

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'ENERGIA ELETTRICA E
DELL'INFORMAZIONE

“GUGLIELMO MARCONI”

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**ANALISI DEI POTENZIALI EVOCATI CEREBRALI OTTENUTI
MEDIANTE PARADIGMA ODDBALL DI TIPO Uditivo E DI
TIPO VISIVO**

Elaborato in

STRUMENTAZIONE BIOMEDICA

Relatore

Prof.ssa Elisa Magosso

Presentata da

Giunchi Lorenzo

Correlatore

Prof. Maurizio Lannocca

Anno Accademico 2018/2019

Parole chiave

Elettroencefalografia

Event Related Potential

N100

Mismatch Negativity

P300

Indice

Introduzione.....Pag-3

Capitolo 1 Il segnale elettroencefalografico e i potenziali evento-correlati

1.1 L' elettroencefalografia: breve storia e le sue tipologie.....Pag-7

1.2 Basi neurofisiologiche dei segnali EEG di superficie.....Pag-8

1.3 Standard 10-20 di posizionamento degli elettrodiPag-10

1.4 Ritmi cerebrali del segnale EEG.....Pag-12

1.5 Potenziali evocati.....Pag-14

Capitolo 2 Generazione degli stimoli e acquisizione della risposta

2.1 Open BCI.....Pag-19

2.2 Configurazione Hardware e Software per la generazione degli stimoli uditivi:

2.2.1 Configurazione Hardware.....Pag-21

2.2.2 Configurazione Software.....Pag-22

2.3 Configurazione Hardware e Software per la generazione degli stimoli visivi:

2.3.1 Configurazione Hardware.....Pag-23

2.3.2 Configurazione Software.....Pag-24

2.4 Configurazione del circuito per l'acquisizione della risposta:.....Pag-25

Capitolo 3 Protocollo di acquisizione ed elaborazione dati

3.1 Il paradigma oddball	Pag-27
3.2 Protocollo di acquisizione	
3.2.1 Implementazione del paradigma oddball	Pag-28
3.2.2 Posizionamento degli elettrodi	Pag-29
3.2.3 Partecipanti	Pag-30
3.2.4 Struttura dell'esperimento e acquisizione dei segnali	Pag-30
3.3 Elaborazione dei segnali	
3.3.1 Filtraggio	Pag-33
3.3.2 Segmentazione in epoche e averaging	Pag-33
3.3.3 Estrapolazione delle caratteristiche delle componenti ERP su ciascun soggetto	Pag-35
3.3.4 Script per il calcolo delle Grand Average	Pag-35

Capitolo 4 Visualizzazione ed analisi dei potenziali evocati ottenuti nei tre paradigmi oddball

Pag-37

4.1 Potenziali evocati ottenuti col paradigma oddball "acustico facile"	Pag-38
4.2 Potenziali evocati ottenuti col paradigma oddball "acustico difficile"	Pag-47
4.3 Potenziali evocati ottenuti col paradigma oddball "visivo"	Pag-56
4.4 Confronto delle componenti ERP ottenute tramite le tre prove	Pag-64

Conclusioni	Pag-71
--------------------------	--------

Bibliografia e sitografia	Pag-75
--	--------

Introduzione

Il lavoro svolto in questo elaborato riguarda i Potenziali Evento Correlati (ERP, Event-Related Potential) in risposta a stimoli uditivi e visivi in un particolare paradigma sperimentale chiamato paradigma oddball. I potenziali evocati sono piccole variazioni (pochi μV) del tracciato elettroencefalografico (EEG) in risposta ad uno stimolo o evento. Lo studio dei potenziali evocati permette di analizzare i processi neurali che stanno alla base dell'interpretazione, elaborazione e memorizzazione delle informazioni prelate agli stimoli (o eventi). Il potenziale ERP, ottenuto come risposta neurale ad uno stimolo, viene mascherato dall'EEG di fondo il quale ha ampiezza molto inferiore. Perciò per rilevare gli ERP è necessario applicare specifiche elaborazioni. La tecnica per estrarre i potenziali ERP è chiamata *tecnica dell'averaging*. Questa tecnica consiste nel presentare, in maniera ripetuta e ad intervalli regolari di tempo, più stimoli al soggetto durante un'acquisizione EEG in modalità continua. Il segnale EEG ottenuto in questo modo viene suddiviso in segmenti time-locked, chiamati epoche (o trial), sincronizzati e allineati con la presentazione dello stimolo. La sincronizzazione di tali epoche viene garantita grazie all'acquisizione, in contemporanea al segnale EEG, di un segnale trigger. Tale segnale trigger ha il compito di segnalare la presentazione dello stimolo in corrispondenza del segnale EEG. Questo permette in fase di elaborazione (off-line) la segmentazione del tracciato in epoche tutte ugualmente temporizzate rispetto alla presentazione dello stimolo. Mediando le epoche si ottiene il potenziale ERP medio relativo allo stimolo presentato. I potenziali ERP, così ottenuti, si presentano come una serie di deflessioni (positive e negative) chiamate componenti. Tali componenti vengono distinte secondo la loro ampiezza, latenza dalla presentazione dello stimolo, polarità e distribuzione sullo scalpo. In questo elaborato si sono volute analizzare le componenti *N100*, *MMN* (Mismatch Negativity) e *P300*. Per evidenziare tali componenti all'interno di questo elaborato si è utilizzato il paradigma oddball. Il paradigma oddball consiste nel sottoporre il soggetto ad una successione continua di due stimoli che differiscono per le loro caratteristiche fisiche (ad esempio: due stimoli acustici che differiscono per la loro tonalità oppure due stimoli visivi che differiscono per il colore). Uno dei due stimoli, detto *standard*, si presenta più frequentemente, mentre l'altro stimolo, detto *deviant* (o target), è meno presente all'interno della sequenza. In questo modo, il paradigma oddball consiste di una serie di stimoli *standard* interrotta da stimoli *deviant*. Di questo paradigma esistono due principali varianti, una attiva e una passiva. In un paradigma oddball passivo, il soggetto viene sottoposto a una serie di stimoli in maniera passiva, ovvero senza dover compiere alcuna azione. Nel paradigma oddball attivo, al soggetto viene chiesto di svolgere un'azione, ogni qual volta il soggetto percepisce lo stimolo *deviant*. In questo elaborato, è stato preso in considerazione solo il

paradigma oddball attivo in cui l'azione richiesta consisteva nel premere un pulsante in risposta allo stimolo *deviant*. Ci si è limitati al paradigma oddball attivo in quanto è particolarmente utile per rivelare le componenti ERP endogene (cioè che dipendono da meccanismi di elaborazione interna e di attenzione volontaria), in particolare la componente *P300*.

La componente *N100*, si tratta di un'è una componente ERP di polarità negativa che si manifesta a circa *100ms* dalla presentazione dello stimolo. Si tratta di una componente principalmente esogena, ioè precoce che riflette primariamente le caratteristiche fisiche dello stimolo (a monte di elaborazioni più sofisticate), e una 'cattura' involontaria dell'attenzione del soggetto. La componente *MMN* (Mismatch Negativity) è una componente che deriva dalla componente *N200*. La componente *N200* è una componente con polarità negativa che si presenta a circa *200ms* dalla presentazione dello stimolo. Si tratta di una componente che dipende, oltre che dallo stimolo anche da meccanismi di elaborazione pre-attentiva dello stimolo, comprendente processi "involontari" di discriminazione fra stimoli diversi. La *MMN* infatti, viene identificata all'interno del paradigma oddball come la differenza fra la *N200* in risposta agli stimoli *deviant* e la *N200* in risposta agli stimoli *standard*. La componente *P300*, è una componente con polarità positiva più tardiva che si manifesta a circa *300ms* dalla presentazione dello stimolo. Si tratta di una componente endogena per cui all'interno di questa componente si riflettono i processi di elaborazione, memorizzazione dello stimolo e processi attentivi. Infatti, risulta più evidente nei paradigmi oddball attivi, che richiedono una maggiore componente di attenzione.

L'obiettivo principale di questo elaborato è analizzare i potenziali ERP (e le componenti *N100*, *MMN*, *P300*) ottenuti tramite paradigmi oddball attivi di tipo uditivo e visivo. Precisamente si sono presi in considerazione due prove di paradigma oddball uditivo: una prova, definita 'acustico facile' è caratterizzata dall'uso di stimoli uditivi standard e deviant con tonalità molto diverse e quindi facilmente discriminabili; l'altra prova, definita 'acustico difficile' è caratterizzata dall'uso di stimoli uditivi standard e deviant con tonalità simili e quindi difficilmente discriminabili. Inoltre è stato preso in considerazione un paradigma oddball visivo in cui i due stimoli deviant e standard differivano per il colore del led. Utilizzando paradigmi oddball diversi si è voluto investigare come le componenti *N100*, *MMN* e *P300* si modificano in base alla prova di oddball eseguita. Per implementare i paradigmi oddball, si è sviluppato, tramite Arduino e un circuito su breadboard, un sistema che permettesse la generazione di stimoli sia uditivi (con differenti tonalità) che visivi e in contemporanea la generazione di un segnale di trigger. La successione di tali stimoli (*deviant* e *standard*) avviene in maniera casuale ma senza perdere traccia della sequenza. Le risposte cerebrali a tali stimoli (da 12 elettrodi) insieme al segnale trigger sono stati acquisiti (su 8 soggetti) mediante

un sistema EEG (sistema OpenBCI, disponibile nel laboratorio LIB del DEI, Università di Bologna). Il filtraggio e la *tecnica dell'averaging* sono stati applicati sul tracciato EEG di ogni elettrodo grazie a uno script MATLAB, ottenendo così i potenziali ERP medi. Dai potenziali così ottenuti sono state estratte le componenti ERP di interesse (*N100*, *MMN*, *P300*) e le caratteristiche (ampiezza e latenza) di tali componenti sono state confrontate tra i tre paradigmi oddball eseguiti.

La tesi è suddivisa in quattro capitoli

Nel Capitolo 1 vengono descritte le basi neurofisiologiche dei segnali EEG di superficie e vengono spiegati i ritmi cerebrali. Vengono inoltre descritti i potenziali evocati e la *tecnica dell'averaging* per estrarli. Infine, vengono illustrate anche le componenti ERP di interesse (*N100*, *MMN*, *P300*).

Nel Capitolo 2 viene descritto il sistema per l'acquisizione del segnale EEG (Open BCI). Inoltre, vengono descritte le configurazioni hardware e software per la generazione degli stimoli e per l'acquisizione della risposta agli stimoli *deviant* tramite pulsante.

Nel Capitolo 3 viene descritto il paradigma oddball per ciascuna delle tre prove ('acustico facile', 'acustico difficile', 'visivo') e descritto il protocollo di acquisizione. Inoltre, viene descritta l'elaborazione effettuata sui dati, in particolare l'implementazione della *tecnica dell'averaging*.

Nel Capitolo 4 vengono mostrati per ciascuna delle tre prove gli ERP ottenuti sui vari soggetti e la corrispondente Grand Average, nonché le caratteristiche di ampiezza e latenza delle componenti *N100*, *MMN* e *P300*. In fine vi è un paragrafo che mette a confronto gli ERP e le caratteristiche delle componenti *N100*, *MMN* e *P300* tra le tre prove.

In fine vengono presentate le conclusioni sul lavoro svolto.

Capitolo 1: Il segnale elettroencefalografico e i potenziali evento-correlati

1.1 L' elettroencefalografia: breve storia e le sue tipologie

L'elettroencefalografia è la registrazione dell'attività elettrica cerebrale, e rappresenta una metodica fondamentale per la valutazione dello stato funzionale del cervello. [1]

Storicamente il primo a riuscire ad acquisire l'attività elettrica del cervello fu l'inglese Richard Caton, effettuando i suoi esperimenti sul cervello esposto di vari animali (ad esempio: gatti, conigli e scimmie), i dati furono poi presentati alla British Medical Association ad Edinburgo nel 1875. Tutto ciò fu reso possibile grazie anche all' utilizzo di elettrodi non polarizzati sviluppati da Emil Du Bois Reymond e di un galvanometro riflettente, attraverso il quale un fascio di luce veniva riflesso su uno schermo da un piccolo specchio solidale con la bobina mobile del galvanometro. Questo metodo di registrazione permetteva una risposta in frequenza da 0 a 6 Hz. Successivamente nel 1924 Hans Berger riuscì a registrare per la prima volta nella storia l'attività elettrica cerebrale in modo non invasivo sull'uomo, effettuando misure sulla superficie del cranio di soggetti umani. A Hans Berger si deve anche la scoperta delle onde *alfa* e *beta*. Il primo elettroencefalografo multi-canale fu sviluppato da Albert Grass nella seconda metà degli anni trenta, disponeva di tre canali ed era basato su uno dei primi amplificatori elettronici e su un galvanometro a penna [1].

L'elettroencefalografia convenzionalmente viene classificata in base agli elettrodi utilizzati per l'acquisizione dei segnali. Ne esistono di tre principali tipologie: *elettroencefalografia di superficie o standard (EEG)*, *elettrocorticografia (ECoG)* e la *stereolettroencefalografia (SEEG)*. *Elettroencefalografia di superficie o standard (EEG)*: è definita in questo modo poiché vengono utilizzati degli elettrodi posizionati sullo scalpo, è una metodica non invasiva motivo per cui viene utilizzata per controlli e registrazioni cliniche di routine. *Elettrocorticografia (ECoG)*: qui a differenza della precedente gli elettrodi vengono posizionati direttamente sulla superficie della corteccia cerebrale, questa risulta una tecnica assai invasiva per cui viene riservata a casi complessi e selezionati. *Stereolettroencefalografia (SEEG)*: in questa tipologia vengono utilizzati elettrodi ad ago che vengono posizionati in profondità nel tessuto cerebrale, questa tecnica come la precedente è estremamente invasiva per cui viene applicata nei medesimi casi.

1.2 Basi neurofisiologiche dei segnali EEG di superficie

Il segnale EEG che viene acquisito in superficie è il risultato di un effetto macroscopico che riflette l'attività sincronizzata di estese popolazioni di neuroni, questi segnali vengono chiamati *potenziali di campo*. Dato che la corteccia cerebrale è la struttura dell'encefalo più prossima allo scalpo, dove preleviamo i dati tramite gli elettrodi, il segnale EEG di superficie sarà principalmente influenzato dai neuroni corticali. Di conseguenza le zone sottocorticali, più lontane dallo scalpo, non contribuiranno direttamente al segnale EEG.

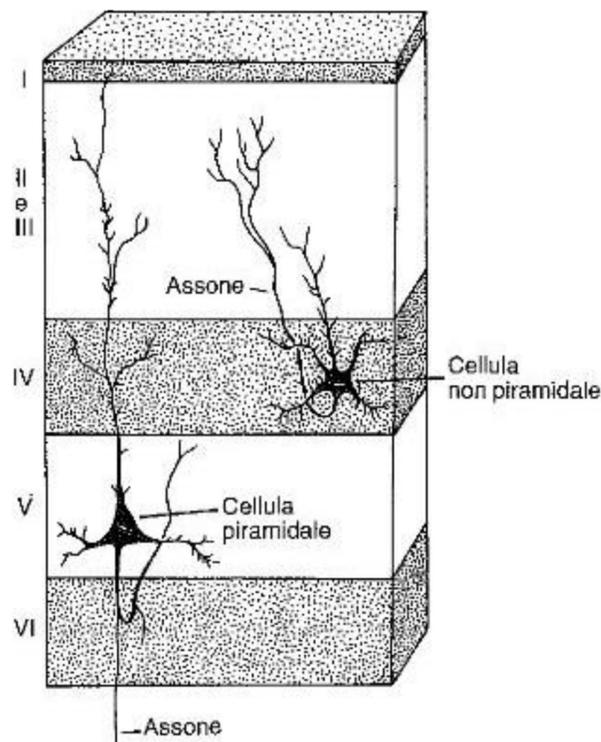


Figura 1.1: Organizzazione in strati della corteccia corticale, tratta da [2]

La corteccia cerebrale è organizzata in sei strati funzionali chiamati *strati corticali* (vedi figura 1.1). All'interno degli strati sono disposti i neuroni che possono essere di due tipi *piramidali* o *non piramidali* (di questi ne esistono vari tipi, che non comunque contribuiscono in maniera significativa ai segnali EEG). I neuroni piramidali, presenti principalmente negli strati 3-5-6, presentano un soma di grandi dimensioni e a forma di piramide, con la base verso il basso e la punta della piramide verso lo scalpo (vedi figura 1.1). Vengono chiamati anche *neuroni di proiezione* visto che il loro assone proietta ad altre zone corticali o a strutture sottocorticali distanti dal neurone stesso. Inoltre sono caratterizzati da una corta arborizzazione dendritica alla base e da un lungo

dendrite apicale che parte dalla punta del soma e arriva fino allo strato più superficiale (vedi figura 1.1). La loro particolare struttura dendritica fa sì che siano i loro potenziali postsinaptici i principali generatori dei segnali EEG [1].

In figura 1.2 si può capire il contributo del singolo neurone, questo è dovuto al fatto che in presenza di una sinapsi eccitatoria il neurone si può schematizzare come un dipolo elettrico, dove il dendrite

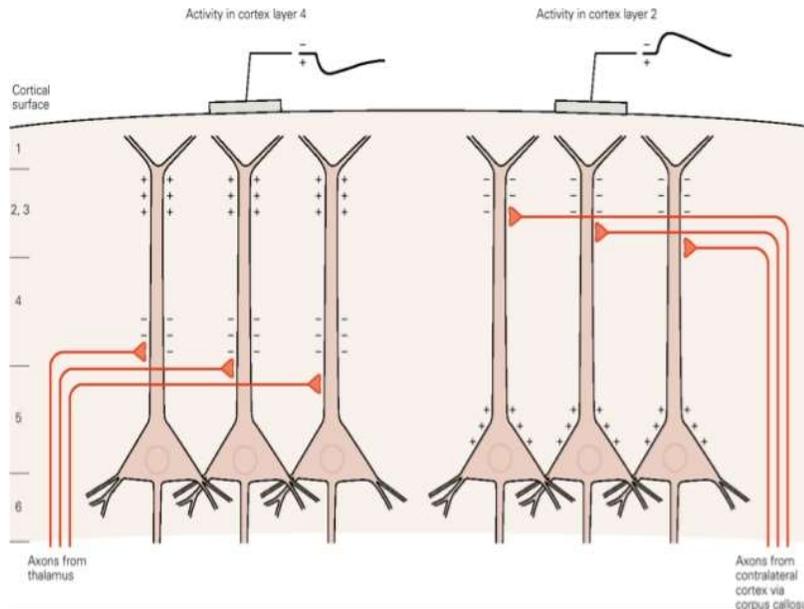


Figura 1.2: Formazione di dipoli elettrici in conseguenza di flussi di correnti sinaptiche [3]. Sinistra sinapsi eccitatorie nelle regioni basali del dendrite (caso a). Destra sinapsi eccitatorie nelle regioni superficiali del dendrite (caso b).

e lo strato corticale attorno vengono visti come i mezzi di conduzione. Figura 1.2 (caso a): Le cariche positive entrano all'interno della membrana dendritica in corrispondenza alle regioni basali dove è in atto una sinapsi eccitatoria (nella regione dello spazio extracellulare si genera un'elettronegatività); le cariche si muovono attraverso il dendrite uscendo dal dendrite nelle zone vicine allo strato superficiale dove si verifica, un aumento di carica positiva nello spazio extracellulare (la corrente naturalmente si chiude nello spazio extracellulare, con le cariche positive che si muovono dalla superficie verso le regioni vicine al soma). Figura 1.2 (caso b): Le cariche positive si muovono ancora una volta attraverso il dendrite ma questa volta escono dal dendrite nelle zone lontane dallo strato superficiale, mentre entrano nel dendrite nella regione superficiale dove è in atto la sinapsi eccitatoria. Questo è il motivo per cui nella regione extracellulare superficiale (in prossimità della sinapsi) si verifica un aumento di carica negativa.

In realtà questa risulta una forte schematizzazione, in quanto è impossibile registrare il contributo del singolo neurone, a causa dell'ampiezza ridotta del segnale generato e della forte attenuazione che subisce attraversando i vari strati prima di arrivare all'elettrodo. Tuttavia i neuroni piramidali

sono caratterizzati da una organizzazione spaziale coerente, con i dendriti apicali disposti parallelamente gli uni agli altri e perpendicolarmente alla superficie corticale. Questo fa sì che nel caso di una attivazione sincrona i campi elettrici generati dai vari dipoli si possano sommare. Si deve anche notare che popolazioni di neuroni piramidali vicini sono suscettibili di una attivazione sinaptica sincrona in quanto una stessa sorgente corticale o sottocorticale manda le proprie proiezioni sinaptiche a estese popolazioni di neuroni piramidali. L'elevato sincronismo e la disposizione spaziale coerente permettono una somma nello spazio e nel tempo dei potenziali elettrici generati dai singoli dipoli neuronali, generando un segnale registrabile in superficie. Da notare che i neuroni non piramidali presentano dendriti corti e che si diramano in tutte le direzioni attorno al soma, generando potenziali elettrici che si degradano molto rapidamente nello spazio (non si sommano spazialmente e non contribuiscono in maniera significativa con la propria attività sinaptica ai segnali EEG di superficie).

In conclusione, a differenza di come può sembrare i principali segnali rilevati dall'EEG non sono i potenziali d'azione ma le correnti sinaptiche. Questo perché nonostante i potenziali d'azione siano i segnali più ampi generati dai neuroni, hanno durata troppo breve (1-2 ms), unita al fatto che gli assoni scaricano in maniera asincrona; ciò rende impossibile sommare i loro contributi. Al contrario le correnti sinaptiche hanno durata molto maggiore (10-100 ms), per cui è possibile sommare potenziali dovuti all'attività sinaptica anche in assenza di una perfetta sincronizzazione.

1.3 Standard 10-20 di posizionamento degli elettrodi

Lo *standard 10-20* è un sistema di posizionamento degli elettrodi sullo scalpo, valido sia per gli elettrodi a disco che a coppetta. Tale sistema è stato standardizzato nel 1958 e inizialmente è stato proposto per una configurazione a 21 elettrodi (Figura 1.3), ancora tutt'oggi largamente utilizzata nonostante il numero relativamente limitato di elettrodi. Tale sistema utilizza quattro principali punti di repere anatomici: il *nasion* (attaccatura superiore del naso) e *l'inion* (prominenza alla base dell'osso occipitale) che definiscono la linea antero-posteriore e i due *punti preauricolari*, ovvero i meati acustici esterni che definiscono la linea coronale latero-laterale (tratto da [1]). La denominazione *10-20* deriva dal fatto che sono posizionati a distanze pari al 10% e al 20% delle linee ideali che collegano i punti di repere .

Come si nota in figura 1.3 a ogni elettrodo è assegnata una sigla. Le lettere indicano le aree dello scalpo: F (frontale), Fp (frontopolare), C (centrale), T (temporale), P (parietale) e O (occipitale). I numeri sono dispari per il lato sinistro della testa, mentre sono pari per il lato destro. Per la linea centrale viene usata la lettera “z” (vedi figura 1.3).

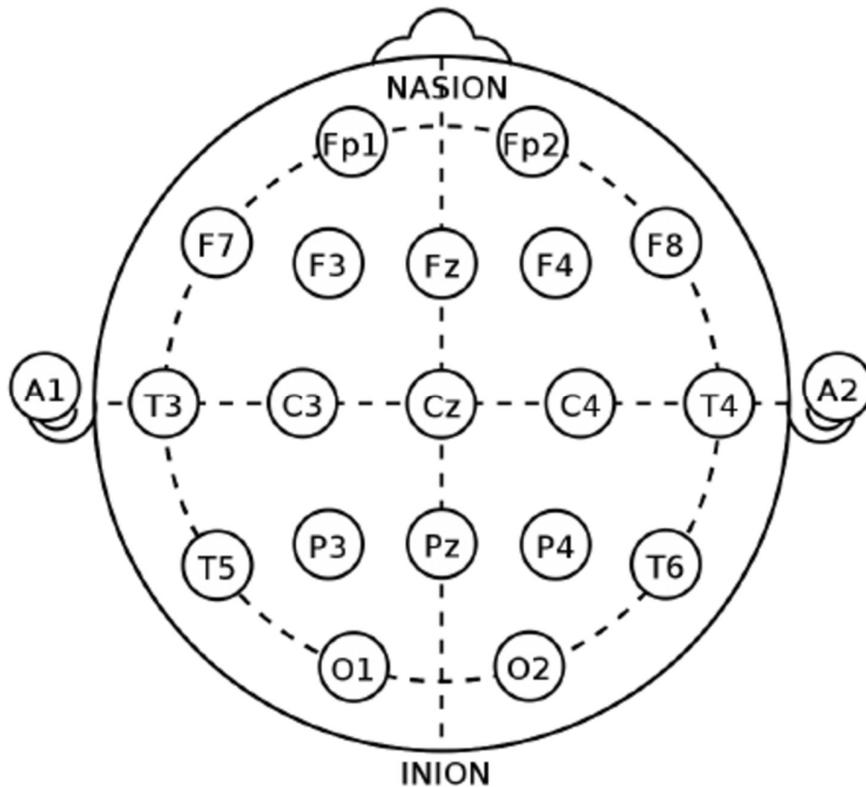


Figura 1.3: Standard 10-20 per il posizionamento di 21 elettrodi [4]

Successivamente sono state proposte delle estensioni del sistema originale, come il sistema 10-10 (figura 1.4) e il sistema 10-5 per aumentare e il numero di elettrodi sullo scalpo. Il sistema 10-10, nato nel 1999, è stato proposto per il posizionamento di 75 elettrodi posizionati su 11 linee sagittali e 9 coronali (figura 1.4).

- *Ritmo Theta*: sono onde con contenuto frequenziale fra i 4Hz e 7Hz e ampiezza fra 20 μ V e 100 μ V. Queste onde sono particolarmente predominanti nelle fasi di addormentamento e di sonno, ma sono presenti anche in stati di veglia e di attività mentale. Sono generalmente localizzate nella regione temporale-parietale, ma anche in quella frontale. E' ormai riconosciuto che tali onde hanno un ruolo importante nei processi di memorizzazione e consolidamento della memoria (processo che si svolge anche durante il sonno) e in compiti cognitivi che richiedono l'interazione e il controllo integrato di varie regioni cerebrali.
- *Ritmo alpha*: il contenuto frequenziale di queste onde è compreso fra i 8Hz e 13Hz e ampiezza fra i 20 μ V e i 50 μ V. Sono predominanti nello stato di veglia ad occhi chiusi. Generalmente si presentano in maniera simmetrica in entrambi gli emisferi, principalmente nei lobi occipitali, e sono particolarmente evidenti ad occhi chiusi. Recentemente il ritmo alpha è stato associato a meccanismi di attenzione; valori elevati di ritmo alpha infatti sembrano svolgere il ruolo di inibire le regioni corticali non coinvolte nello svolgimento di un compito (ovvero regioni task-irrelevant) mentre valori bassi del ritmo alpha faciliterebbero l'elaborazione dell'informazione nelle regioni rilevanti per lo svolgimento del compito (task-relevant region), ovvero l'elaborazione di quella parte di informazione che è al centro dell'attenzione.
- *Ritmo mu*: sono onde con il contenuto in frequenza nella stessa banda del *ritmo alpha* ma si manifestano nella regione centrale, in corrispondenza della corteccia motoria. Contrariamente al *ritmo alpha* non presentano la stessa simmetria, e non si interrompono con l'apertura degli occhi. Le onde *mu* si interrompono quando il soggetto esegue o vede eseguire un atto motorio.
- *Ritmo beta*: onde con il contenuto in frequenza fra i 13Hz e 30Hz e ampiezza tra i 5 μ V e i 30 μ V. Si localizzano principalmente nelle regioni frontali e centrali. Si manifestano principalmente durante un'attività mentale intensa.
- *Ritmo gamma*: onde con contenuto in frequenza maggiore dei 30Hz, tipicamente di ampiezza inferiore ai 20 μ V. Sono principalmente localizzate nelle regioni frontali. Sono associate a fasi di elaborazione attiva e sono evidenziate in azioni cognitive di alto livello, soprattutto quando richiedono l'impiego di zone differenti del cervello (ad esempio riconoscimento di oggetti, oppure recupero di informazioni in memoria).

1.5 Potenziali evocati

In corrispondenza al verificarsi di uno stimolo o evento (sia esso esterno o interno), si verificano delle modificazioni (deflessioni) del segnale EEG; queste modificazioni riflettono la risposta delle varie regioni cerebrali agli stimoli o eventi di qualsiasi natura. Lo studio, e quindi l'analisi di queste deflessioni avviene tramite l'analisi dei potenziali evocati (EP). In questo lavoro, abbiamo considerato la risposta a stimoli sensoriali esterni. L'analisi ERP è una delle principali tecniche per studiare i processi neurali che stanno alla base dell'elaborazione, interpretazione e memorizzazione dell'informazione proveniente dall'esterno.

Prima di cominciare a parlare dei potenziali evocati (EP) bisogna introdurre la *tecnica dell'averaging*. Questa tecnica permette di rilevare le variazioni dell'tracciato EEG evocate da uno stimolo. Infatti, la risposta elettrica cerebrale elicitata da uno stimolo o evento esterno (o anche interno) ha ampiezza molto ridotta (pochi microvolt) rispetto all'attività EEG spontanea o di background (100-200 microvolt). Tale risposta risulta immersa nel segnale EEG di fondo e non distinguibile. In sostanza ci troviamo di fronte al problema di un basso rapporto segnale-rumore (dove il segnale è la risposta evocata dallo stimolo e il rumore è il segnale EEG di fondo). La tecnica dell'averaging consiste nel presentare al soggetto stimoli ripetuti e cadenzati nel tempo durante la registrazione. Il tracciato EEG viene poi scomposto in segmenti (o epoche) sincronizzate con gli eventi di stimolazione e di durata stabilita (che in genere comprende una porzione di tracciato EEG precedente la presentazione dello stimolo e una porzione successiva alla presentazione dello stimolo). Tutti questi segmenti vengono allineati rispetto all'istante di presentazione dello stimolo e poi mediati (dai cui *tecnica dell'averaging*), ottenendo così il potenziale evocato associato a quello specifico stimolo. Questa tecnica ha il vantaggio di aumentare il rapporto segnale/rumore. Infatti, essendo le componenti dell'EEG di fondo casuali e non sincronizzate con lo stimolo mediando un numero molto alto di epoche, le fluttuazioni casuali tenderanno ad elidersi durante il processo di media. Questo discorso vale anche per il rumore dato che è casuale e asincrono per natura. Discorso inverso per quanto riguarda i potenziali evocati, visto che essi tratta di risposte uguali sia in ampiezza che in latenza in ogni epoca, esse si sommeranno in fase. In tal modo si ottiene un segnale in cui il rumore e l'EEG di fondo si sono fortemente attenuati, e che quindi rappresenta principalmente le varie componenti del potenziale evocato [1] (vedi figura 1.5).

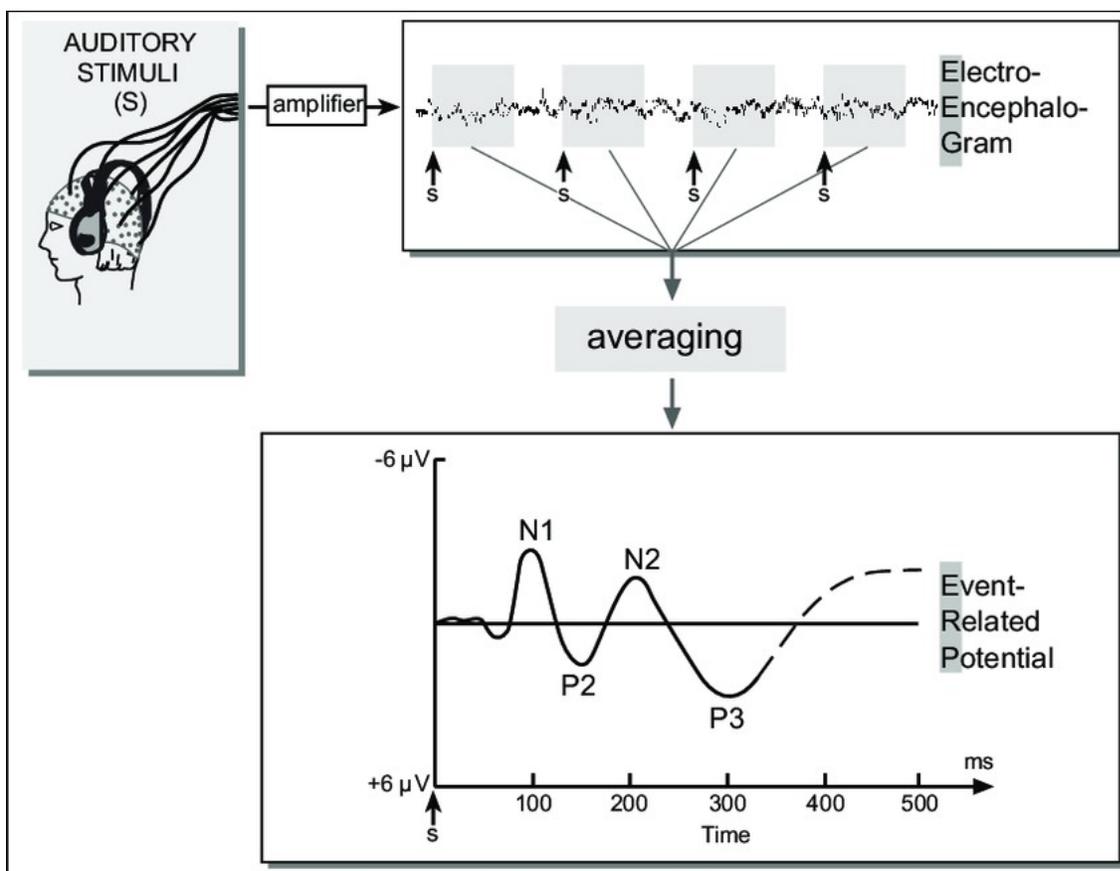


Figura 1.5: Schema della tecnica dell'averaging [6].

I *potenziali evocati* (EP) si presentano sotto forma di una serie di deflessioni del potenziale elettrico, chiamate *componenti*. Solitamente nello studio delle *componenti* si analizzano principalmente: la *polarità del picco* (positivo o negativo, e dipende dalla posizione dell'elettrodo sullo scalpo e dalla distribuzione del campo elettrico), l'*ampiezza*, la *latenza* e la distribuzione spaziale sullo scalpo. Solitamente le *componenti* sono contraddistinte da una lettera che indica la polarità (P o N) e da un numero che rappresenta la latenza in *ms* rispetto all'istante di presentazione dello stimolo.

Inoltre i potenziali evocati si possono distinguere in due principali categorie: *potenziali evocati stimolo-correlati* (*Stimulus Related Potentials* o *SRP*) e *potenziali evocati evento-correlati* (*Event Related Potentials* o *ERP*). Gli *SRP* rappresentano una risposta immediata successiva all'elaborazione dello stimolo. Rappresentano le caratteristiche fisiche dello stimolo e sono risposte obbligate. Gli *ERP* rappresentano una risposta più cognitiva allo stimolo. Riflettono processi collegati con il contenuto informativo e il livello di attenzione del soggetto.

Le principali componenti di studio di questo elaborato sono: *N100*, *N200*, *P300* (vedi figura 1.6). Per la componente *N100* si parla di una componente con polarità negativa che si presenta a circa *100ms-130ms* [1][7] per la risposta a uno stimolo uditivo e a circa *145ms* [1] per uno stimolo visivo. Come verrà illustrato nei risultati di questo elaborato la componente *N1* risulta essere una prima risposta allo stimolo, infatti viene classificata come una componente obbligata associata alla presentazione dello stimolo. Nonostante questo, è influenzata dalle proprietà fisiche dello stimolo. La *N200* è una deflessione negativa che avviene per entrambi i casi a circa *200ms* [1] dalla presentazione dello stimolo. La *N200* si amplifica in corrispondenza alla presentazione di uno stimolo ‘raro’ (discordante) all’interno di una sequenza di stimolo concordi, poiché riflette al suo interno meccanismi di elaborazione pre-attentiva dello stimolo, comprendente processi “involontari di discriminazione fra stimoli diversi. Infatti, da questa componente viene calcolata la Mismatch Negativity (*MMN* o *N2a*) del paradigma Oddball (caratterizzato appunto dalla presentazione di uno stimolo discordante raro all’interno di una sequenza di stimoli concordi) una sorta di ‘detezione’ di discordanza. La *P300* risulta essere un picco positivo che si presenta a circa *300ms* dalla manifestazione dello stimolo. Ha una stretta relazione con il contenuto informativo dello stimolo, dipende dai processi di elaborazione dello stimolo e dall’attenzione posta allo stimolo. Come vedremo successivamente la sua ampiezza e latenza dipendono dalla tipologia di stimolo (in questo elaborato verranno messi a confronto stimoli acustici e visivi).

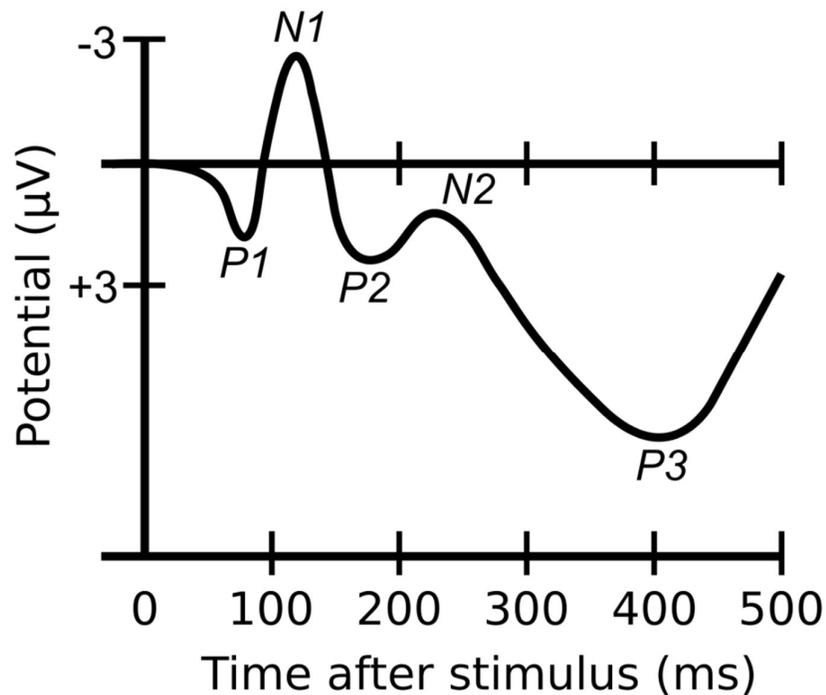


Figura 1.6: Componenti ERP (Event Related Potentials) [8]

In questo lavoro di tesi, le precedenti componenti ERP saranno studiate in relazione a un particolare paradigma detto paradigma oddball, che consiste nel presentare uno stimolo infrequente (target, detto anche *deviant*) interposto all'interno di una serie di stimolo più frequenti (non target, detti anche *standard*). Sono stati utilizzati due diversi paradigmi oddball acustici (che si distinguono per lo stimolo *deviant* più o meno simile allo stimolo standard) e un paradigma oddball visivo e sono state analizzate le componenti *N100*, *MMN* e *P300* in questi tre casi e le loro eventuali differenze infrequenti.

Capitolo 2: Generazione degli stimoli e acquisizione della risposta

2.1 Open BCI

Open BCI nasce come progetto open-source di una *Brain Computer Interface* (BCI). Grazie al loro biosensing system a basso costo, fornisce a chiunque abbia a disposizione un computer la possibilità di acquisire segnali biologici, quali: EEG, ECG (Elettrocardiogramma), EMG (Elettromiografia) [9]. Attualmente questo progetto si è evoluto in una vera e propria community. Il sistema Open BCI usato per questo elaborato è “*Cyton + Daisy Biosensing boards*” (vedi Figura 2.1).

La Open Bci Cyton Board permette di acquisire 8 canali con un processore a 32-bit (Figura 2.1 in

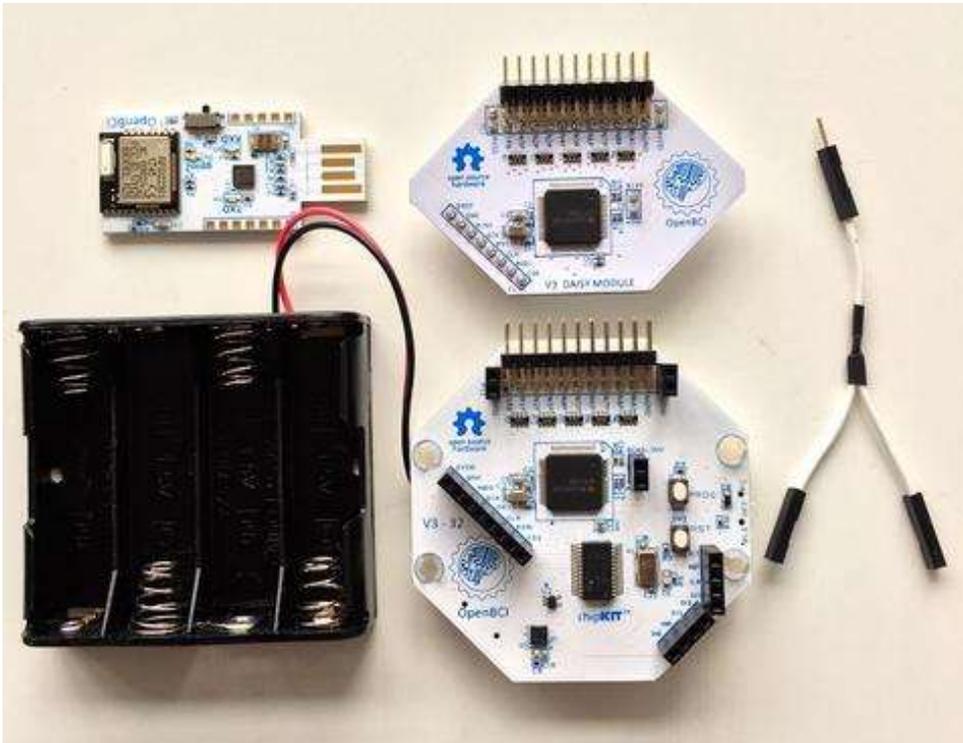


Figura 2.2: configurazione *Cyton + daisy biosensing boards* [10].

basso a destra), unita al modulo Daisy (Figura 2.1 in alto a destra) che a sua volta consente l’acquisizione di 8 canali, permette complessivamente di acquisire fino a 16 canali con una frequenza di campionamento pari a 125Hz [10]. La scheda Cyton presenta in oltre cinque pin GPIO (General Purpose Input/Output) per l’acquisizione o l’invio di segnali digitali. Di questi cinque, tre possono essere utilizzati per l’acquisizione o l’invio di segnali analogici [10]. In questo elaborato uno dei pin GPIO è stato collegato a uno dei pin di una scheda Arduino (che come vedremo dopo è stata utilizzata per generare i segnali, sia di stimolazione per il soggetto, sia il segnale di trigger).

Questo collegamento, come vedremo meglio nel capitolo 3, è stato realizzato per poter acquisire, simultaneamente ai segnali EEG, un segnale di trigger che contrassegnasse, nel segnale EEG continuo, gli istanti di presentazione degli stimoli. Questo è necessario per procedere, a valle della acquisizione, alla suddivisione del segnale EEG in epoche che fossero temporalmente ‘agganciate’ all’istante di presentazione dello stimolo, in modo da poterle allineare rispetto a questo istante e procedere all’applicazione della tecnica dell’averaging per l’estrazione del potenziale evento-correlato

La Open bci cyton permette poi di comunicare i dati via bluetooth a un computer, grazie all’ utilizzo di un comodo “dongle” con attacco usb (Figura 2.1 in alto a sinistra) in combinazione con un software apposito.

La casa produttrice mette a disposizione gratuitamente il proprio software open-source chiamato *Open BCI GUI*. Questo software permette l’acquisizione e la visualizzazione real-time dei dati (Figura 2.2). Il salvataggio dei dati avviene in maniera “RAW” ovvero senza nessun tipo di filtraggio e o elaborazione [11]. Mentre per quanto riguarda la visualizzazione real-time possiamo inserire dei filtri notch e/o bassa-banda. Inoltre, grazie all’abilitazione via software dei pin GPIO

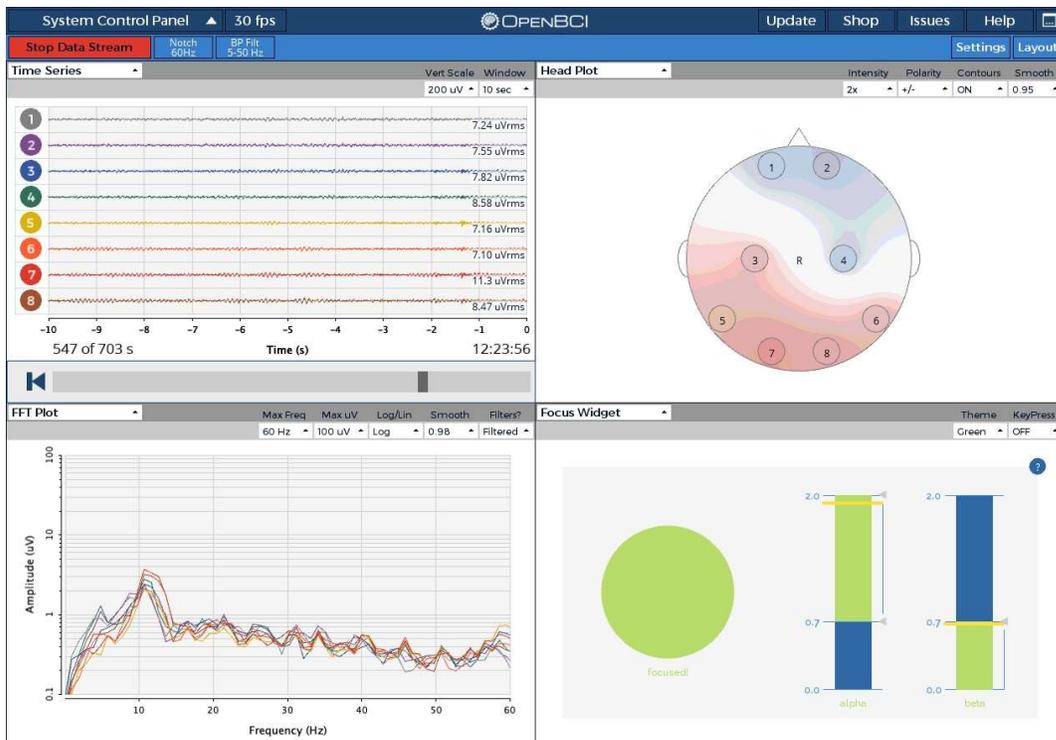


Figura 2.3: Schermata di visualizzazione del software Open BCI GUI durante l’acquisizione di un segnale EEG [11].

all'interno del file salvato saranno presenti anche questi ultimi.

2.2 Configurazione Hardware e Software per la generazione degli stimoli uditivi

Le configurazioni hardware per la generazione degli stimoli, sia uditivi che visivi, sono state realizzate collegando a una scheda Arduino, nello specifico Arduino mega 2560, con un circuito realizzato su breadboard, e programmando la scheda con Arduino Software. Questo è stato realizzato in maniera simile a quanto fatto da un precedente studente e descritto nel suo elaborato di tesi (“Il Potenziale cerebrale P300 evocato da stimoli acustici: acquisizione e analisi”, di Federico Babini). Tuttavia, si noti che in questo elaborato a differenza del precedente (in cui era stato implementato un solo paradigma oddball acustico), qui sono stati realizzati due paradigmi diversi oddball acustico e un paradigma oddball visivo (si veda anche il Capitolo 3). Nel seguito vengono meglio descritte le configurazioni hardware e software per generare gli stimoli.

2.2.1 Configurazione Hardware

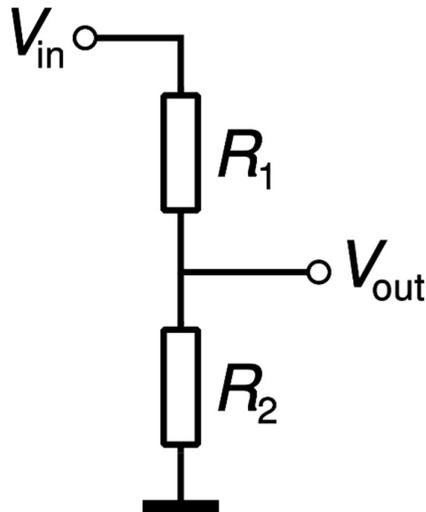


Figura 2.4: Schema di un partitore di tensione [12]. In questo elaborato come V_{in} è stato inserito il pin Arduino, come V_{out} l'altoparlante.

La configurazione hardware per la generazione degli stimoli uditivi è composta principalmente dalla scheda Arduino, un partitore di tensione (realizzato sulla breadbord) e un altoparlante. La scheda Arduino è stata adibita alla generazione del segnale audio, ovvero un segnale ad onda quadra con una frequenza interna al campo delle frequenze udibili (si veda la sezione 2.2.2 relative alle impostazioni software per la generazione del segnale). Il segnale così generato viene inviato a un pin di output della scheda Arduino che genera $5V$ di tensione e $20mA$ di corrente. Il segnale da questo pin di output è portato sulla breadbord, con riferimento allo schema del partitore in Figura 2.3 corrispondente alla V_{in} (tensione di ingresso). Invece la V_{out} (tensione di uscita del partitore) è collegata al polo positivo dell'altoparlante, che ha chiaramente la funzione di emettere suoni. Il polo negativo dell'altoparlante viene collegato a massa. Il partitore di tensione è formato da due resistenze da $47ohm$ ciascuna; questo consente di rispettare alle specifiche tecniche dell'altoparlante. Infatti, essendo le resistenze uguali, avremo nel nodo V_{out} una tensione equivalente alla metà della V_{in} .

2.2.2 Configurazione Software

Sia la generazione degli stimoli uditivi che visivi si basa sul paradigma oddball. Tale paradigma, brevemente, consiste nella presentazione di uno stimolo infrequente (*deviant*) all'interno di una serie di stimoli più frequenti (*standard*) (maggiori dettagli a riguardo verranno forniti nel capitolo 3). Gli stimoli *standard* e *deviant* differiscono fra loro grazie a una differenziazione delle proprietà fisiche dello stimolo. Per cui, la principale funzione del software sarà generare una sequenza di stimoli che segua il paradigma oddball. Questa sequenza dipende principalmente dal numero totale di stimoli ($NTot$), suddiviso fra il numero totale degli stimoli *standard* ($NStand$) e il numero totale degli stimoli *deviant* ($NDev$, che deve essere molto minore di $NStand$). Inoltre, le posizioni degli stimoli *deviant* all'interno della sequenza devono essere generate casualmente. Questo viene implementato a livello software tramite la creazione di un vettore contenente le posizioni degli stimoli *deviant* e di un ciclo software che esegue a intervalli di tempo regolari la presentazione di uno stimolo. Il ciclo software è integrato di un contatore, e quando quest'ultimo raggiunge il valore $NTot$ il ciclo viene arrestato. A ogni ciclo si controlla che il valore del contatore sia uguale a uno dei valori presenti nel vettore contenente le posizioni degli stimoli *deviant*. Per facilitare tale operazione, il vettore viene ordinato in maniera crescente prima dell'inizio del ciclo. Inoltre, è previsto un controllo sulla diversità delle posizioni degli stimoli *deviant*, in modo che non possano esserci due valori uguali all'interno del vettore. Tale vettore verrà poi salvato all'interno di un file per permettere, in fase di elaborazione, la segmentazione in epoche per effettuare la tecnica dell'averaging (questa parte verrà meglio approfondita all'interno del capitolo 3).

La differenziazione delle proprietà fisiche fra uno stimolo uditivo *deviant* e uno *standard*, è data dalla tonalità del suono. Grazie al “MIDI Tuning Standard”, dove MIDI sta per Music Instrument Digital Interface, possiamo associare la tonalità di un suono a una determinata frequenza. Questo grazie a una pratica equazione che lega la frequenza a una determinata tonalità (Equazione 3.1). Quindi, il software genererà, all’interno del ciclo, il suono tramite la creazione di un’onda quadra che varia tra 0 e 5V con duty cycle del 50% e con il contenuto in frequenza scelto in funzione alla tipologia dello stimolo (*standard* o *deviant*).

$$d = 69 + 12 \log_2 \left(\frac{f}{440 \text{ Hz}} \right).$$

Equazione 3.1: MIDI Tuning Standard [13], ‘d’ indica la tonalità del suono e ‘f’ la frequenza. La tonalità corrispondente a f=440Hz è il ‘La’ della quinta ottava che corrisponde a d=69. L’ aumento di un’unità di ‘d’ corrisponde al salire di un semitono nella scala musicale. 12 unità di ‘d’ corrispondono a un’ottava. Es d=69 La quinta ottava, d=70 La# quinta ottava

2.3 Configurazione Hardware e Software per la generazione degli stimoli visivi

2.3.1 Configurazione Hardware

La configurazione hardware per la generazione degli stimoli visivi è composta principalmente dalla scheda Arduino, un led bicolore ad anodo comune (vedi figura 2.4) e una resistenza da *100ohm* posta fra l’anodo del led (punto 2 figura 2.4) e la tensione di alimentazione fornita dalla scheda Arduino (*5V*). Il led bicolore e la resistenza sono posti sulla breadboard. A differenza degli stimoli uditivi i pin utilizzati in questo caso sono due, uno per ogni colore del led (rosso e verde). La scelta di un led bicolore è stata fatta per evitare che il soggetto dovesse spostare lo sguardo tra due led differenti, riducendo l’affidabilità dei dati. Questa considerazione nasce dal rischio di artefatti dovuti ad un eccessivo movimento degli occhi. Inoltre, così facendo abbiamo eliminato il rischio che un soggetto si concentrasse troppo su un led trascurando l’altro. La scelta di una resistenza da *100ohm* è stata fatta per venire incontro alle specifiche sia in tensione (evitando il rischio di bruciatura) che in corrente (evitando il rischio di una scarsa luminosità) del led bicolore.

I pin provenienti dalla scheda Arduino sono stati collegati ai catodi del led bicolore (punti 1 e 3 figura 2.4). Essendo il led ad anodo comune, per poter accendere uno dei due colori bisogna far scorrere corrente dall'anodo verso il catodo (quest'ultimo, ricordiamo essere a tensione di alimentazione pari a 5V). Quindi se vogliamo che restino spenti bisognerà impostare i pin della scheda Arduino su un valore alto, in modo che la differenza fra la tensione di alimentazione e la tensione al catodo risulti inferiore della tensione di soglia del led (tensione minima per l'accensione del led). Viceversa, se vogliamo che uno dei due colori si accenda, il pin corrispondente della scheda Arduino dovrà essere portato al valore basso.

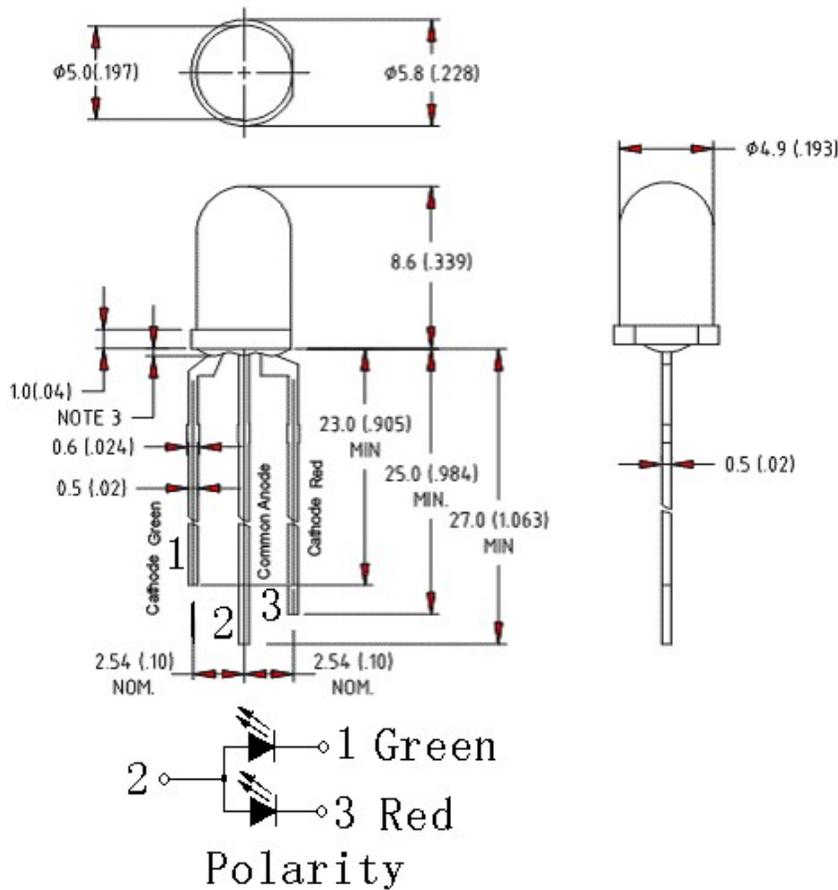


Figura 2.5: Configurazione diodo bicolore ad anodo comune [14].

2.3.2 Configurazione Software

La componente software che gestisce la tempistica di presentazione degli stimoli è analoga al caso precedente, poiché basata anch'essa sul medesimo paradigma oddball.

Contrariamente al caso uditivo, in cui c'era la necessità di variare il contenuto frequenziale dell'onda sonora (nel nostro caso onda quadra), per modificare il tono tra stimolo *deviant* e stimolo *standard*, in questo caso il led bicolore integra in sé il parametro fisico differente (colore rosso e

colore verde). Pertanto, in questo caso basterà mantenere il led del colore desiderato acceso per tutta la durata dello stimolo. Ricordando che per mantenere il led spento è sufficiente mantenere al livello alto il segnale proveniente dal pin corrispondente, ad inizio prova entrambi i pin collegati ai catodi del led verranno settati come alti. Quindi, basterà portare e mantenere al livello basso il segnale del pin corrispondente al colore che vogliamo accendere, per poi riportarlo al livello alto alla fine della durata dello stimolo.

2.4 Configurazione del circuito per l'acquisizione della risposta

Il protocollo sperimentale, come approfondiremo meglio nel capitolo 3, si basa su un paradigma oddball attivo. Ciò implica che quando al soggetto viene presentato uno stimolo deviante quest'ultimo debba svolgere un'azione; nel paradigma impostato, l'azione consiste nel premere un pulsante. Per quanto riguarda l'hardware, il circuito è composto da un pin di interrupt della scheda Arduino, una resistenza e il pulsante (questi ultimi inseriti sulla breadboard). I componenti sono disposti secondo una configurazione di pull-up (Figura 2.5).

Per quanto riguarda la parte software, la pressione del tasto viene gestita come interrupt. Il software memorizza quando è stato premuto il pulsante e alla fine dell'acquisizione salva queste informazioni in un file. Il file è lo stesso in cui vengono salvate le posizioni occupate dagli stimoli devianti all'interno della sequenza complessiva di stimoli presentati.

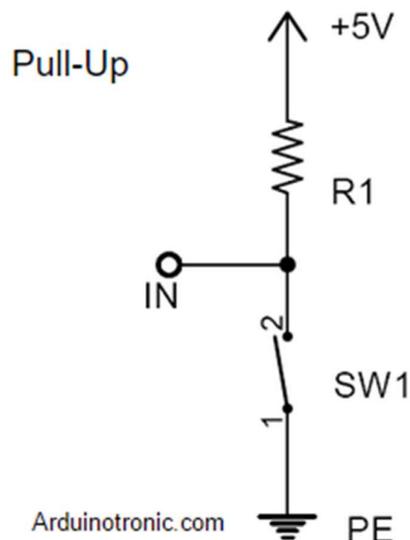


Figura 2.6: Configurazione di pull-up per l'implementazione di un pulsante [15]. SW1 rappresenta il pulsante. IN rappresenta il pin di interrupt di Arduino

Capitolo 3: Protocollo di acquisizione ed elaborazione dati

3.1 Il paradigma oddball

Il paradigma oddball (figura 3.1) un paradigma che consente di evidenziare, non solo componenti di risposta esogene allo stimolo (cioè determinate dalle proprietà fisiche dello stimolo) ma anche le componenti endogene, quelle componenti che oltre a dipendere dalle caratteristiche fisiche dello stimolo dipendono anche da processi cognitivi e dal livello di attenzione del soggetto. Nel nostro caso la componente *P300*. La componente *N100* (più precoce rispetto alle altre), al contrario, riflette principalmente meccanismi esogeni. Il paradigma oddball consiste nel presentare al soggetto due stimoli che differiscono per caratteristiche fisiche. La presentazione degli stimoli avviene tramite una sequenza casuale, eccetto che uno dei due stimoli sarà maggiormente presente e lo chiameremo *standard*; l'altro stimolo sarà quindi meno presente e lo chiameremo *deviant*. Pertanto, all'interno del paradigma avremo serie di stimoli *standard* interrotti dagli stimoli *deviant*. Il protocollo di acquisizione, realizzato in questo studio, come vedremo meglio nel paragrafo successivo, comprende tre acquisizioni di cui, due nel dominio acustico e una nel dominio visivo. Come

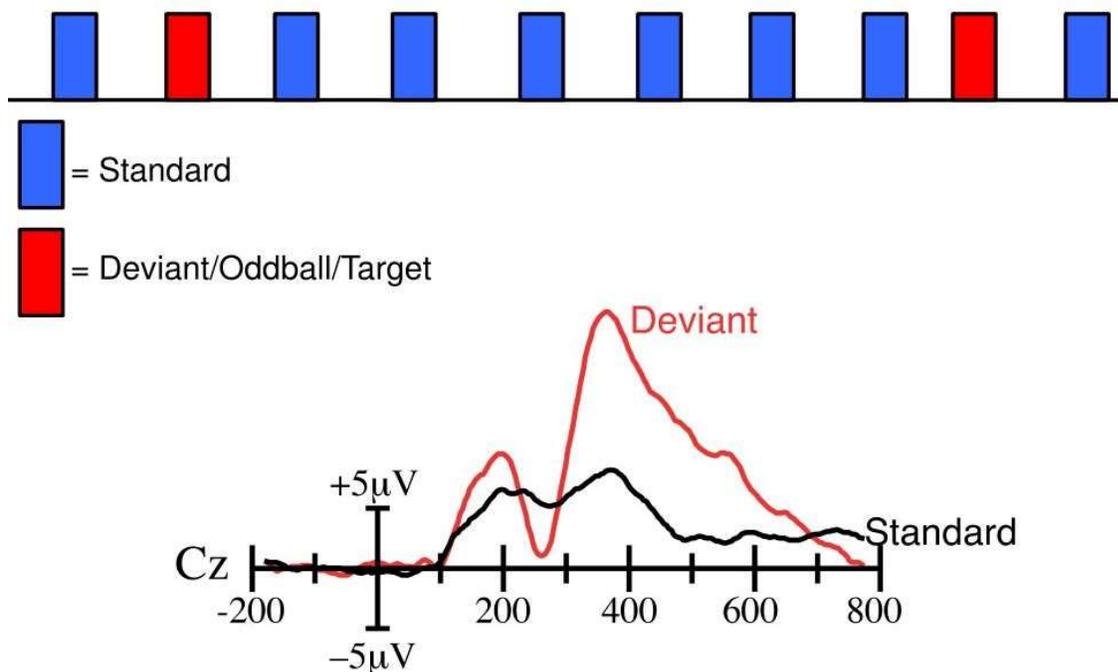


Figura 3.7: Schematizzazione del paradigma oddball [16]

vedremo successivamente, nel dominio acustico, la proprietà fisica che rende differente i due tipi di stimoli è il tono del suono, modificata variando la frequenza dell'onda quadra che genera lo stimolo acustico. Mentre nel dominio visivo la proprietà fisica che rende differente i due stimoli è il colore, modificata facendo variare il colore del led.

I paradigmi oddball possono essere di due principali categorie attivi e passivi. Nei passivi il soggetto si limita a sottoporsi all'ascolto/osservazione degli stimoli in maniera passiva, ovvero senza dover far niente quando si presenta uno stimolo *deviant*. Negli attivi invece, al soggetto sarà chiesto di svolgere un'azione quando gli si presenta uno stimolo *deviant*, nel caso di questo elaborato l'azione consiste nel premere un pulsante. All'interno di questo elaborato sono stati effettuati solo paradigmi oddball attivi poiché le componenti ERP risultano enfatizzate, dato che è presente una maggiore componente di attenzione, come dimostrato da un precedente studente e descritto nel suo elaborato di tesi ("Il Potenziale cerebrale P300 evocato da stimoli acustici: acquisizione e analisi", di Federico Babini).

3.2 Protocollo di acquisizione

3.2.1 Implementazione del paradigma oddball

Come già descritto nel capitolo 2, il paradigma oddball è stato implementato attraverso una parte del software che comanda la scheda Arduino. Questa parte del software ha il compito di generare una sequenza di N_{Tot} (numero totale degli stimoli) stimoli che verranno poi suddivisi in *standard* (N_{Stand} , numero degli stimoli *standard*) e *deviant* (N_{Dev} , numero degli stimoli *deviant*). Ogni stimolo ha una durata di $56ms$.

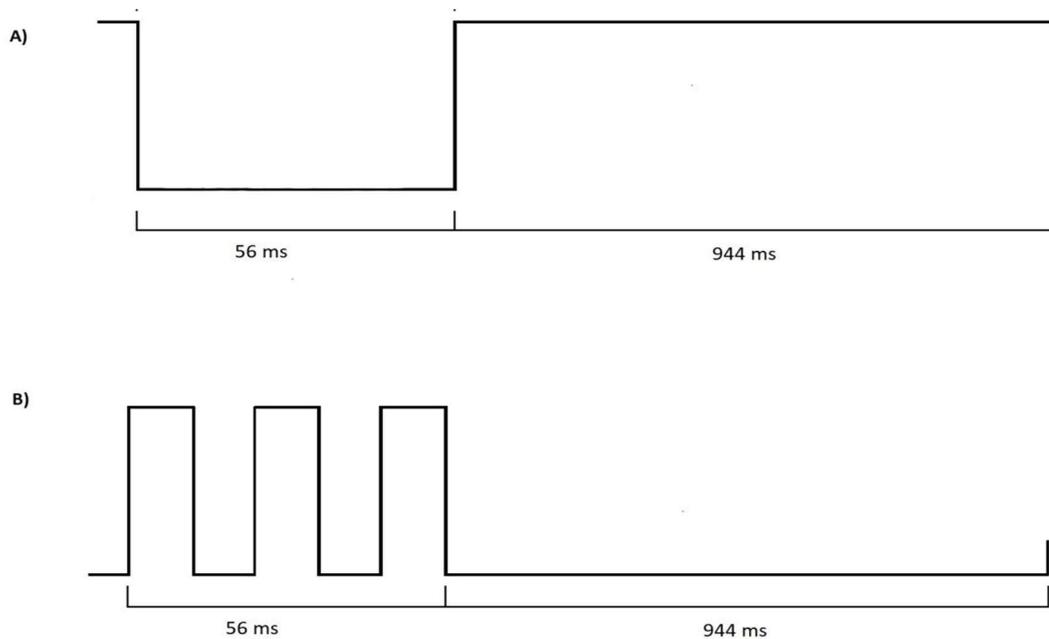


Figura 3.8: Caso A rappresentazione di uno stimolo in un trial visivo (vedi capitolo 2). Caso B rappresentazione di uno stimolo nel caso di un trial acustico (vedi capitolo 2).

CP6, P3, PZ, P4, PO3, PO4 (Figura 3.3 evidenziati in giallo). Sono state scelte queste locazioni di elettrodo, in quanto, in base alla letteratura [7] le onde $N1$ e $N2$ si manifestano in particolare sui canali centrali e centro parietali, nonché su Pz; mentre l'onda P300 si manifesta, oltre che sui canali centrali e centro parietali, anche sui canali parietali e parieto-occipitali [7].

Prima di far indossare la cuffia a ogni partecipante, gli sono stati puliti i lobi delle orecchie tramite dello scrub, per poi agganciarci degli elettrodi con l'aggiunta di gel conduttivo. L'elettrodo ad uno dei lobi funge da ground, mentre l'altro funge da riferimento. Lo scrub e il gel sono stati applicati per ridurre l'impedenza dei lobi al minimo, riducendo un errore che altrimenti si propagherebbe su tutti i canali. Dopo aver fatto indossare la cuffia al soggetto, a ogni elettrodo viene applicato del gel conduttivo. Come descritto nel capitolo 2 i segnali agli elettrodi vengono acquisiti tramite il sistema Open BCI, con frequenza di campionamento di 125Hz.

3.2.3 Partecipanti

All'esperimento hanno partecipato otto soggetti, 6 maschi e 2 femmine, di età compresa fra i ventidue e ventitré anni ($M=22.12$ anni, $SD=0.36$). I soggetti sono tutti studenti universitari. I soggetti erano completamente ignari circa l'esperimento, le fasi in cui era suddiviso e lo scopo dell'esperimento stesso. Nessuno dei soggetti aveva mai avuto in precedenza esperienza di acquisizioni EEG. L'esperimento e le registrazioni EEG sono state effettuate presso il Laboratorio di Ingegneria Biomedica (LIB) del dipartimento di Ingegneria dell'Energia Elettrica e dell'Informazione "Guglielmo Marconi", Università di Bologna, Campus di Cesena.

3.2.4 Struttura dell'esperimento e acquisizione dei segnali

Ogni partecipante è stato sottoposto ad un esperimento costituito da tre differenti prove (corrispondenti a tre acquisizioni separate dei segnali), due di tipo acustico e una di tipo visivo, tutte realizzate secondo un paradigma oddball attivo. La parte attiva del paradigma oddball è data dalla pressione di un pulsante da parte del soggetto ogni volta che gli si presenta uno stimolo *deviant*. Ogni prova dura 400 secondi (poiché è costituita da 400 trial ognuno della durata di 1 secondo). Prima dell'inizio dell'esperimento, il soggetto viene fatto sedere e gli viene detto di cercare di mantenere lo sguardo fermo davanti a sé, muovendosi il meno possibile (a parte il movimento del dito per premere il pulsante di risposta) in modo da ridurre artefatti oculari e da movimento nei segnali EEG. All'inizio di ogni prova al soggetto viene spiegato cosa deve fare (premere il pulsante in corrispondenza allo stimolo *deviant* ovvero target). L'ordine delle tre prove è stato modificato da

soggetto a soggetto, cioè è stato controbilanciato. Questo serve ad evitare di svolgere le prove sempre nello stesso ordine, il che potrebbe far nascere delle variazioni sistematiche nei segnali (da prova a prova) che non riflettono differenze legate ai tipi di stimoli, ma processi diversi quali ad es. affaticamento. Le tre prove su uno stesso soggetto sono state effettuate nella stessa giornata una di seguito all'altra, distaccate solo da brevi pause per riapplicare il gel agli elettrodi e configurare l'acquisizione successiva (durante queste pause il soggetto si rilassa ed è libero di muoversi pur rimanendo seduto). Come detto in precedenza nel capitolo 2, per le acquisizioni di tipo acustico si è utilizzato il "MIDI Tuning standard" per associare le tonalità (d) alle varie frequenze (f). Per gli stimoli *standard* di entrambe le prove acustiche è stato utilizzato il Do della quinta ottava ($f=261\text{Hz}$ e $d=60$). La prima prova acustica, che chiameremo "acustico facile", è stata pensata per avere una grande differenza di tonalità fra gli stimoli *deviant* e *standard*. In questo caso è stato utilizzato per gli stimoli *deviant* il Do della settima ottava ($f=1016\text{Hz}$ e $d=84$). Mentre la seconda prova acustica, che chiameremo "acustico difficile", è stata pensata per avere una piccola discrepanza fra i suoni. Per cui in questo caso, è stato utilizzato per gli stimoli *deviant* il Re della quinta ottava ($f=294\text{Hz}$ e $d=62$). Invece nella prova visiva la differenza degli stimoli sta nella colorazione del led, rosso per i *deviant* e verde per gli *standard*. Pertanto, nelle prove acustiche il soggetto deve premere il pulsante in corrispondenza al suono più acuto (stimolo *deviant*), mentre nella prova visiva il soggetto deve premere il pulsante in corrispondenza al colore rosso (stimolo *deviant*).

Durante ciascuna delle tre prove vengono acquisiti i 12 segnali EEG in corrispondenza agli elettrodi precedentemente indicati, mediante un'acquisizione continua. Inoltre, come anticipato nel Capitolo 2, per l'analisi dei potenziali evocati, è indispensabile l'acquisizione di un trigger, sincronizzato all'EEG, che permetta di segmentare (off line) il segnale continuo acquisito in epoche e quindi allinearle rispetto allo stesso evento in ciascuna epoca. Per questo motivo è stato necessario generare e acquisire un segnale di trigger. Il segnale di trigger è stato generato mediante la stessa piattaforma Arduino usata per generare gli stimoli acustici e visivi. A tale scopo, un segnale digitale (cioè che assume solo due livelli) viene generato in modo tale da portarsi al livello alto in corrispondenza alla presentazione dello stimolo, sia esso visivo o acustico (quindi il segnale trigger resta al livello alto per 56ms) e si riporta a livello basso al momento di rilascio dello stimolo (quindi il segnale di trigger resta al livello basso per 944ms) (vedi figura 3.4). Tale segnale viene prelevato da un piedino della scheda Arduino e portato in ingresso ad uno dei pin GPIO della scheda OpenBCI, in particolare come pin di ingresso del segnale di trigger della scheda OpenBCI è stato usato il pin D11. Pertanto, oltre ai 12 segnali EEG, viene acquisito anche il segnale corrispondente al pin D11 della scheda OpenBCI che corrisponde al segnale di trigger. Per la segmentazione offline

del segnale EEG continuo in epoche, si utilizza il fronte di salita del segnale di trigger, che corrisponde all'istante iniziale di presentazione dello stimolo (si veda anche il paragrafo 3.3.1).

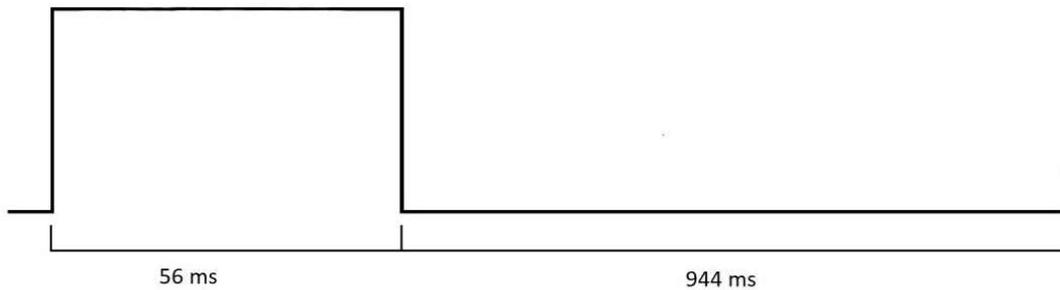


Figura 3.10: Rappresentazione del segnale trigger in relazione all'epoca.

Si noti che è stata fatta un'acquisizione separata per ogni prova, cioè l'acquisizione inizia e termina in corrispondenza all'inizio e alla fine di ogni prova (durante le pause l'acquisizione è interrotta). Al termine di ciascuna acquisizione, i segnali acquisiti (EEG + trigger) alla frequenza di campionamento di 125 Hz sono salvati, dal software OpenBCI, in formato txt (dove le righe corrispondono agli istanti di campionamento e le colonne ai segnali). Pertanto, per ciascun soggetto che è stato sottoposto all'esperimento, sono stati acquisiti tre tracciati EEG (+ segnale di trigger), a cui corrispondono tre file txt. Oltre al segnale txt, per ciascuna prova viene salvato un file aggiuntivo che contiene la posizione degli stimoli deviant all'interno della serie di stimoli standard, come spiegato meglio nel capitolo 2. Questo è fondamentale per separare epoche corrispondenti a stimoli standard ('epoche standard') ed epoche corrispondenti a stimoli devianti ('epoche devianti').

3.3 Elaborazione dei segnali

Per ciascun soggetto e per ciascuna delle tre prove, l'elaborazione dei segnali consiste nei passi descritti nei paragrafi da 3.3.1 a 3.3.3. Infine, viene descritta come è stata ottenuta, per ciascuna delle tre prove, la Grand Average sui vari soggetti. L'elaborazione dei segnali è stata effettuata tramite l'utilizzo di script MATLAB.

3.3.1 Filtraggio

Lo script carica innanzitutto il file .txt relativa al soggetto e alla prova in esame e seleziona le colonne degli elettrodi acquisiti e del pin D11 (infatti il segnale txt contiene anche colonne corrispondenti a ingressi della scheda OpenBCI a cui non è stato portato alcun segnale), salvando in una variabile i segnali EEG e in una variabile separata il segnale di trigger. Dato che, come detto in precedenza nel capitolo 2, i dati salvati dal software OpenBCI sono privi di ogni filtraggio, cioè sono segnali “raw”, la prima operazione dello script sarà filtrare i dati EEG. Questo avviene grazie a un filtro passa-banda fra i 0.2Hz e i 20Hz (eliminando la banda sotto ai 0.1Hz e sopra i 30Hz). Si è deciso di utilizzare questo tipo di filtraggio perché la maggior parte del contenuto informativo cerebrale si trova al di sotto dei 40Hz . In particolare, i contenuti spettrali delle componenti ERP ricadono principalmente nelle bande *delta* ($0.5\text{-}4\text{Hz}$), *theta* ($4\text{-}8\text{Hz}$) e *alpha* ($8\text{-}13\text{Hz}$). Il limite inferiore di 0.2Hz è stato inserito per poter rimuovere le derive lente del segnale EEG. A titolo di esempio, nella figura 3.5 vengono mostrati i segnali EEG ottenuti sul soggetto 1 durante la prova visiva, successivamente al filtraggio.

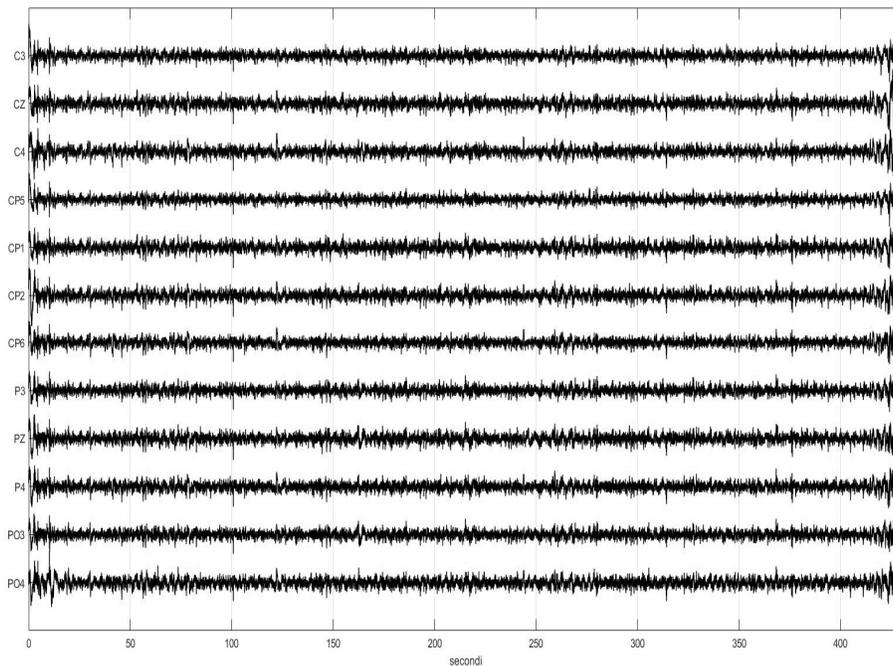


Figura 3.5: Segnali EEG successivi alla fase di filtraggio

3.3.2 Segmentazione in epoche e averaging

Come indicato precedentemente, all’interno del file txt contenente i segnali EEG viene salvato anche il segnale trigger, che dopo aver caricato il segnale txt viene salvato in una variabile dedicata.

Come detto precedente, il segnale di trigger passa dal livello basso al livello alto all'inizio della presentazione dello stimolo, si mantiene alto per tutta la durata dello stimolo, e ritorno al valore basso quando lo stimolo scompare. Questo ci permette a livello software di individuare gli istanti di tempo in corrispondenza al fronte di salita del trigger, individuando così gli istanti di presentazione dello stimolo corrispondenti al tracciato EEG. Per cui, sarà sufficiente estrarre i 13 campioni ($100ms$) precedenti alla presentazione dello stimolo e i successivi 88 ($700ms$). Per creare un'epoca che va da $-100ms$ a $700ms$ dalla presentazione dello stimolo (lo zero corrisponde alla presentazione dello stimolo). Questo processo avviene per ognuno dei 400 stimoli. La distinzione fra stimoli *deviant* (75 stimoli) e *standard* (325 stimoli) avviene grazie al vettore contenente le posizioni degli stimoli *deviant* all'interno della sequenza dei 400 stimoli.

Tale vettore infatti, come descritto nel capitolo 2, è salvato all'interno di un file che verrà poi letto dallo script MATLAB. Successivamente, su ogni epoca viene effettuato un controllo per individuare se sono presenti disturbi troppo elevati. Questo controllo consiste nel verificare che nessun valore di un qualsiasi canale abbia valore assoluto maggiore di $100\mu V$. Se così non fosse l'intera epoca verrebbe eliminata. Prima di procedere con la media, come vuole la *tecnica*

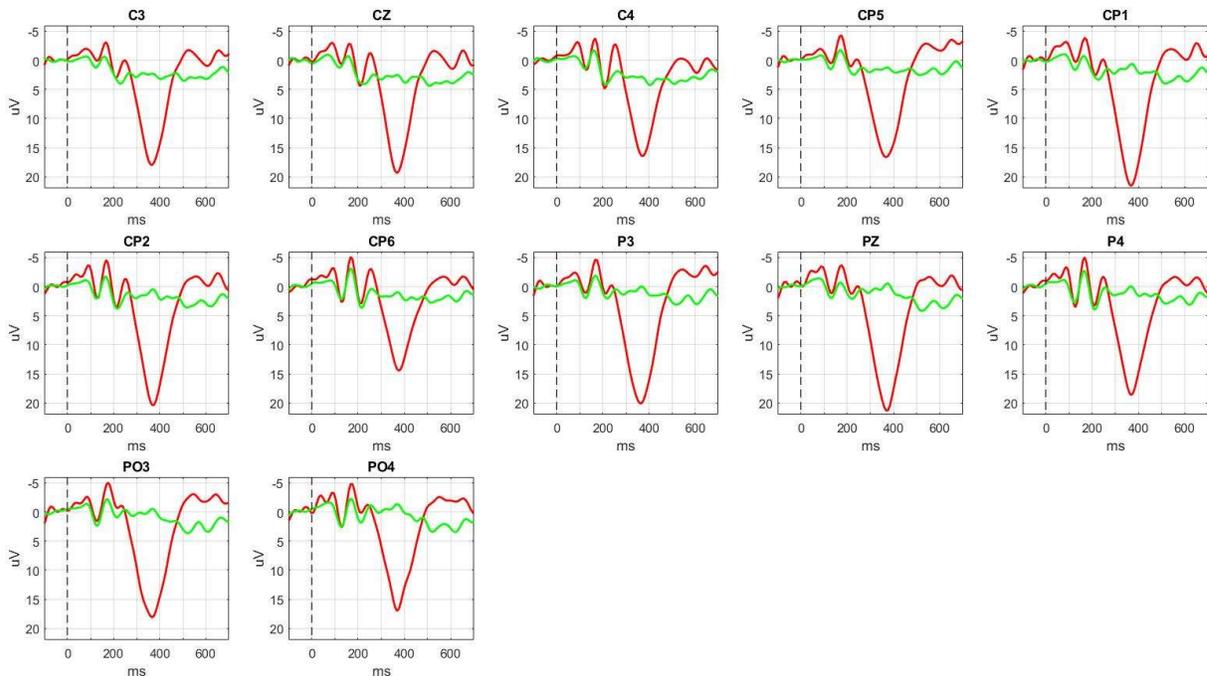


Figura 3.6: Segnali ERP sui 12 canali ottenuti tramite la tecnica dell'averaging.

dell'averaging (spiegata nel capitolo 1), alle epoche non rimosse viene applicata la *baseline correction*. La *baseline correction* viene applicata a ciascuna epoca e consiste nel rimuovere a ciascun canale EEG il valor medio durante l'intervallo pre-stimolo (da $-100ms$ a $0ms$). Effettuato

ciò le epoche vengono mediate ottenendo così gli ERP grazie alla *tecnica dell'averaging*. Dagli ERP così ottenuti è possibile osservare (se presenti) le componenti di interesse ed estrarre le loro caratteristiche. A titolo di esempio, qui vengono mostrati gli ERP ottenuti dopo i passi di elaborazione indicati, relativamente alla prova visiva per il soggetto 1 (vedi figura 3.6). Infine, per ogni soggetto e per ogni prova, vengono salvati in un file i segnali ERP derivanti dalla tecnica dell'averaging (successivamente utilizzati per il calcolo della Grand Average, si veda 3.3.4).

3.3.3 Estrapolazione delle caratteristiche delle componenti ERP su ciascun soggetto

L'estrapolazione delle caratteristiche delle componenti ERP di interesse (ampiezza e latenza rispetto alla presentazione dello stimolo) avviene grazie alla ricerca di un picco positivo (massimo) o negativo (minimo), nei segnali ERP ottenuti con la *tecnica dell'averaging* (o in segnali da essi derivanti), all'interno di intervallo congrui a quelli spiegati nel capitolo 1. Le componenti principali di questo elaborato sono: *N100*, *MMN* (Mismatch Negativity) e *P300*. L'estrapolazione del *N100* differisce fra le prove acustiche e la prova visiva. Poiché, come descritto nel capitolo 1, gli intervalli di manifestazione di questa componente differiscono fra la risposta di uno stimolo acustico e uno visivo. Pertanto, l'estrapolazione delle caratteristiche della componente *N100* avviene tramite la ricerca di un minimo nel range di *80-120ms* post-stimolo per la risposta agli stimoli acustici, e *100-200ms* post-stimolo per la risposta agli stimoli visivi. La *MMN* o *N2a* si evidenzia nel segnale ottenuto dalla differenza tra l'ERP relativo alle epoche deviant e l'ERP relativo alle epoche standard. Viene identificata come la maggiore differenza fra la risposta a uno stimolo *deviant* e la risposta a uno stimolo *standard* nel range temporale *100-300ms* ([risposta *deviant* – risposta *standard*] nel range *100-300ms* = *MMN*, si tratta di un picco negativo). Le caratteristiche della componente *P300* vengono estrapolate trovando il massimo nel range temporale *250-500ms*. Le caratteristiche di queste tre componenti ERP vengono estratte per ciascuno dei 12 elettrodi acquisiti, sia per gli ERP *standard* che per gli ERP *deviant* (per quanto riguarda *N100*, la *P300* solo per i *deviant*, mentre la *MMN* deriva già dalla differenza tra i due). Infine, per ogni soggetto e per ogni prova, le caratteristiche delle componenti così estrapolate vengono salvate all'interno di un per essere successivamente mediate tra soggetti e visualizzate (si veda 3.3.4).

3.3.4 Script per il calcolo delle Grand Average

Lo script Grand Average ha il compito di svolgere semplici operazioni di media e deviazione standard sui risultati derivanti dalle elaborazioni precedenti (ERP e caratteristiche delle componenti), ottenuti per ogni soggetto e per ogni prova. Infatti, questo script medierà i dati già elaborati ottenuti dai singoli soggetti (tramite i file salvati descritti precedentemente), mediando

separatamente le risposte ERP in base allo stimolo che le ha generate (*standard* e *deviant* rispettivamente per acustico facile, acustico difficile, visivo). Per cui alla fine dello svolgimento dello script otterremo i segnali Grand Average ERP (derivanti dalle medie delle risposte dei singoli soggetti) in sei condizioni, tre di queste relative agli stimoli *standard* in ciascuna delle tre prove (acustico facile, acustico difficile, visivo) e tre sono relative agli stimoli *deviant* in ciascuna delle tre prove. Questo permette una visualizzazione grafica più significativa in quanto permette di visualizzare la presenza di trend comuni alla popolazione. Per tanto, i grafici che verranno mostrati nei risultati (capitolo 4) deriveranno principalmente da questo script. Inoltre, i risultati relativi alle caratteristiche di ampiezza e latenza di ciascuna delle tre componenti ERP di interesse (*N100*, *MMN*, *P300*) calcolate separatamente in ciascun soggetto, verranno mediate tra soggetti. I valori medi risultanti (uno per canale EEG) verranno visualizzati insieme alla loro deviazione standard; tali valori medi e di deviazione standard saranno relativi a 6 condizioni diverse (risposta standard e risposta deviante nelle tre prove acustico facile, acustico difficile, visivo) per quanto riguarda *N100*, 3 condizioni per la *P300* (risposta deviante nelle tre prove acustico facile, acustico difficile, visivo), e a 3 condizioni (acustico facile, acustico difficile, visivo) per quanto riguarda la *MMN*.

Capitolo 4: Visualizzazione ed analisi dei potenziali evocati ottenuti nei tre paradigmi oddball

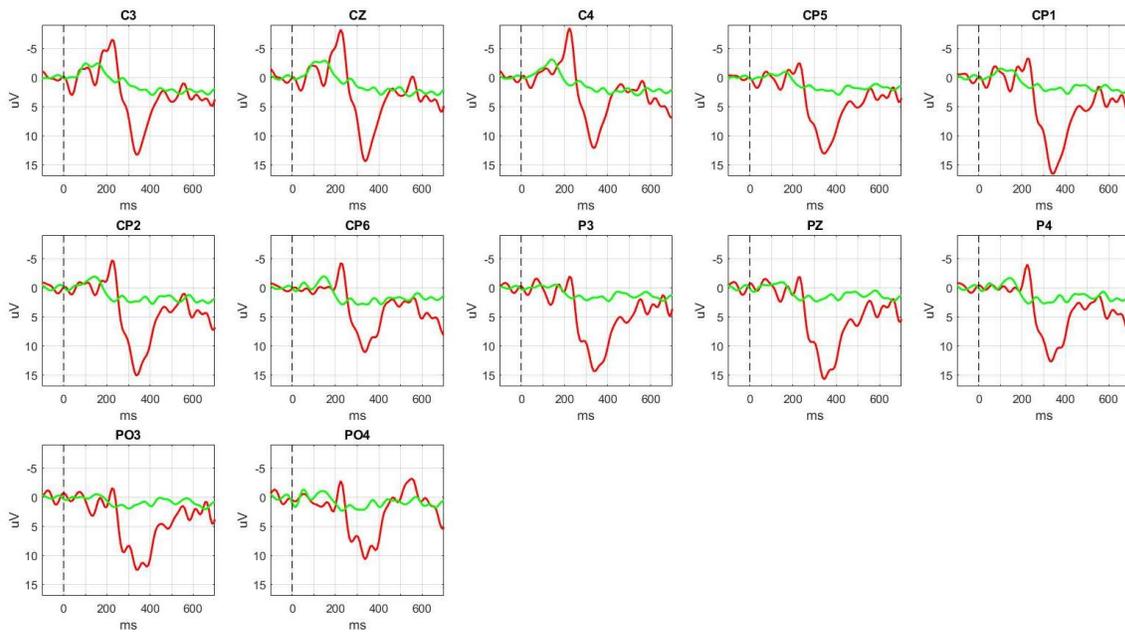
Il presente capitolo illustra i potenziali evocati ottenuti tramite il protocollo realizzato sperimentalmente. Come descritto precedentemente il protocollo (paradigma oddball) è finalizzato ad evidenziare le componenti non solo esogene ma anche endogene dei segnali ERP. Tali componenti hanno la caratteristica principale di variare non solo in base alle caratteristiche fisiche dello stimolo ma anche in base al grado di attenzione posta dal soggetto. La finalità dell'elaborato è mettere a confronto le componenti generate da stimoli di differenti caratteristiche fisiche. Questo avviene, come descritto meglio nel capitolo 3, tramite tre acquisizioni che si basano su tre paradigmi di oddball attivi differenti (“acustico facile”, “acustico difficile”, “visivo”).

Le principali componenti che prendiamo in esame, come detto precedentemente nel capitolo 3, sono: *N100*, *MMN* (Mismatch Negativity, derivante dalla componente *N200*), *P300*. Dalla componente *N100*, come detto in precedenza nel capitolo 1, essendo una componente principalmente esogena ci si aspetta una forte similitudine fra la risposta agli stimoli *deviant* e *standard* all'interno dello stesso paradigma oddball. Ci si aspetta invece una differenza di *N100* al variare della natura dello stimolo utilizzato, in particolare ci si aspetta una differenziazione temporale (cioè diversa latenza di *N100*) fra la risposta agli stimoli di natura acustica e di natura visiva, come descritto nel capitolo 1. Per quanto riguarda la componente *MMN*, elicitata da un cambiamento percettibile nelle proprietà di uno stimolo discordante in una sequenza di stimoli uguali, ci si aspetta una differenziazione in ampiezza fra le tre prove, che riflette una maggiore/minore discordanza tra gli stimolo *standard* e *deviant* utilizzati. Dalla componente *P300*, essendo una componente endogena (legata a processi di più alto livello di riconoscimento e codifica dello stimolo, nonché a processi attentivi), ci si aspetta una forte differenziazione sia in ampiezza che in latenza, derivanti dall'elaborazione che segue la distinzione fra uno stimolo *standard* e *deviant* nelle tre acquisizioni. Nel seguito, per ciascuno dei tre paradigmi esaminati vengono dapprima riportati i potenziali evocati ottenuti in ciascuno soggetto, quindi viene mostrata la grand average degli ERP su tutti i soggetti, e le caratteristiche di ampiezza e latenza di *N100* (sia per *standard* che *deviant*), di ampiezza e latenza della *MMN* e di ampiezza e latenza della *P300* (solo per *deviant*). Nella parte finale del capitolo, vengono confrontate le caratteristiche delle tre componenti tra i tre paradigmi

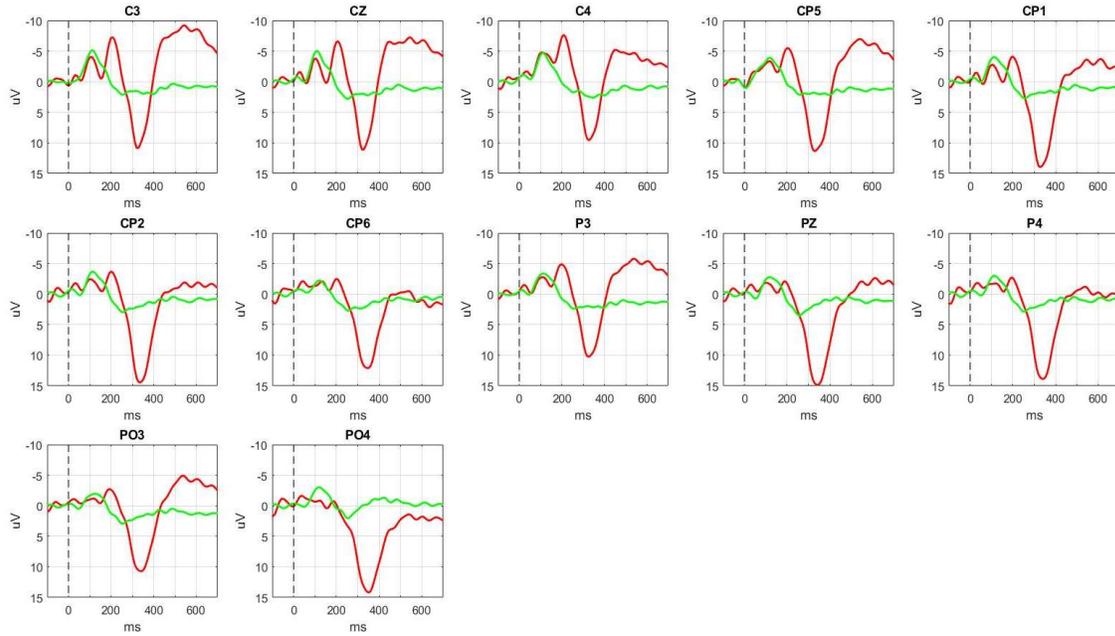
4.1 Potenziali evocati ottenuti col paradigma oddball “acustico facile”

Come detto precedentemente nel capitolo 3, il protocollo di paradigma oddball uditivo su cui si basa questa acquisizione è pensato per avere una grande differenza fra le tonalità che contraddistinguono gli stimoli *standard* e *deviant*. Di seguito vengono mostrate i segnali ERP di ogni soggetto. In verde è riportata la risposta agli stimoli *standard* e in rosso agli stimoli *deviant*.

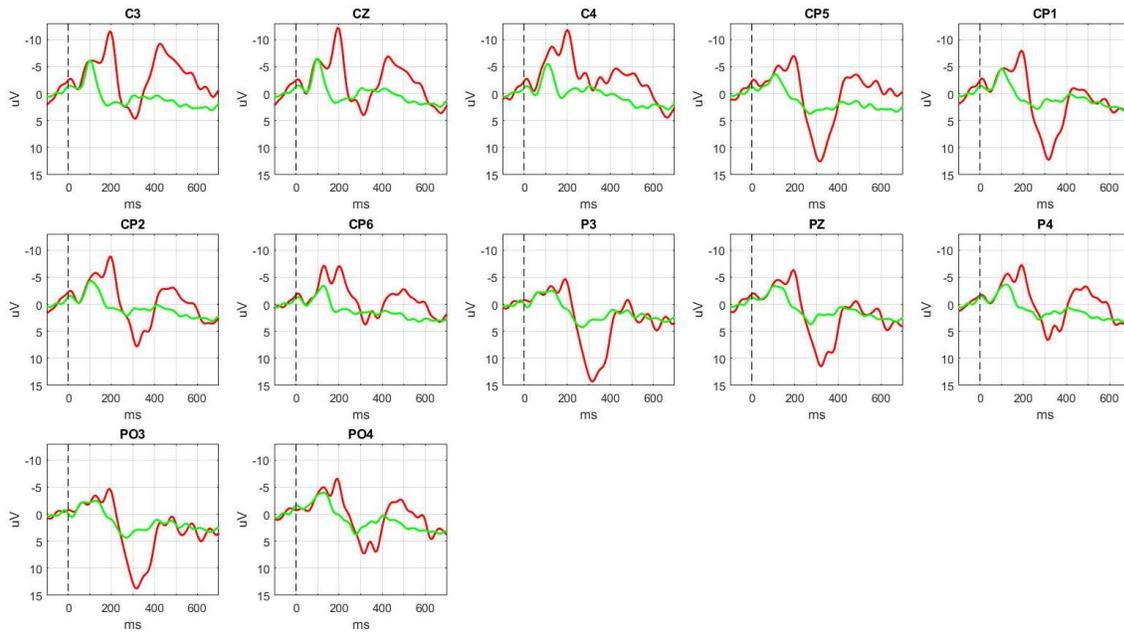
Soggetto-1



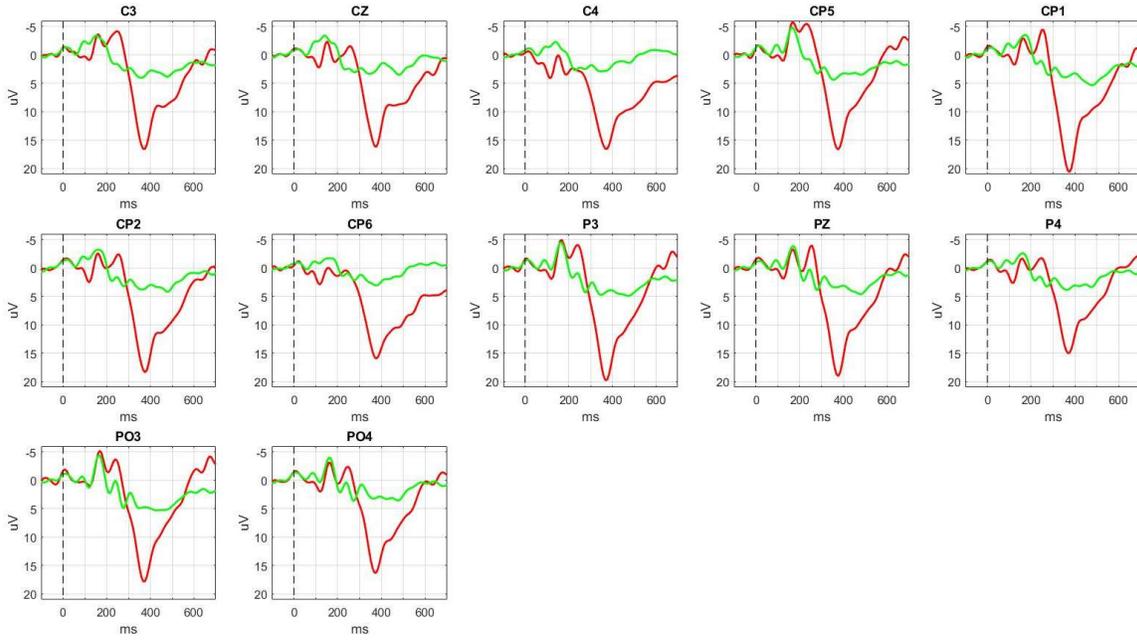
Soggetto-2



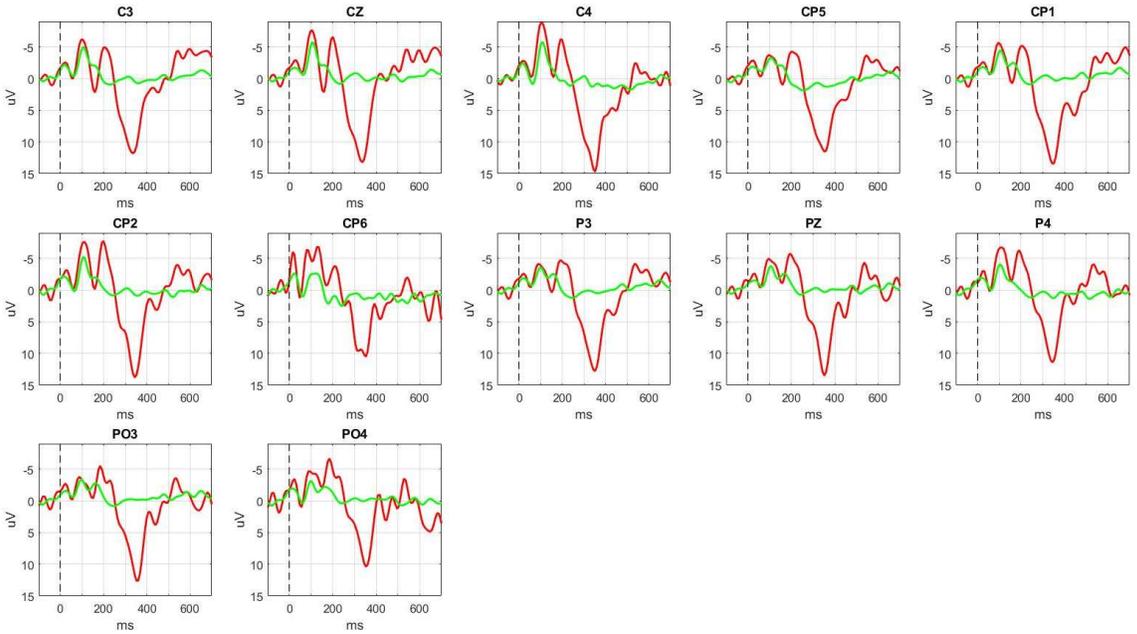
Soggetto-3



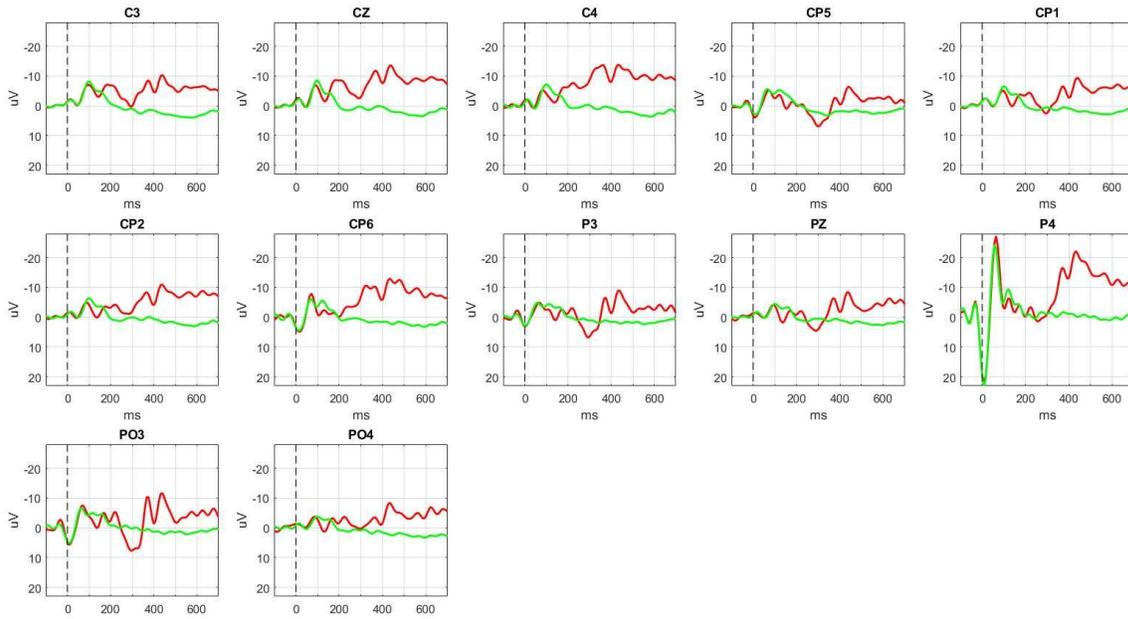
Soggetto-4



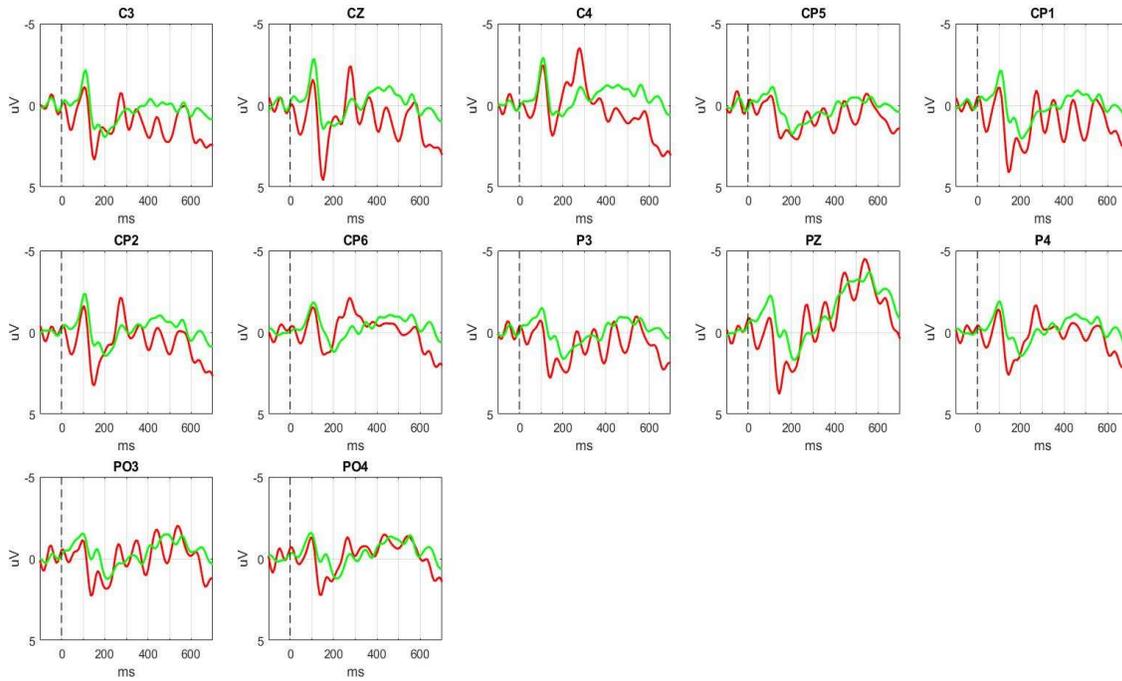
Soggetto-5



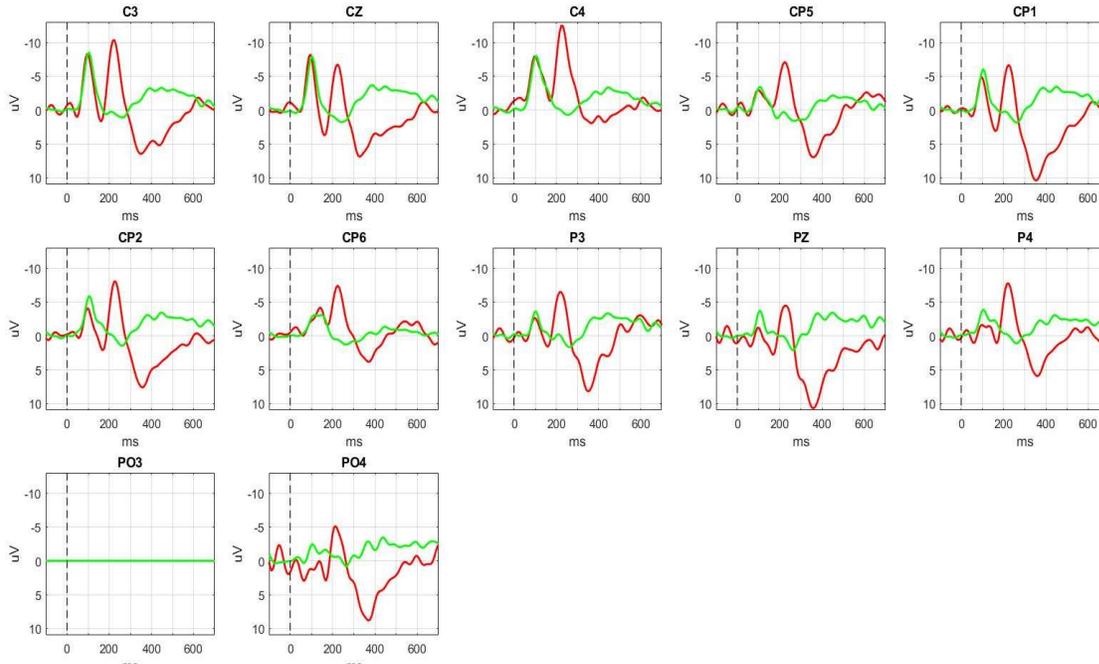
Soggetto-6



Soggetto-7



Soggetto-8



Osservando i grafici precedenti, si nota che alcuni soggetti mostrano ERP più puliti, cioè in cui emergono più chiaramente le componenti *N100*, *MMN* e *P300* (ad es il soggetto 3 e il soggetto 5, almeno per alcuni elettrodi) mentre altri hanno andamenti più rumorosi. Questa considerazione è valida anche per gli altri paradigmi analizzati. Il canale PO3 del soggetto-8 non è stato utilizzato per il calcolo della Grand Average per problemi durante l'acquisizione.

Di seguito vengono mostrate (Figure 4.1.1) le risposte agli stimoli *standard* (verde) e *deviant* (rosso) ottenute mediando le risposte dei singoli soggetti tramite lo script "Grand Average" (vedi capitolo 3). Da questa prima visualizzazione si può notare una somiglianza fra la componente *N1* nella risposta agli stimoli *standard* (verde) e *deviant* (rosso).

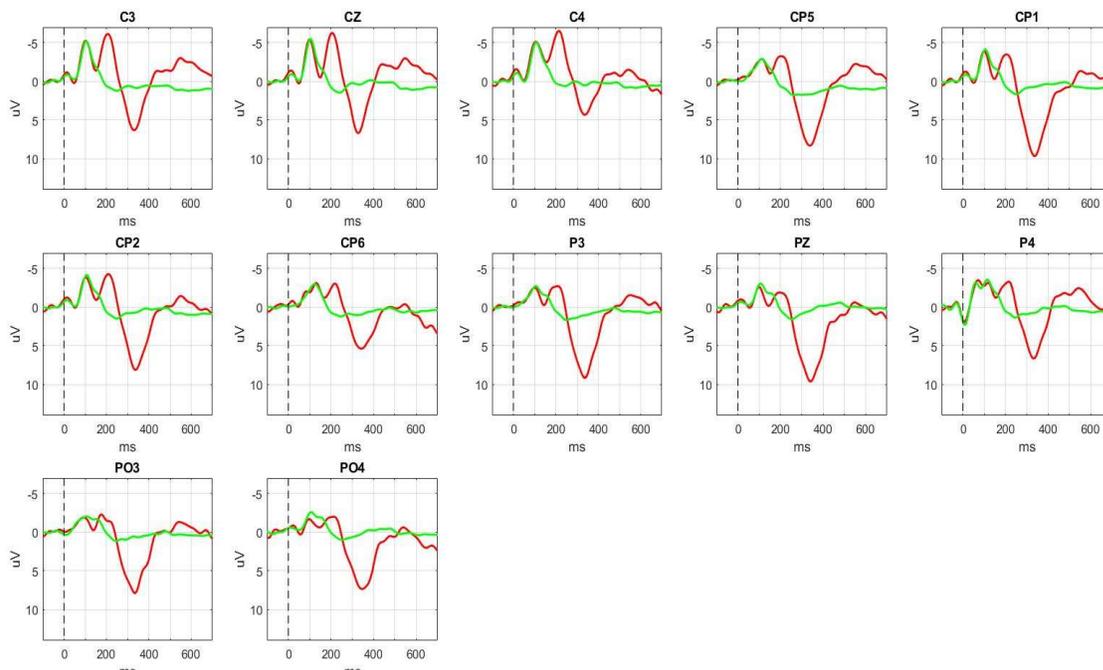


Figura 4.1.1: ERP Grand Average (ERP mediati su tutti i soggetti) ottenuti con il paradigma oddball "acustico facile". In verde le risposte agli stimoli standard e in rosso le risposte agli stimoli deviant.

L'analisi della componente *N100* viene meglio approfondita nelle figure 4.1.2 e 4.1.3, dove vengono messe a confronto le ampiezze e le latenze delle componenti *N100* generate dalle risposte agli stimoli *standard* (rosso) e quelle generate dagli stimoli *deviant* (blu). Si osserva che mentre l'ampiezza rimane simile nei due stimoli in tutti gli elettrodi, questo non si può dire per la latenza che risulta inferiore per lo stimolo *deviant* rispetto allo stimolo *standard*.

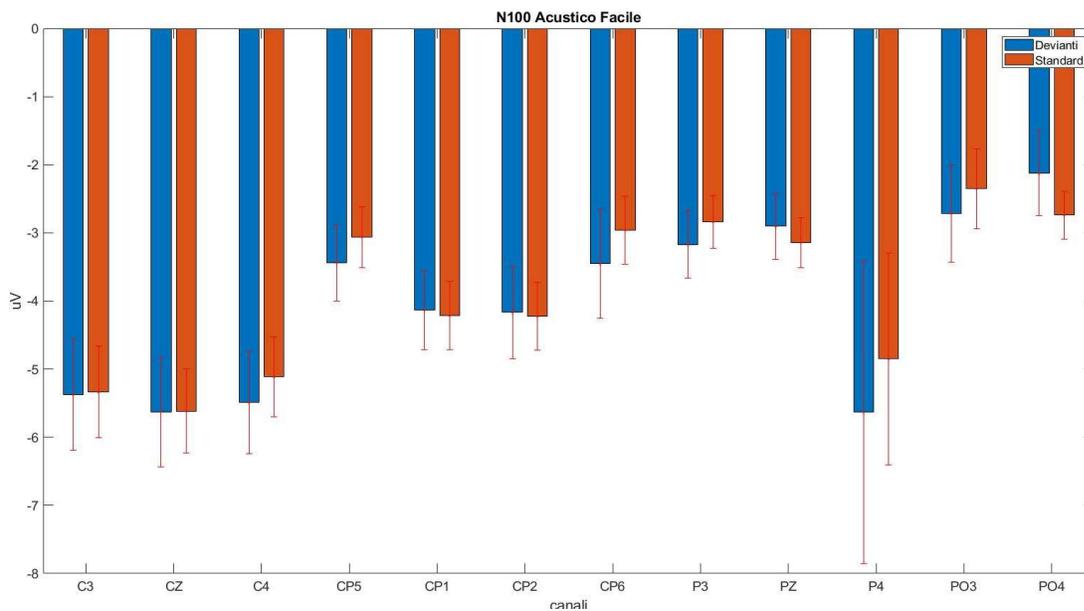


Figura 4.1.2: Confronto ampiezze N100 (medie su tutti i soggetti) fra risposte agli stimoli deviant (blu) e standard (rosso). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

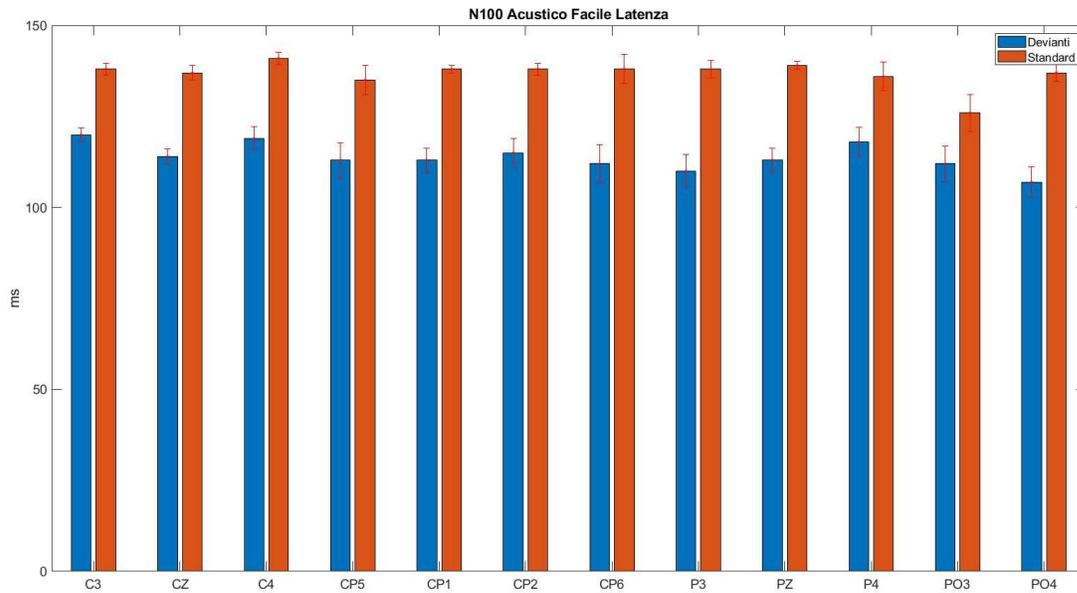


Figura 4.1.3: Confronto latenze N100 (medie su tutti i soggetti) fra risposte agli stimoli deviant (blu) e standard (rosso). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

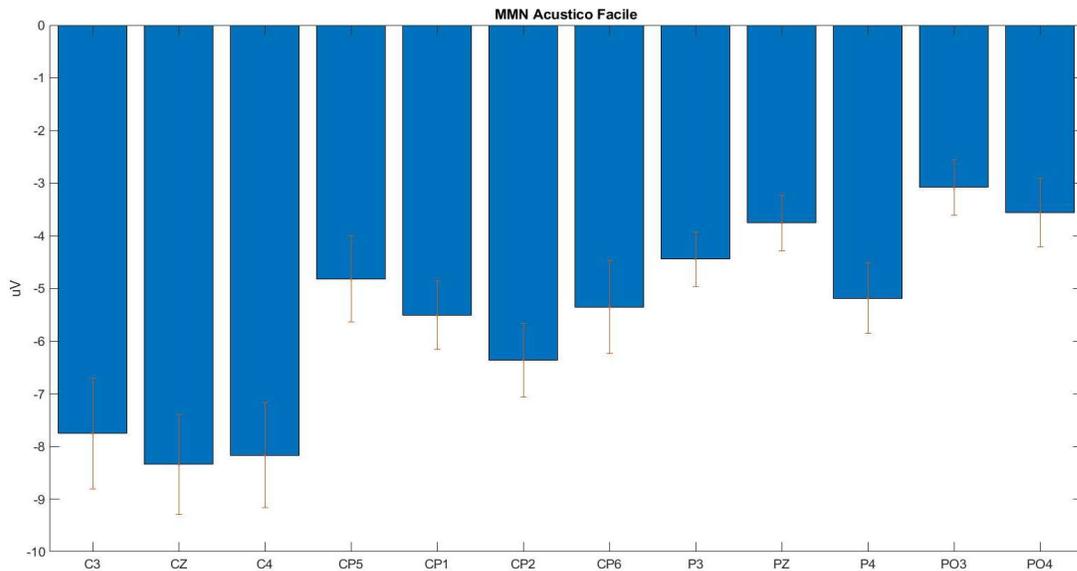


Figura 4.1.4: Ampiezze MMN (medie su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nelle figure 4.1.4 (ampiezza) e nella figura 4.1.5 (latenza) vengo visualizzate le caratteristiche della componente MMN. Si può notare che la latenza rimane pressoché la stessa indipendentemente dagli

elettrodi. Mentre si può notare che l'ampiezza è decisamente maggiore per gli elettrodi più centrali (elettrodi C3, CZ, C4).

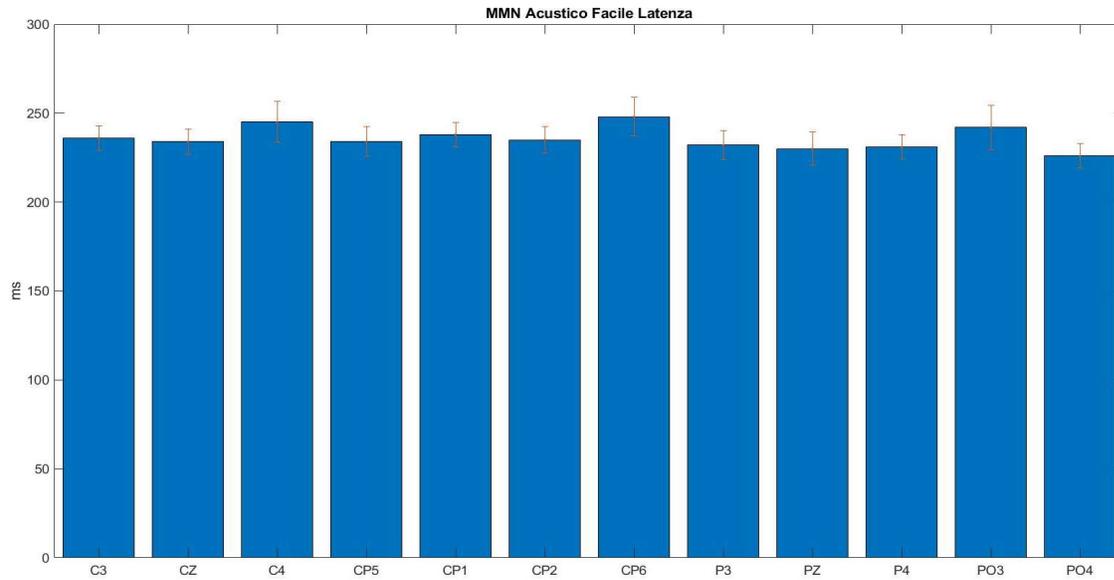


Figura 4.1.5: Latenze MMN (mediate su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nelle figure 4.1.6 (ampiezza) e nella figura 4.1.7 (latenza) vengo visualizzate le caratteristiche della componente *P300* per gli stimoli deviant. Ci si è limitati agli stimoli deviant nella valutazione di questa componente in quanto esse non è difficilmente individuabile nel caso di stimoli standard (si veda Figura 4.1.1 e le figure precedenti relative ai singoli soggetti).

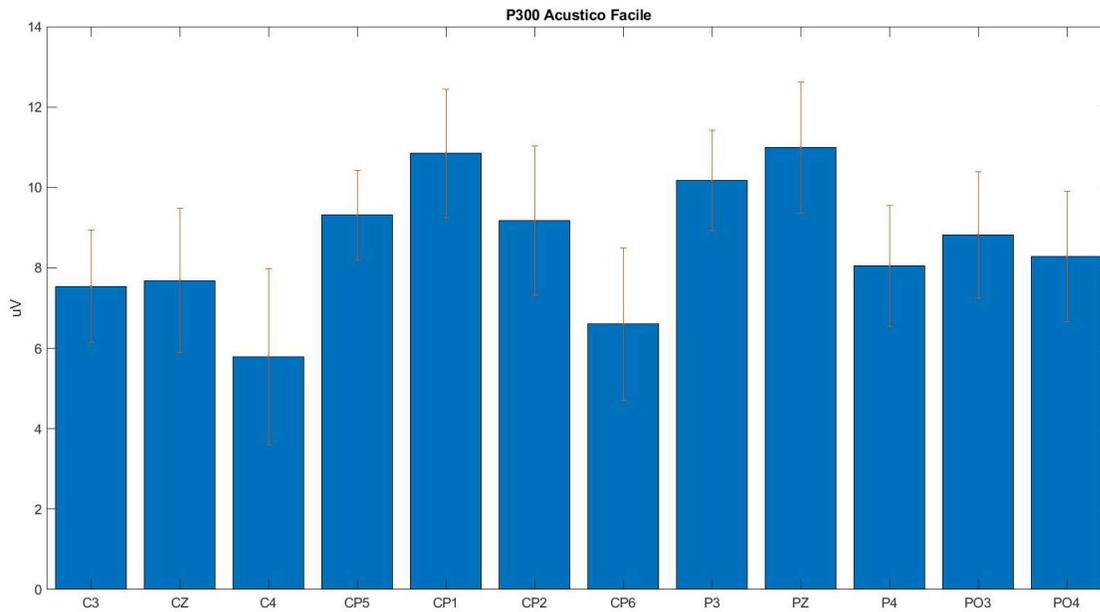


Figura 4.1.6: Ampiezze P300 (mediate su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

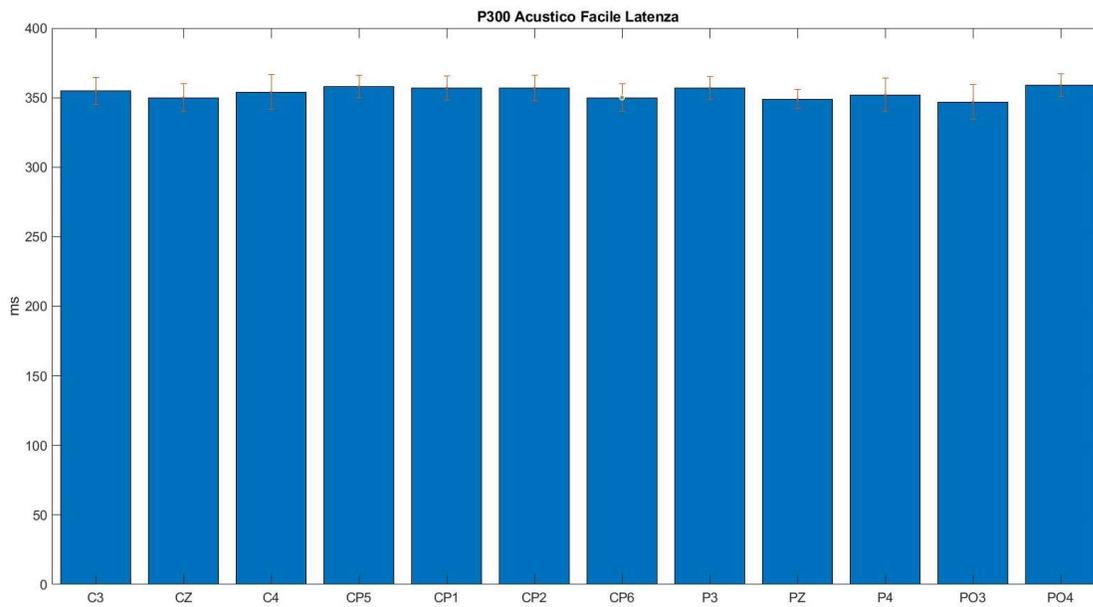


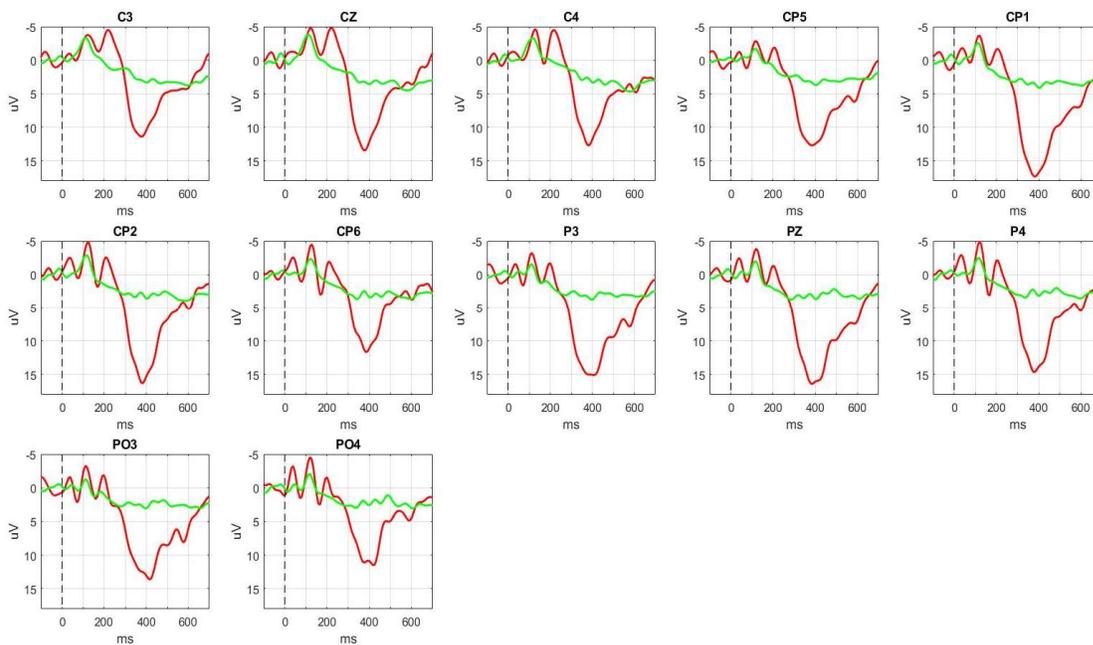
Figura 4.1.7: Latenze P300 (mediate sui singoli soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nella figura 4.1.6 si può notare come l'ampiezza sia maggiore in alcuni elettrodi in particolare gli elettrodi CP5, CP1, CP2, P3 e Pz. La latenza invece dimostra ancora una certa costanza al variare degli elettrodi (vedi figura 4.1.7).

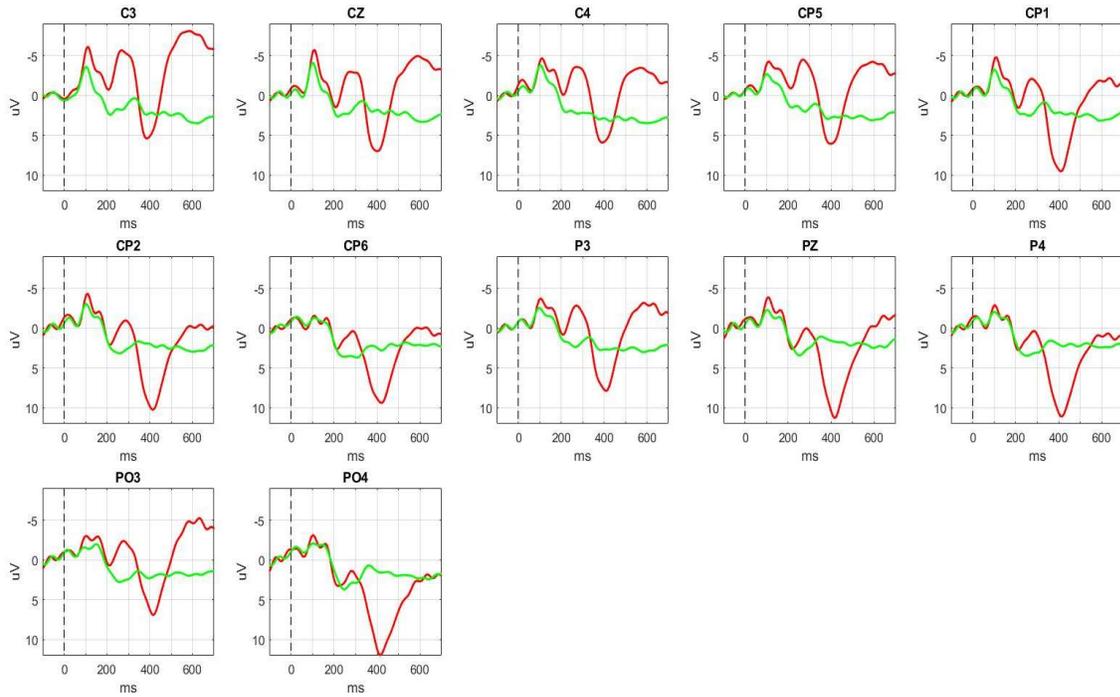
4.2 Potenziali evocati ottenuti col paradigma oddball “acustico difficile”

Come detto precedentemente nel capitolo 3, il protocollo su cui si basa questa acquisizione è pensato per avere una piccola differenza fra le tonalità che contraddistinguono gli stimoli *standard* e *deviant*. In questo caso ci si aspetta di vedere una maggiore latenza e minor ampiezza della *P300* rispetto al caso precedente. L'incremento di latenza è atteso come conseguenza della maggior difficoltà nella distinzione dello stimolo *standard* rispetto a quello *deviant*; la diminuzione di ampiezza è suggerita da precedenti studi in base ai quali una maggiore devianza dello stimolo *deviant* dallo *standard* si riflette in ampiezza maggiori della *P300*. Qui di seguito vengono mostrati gli ERP di ogni soggetto. In verde è riportata la risposta agli stimoli *standard* e in rosso agli stimoli *deviant*.

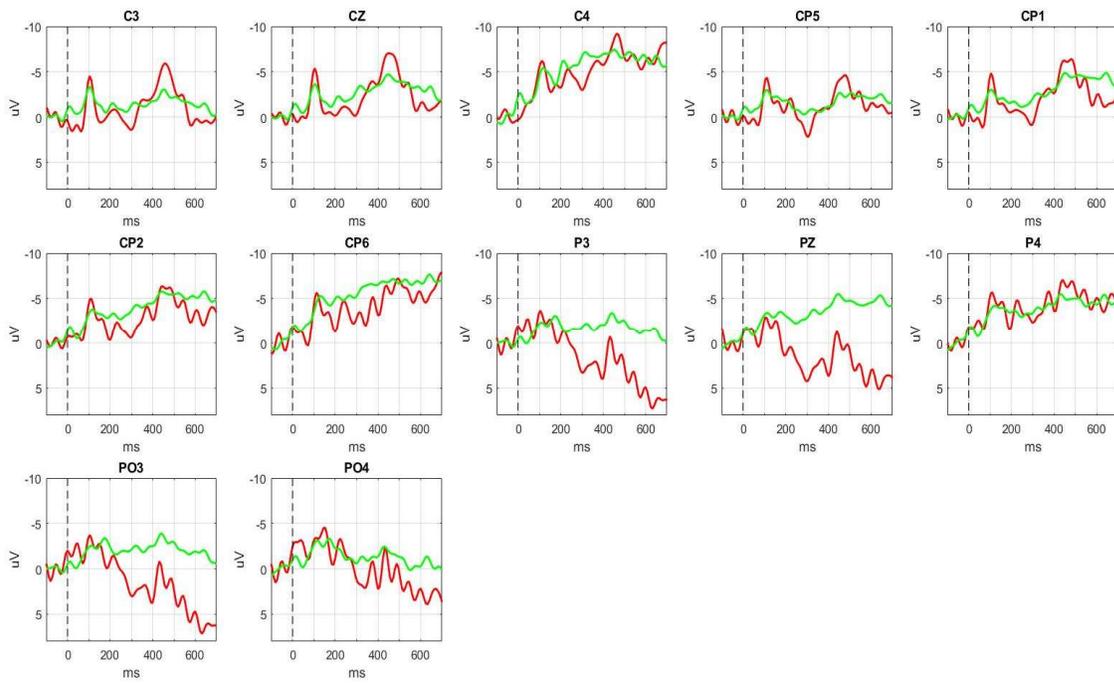
Soggetto-1



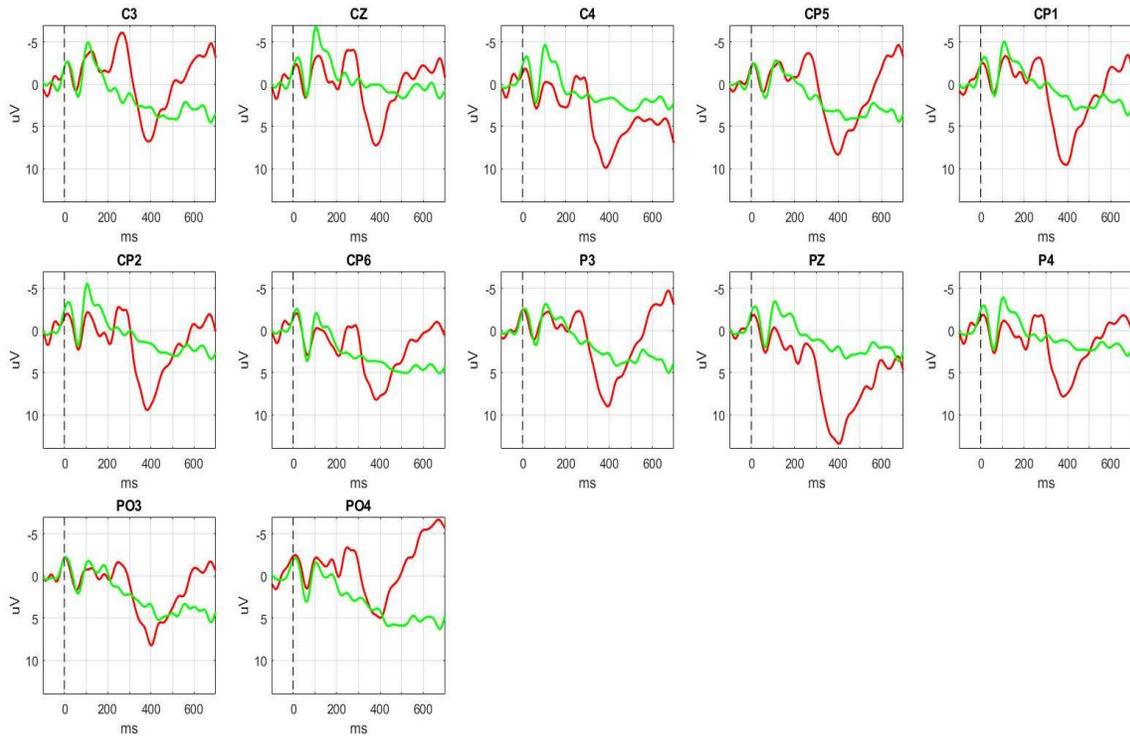
Soggetto-2



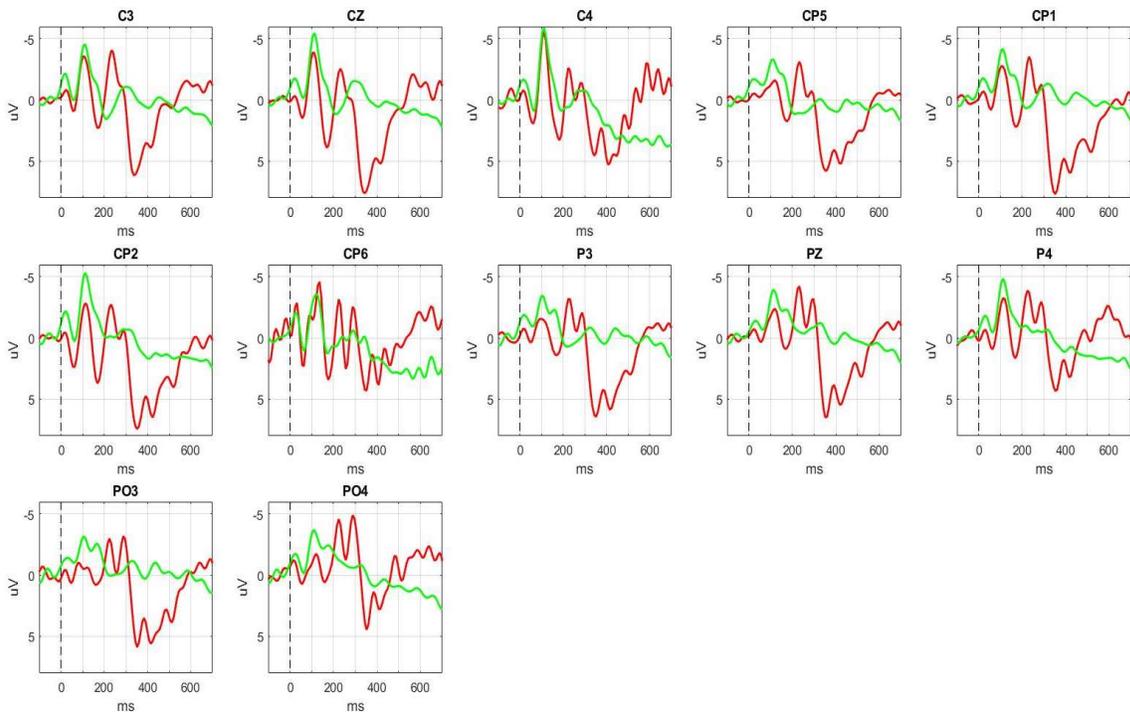
Soggetto-3



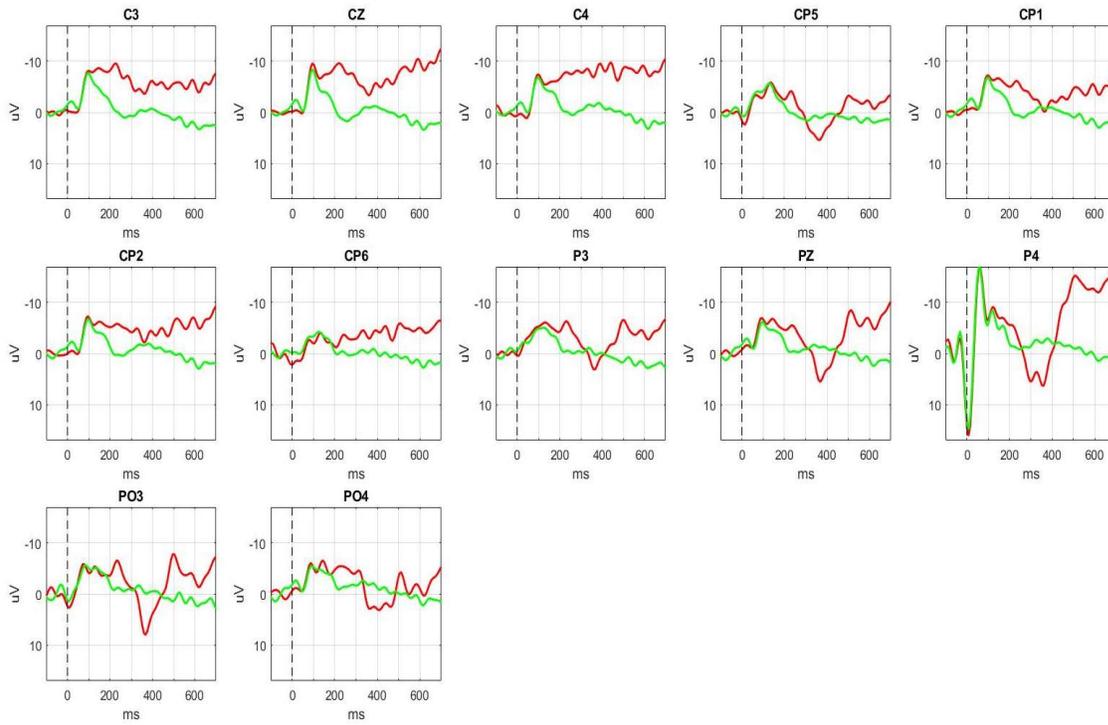
Soggetto-4



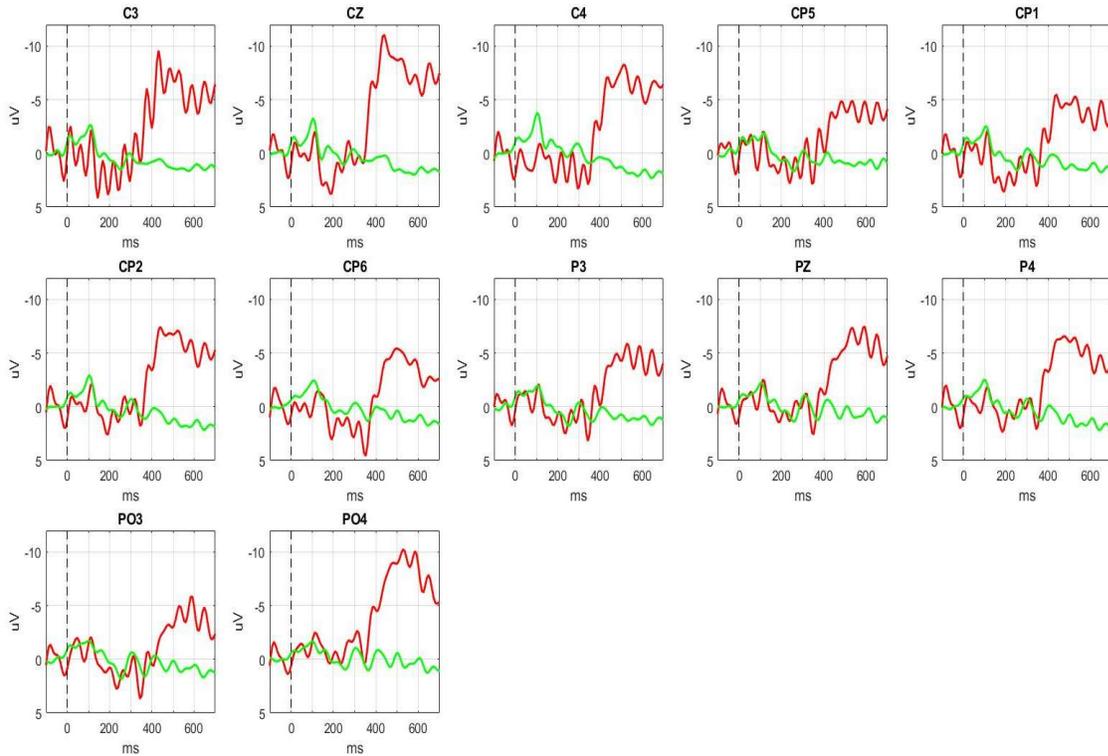
Soggetto-5



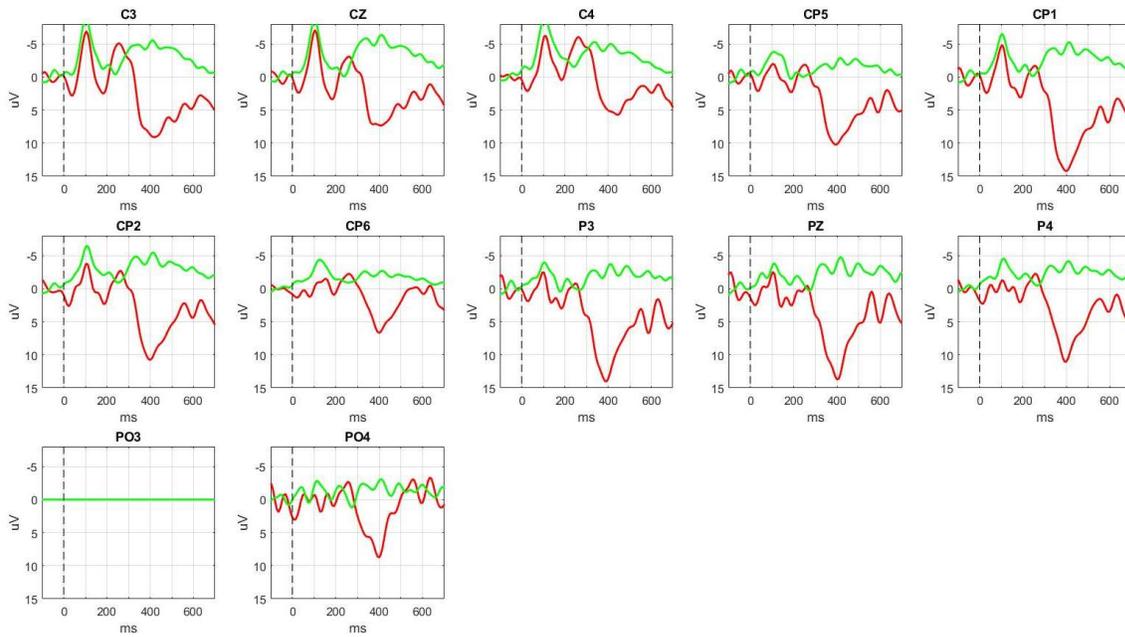
Soggetto-6



Soggetto-7



Soggetto-8



Purtroppo anche in questo caso il canale PO3 del soggetto-8 non è stato utilizzato per la Grand Average. Qui di seguito viene riportato le componenti ERP ottenute dalla Grand Average, in verde è riportata la risposta agli stimoli *standard* e in rosso agli stimoli *deviant* (figura 4.2.1).

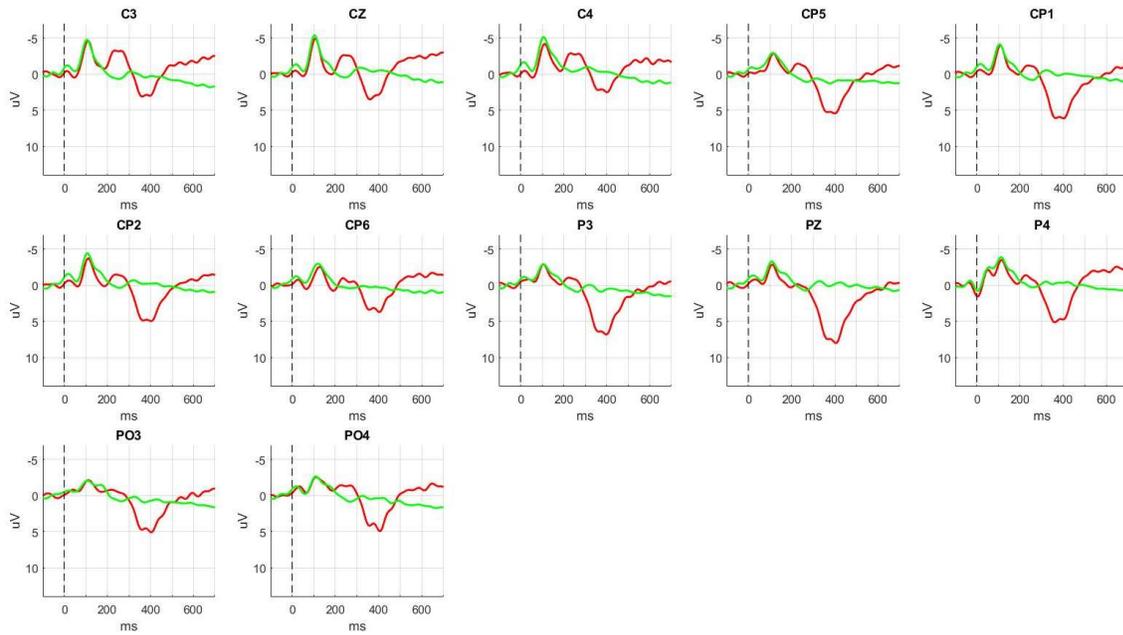


Figura 4.2.1: ERP Grand Average (ERP mediati su tutti i soggetti) ottenuti con il paradigma oddball "acustico difficile". In verde le risposte agli stimoli standard e in rosso le risposte agli stimoli deviant.

Come si può notare in figura 4.2.1 anche in questo caso si osserva una notevole somiglianza fra la *N100* delle risposte *deviant* e *standard*. L'analisi della *N1* è meglio approfondita nelle figure 4.2.2 e 4.2.3. Si può osservare anche in questo caso una latenza minore per lo stimolo *deviant* rispetto allo standard in tutti gli elettrodi. L'ampiezza tende ad essere lievemente maggiore nello standard rispetto al *deviant*.

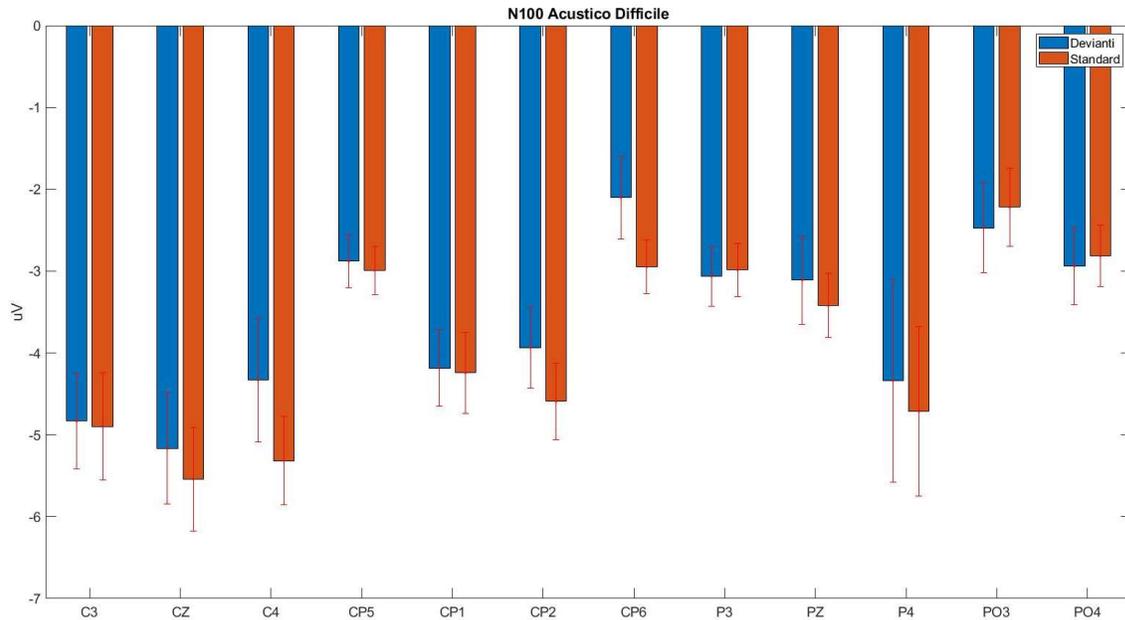


Figura 4.2.2: Ampiezze N100 (mediate su tutti i soggetti). In rosso le risposte agli stimoli standard, in blu le risposte agli stimoli deviant. Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

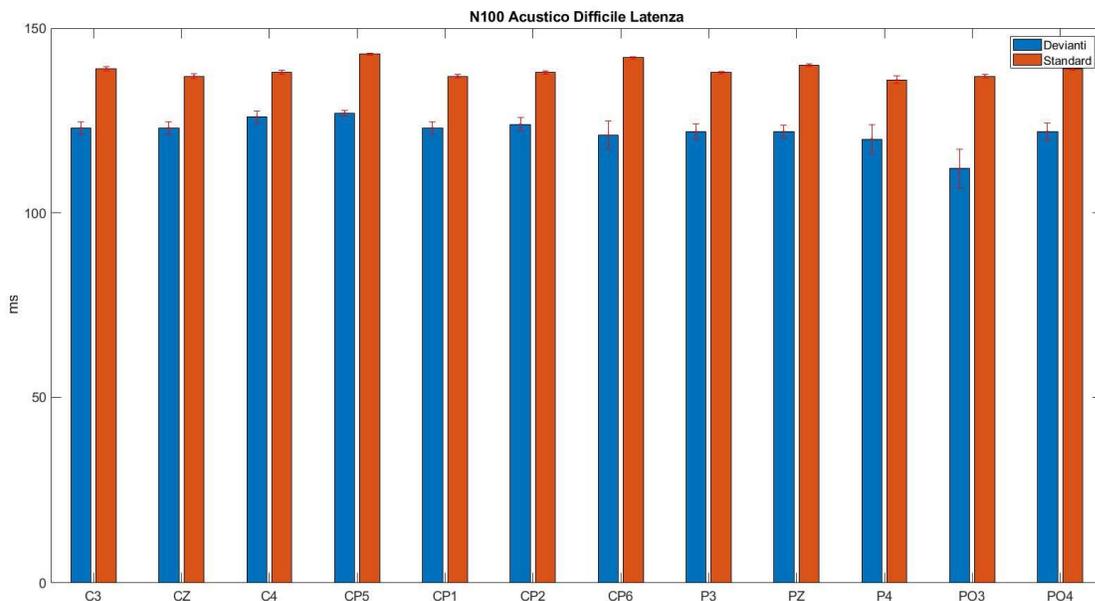


Figura 4.2.3: Latenze N100 (mediate su tutti i soggetti). In rosso le risposte agli stimoli standard, in verde le risposte agli stimoli deviant. Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nelle figure 4.2.4 (ampiezza) e 4.2.5 (latenza) vengono visualizzate le caratteristiche della componente *MMN*. Gli elettrodi centrali (in questo caso in particolare C3 e CZ) mostrano un'ampiezza maggiore anche in questo paradigma.

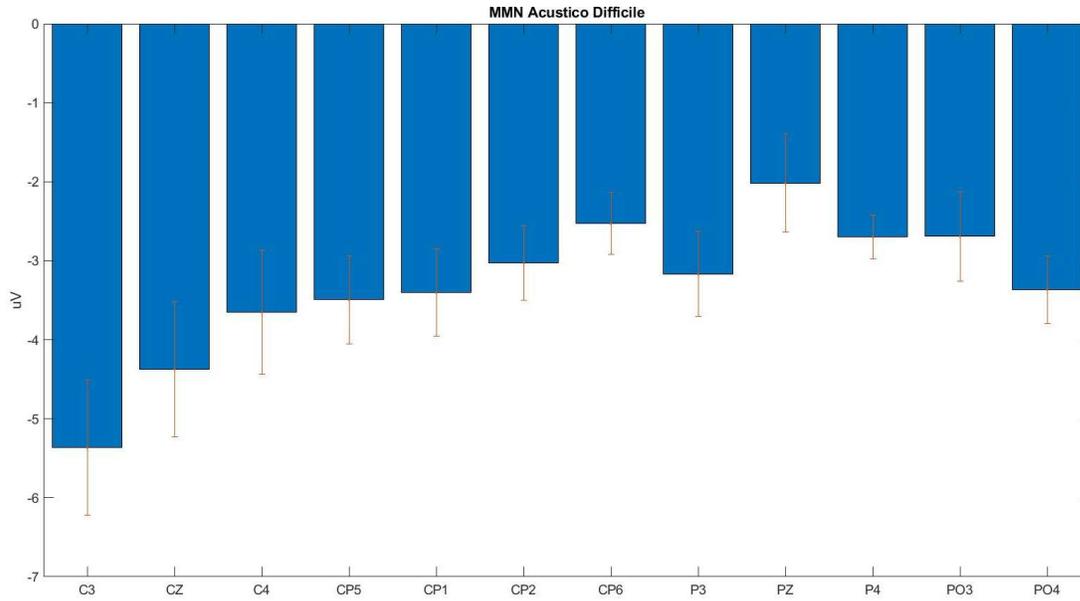


Figura 4.2.4: Ampiezze MMN (mediate su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

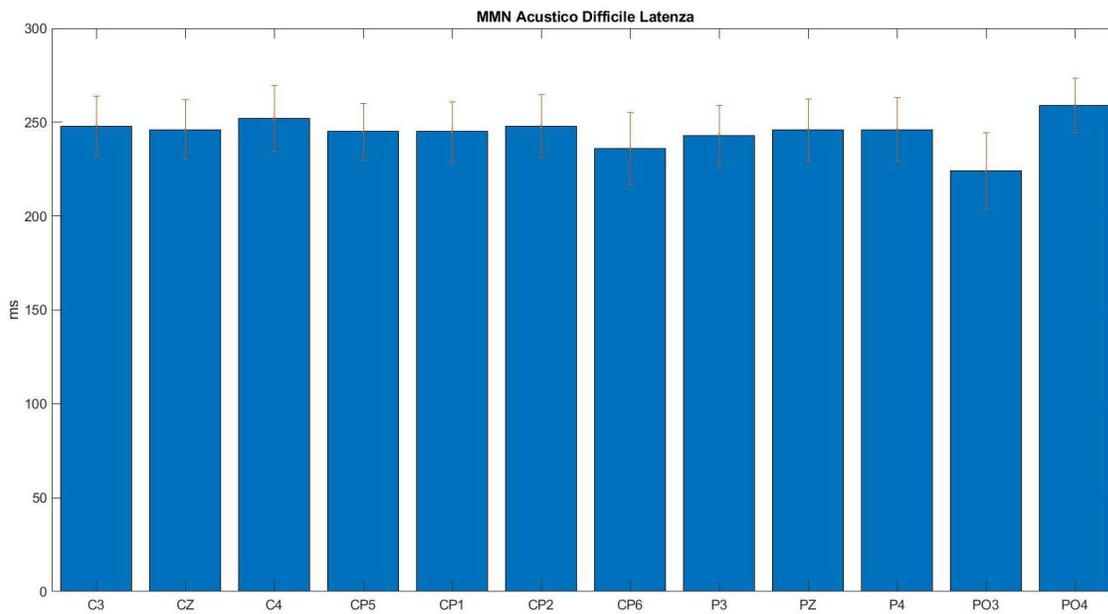


Figura 4.2.5: Latenze MMN (mediate su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nelle figure 4.2.6 e 4.2.7 vengono visualizzate le caratteristiche della componente P300 con riferimento al solo stimolo *deviant*. Nella figura 4.2.6 si può notare come l'ampiezza sia maggiore

negli elettrodi in alcuni elettrodi (in particolare CP5, CP1, CP2, P3, PZ), rispetto agli altri. Anche in questo caso la latenza non mostra variazioni al variare dell'elettrodo. (vedi figura 4.2.7).

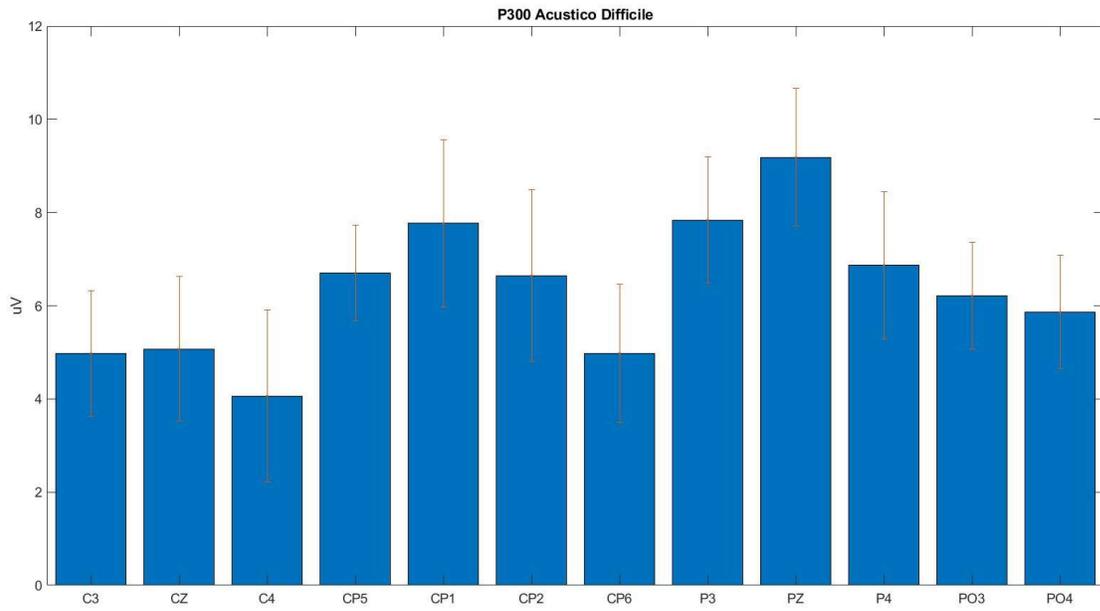


Figura 4.2.6: Ampiezze P300 (medie su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

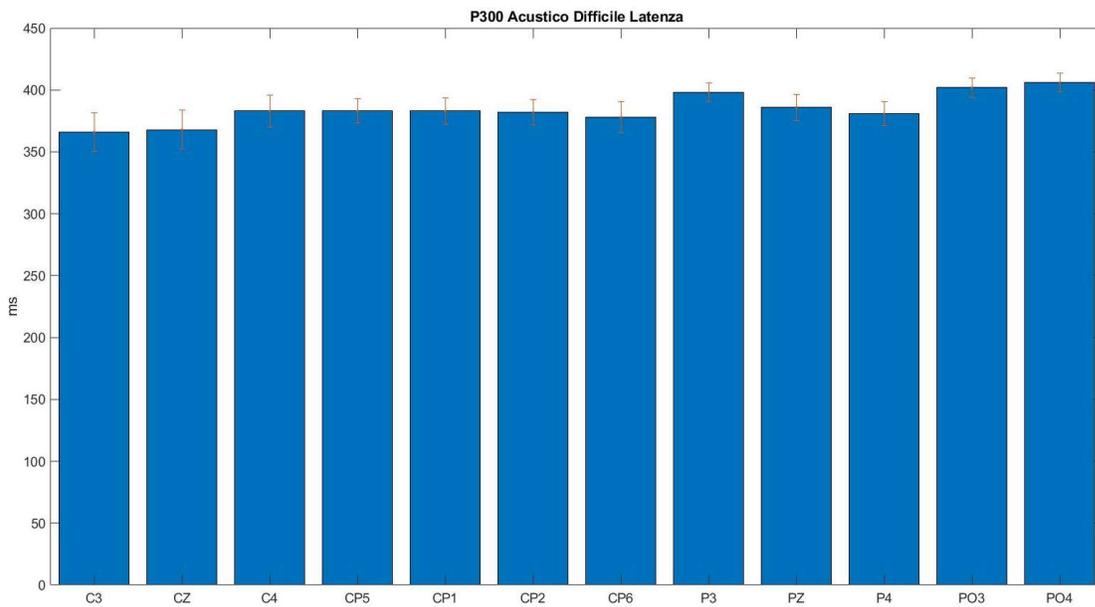
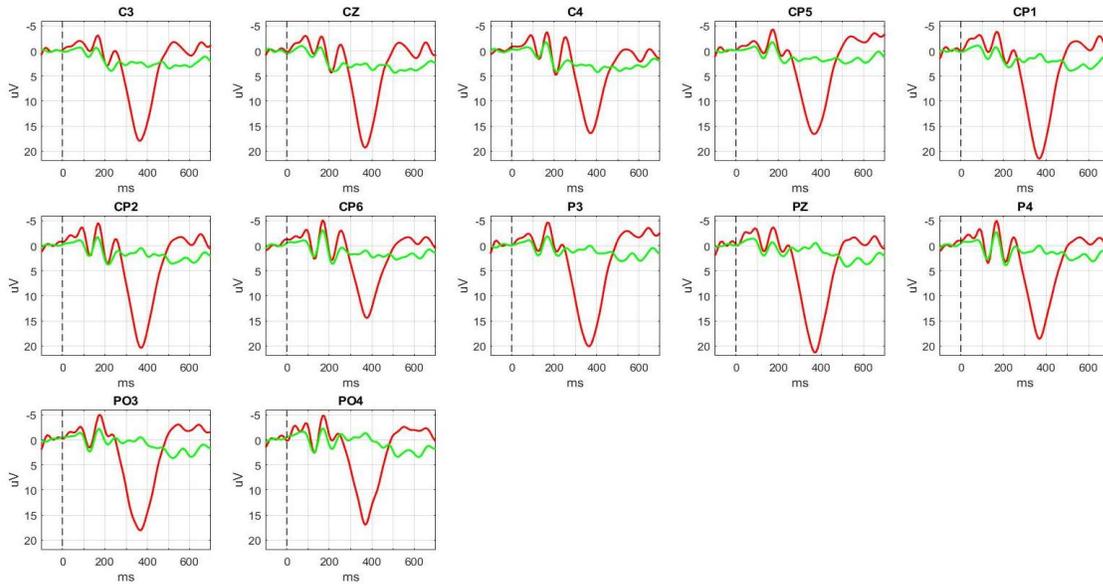


Figura 4.2.7: Latenze P300 (medie su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

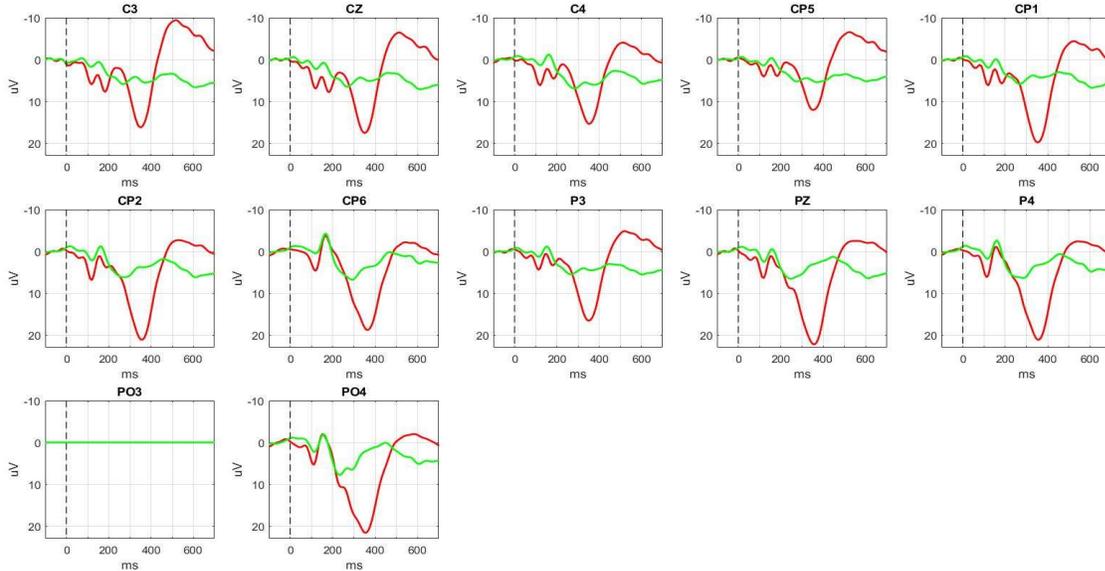
4.3 Potenziali evocati ottenuti col paradigma oddball “visivo”

Il protocollo su cui si basa questa acquisizione, a differenza delle altre due, è basato su una sequenza di stimoli visivi. La distinzione fra stimoli *standard* e *deviant* avviene tramite la colorazione del LED, rosso (*deviant*) e verde (*standard*). Di seguito vengono mostrati i segnali ERP di ogni soggetto. In verde è riportata la risposta agli stimoli *standard* e in rosso agli stimoli *deviant*.

Soggetto-1

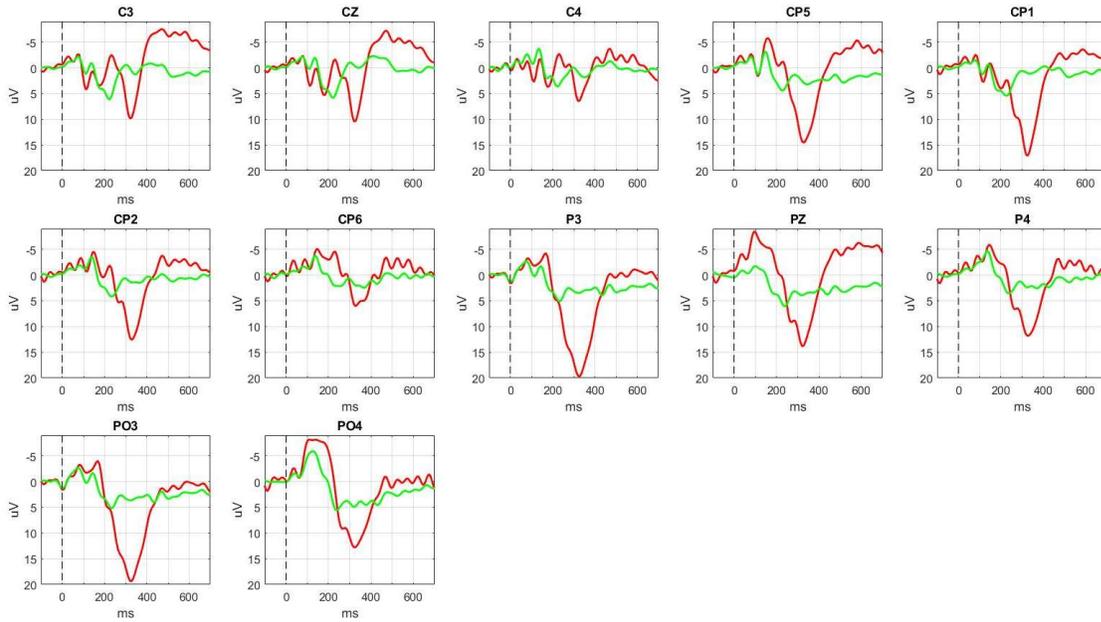


Soggetto-2

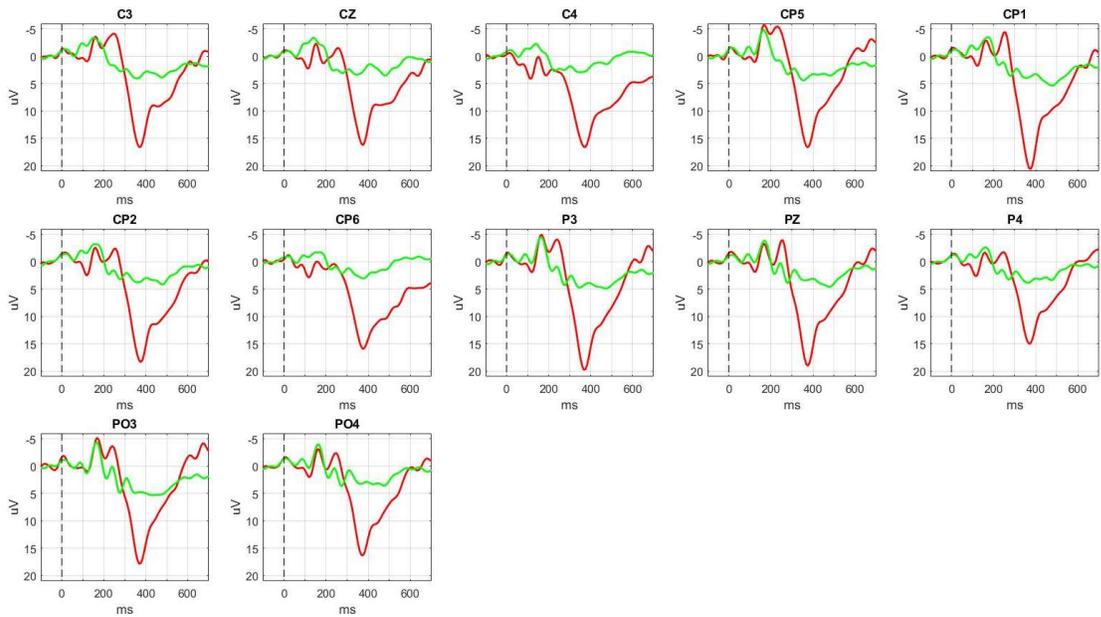


Purtroppo il canale PO3 del soggetto-2 non è stato utilizzato nel calcolo della Grand Average per problemi durante l'acquisizione.

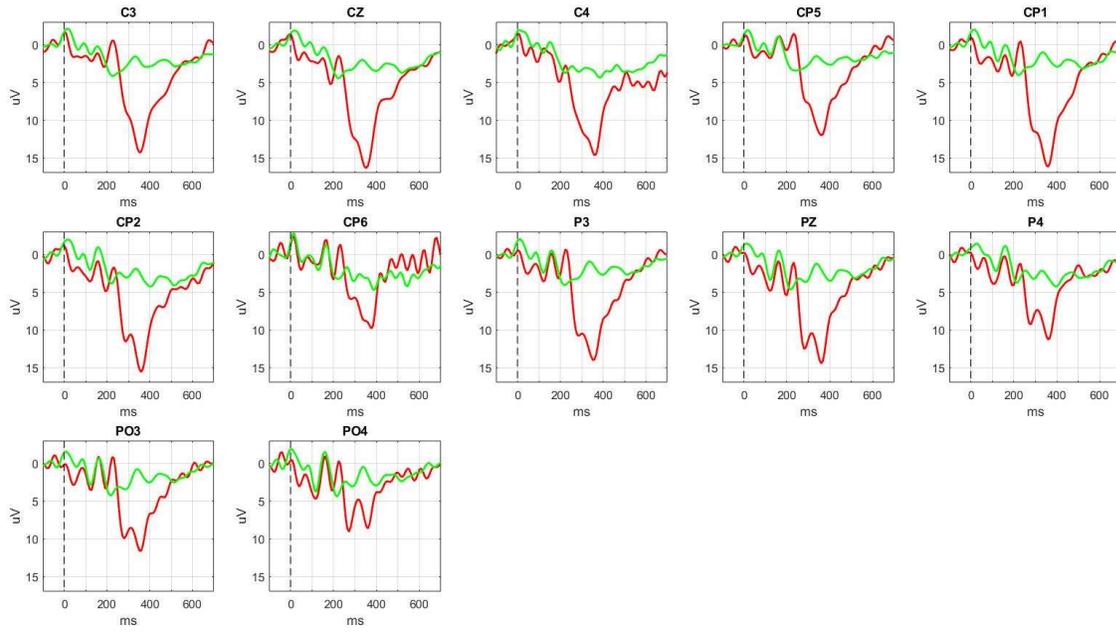
Soggetto-3



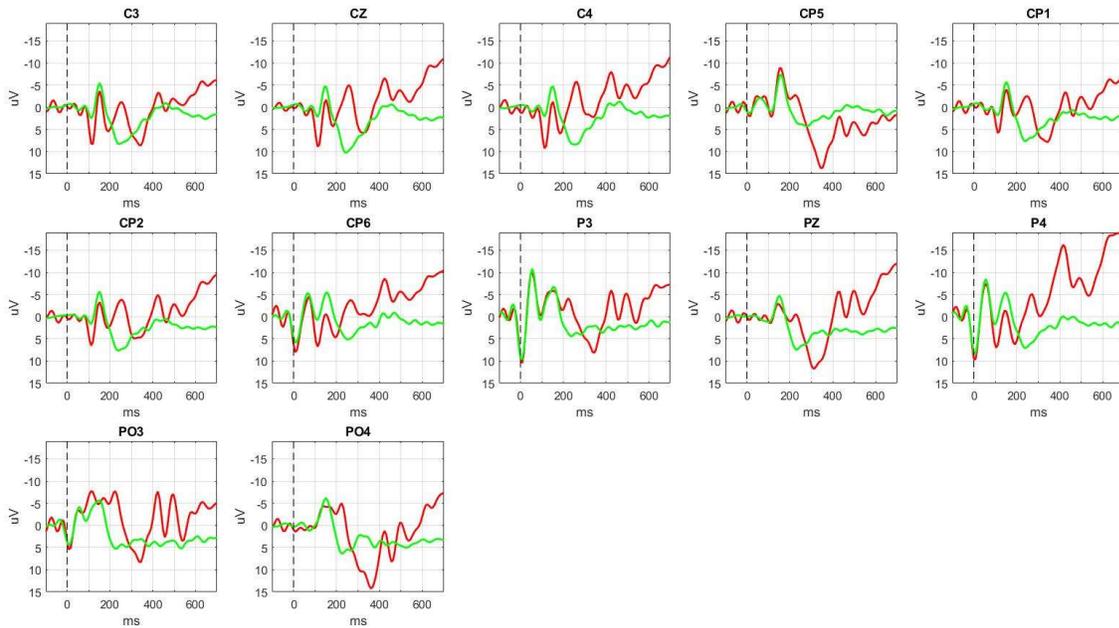
Soggetto-4



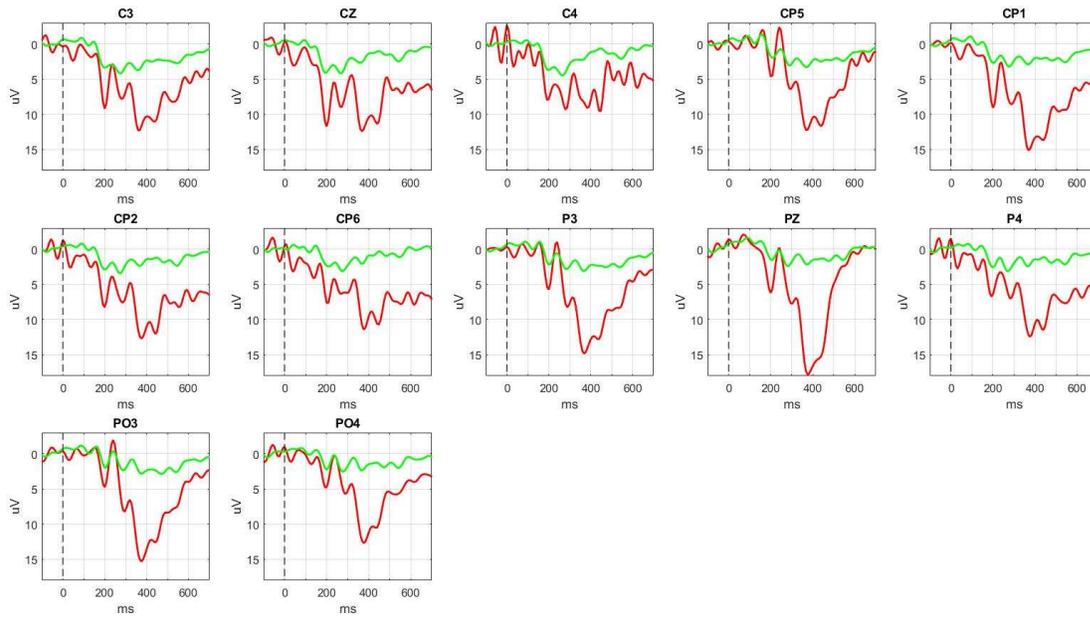
Soggetto-5



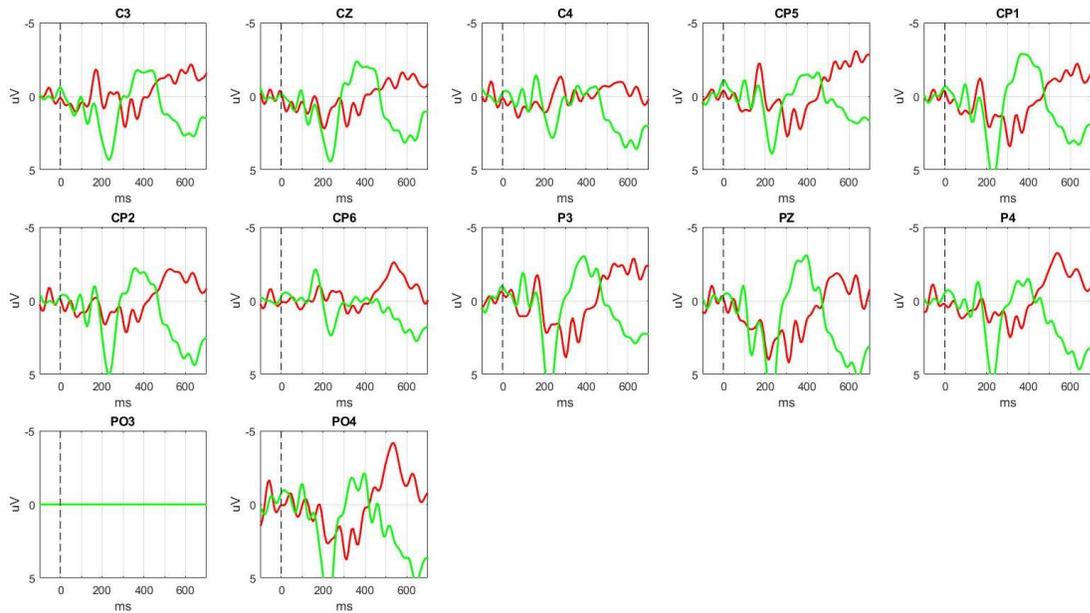
Soggetto-6



Soggetto-7



Soggetto-8



Anche in questo caso il canale PO3 del soggetto-8 non è stato utilizzato nel calcolo della Grand Average per problemi durante l'acquisizione. Di seguito vengono mostrate (Figura 4.3.1) le risposte agli

stimoli *standard* (verde) e *deviant* (rosso) ottenute mediando le risposte dei singoli soggetti tramite lo script “Grand Average” (vedi capitolo 3).

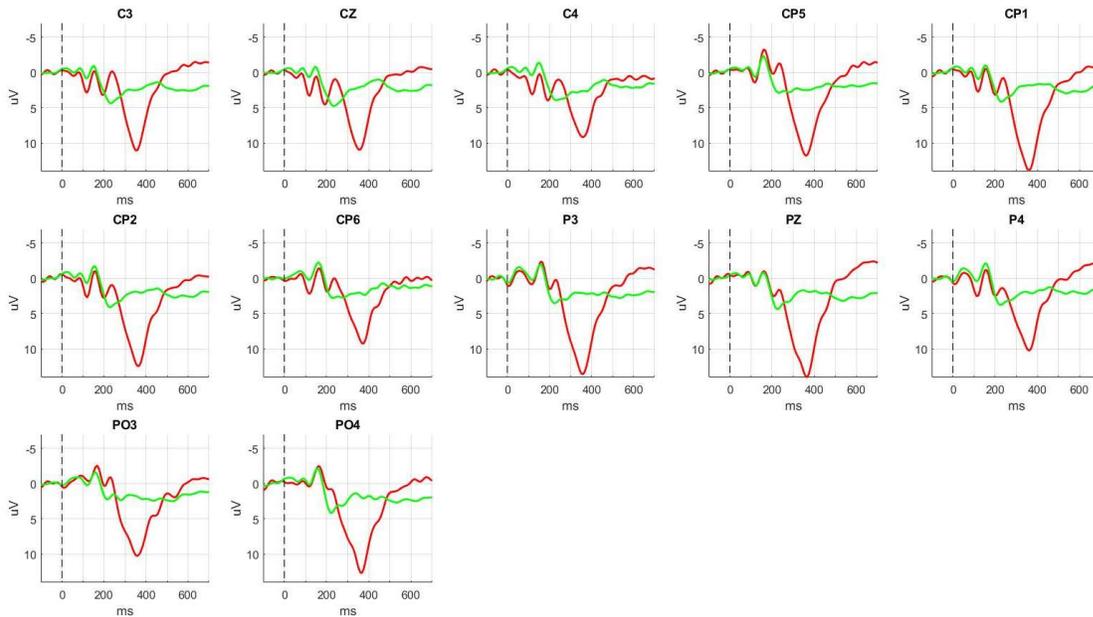


Figura 4.3.1: ERP Grand Average (ERP mediati su tutti i soggetti) ottenuti mediante paradigma oddball "visivo". In verde le risposte agli stimoli *standard*, in rosso le risposte agli stimoli *deviant*.

Dalla figura 4.3.1 si può notare ancora una certa somiglianza della componente *N100* nelle risposte agli stimoli *standard* e *deviant*. L'analisi della *N1* è meglio approfondita nelle figure 4.3.2 (ampiezza) e 4.3.3 (latenza). Contrariamente dalle aspettative si può notare che nella figura 4.3.2, le ampiezze delle risposte agli stimoli *deviant* rispetto alle risposte agli stimoli *standard* differiscono maggiormente, soprattutto negli elettrodi CZ e C4, rispetto ai casi precedenti. Nella figura 4.3.3 si può notare che, come da aspettative, la latenza media della componente *N100* si assesta su valori pari o superiori a *150ms*, compatibili con gli intervalli presentati nel capitolo 1, e maggiori rispetto a quelli osservati per la *N100* nei due paradigmi oddball di tipo uditivo. Si nota anche in questo caso una tendenza della *N100* a presentarsi con latenza leggermente superiore nel caso di stimolo *standard* rispetto allo stimolo *deviant*.

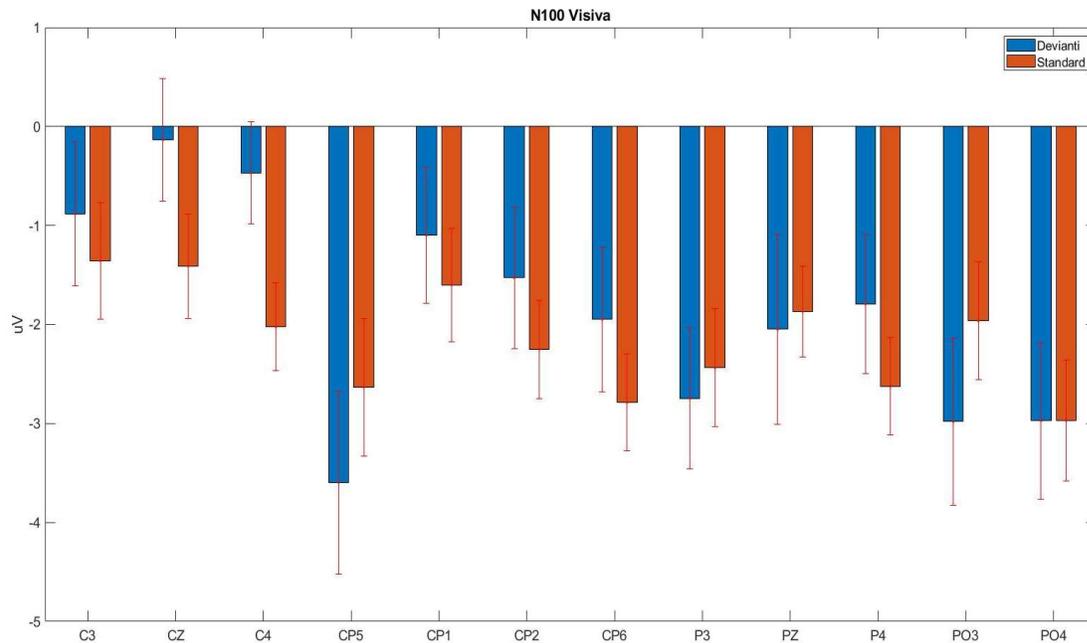


Figura 4.3.2: Ampiezze N100 (mediate su tutti i soggetti). In rosso per le risposte agli stimoli standard, in blu le risposte agli stimoli devianti. Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

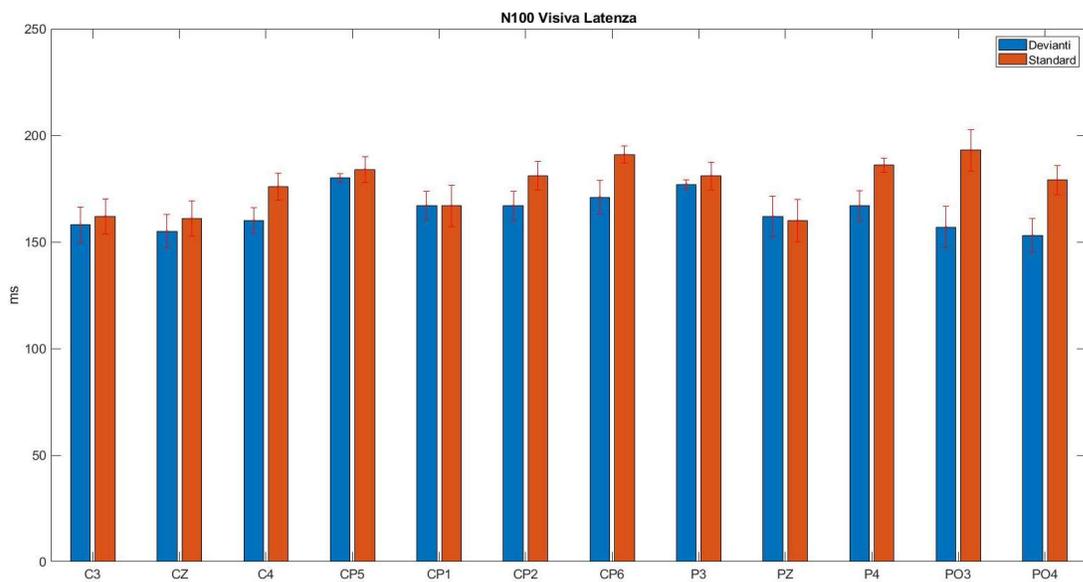


Figura 4.3.3: Latenze N100 (mediate su tutti i soggetti). In rosso per le risposte agli stimoli standard, in blu le risposte agli stimoli devianti. Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nelle figure 4.3.4 (ampiezza) e 4.3.5 (latenza) vengono analizzate le caratteristiche medie della componente MMN. Gli elettrodi centrali C3 e CZ tendono a mostrare un'ampiezza maggiore anche in questo caso (seppur in misura meno evidente rispetto ai due paradigmi precedenti).

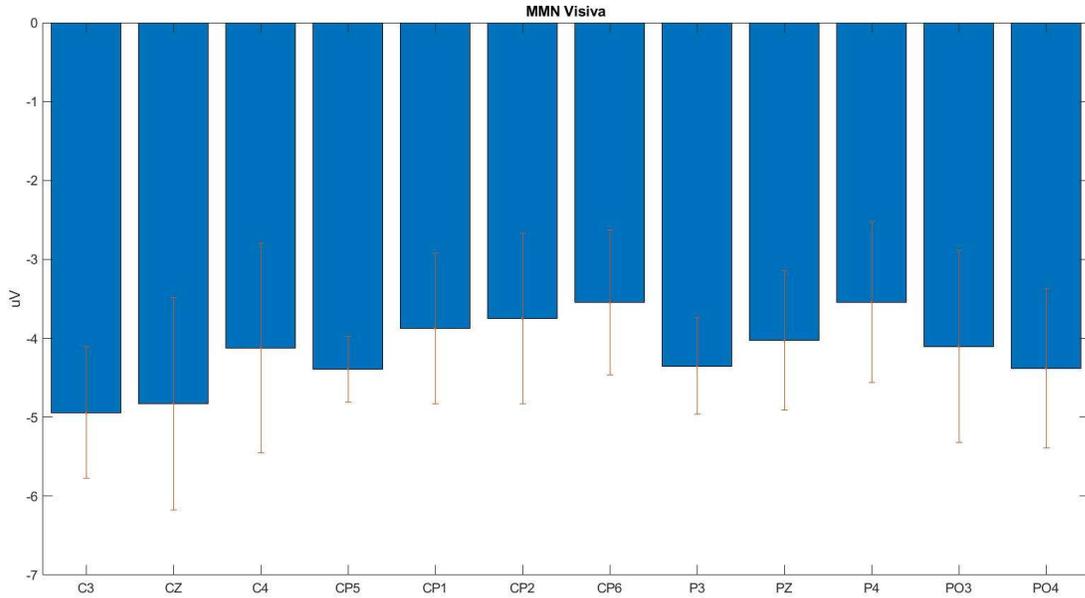


Figura 4.3.4: Ampiezze MMN (mediate su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

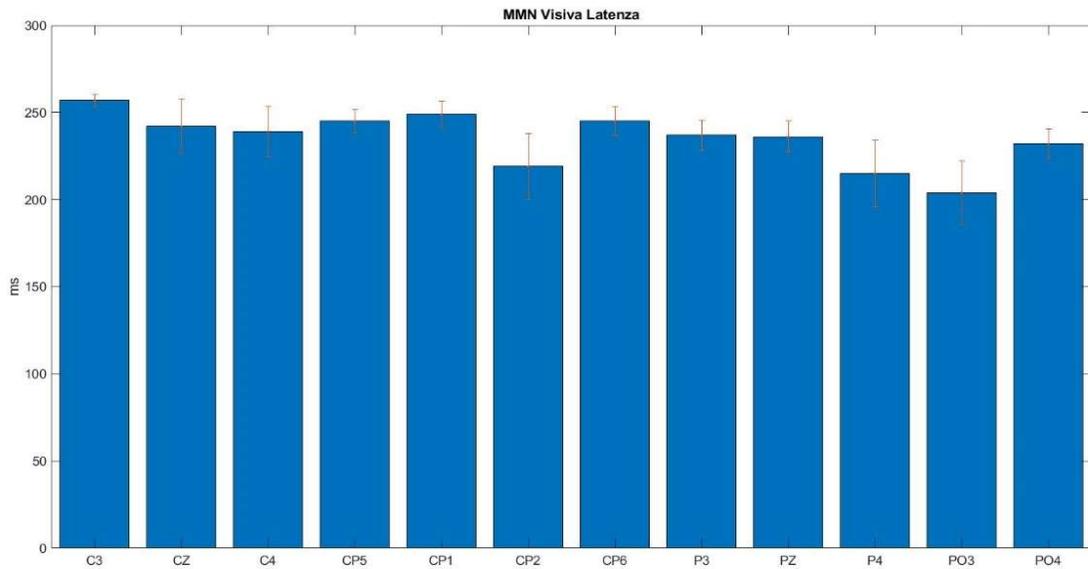


Figura 4.3.5: Latenze MMN (mediate su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nelle figure 4.3.6 (ampiezza) e 4.3.7 (latenza) vengono analizzate le caratteristiche medie della componente *P300*. Nella figura 4.3.6 si può notare come l'ampiezza sia maggiore in alcuni elettrodi, in particolare C3,CZ, CP5, CP1, CP2, P3, PZ. Come nei casi precedenti la latenza risulta la stessa su tutti gli elettrodi (vedi figura 4.3.7).

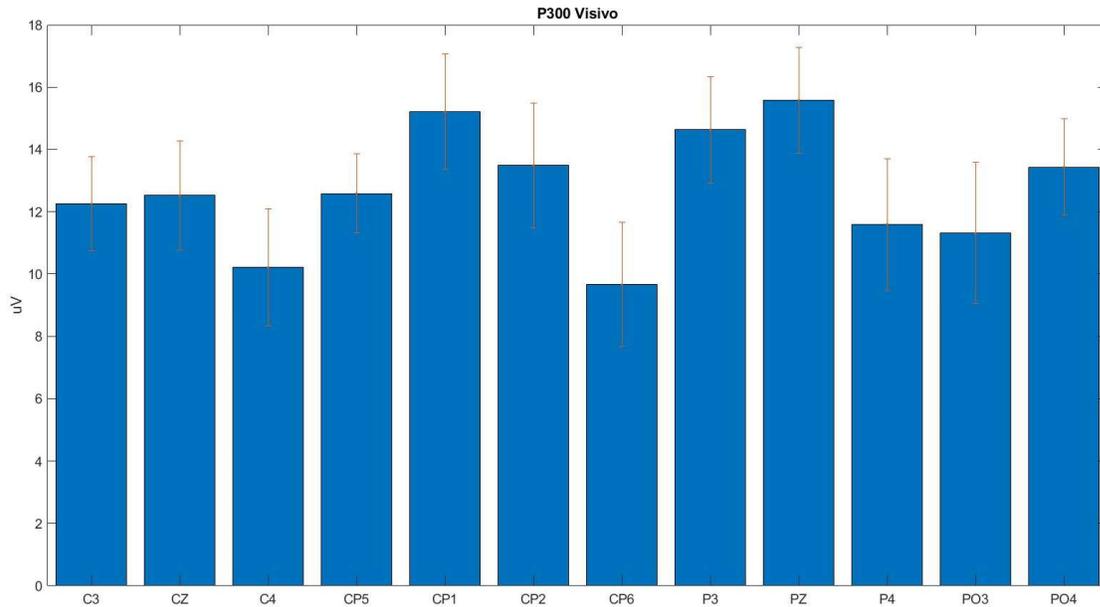


Figura 4.3.6: Ampiezze della componente *P300* (medie su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

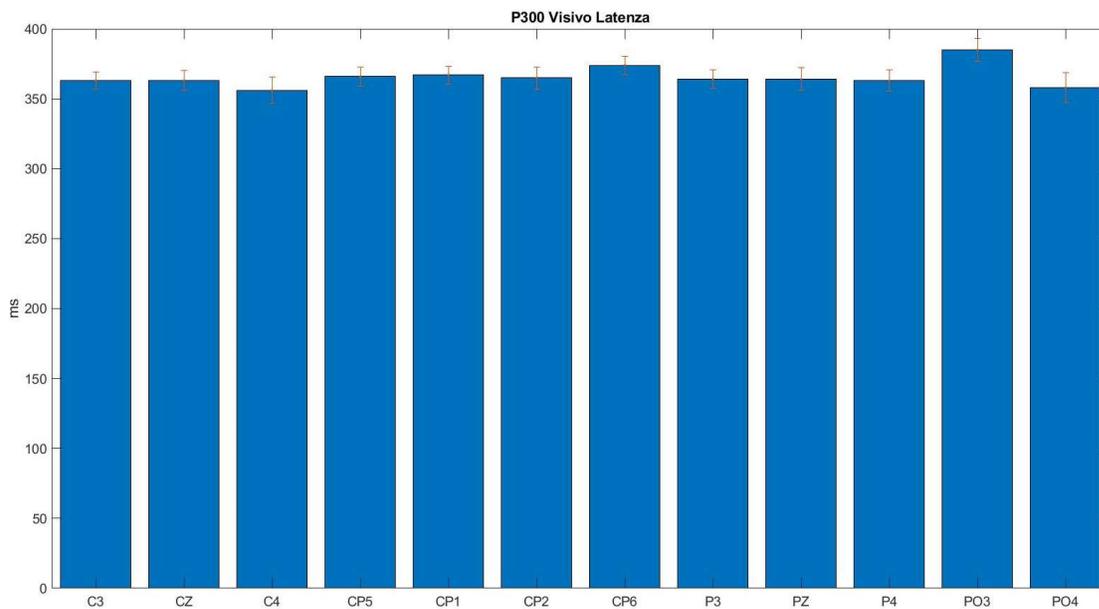


Figura 4.3.7: Latenze della componente *P300* (medie su tutti i soggetti). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

4.4 Confronto delle componenti ERP ottenute tramite le tre prove

In questo paragrafo verranno messe a confronto le componenti ERP *N1*, *MMN*, *P300* medie ottenute nelle tre differenti prove. Nella figura 4.4.1 si possono vedere gli ERP Grand Average (mediati su tutti i soggetti) ottenuti dalle risposte agli stimoli *deviant* nelle tre prove di oddball ('acustico facile', 'acustico difficile', 'visivo').

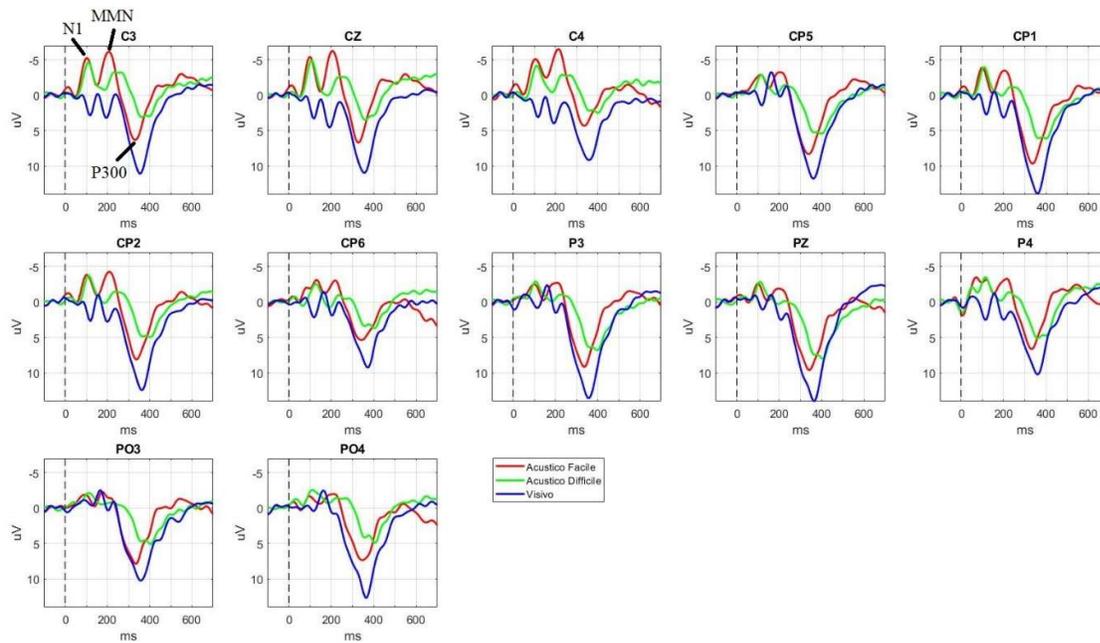


Figura 4.4.1: ERP Grand Average (mediate su tutti i soggetti) ottenuti dalle risposte agli stimoli *deviant* nelle tre prove di paradigma di oddball: acustico facile (rosso), acustico difficile (verde), visivo (blu).

Dalla figura 4.4.1 si può notare come da aspettative, e in accordo con la letteratura, una somiglianza fra le componenti *N100* (indicata come *N1* nella figura 4.4.1) ottenute nelle prove acustiche. Per la componente *N100* ottenuta nella prova visiva si nota invece una netta differenza di ampiezza (soprattutto in alcuni elettrodi) e di latenza rispetto a quelle ottenute dalle prove acustiche. Questo viene meglio analizzato nelle figure 4.4.2 (ampiezza) e 4.4.3 (latenza) che mettono a confronto le caratteristiche della *N100* nelle tre prove. Come detto in precedenza ci si aspettava somiglianza fra le componenti *N100* ottenute dalle prove acustiche poiché essendo una componente esogena, una risposta obbligatoria, avviene prima dell'elaborazione dello stimolo, riflettendo meccanismi di attenzione esogena involontaria (cioè di cattura 'automatica' dell'attenzione da parte di stimoli esterni). Essa però è legata alle caratteristiche fisiche dello stimolo. Pertanto è ragionevole osservare *N100* simili per gli stimoli *deviant* acustici sia in ampiezza che in latenza

(pur essendo i due *deviant* di tonalità diverse nei due paradigmi uditivi). Al contrario, come riportato in letteratura, i nostri risultati (vedi figura 4.4.3) indicano che, la componente *N100* nella prova visiva presenta un ritardo in latenza (questo può essere dovuto a ritardi puri maggiori nei circuiti di trasmissione della stimolazione luminosa alla corteccia rispetto ai corrispondenti circuiti acustici, come è noto dalla letteratura neurofisiologica). Inoltre, per quanto riguarda l'ampiezza della *N100*, è interessante osservare che nel caso dello stimolo visivo, tende a crescere spostandosi posteriormente, essendo gli stimoli visivi inizialmente processati (elaborazione di più basso livello) nelle regioni corticali più occipitali.

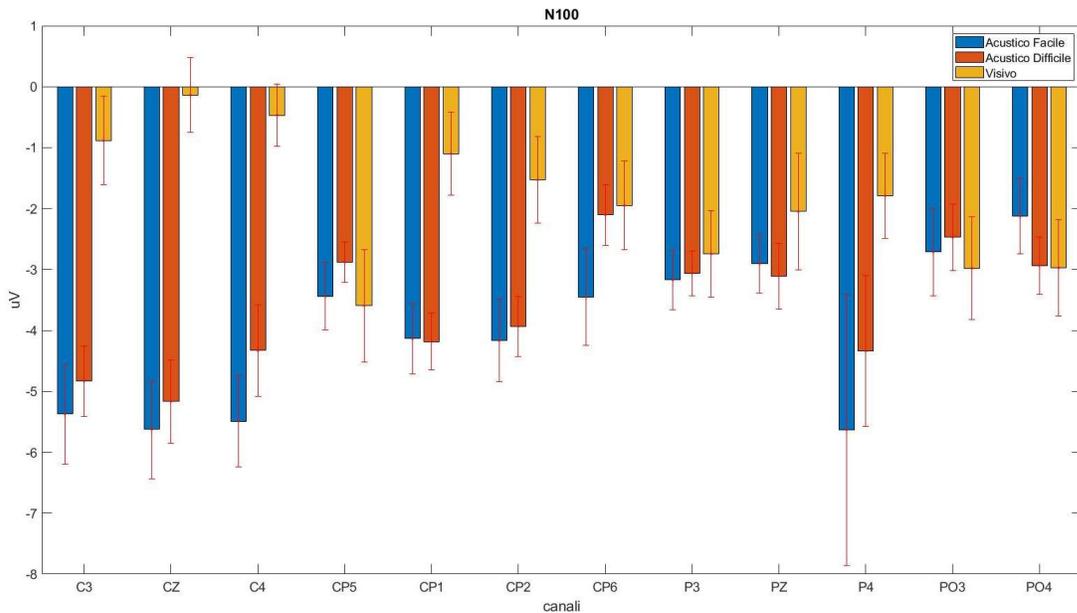


Figura 4.4.2: Ampiezze componente *N100* nelle tre prove (mediate su tutti i soggetti). Acustico facile (blu). Acustico difficile (rosso). Visivo (giallo). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

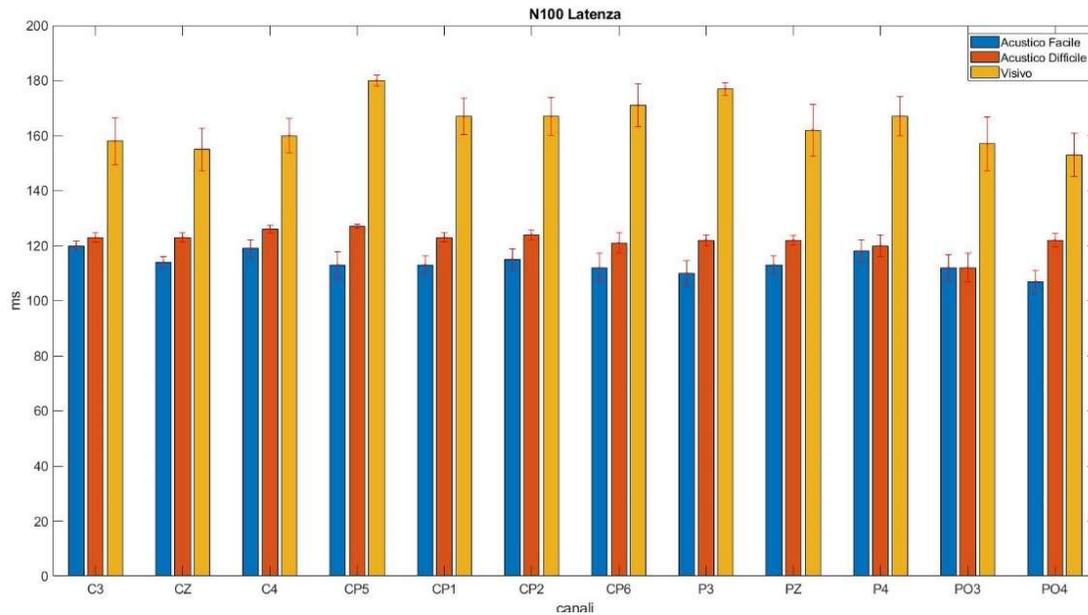
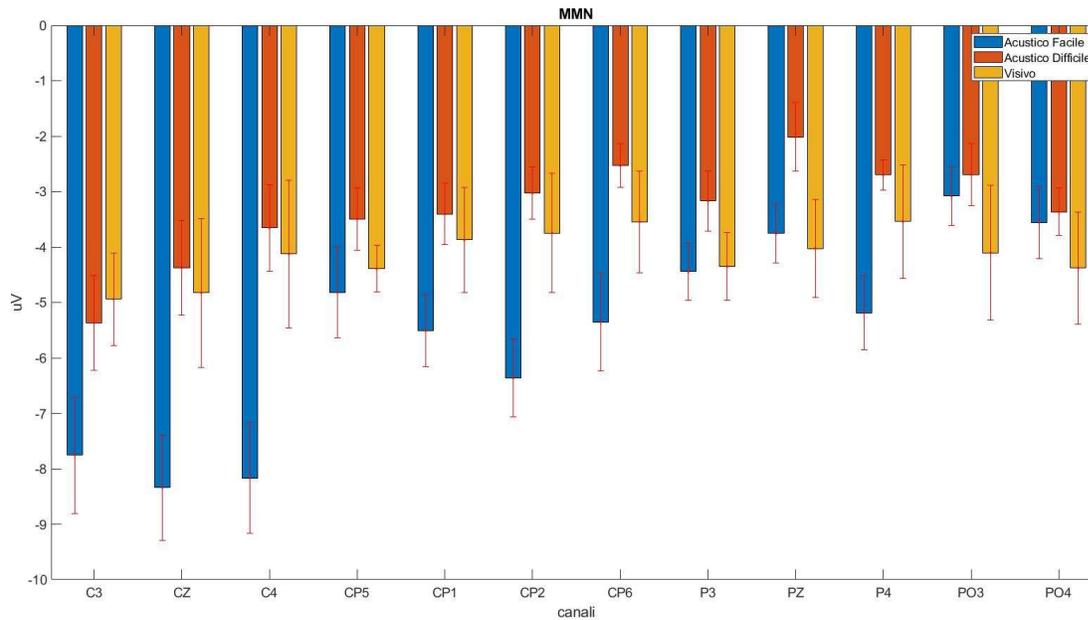


Figura 4.4.3: Latenze componente N100 nelle tre prove. Acustico facile (blu) (mediate su tutti i soggetti). Acustico difficile (rosso). Visivo (giallo). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Nelle figure 4.4.4 (ampiezza) e 4.4.5 (latenza) vengono presentate le caratteristiche della componente MMN.



Figura

4.4.4: Ampiezze componente MMN (mediate su tutti i soggetti), Acustico facile (blu). Acustico difficile (rosso). Visivo (giallo). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

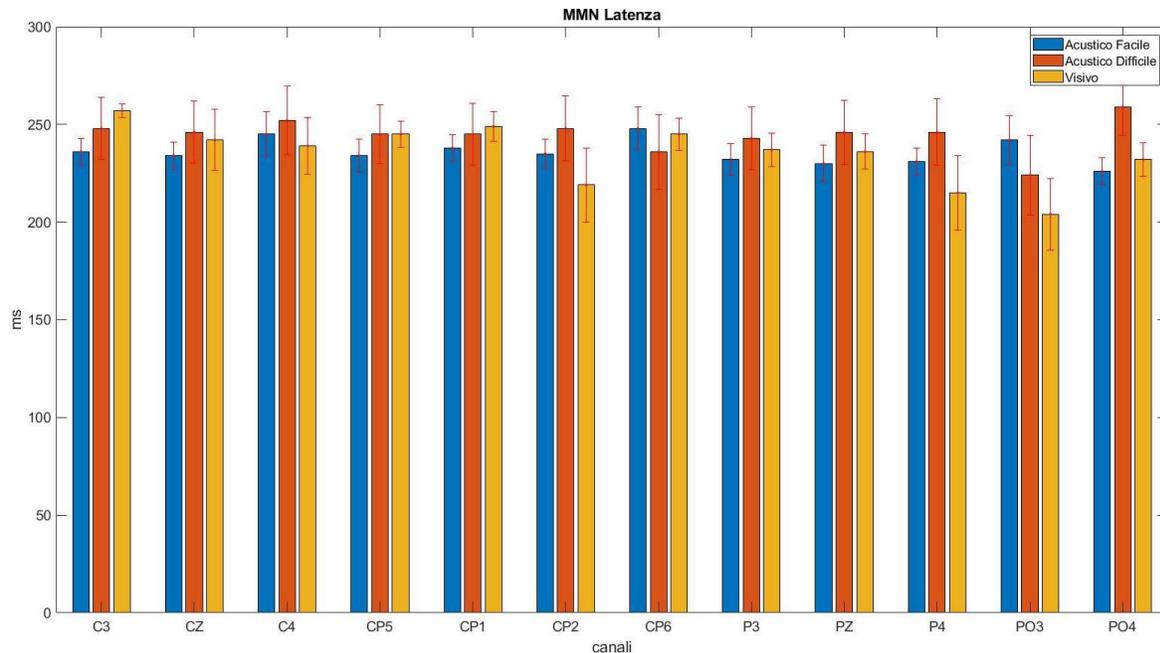


Figura 4.4.5: Latenze componente MMN (mediate su tutti i soggetti), Acustico facile (blu). Acustico difficile (rosso). Visivo (giallo). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Dalla figura 4.4.5 si può notare che la latenza della componente *MMN* è molto simile nei tre casi. La *MMN* infatti riflette la percezione della discrepanza tra lo stimolo *deviant* e *standard* ed è già la manifestazione dei primi processi di elaborazione. La differenza tra i tre paradigmi, a livello di *MMN* si riflette maggiormente sull'ampiezza piuttosto che sulla latenza. In particolar l'ampiezza è maggiore per il paradigma 'acustico facile', caratterizzata da una elevata discrepanza tra i due stimoli, rispetto agli altri due paradigmi. La *MMN* per il paradigma visivo tende ad avere ampiezza maggiori rispetto all'acustico difficile (tranne che in C3).

Nelle figure 4.4.6 (Ampiezza) e 4.4.7 (Latenza) vengono riportate le caratteristiche della *P300*.

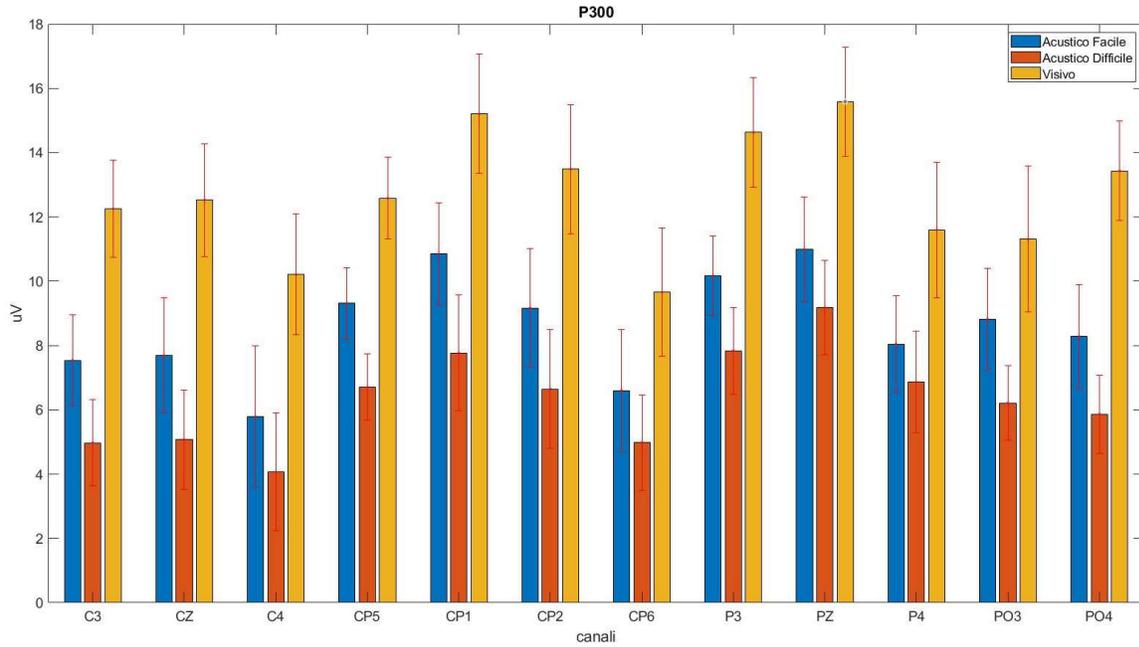


Figura 4.4.6: Ampiezze componente P300 (mediate su tutti i soggetti). Acustico facile (blu). Acustico difficile (rosso). Visivo (giallo). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

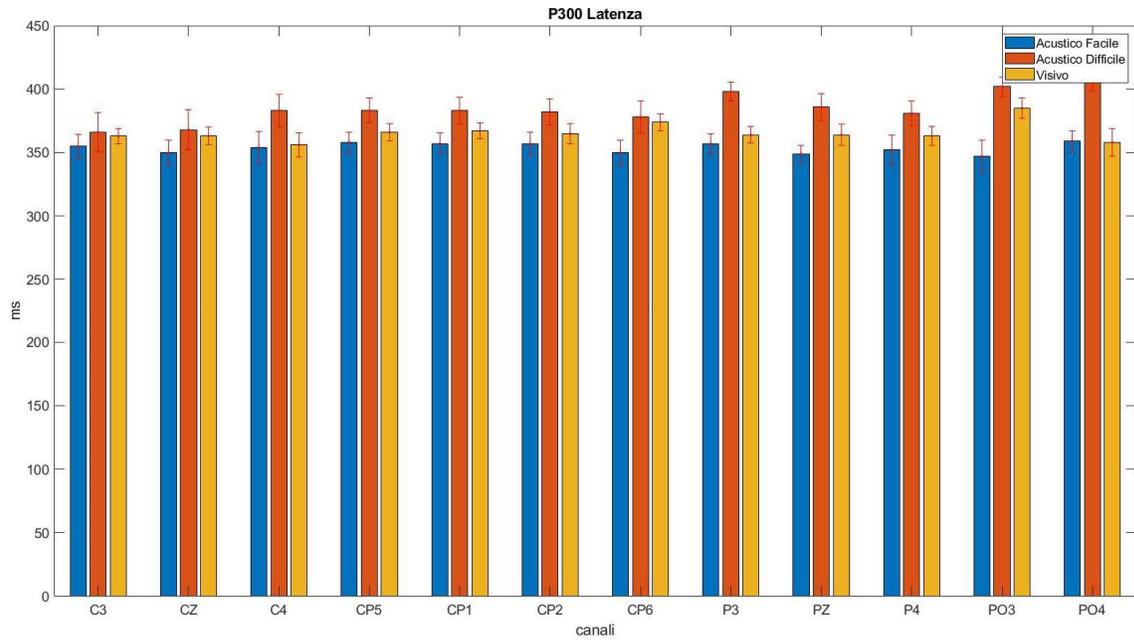


Figura 4.4.7: Ampiezze componente MMN (mediate su tutti i soggetti), Acustico facile (blu). Acustico difficile (rosso). Visivo (giallo). Le linee indicano lo standard error of the mean (SEM).

Dalla figura 4.4.6 emerge una maggiore ampiezza della componente P300 nel paradigma visivo rispetto ai due paradigmi acustici. E' anche interessante osservare che traspare una differenza in

ampiezza della componente *P300* fra la prova “acustico facile” e “acustico difficile” (maggiore per l’ “acustico facile” e minore per l’ “acustico difficile”). Tale differenza è confermata dalla letteratura che indica, che a una differenziazione minore fra gli stimoli *standard* e *deviant* corrisponde una minor ampiezza della componente *P300*. A tale proposito, sono stati applicati dei paired t-test, ad alcuni elettrodi, fra l’ampiezza della componente *P300* della prova “visiva” confrontata con quella ottenuta dalle prove acustiche (vedi tabella 4.1). Viene riportato il p-value e il risultato di significatività (0 non significativo, 1 significativo, con soglia 0.05) ottenuti a cui non è stata applicata alcuna correzione per confronti multipli.

Tabella 4.1: P-value ottenuto dai paired t-test confronto dell’ampiezza della componente *P300* fra la prova “visiva” e le prove acustiche con significatività del 5%.

Elettrodo di confronto	P-value ampiezza <i>P300</i> prova “visiva” vs prova “acustica facile”	P-value ampiezza <i>P300</i> prova “visiva” vs prova “acustica difficile”
P3	P-value = 0.0425 Risultato=1	P-value = 0.0418 Risultato=1
PZ	P-value = 0.0961 Risultato=0	P-value = 0.0413 Risultato=1
PO3	P-value = 0.3620 Risultato=0	P-value = 0.0853 Risultato=0
PO4	P-value = 0.0614 Risultato=0	P-value = 0.0074 Risultato=1

I t-test significativamente positivi (risultato=1) indicati nella tabella 4.1 falliscono se applicata la correzione di Bonferroni per le comparazioni multiple. Questo può essere dovuto a un basso numero di soggetti poiché sembra esserci un trend comune di differenziazioni di ampiezza fra la componente *P300* della prova “visiva” rispetto a quella delle prove acustiche.

Tabella 4.2: P-value ottenuto dai paired t-test confronto della latenza della componente *P300* fra la prova “acustico facile” e la prova “acustico difficile” con significatività del 5% (valore=0.05).

Elettrodo di confronto	P-value latenza <i>P300</i> prova “acustica facile” vs prova “acustica difficile”
P3	P-value = 0.0346 Risultato=1
PZ	P-value = 0.0177 Risultato=1
PO3	P-value = 0.0398 Risultato=1
PO4	P-value = 0.0297 Risultato=1

Dalla figura 4.4.7 traspare, come da aspettative, una differenza in latenza fra la prova “acustico facile” e “acustico difficile”. Anche in questo caso sono stati applicati dei paired t-test (vedi tabella 4.2).

Anche in questo caso i risultati significativamente positivi falliscono se si applica la correzione di Bonferroni per le comparazioni multiple. Ma anche in questo caso sembra esserci un trend comune di differenziazione fra la latenza della componente P300 nel caso della prova “acustico facile” e “acustico difficile”.

Conclusioni

In questo elaborato ci si è focalizzati sull'analisi dei potenziali evocati evento-correlati (Event-Related Potentials, ERP), nello specifico ci si è concentrati sulle componenti *NI*, *MMN* (Mismatch Negativity) e *P300*. L'analisi dei potenziali evocati è fondamentale per studiare i processi cerebrali che permettono l'elaborazione e la memorizzazione delle informazioni associate agli stimoli (o eventi).

In particolare, in questo lavoro si sono voluti implementare tre differenti protocolli sperimentali oddball (due uditivi e uno visivo). Si è scelto il paradigma di oddball per evidenziare le componenti più endogene (in particolare la *P300* legata a meccanismi di attenzione volontaria), sia le componenti più esogene ed 'automatiche' (*NI00* e *MMN*). Tale paradigma consiste nel presentare al soggetto una serie di stimoli frequenti, detti *standard*, interrotta da stimoli infrequenti, detti *deviant*. L'ordine degli stimoli deve essere casuale. Il protocollo realizzato sfrutta dei paradigmi oddball attivi, ovvero dove viene chiesto al soggetto di eseguire un'azione quando gli si presenta uno stimolo *deviant*; l'azione in questo elaborato consisteva nel premere un pulsante. Il protocollo realizzato comprende al suo interno tre differenti prove ("acustico facile", "acustico difficile", "visivo") separate temporalmente fra loro da pochi minuti (il tempo di preparare l'acquisizione successiva). L'ordine delle tre prove è stato scelto in maniera casuale per ogni soggetto. Nelle prove acustiche vengono presentati due stimoli uditivi che si differenziano fra loro per tonalità. Nella prova "acustico facile" la differenza di tonalità è molto ampia mentre nella prova "acustico difficile" vi è poca differenza fra le tonalità dei due suoni. Nella prova "visiva" vengono presentati stimoli visivi differenziati fra loro a seconda del colore di accensione del led (rosso o verde).

A tale proposito si è realizzato un circuito su breadboard, corredato di un led e un altoparlante, comandato da una scheda Arduino. I segnali cerebrali durante le tre prove sono state acquisite grazie a un sistema EEG disponibile presso il Laboratorio di Ingegneria Biomedica del Campus di Cesena (Open BCI). I segnali EEG sono stati acquisiti insieme ad un segnale trigger, generato da parte della scheda Arduino; tale segnale si attivava in corrispondenza della presentazione dello stimolo. Inoltre, venivano memorizzate le posizioni degli stimoli *deviant* all'interno della serie di stimoli. Questo ha reso possibile l'implementazione della *tecnica dell'averaging* (estrazione di epoche time-locked alla presentazione dello stimolo e loro media) per l'estrazione dei potenziali ERP dall'EEG di fondo, e la separazione tra epoche *deviant* ed epoche *standard*. Alla scheda Arduino è stato assegnato il compito, tramite software, della generazione degli stimoli e della differenziazione fra *deviant* e *standard*. Negli stimoli uditivi è sufficiente variare la frequenza

dell'onda che li genera per variare la tonalità. Mentre per gli stimoli uditivi viene variata la colorazione del led.

In questo studio è stato dato rilievo alle componenti ERP *N100*, *MMN*, *P300*. La componente *N1* è un picco di polarità negativa che si manifesta fra i *80-120ms* post-stimolo in risposta agli stimoli uditivi e a circa *150ms* in risposta agli stimoli visivi. La componente *N100* è una componente esogena, per cui non riflette al suo interno processi di elaborazione ma risulta essere una risposta immediata. La componente *MMN* viene identificata come la minore differenza (è un picco con polarità negativa) fra la risposta agli stimoli *deviant* e la risposta agli stimoli *standard* attorno ai *200ms*. Questa componente deriva dalla componente *N200* che riflette processi di discriminazione "pre-attentivi" degli stimoli (cioè che avvengono anche in assenza di un'allocatione volontaria di attenzione). La componente *P300* risulta essere un picco con polarità positiva fra i *300-450ms*. Tale componente riflette al suo interno i processi di elaborazione e di memorizzazione del contenuto informativo degli stimoli. Risulta amplificata quando il soggetto pone una maggiore attenzione e si mostra solo in risposta agli stimoli *deviant*.

I segnali EEG sono stati acquisiti su otto soggetti per poi essere visualizzati singolarmente e mediati per generare la Grand Average. Per ciascuna componente analizzata (*N100*, *MMN*, *P300*) sono state estratte le caratteristiche di latenza e di ampiezza in ciascun elettrodo e per ciascuno soggetto; i valori mediati sui soggetti (\pm SEM) per ciascuna delle tre prove sono stati visualizzati ed analizzati. Inoltre, si è proceduto ad un confronto di tali caratteristiche tra le tre prove. Per quanto riguarda la *N100*, i risultati ottenuti mostrano come la componente *N100* non vari fra la risposta agli stimoli *standard* e *deviant*. Questo è in accordo con la natura esogena di tale componente che riflette una risposta immediata allo stimolo. Inoltre, i risultati hanno confermato una latenza superiore in risposta a stimoli visivi (\approx 160-170ms post stimolo) rispetto a stimoli acustici (\approx 120ms post-stimolo) in accordo con la letteratura. Per quanto riguarda l'ampiezza della *N100*, essa appare maggiore in risposta a stimoli acustici rispetto a stimoli visivi, in particolare negli elettrodi più centrali. Per quanto riguarda la componente *MMN*, che riflette una detezione 'automatica' di cambiamento nelle proprietà fisiche dello stimolo fra *standard* e *deviant*, appare maggiore nella prova 'acustico facile' (in linea con la maggiore differenza tra i toni dei due stimoli usati) rispetto alle altre due prove, in particolare negli elettrodi con una collocazione più centrale. La latenza della *MMN* è simile nelle tre prove intorno a 240-250ms post-stimolo. Per quanto riguarda la componente *P300*, tende a mostrare una differenza di ampiezza fra la risposta alle prove acustiche rispetto alla risposta alla prova visiva; in particolare la *P300* in risposta a stimoli visivi tende ad essere di ampiezza maggiore che in risposta a stimoli acustici. Inoltre, confrontando le due prove 'acustico

facile' e 'acustico difficile' la *P300* tende ad avere ampiezza maggiore nel primo caso rispetto al secondo, in linea con la letteratura scientifica che riporta ampiezza di *P300* maggiore in caso di maggiore differenziazione tra stimoli *deviant* e *standard*. Infine, la componente *P300* tende a presentarsi con latenza maggiore (di poche decine di ms) nella prova "acustico difficile" rispetto alla prova "acustico facile". Questo potrebbe rappresentare un maggior tempo di processamento e codifica dello stimolo *deviant* richiesto nel caso in cui lo stimolo *deviant* sia più simile allo stimolo *standard*.

In conclusione, si è realizzato un sistema in grado di implementare paradigmi oddball visivi e uditivi, acquisire le risposte cerebrali e comportamentali durante tali paradigmi ed elaborare i segnali off-line per l'estrazione degli ERP e la caratterizzazione delle loro componenti. Tale sistema può essere facilmente adattato per altre stimolazioni sensoriali (ad es. somatosensoriale, attraverso l'uso di dispositivi vibranti piezoelettrici) o per implementare paradigmi che combinano stimolazioni sensoriali diverse, dato che il circuito è realizzato su un'unica breadboard. Nonostante il numero ridotto di soggetti acquisiti, che rappresenta il principale limite di questo studio, i risultati hanno evidenziato la tendenza delle componenti ERP a differenziarsi in funzione del tipo di prova eseguita, in alcune delle loro caratteristiche. I risultati ottenuti in questo lavoro possono essere meglio approfonditi e confermati tramite l'acquisizione di un maggior numero di soggetti, evidenziando meglio i trend delle componenti ERP emersi in questo studio.

Bibliografia e sitografia

[1] Avanzolini G., Magosso E. “Strumentazione biomedica progetto e impiego dei sistemi di misura” Pàtron Editore (pp 245-247, pp 259-266, pp 276-283)

[2] <https://www.docsity.com/it/2-anatomia-parte-2/618779/>

[3] <https://www.slideshare.net/drrahulkumarsingh/eeg-generators>

[4]https://www.researchgate.net/figure/The-international-10-20-system-for-electrode-placement-on-the-scalp-defines-a-set-of_fig5_215509007

[5]<https://www.semanticscholar.org/paper/The-five-percent-electrode-system-for-EEG-and-ERP-Oostenveld-Praamstra/b43b2951baa9d50f3e171a93f62f5733c2c37d0d/figure/0>

[6]https://www.researchgate.net/figure/From-EEG-to-ERP-Averaging-procedure-resulting-in-a-typical-auditory-ERP-waveform_fig1_38137355

[7]” The spatio-temporal dynamics of deviance and target detection in the passive and active auditory oddball paradigm: a sLORETA study” Christoph Justen and Cornelia Herbert, BMC Neuroscience 19(1):25, pp. 1-18

[8] https://en.wikipedia.org/wiki/Event-related_potential

[9] <https://openbci.com/>

[10]<https://shop.openbci.com/collections/frontpage/products/cyton-daisy-biosensing-boards-16-channel?variant=38959256526>

[11] <https://docs.openbci.com/docs/06Software/01-OpenBCISoftware/GUIDocs>

[12] https://it.wikipedia.org/wiki/Partitore_di_tensione

[13] https://en.wikipedia.org/wiki/MIDI_tuning_standard

[14]<https://www.ledlight-components.com/sale-10001442-round-lamp-5mm-bi-color-led-3-pins-common-anode-hyper-red-pure-green-traffic-light.html>

[15] <https://www.arduinoelectronics.com/resistenze-di-pull-up-pull-down/>

[16] <https://www.slideserve.com/chynna/the-erp-boot-camp>