico prima, durante e dopo una microiniezione iontoforetica di sostanze agoniste e antagoniste di recettori glutamatergici e dopaminergici, tra i quali sulpiride e aloperidolo. I risultati preliminari di tali lavori suggeriscono che la via dopaminergica esercita un'influenza inibitrice sul potenziamento della trasmissione glutamatergica. Tale influenza potrebbe essere responsabile della dissociazione degli effetti su coerenza e sincronia dell'elettroencefalogramma, come osservato in numerosi soggetti umani.

2.3. Proiezione serotoninergica del rafe dorsale

I gruppi di neuroni che contengono serotonina sono localizzati in una serie di nuclei, presso la linea mediana, situati anteriormente dopo il ponte e posteriormente fino al bulbo. Le proiezioni verso il lobo frontale derivanti dalle cellule del rafe dorsale svolgono un ruolo di regolazione fondamentale in diversi comportamenti emozionali. Alcune anomalie strutturali e funzionali della corteccia prefrontale mediana sono state associate a problemi affettivi importanti come la depressione. I trattamenti farmacologici per la cura di tali patologie sono attualmente orientati verso sostanze che inibiscono selettivamente il reuptake della serotonina a livello presinaptico, consentendo un aumento della sua concentrazione nel rafe. Altre sostanze come l'LSD (che ha una struttura chimica vicina alla serotonina) provocano una ipersensibilità agli stimoli sensoriali che si traduce nell'esperienza, da parte del soggetto, di complesse sinestesie come la visione tramite l'udito, il tatto tramite la visione, ecc. Secondo le nostre ipotesi, tali manifestazioni patologiche possono essere dovute a un cattivo regolamento della dinamica di attivazione delle reti neurali che sono implicate nell'integrazione dell'informazione sensomotoria. In collaborazione con il Dipartimento di Farmacologia Clinica dell'università di Oxford e con la ditta farmaceutica Pharmacia-Upjohn, stiamo verificando tale ipotesi tramite registrazioni con multielettrodi nel ratto sveglio e anestetizzato soggetto a manipolazioni farmacologiche.

3. Metodo comportamentale

Il passaggio progressivo dagli studi elettrofisiologici condotti su animali anestetizzati verso studi su animali svegli è stato accompagnato, fin dall'inizio delle nostre ricerche, da una riflessione sul paradigma comportamentale da utilizzare. La decisione di evitare ogni tipo di stimolazione dolorosa e l'intenzione di studiare il processo sensomotorio in condizioni vicine a quelle naturali, ci hanno spinto verso protocolli di condizionamento operante accompagnati da un rinforzo positivo. Attualmente lavoriamo con due paradigmi sperimentali, l'uno orientato verso il meccanismo di presa di decisione, l'altro verso lo studio dell'invarianza degli oggetti percettivi.

3.1. Paradigma di decisione conflittuale

Lo scopo di tale paradigma è quello di mettere in evidenza se il sistema responsabile della valutazione dello stimolo può trasmettere un'informazione al sistema attivatore della risposta motoria prima della fine della valutazione percettiva. Nel metodo classico (cronometrico) si decompone il trattamento dell'informazione in una serie di tappe in cui si determina l'informazione nel tempo per dedurre il modo di trasmissione. Perciò, da un lato si ammette un'architettura cognitiva sequenziale che implica, come condizione necessaria e sufficiente, il compiersi del trattamento a un certo stadio affinché le operazioni dipendenti dallo stadio successivo possano avviarsi; dall'altro lato, si identifica un'architettura cognitiva parallela, cioè organizzata in modo tale che gli

stadi del trattamento possano iniziare nello stesso istante e che le operazioni degli stadi più lenti ricevano delle informazioni dagli stadi più rapidi prima della fine del trattamento. Lo studio solamente dei tempi di reazione non consente ancora di risolvere le questioni relative al modo di trasmissione e così abbiamo scelto un metodo combinato che comprende sia misure del comportamento che registrazioni elettrofisiologiche in ratti cronici. I soggetti sono ratti di razza Long-Evans addestrati a svolgere un compito di discriminazione condizionale di tipo «go/no-go». In una prima fase dell'esperimento, l'indice percettivo da discriminare è l'altezza (il «pitch» tra due frequenze fondamentali, 3 o 12 kHz) di un suono complesso, modulato in frequenza e ampiezza emesso lateralmente da un altoparlante (ad esempio alla destra della posizione in cui si trova il soggetto in attesa dello stimolo). Successivamente un secondo indice, la localizzazione del suono, è introdotto simultaneamente al primo. In tal caso si presentano quattro possibilità: suono di bassa frequenza a destra e stesso suono a sinistra, bassa frequenza a destra e alta frequenza a sinistra, alta frequenza a destra e bassa frequenza a sinistra, e infine alta frequenza sia a destra che a sinistra. La decisione corretta corrisponderà unicamente al riconoscimento del suono avente la giusta altezza e proveniente dal lato corretto (quello che corrisponde alla prima fase dell'allenamento), e darà luogo ad una ricompensa quando il soggetto esegue una risposta di tipo «go».

Le strategie comportamentali che abbiamo osservato suggeriscono l'esistenza di due processi concorrenti, uno legato alla valutazione percettiva dello stimolo, alla preparazione motoria e all'esecuzione del movimento, l'altro legato alla valutazione delle caratteristiche percettive associate al freno o addirittura all'arresto della risposta motoria (risposta «no-go»). L'analisi dei tempi di reazione e dell'esecuzione mostra che esiste effettivamente un passaggio d'informazione tra il sistema di valutazione della risposta e il sistema di attivazione motoria. Infatti, se il trattamento fosse sequenziale, una volta impartito l'«ordine» di esecuzione motoria, i tempi di movimento (l'intervallo tra l'inizio e la fine della risposta motoria) dovrebbero essere pressappoco gli stessi. Al contrario, quando la valutazione dello stimolo è parziale (e sono dunque maggiori le possibilità di non aver identificato correttamente lo stimolo perché la valutazione si è interrotta prima della sua fine) i tempi di movimento sono più rapidi e la percentuale di errore è maggiore, conformemente al nostro modello teorico.

Quando i due indici sono presenti simultaneamente la ricompensa non è bilanciata (poiché solo le risposte «go» sono ricompensate) e la difficoltà della discriminazione uditiva genera una situazione conflittuale nel soggetto che tenterà di predire in anticipo quale stimolo verrà effettivamente presentato. In teoria si potrebbe immaginare che il ratto si sposti dopo ogni stimolo verso il luogo dove normalmente riceve la ricompensa; in realtà questo non avviene, poiché l'animale evita gli spostamenti inutili e impara che dopo delle risposte sistematicamente sbagliate diminuiscono le possibilità che si presenti uno stimolo positivo, cioè legato alla ricompensa.

Alla luce degli studi elettrofisiologici condotti sul ratto cronico (§1.2), abbiamo potuto osservare che nell'intervallo che precede la stimolazione uditiva alcune cellule tendono a scaricare in maniera sincrona in un breve periodo di tempo e che circa la metà dei pattern spazio-temporali di attività sono associati alla scelta della risposta che il soggetto effettuerà dopo aver udito lo stimolo. Un risultato rimarchevole che abbiamo ottenuto è che i test che includono i pattern predittivi del comportamento tendono ad essere associati a tempi di risposta più rapidi. Tale attività, che precede lo stimolo sensoriale, potrebbe corrispondere alla rappresentazione mentale degli stimoli positivi (quelli che danno luogo alla ricompensa) oppure a degli schemi sensomotori che preparano i programmi di attivazione muscolare caratteristici della risposta «go» o ancora altri processi associativi da delucidare.

3.2. Invarianza nei segnali vocali

La comprensione della parola rappresenta ancor oggi una delle funzioni cerebrali meno conosciute, talvolta classificata come funzione percettiva, talaltra come funzione cognitiva. E' certo che la decomposizione del segnale della parola nei suoi elementi fisici costitutivi non consente di comprendere i principi della codificazione della parola. L'identificazione di un messaggio vocale, che avviene anche quando esso è pronunciato da diverse persone, suggerisce che esistano dei frammenti fissi e caratteristici del segnale percepito, ovvero degli invarianti, i quali consentono poi di generalizzare la procedura di riconoscimento a partire da esempi acusticamente diversi. Da diversi anni il nostro gruppo di ricerca studia la codificazione uditiva e negli ultimi due anni ci siamo concentrati sullo studio dell'invarianza del segnale della parola tramite un metodo comportamentale e un metodo combinato che unisce comportamento e registrazioni elettrofisiologiche.

I risultati che abbiamo ottenuto mostrano che i ratti sono capaci di riconoscere la voce umana a delle intensità dell'ordine di 40-60 dB SPL. I soggetti sono posti in un labirinto che non consente loro di vedere il luogo dove si trova il cibo fornito come rinforzo. In un condizionamento operante «go/no-go» i soggetti devono riconoscere delle vocali sintetiche \e\, caratterizzate da frequenze fondamentali di 175 e 275 Hz, corrispondenti a due interlocutori diversi, e delle vocali \a\ pronunciate dagli stessi due locutori. Alcuni soggetti ricevono una ricompensa quando emettono una risposta dopo le due vocali \e\, mentre altri soggetti sono allenati a rispondere positivamente dopo lo stimolo \a\.

In una quindicina di sessioni tutti i ratti esaminati sono stati capaci di distinguere le vocali \e\ dalle vocali \a\, a prescindere dal locutore. In una fase ulteriore, i soggetti sono sottoposti senza ulteriore addestramento a nuovi stimoli \a\ ed \e\, corrispondenti ad un totale di nove locutori. Il risultato più importante è che in un'unica sessione, durante la quale ogni stimolo viene presentato tre volte, i ratti generalizzano il comportamento e raggiungono un risultato corretto vicino al 90%, che non varia durante il proseguo dell'allenamento durante le successive sessioni. Gli stessi soggetti sono quindi operati e

nella corteccia uditiva dei due emisferi vengono inseriti degli impianti cronici, che consentono la registrazione di 15-20 attività neuronali extracellulari. Le analisi preliminari delle sequenze di potenziali d'azione suggeriscono che, a livello corticale, si può rilevare un'attività elettrofisiologica specifica, associata alle vocali prese in considerazione e invariante rispetto ai locutori. In collaborazione con il Politecnico di Losanna stiamo elaborando dei dispositivi artificiali direttamente ispirati ai circuiti corticali, in grado di rilevare degli invarianti secondo principi simili a quelli osservati nella corteccia uditiva.

4. Reti neurali artificiali

Le reti di neuroni artificiali offrono una tecnica nuova e importante per comprendere alcune delle operazioni effettuate dal cervello. E' difficile, talvolta impossibile allo stato attuale delle conoscenze, interrogare il nostro modello derivato da dati biologici per scoprirne i limiti e gli errori intrinseci. Ispirandosi ad un metodo riduzionista che considera il cervello come una rete di elementi computazionali (i neuroni, collegati in rete tra di loro tramite dei contatti, ovvero le sinapsi che possono essere di diverso tipo e funzione) le neuroscienze computazionali sono diventate una disciplina indipendente i cui oggetti di studio sono i processi emergenti delle operazioni effettuate da reti distribuite. Nello spirito della neuroeuristica riprendiamo una parte degli strumenti informatici e matematici di tale disciplina, sforzandoci di rompere la barriera che tende a separarla dalle sue radici, le neuroscienze biologiche. Seguendo questa linea di ricerca abbiamo focalizzato il nostro lavoro su diversi livelli di modellizzazione delle vie uditive e in particolar modo del circuito talamo-corticale.

4.1. Reti neuromimetiche

Le reti neuromimetiche sono composte da reti di unità elementari che si comportano come i neuroni, vale a dire unità capaci di generare un segnale di uscita binario che si propaga verso altre cellule. In questo ambito può essere adottato un modello neuronale che prende in considerazione sia la morfologia dettagliata del neurone che le diverse caratteristiche della membrana neuronale, per esempio le proteine che formano i pori e i canali ionici responsabili della generazione del potenziale bioelettrico; tuttavia il modello può anche essere semplificato allo scopo di conservare esclusivamente il comportamento stocastico del neurone che si manifesta tramite il solo potenziale d'azione. Allo scopo di simulare il trattamento dell'informazione uditiva nel nucleo cocleare, il primo grande nucleo di integrazione dell'informazione lungo la via uditiva periferica, abbiamo considerato alcune delle principali caratteristiche delle connessioni esistenti tra tipi di neuroni ben definiti nella letteratura scientifica. Abbiamo scelto una dinamica semplificata della generazione dei potenziali d'azione e abbiamo dimostrato che le risposte a stimolazioni acustiche elementari, non considerate per la costruzione del modello ma misurate tramite le attività «registrate» dai

neuroni virtuali sono confrontabili alle attività registrate sperimentalmente negli animali. Su tale base, il nostro lavoro ci consente di studiare la risposta dei neuroni cocleari virtuali a un gran numero di stimolazioni uditive, comprese quelle che noi usiamo negli studi con ratti cronici, vale a dire suoni complessi e vocali sintetiche. Questi risultati ci aiuteranno a individuare gli indici di attività elettrofisiologica associati agli invarianti dei segnali vocali.

Il secondo lavoro di simulazione neuromimetica che ci ha impegnato negli ultimi anni ha riguardato la simulazione talamo-corticale. Sulla base degli esperimenti elettrofisiologici condotti nel nostro laboratorio, che ci hanno consentito di studiare l'attività del talamo uditivo quando la corteccia uditiva ipsilaterale era disattivata, abbiamo sviluppato delle simulazioni neuromimetiche su larga scala, cioè con decine di migliaia di neuroni virtuali. La maggior parte di tali neuroni era attribuita alla corteccia cerebrale, mentre gli elementi restanti simulavano il nucleo del talamo dorsale e il nucleo reticolare del talamo, secondo le conoscenze anatomiche relative al ratto. Dopo aver determinato l'effetto delle proiezioni corticofughe con diverse velocità di propagazione, i risultati della simulazione propongono un esperimento virtuale, che può essere confrontato a un esperimento biologico. Durante tale esperimento la corteccia cerebrale simulata è disattivata e le registrazioni sono effettuate nel talamo simulato tramite elettrodi virtuali. Tali registrazioni sono elaborate con gli stessi programmi utilizzati per lo studio di dati sperimentali e ci offrono un'interpretazione funzionale quantitativa della dinamica neuronale nel circuito talamo-corticale; esse, inoltre, ci consentono di formulare nuove ipotesi, particolarmente in relazione al grado di divergenza delle proiezioni reticolo-talamiche e ai pesi relativi delle connessioni tra gli elementi del circuito. L'obiettivo è quello di stabilire il collegamento che consenta di integrare i risultati neurofisiologici con le simulazioni digitali neuromimetiche. In tale prospettiva si inserisce il «Progetto PSYCHE: Seek to Model Whole Human Brain» (Neural Networks, Newsletter, vol.9), lanciato nel 1995 su scala europea a cui è associato il nostro gruppo di ricerca.

4.2. Reti di neuroni formali

Questo tipo di simulazione non identifica gli elementi della rete con neuroni effettivi e di conseguenza il risultato dell'attivazione di un elemento formale non è la generazione di un potenziale d'azione o di un segnale digitale binario. Ammettendo che tali elementi integrino informazioni afferenti, essi possono generare delle funzioni in uscita di tipo continuo e analogico. Tali simulazioni si pongono spesso a un livello d'interpretazione più alto dei neuroni virtuali e gli elementi formali possono talvolta essere assimilati a dei circuiti locali o addirittura ad aree del cervello. Tale approccio ci ha permesso di formulare alcune ipotesi, in particolare sulle interazioni tra le reti controllate da un supervisore e quelle non controllate. Questo problema, in apparenza completamente teorico, è fortemente connesso a un'ipotesi di lavoro riguardante il ruolo del sistema talamo-corticale, e cioè il filtraggio adattativo. Prendendo un

esempio in relazione al sistema uditivo, l'ipotesi di filtraggio adattativo suggerisce che la corteccia uditiva possa accedere a delle informazioni precedentemente memorizzate e che essa, tramite le proiezioni corticofughe verso il nucleo reticolare del talamo, possa «regolare» i valori di guadagno, in senso ingegneristico, di una batteria di filtri che si troverebbero localizzati nel talamo uditivo. Questa operazione consisterebbe nel preparare il talamo a filtrare un'informazione afferente dalla periferia uditiva con il fine di riconoscere un segnale acustico particolare, selezionato dall'attività corticale a un dato momento. Il carattere adattativo deriva dal fatto che secondo il compito e le informazioni a disposizione, la corteccia «istruisce» il talamo in funzione dei propri scopi. La rete formale che abbiamo sviluppato è capace di riconoscere automaticamente quale è il dominio più variabile in un segnale sconosciuto immesso nella rete e di attribuire quindi più peso a questo dominio per una corretta identificazione e per il confronto a un segnale di riferimento.

4.3. Applicazioni

Il carattere generale delle reti formali consente la loro applicazione in vari campi. In collaborazione con chimici e farmacologi, ci siamo interessati a due problemi concreti. Il primo si riferisce a un campo particolare della chimica, chiamato QSAR (dall'inglese «Quantitative Structure-Activity Relationships»). Si tratta di predire le proprietà di una molecola a partire dalla precedente conoscenza dei suoi parametri biofisici elementari. Questo è un campo di ricerca che suscita grande interesse da parte delle industrie farmaceutiche, poiché può essere esteso alla predizione dell'attività biologica di nuove molecole anche prima che sia effettuata la loro sintesi. L'affidabilità di tale metodo è cruciale per la sua applicazione e l'utilizzo di reti di neuroni artificiali ha sostituito, da molti anni ormai, i metodi statistici convenzionali. In collaborazione con l'università di Helsinki e la ditta inglese ChemQuest, abbiamo mostrato che in numerosi casi la classe di reti neurali formali, ispirata al nostro circuito talamo-corticale, fornisce dei risultati superiori ad altri metodi. Attualmente cerchiamo di stringere contatti con industrie chimiche allo scopo di elaborare un programma di ricerca di nuove sostanze che agiscano su alcuni recettori del sistema nervoso centrale e che in particolare abbiano un'azione neurolettica.

Il secondo tipo di applicazione che abbiamo sviluppato si avvantaggia dei risultati della chimica analitica. Nella fabbricazione di farmaci generici, venduti frequentemente negli Stati Uniti come prodotti da banco, è importante poter assicurare che il processo di lavorazione rimanga quello stesso che è stato convalidato dalle autorità sanitarie preposte alla certificazione. I metodi analitici, come la cromatografia in fase liquida ad alta pressione, sono tuttavia fortemente dipendenti da fattori ambientali non stazionari, come la temperatura, o da parametri connessi con il modello dell'apparecchiatura come la velocità di eluzione oppure stabiliti dalle ditte fornitrici dei reagenti. Risulta dunque essenziale poter determinare le fluttuazioni significative degli esami

chimici, considerando che esistono delle fluttuazioni anche in condizioni normali. Nell'ambito di una collaborazione con la Food and Drug Administration degli Stati Uniti e con l'università del Missouri, abbiamo proposto nuovi metodi di analisi dei cromatogrammi basati su una variante della nostra rete formale talamo-corticale e su analisi nonlineare del segnale prodotto dall'apparecchio di misura.

5. Metodi di analisi dell'attività neuronale

Lo studio dei segnali elettrofisiologici è stato spesso limitato dalla complessità dei calcoli associati alle analisi statistiche e matematiche, ed è soltanto da qualche anno che i prezzi modici dei moderni personal computer consentono di approfondire questa linea di ricerca. Sia nel dominio temporale che in quello delle frequenze, abbiamo sviluppato dei metodi di analisi che erano sinora rimasti sul piano teorico a causa della mancanza di algoritmi efficaci o di mezzi di calcolo.

5.1. Analisi delle interazioni neuronali

E' poco probabile che una cellula nervosa del talamo o del telencefalo sia implicata in un unico trattamento dell'informazione o in un'unica operazione cognitiva. In un certo senso si può dire che una cellula nervosa si trova all'incrocio di più reti neurali, ognuna delle quali effettua un trattamento particolare sull'informazione. Le cellule appartenenti a una particolare rete sono quindi associate tra loro in maniera funzionale solo quando tale rete è attivata sotto certe condizioni. La ricerca delle condizioni di attivazione ci porta a diversi progetti di ricerca discussi nei capitoli precedenti, ma è subordinata alla possibilità di determinare le interazioni che si producono in una rete associativa. Tali interazioni sono chiamate «spazio-temporali», poiché riguardano neuroni distribuiti nello spazio, cioè in diversi siti del cervello; inoltre, le relazioni di associazione variano nel tempo, poiché esse si manifestano quando una certa rete è attivata. Una firma della presenza di tale rete è fornita da successioni molto precise dei potenziali d'azione, dell'ordine di qualche millisecondo di variabilità, che si ripetono in maniera identica ogni qualvolta che la rete specifica è attivata. La determinazione di questi pattern spazio-temporali e la valutazione del loro valore statistico costituisce un problema essenziale per determinare il ruolo della codificazione temporale nel sistema nervoso centrale. Gli algoritmi esistenti sono spesso improntati a una generalizzazione poco utile nelle analisi sperimentali e richiedono una potenza di calcolo raramente disponibile nei laboratori di neurofisiologia. Durante questi ultimi anni abbiamo elaborato degli algoritmi più adeguati ai nostri scopi.

Un altro tipo di metodi di analisi proviene dalla teoria del caos deterministico. E' stato possibile mostrare in diverse regioni del cervello del ratto l'esistenza di processi dinamici nonlineari caratterizzati da attrattori. Si tratta di processi fisici che presentano degli invarianti anche in presenza di perturbazioni, da cui il termine attrattore, e che possono essere descritti in uno spazio geometrico di bassa dimensione, cioè uno

spazio di dimensione 4-6. Tale risultato è importante poiché riguarda circa il 20% delle cellule analizzate e indica che è teoricamente possibile descrivere le serie temporali dei potenziali d'azione tramite un sistema descritto da 4 a 6 equazioni differenziali. Anche se l'attrattore ha spesso una dimensione frattale, tale risultato mostra che malgrado la complessità delle reti neurali a cui tali cellule si trovano connesse, la dinamica sottostante può essere studiata concretamente tramite strumenti matematici e computazionali alla nostra portata. Anche i legami tra la presenza dei pattern spazio-temporali e la dinamica nonlineare sono oggetto di uno studio che stiamo attualmente compiendo in collaborazione con il dipartimento di matematica dell'università Tor Vergata di Roma.

In modo complementare all'aspetto temporale, studiato tramite i pattern e i sistemi dinamici, abbiamo intrapreso lo studio delle interazioni nel dominio delle frequenze con il metodo dei cumulanti di terzo ordine (bispettro, crossbispettro e bicoerenza), in collaborazione con l'università di Berkeley in California e l'Istituto Max Planck di Berlino.

5.2. Programmazione distribuita

Lo sviluppo di nuovi metodi di analisi dei dati elettrofisiologici ci ha spinto verso l'attuazione di un laboratorio virtuale distribuito su Internet. La realizzazione di tale lavoro, in collaborazione con alcuni bioinformatici svizzeri, francesi e ucraini, è molto avanzata e ci consentirà di completare a breve termine il progetto NDA («Neural Data Analysis»), sviluppato precedentemente dai nostri collaboratori dell'università Ebraica di Gerusalemme. Il principio del nostro metodo è di mettere a disposizione dell'utente, ovunque egli sia nel mondo, la possibilità di analizzare i suoi dati, situati su Internet, tramite metodi convalidati dalla comunità scientifica. Generalmente gli utenti lavorano con delle versioni statiche dei programmi di analisi, cioè versioni arretrate e non aggiornate. Il nostro laboratorio, tramite «server» distribuiti su Internet, invierà un «gettone» all'utente che inizierà l'analisi dei dati elettrofisiologici, in maniera da fornirgli sempre l'ultima versione e soprattutto una stessa versione condivisa anche da altri ricercatori. Includendo alcune routine normalizzate è possibile aggiungere nuove funzioni secondo il modulo «plug-and-play» (pronto all'uso), permettendo così ad altri ricercatori che avranno sviluppato ulteriori metodi di analisi di mettere rapidamente a disposizione della comunità scientifica il frutto del loro lavoro. Per tale progetto abbiamo scelto il linguaggio di programmazione Java, che consente l'esecuzione di programmi sulla maggior parte delle piattaforme informatiche utilizzate dai laboratori di neurofisiologia.

5.3. Detezione dei potenziali d'azione

Il problema fondamentale che si pone ogni volta che si vuole registrare in modo extracellulare l'attività di una cellula nervosa è la detezione dei potenziali d'azione che essa genera in rapporto al rumore di fondo. Per ragioni inerenti al tipo di elettrodi che usiamo, distinguiamo i neuroni in funzione della forma del segnale elettrico corrispondente al

loro potenziale d'azione. Questa operazione è realizzata tramite strumenti commerciali molto costosi che impediscono la generalizzazione di tale metodo a apparecchiature con elevato numero di elettrodi. Proseguendo un'idea sviluppata inizialmente da Yves de Ribaupierre presso l'università di Losanna negli anni Ottanta e in collaborazione con dei ricercatori in cibernetica dell'Accademia delle Scienze di Kiev, cerchiamo di caratterizzare la forma dei potenziali d'azione inserendoli in un diagramma di fase («phase portrait») e quindi raggruppando tra loro i diagrammi rassomiglianti, in maniera da formare insieme omogenei.

5.4. Imaging cerebrale non invasivo

Uno svantaggio degli studi elettrofisiologici che noi effettuiamo è costituito dal loro carattere invasivo. Esistono diversi metodi non invasivi di imaging cerebrale per studi sull'uomo, ma i metodi più comuni hanno lo svantaggio di essere costosi e di conseguenza di essere raramente usati per studi su animali. In seguito alle discussioni che abbiamo avuto con i nostri colleghi del dipartimento di ottica applicata del Politecnico di Losanna e con il gruppo dei Professori Gratton e Fabiani dell'università del Missouri, abbiamo iniziato lo studio di un prototipo di sonda EROS (Event Related Optical Signals). Questo metodo così come quello più classico denominato Near Infra Red Spetterscopy (NIRS) costituiscono due mezzi non invasivi per lo studio dell'attività nervosa del cervello attraverso la misura di parametri ottici di luce coerente (laser) di lunghezza d'onda vicina all'infrarosso.

Il metodo NIRS misura l'attenuazione della luce (densità ottica, D.O.) a diverse lunghezze d'onda vicino all'infrarosso. Le variazioni di D.O. sono state attribuite allo stato di ossigenazione e alle variazioni di concentrazione dell'emoglobina (e degli altri cromofori, quali la citocromo ossidasi) che sarebbero direttamente legati all'attivazione del tessuto nervoso nella regione illuminata dal fascio laser. Dobbiamo sottolineare che la risoluzione temporale del metodo NIRS è dell'ordine di vari secondi (3-10 secondi a seconda delle applicazioni e degli esperimenti citati in letteratura), tenendo conto della latenza dei fenomeni emodinamici che seguono l'attivazione nervosa. La risoluzione spaziale del NIRS è dell'ordine di 1 mm³. Le misure effettuate con EROS sono al contrario basate sulla misura del «tempo di volo» («time-of-fly») dei fotoni. La luce vicino all'infrarosso è generalmente pulsata o modulata ad altissima frequenza. Queste misure hanno rivelato due effetti consecutivi all'attivazione neurale: un effetto lento (2-10 secondi di latenza), paragonabile al segnale NIRS, e un effetto rapido (50-100 ms di latenza) paragonabile al potenziale di campo misurato in elettrofisiologia. Non esiste ancora nessuna spiegazione univoca sull'origine dell'effetto rapido EROS. Sono essenzialmente questi effetti rapidi che saranno oggetto della nostra ricerca e nell'arco di due anni ci prefiggiamo di sviluppare delle sonde ottiche EROS che possano essere inserite in maniera cronica su dei ratti.

Publicazioni

Articoli scientifici

- Hajós M., Gartside SE, Villa A.E.P., Sharp T. (1995) Evidence for a repetitive firing pattern in a sub-population of 5-HT neurones of dorsal and median raphe nuclei, *Neuroscience* 69: 189-197.
- Celesia G.G., Villa A.E.P., Brigell M., Lee J.M., Sigurdsson E. (1995) Visual processing in Alzheimer's Disease, *Advances in Behavioral Biology* 44: 1-12.
- Bajo V.M., Rouiller E.M., Welker E., Clarke S., Villa A.E.P., de Ribaupierre Y., de Ribaupierre F. (1995) Morphology and spatial distribution of corticothalamic terminals originating from the cat auditory cortex, *Hearing Research* 83: 161-174.
- Villa A.E.P., Bajo V.M., Vantini G. (1996) Nerve Growth Factor (NGF) modulates information processing in the auditory thalamus, *Brain Research Bulletin* 39: 139-147.
- Celletti A., Villa A.E.P. (1996) Low dimensional chaotic attractors in the rat brain, *Biological Cybernetics* 74: 387-394.
- Celletti A., Villa A.E.P. (1996) Determination of Chaotic Attractors in the Rat Brain, *Journal of Statistical Physics* 84: 1379-1386.
- Tetko I.V., Villa A.E.P., Livingstone D.J. (1996) Neural Network Studies. 2. Variable Selection, *Journal of Chemical Information & Computer Science* 36: 794-803.
- Payne B.R., Lomber S.G., Villa A.E.P., Bullier J. (1996) Reversible deactivation of cerebral network components, *Trends in Neuroscience* 19: 535-542.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) Efficient partition of learning datasets for neural network training, *Neural Networks* 10: 1361-1374.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) Fast combinatorial methods for estimation of complex temporal patterns of spikes, *Biological Cybernetics* 76: 397-407.
- Hill S.L., Villa A.E.P. (1997) Dynamic transitions in global network activity influenced by the balance of excitation and inhibition, *Network: Computation in Neural Systems* 8: 165-184.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) An enhancement of generalization ability in cascade correlation algorithm by avoidance of overfitting/overtraining problem, *Neural Processing Letters* 6: 43-50.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) An efficient partition of training data set improves speed and accuracy of cascade-correlation algorithm, *Neural Processing Letters* 6: 51-59.
- Villa A.E.P., Bajo V.M. (1997) Ketamine modulation of the temporal pattern of discharges and spike train interactions in the rat substantia nigra pars reticulata, *Brain Research Bulletin* 43: 525-535.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) A comparative study of pattern detection algorithm and dynamical system approach using simulated spike trains, *Lecture Notes in Computer Science*. 1327: 37-42.

- Celletti A., Bajo Lorenzana V.M., Villa A.E.P. (1997) Correlation dimension for paired discrete time series, *J. Stat. Physics* 89: 877-884.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Celletti A., Riehle A. (1998) Chaotic dynamics in the primate motor cortex depend on motor preparation in a reaction-time task, *Current Psychology of Cognition* 17: 763-780.
- Villa A.E.P., Hyland B., Tetko I.V., Najem A. (1998) Dynamical cell assemblies in the rat auditory cortex in a reaction-time task, *BioSystems* 48: 269-278.
- Kovalishyn V.V., Tetko I.V., Luik A.I., Kholodovych V.V., Villa A.E.P., Livingstone D.J. (1998) Neural Network Studies. 3. Variable Selection in the Cascade-Correlation Learning Architecture, *Journal of Chemical Information & Computer Science* 38: 651-659.
- Tetko I.V., Villa A.E.P., Aksenova T.I., Zielinski W.L., Brower J., Collantes E.R., Welsh W.J. (1998) Application of a Pruning Algorithm to Optimize Artificial Neural Networks for Pharmaceutical Fingerprinting, *Journal of Chemical Information & Computer Science* 38: 660-668.
- Celletti A., Bajo Lorenzana V.M., Villa A.E.P. (1998) Correlation dimension for two experimental time series, *Meccanica* 33: 381-396.
- Celletti A., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1998) Analysis of the deterministic behaviour of experimental series, *Journal de Physique IV* 8: 209-214.
- Bajo V.M., Villa A.E.P., de Ribaupierre F., Rouiller E.M. (1998) Discharge properties of single neurons in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus (DNLL) of the rat, *Brain Research Bulletin* 47: 595-610.
- Jéandenans L., Gautero M., Grize F., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1998) Computer assisted neurophysiology by a distributed Java program, *Computers & Biomedical Research* 31: 465-475.
- Carretta D., Hervé-Minvielle A., Bajo V.M., Villa A.E.P., Rouiller E.M. (1999) Preferential induction of Fos-like immunoreactivity (FLI) in granule cells of the cochlear nucleus by acoustic stimulation in behaving rats, *Neuroscience Letters* 259: 123-126.
- Huuskonen J.J., Villa A.E.P., Tetko I.V. (1999) Application of Neural Networks for Predicting Partition Coefficient Based on Atom-Type Electrotological State Indices, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 88: 229-233.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Dutoit P., de Ribaupierre Y., de Ribaupierre F. (1999) Corticofugal modulation of functional connectivity within the auditory thalamus of rat, guinea pig and cat revealed by cooling deactivation, *Journal of Neuroscience Methods* 86: 161-178.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Hyland B., Najem A. (1999) Spatiotemporal activity patterns of rat cortical neurons predict responses in a conditioned task, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96: 1006-1011.
- Aksenova T.I., Tetko I.V., Ivakhnenko A.G., Villa A.E.P., Welsh W.J., Zielinski W.L. (1999) Pharmaceutical Fingerprinting in Phase Space.

1. Construction of Phase Fingerprints, *Analytical Chemistry* 71: 2423-2430.
- Tetko I.V., Aksenova T.I., Patiokha A.A., Villa A.E.P., Welsh W.J., Zielinski W.L., Livingstone D.J. (1999) Pharmaceutical Fingerprinting in Phase Space. 2. Pattern Recognition, *Analytical Chemistry* 71: 2431-2439.
- Celletti A., Froesché C., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1999) Deterministic behaviour of short time series, *Meccanica* 34: 145-152.
- Villa A.E.P., Eriksson C., Eriksson J., Haeberli C., Hyland B., Najem A. (1999) Early communication between stimulus evaluation and response systems in a novel Go/Nogo conflict paradigm in rats, *Behavioural Processes* 48: 69-88.
- Carretta D., Hervé-Minvielle A., Bajo V.M., Villa A.E.P., Rouiller E.M. (1999) c-fos expression in the auditory pathways related to the significance of acoustic signals in rats performing a sensory-motor task, *Brain Res.* 841: 170-183.

Capitoli di libro

- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1995) Unsupervised and supervised learning: cooperation toward a common goal, in *ICANN '95* (F. Fogelman-Soulié, P. Gallinari, Eds.), EC2 & Cie /Paris, vol.2: 105-110.
- Villa A.E.P., Tetko I.V. (1995) Spatio-temporal patterns of activity controlled by system parameters in a simulated thalamo-cortical neural network, in: *Supercomputing in Brain Research: from tomography to neural networks* (H. Hermann Ed.), World Scientific Publishing/Singapour, pp. 379-388.
- Hill S.L., Villa A.E.P. (1995) Global spatio-temporal activity influenced by local kinetics in a simulated cortical neural network, in: *Supercomputing in Brain Research: from tomography to neural networks* (H. Hermann Ed.), World Scientific Publishing/Singapour, pp. 371-378.
- Brillinger D.R., Villa A.E.P. (1997) Assessing connections in networks of biological neurons, in: *The Practice of Data Analysis* (D.R. Brillinger, L.T. Fernholz, S. Morgenthaler Eds.), Princeton University Press, Princeton, NJ, pp. 77-92.
- Hervé-Minvielle A., Carretta D., Bajo V.M., Villa A.E.P., Rouiller E.M. (1997) Evolution of c-fos expression in auditory structures during a sensori-motor learning in rats, in: *Acoustical Signal Processing in the Central Auditory System* (J. Sylva Ed.), Plenum Press/New York, pp. 49-55.
- Celletti A., Villa A.E.P. (1998) Dynamical analysis of experimental time series, in: *Reconstruction d'attracteurs et mesure du chaos à partir de l'analyse du signal - 2nde Ecole Thématique d'Oléron* (Ballester J.L., Bois E., Froeschlé C., Rozelot J.P., Eds.), CNRS/ Paris, pp. 115-125.

- Villa A.E.P., Taylor J.G.(1999) «L'Io cosciente»: un approccio neuroeuristico della mente, In: *Frontiere della Vita*, Istituto della Enciclopedia Italiana, Roma. (in press).
- Villa A.E.P., Dutoit P., Tetko I.V., Hunziker W., Celio M., Schwaller B. (1999) Non-linear coupling of local field potentials across cortical sites in parvalbumin-deficient mice, in: *Chaos in Brain?* (P. Grassberger, Elger, Eds.) World Scientific Publishing/Singapour, (in press).
- Celletti A., Froeschle C., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1999) Detection of deterministic dynamics in short discrete time series, in: *Chaos in Brain?* (P. Grassberger, Elger, Eds.) World Scientific Publishing/Singapour, (in press).
- Villa A.E.P. (2000) Empirical evidence about temporal structure in multi-unit recordings, in: *Time and the Brain* (R. Miller, Ed.) , Harwood Academic Publishers, Conceptual Advances in Brain Research, vol. 2: pp.1-51.

Partecipazioni a congressi e riassunti pubblicati

- de Ribaupierre F., Villa A., de Ribaupierre Y., Vallélian J.-F., Clarke S. (1995) *Occurrence of spatiotemporal firing patterns in spike trains recorded simultaneously from the auditory cortical fields of both hemispheres*, Proceedings of the 2nd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Genève 13-14 Janvier 1995, p.15.
- Hill S.L., Villa A.E.P. (1995) *Global spatiotemporal activity in a simulated "cortical" model determined by local kinetics*, Proceedings of the 2nd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Genève 13-14 Janvier 1995, p.58.
- Villa A.E.P., Eriksson J., Bajo V., Rouiller E.M. (1995) *Induction of c-fos in the auditory pathway of rats after acoustically based decision-making paradigm*, Proceedings of the 2nd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Genève 13-14 Janvier 1995, p.59.
- Eriksson J., Eriksson C., Villa A.E.P. (1995) *Early communication in the auditory system and conflict behavior in the rat*, Proceedings of the 2nd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Genève 13-14 Janvier 1995, p.59.
- Villa A.E.P., Bajo V., Vantini G., Edeline J.M., de Ribaupierre F. (1995) *Nerve growth factor (NGF) modulates single unit activity in rat auditory thalamus*, Proceedings of the 2nd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Genève 13-14 Janvier 1995, p.85.
- Hill S.L., Villa A.E.P. (1995) *Local kinetics influence global spatiotemporal activity in a simulated "cortical" model*, *Experientia* 51: A4.
- Villa A.E.P., Bajo V.M., Vantini G., Edeline J.-M., de Ribaupierre F. (1995) *Nerve growth factor (NGF) modulates single unit activity in rat auditory thalamus*, *Experientia* 51: A83.

- Villa A.E.P. (1995) *Les catastrophes cachées du cerveau*, Recueil des résumés de communications du 63ème Congrès de l'ACFAS, UQAC Chicoutimi (Québec) 22-26 mai 1995, p.347.
- Villa A.E.P. (1995) *Vers un nouveau paradigme en Neurosciences: la Neuro-heuristique*, Recueil des résumés de communications du 63ème Congrès de l'ACFAS, UQAC Chicoutimi (Québec) 22-26 mai 1995, p.347.
- Celletti A., Villa A.E.P. (1995) *Determination of chaotic attractors in the rat brain*, Proceedings of Cortical Dynamics (Jerusalem 11-15 June 1995) p. 80.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1995) *Fast methods for estimation of occurrences of spatiotemporal patterns of firing among simultaneously recorded spike trains*, Proceedings of Cortical Dynamics (Jerusalem 11-15 June 1995), p. 72.
- Villa A.E.P., Eriksson J., Bajo V.M., Locatelli C., Rouiller E.M. (1995) *GO/NOGO stimulus response compatibility task induces selective expression of c-fos in the auditory pathway of rats.*, 4th IBRO World Congress of Neuroscience Abstract Book, p. 394.
- Vantini G., Bajo V.M., Edeline J.-M., de Ribaupierre F., Villa A.E.P. (1995) *Nerve growth factor (NGF) affects temporal information processing in rat auditory thalamus*, 4th IBRO World Congress of Neuroscience Abstract Book, p. 146.
- Bajo V.M., Rouiller E.M., de Ribaupierre F., Villa A.E.P. (1995) *Estudio de la actividad de neuronas aisladas en el nucleo dorsal del lemnisco lateral de la rata*, Rev. Neurol. 23: 544.
- Bajo V.M., Rouiller E.M., de Ribaupierre F., Villa A.E.P. (1995) *Single neuron activity in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the rat*, Europ. J. Neurosci. Suppl 8: 31
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Riehle A., Requin J. (1995) *Selective spatio-temporal firing patterns in the motor cortex during a reaction-time task*, Soc. Neurosci. Abst. 21: 516.
- Bajo V.M., Villa A.E.P., Locatelli C., Eriksson J., Eriksson C., Rouiller E.M. (1995) *Fos-like immunoreactivity revealed after cognitive information processing in the auditory pathway of rats*, Soc. Neurosci. Abst. 21: 675.
- Vantini G., Bajo V.M., Edeline J.M., Villa A.E.P. (1995) *NGF modulates information processing in the rat auditory thalamus*, Soc. Neurosci. Abst. 21: 549.
- Eriksson J., Locatelli C., Eriksson C., Bajo V.M., Villa A.E.P. (1996) *Early activation in the auditory system and decision-making paradigm in the rat*, J. Physiol. 493P: 14S.
- Locatelli C., Eriksson C., Bajo V.M., Edeline J.-M., Liberati D., Vantini G., Villa A.E.P. (1996) *High order frequency domain analysis of population activity in rat auditory cortex*, J. Physiol. 493P: 20S-21S.
- Vantini G., Bajo V.M., Edeline J.-M., Villa A.E.P. (1996) *Nerve growth*

- factor (NGF) modulates single unit activity in rat auditory thalamus, *J. Physiol.* 493P, 21S.
- Rouiller E.M., Bajo V.M., Eriksson J., Villa A.E.P. (1996) Activation of rat auditory associative pathways revealed by Fos-like immunoreactivity after a decision-making paradigm, *J. Physiol.* 493P: 21S.
- Celletti A., Villa A.E.P. (1996) *Chaotic dynamics in single unit recordings*, Proceedings of the 3rd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Bern 12-13 Janvier 1996, P03-10.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1996) *Fast methods for estimation of occurrences of spatiotemporal patterns of firing among simultaneously recorded spike trains*, Proceedings of the 3rd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Bern 12-13 Janvier 1996, P03-11.
- Hill S.L., Villa A.E.P. (1996) *Influence of local-kinetics on spatiotemporal patterns in simulated cortex*, Proceedings of the 3rd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Bern 12-13 Janvier 1996, P03-12.
- Locatelli C., Eriksson C., Bajo V., Vantini G., Villa A.E.P. (1996) *High order frequency domain analysis of population activity in rat auditory cortex*, Proceedings of the 3rd Swiss Poster Meeting on Basic and Clinical Neuroscience, Bern 12-13 Janvier 1996, P06-20.
- Celletti A., Villa A.E.P. (1996) *Determination of chaotic attractors in experimental time series of neuronal data*, Dynamic Days VIIIth Annual Workshop-Lyon, July 10.-13., 1996.
- Pozzoli U., Dutoit P., Locatelli C., Liberati D., Eriksson C., Vantini G., Villa A.E.P. (1996) *Basal forebrain cholinergic neurons selectively affect nonlinear interactions in the rat auditory cortex*. Acoustical Signal Processing in the Central Auditory System-Prague, September 4. - 7., 1996
- Hervé-Minvielle A., Herrmann A.K., Bajo V.M., Villa A.E.P., Eriksson J., Eriksson C., Rouiller E.M. (1996) *Identification of auditory structures involved in information processing during different phases of a sensory-motor learning in rats*, Acoustical Signal Processing in the Central Auditory System-Prague, September 4. - 7., 1996
- Villa A.E.P. (1996) *Reversible inactivation in cortico-thalamic circuits*, *Europ. J. Neurosci. Suppl* 9: 4.
- Villa AEP (1996) *Functional organization in the thalamo-cortical pathway*, Abstract Book of the International Workshop on Neural Networks: from Biology to Hardware Implementations (September 23-27, 1996, Chia (Cagliari), Italy), p.14.
- Eriksson C, Haeberli C, Eriksson J and Villa AEP (1996) *Multiple-site recordings in computer assisted neurophysiology*, Abstract Book of the International Workshop on Neural Networks: from Biology to Hardware Implementations (September 23-27, 1996, Chia (Cagliari), Italy), p.27.

- Dutoit P, Pozzoli U, Locatelli C, Liberati D, Eriksson C, Vantini G and Villa AEP (1996) *Nonlinear interactions in the rat auditory cortex*, Abstract Book of the International Workshop on Neural Networks: from Biology to Hardware Implementations (September 23-27, 1996, Chia (Cagliari), Italy), p.28.
- Hajós M., Villa A.E.P., Sharp T. (1996) *Pharmacological properties of burst-firing serotonergic neurones in the rat dorsal raphe nucleus*, Soc. Neurosci. Abst. 22: 1322.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) *A method to optimize the significance of detected patterns of spikes in multiple spike train recordings*. Proceedings of the 2nd Annual Meeting of the Swiss Society for Neuroscience, Fribourg, 17-18 Janvier 1997, P08-01.
- Hill S.L., Villa A.E.P. (1997) *Dynamic transitions in global network activity are influenced by the balance of excitation and inhibition*, Proceedings of the 2nd Annual Meeting of the Swiss Society for Neuroscience, Fribourg, 17-18 Janvier 1997, P08-02.
- Hervé-Minvielle A., Carretta D., Bajo V.M., Villa A.E.P., Rouiller E.M. (1997) *Evolution of c-fos expression in auditory structures during a sensori-motor learning in rats*, Proceedings of the 2nd Annual Meeting of the Swiss Society for Neuroscience, Fribourg, 17-18 Janvier 1997, P06-04.
- Tang P., Dutoit P., Villa A.E.P., Rouat J. (1997) *Effect of the membrane time constant in a model of a chopper-S neuron of the anteroventral cochlear nucleus: a neuroheuristic approach*, Association for Research in Otolaryngology, ARO Abstract Book, 1997 Midwinter Meeting, Florida February 2-6, #472, p. 118.
- Eriksson J.L., Robert A., Villa A.E.P., de Ribaupierre Y. (1997) *Simulations of the auditory periphery and cochlear nucleus cells responses to simple and complex sound stimuli*. USGEB meeting, Genève 20-21 March 1997.
- Villa A.E.P., Dutoit P., Tetko I.V., de Ribaupierre Y. (1997) *Corticofugal modulation of nonlinear interactions in the guinea pig thalamus*. USGEB meeting, Genève 20-21 March 1997.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) *A comparative study of pattern detection algorithm and dynamical system approach using simulated spike trains*, 7th International Conference on Artificial Neural Networks, Lausanne, 7-10 October 1997.
- Villa A.E.P., Hyland B., Tetko I.V. (1997) *Dynamic network interactions in the rat auditory cortex depend on behavioral context in a reaction-time task*. Neural Coding '97, Versailles (F) 29 September -3 October 1997.
- Jeandenans L., Gautero M., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1997) *Multi-platform Java based software for the analysis of chaotic dynamics in spike trains*. Neural Coding '97, Versailles (F) 29 September -3 October 1997

- Villa A.E.P., Dutoit P., Tetko I.V., Hyland B., Blüthmann H., Hunziker W., Schwaller B., Celio M. (1998) *Non-linear coupling of local field potentials across cortical sites in parvalbumin-deficient mice*. Proceedings of the 3rd Annual Meeting of the Swiss Society for Neuroscience, Lausanne, 17 Janvier 1998, P08-20, p.50.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Hyland B., Najem A., Kuhn A. (1998) *Spatiotemporal activity patterns in rat temporal cortex during a Go/NoGo task*. Proceedings of the 3rd Annual Meeting of the Swiss Society for Neuroscience, Lausanne, 17 Janvier 1998, P08-21, p.51.
- Hill S.L., Villa A.E.P. (1998) *Corticofugal projections dynamically reorganize activity in large-scale thalamocortical simulations*, Proceedings of the 26th Göttingen Neurobiology Conference, Tübingen (D) 26-29 March , P764.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Hyland B., Najem A., Kuhn A. (1998) *Cortical spatiotemporal firing patterns related to motor preparation in a conditioned task*, Proc. 2nd Int. Symp. on Experimental Spinal Cord Repair & Regeneration, Brescia, Italy 6-8 March 1998, pp. 5.17-5.22.
- Tetko I.V., Villa, A.E.P. (1998) *Detection of Temporal Interactions in Multiple Spike Trains Using Pattern Grouping Algorithm*, IVth European Research Conference on Neural Mechanisms of Learning and Memory: Dynamics of the Trace , Acquafredda di Maratea, Italy, 9-14, 1998 .
- Schwaller B., Villa A.E.P., Tetko I.V., Hunziker W., Tandon P., Silveira D.C., Celio M.R. (1998) *Phenotype of Parvalbumin Nullmutant Mice*, Europ. J. Neurosci. Suppl. 10: 4.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Hyland B., Najem A. (1998) *Behavioral significance of spatio-temporal activity patterns among rat cortical neurons*, Europ. J. Neurosci. Suppl. 10: 86.
- Tetko I.V., Villa A.E.P. (1998) *Detection of temporal interactions in multiple spike trains using pattern grouping algorithm*, Europ. J. Neurosci. Suppl. 10: 88.
- Hajós M., Gartside S.E., Sharp T., Hyland B.I., Tetko I., Villa A.E.P. (1998) *5-HT_{1A} receptor mediated modulation of neuronal activity of the medial prefrontal cortex*, Europ. J. Neurosci. Suppl. 10: 347.
- Tetko, I.V., Kovalishyn V.V., Luik A.I., Kasheva T.N. Villa, A.E.P., Livingstone D.J. (1998) *Variable Selection in the Cascade-Correlation Learning Architecture*. 12th European Symposium on Quantative Structure-Activity Relationships: Molecular Modelling and Prediction of Bioactivity, August 23-28, 1998, Copenhagen, Denmark.
- Villa A.E.P., Eriksson C., Eriksson J., Haeberli C., Hyland B., Najem A. (1998) *Early communication between stimulus evaluation and response systems in a novel Go/Nogo conflict paradigm in rats*, Int. J. Psychophysiol. 30: 123-124.

- Villa A.E.P., Hyland B., Kuhm A., Najem A., Tetko I.V. (1998) *Precise temporal coding of spike occurrences are related to future behavioral performance in freely-moving rats*, Soc. Neurosci. Abst. 24: 1877.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Perrig S., Seeck M., Landis T., Villemure J.-G. (1999) *Intraoperative Electrooculography: functional analysis of the epileptogenic zone*, Proceedings of the 4th Annual Meeting of the Swiss Society for Neuroscience, Zurich, 16 Janvier 1999, P01.36.
- Eriksson, J.L., Najem A., Villa A.E.P. (1999) *Discrimination by rats of variable instances of vowels*, Abstracts of the 22nd Meeting, Association for Research in Otolaryngology, 13-18 février 1999, St. Petersburg, Florida, vol. 22: 74.
- Celletti A., Froeschlé C., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1999) *Detection of deterministic dynamics in short discrete time series*, Interdisciplinary Workshop "Chaos in Brain ?", 10-12 mars 1999, Bonn, p. 47.
- Villa A.E.P., Tetko I.V., Hunziker W., Celio M., Schwaller B. (1999) *Non-linear coupling of local field potentials across cortical sites in parvalbumin-deficient mice*, Abstract book of the Interdisciplinary Workshop "Chaos in Brain ?", 10-12 mars 1999, Bonn, p. 65.
- Villa A.E.P., Tetko I.V. (1999) *Non-linear cortico-cortical interaction in a model of Alzheimer's disease*, 7th International Conference on Cognitive Neuroscience, 28 juin-3 juillet 1999, Budapest.
- Chibirova O.K., Aksenova T.I., Villa A. E. P. , Tetko I.V. (1999) *Extracellular spike detection using nonlinear models*, 31st Annual General Meeting of the European Brain and Behaviour Society, 29 septembre - 2 octobre 1999, Roma.
- Filipov D.V., Iglesias J., Jeandenans L., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1999) *Neurophysiological analysis on the Web*, 31st Annual General Meeting of the European Brain and Behaviour Society, 29 septembre - 2 octobre 1999, Roma.
- Ivakhnenko A.G., Ivakhnenko G.A., Sarychev A.P., Villa A.E.P., Tetko I.V. (1999) *Automatic recognition of functional neuronal interactions*, 31st Annual General Meeting of the European Brain and Behaviour Society, 29 septembre - 2 octobre 1999, Roma.
- Sinitsky V.N., Gruzdev G.M., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1999) *Effect of antipsychotic drug Sulpiride on the EEG activity and psychophysiological measurements*, 31st Annual General Meeting of the European Brain and Behaviour Society, 29 septembre - 2 octobre 1999, Roma.
- Storozhuk V.M., Khorevin V.I., Sachenko V.V., Tetko I.V., Villa A.E.P. (1999) *Dopaminergic modulation of glutamatergic transmission in sensorimotor cortex during conditioning*, 31st Annual General Meeting of the European Brain and Behaviour Society, 29 septembre - 2 octobre 1999, Roma.

- Villa A.E.P., Najem A., Kuhn A., Eriksson J., Haeberli C., Tetko I.V. (1999) *Early communication between stimulus evaluation and response systems in a complex auditory discrimination task*, 31st Annual General Meeting of the European Brain and Behaviour Society, 29 settembre - 2 ottobre 1999, Roma.
- Villa A.E.P., DelPrete V., Tetko I.V., Martignon L. (1999) *Syntony of neuronal discharges revealed by binarization of spike counts in multiple single units recordings*, Soc. Neurosci. Abst. 25: .

Tesi di laurea e di dottorato

- Kuhn A. (1997-1998) *Apprentissage séquentiel d'une tâche de discrimination complexe par le rat et patterns spatio-temporels d'activité dans le cortex cérébral d'animaux soumis à cette tâche*, Tesi di Laurea presso la Facoltà di Scienze dell'Università di Losanna (Sezione di Biologia) Direttore: A. Villa.
- Carota L. (1998-1999) *Studio delle proprietà spazio-temporali di reti neurali talamo-corticali: simulazioni e registrazioni elettrofisiologiche*, Tesi di Laurea in Fisica, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali dell'Università degli Studi di Bologna, Relatore : Prof. Renato Campanini, Correlatore : A. Villa.
- Najem A. (1998-2000) *Comparaison d'indices perceptifs dans un apprentissage séquentiel chez le rat*, Tesi di Laurea presso la Facoltà di Scienze dell'Università di Ginevra (Sezione di Biologia) Direttore: A. Villa.
- Mariéthoz C. (1999-2000) *Influence spécifique des protéines tampon du calcium dans les circuits inhibiteurs au niveau thalamo-cortical*, Tesi di Laurea presso la Facoltà di Scienze dell'Università di Losanna (Sezione di Biologia) Direttore: A. Villa.
- Iglesias J. (1999-2000) *Patterns d'activité temporelle de neurones du cortex auditif chez le rat libre de ses mouvements*, Tesi di Laurea presso la Facoltà di Scienze dell'Università di Losanna (Sezione di Biologia) Direttore: A. Villa.
- Hill S. (1994-1999) *Spatial and temporal processing in large-scale thalamocortical neural networks*. Tesi di Dottorato di ricerca presso la Facoltà di Scienze dell'Università di Losanna, Direttore: A. Villa.
- Eriksson J. (1994-2000) *Complex sound discrimination in the auditory pathway*. Tesi di Dottorato di ricerca presso la Facoltà di Scienze dell'Università di Losanna, Direttore: A. Villa.