

# An “insider” perspective on (some) methodological and statistical pitfalls in the analysis of electrophysiological data for cognitive neuroscience

Antonio Maffei, PhD

Padova Neuroscience Center

30/04/2021



Si, ma:

- Proverò a darvi un'idea su quei problemi che non sono facilmente identificabili se non si è "esperti"
- Cercherò di darvi la mia prospettiva sul perchè non dovrete **mai fidarvi** di un elettrofisiologo
- Proverò a condividere con voi un paio di possibili soluzioni

**Let's start then!**

# Un pò di storia

- 2009: Neural correlates of interspecies perspective taking in the post-mortem Atlantic Salmon: An argument for multiple comparisons correction (Bennett et al., OHBM)
- 2016: Cluster failure: Why fMRI inferences for spatial extent have inflated false-positive rates (Eklund et al., PNAS)
- 2020: Variability in the analysis of a single neuroimaging dataset by many teams (Botvinik-Nezer et al., Nature)

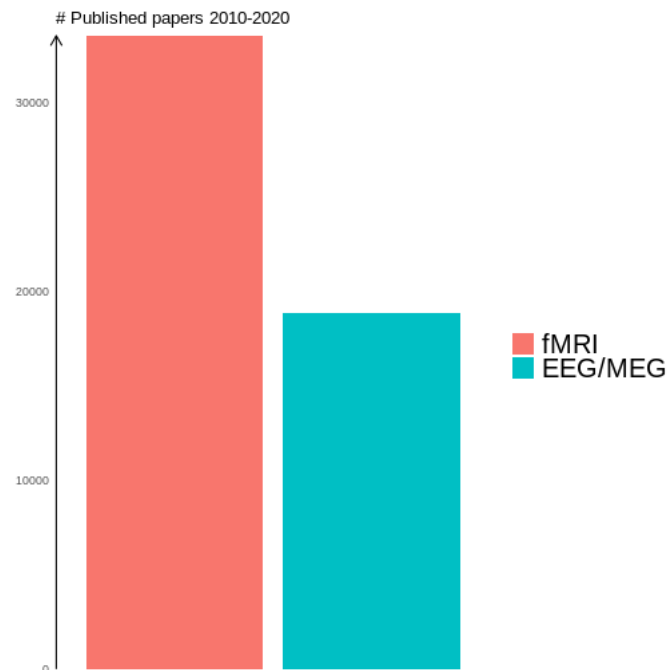


La (quasi) totalità del dibattito intorno ai problemi metodologici/statistici nelle neuroscienze sta riguardando l'**fMRI**.

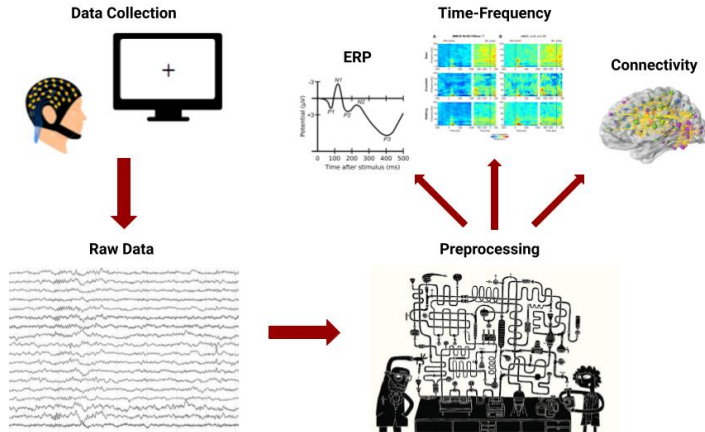
I motivi sono tanti (e a me non del tutto chiari):

- Elevata visibilità delle ricerche fMRI --> potenziale impatto?
- Elevato costo --> evitare lo spreco di fondi?
- Relativa standardizzazione della tecnica (l'unità di analisi è una sequenza di immagini di dimensioni standard tra studi)

Al tempo stesso un terzo delle ricerche nelle neuroscienze cognitive usano tecniche elettrofisiologiche



# EEG in a nutshell



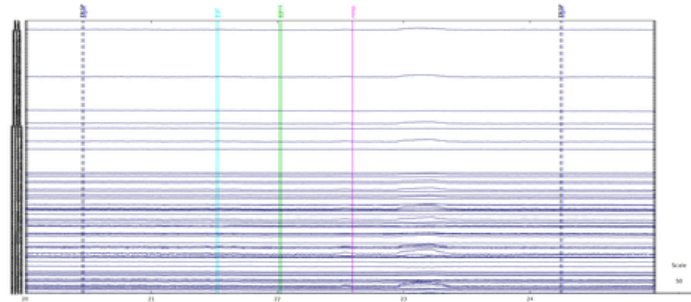
Le dimensioni di indagine sono:

- Spazio
- Tempo
- Frequenza

Ciò che rende questa tecnica estremamente flessibile è anche il motivo per cui è molto difficile sviluppare *pipelines* di analisi standardizzate

# Preprocessing: Where the magic happens

L'elemento più delicato di un qualsiasi studio EEG/ERP/MEG è il preprocessing, ovvero quella sequenza di operazioni che consentono di passare dal tracciato *grezzo* al dato di interesse che verrà utilizzato per la statistica



In generale, il preprocessing consiste *almeno* nelle seguenti operazioni:

- Filtering
- Segmentazione del tracciato continuo in epoche di interesse
- **Detezione e rimozione/correzione di artefatti**

Di quanti tipi di artefatti dobbiamo preoccuparci?

# Fantastic artifacts and where to find them

Gli artefatti più comuni che caratterizzano un tracciato elettroencefalografico sono:

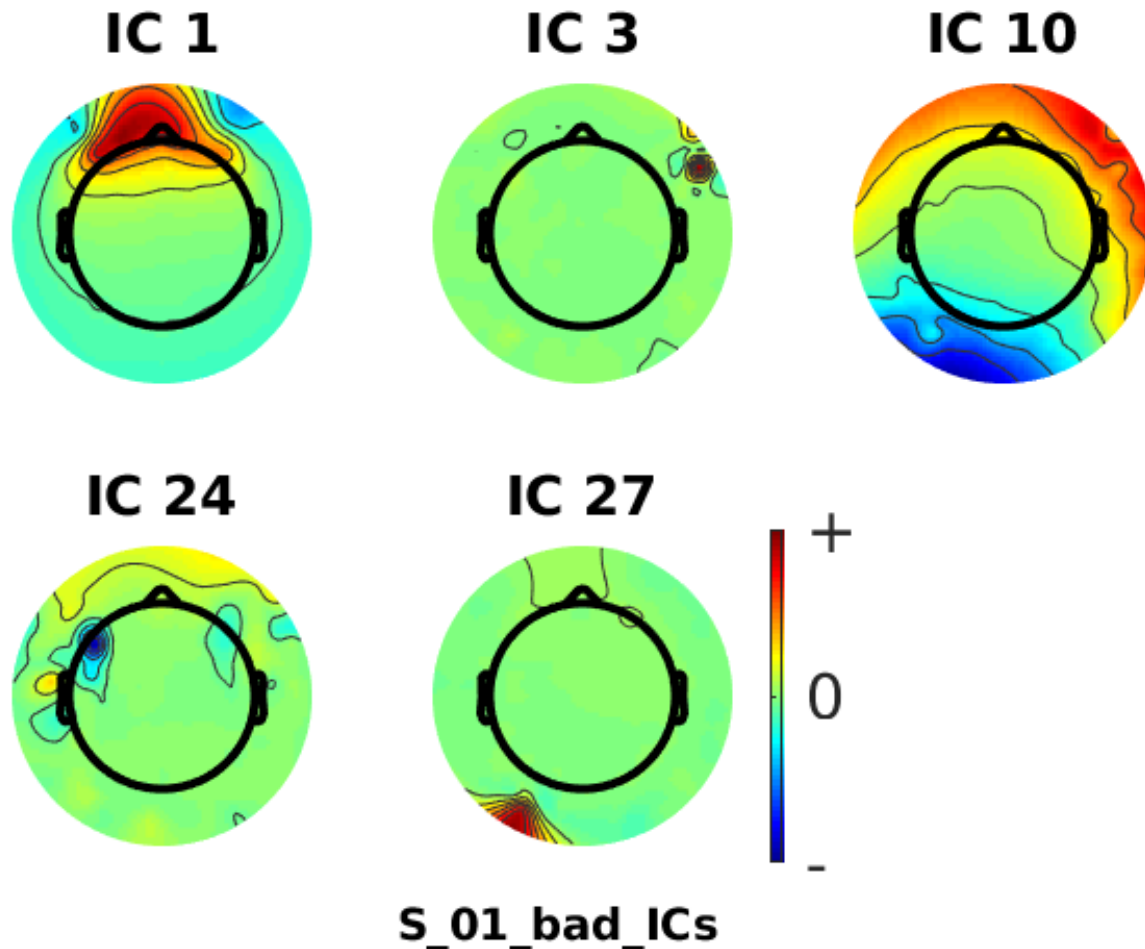
- Movimenti oculari (blinks e saccadi)
- Tensione muscolare (> 20 Hz)
- Artefatto di rete (50 Hz)
- Potenziali evocati 
- Analisi in (tempo-)frequenza 

## How to deal with them?

- Approcci multivariati (i.e. PCA, ICA) per identificare componenti **stabili e stereotipiche**
- Criteri basati sull'ampiezza del segnale (i.e. se - *soglia* mV < A < *soglia* mV scarta l'epoca)
- **Ispezione visiva**



# Fantastic artifacts and where to find them



# The *hidden* variability

Sebbene gli strumenti per gestire e contenere gli artefatti in un tracciato EEG esistano, vengono utilizzati lasciando **un'ampia discrezionalità al *data analyst***

- Quali componenti ICA sono da rimuovere e quali sono da conservare?
- Quale soglia mi consente di identificare tutte le epoche contaminate?

Nella stragrande maggioranza dei casi queste scelte sono *arbitrarie* e frutto della consuetudine/esperienza

La logica dietro le scelte compiute durante il preprocessing non solo non viene giustificata, ma nemmeno riportata negli articoli

## 2.4. EEG data preprocessing

The EEG was recorded during the task by means of 62 active electrodes distributed on the scalp according to the extended 10/20 system, positioning an elastic Acti-Cap with reference to the left ear lobe. Sampling rate was 1000 Hz and the high viscosity of the gel used allowed the impedance to be kept below 10 K $\Omega$ . Continuous data were downsampled to 500 Hz and high-pass filtered at 0.1 Hz. For the quantification of the ERPs, data cleaned with Independent Component Analysis (ICA) were further segmented into epochs starting from -200 ms to 600 ms after the target to be memorized, baseline corrected, and low pass filtered at 30 Hz.

# STANDARDIZE, STANDARDIZE, STANDARDIZE!

Sulla scia di quanto accaduto nel mondo del neuroimaging, negli ultimi anni c'è una crescente spinta a sviluppare *pipeline* analitiche:

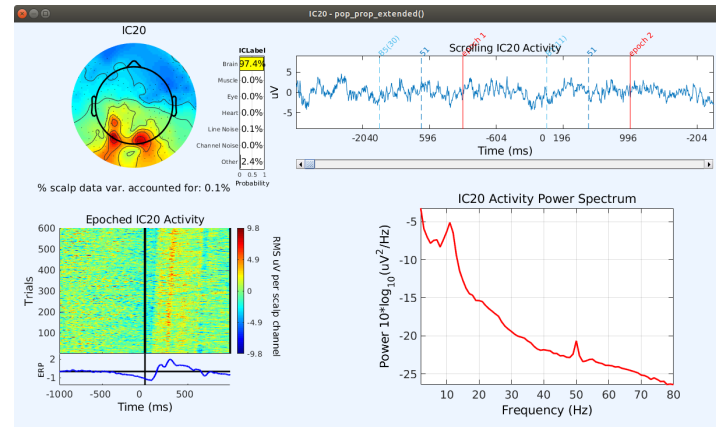
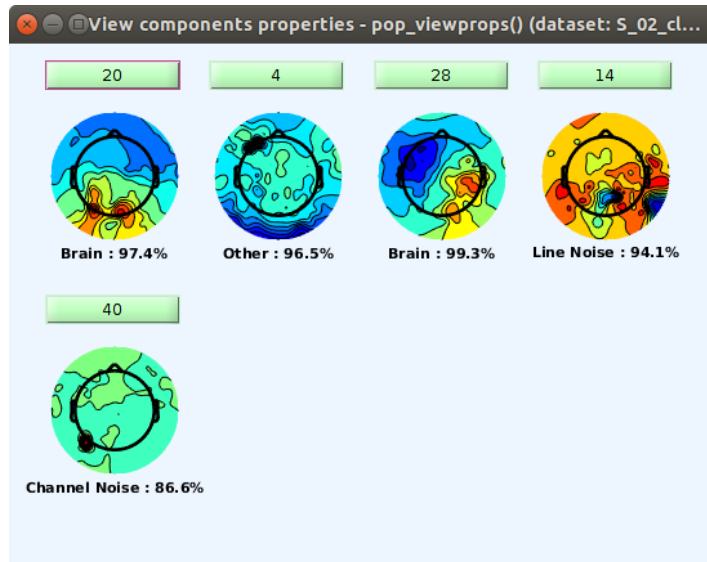
- Standardizzate
- Riproducibili
- Scalabili
- Armonizzate

Con la maggiore accessibilità di sistemi ad alta densità (>100 canali) e la spinta a raccogliere dataset di grandi dimensioni ( $n > 100$ ), un approccio dipendente da scelte soggettive è **semplicemente impossibile da applicare**

## Alcuni esempi

- PREP pipeline
- ICLabel
- Automagic

# STANDARDIZE, STANDARDIZE, STANDARDIZE!

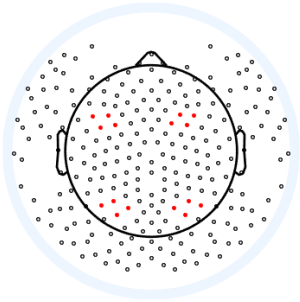




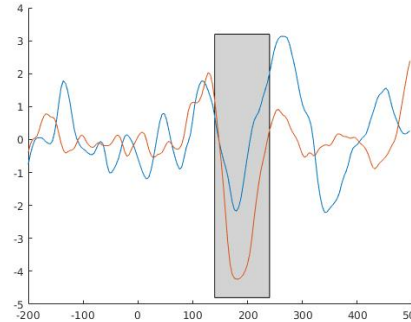
C.R.A.P. = Commonly Recorded Artifactual Potentials (quoted from Steven Luck)

# Stats: the less *hidden* variability

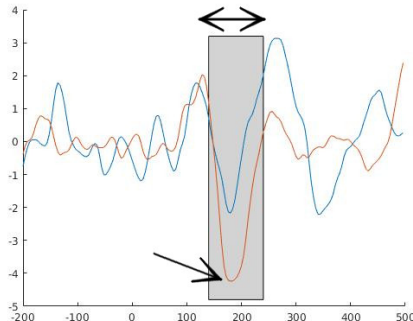
## Selezione degli elettrodi



## Selezione delle finestre temporali



## Flessibilità nella scelta di cosa analizzare



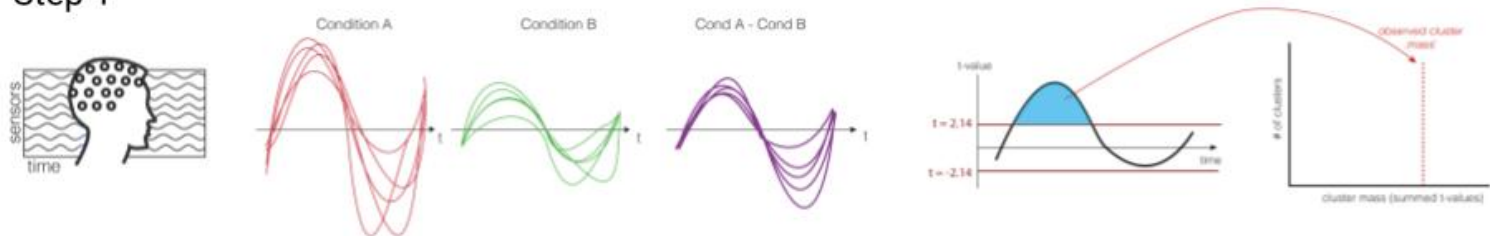
## Utilizzo di complicati disegni fattoriali\*

In these analyses, P1 amplitude was quantified as the mean voltage between 50 and 150 ms poststimulus, and the amplitude measures were analyzed in a three-way analysis of variance (ANOVA) with factors of trial type (repetition versus non-repetition), electrode hemisphere (left versus right), and within-hemisphere electrode position (frontal pole, lateral frontal, mid frontal, central, or parietal). The effect of trial type was

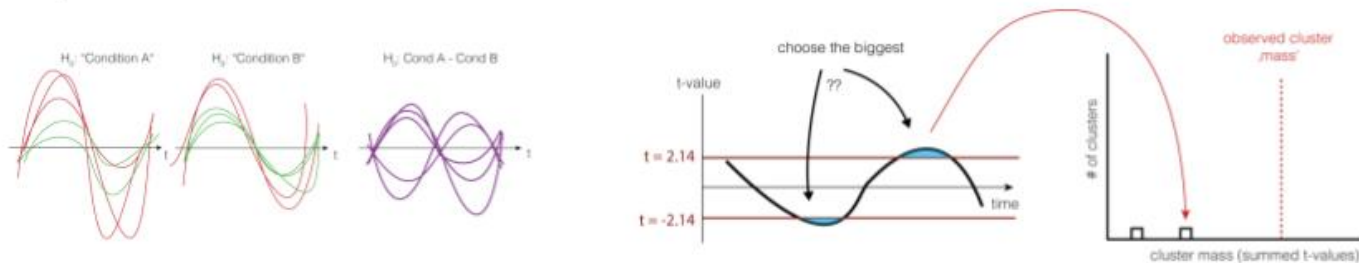
\*Luck, S.J. & Gaspelin, N. (2017). How to Get Statistically Significant Effects in Any ERP Experiment (and Why You Shouldn't)

# Stats: a better non-parametrical approach

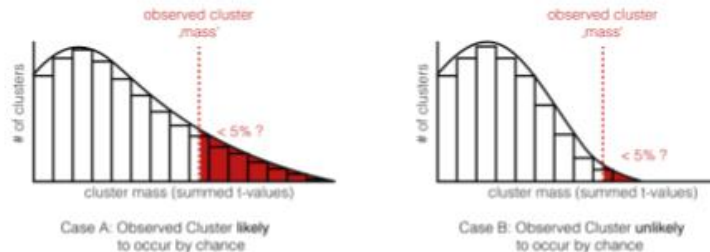
## Step 1



## Step 2



## Step 3



## Stats: a better non-parametrical approach

Un approccio di tipo *mass-univariate* non parametrico è da preferire, perchè:

- Meno dipendente da scelte soggettive
- Non poggia su assunzioni (quasi) mai rispettate
- Penalizza effetti piccoli e isolati
- Magnifica effetti distribuiti e robusti

## Eh ma il mio è un disegno fattoriale, come faccio?

Questo tipo di approccio è estendibile a qualsiasi statistica test si scelga e ai disegni fattoriali 3x3x3x3x3x3x3x3x3....

# Factorial Mass Univariate Toolbox



# How to fix the situation? Can it be fixed at all?

Allo stato attuale, la gigantesca variabilità nelle procedure di analisi di dati elettrofisiologici, rende il panorama dei risultati pubblicati quantomeno dubbio



**#EEG**ManyLabs

Ha come scopo provare a replicare  
27 "classici" della letteratura  
EEG/ERP  
Ogni studio proverà ad essere  
replicato in almeno 3 gruppi di  
ricerca indipendente

Status: Iniziato nel 2020

**#EEGManyPipelines**

Ha come scopo di quantificare la  
variabilità nelle procedure di analisi  
tra gruppi di ricerca diversi e  
studiarne l'impatto sul risultato  
finale

Status: In fase di preparazione e  
reclutamento dei team di analisi

# How to fix the situation? Can it be fixed at all?

Ridefinire il modo con cui queste tecniche vengono studiate ed insegnate

Fondamenti di algebra lineare e signal processing sono **essenziali** non solo per *usare* queste tecniche ma anche semplicemente per *capire* i lavori che se ne servono e giudicarne la qualità ed il valore

Non è solo un titolo *fancy* per un articolo!!!

## PSYCHOPHYSIOLOGY



*Psychophysiology*, 54 (2017), 146–157. Wiley Periodicals, Inc. Printed in the USA.  
Copyright © 2016 Society for Psychophysiological Research  
DOI: 10.1111/psyp.12639

How to get statistically significant effects in any ERP  
experiment (and why you shouldn't)

# Thanks!

(and never trust an electrophysiologist)