

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

**IL POTENZIALE CEREBRALE P300 EVOCATO DA STIMOLI ACUSTICI:  
ACQUISIZIONE E ANALISI**

Elaborato in  
STRUMENTAZIONE BIOMEDICA

Relatore

Prof.ssa ELISA MAGOSSO

Correlatore

Prof. MAURIZIO LANNOCCA

Presentata da

Federico Babini

Anno Accademico 2018/2019



## **Parole Chiave**

Segnali elettroencefalografici

Potenziali evento-correlati

Paradigma oddball

Componente P300

Arduino



# Indice

<b>Introduzione</b> .....	3
---------------------------	---

## Capitolo 1

<b>Il segnale elettroencefalografico e i potenziali evento-correlati</b> .....	7
1.1 Elettroencefalografia (EEG).....	7
1.2 Il neurone .....	8
1.3 Potenziale di membrana e potenziale d'azione .....	10
1.4 Encefalo e midollo spinale.....	15
1.5 Origine dei segnali elettroencefalografici di superficie.....	17
1.6 Standard 10-20 di posizionamento degli elettrodi .....	20
1.7 Ritmi cerebrali .....	21
1.8 Potenziali evento – correlati e P300.....	23

## Capitolo 2

<b>Hardware e Software per la generazione degli stimoli e per l'acquisizione delle risposte</b> .....	27
2.1 Strumentazione per l'acquisizione del segnale EEG .....	27
2.2 Problema del trigger .....	30
2.3 Generazione degli stimoli esterni.....	32
2.4 Acquisizione della risposta tramite pulsante .....	37

## Capitolo 3

<b>Il protocollo di acquisizione e l'elaborazione dei segnali</b> .....	41
3.1 Contesto: Il Paradigma Oddball .....	41
3.2 Partecipanti .....	42
3.3 Procedura generale: passive e active listening .....	42
3.4 Paradigma di oddball realizzato per il passive and active listening .....	43
3.5 Acquisizione dei segnali EEG .....	45
3.6 Elaborazione dei dati con Matlab.....	46
3.6.1 Filtraggio dei segnali EEG con filtro passa - banda .....	47
3.6.2 Visualizzazione dei segnali EEG.....	48
3.6.3 Identificazione di segnali corrotti da disturbi elevati .....	49
3.6.4 Segmentazione dei segnali EEG in epoche deviant e epoche standard .....	50
3.6.5 Baseline correction e visualizzazione della componente P300 dagli elettrodi acquisiti .....	52
3.6.6 Salvataggio dei dati.....	53
3.6.7 Grand Average.....	54

## Capitolo 4

<b>Visualizzazione e analisi dei potenziali evocati ottenuti</b> .....	57
4.1 Elettrodi rimossi dal calcolo dell'ERP.....	57
4.2 I potenziali evocati nel singolo soggetto nel passive e nell'active listening .....	58
4.3 Grand average nel passive e nell'active listening .....	65

<b>Conclusioni</b> .....	69
--------------------------	----

<b>Bibliografia e sitografia</b> .....	73
--	----

## Introduzione

Il lavoro svolto nel presente elaborato ha riguardato i Potenziali Evento Correlati (Event-Related Potential, ERP) in risposta a stimoli uditivi; in particolare ci si è concentrati su una componente specifica degli ERP, la componente P300. I potenziali evocati si riferiscono a modificazioni piccole (pochi  $\mu V$ ) del tracciato elettroencefalografico in risposta ad uno stimolo che può essere visivo, uditivo o somoestetico. Lo studio dei potenziali evocati è fondamentale nelle neuroscienze perché permette di analizzare i processi neurali che stanno alla base della memorizzazione, elaborazione e interpretazione di informazioni provenienti da stimoli/eventi sia esterni che interni. Ogni volta che ci viene presentato uno stimolo un potenziale evento correlato viene generato. Questa risposta però è immersa nel segnale elettroencefalografico (EEG) di fondo (attività di background) poiché è di ampiezza molto inferiore e quindi richiede specifiche elaborazioni per poter essere rilevata. Per far emergere i potenziali evento – correlati dal tracciato EEG, vengono presentati in maniera ripetuta più stimoli al soggetto ad intervalli di tempo regolari e costanti e contemporaneamente viene acquisito il segnale EEG in modalità continua. Il segnale EEG così acquisito viene poi elaborato tramite la *tecnica dell'averaging*: viene scomposto in segmenti time-locked, chiamati epoche o trials, sincronizzati e allineati rispetto alla presentazione dello stimolo e di questi segmenti viene calcolata la media. Così facendo si ottiene il potenziale evocato medio relativo a quello specifico stimolo che risulta essere ripulito dal rumore di fondo.

I potenziali ERP, una volta estratti, si presentano come una serie di deflessioni positive o negative dette componenti del potenziale. Tali componenti si differenziano una dall'altra a seconda della loro ampiezza, latenza dallo stimolo che le ha generate, polarità e distribuzione sullo scalpo.

Fondamentale per poter applicare la tecnica dell'averaging all'EEG e quindi estrarre i potenziali evento-correlati, è che il protocollo sperimentale preveda un segnale che consenta di sincronizzare l'acquisizione dell' EEG con la presentazione dello stimolo. Questo segnale, chiamato trigger, deve essere acquisito simultaneamente ai segnali EEG, segnalando ogni volta l'inizio dell'evento o stimolo di interesse; esso costituisce una sorta di 'marker' di inizio evento/stimolo che consente quindi successivamente (in fase di elaborazione offline dei segnali) di segmentare correttamente il segnale EEG in trial e di allineare i trial all'evento esterno. Tale segnale di trigger è quindi indispensabile per ottenere gli ERP ed evidenziare la P300 attraverso la tecnica dell'averaging.

In questo elaborato si è voluto analizzare un particolare potenziale evocato, il potenziale P300. Si tratta di un potenziale positivo di ampiezza pari circa a  $10 \mu V$  che si manifesta con un ritardo di

circa 300 ms rispetto alla presentazione dello stimolo. Viene definito potenziale endogeno in quanto dipende, oltre che dallo stimolo generante, anche dal livello di attenzione posto dal soggetto. Per far emergere il potenziale P300 dal tracciato EEG viene generalmente utilizzato il paradigma *oddball*. In tale paradigma il soggetto viene esposto ad una successione continua di due stimoli che si differenziano per una caratteristica fisica (ad esempio, nel caso di paradigma di oddball acustico, due suoni con diversa altezza): uno dei due stimoli, detto standard, si presenta con maggiore frequenza, cioè ha più probabilità di presentarsi mentre l'altro stimolo detto deviante (o target) si presenta più raramente, cioè ha minore probabilità di presentarsi. Pertanto, nel paradigma oddball gli stimoli infrequenti (devianti) sono interposti a una serie di stimoli più frequenti (standard). In corrispondenza alla presentazione dello stimolo deviante, si osserva la componente P300.

Il primo obiettivo di questo lavoro di tesi è stato lo sviluppo di un sistema (con componenti hardware e software) che permettesse di implementare un paradigma sperimentale di oddball acustico, un sistema cioè in grado di: i) generare una successione di due stimoli acustici con diversa caratteristica fisica, di cui uno frequente e uno raro, presentati in modo random, ma tenendo traccia dell'ordine di presentazione; ii) generare un trigger sincronizzato con l'inizio di ciascun stimolo; iii) rendere il trigger adatto alla sua acquisizione da parte di un sistema EEG (OpenBCI) simultaneamente ai segnali elettroencefalografici; iv) segmentare i segnali EEG in epoche sulla base del trigger, per l'estrapolazione degli ERP con la tecnica dell'averaging. Il secondo obiettivo di questo lavoro di tesi è stato quello di testare il funzionamento del sistema, acquisendo i segnali EEG su alcuni soggetti sottoposti al paradigma di oddball acustico implementato, e calcolando i potenziali ERP in risposta allo stimolo standard e allo stimolo deviante. Questo è stato fatto usando due paradigmi di oddball: un paradigma di oddball passivo (in cui non è richiesta alcuna risposta comportamentale) e un paradigma di oddball attivo (in cui è richiesta una risposta comportamentale in corrispondenza allo stimolo deviante). L'utilizzo dei due paradigmi di oddball permette di valutare come l'attenzione volontaria posta verso lo stimolo deviante (target) durante la prova attiva possa generare una componente P300 di ampiezza maggiore rispetto alla prova passiva. Infatti, dalla letteratura scientifica è noto che l'ampiezza della componente P300 è maggiore in risposta a stimoli devianti a cui il soggetto presta volontariamente attenzione, rispetto a stimoli devianti uditi passivamente.

La tesi è suddivisa in quattro capitoli.

Il Capitolo 1 introduce il lettore al segnale elettroencefalografico, ovvero la registrazione dell'attività elettrica cerebrale. Segue una breve trattazione sui neuroni e sui potenziali sinaptici, quindi si descrive l'origine dei segnali EEG di superficie. Vengono poi descritti i diversi ritmi



cerebrali e introdotti i potenziali evento - correlati, illustrando la tecnica dell'averaging per la loro estrazione del segnale EEG di fondo. In particolare viene descritto la componente P300, oggetto di questo studio.

Il Capitolo 2 presenta l'hardware e il software per la generazione degli stimoli esterni e l'acquisizione delle risposte. Prima di tutto viene descritto il sistema EEG utilizzato per acquisire i segnali cerebrali con il relativo software (sistema OpenBCI). Successivamente viene introdotto il problema della sincronizzazione e allineamento dei trials rispetto alla presentazione dello stimolo, e come è stato risolto attraverso la generazione di un opportuno segnale di trigger. Viene poi descritto come gli stimoli esterni sono generati, quindi come il suono viene riprodotto e come la risposta comportamentale nel paradigma di oddball attivo viene acquisita.

Il Capitolo 3 descrive il protocollo di acquisizione e elaborazione offline dei dati acquisiti. In primo luogo viene descritto in dettaglio il paradigma oddball implementato per far emergere il potenziale P300 dal tracciato EEG. Sono poi state presentate le modalità di svolgimento della prova, definendo il numero di partecipanti e la procedura generale su cui si basa il protocollo (prova passiva e prova attiva) e in più sono stati descritti i valori di tutti i parametri utilizzati per la generazione degli stimoli uditivi. Infine è stata descritta l'elaborazione in Matlab applicati ai segnali EEG acquisiti per poter estrapolare e visualizzare il potenziale ERP per ogni elettrodo acquisito.

Il Capitolo 4 è dedicato alla presentazione e all'analisi dei potenziali evocati ottenuti. Vengono descritti gli elettrodi rimossi per il calcolo dell'ERP perché eccessivamente disturbati e vengono presentati i risultati relativi al paradigma di oddball passivo e attivo per ogni singolo soggetto acquisito. Infine vengono mostrati gli ERP mediati su tutti i soggetti (Grand Average) sia per la prova passiva che per la prova attiva.

Infine vengono presentate le conclusioni sul lavoro svolto.



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

## 1.1 Elettroencefalografia (EEG)

L'elettroencefalografia è la registrazione dell'attività elettrica cerebrale e permette di valutare lo stato funzionale del cervello. La sua scoperta si deve all'inglese Richard Caton che nel 1875 riuscì a registrare l'attività elettrica nel cervello esposto di un animale. Soltanto nel 1924 il tedesco Hans Berger fu in grado di effettuare una registrazione dell'attività elettrica cerebrale direttamente sulla superficie del cranio di soggetti umani, coniando il termine *Elektenkephalogram* (da cui poi *Elettroencefalogramma*). Da questo momento in avanti l'elettroencefalografia divenne una pratica diffusa in tutto il mondo e molte aziende iniziarono a svilupparsi nella produzione di apparecchiature per diagnostica EEG, tanto che negli anni '40 e '50 si assistette alla moltiplicazione di aziende produttrici americane, europee e giapponesi. Negli anni '80 fu introdotto l'elettroencefalografo digitale che gradualmente andò a sostituire quelli obsoleti analogici, fino ad arrivare agli anni 2000 in cui l'EEG si affermò nell'ambito della terapia intensiva, nelle sale operatorie e nelle neuroscienze cognitive che si occupano dello studio del sistema nervoso e come questo influenza le risposte cerebrali[1].

L'attività elettrica cerebrale può essere registrata mediante tre tipi di elettrodi sulla base dei quali si possono definire tre principali metodiche:

1. *Elettroencefalografia di superficie o standard (EEG)*: gli elettrodi sono posizionati sullo scalpo. È una tecnica non invasiva e risulta essere la più utilizzata sia in pazienti ambulatoriali sia ricoverati.
2. *Elettrocorticografia (ECoG)*: gli elettrodi sono posizionati direttamente sulla superficie della corteccia cerebrale.
3. *Stereoelettroencefalografia (SEEG)*: gli elettrodi ad ago sono posizionati in profondità nel tessuto cerebrale [1].

Come detto, la prima metodica è non invasiva mentre le altre due metodiche sono fortemente invasive e per questo riservate a casi particolarmente complessi e selezionati [1]. Chiaramente, in questo lavoro di tesi è stata utilizzata l'elettroencefalografia di superficie a cui si farà dunque riferimento nel seguito.

L'elettroencefalografia è una rappresentazione grafica (Figura 1.1) della differenza di potenziale fra due diverse posizioni in funzione del tempo. Utilizza il principio dell'amplificazione differenziale registrando differenze di tensione tra i diversi punti utilizzando una coppia di elettrodi che confronta un sito attivo di esplorazione con un elettrodo di riferimento. Solo attraverso la misurazione delle differenze di potenziale elettrico si possono distinguere le forme d'onda EEG generate[2].

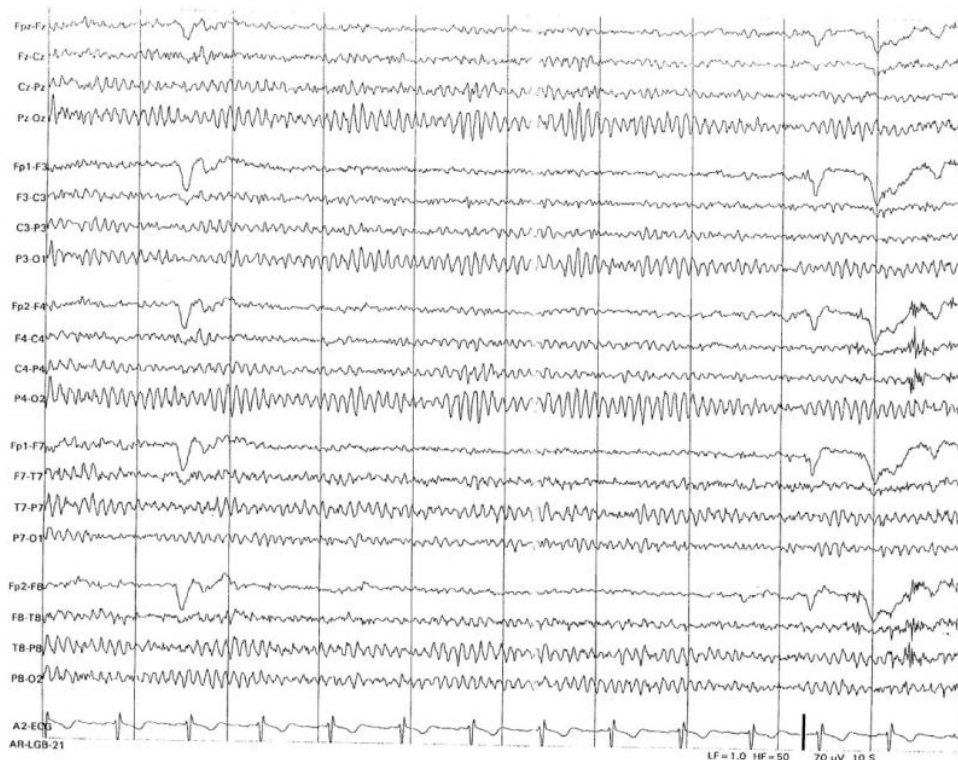


Figura 1.1: Tipico tracciato EEG di superficie tratto da [2]

Nei successivi paragrafi verranno introdotte alcune nozioni fondamentali di neurofisiologia necessarie per illustrare l'origine del segnale elettroencefalografico di superficie.

## 1.2 Il neurone

Il sistema nervoso è composto da due principali tipi di cellule: i *neuroni* e le *cellule gliali*. A differenza delle prime, le seconde non partecipano direttamente alla trasmissione di segnali elettrici ma svolgono un importante ruolo di supporto biochimico contribuendo alla produzione di mielina, un isolante che si forma intorno agli assoni e accelera la trasmissione di segnali, e alla formazione della barriera emato-encefalica che impedisce il passaggio di sostanze dannose nel cervello [1-3].

Il ruolo principale dei neuroni è proprio quello di generare, elaborare e trasmettere informazioni (segnali elettrici) nel sistema nervoso centrale. Il neurone può essere considerato composto da quattro regioni principali (Figura 1.2):

- Zona di ricezione (input): il neurone riceve segnali da altre cellule attraverso i dendriti (fibre afferenti).
- Zona di integrazione: è costituita dal soma (o corpo cellulare) che si occupa dell'elaborazione delle informazioni ricevute in ingresso e del controllo dell'attività neuronale.
- Zona di conduzione: le informazioni elaborate dal soma vengono condotte sotto forma di segnali elettrici fino agli organi bersaglio attraverso gli assoni (fibre efferenti).
- Zona di trasmissione (output): attraverso i terminali assonici (o bottoni sinaptici) si realizzano le sinapsi con altre cellule bersaglio. Le sinapsi sono i siti di comunicazione tra due neuroni. In corrispondenza alla sinapsi, il neurone che trasmette il segnale è detto cellula presinaptica, mentre quello che riceve il segnale è detto cellula postsinaptica. I neuroni pre- e post-sinaptici non sono in comunicazione fisica ma sono separati da una piccola fessura chiamata fessura sinaptica [4].

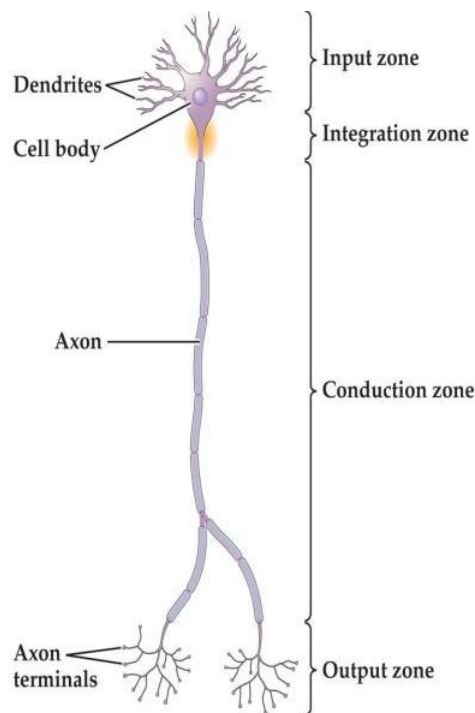


Figura 1.2: Struttura della cellula neuronale tratta da [4]

### 1.3 Potenziale di membrana e potenziale d'azione

La membrana cellulare è costituita da un doppio strato fosfolipidico all'interno del quale sono contenute proteine che costituiscono i canali ionici. Nonostante l'organismo sia nel complesso elettricamente neutro, la diffusione e il trasporto attivo mediante carrier (proteina trasportatrice) che utilizza energia per trasportare gli ioni positivi fuori dalla cellula contro un gradiente di concentrazione, generano un gradiente elettrico ai capi della membrana e la cellula tenderà ad essere più negativa all'interno rispetto che all'esterno. Il gradiente elettrico tra liquido extracellulare e liquido intracellulare prende il nome di *differenza di potenziale di membrana a riposo* o semplicemente *potenziale di membrana*. Per le cellule nervose il potenziale di membrana a riposo è compreso tra -40 e -90 mV[3].

Nella maggior parte delle cellule viventi il potenziale di membrana a riposo è influenzato principalmente dallo ione  $K^+$ . Supponiamo inizialmente che la membrana sia permeabile solo al potassio. Gli ioni  $K^+$  si muovono secondo gradiente di concentrazione e sono diretti verso l'esterno della cellula (essendo lo ione  $K^+$  presente in concentrazione maggiore all'interno della membrana) con conseguente accumulo di cariche negative all'interno della cellula in quanto le proteine negative ( $Pr^-$ , presenti nel citoplasma) non sono in grado di attraversare la membrana. La diminuzione di ioni positivi  $K^+$  all'interno della cellula genera un gradiente elettrico che tende ad opporsi a tale movimento. Nel momento in cui il gradiente di concentrazione (che tende a portare fuori dalla cellula gli ioni  $K^+$ ) è bilanciato dal gradiente elettrico (che tende a riportare gli ioni  $K^+$  all'interno) si crea una situazione in cui il flusso uscente ed entrante di ioni  $K^+$  è uguale e cioè il movimento netto è nullo. Il potenziale di membrana che bilancia esattamente il gradiente di concentrazione prende il nome di *potenziale di equilibrio* e può essere calcolato mediante l'equazione di Nernst:

$$E_{ione} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[ione]_{est}}{[ione]_{int}}$$

dove: R costante dei gas perfetti, T temperatura assoluta, F costante di Faraday, z carica elettrica delle ione,  $[ione]_{est}$  e  $[ione]_{int}$  concentrazioni delle ione all'esterno e all'interno della cellula.

Il potenziale di equilibrio per il potassio  $E_K$  è di circa -90 mV, valore troppo basso rispetto ai valori standard di potenziali di membrana. Questo significa che ci sarà il contributo di qualche altro ione al potenziale di membrana che porterà il suo valore interno a -70 mV. Un elemento influenzante è la presenza di sodio  $Na^+$ ; i neuroni a riposo sono leggermente permeabili agli ioni  $Na^+$  (presenti in concentrazione maggiore all'esterno della membrana) e l'entrata di  $Na^+$  rende il potenziale di membrana a riposo un po' meno negativo essendo il potenziale di equilibrio del sodio  $E_{Na}$  pari circa a +60 mV.

Nella realtà la membrana cellulare non è permeabile ad un solo ione bensì ad un numero maggiore di ioni. La tabella 1.1 mostra le concentrazioni ioniche ai capi della membrana cellulare che contribuiscono a determinare il potenziale di membrana a riposo. Per il calcolo del potenziale di equilibrio dello ione non si utilizzerà più l'equazione di Nernst e si dovrà ricorrere ad un'equazione analoga, detta equazione di Goldman-Hodgkin-Katz, che tiene conto sia delle concentrazioni ioniche sia della permeabilità della cellula a ciascuno ione:

$$V_m = \frac{RT}{zF} \ln \frac{P_K[K^+]_{est} + P_{Na}[Na^+]_{est} + P_{Cl}[Cl^-]_{est} + \dots}{P_K[K^+]_{int} + P_{Na}[Na^+]_{int} + P_{Cl}[Cl^-]_{int} + \dots}$$

dove: R costante dei gas, T temperatura assoluta, F costante di Faraday, z carica elettrica delle ione,  $[ione]_{est}$  e  $[ione]_{int}$  concentrazioni delle ione all'esterno e all'interno della cellula e  $P_K$ ,  $P_{Na}$ ,  $P_{Cl}$  permeabilità della membrana relativamente agli ioni  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ .

Ione	Concentrazione liquido extracellulare (mM)	Concentrazione liquido intracellulare (mM)
<b>K<sup>+</sup></b>	5	150
<b>Na<sup>+</sup></b>	145	15
<b>Cl<sup>-</sup></b>	108	10
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	2	0,0001

Tabella 1.1: Concentrazioni ioniche ai capi della membrana cellulare tipiche di un mammifero

Il potenziale di membrana è quindi influenzato da due fattori principali:

- I gradienti di concentrazione ai capi della membrana cellulare;
- La permeabilità della membrana a questi ioni.

A questi due se ne aggiunge un terzo, la pompa sodio-potassio (detta anche  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasi). Il suo funzionamento consiste nel portare fuori dalla cellula 3  $\text{Na}^+$  ogni 2  $\text{K}^+$  che porta dentro, contro il loro gradiente elettrochimico. In questo modo la pompa contribuisce al potenziale di membrana, mantenendo stabili le concentrazioni di questi due ioni ai capi della membrana [3].

La figura 1.3 mostra un esempio di variazione di potenziale di membrana in funzione del tempo. Quando il potenziale diventa meno negativo, ovvero la differenza di potenziale tra liquido intracellulare ed extracellulare diminuisce si dice che la cellula è depolarizzata. Un ritorno al valore di riposo prende il nome di ripolarizzazione. Quando invece il potenziale diventa più negativo, ovvero la differenza di potenziale tra liquido intracellulare ed extracellulare aumenta si dice che la cellula è iperpolarizzata.

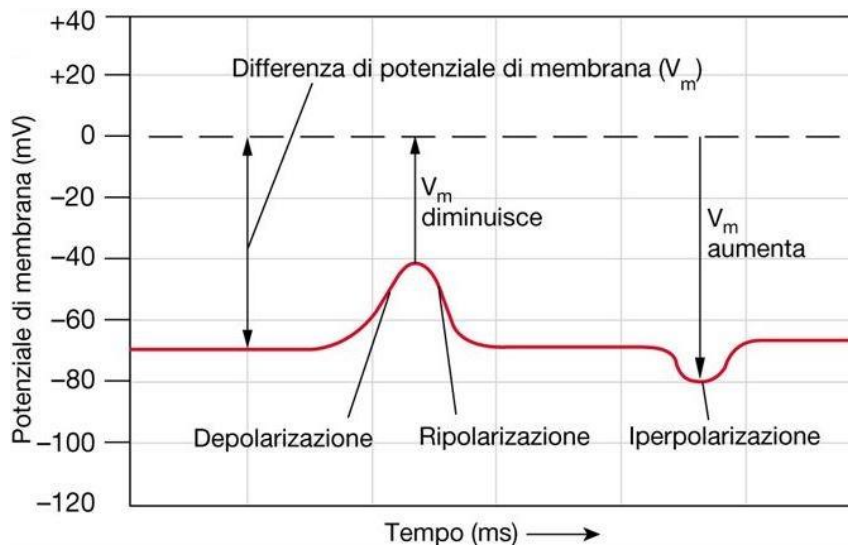


Figura 1.3: Variazione del potenziale di membrana in funzione del tempo con relativa terminologia tratta da [5]

Il principale meccanismo che regola la permeabilità della cellula agli ioni è l'apertura o la chiusura dei canali ionici presenti nella membrana cellulare. Infatti, oltre a canali ionici normalmente aperti nella membrana a riposo (detti canali non regolati o non-gated channels) che contribuiscono al potenziale di riposo, nella membrana sono presenti canali regolati (gated channels) che si aprono in risposta a stimoli elettrici (variazioni del potenziale di membrana) o in risposta a stimoli chimici (presenza di neurotrasmettitori). Nel primo caso si parla di canali voltaggio-dipendenti nel secondo



caso di canali ligando-dipendenti. Nel momento in cui i canali si aprono, gli ioni possono passare attraverso la membrana creando una corrente che seguirà il gradiente elettrochimico di quello ione. Generalmente gli ioni  $K^+$  tenderanno ad uscire dalla cellula, mentre  $Na^+$ ,  $Cl^-$  e  $Ca^{2+}$  tenderanno a muoversi verso l'interno della cellula.

Due sono i principali segnali elettrici che possono originarsi da questo movimento di cariche:

- *Potenziali graduati*: rispecchiano l'intensità dello stimolo che li genera e man mano la loro ampiezza si riduce sulla breve distanza che sono in grado di percorrere;
- *Potenziali d'azione*: originano da potenziali graduati che raggiungono la zona trigger di un neurone (zona di integrazione) con un'intensità relativamente ampia (sopra soglia). Si tratta di una rapida variazione del potenziale di membrana che si propaga su lunghe distanze senza ridurre la propria ampiezza né alterare la propria forma.

I potenziali d'azione si generano in risposta all'apertura di canali ionici voltaggio – dipendenti (che reagiscono cioè ai cambiamenti del potenziale di membrana) che modificano la permeabilità della membrana al sodio  $Na^+$  e al potassio  $K^+$ . La figura 1.4 descrive il processo di formazione di un potenziale d'azione, mostrando la variazione del voltaggio di tale potenziale in ogni fase.

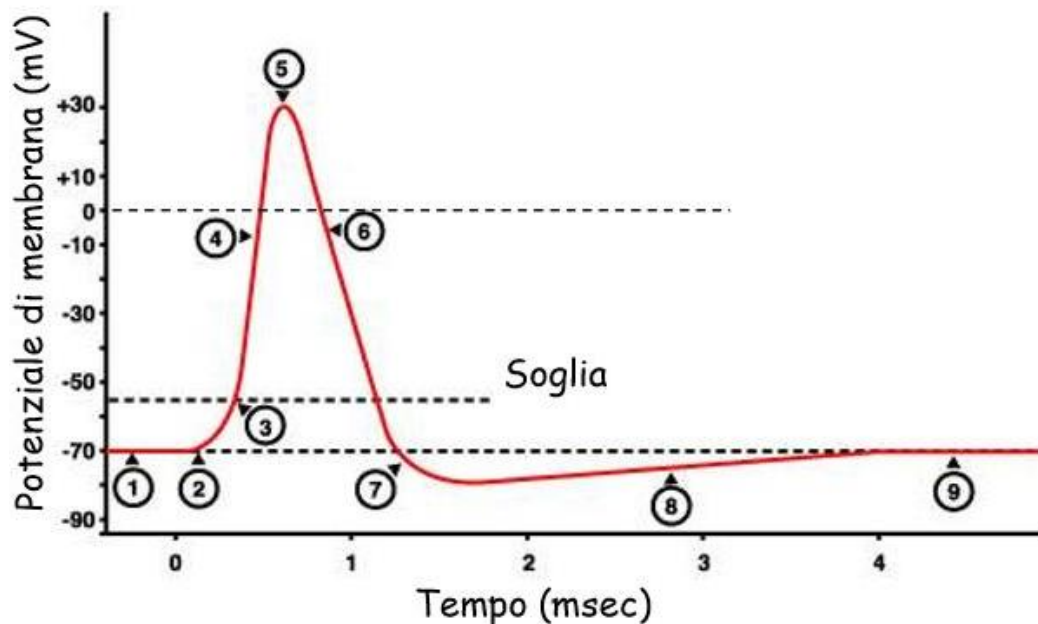


Figura 1.4: Variazione di voltaggio durante un potenziale d'azione. Le fasi da 1 a 9 sono descritte nel testo. Tratta da [3]

Prima e dopo il potenziale d'azione, la membrana si trova in condizioni di riposo e i canali ionici voltaggio – dipendenti sono chiusi (fase 1). Quando un potenziale graduato arriva in zona trigger (fase 2) e supera il livello di soglia (circa -55 mV) si aprono rapidamente i canali  $\text{Na}^+$  voltaggio – dipendenti (fase 3). Contemporaneamente si aprono anche i canali  $\text{K}^+$  voltaggio – dipendenti ma molto più lentamente. L'apertura dei canali per il sodio permette l'ingresso di tali ioni nel liquido intracellulare e l'interno della cellula diventa più positivo portando il potenziale a valori sempre meno negativi (fase 4). Nel momento in cui il potenziale di membrana diventa positivo, i canali del sodio iniziano a chiudersi ma resta comunque il gradiente di concentrazione del  $\text{Na}^+$ , e il sodio continua ad entrare nella cellula. Nel frattempo i canali per il potassio  $\text{K}^+$  raggiungono la massima apertura e senza che il potenziale raggiunga il valore di potenziale di Nernst per il sodio (circa +60 mV), si raggiunge il picco del potenziale d'azione di circa +30 mV (fase 5). Inizia ora la fase discendente del potenziale d'azione, influenzata soprattutto dall'apertura dei canali del potassio. Quando il potenziale raggiunge il picco, i canali  $\text{K}^+$  voltaggio – dipendenti sono completamente aperti e la permeabilità al potassio è molto elevata. Questo fenomeno favorisce l'uscita del potassio dalla cellula con conseguente rapida riduzione del potenziale fino a riportarlo al suo valore di riposo (fase 6). Nel momento in cui il potenziale, riducendosi, arriva al valore di riposo, i canali  $\text{K}^+$  voltaggio – dipendenti non sono ancora totalmente chiusi e il potassio continuerà ad uscire dalla cellula causando una iperpolarizzazione (fase 7). Dopo che i canali per il  $\text{K}^+$  si chiudono definitivamente, l'afflusso di potassio nel liquido extracellulare si riduce (fase 8). A questo punto il potenziale ritorna alla condizione iniziale di riposo ripristinando i valori normali di permeabilità ai vari ioni (fase 9) [1-3].

Quando un potenziale d'azione si è manifestato, seguirà un periodo di tempo di circa 2 ms in cui non potrà presentarsi un secondo potenziale d'azione, a prescindere dell'intensità dello stimolo generante. Questo intervallo di tempo prende il nome di *periodo refrattario assoluto*. Oltre a questo, esiste un altro intervallo di tempo, *periodo refrattario relativo*, in cui può presentarsi un potenziale d'azione purché lo stimolo generante abbia un'intensità maggiore di quella normalmente necessaria.

Lo spostamento del potenziale d'azione lungo l'assone prende il nome di *conduzione* del potenziale ed legato principalmente ad un meccanismo di feedback positivo dei canali  $\text{Na}^+$  voltaggio – dipendenti. Quando si manifesta un potenziale d'azione si aprono canali per il  $\text{Na}^+$ , il  $\text{Na}^+$  entra nell'assone causando la depolarizzazione del segmento iniziale. A seguito della depolarizzazione avviene una distribuzione di carica positiva che si sposta nelle sezioni adiacenti del segmento causando la depolarizzazione di nuove sezioni di membrana e quindi si apriranno nuovi canali per il  $\text{Na}^+$  voltaggio – dipendenti che permetteranno l'ingresso di  $\text{Na}^+$ . Questo meccanismo fa sì che il

potenziale che giunge al terminale assonico abbia la stessa intensità di quello generato nella regione prossimale (vicino al soma) dell'assone.

A livello dei terminali assonici (o bottoni sinaptici) avviene la sinapsi con altre cellule bersaglio. Le sinapsi sono i siti di comunicazione tra due neuroni. Ogni sinapsi è costituita da tre componenti principali:

- Terminali assonici della cellula presinaptica;
- Membrana della cellula postsinaptica;
- Astrocita che avvolge la sinapsi e ristabilisce l'omeostasi per la corretta eccitabilità neuronale.

Le sinapsi, a seconda del tipo di segnale che trasmettono, possono essere elettriche o chimiche. Le sinapsi elettriche trasmettono direttamente un segnale elettrico dalla cellula presinaptica a quella postsinaptica tramite giunzioni comunicanti. Hanno il vantaggio di non trasformare il segnale elettrico in un segnale chimico e risultano quindi essere più veloci. La maggior parte delle sinapsi del sistema nervoso è costituita da sinapsi chimiche, che utilizzano neurotrasmettitori per trasportare il segnale dalla cellula presinaptica a quella postsinaptica. In questo tipo di sinapsi il segnale elettrico viene convertito in segnale chimico (vescicola che immagazzina al suo interno il neurotrasmettitore) che diffonde attraverso la fessura sinaptica e raggiunge la cellula bersaglio. Il neurotrasmettitore legandosi al suo recettore nell'organo bersaglio avvia la risposta nella cellula postsinaptica aprendo canali ionici ligando-dipendenti presenti nella membrana post-sinaptica. Il flusso ionico che ne consegue andrà a modificare il potenziale di membrana depolarizzandola o iperpolarizzandola. Nel primo caso si parla di potenziale postsinaptico eccitatorio (EPSP) perché la probabilità che si inneschi un potenziale d'azione è elevata; nel secondo caso invece si parla di potenziale postsinaptico inibitorio (IPSP) perché diminuisce la probabilità di innesco di un potenziale d'azione [3].

#### 1.4 Encefalo e midollo spinale

Il sistema nervoso centrale è costituito da due elementi: l'encefalo, racchiuso nella cavità cranica, e il midollo spinale, situato nel canale vertebrale.

Il midollo spinale è la principale via di comunicazione tra l'encefalo e i tessuti periferici. In sezione trasversale, il midollo è composto da una parte centrale di materia grigia circondato da materia

bianca. La materia grigia contiene corpi cellulare e fibre nervose. Da ogni regione del midollo spinale si origina un paio di nervi spinali. La radice dorsale di ogni nervo spinale ha il compito di portare al midollo le informazioni sensoriali, le quali verranno poi inviate dal midollo all'encefalo. La radice ventrale, invece, svolge il compito opposto ovvero trasporta le informazioni dal sistema nervoso centrale ai tessuti periferici. Per quanto riguarda la sostanza bianca è formata da assoni che si uniscono in fasci. I fasci ascendenti trasportano informazioni (principalmente sensoriali) dal midollo verso l'encefalo, mentre i tratti discendenti trasportano informazioni (principalmente motorie) dall'encefalo verso la periferia. Inoltre il midollo spinale è coinvolto nei riflessi spinali, in cui l'informazione sensoriale può evocare una risposta motoria senza essere mediata dall'encefalo [1-3].

L'encefalo è costituito da quattro principali componenti:

- *Tronco encefalico*: è costituito da bulbo, ponte e mesencefalo. In questa regione originano i nervi cranici dal II al XII che hanno il compito di trasportare informazioni sensoriali e motorie per testa, faccia e collo.
- *Cervelletto*: il suo compito principale è quello di coordinare l'esecuzione del movimento tramite l'elaborazione di informazioni sensoriali e recettori per l'equilibrio presenti nell'orecchio interno.
- *Diencefalo*: è costituito da talamo e ipotalamo. Il primo è in grado di elaborare informazioni sensoriali e motorie da e verso la corteccia cerebrale; il secondo invece ha un ruolo importante nell'omeostasi e controlla funzioni corporee come fame e sete.
- *Telencefalo*: è il cervello vero e proprio. È costituito da due emisferi connessi dal corpo calloso, ovvero un insieme di assoni che permettono un giusto coordinamento tra le due parti. La parte più esterna del telencefalo è costituita dalla corteccia cerebrale, in cui hanno sede le funzioni cognitive più complesse. La sua conformazione è ricca di giri, solchi e scissure e ogni emisfero può essere suddiviso in quattro principali lobi: frontale, parietale, temporale e occipitale (vedi figura 1.5). La *corteccia visiva primaria* è situata nel lobo occipitale e contiene una mappa topologica dei segnali della retina. La *corteccia uditiva primaria*, invece, è situata nel lobo temporale e contiene una mappa tonotopica dei vari suoni. La *corteccia somatosensoriale primaria* è situata nel lobo parietale e riceve informazioni dai recettori di senso. La *corteccia motoria primaria* è situata nel lobo frontale e innerva direttamente il midollo spinale o il tronco encefalico per attivare i motoneuroni. Infine sono presenti anche *aree associative*, che non sono né prettamente sensoriali né

motorie, e sono in grado di integrare le informazioni provenienti da cortecce sensoriali diverse in modo da pianificare la risposta comportamentale e motoria adeguata[1-3].

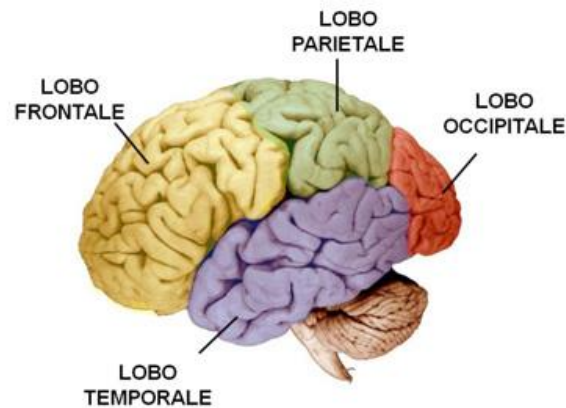


Figura 1.5: Corteccia cerebrale con suddivisione dei 4 lobi tratta da [6]

## 1.5 Origine dei segnali elettroencefalografici di superficie

Il segnale elettroencefalografico di superficie riflette l'attività di numerosi neuroni che lavorano in maniera sincrona; questi segnali sono chiamati *potenziali di campo*. Dal momento che la struttura più vicina allo scalpo è la corteccia cerebrale, i segnali EEG rispecchiano principalmente l'attività dei neuroni corticali mentre le strutture sottocorticali influenzano il segnale in maniera minore [1].

La figura 1.6 mostra come la corteccia cerebrale sia suddivisa in sei strati corticali:

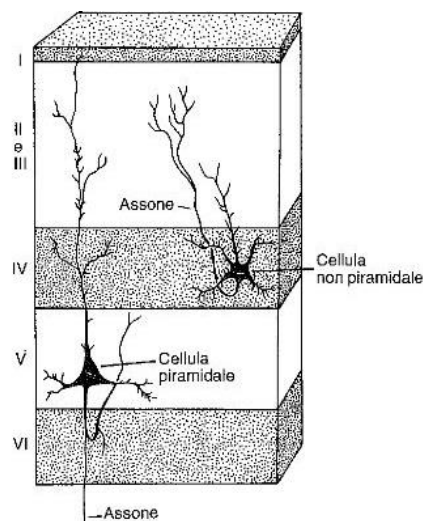


Figura 1.6: Organizzazione in strati della corteccia cerebrale tratta da [7]

I neuroni della corteccia sono di due tipi:

- *Neuroni piramidali*: sono presenti soprattutto negli strati III, V e VI. Sono chiamati anche neuroni di proiezione perché proiettano su lunghe distanze i propri assoni. Presentano un grande soma e un dendrite apicale molto lungo che raggiunge lo strato corticale più superficiale. I dendriti apicali dei diversi neuroni piramidali sono disposti parallelamente gli uni agli altri e perpendicolarmente alla superficie corticale. Questa è un'importante caratteristica dei neuroni piramidali.
- *Neuroni non piramidali*: presentano corpi cellulari piccoli e dendriti corti. Sono chiamati anche neuroni locali perché per le loro caratteristiche sono in grado di innervare cellule vicine. A differenza dei neuroni piramidali, i loro dendriti sono corti e si dipartono dal soma in tutte le direzioni.

Data la particolare organizzazione dei neuroni piramidali, i potenziali postsinaptici di tali neuroni sono i maggiori responsabili del segnale EEG di superficie [1].

Per capire come i neuroni piramidali contribuiscono alla generazione del tracciato EEG si faccia riferimento alla figura 1.7:

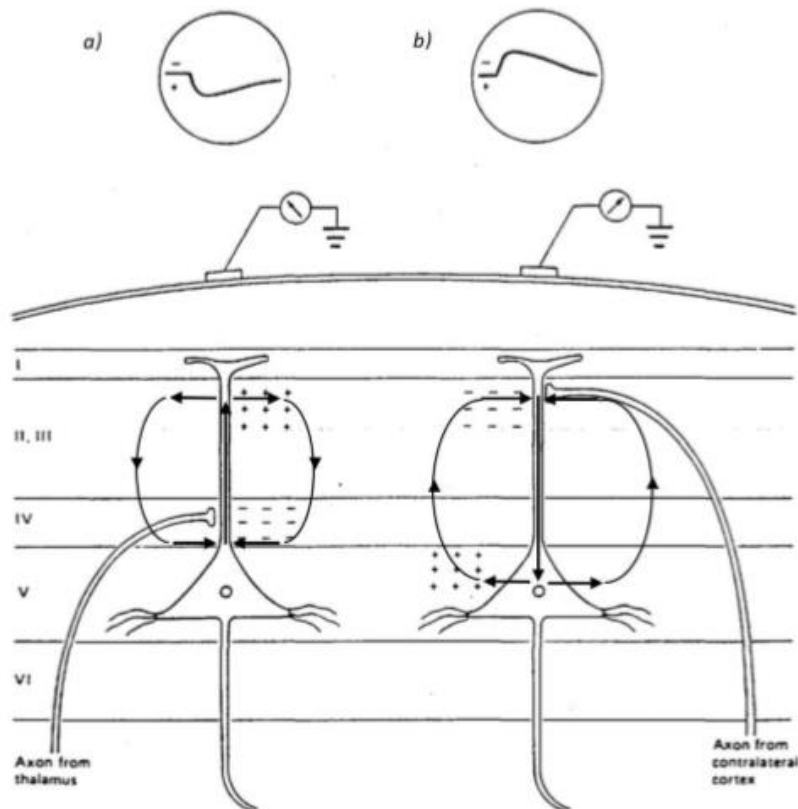


Figura 1.7: Sinapsi eccitatorie nelle regioni basali e superficiali nel dendrite di un neurone piramidale tratta da [8]

La figura 1.7b mostra i flussi di corrente in caso di sinapsi eccitatoria (EPSP) nella regione superficiale del dendrite apicale di un neurone piramidale (a destra nella figura). Nel punto in cui avviene la sinapsi si ha un flusso entrante di cariche positive cioè si avrà una corrente entrante che dipenderà da tali cariche. Si crea un circuito ad anello in cui le cariche positive entrano e tenderanno a percorrere il dendrite ed usciranno in corrispondenza delle regioni basali del dendrite. Si crea una configurazione a dipolo in cui il polo negativo, denominato *sink*, è rivolto verso l'alto e il polo positivo, denominato *source*, è rivolto verso il basso. Se si posiziona un elettrodo in prossimità di tale neurone, nell'ipotesi di elettrodo in grado di registrare l'attività di un singolo neurone, esso registrerebbe l'elettronegatività extracellulare che per convenzione è rappresentata con una deflessione verso l'alto nel tracciato EEG. Lo stesso dipolo si verifica nel caso in cui si manifesti una sinapsi inibitoria (IPSP) nella regione basale del dendrite apicale. In questo caso però si avrà una corrente determinata da cariche negative entranti. Per completare il circuito ad anello, le cariche negative percorreranno il dendrite ed usciranno in corrispondenza della regione più superficiali del dendrite [1].

Viceversa, un dipolo con orientazione opposta ovvero con polo negativo (*sink*) rivolto verso il basso e polo positivo (*source*) rivolto verso l'alto, si ottiene nel caso di una sinapsi eccitatoria (EPSP) nella regione basale del dendrite apicale (vedi figura 1.7 neurone di sinistra) oppure mediante una sinapsi inibitoria (IPSP) nella regione superficiale del dendrite apicale. In questo caso l'elettrodo registrerebbe l'elettropositività extracellulare che per convenzione è rappresentata con una deflessione verso il basso nel tracciato EEG.

Ogni sinapsi agisce quindi come una batteria in grado di trasportare corrente in un piccolo loop. Sia i potenziali postsinaptici eccitatori (EPSP) che i potenziali postsinaptici inibitori (IPSP) contribuiscono alla formazione del segnale EEG. Questi potenziali generano una corrente extracellulare abbastanza lenta (10 – 100 ms) consentendo così la somma spaziale delle correnti generate da neuroni vicini. In questo modo è possibile generare potenziali sufficientemente elevati da poter essere registrati tramite elettrodi posizionati sulla superficie dello scalpo (EEG di superficie) [8].

## 1.6 Standard 10-20 di posizionamento degli elettrodi

Gli elettrodi utilizzati per la registrazione dell'attività cerebrale hanno il compito di convertire i segnali cerebrali da un mezzo a conduzione ionica (tessuto cerebrale) ad un mezzo a conduzione elettronica (conduttore metallico) e per questo devono essere il più possibile immuni a disturbi esterni. La tecnica maggiormente sfruttata prevede l'utilizzo di elettrodi metallici Ag-AgCl tenuti fissi sullo scalpo mediante una cuffia regolabile in base alla dimensione della testa del paziente sottoposto all'acquisizione. Ogni elettrodo sullo scalpo presenta un foro al centro da riempire, mediante una siringa a punta smussa, con gel conduttivo per ridurre l'impedenza di elettrodo. Gli elettrodi sullo scalpo devono essere posizionati seguendo un posizionamento standard a livello internazionale e riproducibile definito *Sistema Internazionale Standard 10-20*. L'utilizzo di questo sistema permette di confrontare risultati su pazienti diversi o anche su di uno stesso paziente ma relativi a registrazioni differenti.

Questo sistema è stato inizialmente predisposto per l'utilizzo fino ad un massimo di 21 elettrodi, configurazione ancora oggi utilizzata per molte registrazioni cliniche di routine. Esso utilizza quattro punti di reperi: il *nasion*, ovvero l'attaccatura superiore del naso, l'*inion* ovvero la prominenza a livello dell'osso occipitale e due *punti preauricolari* ovvero i meati acustici esterni. La denominazione 10-20 si riferisce al fatto che gli elettrodi si trovano in vari punti ad una distanza del 10% e 20% dalla distanza totale tra due linee ideali che uniscono nasion e inion e i due punti preauricolari. La posizione di ciascun elettrodo è identificata da un codice alfanumerico composto da una lettera che rappresenta la regione della corteccia cerebrale e da un numero che indica l'emisfero destro o sinistro. Più precisamente le lettere sono: F (frontale), Fp (frontopolare), C (centrale), T (temporale), P (parietale) e O (occipitale). Per quanto riguarda i numeri invece, i numeri pari indicano l'emisfero di destra mentre i numeri dispari quello di sinistra. La linea mediana non presenta alcun numero ma è identificata dalla lettera Z. La figura 1.8 mostra lo standard di posizionamento dei 21 elettrodi di cui 8 sull'emisfero destro, 8 su quello sinistro, 3 lungo la linea mediana e 2 come punti auricolari di riferimento.



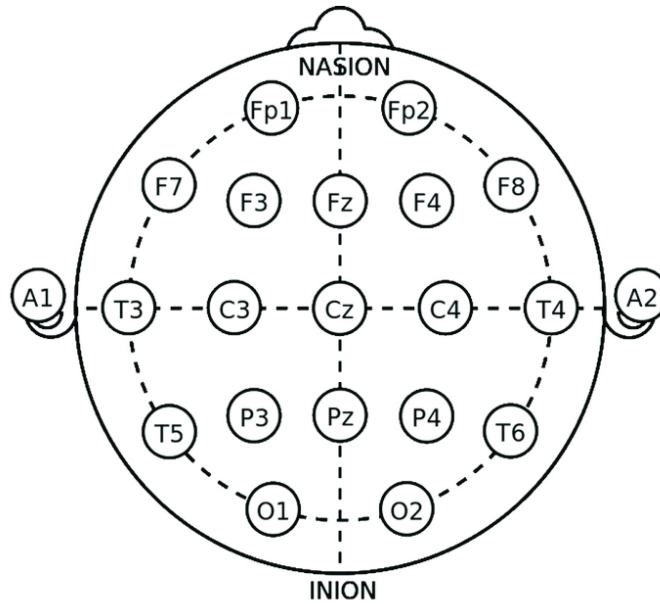


Figura 1.8: Standard di posizionamento dei 21 elettrodi secondo il Sistema Internazionale 10-20 tratta da [9]

## 1.7 Ritmi cerebrali

I segnali EEG mostrano delle fluttuazioni di voltaggio che possono essere associate a diversi stati mentali, allo stato interno del soggetto, o a disturbi patologici. La ricerca sulle onde cerebrali suggerisce che ai diversi domini di frequenza corrispondono diversi processi cognitivi; infatti tali onde sono prodotte dall'attività sincrona di popolazioni di neuroni e dipendono anche dallo stato interno del soggetto. L'analisi di tali fluttuazioni ha evidenziato un contenuto armonico in frequenza compreso tra 1 – 100 Hz, anche se la maggior parte delle informazioni sono contenute sotto i 40 Hz [1-10].

Esistono diversi ritmi cerebrali classificati in base alla frequenza (figura 1.9):

- *Ritmo delta* ( $\delta$ ): onde con contenuto in frequenza compreso tra 0.5 Hz e 4 Hz e con ampiezza tra 20  $\mu V$  e 200  $\mu V$ . Si tratta di onde lente tipiche dei neonati oppure degli adulti in fase di sonno non REM o in condizioni patologiche come coma o forme tumorali.
- *Ritmo theta* ( $\theta$ ): onde con contenuto in frequenza compreso tra 4 Hz e 7 Hz e con ampiezza tra 20  $\mu V$  e 100  $\mu V$ . Sono tipiche delle fasi di addormentamento o di sonno e in alcuni casi possono verificarsi in presenza di un lieve disturbo cerebrale. È ormai anche noto che le onde theta hanno un ruolo nei processi di memorizzazione e nei processi che richiedono un controllo integrato di varie regioni cerebrali.

- *Ritmo alpha* ( $\alpha$ ): onde con contenuto in frequenza compreso tra 8 Hz e 13 Hz e con ampiezza tra 20  $\mu V$  e 50  $\mu V$ . Si presentano maggiormente con uno stato di coscienza a riposo e sono predominanti nella condizione di veglia ad occhi chiusi. Recentemente il ritmo alpha è stato associato a meccanismi attentivi; valori elevati di ritmo alpha infatti agirebbero andando ad inibire le regioni corticali irrilevanti per lo svolgimento di un compito (ovvero inibendo processi task-irrelevant) mentre una diminuzione del ritmo alpha in determinate regioni corticali faciliterebbe l'elaborazione dell'informazione rilevante per lo svolgimento del compito, ovvero quella informazione che è al centro dell'attenzione .
- *Ritmo mu* ( $\mu$ ): onde con contenuto in frequenza compreso tra 8 Hz e 13 Hz e con ampiezza tra 20  $\mu V$  e 50  $\mu V$ , come il ritmo alpha. Il ritmo sembra essere associato al movimento ovvero diminuisce col movimento o l'intenzione di muoversi.
- *Ritmo beta* ( $\beta$ ): onde con contenuto in frequenza compreso tra 13 Hz e 30 Hz e con ampiezza tra 5  $\mu V$  e 30  $\mu V$ . Si presentano maggiormente durante uno stato di coscienza vigile, un'attività mentale intensa, uno stato di allerta, attenzione o concentrazione.
- *Ritmo gamma* ( $\gamma$ ): onde con contenuto in frequenza superiore a 30 Hz e con ampiezza tipicamente inferiore a 20  $\mu V$ . Si presentano durante le fasi di elaborazione attiva, in attività cognitive di alto livello che devono integrare informazioni provenienti da aree cerebrali diverse come il riconoscimento di un oggetto o il recupero di informazioni dalla memoria.

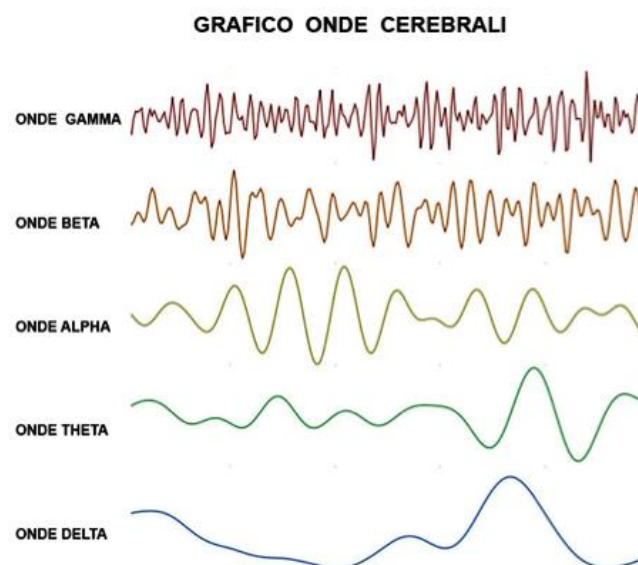


Figura 1.9: Ritmi cerebrali: dalle oscillazioni più veloci (in alto) a quelle più lente (in basso) tratta da [11]

## 1.8 Potenziali evento–correlati e P300

Oltre all'attività neurale spontanea misurata in maniera continua e caratterizzata dalle onde e dai ritmi cerebrali, è interessante studiare come le regioni cerebrali rispondono agli stimoli esterni di qualsiasi natura.

L'analisi dei *potenziali evocati (EP)* è una delle principali tecniche che permette di studiare i processi neurali che stanno alla base dell'elaborazione, interpretazione e memorizzazione di informazione proveniente dall'esterno. I potenziali evocati si riferiscono a delle modificazioni del tracciato encefalografico in risposta ad uno stimolo. I potenziali evocati possono classificarsi in due tipi fondamentali:

- Potenziali evocati stimolo – correlati (SRP)
- Potenziali evocati evento – correlati (ERP)

La differenza principale tra i due sta nel fatto che i primi dipendono dalle caratteristiche fisiche dello stimolo e hanno latenza molto breve, mentre i secondi riflettono aspetti più cognitivi, sono legati al contenuto informativo dello stimolo, riflettono il livello di attenzione che il soggetto presta allo stimolo e sono componenti con latenza maggiore rispetto ai primi.

I *potenziali evento – correlati (ERP)* sono delle variazioni del potenziale elettrico molto piccole (tipicamente intorno ai  $2 \mu V$ ) evocate da uno specifico stimolo (visivo, somoestetico o uditivo). Sono delle modificazioni dell'attività elettrica cerebrale spontanea scaturite da un evento esterno. Si tratta di variazioni definite “time-locked” perché si presentano ad una latenza fissa rispetto allo stimolo generante; tuttavia tali modificazioni, avendo un'ampiezza molto ridotta, sono mascherate dall'attività EEG di fondo (attività di background)

Per questo motivo, quello che solitamente viene fatto per estrarre i potenziali evento-correlati dal segnale EEG è presentare ripetutamente lo stesso stimolo esterno ad un soggetto ad intervalli di tempo regolari e costanti ed acquisire contemporaneamente con continuità il segnale EEG. Quindi, il segnale EEG (continuo) così acquisito viene elaborato mediante la *tecnica dell'averaging* : il segnale EEG viene scomposto in segmenti time-locked, chiamati trials o epoche, sincronizzati e allineati rispetto alla presentazione stimolo e di questi segmenti viene calcolata la media (figura 1.10) [1-10]. In questo modo si ottiene un segnale medio che rappresenta il potenziale evocato associato a quello specifico stimolo e in quella determinata condizione sperimentale.

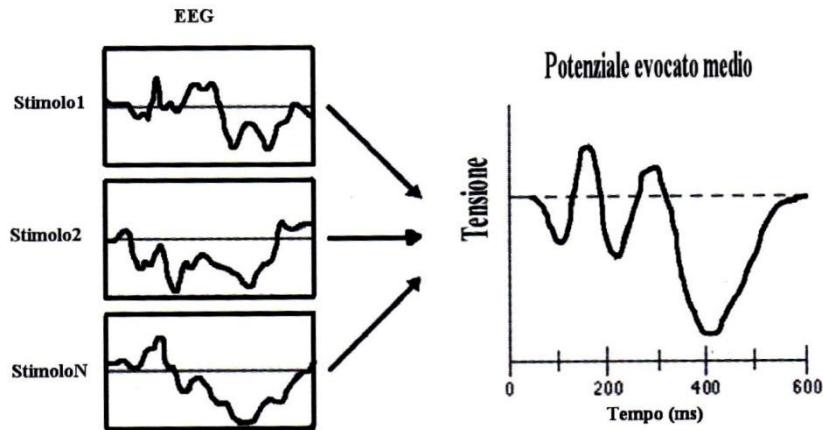


Figura 1.10: Tecnica dell'averaging: i segmenti EEG time-locked con lo stimolo vengono mediati tra di loro per ottenere il potenziale evocato medio (tratta da [1])

Questa tecnica aumenta sensibilmente il rapporto segnale-rumore. Il risultato della tecnica si basa sul fatto che poiché il segnale EEG di fondo è in continua fluttuazione e non rimane mai costante, se l'operazione viene effettuata mediando un numero molto grande di epoche allora le fluttuazioni casuali del segnale EEG di fondo tenderanno ad elidersi poiché mai sincronizzate o correlate. Mentre, a differenza del segnale EEG di fondo, assunto come rumore sovrapposto alle componenti di interesse, le componenti dell' ERP, per ipotesi sempre uguali e alla stessa latenza in ogni epoca, si sommano in fase. Così facendo si ottiene il segnale ERP di interesse ripulito dal rumore e dal segnale EEG sovrapposto.

Le deflessioni che si presentano nei potenziali evocati, chiamate componenti, sono caratterizzate da quattro principali parametri (figura 1.11):

- *Polarità*: può essere positiva (P) o negativa (N);
- *Latenza*: ritardo con cui si presenta la componente a seguito della comparsa dello stimolo;
- *Ampiezza*: misura l'entità della deflessione sul tracciato;
- *Distribuzione sullo scalpo*: è la rappresentazione topografica del potenziale evocato sullo scalpo ed è indicativa delle regioni cerebrali coinvolte.

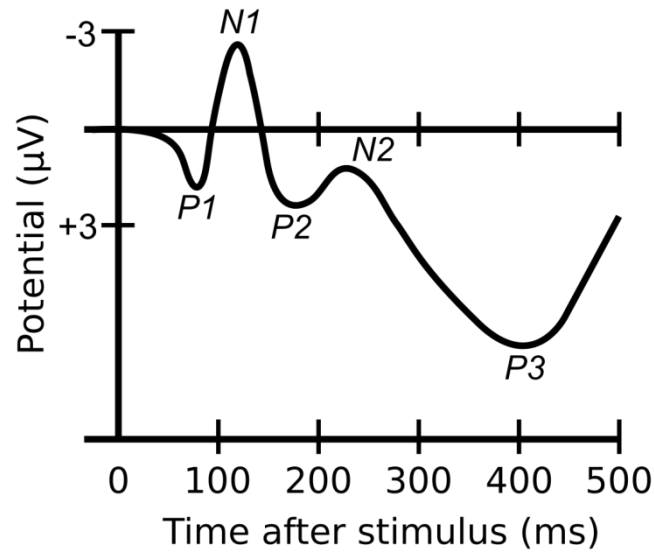


Figura 1.11: Potenziale evento-correlato che si presenta in risposta a uno stimolo e sue principali componenti. La lettera P o N indica la polarità del potenziale e il numero che segue indica la latenza, ad es N2 indica la componente con polarità negativa che si presenta circa 200 ms dopo la presentazione dello stimolo mentre P3 rappresenta la componente con polarità positiva che si presenta circa 300 ms dopo la presentazione dello stimolo (tratta da [12])

In questo ambito, un ruolo importante è rivestito dal potenziale evocato P300 (o P3), un potenziale positivo di ampiezza pari circa a  $10 \mu V$  che si manifesta dopo circa 300 ms dalla presentazione dello stimolo (figura 1.12). È considerato un potenziale endogeno in quanto si presenta in seguito a stimoli rilevanti inattesi in una serie di stimoli uguali e non a causa di un attributo fisico come forma o colore. Solitamente è evocato usando il paradigma *oddball* che si basa nel presentare uno stimolo infrequente (target) interposto ad una serie di stimoli più frequenti (non target). Tale paradigma è quindi in grado di generare un potenziale P300 (che si manifesta principalmente nella regione parieto-centrale) nel momento in cui il soggetto riconosce lo stimolo infrequente da quello standard. L'ampiezza della P300 è modulata da alcuni fattori: risulta essere tanto maggiore quanto maggiore è la capacità di riconoscimento dello stimolo inatteso, quanto più inatteso è lo stimolo stesso e quanto maggiore è l'attenzione che il soggetto presta allo stimolo inatteso.

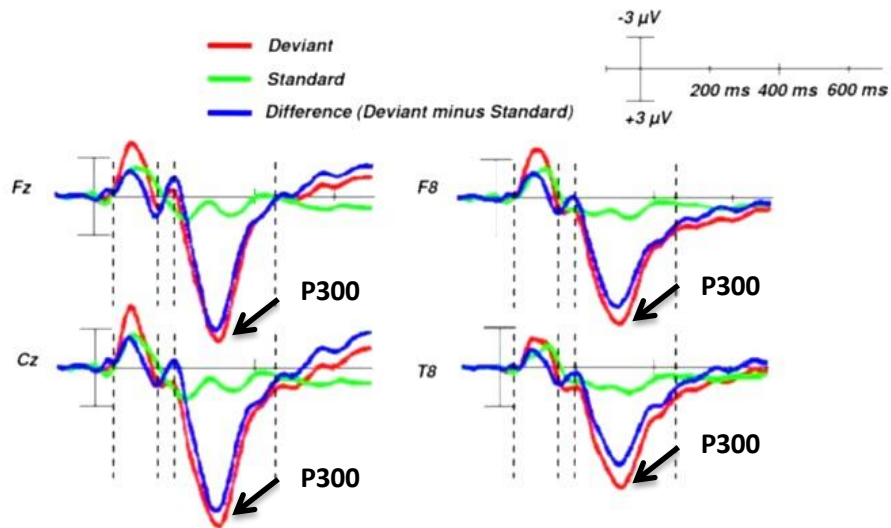


Figura 1.12: Potenziale P300 relativo agli elettrodi Fz, Cz, F8 e T8 tratta da [13]. Si noti come la P300 si manifesti in risposta allo stimolo 'Deviant' ovvero inatteso (potenziale evocato indicato in rosso) mentre non sia presente o sia di ampiezza molto inferiore in risposta allo stimolo 'Standard' ovvero atteso (potenziale evocato indicato in verde)

## Capitolo 2: Hardware e Software per la generazione degli stimoli e per l'acquisizione delle risposte

### 2.1 Strumentazione per l'acquisizione del segnale EEG

La strumentazione utilizzata per la registrazione dei segnali elettroencefalografici consiste in 14 elettrodi Ag-AgCl fissati su una cuffia regolabile e disposti secondo il Sistema Internazionale Standard 10-20 e da una scheda di acquisizione.

Dal momento che il potenziale evocato P300 si manifesta principalmente nelle regioni parieto-centrale e parietale [13], gli elettrodi utilizzati sono stati disposti su queste regioni. In particolare, sono stati utilizzati i seguenti elettrodi: PZ, CP6, T8, P4, C4, PO4, CP2, CP1, CZ, C3, T7, PO3, P3, CP5 (figura 2.1). È importante notare che i segnali a questi elettrodi sono poco influenzati da artefatti oculari (maggiormente presenti sugli elettrodi frontali) e da artefatti da attività cardiaca (maggiormente presenti sugli elettrodi occipitali). Come elettrodo di riferimento è stato utilizzato un elettrodo a pinza posto sul lobo dell'orecchio destro; così facendo, tutti i canali sono stati acquisiti in maniera differenziale rispetto a tale elettrodo. Come elettrodo di ground, invece, è stato utilizzato sempre un elettrodo a pinza ma posto sul lobo dell'orecchio sinistro. Ad entrambi gli elettrodi è stato applicato un gel conduttivo per ridurre l'impedenza di elettrodo; inoltre è stato anche utilizzato un detergente (scrub) per pulire i lobi da eventuali residui. Gli elettrodi fissati sulla cuffia presentano un foro al centro anch'esso riempito, mediante una siringa a punta smussa, con gel conduttivo in modo da aumentare il contatto con lo scalpo.

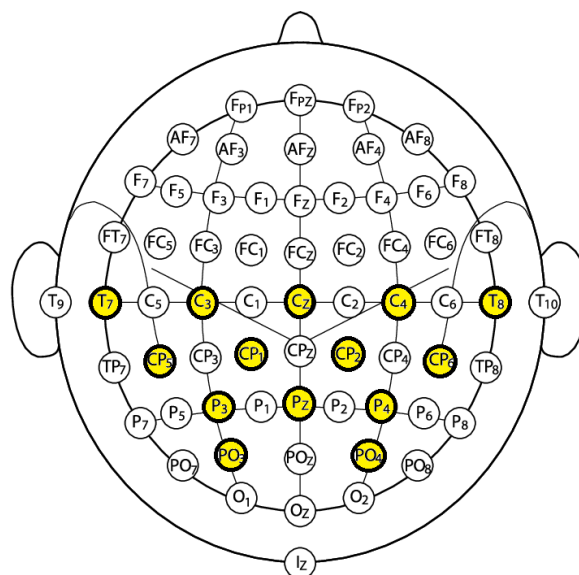


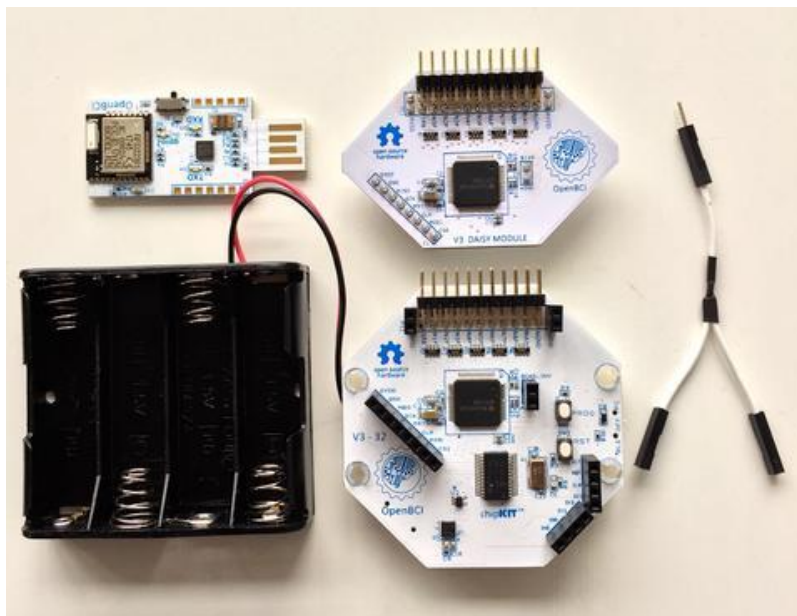
Figura 2.1: Elettrodi utilizzati in questo lavoro di tesi (evidenziati in giallo) per l'acquisizione dei segnali EEG, modifica da [14]

Come scheda di acquisizione sono stati utilizzati i moduli Cyton + Daisy Biosensing Boards di OpenBCI. OpenBCI, acronimo di “Open-Source Brain-Computer Interface”, è un’interfaccia che permette di misurare e registrare l’attività elettrica del corpo umano, in particolare i segnali elettrici del cervello (EEG), dei muscoli (EMG) o del cuore (ECG). Questa piattaforma può essere utilizzata con il proprio software di elaborazione (OpenBCI GUI) ma anche con altri programmi open-source [15].

La scheda di acquisizione (figura 2.2) è appunto composta da due moduli:

- Cyton Board: un’interfaccia a 8 canali che presenta un processore a 32 bit ed è in grado di fornire una vasta quantità di memoria locale. Rappresenta la scheda di acquisizione vera e propria;
- Daisy Module: un’interfaccia collegabile alla scheda Cyton Board che permette di aumentare il numero di canali, fino ad un massimo di 16 canali acquisibili.

La frequenza di campionamento della scheda è di 125 Hz. I dati campionati vengono poi trasmessi al computer tramite connessione Bluetooth utilizzando l’apposita chiavetta USB OpenBCI Dongle che usa moduli radio RFDuino [16].



*Figura 2.2: Scheda di acquisizione dei segnali EEG di OpenBCI: Cyton Board (in basso), Daisy Module (in alto a destra) e USB Dongle (in alto a sinistra). Tratta da [16]*



In questo lavoro, per la registrazione e la visualizzazione dei segnali EEG sul computer è stato usato il software OpenBCI GUI, precedentemente installato. Prima di procedere con la registrazione vera e propria dei segnali cerebrali sono necessari alcuni passaggi fondamentali che permettono di impostare il software:

- Aprire il programma OpenBCI\_GUI;
- Selezionare *Live from Cyton*, quindi *Serial from Dongle* e la *COM* corrispondente alla chiavetta USB OpenBCI;
- Inserire *16 channels*, ovvero il numero di canali che si vogliono registrare e visualizzare;
- Premere *Start System* per avviare il programma.

A questo punto si aprirà la schermata principale del programma ma prima di premere *Start Data Stream* per registrare bisogna:

- Inserire *Notch 50 Hz* per eliminare, in fase di visualizzazione, la componente di disturbo dovuta a interferenze elettromagnetiche alla frequenza di rete;
- Impostare *Vert Scale: Auto*;
- Disattivare i canali 15 e 16 perché si utilizzano 14 elettrodi e quindi si acquisiscono 14 canali.

Premendo ora il pulsante di registrazione (*Start Data Stream*), il programma inizierà a registrare l'attività elettrica cerebrale relativa ai 14 elettrodi presenti sullo scalpo. La figura 2.3 mostra la tipica schermata principale del software OpenBCI:

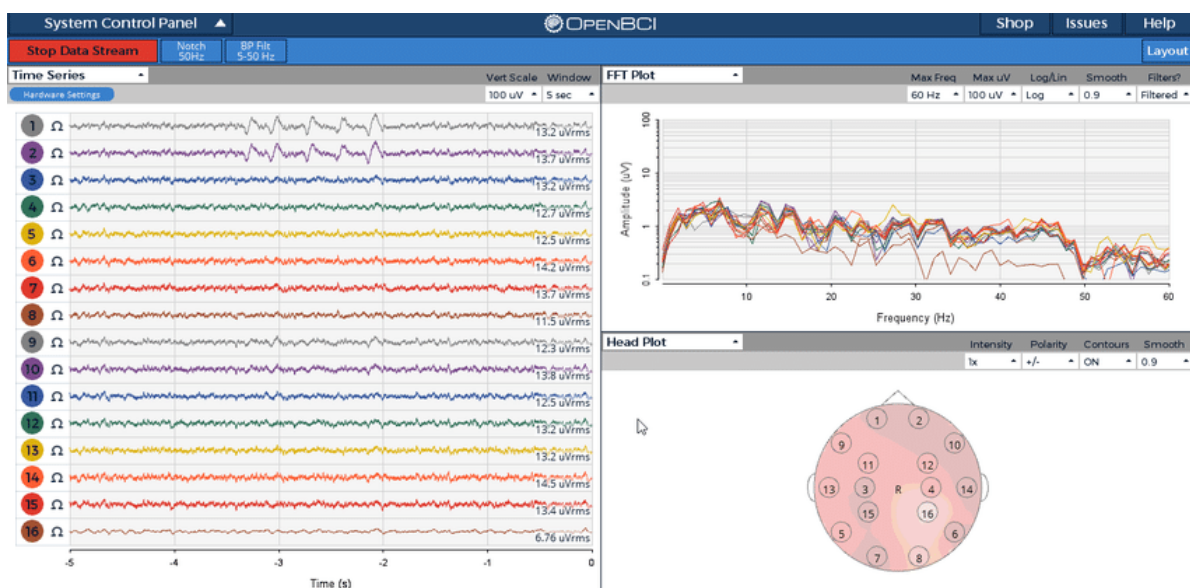


Figura 2.3: Schermata principale del programma OpenBCI (non relativa alle acquisizioni eseguite in questo elaborato). Tratta da [17]

## 2.2 Problema del Trigger

Quello che interessa studiare in questo elaborato è il potenziale evocato P300 associato ad un particolare stimolo sonoro. Come descritto nel Capitolo 1, i potenziali evocati sono variazioni nel segnale elettroencefalografico che avendo ampiezza molto ridotta risultano essere mascherate dall'attività EEG di fondo.

Il metodo utilizzato per estrapolare il potenziale evocato P300 dal segnale EEG consiste nel presentare in maniera ripetuta lo stesso stimolo sonoro ad un soggetto ad intervalli di tempo regolari e costanti, acquisendo contemporaneamente il segnale EEG. Quest'ultimo viene poi elaborato mediante la *tecnica dell'averaging* ovvero viene scomposto in segmenti time-locked, chiamati trials o epoche, sincronizzati e allineati rispetto alla presentazione dello stimolo e ne viene calcolata la media così da ottenere un segnale che rappresenta il potenziale evocato medio associato a quello specifico stimolo.

Allo scopo di applicare tale metodo è stato necessario definire un segnale di trigger che permettesse di sincronizzare e allineare i trial all'evento esterno; tale segnale di trigger è quindi indispensabile per estrarre la P300 attraverso l'averaging. L'idea è stata quella di generare un segnale che potesse comunicare con la scheda di acquisizione del segnale EEG (OpenBCI Cyton Board) avvertendola di quando lo stimolo esterno veniva presentato. Dal momento che la scheda OpenBCI è Arduino-compatibile, per la realizzazione del segnale di trigger è stata utilizzata la piattaforma Arduino, una scheda elettronica open-source basata su hardware e software facili da utilizzare. Le schede Arduino sono in grado di leggere input da sensori (ad es di luce o di pressione) e trasformarli in output (ad es. attivare un motore o accendere un LED). È possibile dire alla scheda cosa fare inviando una serie di istruzioni al microcontrollore presente sulla scheda utilizzando il linguaggio di programmazione Arduino e il software Arduino IDE [18].

Per la generazione del segnale di trigger con la scheda Arduino, è stata definita su Arduino una costante TRIGGER associata al pin 9, pin da cui verrà prelevato il segnale:

```
#define TRIGGER 9  
  
pinMode (TRIGGER, OUTPUT) ;
```

Il compilatore sostituirà ogni menzione di TRIGGER con il valore 9 al momento della compilazione. Successivamente è stato impostato tale pin come OUTPUT perché deve generare un segnale in uscita necessario per la sincronizzazione dei trials, da inviare alla OpenBCI Cyton Board.

Il segnale di trigger deve rimanere alto (valore logico '1') per tutta la durata dello stimolo sonoro e dovrà portarsi ad un valore basso (valore logico '0') nel momento in cui il suono cessa di essere riprodotto (figura 2.4). In questo modo è possibile identificare l'istante di tempo in cui si presentano i vari trials per poterli poi allineare e sincronizzare rispetto all'evento esterno. Per far questo è semplicemente necessario individuare l'istante in cui si presenta il fronte di salita del trigger ovvero quando questo passa dal livello basso '0' al livello alto '1'.

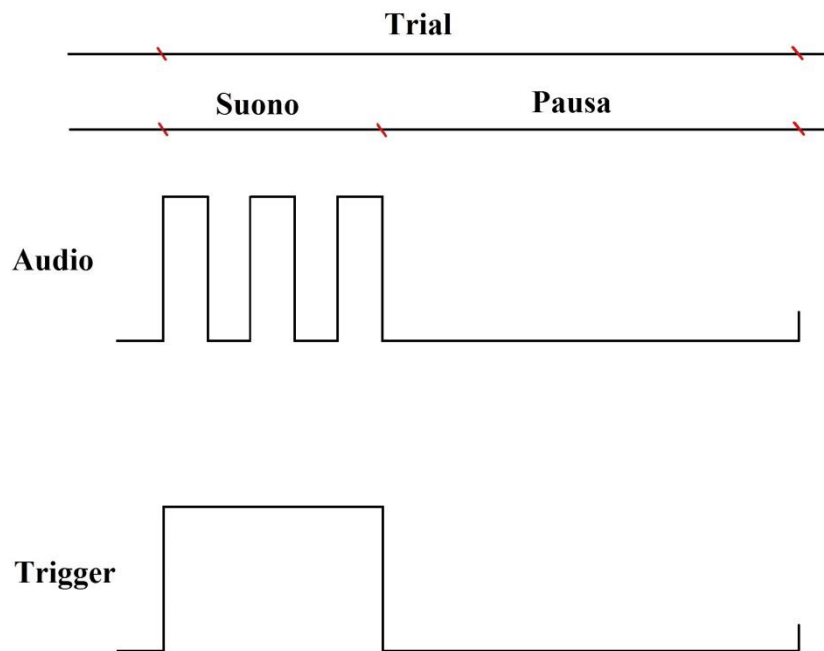


Figura 2.4: Schema di funzionamento del segnale di trigger all'interno di un singolo trial. Ogni trial è composto da una parte corrispondente al segnale sonoro (onda quadra) seguita da una pausa in cui il suono non è presente. Il segnale di trigger resterà alto per tutta la durata del suono e si riporterà al valore basso nel momento in cui il suono cessa di essere prodotto.

Da un punto di vista software, il trigger viene generato attraverso due principali comandi:

```
digitalWrite(TRIGGER,HIGH);  
  
digitalWrite(TRIGGER,LOW);
```

che portano rispettivamente il segnale ad un valore alto (tensione di 5 Volt) e ad un valore basso (tensione di 0 Volt).

A tal proposito sono state fatte alcune considerazioni:

- La scheda OpenBCI presenta 5 pin General Purpose Input/Output (GPIO), 3 dei quali possono essere digitali o analogici (D11, D12 e D13). In questo lavoro è stato scelto il pin D11 come input per il segnale di trigger generato da Arduino. La scheda, oltre ad acquisire i 14 canali EEG, acquisirà anche il segnale presente al pin D11, consentendo così di individuare l'istante di inizio (trigger 0→1) di ciascun trial;
- Le uscite dei pin Arduino presentano una tensione di 5 Volt, tensione troppo alta per essere letta direttamente dalla scheda OpenBCI. Per questo motivo è stato realizzato un partitore di tensione che porta il segnale di trigger (pin 9) ad un valore appropriato (massimo 3.3 Volt). È stato realizzato il circuito mostrato in figura 2.5 dove in ingresso viene fornito il segnale di trigger generato da Arduino (PIN 9), mentre in uscita viene prelevato il segnale da fornire in ingresso al pin D11 (Trigger D11).

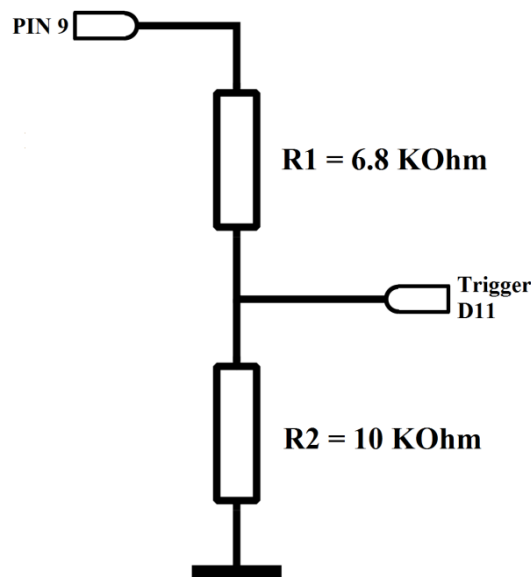


Figura 2.5: Partitore di tensione che permette di abbassare la tensione del pin 9 generata da Arduino da 5 Volt fino a circa 3 Volt grazie al partitore di resistenze  $\frac{R2}{R1+R2}$

### 2.3 Generazione degli stimoli esterni

Per produrre il potenziale evocato P300 è stato utilizzato il paradigma *oddball*, basato su stimolazione sonora. Come descritto nel Capitolo 1 e come si approfondirà nel Capitolo 3, questo paradigma si basa nel presentare uno stimolo infrequente (target) che è occasionalmente interposto all'interno della presentazione ripetuta di un altro stimolo (non target); lo stimolo non target è

quello con più alta probabilità di verificarsi, e come tale atteso o *standard*, lo stimolo target è quello con più bassa probabilità di verificarsi e come tale inatteso o *deviante*. Questi due stimoli (target e non target) si differenziano tra di loro per una certa proprietà fisica; nel caso in esame vengono presentati due suoni aventi una diversa frequenza (e quindi una diversa altezza).

Anche in questo caso, per la realizzazione dei suoni, è stata utilizzata la piattaforma Arduino. Così come per il trigger, è stata definita una costante AUDIO associata al pin 13, pin a cui verrà collegato un altoparlante per la riproduzione del suono:

```
#define AUDIO 13  
  
pinMode(AUDIO,OUTPUT);
```

Successivamente è stato impostato tale pin come OUTPUT perché deve generare il segnale audio che funge da evento stimolante esterno.

Il suono è un'oscillazione compiuta dalle particelle in un mezzo, ovvero un'onda che si propaga in un mezzo. Per la realizzazione dei due stimoli (suoni) sono quindi stati creati due cicli diversi, uno per lo stimolo deviante (o target) e uno per lo stimolo standard (o non target), che prevedevano la generazione di un onda quadra. Entrambi sono caratterizzati da una struttura simile ma che si differenzia per il numero di ripetizioni del ciclo e per i valori dei ritardi, parametri entrambi legati alla frequenza del suono e meglio descritti nel Capitolo 3. La figura 2.6 mostra la struttura base del ciclo per lo stimolo standard:

```
for(int r=0;r<28;r++)  
{  
    digitalWrite(AUDIO,HIGH);  
    delayMicroseconds(1000);  
    digitalWrite(AUDIO,LOW);  
    delayMicroseconds(1000);  
}  
delay(944);
```

*Figura 2.6: Ciclo per la generazione dello stimolo standard caratterizzato da un suono realizzato come onda quadra di frequenza pari a 500 Hz (ovvero periodo di 2 ms) avente una durata di 56 ms e seguita da una pausa di 944 ms. Il ciclo per la generazione dello stimolo deviante si differenzierà da questo per i valori dei ritardi (delayMicroseconds) e per il numero di ripetizioni del ciclo stesso (ovvero il suono deviante è realizzato come onda quadra con frequenza ovvero periodo diversi rispetto al suono standard, ma avente comunque durata di 56 ms).*

La generazione del trigger (livello alto del trigger) è associata alla generazione del suono (onda quadra). Le istruzioni precedentemente indicate per il trigger, `digitalWrite(TRIGGER,HIGH)` e `digitalWrite(TRIGGER,LOW)` vengono inserite nel codice in qualche punto preciso rispetto alle istruzioni riportate in figura 2.6, perché il trigger deve essere al livello alto mentre si genera l'onda quadra, e al valore basso una volta terminata la generazione dell'onda quadra. Di seguito è riportato il codice completo per la generazione dello stimolo standard con relativo segnale di trigger:

```
for(int r=0;r<28;r++)
{
  digitalWrite(AUDIO,HIGH);
  digitalWrite(TRIGGER,HIGH);
  delayMicroseconds(1000);
  digitalWrite(AUDIO,LOW);
  delayMicroseconds(1000);
}
digitalWrite(TRIGGER,LOW);
delay(944);
```

È importante dire che nel paradigma di oddball utilizzato si definisce un numero totale  $N_{tot}$  di trial (corrispondente al numero totale di presentazione dello stimolo, sia esso standard o deviante), suddiviso in un certo numero  $N_{standard}$  di trial standard (ovvero con suono standard) e in un certo numero  $N_{deviante}$  di trial devianti (ovvero con suono deviante). Ovvero si ha  $N_{tot} = N_{standard} + N_{deviante}$ , con  $N_{deviante} \ll N_{standard}$ . I valori di  $N_{deviante}$  e  $N_{standard}$  sono definiti a priori, mentre la posizione (all'interno della sequenza totale di  $N_{tot}$  stimoli) di presentazione del suono deviante è casuale. Il segnale EEG è acquisito con continuità durante la presentazione degli  $N_{tot}$  stimoli ( $N_{tot}$  trial). A valle dell'acquisizione, per evidenziare il potenziale P300 nel caso di suono standard e nel caso di suono deviante, è necessario separare le epoche deviant da quelle standard. A tale scopo, è stato necessario definire una variabile che permettesse di generare le posizioni (random) in cui presentare gli stimoli devianti, e memorizzare tale variabile così che a valle dell'acquisizione tale variabile potesse essere sfruttata per separare epoche devianti da quelle standard. È stato quindi creato un vettore A costituito da un insieme di dimensione  $N_{deviante}$  di numeri interi random, i quali possono assumere un valore compreso tra 1 e  $N_{tot}$  (valore corrispondente appunto al numero di ripetizioni totali). Il vettore A così ottenuto contiene le posizioni in cui presentare lo stimolo deviant all'interno della serie di  $N_{tot}$  trial :

```

randomSeed(analogRead(0));

for(i=0;i<n_trigger;i++)
{
  input: A[i]=random(1,ripetizioni-1);
  for(j=0;j<i;j++)
  {
    if(A[i]==A[j])
    {
      goto input ;
    }
  }
}
}

```

Nella sequenza di istruzioni sopra, *ripetizioni* corrisponde al numero totale di presentazione dello stimolo ( $N_{tot}$ ), mentre *n\_trigger* rappresenta il numero di volte in cui viene presentato lo stimolo deviante ( $N_{deviante}$ ).

Successivamente il vettore A è stato ordinato in senso crescente e utilizzato per la sequenza di generazione dei due stimoli. È stato infatti creato un ciclo che veniva ripetuto un numero di volte pari agli stimoli totali che si volevano presentare al soggetto ( $N_{tot}$ ). In corrispondenza alle posizioni contenute nel vettore A, vettore contenente le posizioni degli stimoli devianti, veniva eseguito il ciclo per la generazione dello stimolo deviante; nelle restanti posizioni, invece, veniva eseguito il ciclo per la generazione dello stimolo standard. Si noti che nel codice sopra, la prima istruzione (`randomSeed(analogRead(0))`) serve per modificare il ‘seme’ del generatore di numeri casuali ogni volta che si lancia il codice, cioè ogni volta che si fa una nuova acquisizione (sia sullo stesso soggetto sia su soggetti differenti).

Per la riproduzione del suono, al pin 13 della scheda Arduino è stato collegato un altoparlante con impedenza di carico di  $4\ \Omega$  in serie con una resistenza da  $330\ \Omega$  all’uscita, come indicato in figura 2.7:

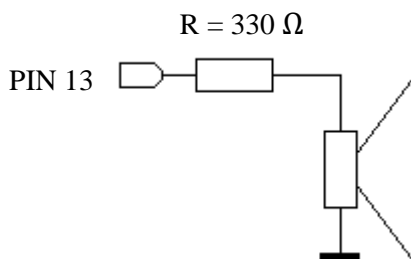
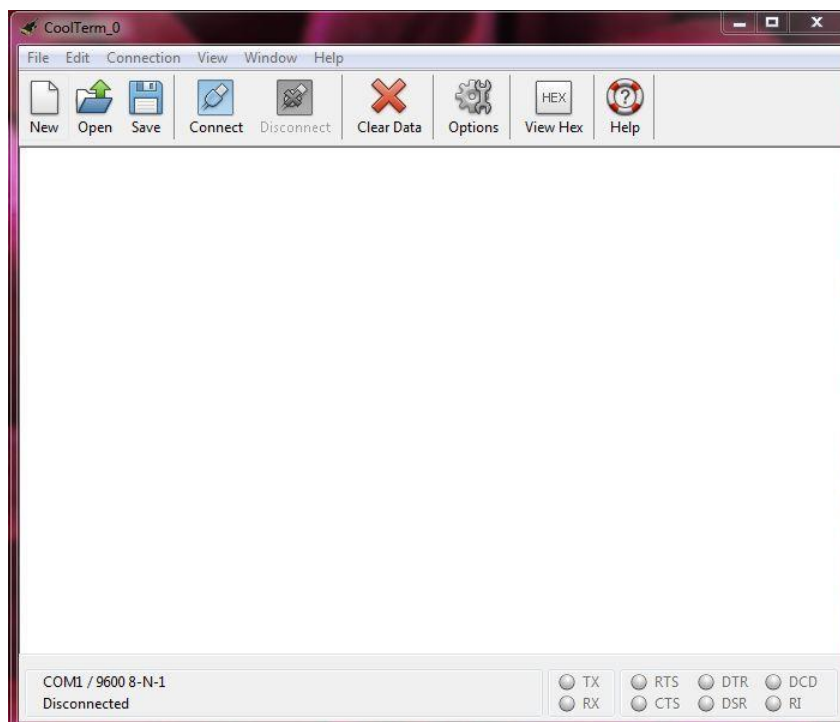


Figura 2.7: Schema di collegamento dell’altoparlante al pin 13 di Arduino

Il vettore A delle posizioni degli stimoli devianti doveva essere salvato sul PC in modo da poter poi operare una corretta separazione dei trials devianti da quelli standard in fase di elaborazione. Un problema di Arduino è che non è possibile da sketch salvare i dati in automatico per poterli poi analizzare ed elaborare successivamente. Per questo motivo è stato necessario scaricare CoolTerm, un programma che permette di leggere i valori seriali inviati nelle porte COM e salvare file con data, ora e valori in formato txt. Per poter utilizzare il monitor seriale bisogna inserire le seguenti istruzioni nel codice Arduino:

- Serial.begin(9600) per inizializzare la porta seriale;
- Serial.println(val) per la scrittura dei dati sullo schermo seriale.

Aprendo il programma comparirà la finestra principale (vedi figura 2.8):



*Figura 2.8: Schermata principale del programma CoolTerm*



A questo punto le operazioni da eseguire sono le seguenti:

- Aprire il Tab Options;
- Impostare la porta COM utilizzata da Arduino;
- Abilitare la spunta per inserire la data e l'ora nel pannello Receive;
- Aprire il Tab Connection;
- Cliccare su Capture to text file, quindi premere start;

Una volta eseguite le istruzioni precedenti, cliccando su Connect inizierà un autoscroll con tutti i valori letti.

## 2.4 Acquisizione della risposta tramite pulsante

Il protocollo di acquisizione (meglio descritto nel Capitolo 3) si basa su una prova di ascolto passivo (in cui il soggetto si limita ad ascoltare i suoni presentati senza produrre alcuna risposta) ed una prova di ascolto attivo in cui il soggetto deve rispondere allo stimolo deviante premendo un pulsante.

Il pulsante viene acquisito in maniera interrupt da Arduino tramite l'istruzione:

```
attachInterrupt(0,interrupt,FALLING);
```

che esegue la funzione 'interrupt' ogni volta che si passa da un livello alto ad un livello basso, ovvero ogni volta in cui il pulsante viene premuto (condizione di 'falling'). Per questo motivo il pulsante si trova in configurazione di pull-up (vedi figura 2.9). Il termine '0' presente all'interno dell'istruzione sta ad indicare che l'interrupt in questione è l'INT0 che è associato al pin 2 di Arduino.

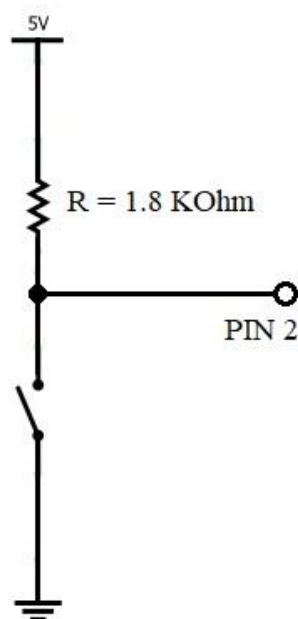


Figura 2.9: Schema di pull-up resistivo. Ogni volta in cui il pulsante viene premuto, viene eseguita la funzione 'interrupt'. Modificata da [19]

La funzione 'interrupt' consiste nel memorizzare in un vettore (vettore T) le posizioni degli stimoli che si presentano in corrispondenza alla pressione del pulsante. In una situazione ottimale il vettore finale dovrebbe contenere solo le posizioni relative agli stimoli devianti, in quanto il soggetto dovrebbe rispondere attivamente solo a tali stimoli. Per questo motivo si è deciso di effettuare una fase di test in cui veniva confrontato tale vettore con quello contenente le posizioni degli stimoli devianti definendo se la pressione del pulsante è stata positiva, ovvero se il pulsante è stato premuto correttamente in risposta allo stimolo deviante ('TEST OK') oppure se è stata negativa cioè se il soggetto ha premuto il pulsante in risposta ad uno stimolo standard ('TEST ERRATO').

In merito a questa operazione sono stati riscontrati due principali problemi:

- Il fenomeno del rimbalzo del pulsante che può provocare transizioni spurie degli ingressi ai quali sono applicati, equivalenti a pressioni consecutive del medesimo tasto;
- La grandezza del vettore T contenente le posizioni degli stimoli corrispondenti alla pressione del pulsante, problema connesso sia al fenomeno del rimbalzo sia ai possibili errori del soggetto nel premere il pulsante in maniera errata.

Per ovviare il primo problema, è stato inserito un ritardo di 500 ms prima che il vettore T venga aggiornato. In tal modo il fenomeno è stato parzialmente risolto, anche se effetti di rimbalzo sono ancora presenti. Si tratta comunque di un problema non troppo grave, in quanto se il vettore T è di

grandezza sufficientemente ampia, la presenza di valori uguali non risulta essere un problema. Per questo motivo si è deciso di definire un vettore  $T$  in grado di contenere 150 valori, un numero sufficientemente grande per tener conto sia dei fenomeni di rimbalzo del pulsante sia degli errori del soggetto nel premere erratamente il pulsante.



## Capitolo 3: Il protocollo di acquisizione e l'elaborazione dei segnali

### 3.1 Contesto: Il Paradigma Oddball

Il potenziale evocato P300 è definito come una componente endogena, cioè che dipende oltre che dallo stimolo generante, anche dal livello di attenzione posto dal soggetto. Il paradigma principalmente utilizzato per evidenziare tale componente è noto come paradigma *oddball* (figura 3.1). Tale paradigma consiste nel presentare al soggetto una sequenza di due stimoli che differiscono per caratteristiche fisiche. La presentazione degli stimoli avviene in maniera casuale all'interno della sequenza. Uno degli stimoli ha però maggiore probabilità di presentarsi, cioè si presenta con maggiore frequenza ed è lo stimolo standard; l'altro stimolo ha minore probabilità di presentarsi, si presenta cioè con minore frequenza ed è lo stimolo deviante. Pertanto, nel paradigma oddball gli stimoli infrequenti (devianti) sono interposti a una serie di stimoli più frequenti (standard). Nel dominio acustico, vengono utilizzati due suoni (ad es. due toni puri) che differiscono in almeno una caratteristica fisica (ad es. volume, tonalità o altezza, timbro). Ciò che è importante è che la differenza nella frequenza di presentazione e nelle proprietà fisiche tra gli stimoli standard e quelli devianti, sembra essere sufficiente a rendere prioritaria l'elaborazione degli stimoli devianti rispetto agli standard già in un compito di ascolto passivo, in cui il soggetto deve semplicemente ascoltare i suoni, attraverso una maggiore allocazione di attenzione 'involontaria'. La differenza nella priorità di elaborazione (ovvero attenzione allocata) tra stimoli standard e devianti risulta enfatizzata in un compito di ascolto attivo in cui ad es. il soggetto si pone volontariamente in attesa degli stimoli devianti (stimoli target) a cui deve attivamente rispondere (per es. premendo un pulsante); in questo caso sono coinvolte componenti di attenzione volontaria.

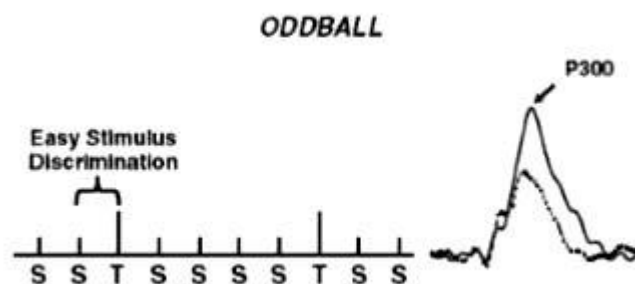


Figura 3.1: Paradigma Oddball: lo stimolo target (T), corrispondente allo stimolo deviante, viene presentato all'interno di un treno di stimoli standard (S). L'ampiezza della P300 risulta essere tanto maggiore, quanto maggiore è la capacità di riconoscimento dello stimolo target e tanto più inatteso è lo stimolo stesso. Tratta da [20]

## 3.2 Partecipanti

All'esperimento hanno partecipato sei soggetti maschi di età compresa tra diciannove e quarantaquattro anni ( $M = 25,17$  anni,  $SD = 8,49$ ). I soggetti erano completamente ignari circa l'esperimento, le fasi in cui era suddiviso e lo scopo dell'esperimento stesso. Tutti i soggetti, ad eccezione di uno, non avevano mai avuto in precedenza esperienze di acquisizione di EEG. L'esperimento, comprensivo delle registrazioni EEG, è stato effettuato 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.

## 3.3 Procedura generale: passive e active listening

Il protocollo di acquisizione si basa su due prove (vedi figura 3.2): una prova di ascolto passiva (passive listening) seguita da una prova di ascolto attiva (active listening). Per prima cosa il soggetto dovrà eseguire il passive listening; cioè è stato previsto un ordine di acquisizione fisso in tutti i soggetti che prevede prima il passive listening e quindi l'active listening. Durante la prova di passive listening, i soggetti sono informati del fatto che sentiranno dei suoni ma non dovranno fare nulla ovvero non è richiesta alcuna risposta comportamentale. In questo caso dunque, l'eventuale cattura di attenzione da parte dello stimolo deviante avviene in maniera del tutto automatica ovvero involontaria. Terminato il passive listening, il soggetto dovrà eseguire la seconda acquisizione (active listening): in questo caso i soggetti sono istruiti a rispondere al suono infrequente (ovvero quello deviante, che quindi diventa il suono target) premendo il più velocemente possibile il pulsante. In questo caso, invece, il soggetto presta volontariamente attenzione allo stimolo deviante. Come detto, in tutti i soggetti l'ordine di acquisizione prevede prima la prova di passive e quindi l'active listening e mai l'opposto; questo per evitare che l'orientazione volontaria di attenzione verso lo stimolo deviante durante l'active listening possa influenzare l'elaborazione dello stimolo deviante durante il passive listening nel caso la prova di active listening venga presentata per prima.

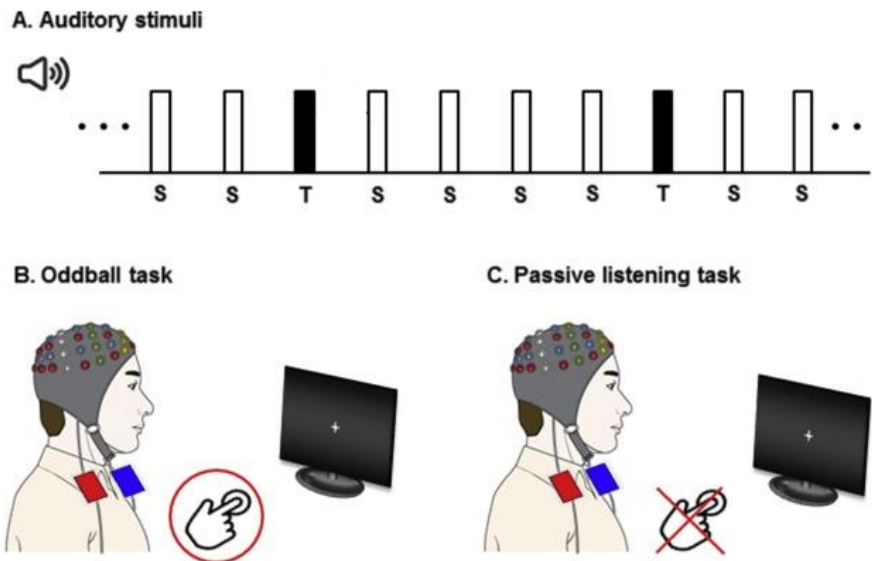


Figura 3.2: Protocollo di acquisizione. (A) Serie di stimoli uditivi presentati al soggetto che comprendono sia i suoni devianti (con frequenza di presentazione minore) che i suoni standard. Le barre bianche con la lettera 'S' indicano stimoli standard, mentre le barre nere con la lettera 'T' rappresentano gli stimoli devianti. Durante il compito attivo (B) i partecipanti sono istruiti ad eseguire un compito di discriminazione sonora premendo un pulsante ogni qualvolta riconoscono lo stimolo deviante (stimolo target). Al contrario, durante l'attività di ascolto passivo (C) i partecipanti sono istruiti ad ascoltare soltanto i suoni senza rispondere attivamente. Tratta da [21]

### 3.4 Paradigma di oddball realizzato per il passive and active listening

Il paradigma oddball consiste di due stimoli uditivi. Si è deciso di seguire un protocollo sperimentale simile a quello proposto in un recente studio [13] che prevedeva un tono puro basso (sinusoide a 500 Hz) presentato come stimolo standard e uno tono puro alto (sinusoide a 1000 Hz) presentato come stimolo deviante. In questo modo i due toni (stimoli) differivano tra di loro per una proprietà fisica, la tonalità o altezza (determinata dalla frequenza dell'onda), che permetteva di distinguerli percettivamente. In quello studio [13], entrambi gli stimoli sonori avevano una durata di 50 ms a cui seguiva una pausa di 950 ms (intervallo inter-stimolo) così che ciascun trial durasse 1000 ms. Inoltre, il protocollo sperimentale utilizzato in quello studio [13] consisteva nel presentare al soggetto un totale di 400 trials di cui 75 devianti e 325 standard.

Si è deciso di utilizzare stimoli sonori di durata 56 ms anziché 50 ms, a cui segue una pausa della durata di 944 ms (anziché 950 ms) così da mantenere ciascun trial di durata pari a 1000 ms = 1 s. Questa scelta è stata dettata dalla frequenza di campionamento (125 Hz) della scheda di acquisizione Open BCI. Questo significa che vengono acquisiti 125 campioni al secondo, e quindi

vengono acquisiti 125 campioni durante ciascun trial. Un segnale fondamentale acquisito dalla scheda OpenBCI è il trigger, che consente di sincronizzare i segnali EEG agli istanti di presentazione degli stimoli (si veda Capitolo 2). Il trigger (per come è stato realizzato) risulta essere alto per tutta la durata del suono (56 ms), mentre si sposta al livello logico basso nel momento in cui il suono cessa di essere riprodotto: in questo modo per ogni trial si avrà un numero intero di ‘1’ pari  $0,056 \times 125 = 7$  e un numero intero di ‘0’ pari a  $0,944 \times 125 = 118$ .

Nel presente lavoro, i due suoni sono stati realizzati come onde quadre aventi diversa frequenza fondamentale (500 Hz e 1000 Hz) e entrambe aventi duty cycle del 50%. Per la generazione dei due stimoli sonori, come detto nel Capitolo 2, è stato utilizzato Arduino creando due cicli “for”, uno per lo stimolo deviante e uno per lo stimolo standard, dove l’esecuzione singola del ciclo “for” corrisponde alla generazione del singolo periodo dell’onda (si veda Capitolo 2 per le istruzioni specifiche). Pertanto, i due cicli “for” si differenziavano per due principali caratteristiche: il numero di ripetizioni del ciclo e il tempo in cui il segnale deve rimanere alto e basso all’interno del ciclo stesso (figura 3.3). Più precisamente si ha che:

- Per lo stimolo standard (500 Hz) il ciclo viene ripetuto 28 volte, valore determinato dal prodotto tra la durata del suono e la sua frequenza ( $0,056 \times 500 = 28$  numero di cicli). Infatti l’onda quadra a 500 Hz ha periodo di  $2 \text{ ms} = \frac{1}{\text{frequenza}}$ , e quindi per generare un suono della durata di 56 ms, il periodo deve ripetersi 28 volte. Per quanto riguarda i ritardi all’interno del ciclo (che definiscono la durata del livello alto e del livello basso dell’onda quadra entro ciascun periodo) invece sono stati fissati a  $1000 \mu\text{s}$ . Questo valore è stato determinato sulla base del periodo dell’onda e del duty cycle ( $dc = 50\% = 0.5$  nel nostro caso) come  $dc \cdot \frac{1}{\text{frequenza}} = 0.5 \cdot \frac{1}{500} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ s} = 1000 \mu\text{s}$ .
- Per lo stimolo deviante (1000 Hz) il ciclo viene ripetuto 56 volte, valore determinato dal prodotto tra la durata del suono e la sua frequenza ( $0,056 \times 1000 = 56$  numero di cicli). Infatti l’onda quadra a 1000 Hz ha periodo di  $1 \text{ ms} = \frac{1}{\text{frequenza}}$ . Per quanto riguarda i ritardi invece sono stati fissati a  $500 \mu\text{s}$ , valore che si riferisce sia al tempo in cui il segnale deve rimanere alto durante un ciclo, sia al tempo in cui il segnale deve rimanere basso durante lo stesso ciclo. Questo valore è stato determinato sulla base del periodo dell’onda e del duty cycle come  $dc \cdot \frac{1}{\text{frequenza}} = 0.5 \cdot \frac{1}{1000} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ s} = 500 \mu\text{s}$ .



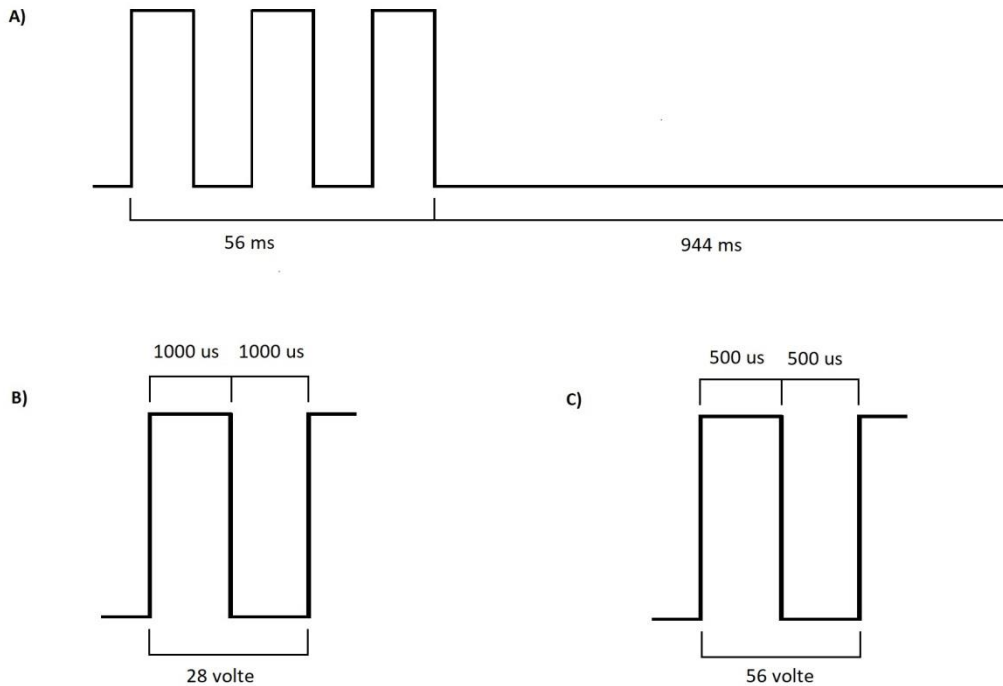


Figura 3.3: Differenze tra i segnali che generano lo stimolo standard e deviante. (A) Singolo trial composto da una parte corrispondente allo stimolo sonoro (onda quadra) per la durata di 56 ms seguito da una pausa (intervallo inter-stimolo) di 944 ms. Al soggetto, per ciascuna prova (passive e active listening) vengono presentati  $N_{tot} = 400$  trials (di cui 75 devianti e 325 standard in ordine casuale). (B) Stimolo standard costituito da un onda quadra che resta alta per 1000  $\mu$ s e bassa per 1000  $\mu$ s e che si ripete 28 volte in modo da generare il suono per 56 ms. (C) Stimolo deviante costituito da un onda quadra che resta alta per 500  $\mu$ s e bassa per 500  $\mu$ s e che si ripete 56 volte in modo da generare il suono per 56 ms.

Infine, per ciascuna prova (sia passive che active listening), prendendo spunto dallo studio precedente di letteratura [13], è stato deciso di utilizzare un numero totale di trial pari a 400 ( $N_{tot}$ ) di cui 75 devianti ( $N_{devianti}$ ) e 325 standard ( $N_{standard}$ ).

### 3.5 Acquisizione dei segnali EEG

Prima dell'inizio delle sessioni di acquisizione dei segnali EEG, ciascun soggetto viene fatto sedere in posizione confortevole, in una stanza silenziosa e con ridotta luminosità del LIB, preposta alle acquisizioni EEG. Al soggetto viene fatta indossare la cuffia con elettrodi su cui è fissata anche la scheda di acquisizione OpenBCI a cui sono collegati i fili provenienti dagli elettrodi. Gli elettrodi utilizzati sono 14: PZ, CP6, T8, P4, C4, PO4, CP2, CP1, CZ, C3, T7, PO3, P3, CP5, come descritto nel Capitolo 2 (si veda Figura 2.1), referenziati rispetto a un elettrodo sul lobo dell'orecchio destro. Al piedino D11 della scheda di acquisizione OpenBCI, è collegato anche il cavo che trasporta il

segnale di trigger generato dalla scheda Arduino, come descritto nel Capitolo 2. La frequenza di campionamento è 125 Hz.

Come detto precedentemente, ogni soggetto viene sottoposto prima alla prova di passive listening quindi alla prova di active listening. Durante ciascuna prova, i 14 segnali EEG e il trigger vengono acquisiti in modalità continua. Tra una prova e l'altra, vi è una breve interruzione di circa 10 minuti durante la quale viene ricaricata la scheda di acquisizione OpenBCI; questa interruzione consente anche al soggetto di rilassarsi per evitare un eccessivo affaticamento. Ogni prova dura 400 secondi (ovvero 6 minuti e 40 secondi), dal momento che è costituita dalla presentazione di 400 trial ognuno della durata di un secondo.

Appena prima della prova di passive listening, il soggetto viene informato del fatto che per alcuni minuti sentirà il susseguirsi di suoni e dovrà limitarsi ad ascoltare senza fare nulla di specifico. Appena prima dell'inizio dell'active listening, l'indice della mano destra del soggetto viene posto sopra il pulsante sulla scheda Arduino: il soggetto viene informato del fatto che per alcuni minuti sentirà il susseguirsi di suoni come nella prova precedente, ma in questo caso dovrà premere il pulsante non appena sentirà il suono di tonalità più alta (stimolo deviante).

Sia prima del passive che dell'active listening viene detto al soggetto di mantenere lo sguardo fisso davanti a sé, muovendo gli occhi il meno possibile, cercando di non muovere la testa e il corpo (ovviamente ad eccezione del dito quando deve premere il pulsante) così da ridurre al minimo eventuali artefatti da movimento.

### 3.6 Elaborazione dei dati con Matlab

I dati relativi alle acquisizioni EEG fatte con la scheda OpenBCI e quelli letti con il programma CoolTerm relativi alle posizioni degli stimoli devianti vengono salvati in formato txt e quindi caricati in Matlab; si è quindi proceduto ad una loro elaborazione sempre in Matlab, in modo da arrivare all'estrapolazione e alla visualizzazione della componente P300 da tali dati. Si noti che per ogni soggetto, si eseguono due prove e quindi vengono salvati 4 file txt in fase di acquisizione, due relativi alla prova passive listening (uno contenente il trigger e i 14 segnali EEG e uno contenente le posizioni degli stimoli devianti all'interno di quella prova), e due relative alla prova active listening (uno contenente il trigger e i 14 segnali EEG e uno contenente le posizioni degli stimoli devianti all'interno di quella prova). Nel seguito viene descritta l'elaborazione applicata ai dati di una generica prova, sia tale prova di passive o active listening.

### 3.6.1 Filtraggio dei segnali EEG con filtro passa-banda

Una prima elaborazione prevede un filtraggio dei segnali EEG con un filtro passa-banda tra 0,2 e 20 Hz (la banda eliminata è sotto 0,1 Hz e sopra i 30 Hz).

```
% filtro i dati con un passa-banda
Wp = [0.2 20]/(Fc/2);
Ws = [0.1 30]/(Fc/2);
Rp = 1;
Rs = 60;
[N, Wp] = ellipord(Wp, Ws, Rp, Rs);
[B, A] = ellip(N, Rp, Rs, Wp);
X = filtfilt(B, A, double(data));
```

Con  $W_p$  viene indicata la banda passante e con  $W_s$  quella di attenuazione. Vengono create due nuove variabili  $R_p$  e  $R_s$ : la prima rappresenta il valore, in decibel, della massima perdita in banda passante; la seconda è il valore, in decibel, dell'attenuazione che subisce il segnale in banda attenuata. Tali valori vengono posti in ingresso all'istruzione *ellipord()* che restituisce l'ordine più basso,  $N$ , del filtro che non perde più di  $R_p$  (espresso in decibel) nella banda passante e ha almeno  $R_s$  (espresso in decibel) di attenuazione nella banda di stop (banda di attenuazione). Viene inoltre restituito lo scalare (o vettore) delle corrispondenti frequenze di taglio  $W_p$ . Ora, noti  $N$  e  $W_p$ , tramite l'istruzione *ellip()* si calcolano i coefficienti A e B (numeratore e denominatore) della funzione di trasferimento del filtro. Infine, grazie ad essi e per mezzo dell'istruzione *filtfilt()* si esegue il vero e proprio filtraggio.

Questo filtraggio è stato effettuato perché la maggior parte del contenuto informativo cerebrale è contenuto sotto i 40 Hz, più precisamente perché il contenuto spettrale del potenziale P300 è principalmente compreso nelle bande dei ritmi *delta* (0.5-4 Hz), *theta* (4-8) Hz e *alpha* (8-13 Hz). Inoltre questo filtraggio, filtrando al di sotto di 0.2 Hz, rimuove le derive lente dei segnali EEG. .

Il filtraggio viene applicata alla variabile *data* che contiene i 14 segnali EEG 'grezzi': tale variabile è una matrice di dimensioni  $m \times n$  (con  $m$  = numero di samples e  $n$  = numero di canali). L'istruzione *filtfilt* quando applicata a una matrice, applica il filtraggio a ciascuna colonna della matrice. Il risultato del filtraggio è restituito nella matrice  $X$  di dimensioni  $m \times n$  (con  $m$  = numero di samples e  $n$  = numero di canali) contenente pertanto nelle colonne i segnali grezzi filtrati con il filtro passa-banda.

### 3.6.2 Visualizzazione dei segnali EEG

Successivamente i segnali EEG filtrati sono stati graficati in una stessa figura, disponendo uno sotto l'altro i segnali relativi ai vari canali. Viene creata la variabile *delta* pari a 150 utile per il distanziamento delle forme d'onda in modo da consentire una corretta visualizzazione. Infatti, ciascun segnale d'elettrodo viene incrementato di un multiplo della variabile *delta*, dove il valore del multiplo rispecchia l'ordine degli elettrodi. Ad esempio, al segnale dell'elettrodo, cui corrisponde la colonna in posizione *i* di *X*, viene aggiunto un valore pari a  $delta*(i-1)$ . Infine, grazie alle istruzioni *yticks* e *yticklabels* si posizionano i tick dell'asse y e si assegnano come etichette dei tick le stringhe corrispondenti ai nomi dei vari elettrodi; in tal modo nel grafico, ciascun segnale mostrato è etichettato sull'asse y con il nome dell'elettrodo con cui è stato acquisito (vedi figura 3.4).

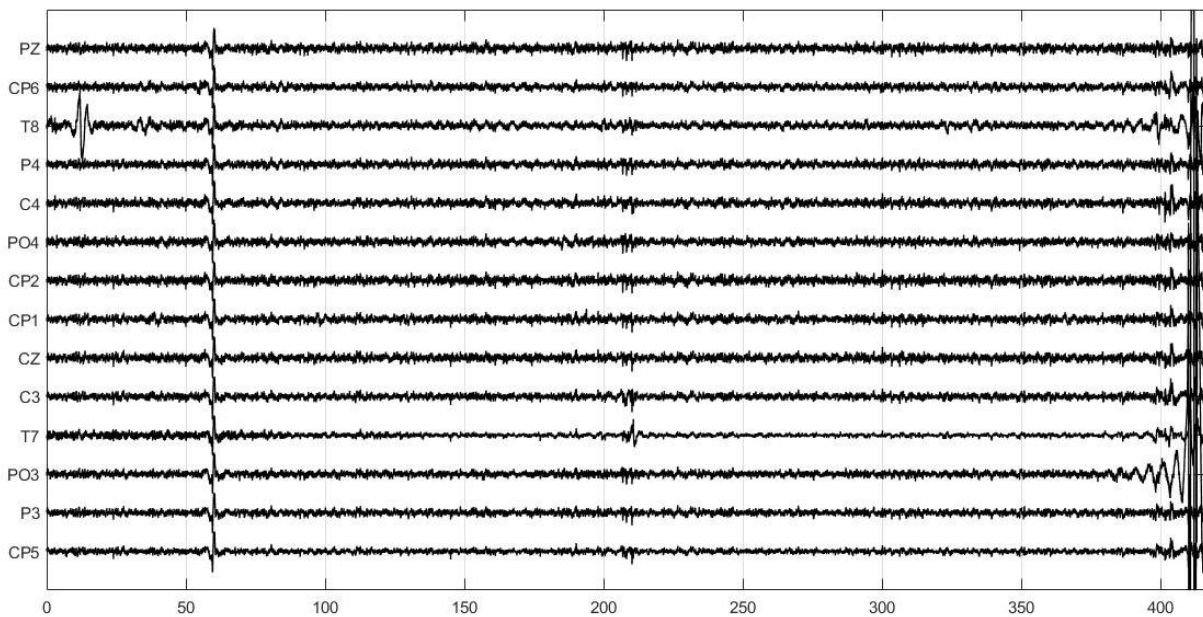


Figura 3.4: Tracciato EEG relativo ai 14 elettrodi acquisiti su uno dei soggetti partecipanti all'elaborato

Si noti che l'utilizzo di elettrodi in posizione centro-parietale riduce i disturbi dovuti a movimenti oculari (conseguenti a blinking e saccadi) anche se tali disturbi restano comunque un minimo presenti.

### 3.6.3 Identificazione di segnali corrotti da disturbi elevati

La precedente visualizzazione dei segnali EEG a valle del filtraggio è utile per verificare l'eventuale presenza di segnali di elettrodo molto disturbati. Tali disturbi possono nascere principalmente da un distacco dell'elettrodo dalla cute o da un crosstalk tra due cavi vicini. È importante che canali notevolmente disturbati vengono precocemente individuati nel flusso dell'elaborazione, per non inficiare il calcolo dell'ERP (si veda sezione 3.6.4 e 3.6.5). Per questo motivo sono state definite le variabile *ch\_brutti* e *ch\_belli* contenenti rispettivamente gli indici dei canali da non considerare successivamente perché troppo disturbati e gli indici dei canali da considerare per le successive elaborazioni. I canali *ch\_brutti* da scartare sono scelti sulla base di una mera ispezione visiva, individuando i canali che presentano disturbi di ampiezza molto elevata tali da sovrapporsi nella visualizzazione agli altri canali e che perdurano nel tempo per decine di secondi. Le figure 3.5 e 3.6 mostrano un esempio di tracciati EEG che presentano segnali molto disturbati che è bene individuare e affinché vengano scartati nelle ulteriori elaborazioni.

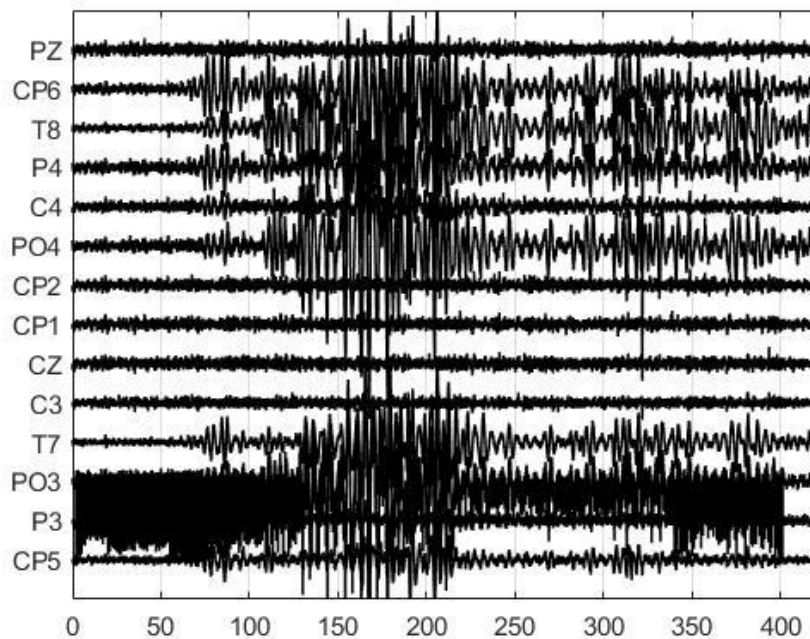


Figura 3.5: Tracciato EEG relativo ai 14 elettrodi acquisiti su uno dei soggetti partecipanti allo studio; sono chiaramente visibili alcuni canali fortemente corrotti da disturbi.

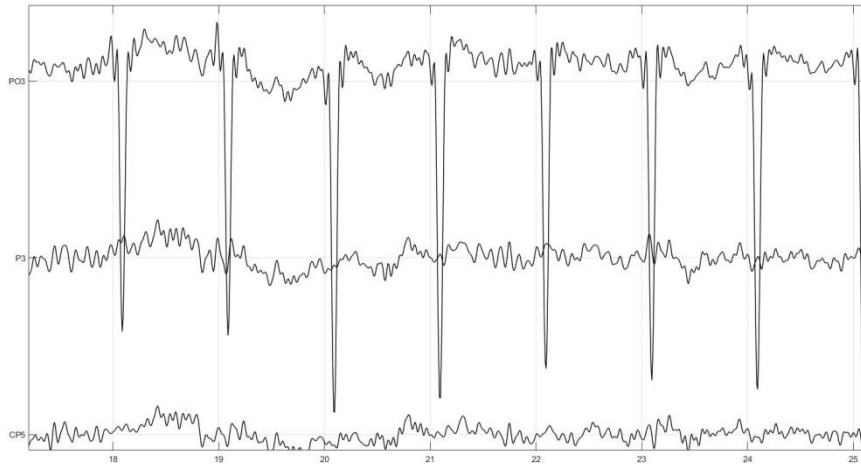


Figura 3.6: Zoom del canale disturbato PO3 di Figura 3.5. Lo zoom indica che il disturbo su quel segnale è costituito dalla presenza di picchi a distanza di circa un secondo l'uno dall'altro. Tale disturbo è dovuto ad un accoppiamento con il segnale di trigger che consiste infatti in uno spike che si presenta con frequenza di 1 Hz.

### 3.6.4 Segmentazione dei segnali EEG in epoche deviant e epoche standard

Per la segmentazione dei segnali EEG continui (filtrati e privi di eccessivi disturbi) in epoche deviant e epoche standard, viene sfruttato il segnale di trigger realizzato con la scheda Arduino e acquisito mediante la scheda OpenBCI (oltre alla variabile memorizzata che contiene le posizioni dei 75 stimoli devianti all'interno della serie dei 400 stimoli complessivamente presentati). Dal segnale di trigger vengono estratti prima di tutto gli indici vettoriali corrispondenti agli istanti di inizio degli impulsi di trigger ovvero vengono determinati gli indici vettoriali corrispondenti ai fronti di salita del trigger (indici del primo valore a 1 per ciascun impulso del trigger). Così facendo si ottiene un vettore  $400 \times 1$  ( $I_{onset}$ ) che contiene gli indici vettoriali corrispondenti all'onset dei 400 stimoli audio presentati..

A questo punto viene definito il vettore C3 contenente i valori relativi alle posizioni (tra le 400) dei 75 stimoli devianti e viene associato alla variabile *posizioni\_deviant*. Le posizioni degli stimoli standard, associate alla variabile *posizioni\_standard*, sono state definite tramite la funzione *setdiff* che ritorna i valori compresi tra 1 e 400 non contenuti in C3. Tramite le istruzioni  $indici\_deviant = I_{onset}(posizioni\_deviant)$  e  $indici\_standard = I_{onset}(posizioni\_standard)$  vengono estratti rispettivamente gli indici vettoriali che individuano l'onset degli stimoli audio devianti e gli indici vettoriali che individuano l'onset degli stimoli audio standard. .

La segmentazione in epoche è stata fatta scegliendo epoche della durata di 800 ms, che iniziano 100 ms prima dell'inizio (onset) dello stimolo audio fino a 700 ms dopo l'inizio dello stimolo. Per far questo sono state definite due variabili *m\_prima* e *m\_dopo*: la prima è stata impostata a 13 ovvero vengono presi 13 valori prima dell'onset dello stimolo, corrispondenti a circa 100 ms ( $1 / 125 \times 13 = 104$  ms); la seconda è stata impostata a 88 ovvero vengono presi 88 valori dopo l'onset dello stimolo, corrispondenti a circa 700 ms ( $1 / 125 \times 88 = 704$  ms). Quindi vengono eseguite le seguenti istruzioni:

```
for i=1:length(indici_deviant),
    Trial_Deviant(:, :, i)=X(indici_deviant(i)-m_prima:indici_deviant(i)+m_dopo, :);
end

for j=1:length(indici_standard),
    Trial_Standard(:, :, j)=X(indici_standard(j)-m_prima:indici_standard(j)+m_dopo, :);
end
```

Tramite le istruzioni sopra riportate si è arrivati alla definizione di due matrici tridimensionali, *Trial\_Deviant* e *Trial\_Standard*. Tali matrici hanno dimensioni  $m \times n \times p$  e presentano nella prima dimensione i 102 valori considerati per ogni stimolo (13 valori prima dell'onset dello stimolo e 88 dopo l'onset + il valore corrispondente all'onset, quindi  $m = 102$ ), nella seconda dimensione i canali acquisiti ( $n = 14$ ) mentre la terza dimensione corrisponde al numero di stimoli presentati ( $p = 75$  nel caso di *Trial\_Deviant* e  $p = 325$  nel caso di *Trial\_Standard*). Si noti che, per comodità implementativa, si stanno ancora considerando tutti i 14 segnali di elettrodo, anche nel caso tra di essi siano stati identificati alcuni corrotti da eccessivi artefatti. La variabile *ch\_brutti*, contenente gli indici di tali canali (insieme alla variabile *ch\_belli*), viene sfruttata successivamente per non considerare gli ERP calcolati sui canali corrotti e per non inficiare il calcolo degli ERP sui canali 'buoni'.

Successivamente è stata effettuata una fase di verifica in cui le epoche sono state analizzate (in modo automatico) per eliminare epoche in cui erano presenti artefatti. In particolare, prendendo spunto dal lavoro di letteratura già citato [13] sono state scartate tutte le epoche che presentavano almeno un valore (sui canali *ch\_belli*) al di fuori dal range  $\pm 100 \mu V$ , valore considerato troppo elevato per essere una misura corretta di EEG e quindi soggetta a probabili disturbi transienti. Tale algoritmo automatico di scansione e rimozione di epoche è stato implementato con il seguente codice (qui riportato per brevità solo per la variabile *Trial\_Deviant* contenente le epoche etichettate come devianti):

```

validiD=[];

for i=1:length(indici_deviant)
    XTrial=squeeze(Trial_Deviant(:,ch_belli,i));
    if sum(sum((XTrial>100)|(XTrial<-100)))==0,
        validiD=[validiD,i];
    end
end

Trial_Deviant_validi=Trial_Deviant(:, :, validiD);

```

È stata definita una nuova variabile *validiD* che memorizza gli indici (con valori compresi tra 1 e p) delle posizioni degli stimoli devianti che presentano tutti i valori compresi nel range  $\pm 100 \mu V$  (stimoli considerati validi). Nel momento in cui anche solo un valore (tra i 102 di ogni epoca di qualsiasi canale) esce da tale range, il trial corrispondente viene scartato. Alla fine viene definita la nuova matrice *Trial\_Deviant\_validi* contenente solo le epoche con valori validi, ovvero con valori compresi entro il range di interesse. Lo stesso procedimento viene fatto per gli stimoli standard arrivando alla definizione della matrice *Trial\_Standard\_validi* che contiene solo epoche corrispondenti agli stimoli standard con valori dei segnali compresi all'interno del range  $\pm 100 \mu V$ . Si noti che la selezione dei trial validi è stata basata solo considerando i *ch\_belli* anziché tutti i canali. Questo è stato fatto in quanto, se il controllo fosse stato implementato su tutti i canali (compresi i *ch\_brutti* i quali, per come sono stati indentificati contengono disturbi molto elevati su periodi di tempo lunghi) avrebbe portato a scartare un numero elevatissimo di trial; ciò inficerebbe il calcolo degli ERP anche sui canali 'belli' perché gli ERP verrebbero calcolati come media su un numero ridottissimo di epoche sopravvissute al controllo automatico.

### 3.6.5 Baseline correction e visualizzazione della componente P300 dagli elettrodi acquisiti

Tutte le epoche sono poi state corrette applicando la baseline correction, ovvero rimuovendo da ogni epoca il valore medio nell'intervallo pre-stimolo (-100 ms ÷ 0 ms) . Per far questo è stato calcolato per ciascuna epoca il valore medio nei 100 ms precedenti l'onset dello stimolo (il valore medio è stato calcolato per ogni elettrodo); il segnale medio di ciascun elettrodo è stato sottratto ad ogni campione di quell'elettrodo in quella stessa epoca (in questo modo in ogni epoca, i segnali ai vari elettrodi hanno valore medio nullo nell'intervallo pre-stimolo). Questo serve ad eliminare possibili offset presenti nelle varie epoche.



Sono state ottenute due nuove matrici, *Trial\_Deviant\_bcorr* e *Trial\_Standard\_bcorr* di grandezza uguale a *Trial\_Deviant\_validi* e *Trial\_Standard\_validi* rispettivamente ma con la baseline correction applicata.

Dai valori di queste due nuove matrici sono stati ottenuti i potenziali evocati per evidenziare la possibile presenza dell'onda P300 per ogni elettrodo, mediante applicazione della tecnica dell'averaging. Attraverso la funzione *mean* è stata fatta la media sulla terza dimensione di entrambe le matrici (quella relativa al numero di stimoli) in modo da trasformare le matrici tridimensionali in bidimensionali. Le due nuove matrici, *ERP\_Deviant\_bcorr* e *ERP\_Standard\_bcorr*, sono matrici  $m \times n$  (con  $m = 102$  valori dati dalla media fra il numero di stimoli e  $n = 14$ , ovvero numero di canali acquisiti).

A questo punto si è passati alla visualizzazione dei potenziali evocati per ogni elettrodo.

```
for i=1:n,
    subplot(3,5,i)
    plot(t_ERP,ERP_Deviant_bcorr(:,i),'r','linewidth',2)
    hold on
    plot(t_ERP,ERP_Standard_bcorr(:,i),'g','linewidth',2)
    grid
    xlim([-100 700]);
    set(gca,'xtick',[-100:100:700])
    xlabel('ms')
    title(labels(i))
end
```

Tramite la funzione *subplot* sono stati graficati, in plot distinti, tutti gli elettrodi acquisiti in una stessa figura. Per ogni elettrodo è stato graficato sia il segnale ERP relativo agli stimoli standard (in verde) sia quello relativo ai devianti (in rosso), più precisamente sono stati sovrapposti l'uno sull'altro per mostrare come la P300 si presenti maggiormente in risposta agli stimoli devianti (si veda Capitolo 4). Il calcolo degli ERP di ciascun soggetto avviene su tutti i canali, anche sui canali *ch\_brutti*, ma l'ERP su tali canali non viene considerato e viene scartato nel salvataggio finale (si veda sezione 3.6.6).

### 3.6.6 Salvataggio dei dati

Per ogni soggetto, dopo aver calcolato e visualizzato l'ERP degli elettrodi acquisiti, si è passati al salvataggio finale dei risultati; infatti gli ERP ottenuti sui singoli soggetti servono per effettuare il grand average tra tutti i soggetti. Per il salvataggio, sono state create due nuove matrici, *ERP\_Deviant\_bcorr\_N* e *ERP\_Standard\_bcorr\_N*, a partire dalle due precedenti

(*ERP\_Deviant\_bcorr* e *ERP\_Standard\_bcorr*) con la differenza che le due nuove, in corrispondenza della colonne indicizzate da *ch\_brutti* (variabile contenente gli indici dei canali da non considerare perché fortemente disturbati), sono state riempite con valori NaN (Not a Number). In questo modo le due nuove matrici hanno grandezza ancora  $m \times n$  (con  $m = 102$  valori dati dalla media fra il numero di stimoli e  $n = 14$  numero di canali acquisiti) dove però in corrispondenza delle colonne indicizzate da *ch\_brutti* i valori presenti sono NaN. In questo modo, per ogni soggetto, gli ERP sui canali *ch\_brutti* risultano rimossi, in modo da non comparire, alterandola, nella Grand Average. A questo punto si è passati al salvataggio finale delle due matrici in un unico file '.mat' *ERP\_XY\_passivo.mat* (nel caso di prova passiva) e *ERP\_XY\_attivo.mat* (nel caso di prova attiva), tramite l'istruzione *save*. Le lettere *XY* che compaiono nel nome dei file corrispondono rispettivamente alla iniziale del nome e alla iniziale del cognome del soggetto a cui i dati si riferiscono

### 3.6.7 Grand Average

Ottenute per ogni soggetto due file, *ERP\_XY\_passivo* e *ERP\_XY\_attivo*, si è passati al calcolo della media finale tra gli ERP di tutti i soggetti in modo da ottenere il segnale medio sui soggetti che rappresenta il potenziale evocato associato a quello specifico stimolo e in quella determinata condizione sperimentale. Per far questo sono state create due nuove matrici tridimensionali, *ERP\_tutti\_passivo\_Standard* e *ERP\_tutti\_passivo\_Deviant*, matrici di dimensioni  $m \times n \times p$  che presentano nella prima dimensione i 102 valori considerati per ogni stimolo (13 valori prima dell'onset dello stimolo e 88 dopo l'onset + il valore corrispondente all'onset, quindi  $m = 102$ ), nella seconda dimensione i canali acquisiti ( $n = 14$ , si ricordi infatti che i dati relativi ai canali scartati sono stati sostituiti da NaN) mentre la terza dimensione corrisponde al numero di soggetti acquisiti. Sono quindi stati caricati i dati relativi ad ogni soggetto tramite le istruzioni sotto riportate (qui riportato per brevità solo il caso passivo):

```
for i=1:length(soggetto)

    load(['C:\Users\Admin\Documents\FEDE\Tesi
    Fede\',soggetto{i},'\ERP_',soggetto{i},'_passivo.mat'])

    ERP_tutti_passivo_Standard(:,:,i)=ERP_Standard_bcorr_N;
    ERP_tutti_passivo_Deviant(:,:,i)=ERP_Deviant_bcorr_N;
end
```

È stato creato il percorso che permette di caricare, per il soggetto  $i$ -esimo, il file *ERP\_XY\_passivo* contenente le due matrici *ERP\_Deviant\_bcorr\_N* e *ERP\_Standard\_bcorr\_N*. A questo punto la prima matrice (*ERP\_Deviant\_bcorr\_N*) è stata collocata nella matrice *ERP\_tutti\_passivo\_Deviant* nella posizione  $i$ -esima della terza dimensione. Lo stesso viene fatto per la matrice *ERP\_Standard\_bcorr\_N* collocata all'interno della matrice *ERP\_tutti\_passivo\_Standard*. Così facendo si ottengono due matrici tridimensionali riempite con i valori relativi ai soggetti acquisiti. Dai valori di queste due nuove matrici sono stati ottenuti i potenziali evocati medi sui soggetti. Attraverso la funzione *mean* è stata fatta la media sulla terza dimensione di entrambe le matrici (quella relativa al numero di soggetti), ottenendo così matrici bidimensionali. Le due nuove matrici, *GA\_ERP\_tutti\_passivo\_Standard* e *GA\_ERP\_tutti\_passivo\_Deviant*, sono matrici  $m \times n$  (con  $m = 102$  valori dati dalla media fra il numero di stimoli e  $n = 14$  numero di canali acquisiti). Nel fare la media è stato utilizzato il termine *'omitnan'* in modo che in presenza di valori NaN, la media sarà data da tutti gli elementi non-NaN (solo se tutti gli elementi sono NaN, il risultato sarà NaN).



## Capitolo 4: Visualizzazione e analisi dei potenziali evocati ottenuti

Il presente capitolo illustra i potenziali evocati ottenuti nel protocollo sperimentale realizzato. Come descritto nei precedenti capitoli, il protocollo è finalizzato ad evidenziare, a livello di risposte cerebrali, la rilevazione dello stimolo deviante (target) all'interno di una serie di stimoli standard, in un paradigma di oddball uditivo. Il protocollo realizzato ha incluso sia una prova di ascolto passiva (passive listening), in cui i soggetti dovevano solo ascoltare i suoni e non era richiesta alcuna risposta comportamentale, sia una prova di ascolto attiva (active listening) in cui i soggetti dovevano rispondere il più velocemente possibile all'evento deviante premendo un pulsante.

Tra le componenti che ci aspetta di osservare nei potenziali ERP ottenuti, vi è la componente P300. Come già in precedenza sottolineato, la letteratura scientifica indica la P300 come una delle principali componenti ERP elicitate da stimoli devianti nei paradigmi di oddball. La componente P300 è una deflessione positiva del potenziale ERP che si verifica in genere tra i 300 e i 450 ms dopo la presentazione dello stimolo, ed è legata a meccanismi attentivi e ad un'elaborazione dettagliata dello stimolo. Tale componente risulta in genere di ampiezza maggiore in risposta a stimoli devianti quando questi costituiscono il target del focus attentivo del soggetto, rispetto al caso in cui gli stimoli devianti catturano l'attenzione in modo involontario.

Prima di descrivere i potenziali ottenuti nelle due prove di ascolto, una breve sezione riporta gli elettrodi che sono stati scartati nel calcolo dell'ERP perché soggetti ad eccessivo disturbo.

### 4.1 Elettrodi rimossi dal calcolo dell'ERP

Nel Capitolo 3 è stato specificato come alcuni elettrodi siano stati scartati in fase di elaborazione perché i relativi segnali erano soggetti ad eccessivo rumore. La visualizzazione dei segnali EEG a valle del filtraggio (si veda sezione 3.6.2) è infatti utile per verificare l'eventuale presenza di segnali di elettrodo molto disturbati. Tali disturbi possono nascere principalmente da un distacco dell'elettrodo dalla cute o da un crosstalk tra due cavi vicini. Nelle acquisizioni effettuate in questo elaborato l'elettrodo PO3 si trovava vicino alla scheda di acquisizione OpenBCI (collocata sulla cuffia in posizione posteriore) e prossimo al cavo che portava il segnale di trigger dalla scheda Arduino alla scheda OpenBCI. L'elettrodo PO3 è risultato molto disturbato in più prove di ascolto su soggetti diversi; questo può essere dovuto anche alla prossimità della scheda OpenBCI che

potrebbe causare più facilmente un allontanamento dell'elettrodo dalla cute (causando basso contatto). Un altro problema sempre legato all'elettrodo PO3 è il fenomeno di crosstalk col cavo del trigger che ha portato alla generazione di picchi periodici nel segnale corrispondente. Il segnale dell'elettrodo PO3 è stato escluso dall'analisi ERP in entrambe le prove di ascolto su tre dei soggetti acquisiti. Altri elettrodi che è stato necessario rimuovere in alcuni soggetti sono CP1, CP6, T7, T8 e P4. Il motivo principale in questo caso è il non perfetto contatto con la cute che porta alla generazione di segnali disturbati e che è quindi necessario eliminare. La tabella sottostante mostra gli elettrodi esclusi dal calcolo ERP per ciascun dei sei soggetti acquisiti:

Soggetti	Elettrodi rimossi prova passiva	Elettrodi rimossi prova attiva
<b>Soggetto 1</b>	CP6 T8 T7	Nessuno
<b>Soggetto 2</b>	PO3	PO3
<b>Soggetto 3</b>	CP6 T8 P4 PO4 T7 PO3 CP5	PO3
<b>Soggetto 4</b>	PO3	PO3
<b>Soggetto 5</b>	CP1	CP1
<b>Soggetto 6</b>	T8 P4	Nessuno

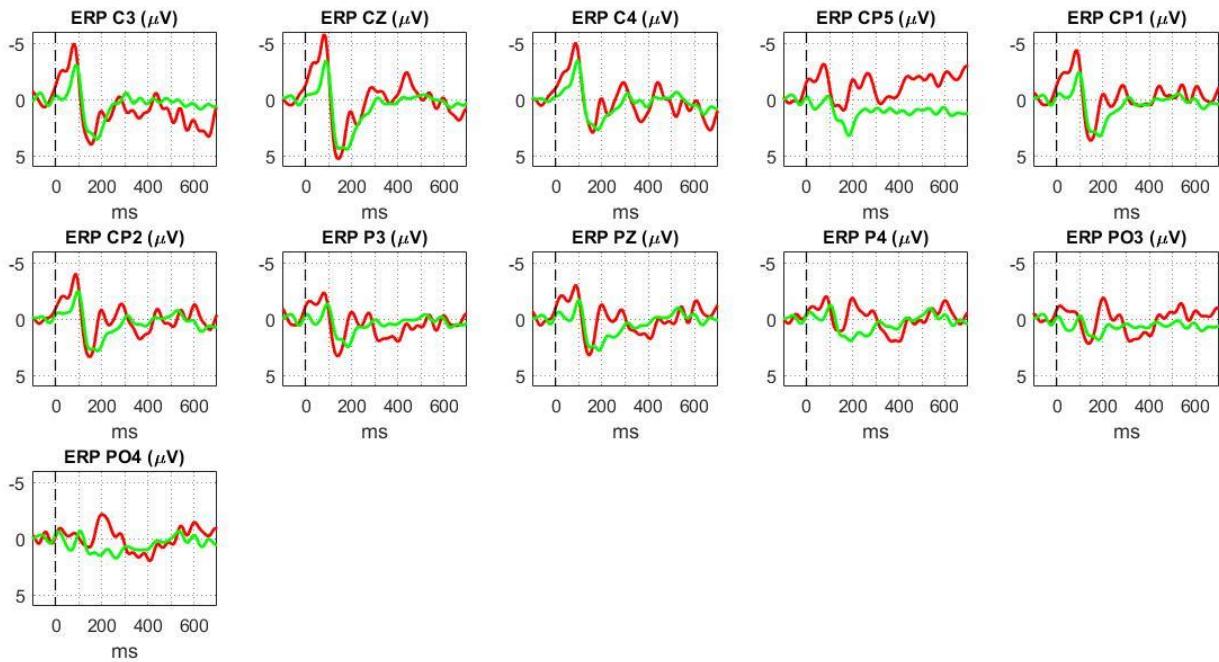
#### 4.2 I potenziali evocati nel singolo soggetto nel passive e nell'active listening

Per ogni soggetto sono state effettuate due acquisizioni, una relativa alla prova di ascolto passivo (in cui i soggetti dovevano solo ascoltare i suoni e non era richiesta alcuna risposta comportamentale), e una relativa alla prova di ascolto attivo (in cui i oggetti dovevano rispondere il più velocemente possibile all'evento deviante premendo un pulsante).

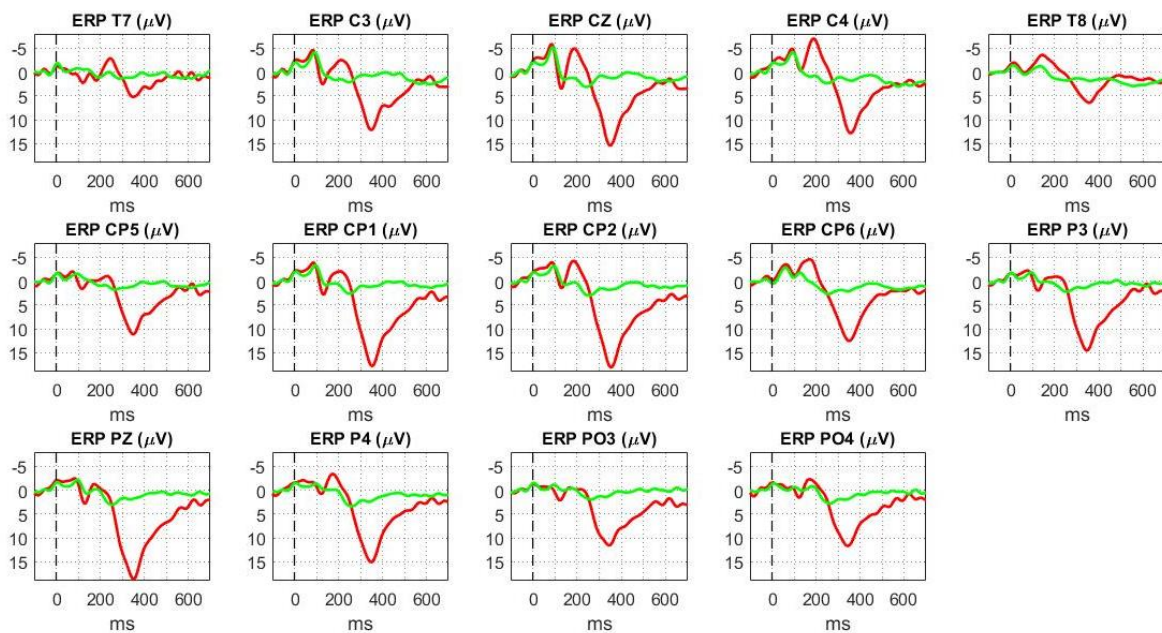
Per ogni soggetto, in ciascuna delle due prove di passive e active listening, sono stati graficate due forme d'onda per ciascun degli elettrodi non scartati: una forma d'onda (indicata in verde) corrispondente all'ERP associato allo stimolo target e una forma d'onda (indicata in rosso) corrispondente all'ERP associato allo stimolo deviante. Nei grafici a seguire, le componenti positive degli ERP sono rappresentate come deflessioni verso il basso, mentre le componenti negative come deflessioni verso l'alto, secondo la convenzione comunemente adottata.

Nelle figure che seguono vengono riportati gli ERP ottenuti nelle due prove di ascolto, rispettivamente passiva (nel pannello con 'subplot' multipli in alto in ciascuna figura) e attiva (nel pannello con 'subplot' multipli in basso in ciascuna figura), per tutti e sei i soggetti acquisiti.

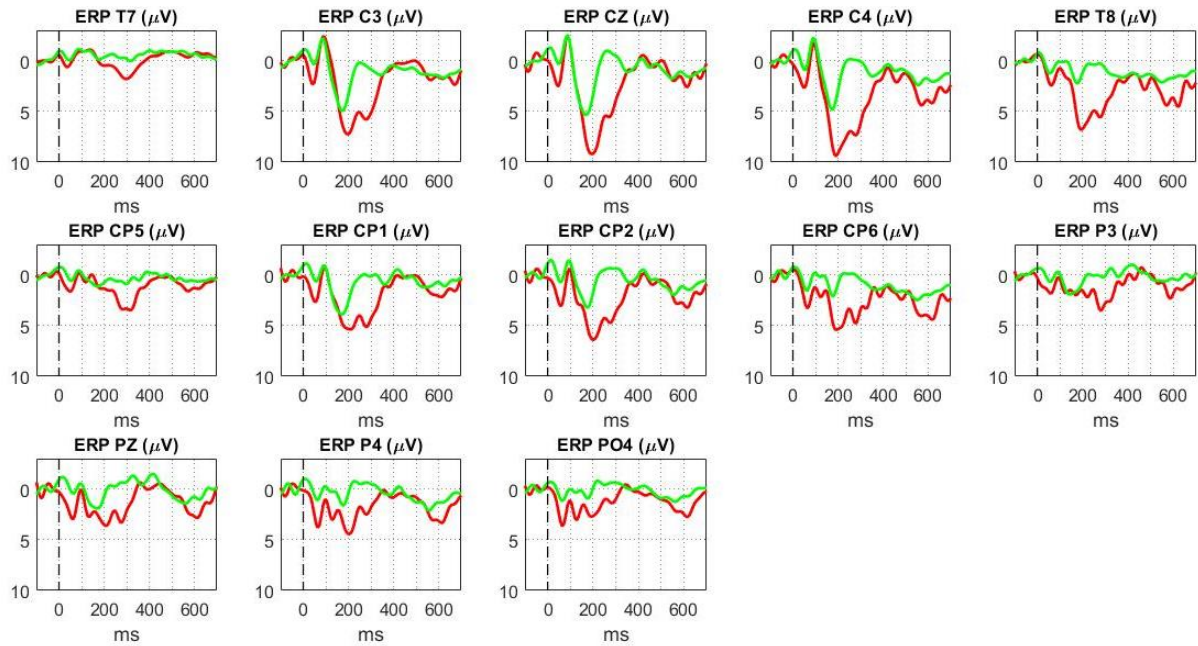
Soggetto 1- passive listening:



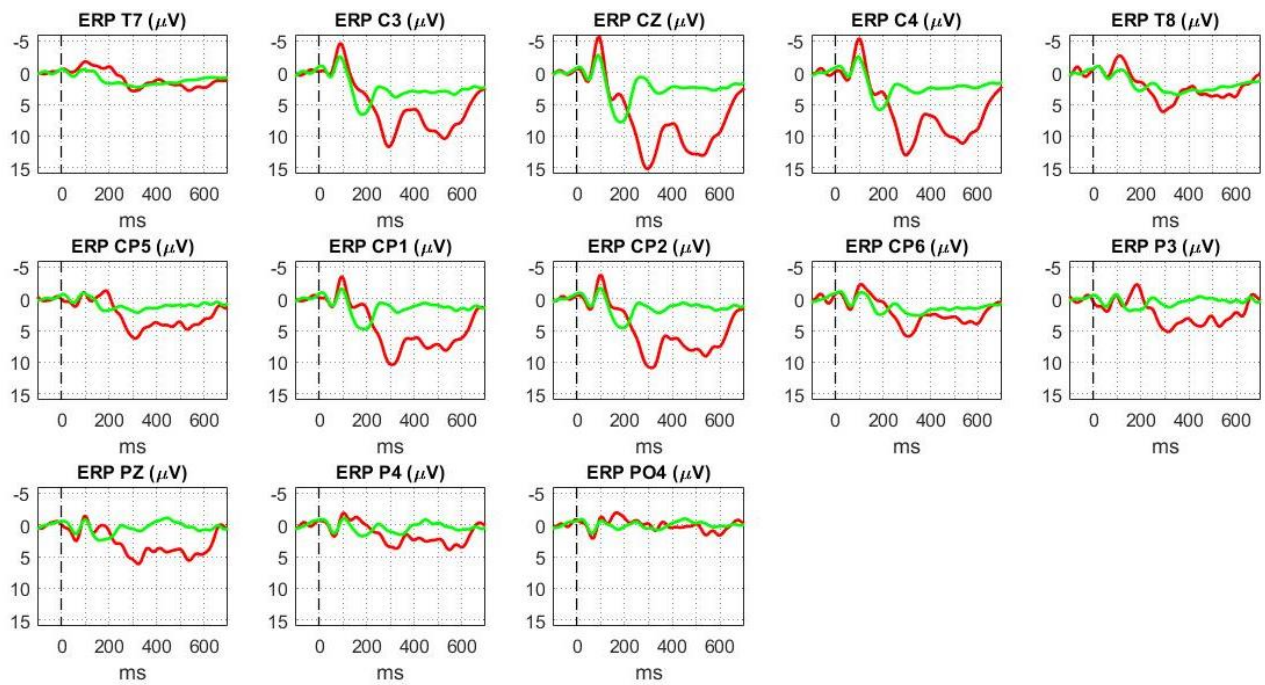
Soggetto 1- active listening



## Soggetto 2: passive listening

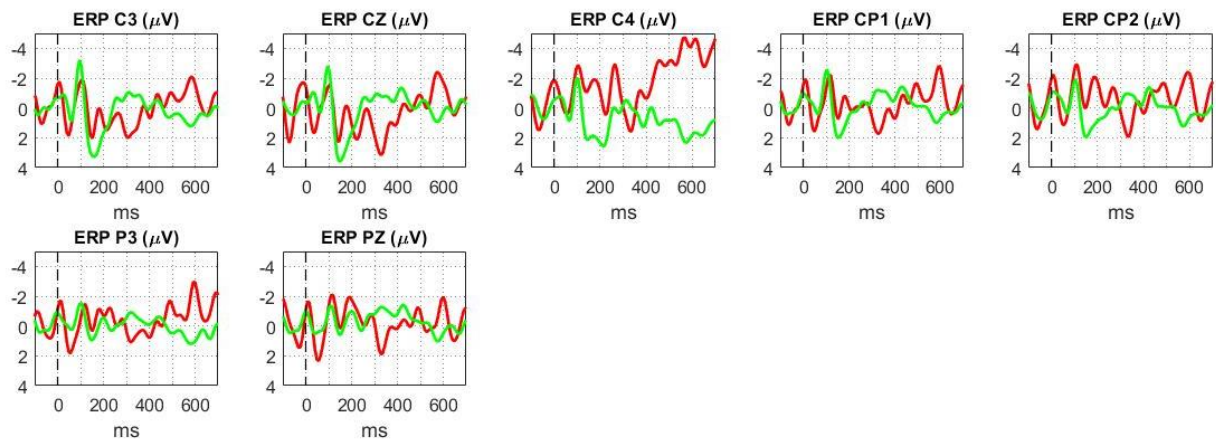


## Soggetto 2: active listening

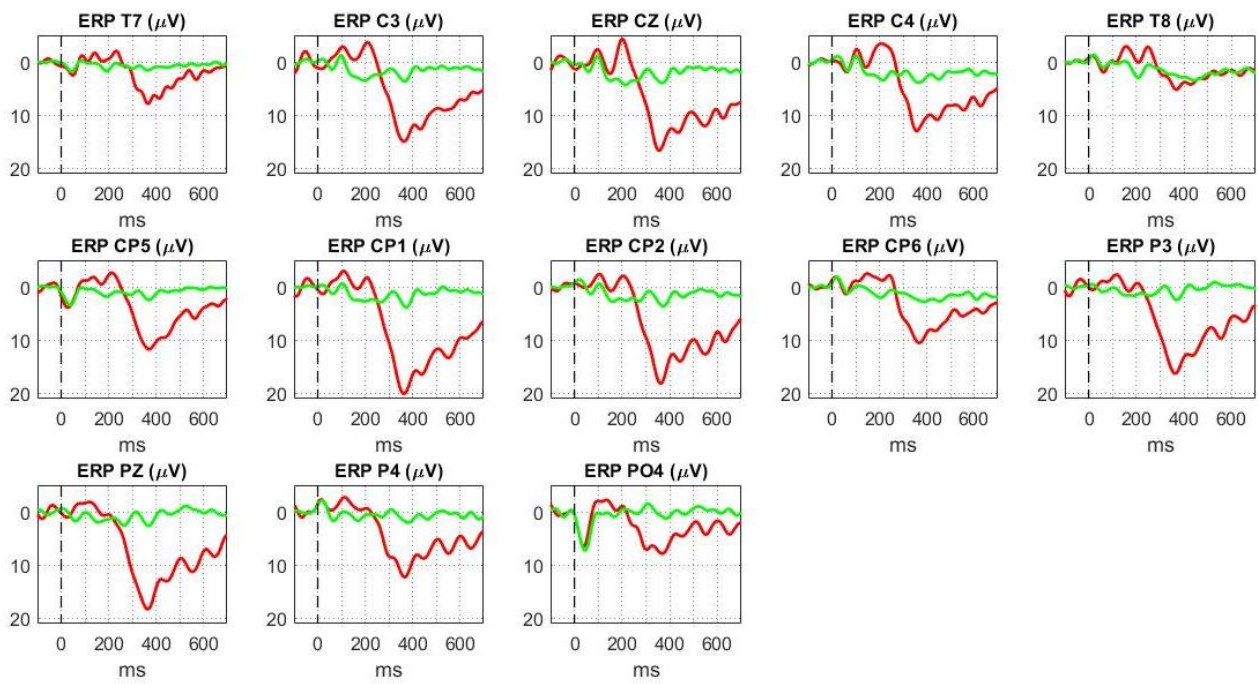




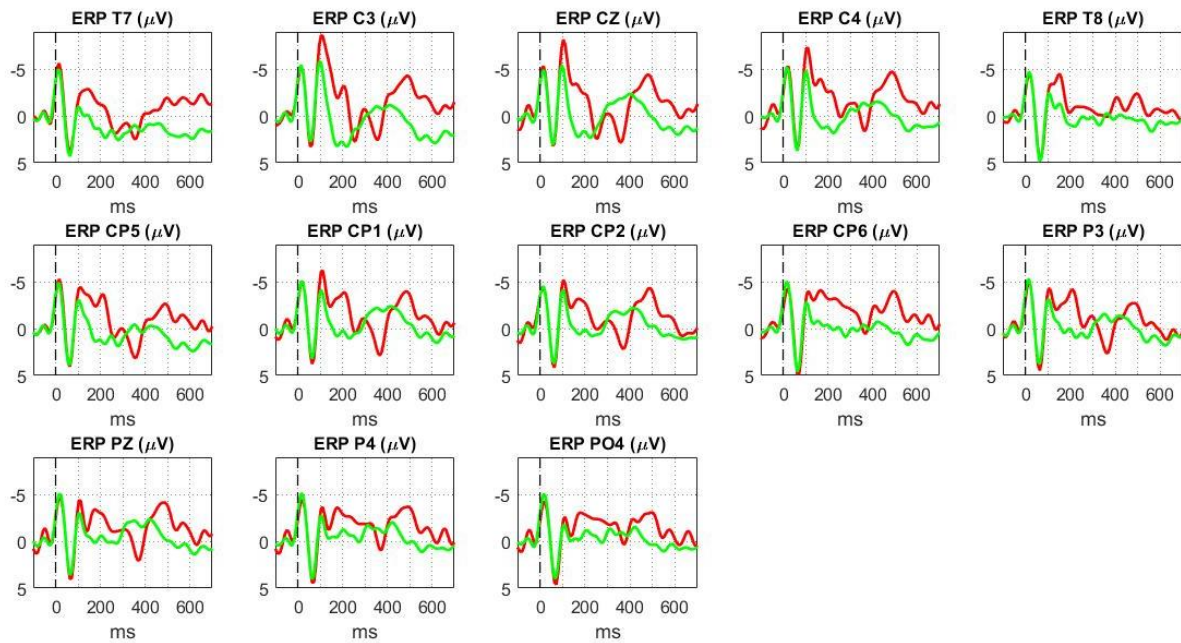
Soggetto 3-passive listening:



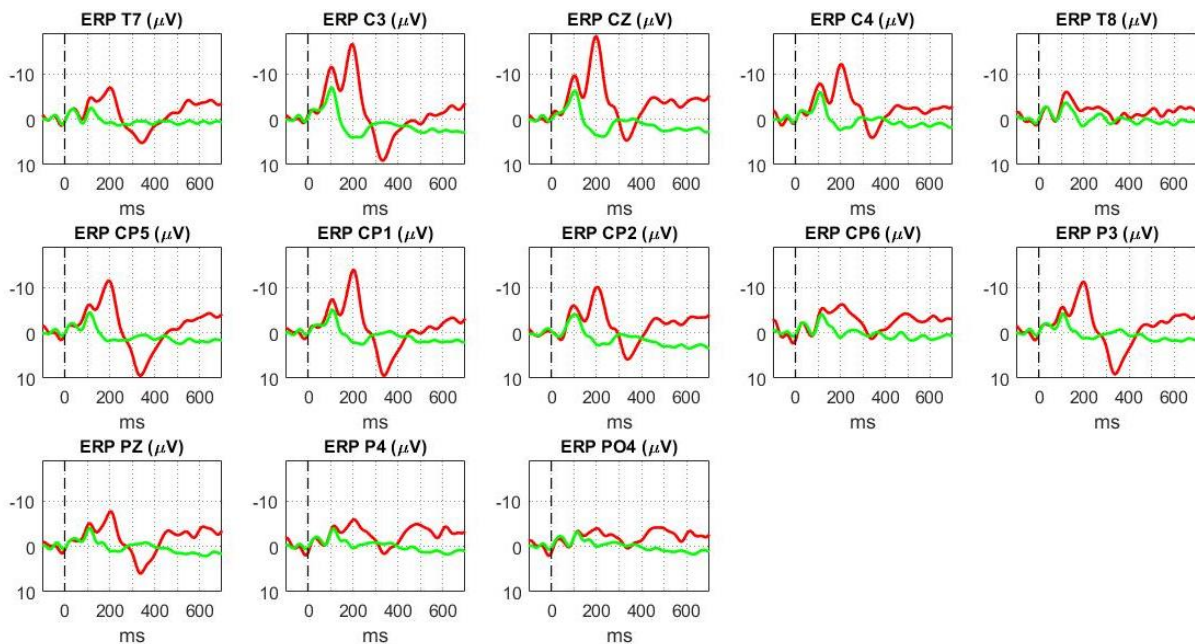
Soggetto 3-active listening:



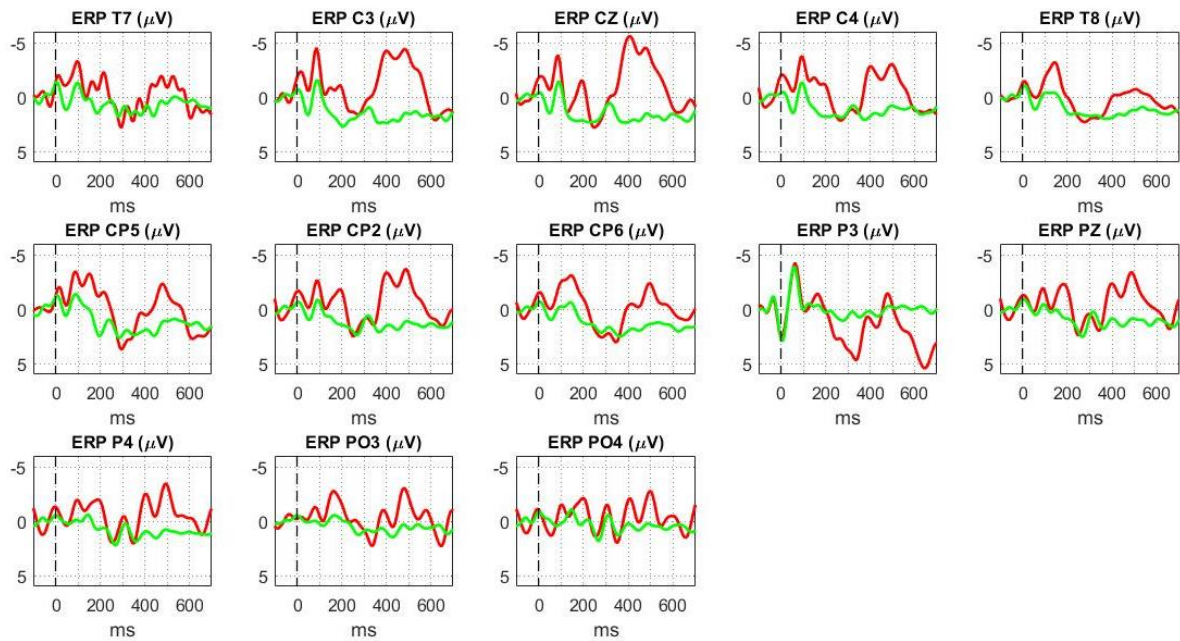
Soggetto 4 – passive listening:



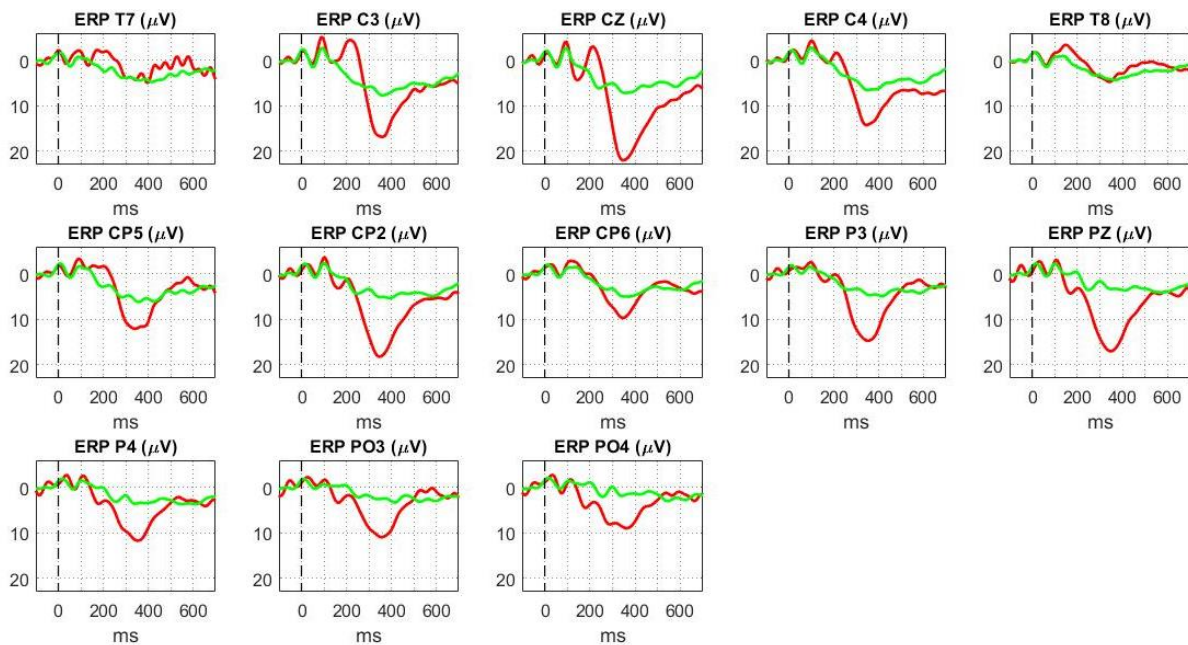
Soggetto 4 – active listening:



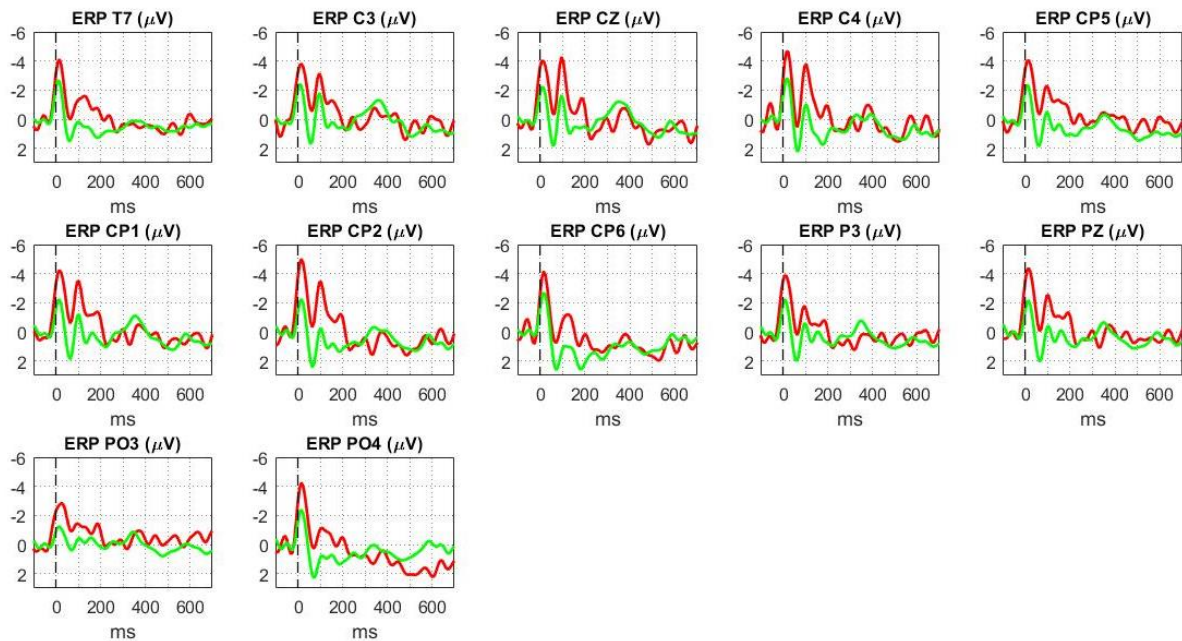
Soggetto 5- passive listening:



Soggetto 5- active listening



## Soggetto 6-passive listening:



## Soggetto 6- active listening

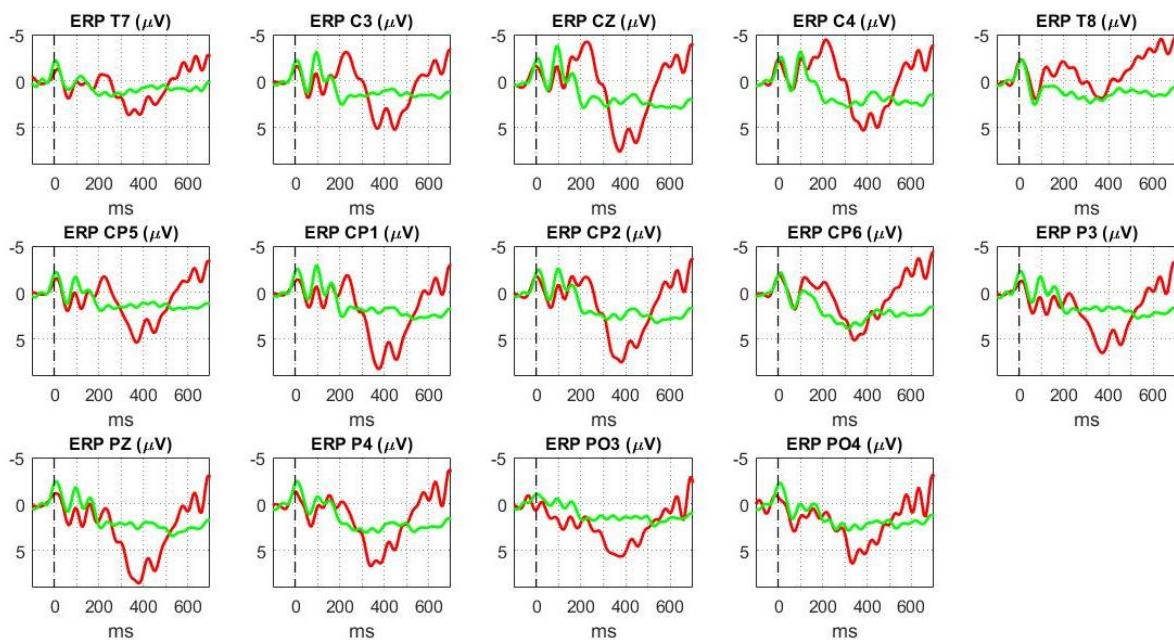


Figura 4.1 Segnali ERP ottenuti in ciascuno dei sei soggetti acquisiti nella prova di ascolto passivo, e nella prova di ascolto attivo. In verde sono indicati gli ERP relativi allo stimolo standard, in rosso gli ERP relativi allo stimolo deviante. Il numero diverso di elettrodi da un soggetto e l'altro è conseguenza dell'eliminazione dall'analisi di elettrodi disturbati, diversi da soggetto a soggetto.

Esaminando i grafici di active e passive listening all'interno dei singoli soggetti, si possono derivare alcune considerazioni. Innanzitutto si osserva che le forme d'onda ERP ottenute anche a livello di singolo soggetto mostrano la componente P300. In questi risultati, tale componente presenta il suo picco di ampiezza per lo più tra i 300 e i 400 ms dopo la presentazione dello stimolo. La componente P300 è più evidente negli ERP associata allo stimolo deviante, mentre compare in misura assai più ridotta (o non compare affatto) negli ERP associati allo stimolo standard. Come atteso, la P300 (in particolare in risposta allo stimolo deviant) ha ampiezza maggiore nel caso dell'active listening rispetto al passive listening. Alcuni elettrodi mostrano P300 con ampiezza maggiore: questo avviene in particolare per gli elettrodi centro-parietali (mentre presenta ampiezza minore in particolare in regione temporale). Infine, si osserva una notevole variabilità da soggetto a soggetto: alcuni soggetti presentano componente P300 molto prominente (ad esempio nei soggetti 1, 3 e 5), altri invece molto meno evidente.

### 4.3 Grand average nel passive listening e nell'active listening

Nel seguito vengono mostrate le forma d'onda ottenute mediando gli ERP dei vari soggetti. Precisamente, in figura 4.1 e 4.2 vengono mostrate gli ERP mediati su tutti i soggetti (Grand Average) per la prova passiva e per la prova attiva rispettivamente, mostrando in verde gli ERP medi associati allo stimolo standard e in rosso quelli associati allo stimolo deviante.

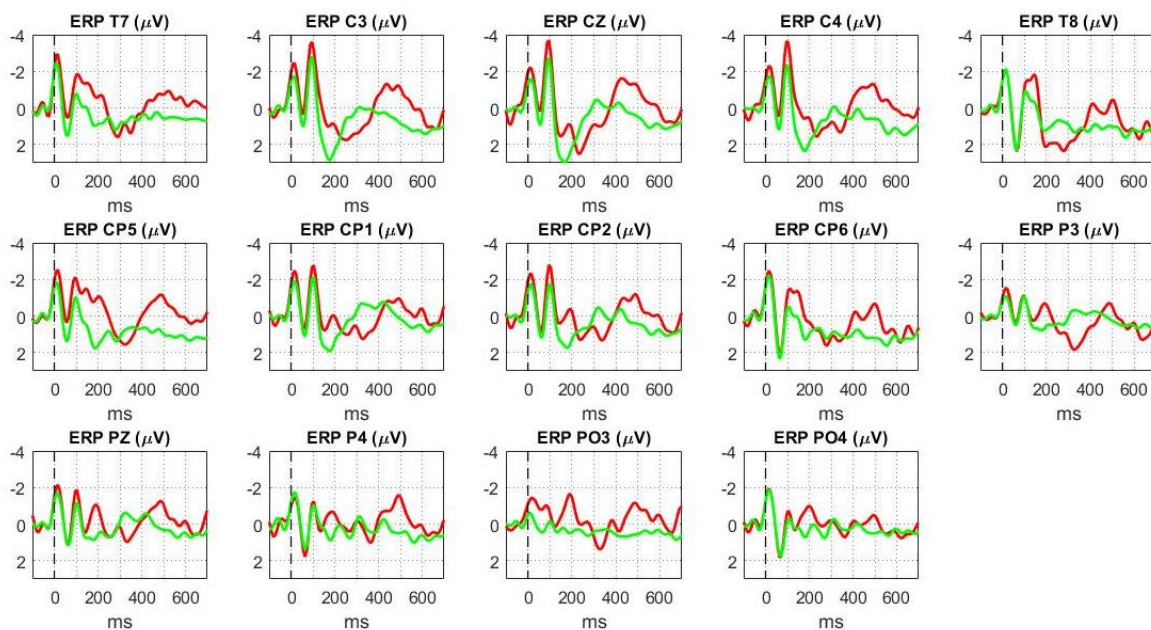


Figura 4.2: Segnali ERP mediati su tutti i soggetti (Grand Average) relativi ai 14 elettrodi acquisiti durante la prova di ascolto passivo. In verde sono indicati gli ERP relativi allo stimolo standard, in rosso gli ERP relativi allo stimolo deviante. Le forma d'onda ERP mostrano la componente P300 che presenta un'ampiezza significativamente maggiore in risposta agli stimoli devianti (toni puri a 1000 Hz) rispetto agli standard (toni puri a 500 Hz).

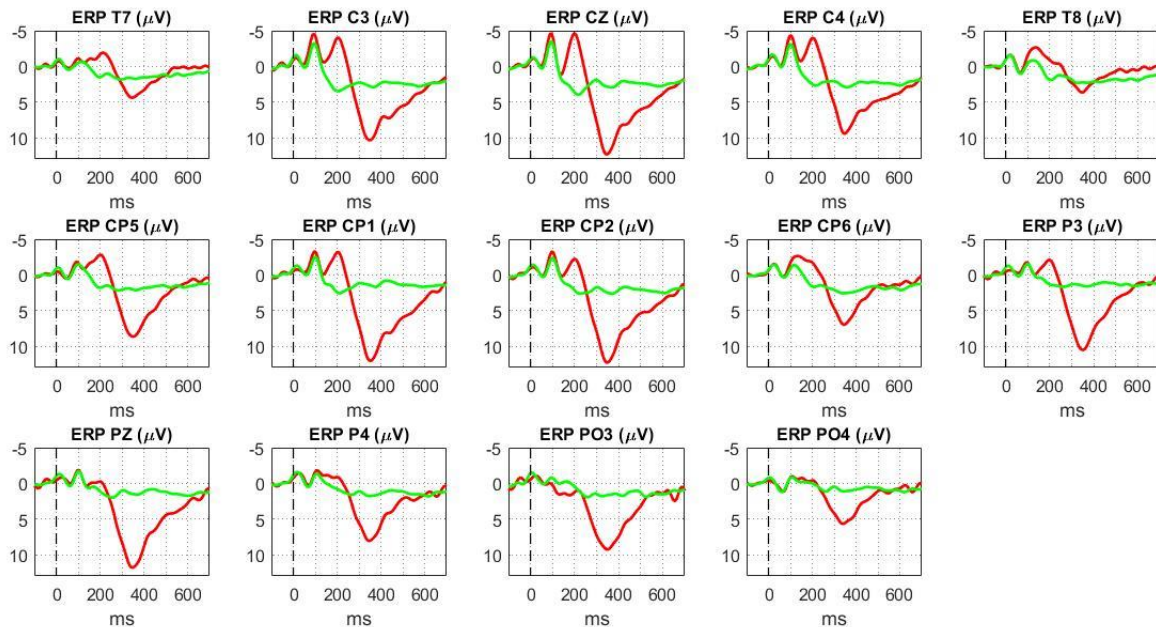


Figura 4.3: Segnali ERP relativi ai 14 elettrodi acquisiti durante la prova di ascolto attivo. In verde sono indicata gli ERP relativi allo stimolo standard, in rosso gli ERP relativi allo stimolo deviante. Le forma d'onda ERP mostrano la componente P300 che presenta un'ampiezza significativamente maggiore in risposta agli stimoli devianti (toni puri a 1000 Hz) rispetto agli standard (toni puri a 500 Hz).

Come si osserva anche in figura 4.2, l'ampiezza della P300 risulta essere più pronunciata per gli stimoli devianti rispetto agli standard. Inoltre, il picco della P300 è più pronunciato nella prova attiva rispetto alla prova passiva. Questo fenomeno è dovuto al fatto che la sua ampiezza risulta essere tanto maggiore quanto maggiore è la capacità di riconoscimento dello stimolo inatteso, quanto più inatteso è lo stimolo stesso e quanto maggiore è l'attenzione che il soggetto presta allo stimolo inatteso, condizioni che si verificano maggiormente nella prova attiva rispetto alla prova passiva a causa dal maggior livello di attenzione che bisogna porre agli stimoli.

In queste prove si nota anche la presenza della componente N1 (o Mismatch Negativity, MMN) che si presenta con un picco negativo dopo circa 100 ms dalla presentazione dello stimolo. A differenza della P300 che dipende dalle esigenze cognitive e di compito, la componente N1 o MMN è influenzata da differenze nelle proprietà dello stimolo. L'N1 e l'MMN sono stati trovati sia durante l'ascolto passivo che durante l'elaborazione attiva di stimoli devianti. L'MMN si differenzia dalla

N1 perché è calcolato sottraendo la forma d'onda ERP media degli stimoli standard dalla forma d'onda ERP media degli stimoli devianti (differenza non mostrata in questi grafici); questa differenza sembra essere dovuta a meccanismi involontari del sistema di elaborazione sensoriale che abbina lo stimolo in arrivo alla sua rappresentazione memorizzata internamente.

Infine, per ogni soggetto è stato calcolato il picco massimo (l'ampiezza) della P300, ovvero il valore massimo raggiunto dall'ERP tra 250 e 400 ms in ogni elettrodo non scartato, solo però per lo stimolo deviant. Questo calcolo è stato fatto nelle due condizioni di active e passive listening. Per ogni elettrodo è stata calcolata la media sui sei soggetti acquisiti dell'ampiezza della P300 deviant, nelle due condizioni. Pertanto alla fine, per ogni elettrodo, si hanno due valori: l'ampiezza media (sui soggetti) della P300 deviant per la condizione active e l'ampiezza media (sui soggetti) della P300 deviant per la condizione passive (figura 4.4).

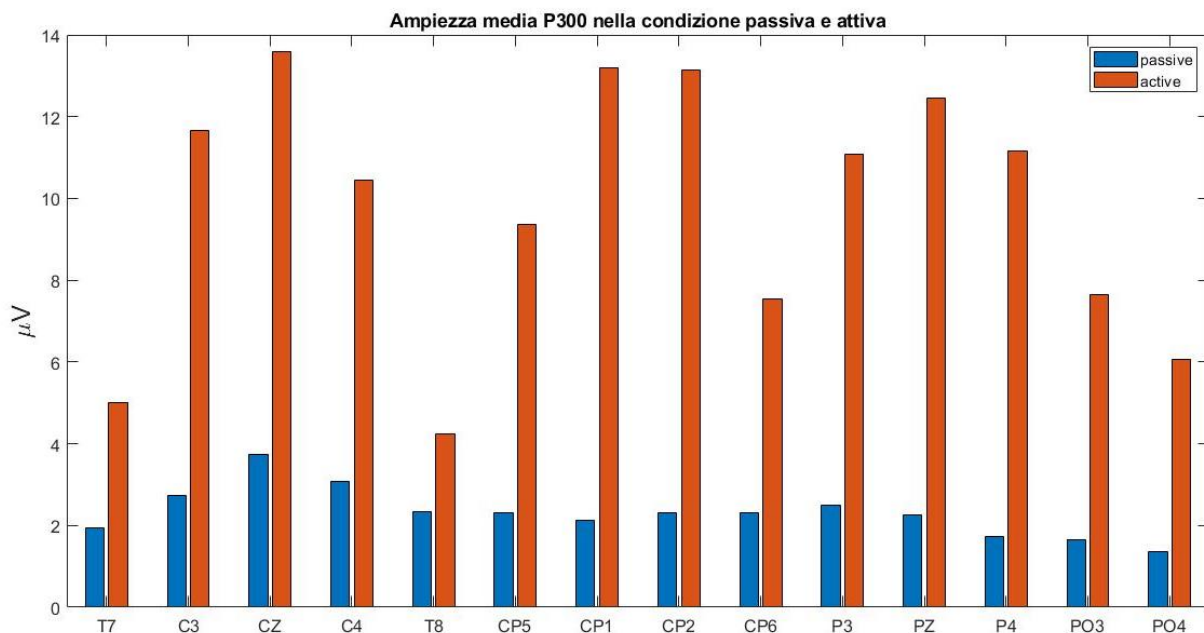


Figura 4.4: Ampiezza media della P300 per la condizione passiva (blue) e attiva (rossa) per i 14 elettrodi acquisiti.

Si nota una forte differenza tra le due ampiezze: infatti l'ampiezza della P300 risulta nettamente superiore nel caso active rispetto al caso passive. Si nota anche che gli elettrodi in cui la P300 ha ampiezza maggiore sono elettrodi centro-parietali su o prossimi alla linea mediale: C3, CZ, C4, CP1, CP2, P3, PZ e P4.





## Conclusioni

In questo lavoro abbiamo focalizzato la nostra attenzione sullo studio e sull'analisi dei Potenziali Evento – Correlati (Event - Related Potential, ERP), in particolare sulla componente P300 degli ERP. L'analisi dei potenziali evocati è rilevante per studiare i meccanismi cerebrali che permettono di analizzare, elaborare e memorizzare informazioni provenienti da stimoli ed eventi interni/esterni in quanto sono in grado di fornire informazioni circa la dinamica dei processi neurali con una elevata risoluzione temporale (ordine del millisecondo). La loro analisi contribuisce ad investigare come le funzioni cognitive e le loro manifestazioni comportamentali sono relazionate all'attività cerebrale.

In particolare, in questo studio si è voluto implementare un protocollo sperimentale di oddball uditivo, in cui il soggetto viene esposto (e deve essere in grado di rilevare) uno stimolo deviante (target) posto all'interno di una serie di stimoli standard. Tale paradigma permette di evidenziare le modificazioni nelle risposte cerebrali ERP conseguenti alla rilevazione dello stimolo deviante, rispetto alla rilevazione dello stimolo standard. Il protocollo realizzato ha incluso sia una prova di ascolto passiva (passive listening), in cui i soggetti dovevano solo ascoltare i suoni e non era richiesta alcuna risposta comportamentale, sia una prova di ascolto attiva (active listening) in cui i soggetti dovevano rispondere il più velocemente possibile allo stimolo deviante premendo un pulsante.

Il problema principale nell'implementazione di questo protocollo è la sincronizzazione e allineamento dei trials all'evento esterno (presentazione dello stimolo). Per questo motivo, lo sviluppo del sistema (hardware e software) per l'implementazione del paradigma oddball, ha richiesto: a) la generazione dei due stimoli acustici con diversa caratteristica (in modo che fossero discriminabili dal soggetto) e la loro presentazione ripetuta (uno con maggiore e l'altro con minore frequenza), in un ordine casuale ma tenendo traccia di tale ordine di presentazione; b) la generazione di un segnale di trigger sincronizzato con la presentazione degli stimoli, ed acquisibile dal sistema EEG utilizzato e disponibile presso il Laboratorio di Ingegneria Biomedica del Campus di Cesena (sistema EEG OpenBCI). Tale segnale di trigger risulta infatti indispensabile per la successiva segmentazione del segnale EEG in trial e l'allineamento dei trial rispetto alla somministrazione dello stimolo, per l'estrapolazione degli ERP dal segnale EEG continuo tramite la tecnica dell'averaging.

Per la generazione dei due suoni, la loro somministrazione ripetuta e per la generazione del segnale di trigger sincronizzato con la presentazione di ciascuno stimolo, è stata sfruttata la piattaforma open source di sviluppo hardware e software Arduino (scheda elettronica dotata di micro controllore corredata di software per la programmazione del micro controllore). Il sistema Arduino è stato messo in comunicazione con la scheda di acquisizione EEG OpenBCI, portando il segnale di trigger generato da Arduino ad un ingresso di tale scheda. Questo ha reso possibile l'implementazione del paradigma di oddball, e l'acquisizione di segnali EEG con l'acquisizione simultanea del trigger; il trigger è stato quindi successivamente utilizzato come segnale 'marker' in fase di elaborazione offline dei segnali EEG, per la loro segmentazione in trial. Inoltre, avendo tenuto traccia di quando si presentava lo stimolo deviante e quando quello standard all'interno della serie ripetuta di stimoli, gli ERP sono stati calcolati con la tecnica dell'averaging separatamente per lo stimolo standard e per lo stimolo deviante, in ciascuno dei due paradigmi di oddball, passivo e attivo.

Il paradigma implementato è specifico per evidenziare la componente P300 nei potenziali ERP, definita infatti in letteratura come una delle maggiori componenti che emerge grazie a stimoli devianti nei paradigmi di oddball. Si tratta di un potenziale positivo che si verifica in genere tra i 300 e i 450 ms dopo la presentazione dello stimolo, ed è legata a meccanismi attentivi e ad un'elaborazione dettagliata dello stimolo. Tale componente presenta in genere un'ampiezza maggiore in risposta a stimoli devianti nel momento in cui il soggetto presta volontariamente attenzione a tali stimoli rispetto a quando gli stimoli catturano involontariamente l'attenzione. L'ampiezza della P300, infatti, risulta essere tanto maggiore quanto maggiore è la capacità di riconoscimento dello stimolo inatteso, quanto più inatteso è lo stimolo stesso e quanto maggiore è l'attenzione che il soggetto presta allo stimolo inatteso.

I segnali EEG sono stati acquisiti su sei soggetti, e gli ERP ottenuti sono stati visualizzati e analizzati. In questo modo è stato testato il funzionamento del sistema, verificando se i risultati ottenuti rispecchiassero i risultati attesi (ovvero componente P300 più visibile in risposta allo stimolo deviante piuttosto che allo standard, e di ampiezza maggiore in caso di active listening rispetto al passive listening). Dall'analisi dei grafici della prova di passive listening e di active listening dei singoli soggetti e dal Grand Average su tutti i soggetti, si deduce che il sistema sembra ben funzionare perché la P300 ottenuta rispetta quanto descritto in letteratura. Nei risultati ottenuti, infatti, tale componente presenta il suo picco per lo più nell'intervallo tra i 300 e i 400 ms dopo la presentazione dello stimolo. La componente P300 è più evidente in corrispondenza dello stimolo deviante, mentre non compare o compare in maniera molto ridotta in corrispondenza allo stimolo

standard. Come ci aspettavamo, la P300 ha ampiezza maggiore nel caso dell'active listening rispetto al passive listening e in particolare negli elettrodi in posizione centro – parietale.

In conclusione, quindi, è stato realizzato un sistema (con componenti hardware e software) in grado di implementare un paradigma di oddball, con un segnale di trigger sincronizzato con la presentazione degli stimoli e acquisibile dal sistema EEG. Il sistema così realizzato, sebbene specifico qui per un paradigma di oddball acustico, può essere facilmente adattato per generare paradigmi di oddball che utilizzano modalità di stimolazione differente (ad es. visiva, attraverso l'uso di led, o somatosensoriale, attraverso l'uso di dispositivi vibranti piezoelettrici). Più in generale, tale sistema può servire come 'pilota', per lo sviluppo di altri paradigmi sperimentali non necessariamente di tipo oddball, ma che richiedono comunque la somministrazione ripetuta di stimoli e la segmentazione in trial del segnale EEG continuo, quali paradigmi per lo studio dell'integrazione multisensoriale, in cui stimoli unisensoriali, ad es stimoli visivi (accensione di un led) e stimoli acustici (presentazione di un suono), si intervallano a stimoli multisensoriali (simultanea accensione del led e presentazione del suono). Inoltre, è importante sottolineare che in questo studio sono stati utilizzati piattaforme a basso costo e con sistemi di sviluppo open source (sia Arduino che il sistema EEG OpenBCI). Questo è rilevante considerato il crescente uso di sistemi EEG a basso costo per la ricerca in neuroscienze e per lo sviluppo di sistemi di brain computer interface, e la necessità quindi di rendere questi sistemi versatili e adatti a una molteplicità di paradigmi sperimentali. Si noti che presso il LIB, non erano stati precedentemente sviluppati protocolli sperimentali con sistema EEG OpenBCI che implicassero l'acquisizione di un segnale di trigger.

I risultati ERP e in particolare quelli relativi alla componente P300, ottenuti con il paradigma implementato sono in accordo con i risultati attesi sulla base della letteratura scientifica; ciò ha confermato un corretto funzionamento del sistema e un buon risultato dello studio. Tuttavia alcuni limiti sono presenti e si desidera evidenziarli affinché possano essere superati in futuro. Uno in particolare riguarda il numero di soggetti acquisiti. Questo studio ha infatti coinvolto solo sei partecipanti, un numero piuttosto limitato. Questo potrebbe essere il motivo che rende i potenziali ERP mediati sui soggetti (Grand Average), soprattutto nella prova di ascolto passivo, piuttosto rumorosi e con la P300 meno evidente rispetto a quanto osservato in letteratura (questo problema si osserva meno nella prova di ascolto attivo probabilmente perché in quel caso la P300 ha forma più stereotipata tra i soggetti). Sicuramente l'acquisizione su un campione più numeroso di soggetti si rende necessaria nel caso si vogliano effettuare delle elaborazioni e analisi dettagliate delle componenti ERP, da cui inferire speculazioni circa le relazioni tra le funzioni

cognitive/comportamentali e i correlati ERP. Un secondo problema ha riguardato la presenza di forti disturbi su alcuni elettrodi che ha costretto a scartarli in fase di elaborazione. Tali disturbi possono nascere principalmente da un distacco dell'elettrodo dalla cute o da un crosstalk tra due cavi vicini. Nelle acquisizioni effettuate in questo elaborato, in particolare l'elettrodo PO3 è risultato molto disturbato in più prove di ascolto su soggetti diversi. Questo può essere dovuto alla prossimità della scheda OpenBCI (fissata sulla cuffia in prossimità di tale elettrodo) che potrebbe aver causato più facilmente un allontanamento dell'elettrodo dalla cute (causando basso contatto) e al tempo stesso anche al fenomeno di crosstalk col cavo del trigger, prossimo a tale elettrodo, probabilmente responsabile di picchi periodici presenti in alcune acquisizioni nel segnale PO3. Pertanto, in sviluppi futuri di questo studio, è necessario considerare queste possibili fonti di disturbo e intervenire opportunamente per ridurle.

## Bibliografia e sitografia

- [1] Avanzolini G, Magosso E (2015) “Strumentazione Biomedica. Progetto e impegno dei sistemi di misura”, Patron Editore: pp. 245-247, 252-254, 256-263.
- [2] Britton JW, Frey LC, Hopp JL et al. (2016) “Electroencephalography (EEG): An Introductory Text and Atlas of Normal and Abnormal Findings in Adults, Children, and Infants”.
- [3] Silverthorn D.U (2014) “Fisiologia umana. Un approccio integrato”, Pearson Italia: pp. 170-174, 254-266, 269-273, 275-276, 282-284, 288, 313-321
- [4] [https://www.lumsa.it/sites/default/files/UTENTI/u93/Psic.Gen\\_.5.SLIDE\\_.Biologia%20.pdf](https://www.lumsa.it/sites/default/files/UTENTI/u93/Psic.Gen_.5.SLIDE_.Biologia%20.pdf)
- [5] <https://slideplayer.it/slide/548965/>
- [6] [https://fisiologicamente.altervista.org/la-funzione-dei-lobi-cerebrali/?doing\\_wp\\_cron=1565698817.3208839893341064453125](https://fisiologicamente.altervista.org/la-funzione-dei-lobi-cerebrali/?doing_wp_cron=1565698817.3208839893341064453125)
- [7] <https://www.docsity.com/it/2-anatomia-parte-2/618779/>
- [8] Olejniczak P.W. (2006) “Neurophysiologic Basis of EEG”, Journal of Clinical Neurophysiology 23(3), pp. 186-189
- [9] [https://www.researchgate.net/figure/The-10-20-International-system-of-EEG-electrode-placement\\_fig1\\_324361441](https://www.researchgate.net/figure/The-10-20-International-system-of-EEG-electrode-placement_fig1_324361441)
- [10] Frassinetti F, Di Pellegrino G. “Appunti corso di Neuroscienze Cognitive”
- [11] <https://tabwinola.ga/operatore-di-onde-alfa>
- [12] [https://it.wikipedia.org/wiki/Potenziale\\_evento-correlato](https://it.wikipedia.org/wiki/Potenziale_evento-correlato)
- [13] Justen C., Herbert C. (2008) “The spatio-temporal dynamics of deviance and target detection in the passive and active auditory oddball paradigm: a sLORETA study”, BMC Neuroscience 19(1):25, pp. 1-18.
- [14] <https://www.semanticscholar.org/paper/Chapter-2-Brain-Sensors-and-Signals-2-.-1-Relevant/8a0c876d98d1ef43f15989f5a5933b65192452b2/figure/4>
- [15] <https://openbci.com/>
- [16] <https://shop.openbci.com/collections/frontpage/products/cyton-daisy-biosensing-boards-16-channel?variant=38959256526>
- [17] [https://www.researchgate.net/figure/Overview-of-the-OpenBCI-GUI\\_fig7\\_327797416](https://www.researchgate.net/figure/Overview-of-the-OpenBCI-GUI_fig7_327797416)
- [18] <https://www.arduino.cc/en/Guide/Introduction>
- [19] <http://arduinotutorial.altervista.org/resistenza-di-pull-updown/>
- [20] <https://www.docsity.com/it/traduzione-updating-p300-an-integrative-theory-of-p3a-and-p3b/2334084/>

[21] Sung Kwang Hong, Sejik Park, Min-Hee Ahn, Byoung-Kyong Min (2016), "Top-down and bottom-up neurodynamic evidence in patients with tinnitus" *Hearing Research* (342), pp: 90

