

POLITECNICO DI TORINO

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Tesi di Laurea Magistrale

Rilevazione di biosegnali e sviluppo di un metodo per la rimozione di artefatti in uno studio per la realizzazione di una Brain Computer Interface



Laureanda: Deborah Malafrente

Relatrice: Prof.ssa Gabriella Olmo

Correlatore: Prof. Vito De Feo

*A mio padre e mia madre,
la mia più grande benedizione.
La bellezza di essere figlia sta
nell'aver due genitori come voi.
A voi dedico ogni cosa.*

Lista di acronimi

- **BCI:** Brain-Computer Interface
- **RP:** Readiness Potential
- **BP:** Bereitschaftspotential
- **ERPs:** Event-Related Potentials
- **EEG:** Electroencephalogram
- **EMG:** Electromyogram
- **EOG:** Electrooculogram
- **NCCs:** Neuronal Correlates of Consciousness
- **DOCs:** Disorders of Consciousness
- **VS:** Vegetative State
- **MCS:** Minimally Consciousness State
- **LIS:** Locked-in Syndrome
- **UWS:** Unresponsive Waking Syndrome
- **GCS:** Glasgow Coma Scale
- **DOCS:** Disorder of Consciousness Scale
- **fMRI:** Functional Magnetic Resonance Imaging
- **PET:** Positron Emission Tomography
- **SPECT:** Single Photon Emission Computed Tomography
- **PMP:** Pre-Motion Positivity
- **MP:** Motor Potential
- **MRCPPs:** Movement-Related Cortical Potentials
- **LRP:** Lateralized Readiness Potential
- **M1:** Primary Motor Cortex
- **pre-SMA:** pre-Supplementary Motor Area
- **SMA:** Supplementary Motor Area
- **GUI:** Graphic User Interface
- **SCCN:** Swartz Center For Computational Neuroscience
- **ICA:** Independent Component Analysis
- **SNR:** Signal-to-noise Ratio
- **SASICA:** Semi-Automated Selection of Independent Components of the

electroencephalogram for Artifact correction

- **MARA:** Multiple Artifact Rejection Algorithm
- **ADJUST:** Automatic EEG Artifact Detection Based on the Joint Use of Spatial and Temporal features

Lista di Figure:

- **Figura 1:** Grafico riassuntivo che mostra i differenti disordini di coscienza.
- **Figura 2:** Visione esterna dell'encefalo.
- **Figura 3:** Tracciato EEG dei diversi tipi di onde cerebrali.
- **Figura 4:** Le posizioni degli elettrodi e i loro nomi sono specificati dal sistema internazionale 10-20, utilizzato nella maggior parte delle applicazioni cliniche e di ricerca.
- **Figura 5:** A sinistra, esempio di misura bipolare; a destra, esempio di misura monopolare.
- **Figura 6:** L'artefatto cardiaco è caratterizzato dalla sua morfologia e dal suo periodo fisso e, in questo particolare esempio, è limitato al canale T3-A1 in un montaggio bipolare.
- **Figura 7:** Tipiche oscillazioni di un movimento d'elettrodo.
- **Figura 8:** I potenziali che si evincono sull'elettrodo T3 sono artefatti muscolari; la durata dei potenziali è più breve di quella dei picchi generati dal cervello.
- **Figura 9:** Gli artefatti oculari sono caratterizzati da movimenti ampi e lenti, che si evincono sul tracciato.
- **Figura 10:** Grafica riassuntiva di differenti tipologie di artefatti.
- **Figura 11:** Forme d'onda di un MRCP di un singolo soggetto. "Early BP" ha inizio a circa 1,7 s prima dell'onset sulla media ed è massimo sulla linea centrale dell'elettrodo (Cz). "Late BP" invece inizia 300 ms prima dell'EMG onset ed è molto più ampio rispetto alla regione controlaterale del movimento.
- **Figura 12:** GUI di Open Sesame.
- **Figura 13:** Materiale utilizzato durante l'esperimento.
- **Figura 14:** Interfaccia grafica che mostra l'impedenza degli elettrodi.
- **Figura 15:** GUI di EEGLAB.
- **Figura 16:** Menù di MRCPLAB.
- **Figura 17:** Pop-up window interattiva per il settaggio dei parametri.
- **Figura 18:** GUI con i parametri riepilogativi del dataset importato.
- **Figura 19:** Visualizzazione del segnale, importato in formato .ascii.

- **Figura 20:** Interfaccia che visualizza il tracciato EEG, insieme con EMG, EOJ e Labjack, dopo aver effettuato la divisione in epoche.
- **Figura 21:** Immagine esplicativa del metodo ICA.
- **Figura 22:** Misure computate da questi tre plug-in automatici.
- **Figura 23:** GUI di SASICA con le soglie da impostare, attraverso questa finestra operativa possiamo scegliere il metodo o i metodi da utilizzare per selezionare le componenti. Quando si clicca sul pulsante “Compute”, il plug-in computa tutti i metodi che sono stati attivati sul dataset che è stato importato e mostra i risultati in successive finestre operative.
- **Figura 24:** Soglie individuate da SASICA. La soglia di selezione è mostrata nella linea rossa presente in ciascun pannello e ogni componente che supera la soglia è evidenziata attraverso un colore specifico, rispetto alla misura che si sta considerando. Se si clicca su qualunque punto della finestra, si apre una finestra che mostra in maniera dettagliata le proprietà delle componenti.
- **Figura 25:** Rappresentazione delle mappe topografiche di SASICA; in rosso sono evidenziate le componenti individuate come artefatti, in verde le restanti. Si possono notare i punti colorati che indicano quali delle misurazioni computate hanno oltrepassato la soglia.
- **Figura 26:** Tutte le proprietà e le misure possono essere riassunte in finestre individuali. Tutte le misure sono scalate in modo che una colonna più ampia sta a significare che la misurazione starà più probabilmente ad indicare una componente da rigettare.
- **Figura 27:** Da sinistra sono mostrati alcuni esempi in cui si mostra come SASICA riconosca componenti artefattuali, rispettivamente, che derivano da movimenti oculari, muscolari e dall’elettrodo.
- **Figura 28:** Menù a tendina di EEGLAB.
- **Figura 29:** Pop-up window interattiva del plugin MARA.
- **Figura 30:** Rappresentazione delle mappe topografiche di MARA; in rosso sono evidenziate le componenti individuate come artefatti, in verde le restanti.
- **Figure 31:** Esempi di mappe topografiche e dello spettro di potenza dei canali IC3, IC7 e IC31 presi ad esempio.

- **Figura 32:** Interfaccia grafica che mostra i parametri di classificazione su cui si basa MARA.
- **Figura 33:** Esempio di topografie e andamento nel tempo dell'ERP prima e dopo la correzione del plug-in ADJUST.
- **Figura 34:** GUI di "Select or Reject Data".
- **Figure 35:** Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato "Automatic Artifact Rejection (AAR)".
- **Figure 36:** Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato il plugin "IC Label (Independent Component)".
- **Figure 37:** Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato il plugin "MARA (Multiple Artifact Rejection Analysis)".
- **Figure 38:** Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato il plugin "SASICA (Semi-Automated Selection of Independent Components of the electroencephalogram for Artifact correction)".
- **Figura 39:** ERP del dataset GO862071 semivolontario sul canale Fcz prima dell'utilizzo del plugin, a sinistra, e dopo l'attuazione di SASICA, a destra. Si può notare come il plugin abbia interferito sull'ampiezza dell'ERP.
- **Figura 40:** ERP del dataset GO862071 semivolontario sul canale C3 prima dell'utilizzo del plugin, a sinistra, e dopo l'attuazione di SASICA, a destra. In questo caso, l'ampiezza è rimasta più o meno la stessa; il plug-in ha eliminato alcune delle componenti artefattuali presenti prima dell'EMG Onset, nelle oscillazioni intorno allo zero.
- **Figura 41:** In alto è mostrato l'RP del dataset in questione, in seguito ad una rimozione manuale degli artefatti; in basso, l'RP è ottenuto dopo aver anche utilizzato l'algoritmo di jitter compensation.
- **Figura 42:** Nel riquadro in blu è mostrato l'RP del segnale in questione ottenuto tramite la rimozione delle epoche selezionate dall'algoritmo del jitter compensation; nello specifico esso elimina 13 epoche che sono elencate. Nei riquadri in rosso, invece, ci sono gli RP che sono stati ottenuti in seguito alla rimozione di epoche manualmente, che cambiano di prova in prova. Sono elencate le epoche rimosse per ciascun grafico, in giallo sono evidenziate le epoche scelte che differiscono rispetto a quelle scelte dall'algoritmo.

- **Figura 43:** Dataset GO862071 semivolontario con 38 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Pz. A sinistra l'algoritmo elimina le epoche: 8, 26, 34, 12, 28, 35, 3, 15, 5, 6, 29; a destra, ho scelto di eliminare le epoche: 3, 5, 6, 10, 12, 14, 15, 19, 24, 28, 29, 34, 35, 38.
- **Figura 44:** Dataset GF892070 volontario con 39 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Cz. A sinistra, l'algoritmo elimina le seguenti epoche: 4, 7, 21, 20, 39, 27, 5, 22, 19, 13, 32, 24, 23; a destra, ho scelto di rimuovere le epoche: 3, 4, 5, 6, 9, 13, 14, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 32, 33, 39.
- **Figura 45:** Dataset CC994031 con 27 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Cz. A sinistra, l'algoritmo elimina le seguenti epoche: 13, 8, 21, 6, 10, 14, 17, 5, 18, 23, 24; a destra, ho scelto di rimuovere le epoche: 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 24, 27.
- **Figura 46:** Dataset AL85070 con 37 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Fcz. A sinistra, l'algoritmo elimina le seguenti epoche: 19, 37, 26, 25, 2, 28, 33, 27, 12, 17, 35, 18. A destra, ho deciso di eliminare le epoche: 2, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 16, 20, 24, 25, 27, 29, 31, 32, 33, 34, 37.
- **Figura 47:** Dataset GO2071, task semivolontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie; nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall'algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.
- **Figura 48:** Dataset GF892020, task volontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie; nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall'algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.
- **Figura 49:** Dataset CC994031, task semivolontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie; nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall'algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.

- **Figura 50:** Dataset AL858070, task semivolontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie; nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall'algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.
- **Figure 51:** A partire, in alto, dallo stesso RP del segnale GO862071, semplicemente importato e diviso in epoche, a sinistra: il segnale è stato sottoposto prima a correzione degli artefatti, grazie all'utilizzo del plug-in SASICA e dopo i restanti artefatti sono stati eliminati, tramite la rimozione di opportune epoche; a destra invece, è stato fatto il processo inverso, cioè si visualizza l'RP del segnale che prima è stato sottoposto a rimozione delle epoche troppo contaminate e dopo è stato applicato lo stesso plug-in. Risultati migliori si riscontrano nel processo di sinistra, in cui il rapporto segnale rumore è davvero basso, rispetto all'ampiezza dell'RP, in concomitanza dell'onset.

Sommario

Abstract	12
Capitolo 1	13
1.1 Cosa è la coscienza?	13
1.2 Disordini di coscienza	15
1.3 Neurofisiologia	17
1.4 Anatomia del cervello umano	18
Capitolo 2	21
2.1 EEG	21
2.2 Sistema 10-20	24
2.3 Tipi di artefatti	27
2.3.1 Artefatti cardiaci	27
2.3.2 Artefatti d'elettrodo	29
2.3.4 Artefatti muscolari	30
2.3.5 Artefatti oculari	31
2.4 Correzione e rimozione degli artefatti	31
2.5 Evoked-Related Potential (ERP)	35
2.6 Readiness Potential (RP)	36
2.7 Lateralized Readiness Potential (LRP)	38
Capitolo 3	40
3.1 Protocollo sperimentale	40
3.2 Set up sperimentale	42
Capitolo 4	46
Brain Computer Interface per pazienti non responsivi	46
4.1 Introduzione	46

4.2 EEGLAB	46
4.3 MRPCLAB	47
4.4 Classificazione dei dataset	50
4.5 Metodi	53
4.6 Analisi alle componenti indipendenti (ICA)	55
4.7 SASICA	60
4.7.1 Autocorrelazione	63
4.7.2 Focal topography	63
4.7.3 Focal trial activity	64
4.7.4 Correlazione tra i canali	64
4.8 MARA	68
4.9 ADJUST	73
Capitolo 5	76
5.1 Risultati	76
5.2 Regole per la rimozione delle epoche	89
5.3 Discussione	93
Conclusioni	95
Bibliografia	97

Abstract

Il grosso interrogativo che sta alla base dello studio verso la scoperta della coscienza umana è un dilemma che accomuna gli studiosi di tutti i secoli. Oggi, si cerca di dare risposte nel tentativo di distinguere i diversi disturbi di coscienza e di capire, in particolare, come poter interpretare i comportamenti nei pazienti che si trovano in uno stato di coma. Riuscire a trovare, quindi, un metodo matematico che riesca in qualche modo ad analizzare i movimenti dei pazienti e a classificarli come volontari o involontari è ciò che ci permette di avvicinarci quanto più possibile al loro livello di coscienza. Questo studio parte dalla rilevazione del segnale EEG e si focalizza su un particolare Event-Related Potential, che è il Readiness Potential (RP). L'RP è un lento potenziale negativo che compare nel tracciato EEG a pochi istanti antecedenti al movimento volontario. Sulla base di questa evidenza è nato un progetto che mira alla realizzazione di una Brain Computer Interface (BCI). Il mio lavoro di tesi si basa sulla sperimentazione effettuata su volontari sani attraverso diversi protocolli. Essenziale è stato l'utilizzo di EEGLAB e in particolare del plug-in MRCPLAB, attraverso il quale sono stati importati e successivamente manipolati i dati. Caratteristica predominante dell'attività elettrica registrata sullo scalpo è l'abbondante presenza di artefatti. A conseguenza di ciò, il mio scopo è stato quello di sviluppare un metodo finalizzato alla rimozione degli artefatti. È stata utilizzata la decomposizione nelle Componenti Indipendenti (ICA) e l'identificazione delle componenti artefattuali è stata messa a punto grazie all'uso di diversi plug-in. L'obiettivo di questa tesi è quello di studiare differenti dataset per poter adattare dei criteri opportuni, che mirano all'ottenimento di un segnale più chiaro e quindi più facilmente interpretabile dal punto di vista diagnostico.

Capitolo 1

1.1 Cosa è la coscienza?

La coscienza è tutto ciò che sperimentiamo. Si può pensare ad essa come ciò che ci abbandona ogni notte quando dormiamo e ritorna al mattino appena svegli. Senza la coscienza, per quel che ci riguarda, non esisterebbe né un mondo esterno né noi stessi: non esisterebbe assolutamente nulla. Per comprendere appieno la coscienza, devono essere analizzate, dapprima, due problematiche. La prima questione è capire le condizioni che determinano fino a dove e in che modo un sistema ha una sua coscienza. Ad esempio, qual è il motivo per cui alcune parti del cervello sono importanti per lo studio della coscienza e altre, seppur ricche di connessioni neuronali, non lo sono? E come mai siamo coscienti quando siamo svegli o quando sogniamo, ma non lo siamo quando dormiamo senza sognare, nonostante il cervello resti attivo? La seconda questione, invece, riguarda il tipo di coscienza che un sistema ha. Ad esempio, perché i colori li riconosciamo in quanto tali e in maniera diversa da come percepiamo i suoni o riconosciamo il dolore? Risolvere il primo problema significa determinare la “quantità” del livello di coscienza; risolvere il secondo problema, invece, significa determinare la “qualità” del livello di coscienza.

Sebbene la coscienza sia parte della vita di ognuno di noi, è impossibile riuscire ad avere la conoscenza della coscienza altrui. Infatti, la nostra capacità di capire e apprezzare le differenti esperienze degli altri dipende in gran parte dalla loro autovalutazione e dalla loro abilità di descrivere quell'esperienza. In ogni caso, in questi ultimi anni è stato identificato un gruppo di pazienti dei quali si riesce a dimostrare lo stato di coscienza, nonostante essi siano incapaci di parlare o muoversi, precludendo quindi qualsiasi possibilità di investigare circa la loro

esperienza cosciente del mondo. Non è noto che esista un codice neurale comune, che possa spiegare come individui diversi possano essere accomunati da esperienze cognitive simili e se ciò possa essere utilizzato per interpretarle e studiarle a fondo. La funzione esecutiva del cervello si riferisce a quei processi che coordinano e programmano una serie di operazioni cognitive basilari, come il monitoraggio e l'analisi delle informazioni dall'esterno e l'integrazione di esse con gli input interni, così come la pianificazione e l'adattamento di nuovi schemi comportamentali sulla base di queste informazioni. Quindi la funzione esecutiva è parte integrante della nostra esperienza cosciente del mondo, come conoscenza prioritaria per fare predizioni su eventi futuri. In accordo con ciò, la funzione esecutiva potrebbe fornire una finestra empirica attraverso cui l'aspetto cognitivo dell'esperienza cosciente umana può essere quantificato. Le basi comportamentali e neuronali della funzione esecutiva sono state studiate in pazienti neuropsicologici che confermano che essa è supportata da una rete di regioni del cervello, che coinvolgono principalmente i lobi frontali e la corteccia parietale posteriore.

In termini neurologici, la coscienza può essere definita sulla base di due termini: la veglia e la consapevolezza. La veglia indica uno stato in cui si è vigili, mentre la consapevolezza si riferisce alla percezione di sé stessi e dell'ambiente intorno. Lo stato di coscienza esiste solo se entrambi gli elementi sono presenti: è possibile osservare uno stato di veglia in assenza di consapevolezza, mentre non è mai possibile il contrario. Ogni giorno sperimentiamo una perdita di coscienza quando ci addormentiamo e lo stesso avviene quando, ad esempio, siamo sotto l'effetto di anestesia. Questi comunque sono stati temporanei che durano solo poche ore, molto diversi quindi dallo stato di incoscienza che potrebbe incomberci dopo un trauma o un incidente.

1.2 Disordini di coscienza

Sembra immediato, a questo punto, pensare che il modo più efficace per capire se qualcuno è cosciente o meno sia chiederlo direttamente alla persona interessata. In effetti, il gesto più istintivo che ognuno di noi fa quando incontra una persona è chiedere come stia e aspettare, quindi, una risposta o al massimo un movimento, nel caso in cui la persona sia incapace di parlare. In realtà, questo potrebbe essere ingannevole se pensiamo a tutte le intelligenze artificiali che esistono e che possono parlarci e aiutarci nella vita di tutti i giorni, come se fossero perfettamente coscienti di sé stesse e del mondo che le circonda. Come facciamo a definire cosciente un essere non vivente? Per quel che riguarda gli esseri umani è facile, ovviamente, dire che una persona è perfettamente cosciente e capace di muoversi e comunicare con l'esterno, ma c'è un'ampia varietà di condizioni e stati indefiniti che sussistono nel caso in cui una persona, ad esempio, è in un letto incapace di parlare dopo un incidente e i suoi movimenti non possono facilmente essere intesi come perfettamente volontari. Analizzando quali possono essere gli stati in cui un paziente non è capace di comunicare in maniera cosciente con l'esterno, possiamo evidenziare una differenza tra coma, stato vegetativo e stato di minima coscienza.

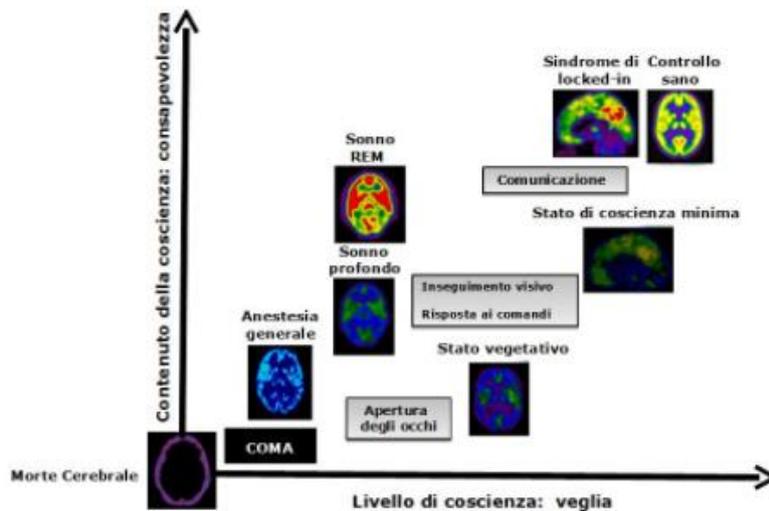


Figura 1: grafico riassuntivo che mostra i differenti disordini di coscienza

Quando parliamo di **coma**, ci riferiamo ad uno stato di sonno profondo in cui non vi è reattività da parte del paziente, il quale non riesce a svegliarsi a causa di una problematica al sistema nervoso. Un paziente solitamente esce dallo stato di coma quando si sveglia e riprende il normale ciclo sonno-veglia, ma questo non comporta necessariamente una ripresa di coscienza. Il coma, quindi, differisce dal sonno, in quanto l'individuo è incapace di percepire e rispondere a stimoli esterni e a necessità interne e quindi non riesce ad essere svegliato. Contrariamente alla credenza popolare, i pazienti in stato comatoso possono mostrare segni di movimento, possono produrre suoni e mostrarsi agitati.

Lo **Stato Vegetativo (VS)**, invece, appare dopo il coma, quando un paziente riacquisisce correttamente il ciclo veglia-sonno. In questo caso non ci sono risposte agli stimoli o a semplici comandi, ma si possono osservare alcuni movimenti non intenzionali e riflessi automatici.

Infine, lo **Stato di Minima Coscienza (MCS)** comprende in generale un'ampia gamma di stati non perfettamente definiti in cui il paziente non riesce a comunicare con il mondo esterno, ma ci sono dei segni di movimenti non

automatici. A differenza dello stato vegetativo, nel caso di minimo livello di coscienza è possibile riottenere il pieno stato cognitivo dopo parecchi anni.

Lo **Stato Locked-in** (LIS) avviene quando un paziente, in seguito al coma, riacquisisce non soltanto un corretto ciclo veglia-sonno, ma anche una piena coscienza di sè stesso e del mondo intorno. A causa di un danno neurologico, in ogni caso, resta permanentemente paralizzato ed è incapace di comunicare ed esternare la propria condizione, almeno in una prima fase. La maggior parte dei pazienti in questo stato, comunque, riescono a recuperare la capacità di muovere gli occhi, in quanto questi movimenti non dipendono dal sistema nervoso centrale, in modo da riuscire nuovamente a comunicare con il mondo esterno.

Infine, lo stato totale di Locked-in è una condizione molto rara di Locked-in, in cui sfortunatamente il paziente non riesce neanche a muovere gli occhi. A causa della totale incapacità di comunicazione di questo stato, è praticamente impossibile stimare correttamente quante persone siano effettivamente sotto questa condizione.

1.3 Neurofisiologia

È fondamentale avere la consapevolezza che ci sono alcuni aspetti dell'attività cerebrale che possono spiegare la presenza dello stato di coscienza e che possono essere usati, quindi, come punto di partenza di questo studio. Per capire quali aspetti dell'attività cerebrale giocano un ruolo fondamentale nella definizione di coscienza, dobbiamo focalizzarci sul sistema nervoso centrale (SNC) e in particolare sul cervello umano. Il sistema nervoso centrale è responsabile del controllo e della regolazione di ogni attività e funzione del corpo

umano. Esso svolge la funzione di rielaborare tutte le informazioni che vengono raccolte dal sistema nervoso periferico e di distribuirle attraverso lo stesso sistema. Nello specifico, è responsabile delle funzioni psichiche e intellettive, come la memoria, la coscienza e conoscenza, ma anche respirazione e battiti cardiaci. È composto dal cervello e dal midollo spinale: entrambi sono immersi in un liquido di protezione, avvolti da membrane dette meningi e protetti a loro volta da un rivestimento osseo. I tessuti che formano il sistema nervoso centrale sono detti neuroni e si dividono in sostanza grigia e sostanza bianca.

1.4 Anatomia del cervello umano

Possiamo identificare tre differenti regioni: il cervello, il cervelletto e la corteccia cerebrale. Il cervello gioca un ruolo importante nella regolazione delle funzioni basilari, come il ciclo di sonno e le attività cardiache e respiratorie. Il cervelletto, invece, controlla la postura, coordina i movimenti e si interessa degli stimoli esterni. La corteccia cerebrale, infine, è fondamentale per la memoria, l'attenzione, la percezione, il pensiero ed il linguaggio. Si può dividere in due emisferi, destra e sinistra, e in quattro regioni, detti lobi:

- **Lobo frontale:** è la corteccia motoria primaria, responsabile della parola e della personalità.
- **Lobo parietale:** incaricato dell'elaborazione degli stimoli, in particolare per il dolore, il tatto, la temperatura e il linguaggio.
- **Lobo temporale:** responsabile dell'udito e dell'olfatto, memoria visiva, comprensione del linguaggio e associazione di emozioni.
- **Lobo occipitale:** è incaricato dell'elaborazione degli stimoli visivi, la differenziazione dei colori e la percezione del movimento.

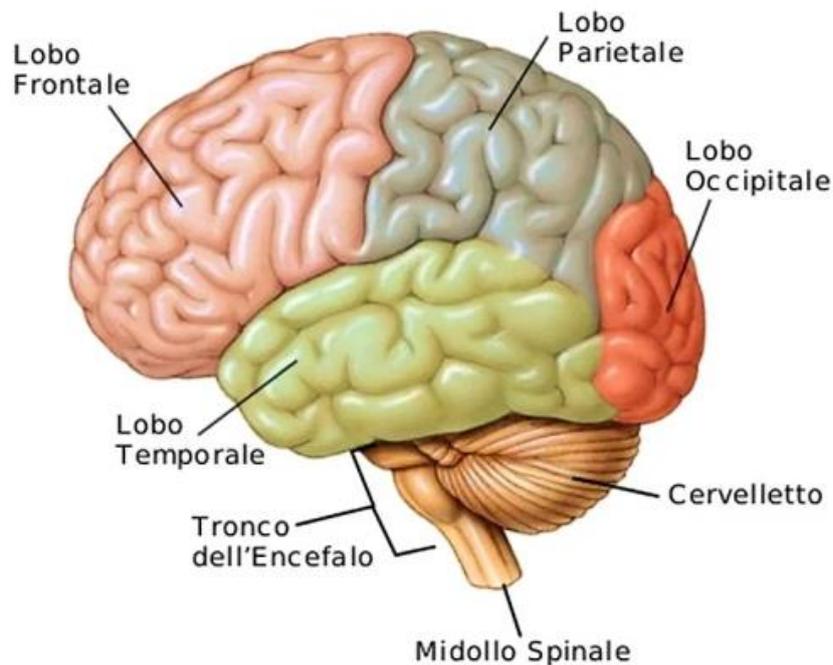


Figura 2: Visione esterna dell'Encefalo

La lesione di un solo lobo, ad esempio in caso di trauma o emorragia ben localizzati, è capace di determinare un danno solo alle funzioni svolte da quel dato lobo, mentre le funzioni degli altri lobi potrebbero restare intatte: ad esempio la lesione del lobo occipitale potrebbe determinare lesioni alla vista, ma lasciare intatte le altre funzioni cerebrali, mentre lesioni della corteccia prefrontale potrebbero determinare perdita dell'inibizione dei comportamenti antisociali, lasciando intatte le altre funzioni del cervello.

I lobi del cervello risiedono tutti all'interno del "neurocranio", anche chiamato "scatola cranica". Ogni lobo è protetto dall'osso omonimo del neurocranio, avremo quindi:

- osso frontale: protegge il lobo frontale;
- osso parietale: protegge il lobo parietale;
- osso temporale: protegge il lobo temporale;

- osso occipitale: protegge il lobo occipitale.

Il sistema talamocorticale, che corrisponde al talamo e alla corteccia cerebrale, insieme con il cervelletto, contiene i neuroni, cellule che ricevono, processano e trasmettono informazioni, attraverso segnali elettrici e chimici. Mentre la presenza dei neuroni è un segnale di grande trasmissione di informazione, sia per le sensazioni che per le azioni, non è invece conseguenza naturale della presenza di coscienza. Testimonianza di ciò è il fatto che il cervelletto possiede un enorme numero di neuroni, ma noi sappiamo da esperienza che la vita in uno stato di coscienza può andare avanti anche in sua totale assenza. I pazienti per i quali risulta necessario rimuovere il cervelletto, per esempio, a causa di un tumore, si devono sforzare per parlare fluentemente e riuscire a coordinare i movimenti, ma non c'è rischio per loro di perdere lo stato di coscienza, infatti continuano a provare sensazioni, percepire colori e forme, sentire suoni e sperimentare gusti. Il sistema talamocorticale, invece, presenta un minor numero di neuroni ma ha un ruolo rilevante nell'esperienza cognitiva. Un danno importante a questo sistema può cancellare completamente per un soggetto una dimensione dell'esperienza cognitiva, come ad esempio la percezione visiva dei colori.

Capitolo 2

2.1 EEG

Essere capaci di leggere un tracciato EEG è un'abilità che riguarda sia la scienza che l'arte. La maggior parte delle persone impara pian piano con l'esperienza o tramite qualcuno che è già esperto.

Un tracciato EEG registra attività elettrica dalla corteccia cerebrale. Poiché l'attività viene misurata in microvolt, deve essere certamente amplificata per essere poi mostrata su uno schermo. La maggior parte di ciò che si registra ha origine proprio nei neuroni, poi ci sono varie possibili altre risorse come i potenziali d'azione, i potenziali post sinaptici e la depolarizzazione dei neuroni. L'azione dei potenziali introduce una breve corrente nell'assone con un campo di potenza molto limitato, questo quindi li rende improbabili candidati. Per quel che riguarda, invece, i potenziali post-sinaptici, essi hanno un campo molto più ampio e quindi sono fra i primi generatori del segnale elettroencefalografico. La depolarizzazione dei neuroni, infine, può avere anche un ruolo importante e produce per certo cambiamenti nel tracciato EEG. In un cervello sano, i potenziali d'azione viaggiano lungo l'assone fino al nervo terminale, dove verrà poi rilasciato un neurotrasmettitore. In ogni caso, i potenziali sinaptici sono la più importante risorsa per l'elettroencefalogramma. L'essenza dell'EEG è l'amplificazione di piccole correnti in una rappresentazione grafica che può essere mostrata e analizzata. Naturalmente, i potenziali extra-cerebrali sono allo stesso modo amplificati, come i movimenti occasionali che capitano durante una registrazione ed essi hanno un'ampiezza che misura svariate volte quella dei potenziali corticali. Ragione per cui, queste interferenze e artefatti oscurano il tracciato EEG.

La rilevazione del segnale EEG avviene grazie all'utilizzo di elettrodi: essi sono generalmente piccoli, si presentano come dischi metallici non reattivi applicati allo scalpo con una pasta conduttiva. Possono essere utilizzati diversi tipi di metalli, come oro, argento, cloruro di argento, platino. Il contatto dell'elettrodo deve essere ben saldo per riuscire ad assicurare bassa impedenza (resistenza al flusso di corrente), così da minimizzare sia gli artefatti dovuti agli elettrodi stessi che quelli dovuti all'ambiente circostante. Per una registrazione a lungo termine, specialmente se il paziente riesce a muoversi, la cuffia di elettrodi deve essere fissata con una sorta di colla e un gel conduttivo deve essere inserito fra l'elettrodo e lo scalpo, attraverso un piccolo foro presente nell'elettrodo stesso. Questa procedura riesce a preservare l'integrità per un periodo prolungato. Altri tipi di elettrodi possono essere utilizzati, come la plastica oppure elettrodi ad ago. Il posizionamento degli elettrodi è standardizzato negli Stati Uniti, così come in altre nazioni. Ciò permette di interpretare un tracciato EEG registrato in un laboratorio, in qualunque altro posto. Il problema generale è quello di registrare l'attività da diverse parti della corteccia cerebrale in una maniera logica ed interpretabile. Grazie al Dr. Herbert Jasper, un rinomato esperto di elettroencefalografia, ad oggi abbiamo un sistema logico e accettato per il posizionamento degli elettrodi. Il suo nome inizialmente era Sistema 10-20, ma poi è stato cambiato in sistema 10-10, perché è cambiato il numero di elettrodi utilizzati. Entrambi i sistemi, comunque, dipendono dall'accuratezza della misura del cranio, che essenzialmente può essere diviso in tre aree: piano sagittale, coronale e orizzontale. Gli elettrodi il cui numero di riferimento è pari sono posizionati sul lato destro, i dispari sul lato sinistro.

Il segnale EEG può essere rilevato in svariate condizioni, ma la più solita è semplicemente quando il segnale è rilevato sullo scalpo e in questo caso stiamo considerando un segnale EEG spontaneo. Si può chiedere, inoltre, al soggetto di

svolgere attività semplici, come ad esempio chiudere gli occhi, provocando così una variazione della densità spettrale di potenza del segnale. Oppure si può chiedere al soggetto di osservare un filmato, ascoltare della musica o semplicemente meditare. In questo modo potremmo accorgerci che il segnale varia a seconda delle diverse zone dello scalpo. Il segnale EEG spontaneo è assimilabile ad un processo casuale, ciò significa che non è facilmente interpretabile dal punto di vista morfologico e inoltre vuol dire che è molto variabile da soggetto a soggetto, anche a seconda di ciò che sta facendo, ancor di più in condizioni patologiche. In un soggetto normale, la fascia al 95% del segnale può essere compresa tra più e meno 50 micro Volt. In condizioni patologiche, questa fascia può variare molto di più, il segnale può diventare anche 10 volte più ampio, provocando così un cambiamento delle caratteristiche statistiche del segnale stesso. Normalmente, negli esami tradizionali, dal punto di vista della banda, si considera un segnale con frequenze comprese tra 0,1 Hz e 40 Hz. Ma è possibile che si arrivi anche ad 80 Hz. Il segnale EEG è suddiviso in alcune sotto bande: banda delta, teta, alfa, beta1, beta2 e gamma. La banda alfa va da 7 Hz a 14 Hz; la banda teta va da 3,5 Hz a 7 Hz; la banda delta va da 0,3 Hz a 3,5 Hz; la banda beta1 va da 14 Hz a 21 Hz; la banda beta2 va da 21 Hz a 40 Hz; negli ultimi anni si considera anche una banda gamma che arriva ad 80 Hz. L'attività in alcune di queste specifiche bande è caratteristica di alcune situazioni in un soggetto normale. Ad esempio la banda alfa è tipica del rilassamento, mentre le bande delta e teta entrano in gioco in situazioni di forte stress o sonno. Se decidiamo di non registrare il segnale EEG sullo scalpo, possiamo considerare di farlo direttamente sulla dura madre o addirittura all'interno dell'encefalo.

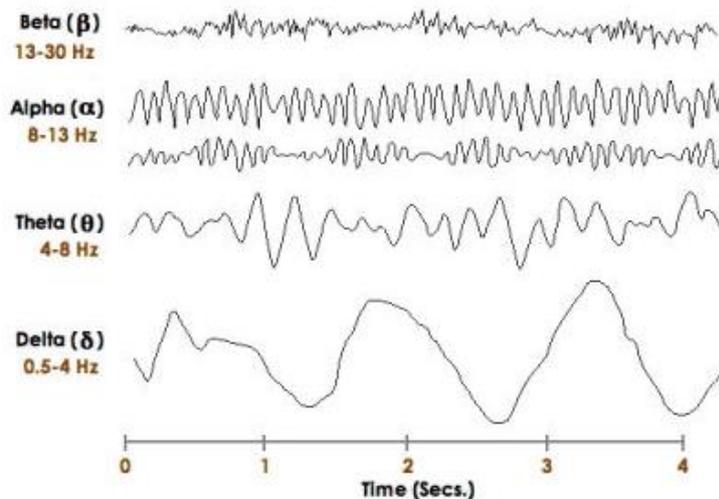


Figura 3: Tracciato EEG dei diversi tipi di onde cerebrali

2.2 Sistema 10-20

Argomento molto delicato è il posizionamento degli elettrodi: oggi ci si riferisce al cosiddetto sistema 10-20 che di seguito sarà illustrato. Iniziamo dal primo punto di riferimento che è la fossetta Nasion, da questo punto percorriamo il cranio lungo la linea mediana, fino ad arrivare ad un punto in cui si sente una sporgenza, si tratta di Inion. A questo punto misuriamo la distanza che intercorre tra Nasion e Inion e la dividiamo per 10; questa distanza risulterà diversa da soggetto a soggetto. Se partiamo da Nasion, al primo posto, ad una distanza del 10% troviamo l'elettrodo Fpz, se da esso mi muovo del 20% arrivo ad un elettrodo frontale che si chiama Fz. Proseguendo ancora del 20% trovo Cz e poi Pz, fino ad arrivare all'elettrodo occipitale Oz, che si trova ad una distanza del 10% da Inion. La stessa cosa va fatta anche per la distanza che intercorre fra i due punti preauricolari. Se parto da sinistra, troverò T3 perché sono arrivato all'osso temporale, successivamente ci sarà C3; alla destra di Cz invece, trovo C4 e T4. I 19 punti standard utilizzati per registrare un segnale EEG attraverso il sistema 10-20 sono quelli sopraccitati, insieme con F3, F7, F4, F8, P3, T5, P4, T6,

O1 e O2. Il sistema prende il nome dal fatto che gli elettrodi si trovano sempre ad una distanza del 10% o del 20% della distanza tra Inion e Nasion e della distanza fra i due punti preauricolari. Spesso si aggiungono anche gli elettrodi Oz e Fpz, arrivando così a 21. Si capisce immediatamente che una preparazione di questo tipo non è velocissima, allora si è pensato di utilizzare delle cuffie di varie dimensioni che mettono gli elettrodi più o meno nelle posizioni corrette. Ovviamente grazie all'uso di queste cuffie, il tempo di preparazione si riduce, ma è importante che ciascun elettrodo sia sempre verificato e riempito di gel. Questo è ciò che si fa quando si vuole eseguire una registrazione EEG tradizionale, altrimenti si può fare un EEG a risoluzione più alta, utilizzando questo stesso sistema, ma spostandosi sempre del 10% della distanza. Quando si usano più di 48 elettrodi, si dice che si sta effettuando un EEG ad alta risoluzione. Oggi esistono sistemi che permettono di acquisire segnali fino a 512 punti diversi sullo scalpo, ovviamente non è possibile con elettrodi di superficie, ma si devono utilizzare piccoli aghi da inserire sottocute.

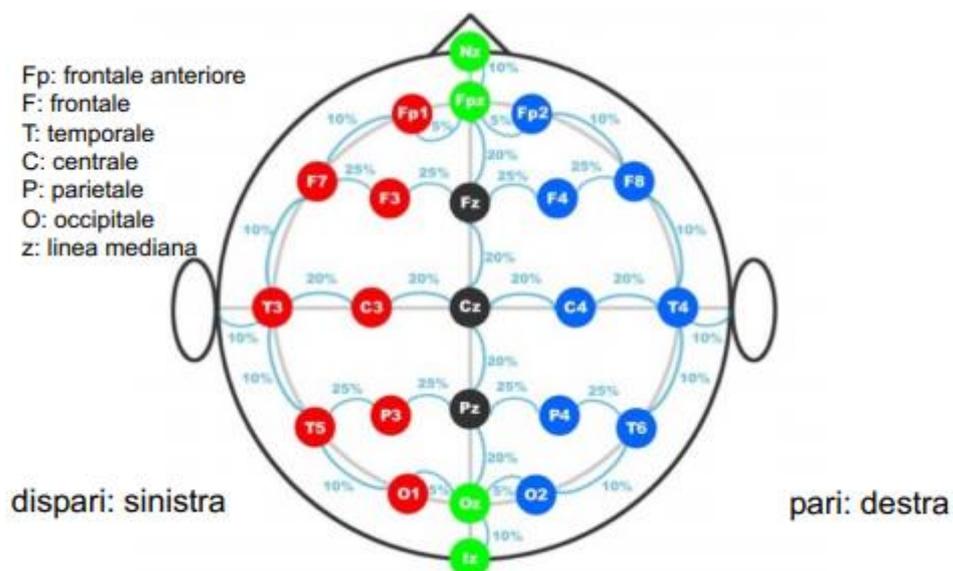


Figura 4: le posizioni degli elettrodi e i loro nomi sono specificati dal sistema internazionale 10-20, utilizzato nella maggior parte delle applicazioni cliniche e di ricerca.

Dal punto di vista degli elettrodi di riferimento, essi possono essere messi dietro all'orecchio sull'osso mastoide, oppure se voglio un unico riferimento centrale posso posizionarlo sul mento. Ci sono, inoltre, anche diversi modi di posizionare gli elettrodi: faremo ora riferimento ad un sistema monopolare o bipolare.

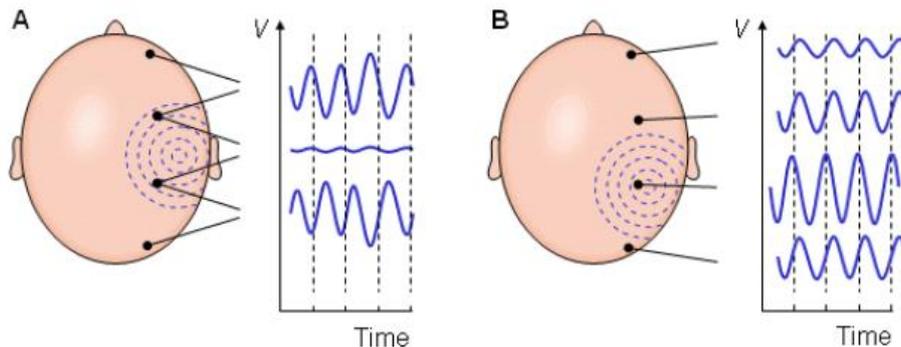


Figura 5: a sinistra, esempio di misura bipolare; a sinistra, esempio di misura monopolare.

Se guardiamo al caso B, il potenziale di ogni elettrodo viene rilevato rispetto al riferimento. Sto effettuando in questo caso una misura monopolare, perché sto misurando il potenziale di un unico elettrodo rispetto a riferimento. Nel caso A, invece, il prelievo è bipolare perché si effettua una differenza di potenziale e con quattro elettrodi posso avere solo tre canali.

Riconoscere gli artefatti è uno degli aspetti più intricati e al tempo stesso soddisfacenti nell'interpretazione di un tracciato EEG, così come una delle cose più importanti. Gli artefatti possono essere di differenti forme e possono essere causati da diversi fattori. La maggiore problematica deriva dall'enorme amplificazione richiesta che serve, appunto, per registrare le onde. Come risultato, quindi, i potenziali non cerebrali che vengono amplificati, come ad esempio grandi movimenti da parte del paziente che producono escursioni

casuali nella conduzione degli elettrodi, possono rendere il tracciato EEG incomprensibile.

2.3 Tipi di artefatti

Nonostante lo scopo del tracciato EEG è quello di registrare, appunto, attività cerebrale, esso nella realtà rileva attività elettrica anche da siti che non siano il cervello. Ciò che quindi non riguarda il cervello può essere diviso in artefatto fisiologico o non fisiologico. Mentre gli artefatti fisiologici sono generati dal paziente, quindi non derivano dal cervello ma sono comunque provocati dal corpo umano, gli artefatti extra-fisiologici provengono dall'esterno. Il processo sistematico di riconoscimento, identificazione della causa ed eliminazione dell'artefatto è molto importante al fine di ridurre la possibilità di una cattiva interpretazione dell'EEG e per limitare potenziali conseguenze cliniche avverse. L'attività fisiologica ha un campo di distribuzione topografica logica con una caduta di potenziale di tensione prevedibile, mentre gli artefatti hanno una distribuzione illogica, che si allontana dai principi di localizzazione attesi. Possiamo suddividere gli artefatti in differenti categorie: artefatti cardiaci, artefatti dell'elettrodo, artefatti dovuti alla strumentazione, artefatti muscolari e artefatti oculari.

2.3.1 Artefatti cardiaci

Il cuore produce due tipi di artefatti: elettrici e meccanici. Entrambi sono bloccati nel tempo dalle contrazioni cardiache e sono più facilmente riconoscibili grazie alle loro sincronizzazioni nei complessi del canale ECG. Essenzialmente,

l'artefatto cardiaco elettrico è un complesso QRS che si è formato in malo modo. Un artefatto di questo tipo potrebbe capitare non in maniera costante con ogni contrazione del cuore e potrebbe avere un intervallo irregolare quando è presente un'aritmia cardiaca. In qualunque situazione, potrebbe essere identificato attraverso l'associazione temporale con i complessi QRS nel canale ECG. Per quanto riguarda l'artefatto cardiaco meccanico, invece, esso può comparire attraverso la pulsazione circolatoria e potrebbe essere considerato anche un tipo di artefatto d'elettrodo. Esso si verifica quando un elettrodo si trova su un vaso sanguigno e si manifesta come un'onda periodica più lenta con un intervallo regolare che segue il picco dell'artefatto ECG a circa 200 milli secondi. Accade più comunemente in corrispondenza delle regioni frontali e temporali e meno comunemente presso quella occipitale.

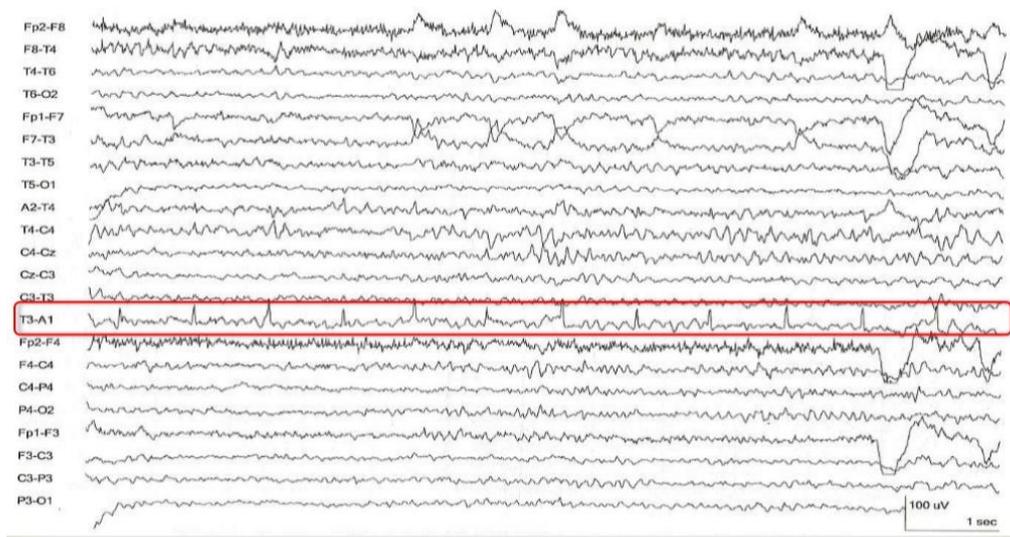


Figura 6: L'artefatto cardiaco è caratterizzato dalla sua morfologia e dal suo periodo fisso e, in questo particolare esempio, è limitato al canale T3-A1 in un montaggio bipolare

2.3.2 Artefatti d'elettrodo

Gli artefatti d'elettrodo di solito si manifestano come transizioni brevi limitate da un elettrodo e da una bassa frequenza. Queste brevi transizioni sono dovute ad una spontanea fuoriuscita di potenziale elettrico che era presente tra l'elettrodo e la testa. Questa spontanea fuoriuscita riflette l'abilità dell'elettrodo e delle superficie della pelle di funzionare come un condensatore e come immagazzinatore di carica elettrica. Con il rilascio di carica c'è un cambio di impedenza e all'improvviso appare un potenziale in tutti i canali che includono l'elettrodo.

Esistono numerosi tipi di fonti esterne che producono artefatti e che potrebbero, attraverso il campo elettrico che generano, provocare effetti sul corpo umano. Il più comune tra gli artefatti dovuti a fonti esterne è causato dall'alternanza di corrente elettrica presente. Il rumore è solitamente medio a bassa ampiezza ed è circa a 50 Hz. La difficoltà nel discriminare questo tipo di artefatti si risolve abbastanza facilmente poiché essi producono forme d'onda che sono molto diverse dalle onde generate dall'attività cerebrale.

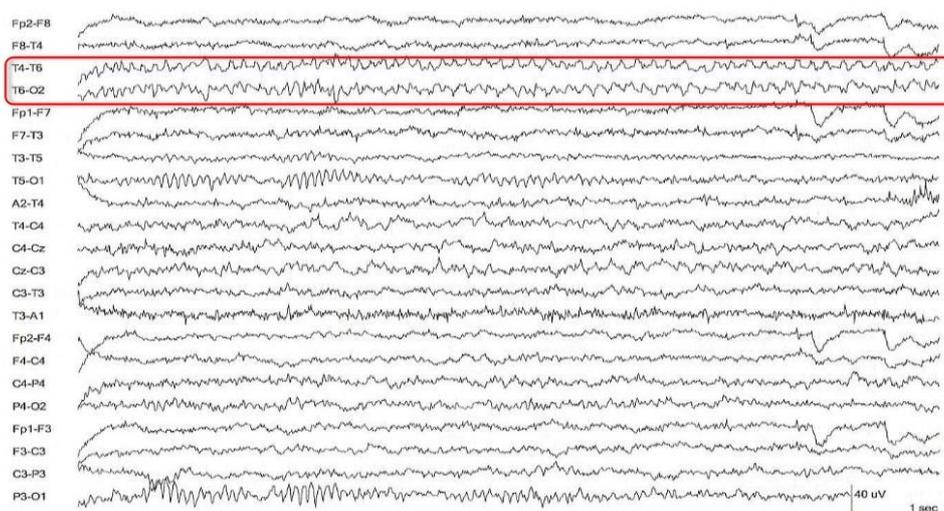


Figura 7: Tipiche oscillazioni di un movimento d'elettrodo

2.3.4 Artefatti muscolari

Movimenti durante la registrazione di un tracciato EEG possono produrre artefatti, sia attraverso il campo elettrico generato dal muscolo sia attraverso l'effetto del movimento tra il contatto dell'elettrodo e la pelle. Nonostante i campi di potenziale muscolare sono dei segnali riconosciuti dagli elettromiografi, essi rappresentano del rumore per gli elettroencefalografi. Infatti, l'attività dell'EMG è la più comune e importante fonte di rumore che si riversa nell'EEG. Essa riesce ad oscurare l'attività cerebrale a causa della sua maggiore ampiezza e frequenza. La durata dell'artefatto muscolare varia in accordo con la durata dell'attività muscolare, così come la distribuzione. In ogni caso l'artefatto capita più comunemente nelle regioni sottostanti al muscolo.

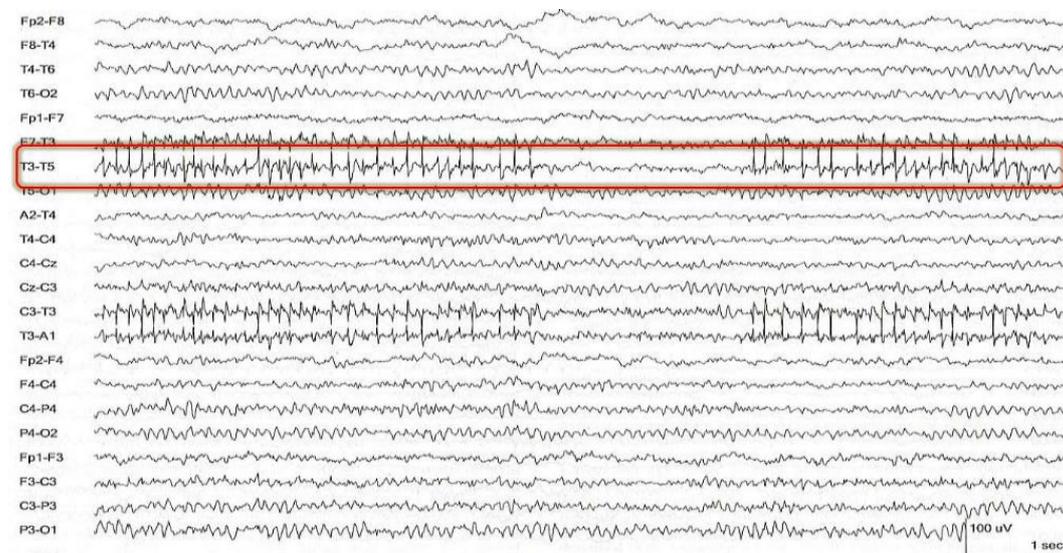


Figura 8: i potenziali che si evincono sull'elettrodo T3 sono artefatti muscolari; la durata dei potenziali è più breve di quella dei picchi generati dal cervello.

2.3.5 Artefatti oculari

La maggior parte degli artefatti oculari sono causati dal dipolo elettrico di ciascun occhio che si aggira attorno ai 100 milli Volt. Il dipolo si orienta lungo l'asse che congiunge la cornea e la retina ed è positivo nella direzione della cornea, negativo nella direzione della retina. Il dipolo assume rilevante importanza nella registrazione EEG quando diventa un campo elettrico in movimento e ciò capita a causa della chiusura e apertura della palpebra. I battiti, infatti, producono artefatti oculari proprio perché sono movimenti molto rapidi. Ci accorgiamo di battiti che si ripetono quando vediamo sul tracciato una sequenza di onde lente.

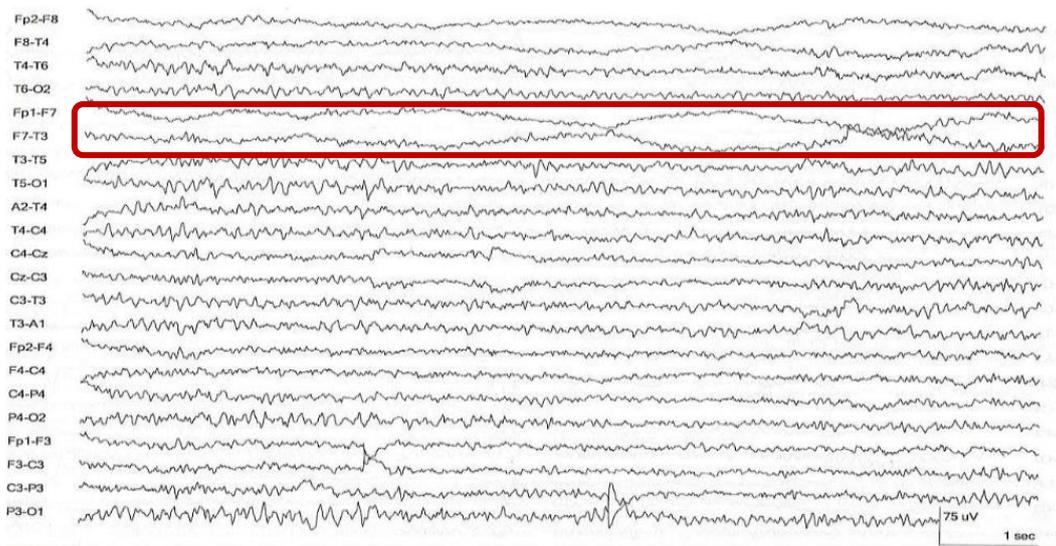


Figura 9: Gli artefatti oculari sono caratterizzati da movimenti ampi e lenti, che si evincono sul tracciato.

2.4 Correzione e rimozione degli artefatti

Gli artefatti sono solitamente riconosciuti da esperti nella lettura dei tracciati EEG. Il processo di analisi visiva, di rimontaggio e di filtraggio digitale permettono l'identificazione della maggior parte degli artefatti, fisiologici e non. Esaminare

un'epoca di EEG in un differente montaggio potrebbe permettere all'esperto di determinare che una particolare forma d'onda non ha un campo fisiologico e così potrebbe essere più certamente un artefatto. Un'idea potrebbe essere quella di applicare dei filtri digitali e ciò potrebbe migliorare notevolmente l'interpretazione dell'EEG contaminato da artefatti, facendo in modo che specifiche frequenze siano così rimosse. I metodi più comunemente utilizzati per la rimozione di artefatti sono:

- Uso di filtri passa-banda, nel caso in cui l'analisi è ristretta a specifiche bande di frequenza. In questa situazione si potrebbe implementare un algoritmo automatico che analizzi l'attività solo nella specifica banda di frequenza. Questo metodo, però, non è molto utilizzato per l'analisi dell'intera banda del segnale EEG, in quanto gli artefatti possono comparire a qualunque frequenza. Inoltre, il processo di filtraggio potrebbe alterare il segnale EEG, con conseguente possibilità di individuazione degli artefatti molto bassa.
- Rimozione manuale degli artefatti, nel caso in cui un tecnico o un esperto effettua una revisione dell'intera registrazione e marca i segmenti con artefatti. Questo è un metodo affidabile e potrebbe evidenziare alcuni artefatti non riconosciuti da tecniche automatiche. Ovviamente risulta essere una procedura lunga e faticosa che potrebbe diventare problematica, soprattutto in presenza di lunghe registrazioni. Inoltre piccoli artefatti potrebbero non essere identificati e differenti individui potrebbero scegliere soglie differenti per la rimozione. Questo metodo, dunque, è possibile solo per un'analisi digitale offline, quindi non in tempo reale.
- Rimozione automatica degli artefatti: questa tecnica rigetta brevi artefatti se un determinato segmento del segnale supera delle soglie predefinite.

Queste soglie possono essere delle semplici analisi dei canali stessi dell'EEG. Ad esempio, se un segmento mostra un'ampiezza molto elevata, sarà eliminato. Alcune tecniche usano ulteriori elettrodi per identificare i segnali con artefatti, come EOG, EMG, EKG o accelerometri. Questa tecnica può essere usata online o offline. La rimozione automatica non riesce ad identificare tutti i possibili artefatti, specialmente nel caso di pazienti malati o in ambienti elettricamente ostili. L'elemento a sfavore di questa tecnica è che, dal momento in cui un intero segmento di EEG viene rimosso se supera la soglia prefissata, allora potrebbe accadere che viene eliminata anche una porzione del segnale EEG che è utile. Si mira a decomporre il segnale in componenti indipendenti, alcune rappresenteranno il segnale EEG, altre rappresenteranno l'artefatto. Una volta che la componente dell'artefatto viene identificata, sarà poi rimossa e la restante parte del segnale può essere ricomposta. Esempi di questi metodi includono l'utilizzo di filtri spaziali e analisi ai componenti indipendenti (ICA). Algoritmi basati su forme d'onda e reti neurali permettono l'utilizzo di questo metodo per una più ampia varietà di artefatti.

Per stabilire se un paziente è clinicamente in uno stato di coma, piuttosto che in uno stato vegetativo o di minima coscienza, i medici devono fare diagnosi appropriate, attraverso l'osservazione del comportamento stesso del paziente. Per evitare di arrivare a conclusioni errate e quindi di presentare una diagnosi lontana dalla realtà, le osservazioni sul comportamento del paziente devono essere integrate con tecniche di neuroimaging ed elettrofisiologiche. In particolare, per scoprire una funzione cognitiva in pazienti non responsivi attraverso un comando motorio riproducibile, che è un segno di coscienza, si utilizza una componente ERP (Evoked-Related Potential) collegata al movimento

volontario intenzionale che è il Readiness Potential. Questo progetto approfondisce il significato di Readiness Potential e delle sue componenti in soggetti sani sotto condizioni sperimentali differenti, per creare una scala di misurazioni, che permette di distinguere tra movimenti volontari, semivolontari e involontari. Questo potenziale è bloccato nel tempo da stimoli esterni a causa del movimento del dito indice acquisito attraverso il segnale EMG e lo rende un MRP (Movement Related Potential), ottenuto dalla media del segnale EEG diviso in epoche. L'obiettivo principale di questo progetto è quello di sviluppare una Brain Computer Interface (BCI) basata sul riconoscimento dei Readiness Potential nel segnale EEG per permettere a pazienti, la cui diagnosi è quella di uno stato vegetativo o di minima coscienza, un canale di comunicazione artificiale per poter dialogare con il mondo esterno. In questo modo, da un punto di vista diagnostico, sarà possibile ottenere maggiori informazioni riguardo il reale stato di coscienza di pazienti, quindi riuscire anche ad indentificare tecniche riabilitative; dall'altro lato, se pensiamo alla qualità della vita dei pazienti stessi, si evince per loro la possibilità di comunicare con il mondo esterno e questo può portare a nient'altro che benefici significativi, sia fisici che psicologici.

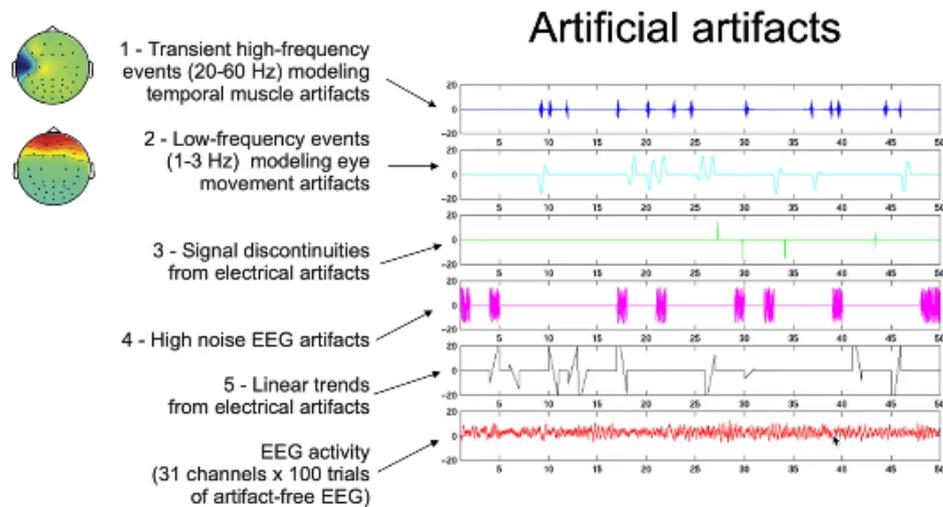


Figura 10: grafica riassuntiva di differenti tipologie di artefatti

2.5 Evoked-Related Potential (ERP)

La tecnica basata su ERP fornisce un metodo potente nell'esplorazione della mente umana e del cervello. Nella maggior parte dei casi, i potenziali evocati si originano come potenziali postsinaptici, che accadono quando i neurotrasmettitori si legano ai recettori, cambiando il flusso degli ioni attraverso la membrana della cellula.

Gli ERP sono potenziali elettrici associati a specifici eventi, quindi delineano le risposte a stimoli visivi, sensoriali, uditivi e somatosensoriali, includendo anche processi relativi a movimenti volontari. Infatti la preparazione del movimento stesso produce un'onda riconoscibile sul tracciato, prima del movimento effettivo. L'onda di un ERP consiste in una sequenza di deflessioni in tensione positive e negative ed è rappresentata dalla sua polarità, latenza e distribuzione sullo scalpo. La tecnica ERP misura una funzione corticale bloccata nel tempo tra i 100 e i 1000 milli secondi dopo uno stimolo e rappresenta un metodo non invasivo per indentificare componenti fisiologiche che contribuiscono al

processo selettivo cognitivo e per ricevere informazioni riguardo a come la corteccia processa i segnali e prepara le azioni.

Ci sono molti comuni artefatti che sono rilevati attraverso le registrazioni EEG e richiedono un trattamento speciale. Il più comune di questi deriva dagli occhi. Quando si chiude la palpebra, si può osservare una grande deflessione della tensione e questo tipo di artefatto è solitamente più grande di un segnale ERP. Questi grandi potenziali possono confondere lo sperimentatore che utilizza stimoli laterali e si focalizza sui risultati degli ERP.

2.6 Readiness Potential (RP)

Readiness Potential (RP), detto anche Bereitschaftspotential (BP), è un lento potenziale negativo che deriva dall'EEG che si trova proprio nei secondi che precedono le azioni volontarie. Teorie recenti suggeriscono che l'RP rifletta la media di fluttuazioni stocastiche che si accumulano durante l'attività cerebrale, legate ad un specifico segnale relativo ad un'azione volontaria. Ovvero gli eventi legati a RP dovrebbero essere ampiamente presenti, anche in assenza di azioni. Le azioni volontarie, quelle causate da processi interni e non da stimoli esterni, hanno un segno distintivo rispetto alle azioni che avvengono in risposta all'ambiente. Cosa rappresenta l'RP? La visione convenzionale è che RP riflette la preparazione dell'azione nell'area motoria e premotoria, che inizia quando la parte inconscia decide di agire e ha il suo culmine con il comando motorio che viene trasmesso tramite la corteccia motoria primaria. Questa considerazione implica, in primo luogo, che l'RP è specifico per azioni volontarie: dovrebbe quindi capitare giusto prima delle azioni volontarie, ma non prima di quelle involontarie. In secondo luogo, l'RP non dovrebbe esplicitarsi quando l'individuo vorrebbe produrre un'azione volontaria, ma nella realtà non lo fa. La prima

considerazione è stata supportata, mentre la seconda è più difficile da validare. L'RP che precede le azioni volontarie non può essere facilmente individuato attraverso esperimenti individuali, a causa della sua piccola ampiezza comparata al rumore inerente alle registrazioni EEG. Come conseguenza, l'RP è studiato tipicamente sulla media di un gran numero di esperimenti, bloccati nel tempo rispetto alla durata dell'azione. Ogni evento EEG "single-trial", simile all'RP, che non porta ad alcuna azione, potrebbe essere non definito. Quindi, questa interpretazione convenzionale dell'RP è spesso collegata all'azione volontaria: è possibile che gli eventi legati agli RP avvengano sempre, o almeno avvengano anche in tempi che non sono relativi ad azioni volontari. Recentemente, Schurger e altri ricercatori hanno proposto un'interpretazione alternativa dell'RP, che pone una questione ancora più interessante. Hanno dimostrato che l'RP potrebbe riflettere un evidente accumulo di una soglia interna. Cioè, in assenza di un'evidenza esterna, l'accumulatore integra fluttuazioni stocastiche neuronali, producendo un processo casuale che fa in modo che l'accumulatore raggiunga la soglia. Quando tracce che derivano da esperimenti multipli prodotti da questo modello sono bloccate nel tempo all'istante in cui viene raggiunta la soglia, che è il tempo in cui avviene l'azione, esse riprodurranno la forma di un RP mediato. Questo indica che il segnale RP potrebbe riflettere lo stato di questo accumulatore. Quindi, la forma caratteristica dell'RP potrebbe ricordare quella di un artefatto.

Shibasaki e Al., invece, propongono un'altra visione del BP che prevede la divisione in due segmenti: la prima parte detta "early BP" e la seconda parte detta "late BP".

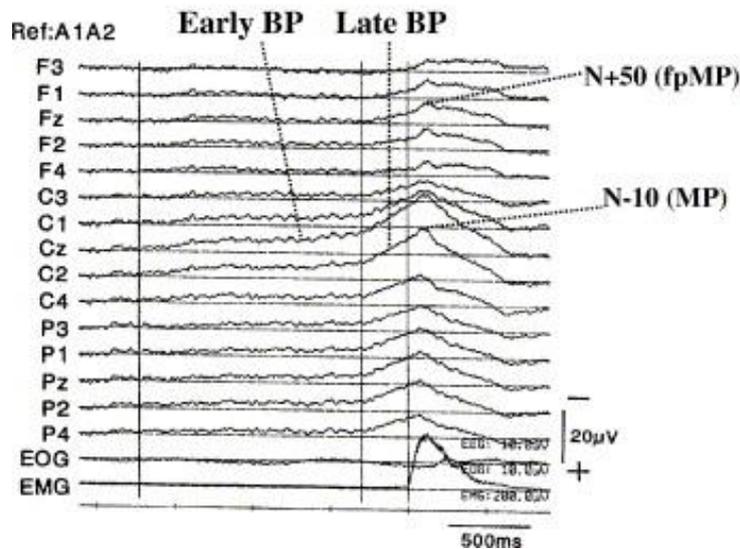


Figura 11: Forme d'onda di un MRCP di un singolo soggetto. "Early BP" ha inizio a circa 1,7 s prima dell'onset sulla media ed è massimo sulla linea centrale dell'elettrodo (Cz). "Late BP" invece inizia 300 ms prima dell'EMG onset ed è molto più ampio rispetto alla regione controlaterale del movimento.

Il primo segmento, "early BP", riflette l'insieme dei processi cognitivi come l'attenzione, lo stato preparatorio, la selezione del movimento, l'intenzione di agire che resta inconscia per un breve periodo, mentre il secondo segmento, "late BP", prima di arrivare al picco, è influenzato dal movimento stesso dettato dalla precisione, lo sforzo e la complessità. Per questa ragione, il primo segmento può essere connesso all'intenzione non ancora cosciente del movimento che accadrà, mentre il secondo segmento potrebbe riflettere la volontà del movimento.

2.7 Lateralized Readiness Potential (LRP)

LRP misura la lateralizzazione di BP e riflette la preparazione motoria di una mano prima dell'inizio dell'esecuzione del movimento. Deriva dai potenziali

presenti sullo scalpo. Inizialmente, l'RP è equamente distribuito su entrambe gli emisferi, poi inizia a lateralizzarsi prima dell'inizio del movimento, con un'ampiezza maggiore nell'emisfero controlaterale al movimento. La lateralizzazione è massima in corrispondenza della corteccia motoria. Per ottenere LRP, si ricorre ad un metodo semplice che consiste nel sottrarre segnali dall'emisfero concorde al movimento rispetto a quello controlaterale allo stesso. Oppure si può utilizzare anche un metodo con una doppia sottrazione in sequenza.

Capitolo 3

3.1 Protocollo sperimentale

Il mio lavoro di tesi è partito con una fase sperimentale presso il “Centro Puzzle” di Torino. Le registrazioni EEG sono state acquisite su volontari sani, di entrambi i sessi, di età compresa tra i 23 e i 26, grazie all’uso del software Galileo NT. Queste registrazioni sono state effettuate con 34 elettrodi passivi in Argento/Argento Cloruro, ai quali sono stati aggiunti due elettrodi ai lobi, inoltre la frequenza di campionamento è stata impostata ai 512 Hz. Durante l’acquisizione EEG, è stato possibile registrare anche l’EOG, grazie al posizionamento di due elettrodi adesivi sopra e sotto ciascun occhio, per incentivare la rimozione di artefatti oculari. È stato deciso di avere il soggetto performante che effettua il movimento del dito, registrando il segnale EMG. L’inizio del movimento del dito è stato monitorato attraverso il posizionamento di due elettrodi adesivi sul lato posteriore e anteriore della falange del dito indice.

I volontari sani dovevano seguire tre differenti task in ogni sessione sperimentale:

- Task volontario, in cui al soggetto veniva richiesto di muovere il dito indice. Il movimento doveva essere fatto in una finestra temporale di 10-13 secondi, a partire da un segnale acustico. Questo esperimento intende racchiudere il movimento in una tempistica prefissata ma dà spazio al soggetto di effettuare una scelta volontaria, che varia quindi da persona a persona e di volta in volta.

- Task semivolontario, ripropone lo stesso movimento richiesto dal protocollo precedente, ma questa volta il soggetto deve muovere il dito indice non appena sente il segnale acustico.
- Task involontario, prevede che il riflesso patellare sia stimolato in corrispondenza del tendine grazie ad un martelletto. Per questo protocollo, il segnale acustico viene percepito solo dallo sperimentatore che indossa delle cuffie, in modo che il soggetto non possa prevedere il momento esatto in cui riceverà lo stimolo. Andando avanti con i movimenti, il controllo dei muscoli volontari si riduce fortemente.

Ciascuna sessione sperimentale si compone di 40 ripetizioni per ciascun protocollo e il segnale acustico viene reso casuale per evitare che la mente in qualche modo si adatti. Il segnale acustico viene emesso dal dispositivo Labjack ed è convertito in un segnale di tensione attraverso il Labjack DAQ che lo sincronizza con le tracce EEG. Per organizzare l'esperimento, è stato utilizzato il software OpenSesame, il quale permette allo sperimentatore, grazie ad una finestra GUI, di scegliere innanzitutto il protocollo e successivamente il numero di ripetizioni che il soggetto dovrà effettuare.



Figura 12: GUI di OpenSesame

3.2 Set up sperimentale

- Galileo Suite di EB Neuro, utilizzato come sistema di acquisizione del segnale EEG
- Computer con Software Galileo per visualizzare e salvare i dati
- Cuffia EEG, elettrodi adesivi, elettrodi di terra per EMG, elettrodi di riferimento per EEG
- Pasta abrasiva NUPREP, gel conduttivo per EEG, siringa con ago smussato per il montaggio della strumentazione
- Computer OpenSesame e Labjack per il segnale acustico
- Sistemi di supporto: carrello, sedia, tavolo.



Figura 13: Materiale utilizzato durante l'esperimento

Lo stadio della preparazione è il più lungo ma anche il più importante, perché grazie ad una preparazione adeguata è possibile ottenere una traccia EEG che sia leggibile. Durante l'esperimento, sono stati usati due computer: uno, in cui è presente il software OpenSesame, utilizzato per iniziare l'esperimento ed emettere il segnale acustico; l'altro, in cui c'è invece il software Galileo, usato per visualizzare, processare ed esportare i segnali acquisiti tramite la cuffia EEG connessa. Il soggetto volontario viene fatto sedere su una sedia rialzata per evitare che i piedi riescano a toccare il pavimento, per riuscire a realizzare il protocollo involontario. Inoltre, il soggetto viene fatto sedere dietro il computer con il software Galileo, mentre il secondo computer è posizionato sul tavolo volto verso il lato opposto rispetto alla posizione in cui il soggetto è seduto, in modo che non venga influenzato in nessun modo durante l'esperimento. A questo punto può iniziare la preparazione per l'acquisizione del segnale. Prima di tutto, gli elettrodi per la registrazione per gli EOG ed EMG vengono posizionati utilizzando una pasta abrasiva dal nome TAN20 e successivamente si fa lo stesso per posizionare gli elettrodi sui lobi auricolari e sul polso. Una volta che gli elettrodi sono correttamente posizionati, viene fatta indossare la cuffia per EEG,

provando a posizionare l'elettrodo Cz al centro tra Nasion e Inion e anche tra i due elettrodi di riferimento sui lobi. A questo punto si deve pulire lo strato cutaneo e si utilizza, quindi, la pasta abrasiva Nuprep, utile a rimuovere il sebo e le cellule morte. Poi, in ciascuno degli elettrodi sulla cuffia viene inserito del gel conduttivo, attraverso una siringa dall'ago smussato. Il gel conduttivo viene utilizzato per due ragioni:

- Per migliorare la conduzione del segnale, abbassando l'impedenza dell'elettrodo in modo da ottenere un buon contatto tra lo stesso e la pelle;
- Per migliorare l'adesione dell'elettrodo con la pelle, evitando così che possa staccarsi durante qualche movimento.

Prima di acquisire il segnale EEG, lo sperimentatore deve valutare che l'impedenza degli elettrodi non superi un certo valore di soglia, pari a 10 kΩ.

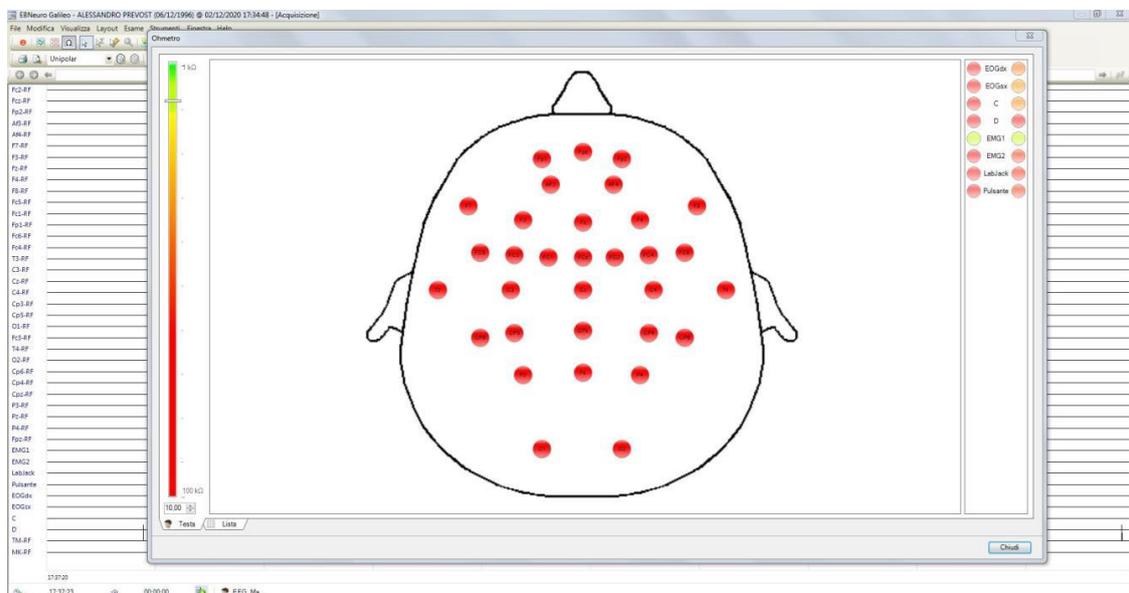


Figura 14: interfaccia grafica che mostra l'impedenza degli elettrodi.

Una volta finito l'esperimento, i materiali devono essere puliti, in quanto i residui di gel secco sugli elettrodi possono essere una fonte di rumore, quindi si utilizza una soluzione con alcool per gli elettrodi ai lobi e al polso e solo acqua per la cuffia EEG.

Nelle sessioni sperimentali antecedenti rispetto a giugno 2018, l'EEG veniva registrato da elettrodi sullo scalpo sulla corteccia motoria e premotoria; tutte le registrazioni successive, invece, si basano sul sistema internazionale 10-10 ed in tutto sono localizzati 32 elettrodi sullo scalpo, tutti che fanno riferimento agli elettrodi posizionati sui lobi delle orecchie ed inoltre è utilizzato un elettrodo di terra posizionato su Oz. Il segnale EOG viene rilevato dall'occhio destro e poi, sia EEG che EOG, sono amplificati di 1000, grazie all'utilizzo dell'amplificatore EBNeuro BE-Plus.

Capitolo 4

Brain Computer Interface per pazienti non responsivi

4.1 Introduzione

I segnali EEG, come già precedentemente detto, contengono informazioni funzionali del cervello, quindi l'analisi EEG è stata recentemente molto utilizzata in molte applicazioni come la Brain Computer Interface, oppure per studi cognitivi umani, diagnosi per malattie come l'epilessia. Il segnale EEG, però, contiene molto rumore causato dall'ambiente esterno e dalla strumentazione, quindi c'è bisogno che il segnale venga processato per migliorare il rapporto segnale rumore (SNR) per l'analisi.

Il software Galileo NT è uno strumento che permette di mostrare il segnale EEG puro in real-time e di esportarlo in differenti formati, per riuscire poi ad usarlo per la successiva manipolazione. Nei nostri esperimenti, abbiamo scelto di salvarlo in formato “.asc”, con una frequenza di campionamento di 512 Hz e abbiamo effettuato il salvataggio dei canali. Successivamente i dati sono stati trattati attraverso Matlab 2019a, un ambiente di computazione numerica usato per l'analisi dei dati. Attraverso Matlab si può programmare con un linguaggio C, creato da MathWorks, e si usano semplici comandi per la manipolazione di matrici, creazione di grafici e manipolazione dei dati, in generale.

4.2 EEGLAB

EEGLAB è un toolbox interattivo di Matlab, creato da Swartz Center per la Neuroscienza Computazionale (SCCN). EEGLAB viene utilizzato per processare i biopotenziali: EEG, EOG e altri dati fisiologici. Esso permette di effettuare

un'analisi utilizzando una grande varietà di funzioni per applicare filtri, rigettare artefatti, fare la media e la statistica di eventi, visualizzare dati e altre funzioni complesse sia nell'analisi del tempo che delle frequenze, tra cui l'analisi alle componenti indipendenti (ICA). Inoltre, EEGLAB fornisce una interfaccia grafica (GUI) per visualizzare dinamiche provenienti dal cervello relative ad eventi e per immagazzinare e manipolare i dati dell'EEG, attraverso funzioni già implementate, così come si possono scrivere funzioni per portare avanti un'analisi real-time e automatica.

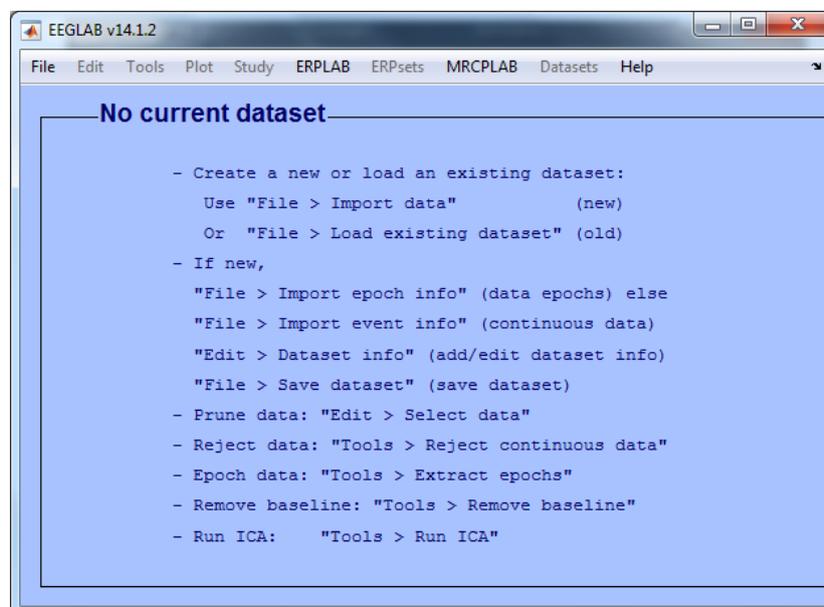


Figura 15: GUI di EEGLAB

4.3 MRPCLAB

Per elaborare i dati dell'EEG acquisiti dal software è stato sviluppato un plug-in per EEGLAB. Questo plug-in permette di integrare tutti gli algoritmi implementati con EEGLAB e aggiunge anche funzioni molto utili per analizzare il segnale automaticamente, magari in previsione di una corretta identificazione dell'RP.

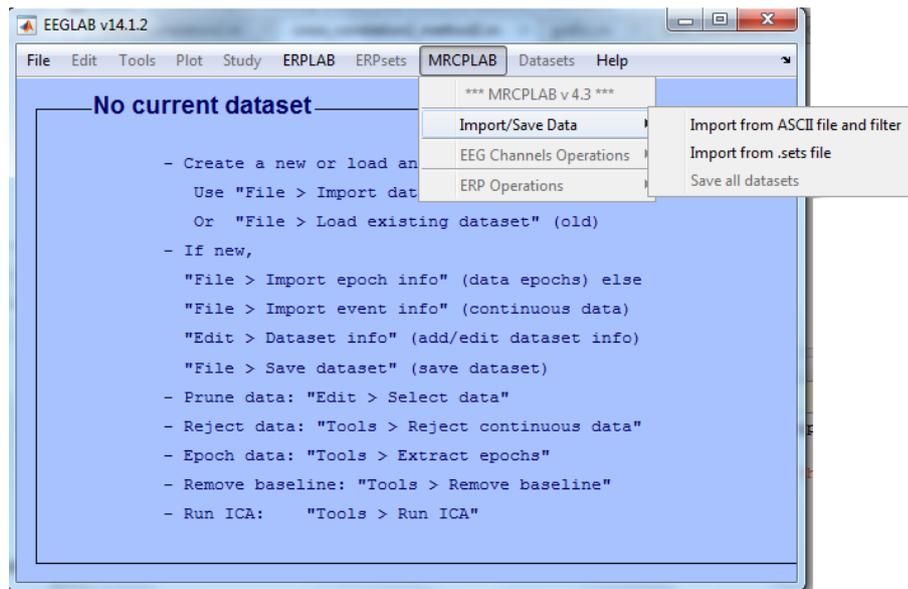


Figura 16: Menù di MRCPLAB

In particolare, da MRCPLAB compare un menù a tendina nel quale la voce “Import/Save Data” è utilizzata per importare un dataset nello stesso formato importato dal software ma ha inoltre l’abilità di salvare tutti i dataset nel formato “.set” e renderli compatibili con EEGLAB. Sempre nello stesso menù si trova “ERP operation”, il quale, una volta che è stato importato il dataset, attraverso il comando “ERP Computing” fa in modo che venga computato l’ERP e riesce a mostrarlo tramite “ERP Viewer”. Quando si sceglie di processare un dataset nel formato “.asc”, si apre una finestra interattiva, che chiede all’utente di inserire delle informazioni, come:

- La frequenza di campionamento;
- La durata delle epoche, in secondi, in cui si divide il segnale, che è pari a 10 secondi se si considerano dataset acquisiti prima di Giugno 2018 o è pari a 0 se si usa come segnale in ingresso quello del Labjack per i dataset acquisiti dopo Giugno 2018;
- La definizione delle epoche, in millisecondi, che è già settata;

- Il canale su cui si rileva il segnale EMG, che può essere il canale 1, cioè EMG1, o il canale 2, cioè EMG2. In realtà, durante gli esperimenti di questo progetto, è stato utilizzato un altro canale, detto “Pulsante”, per l’acquisizione del segnale EMG, in quanto risultava esserci troppo rumore nei due canali dedicati alla traccia EMG;
- Il nome del canale d’ingresso, che è il Labjack per gli esperimenti condotti su volontari sani;
- Come ultima opzione si può scegliere se si vuole ottenere a video solo la traccia dell’EMG o sia quella dell’EMG che del segnale d’ingresso.

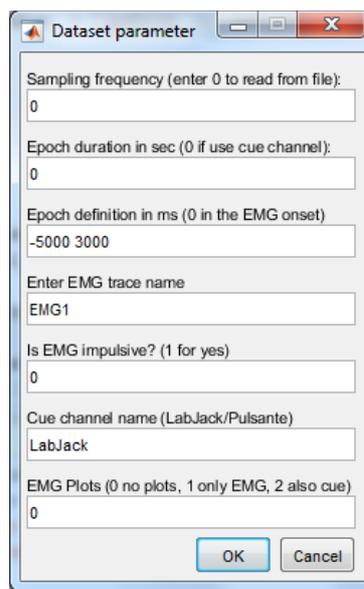


Figura 17: Pop-up window interattiva per il settaggio dei parametri

Dopo aver selezionato questi parametri, si acquisisce il segnale, si filtra e si salva in un array di vettori che contiene tutte le informazioni riguardanti il dataset. L’informazione poi è riportata nella GUI, come mostrato nella figura seguente.

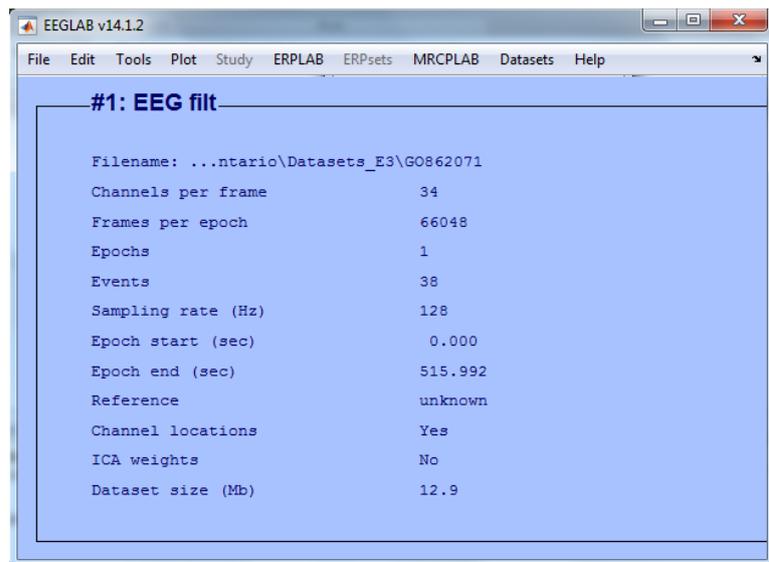


Figura 18: GUI con i parametri riepilogativi del dataset importato

Tra le altre informazioni, troviamo anche quella che si riferisce al posizionamento dei canali. Se in uno specifico file si conoscono i nomi dei canali del dataset, le posizioni possono essere trovate automaticamente all'interno del file Standard-10-5-Cap385.sfp, che è un database contenente le etichette di 385 canali già noti. Il file è già presente nell'ambiente di EEGLAB e le coordinate di ciascun elettrodo sono espresse nel sistema cartesiano. Attraverso questo programma, è possibile visionare l'andamento del segnale EEG nel tempo, che corrisponde ai 34 elettrodi registrati, insieme alle tracce dell'EOG destro e sinistro.

4.4 Classificazione dei dataset

Durante il mio lavoro di tesi, fra i dataset presenti nel database, mi sono focalizzata su quelli successivi a giugno 2018. Ciascuno di essi è diviso in tre task, cioè volontario, semivolontario e involontario. Prima di iniziare il

processo di analisi e manipolazione, è stata fatta una classificazione basata sull'ispezione visiva del segnale EMG e del Labjack.

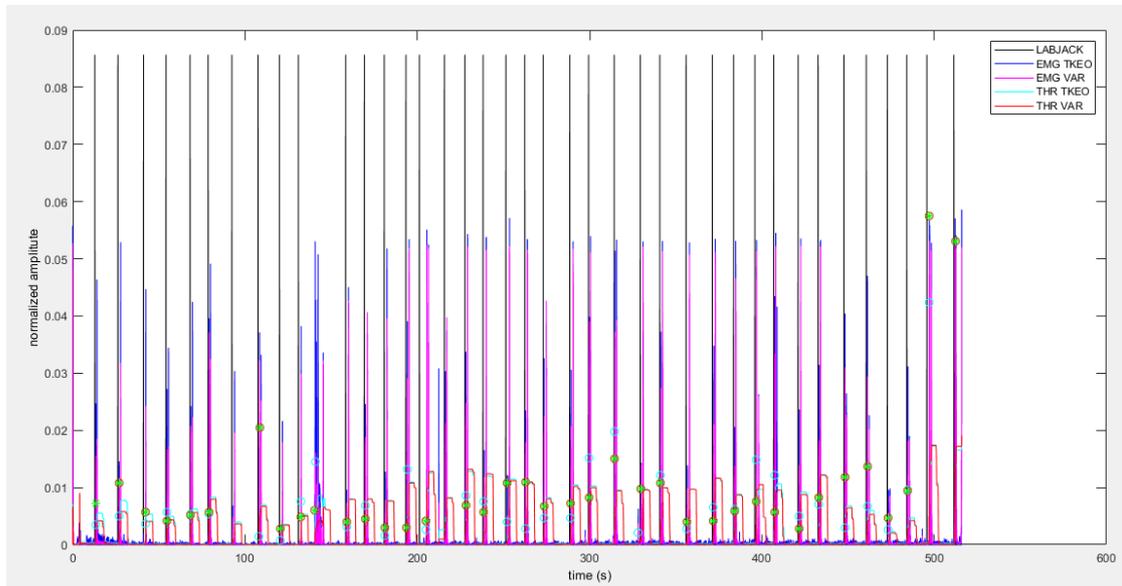


Figura 19: Visualizzazione del segnale, importato in formato .ascii

Nel grafico, il segnale EMG è rappresentato dalla curva blu, mentre la curva magenta rappresenta la sua variabilità; il segnale Labjack è rappresentato dalle linee verticali nere che indicano l'istante in cui inizia la finestra temporale, cioè quando avviene la flessione dell'indice. Per fare considerazioni sulla qualità del segnale EMG, ci siamo riferiti alla variabilità del segnale stesso e a quanto apparisse rumoroso. Come ulteriore criterio, è stato valutato l'onset del movimento, che è rappresentato da un punto verde. Quando il movimento è caratterizzato da una flessione ampia e precisa, si può notare che il puntino verde è ben visibile sul grafico e non si sovrappone al segnale; questo, invece, potrebbe capitare se il segnale EMG è troppo rumoroso e se il movimento non è centrato sull'onset. Il segnale del Labjack

non è sempre presente, questo perché lo strumento in sé connesso alla cuffia EEG, può produrre rumore a causa dell'interferenza.

Nella nostra classificazione, sia il segnale EMG che quello del Labjack sono stati valutati attraverso una scala che va da 0 a 3, in cui 0 sta ad indicare che i segnali hanno una scarsa qualità, mentre 3 è l'esatto contrario. A questo punto tutti i dataset sono stati rinominati attraverso una stringa di 45 caratteri, sulla base delle seguenti regole:

- Il nome del soggetto è stato anonimizzato attraverso 8 caratteri, riportando in successione la prima lettera del nome, la prima lettera del cognome, l'ultima cifra dell'anno di registrazione, le ultime due cifre dell'anno di nascita, il mese di nascita e poi il carattere 0 se il soggetto è di sesso maschile, 1 se il soggetto è di sesso femminile;
- Il montaggio degli elettrodi dell'EEG è decifrato attraverso 5 caratteri: 32C18 è l'acronimo per il montaggio con la cuffia a 34 elettrodi, mentre OBE12 è quello con gli elettrodi a ponte;
- 4 caratteri vengono impiegati per indicare il protocollo utilizzato per i controlli, ovvero A18C indica il nuovo protocollo, B18C per il vecchio protocollo e VOPC si riferisce ai dati antecedenti al vecchio protocollo;
- I successivi 3 caratteri sono quelli che indicano se il soggetto è bendato o no e in particolare l'acronimo FOL si riferisce ai soggetti bendati, mentre UNF i non bendati;
- Per capire se il task utilizzato sia quello volontario, semivolontario o involontario, si utilizzano 5 caratteri: VOL18, SEM18 o INV18;
- Ancora 4 caratteri per il task: RFOF per right forefinger, LFOF per left forefinger, BFOF per bimanual forefinger, RMOU per right mouse, RLEG

per right leg, LLEG per left leg, RFOO per right foot, LFOO per left foot, RHLE per mano+gamba destra, LHLE per mano+gamba sinistra;

- I successivi 4 caratteri indicano il canale utilizzato per EMG: EMG1 per il canale 1, EMG2 per il canale 2, EMGX per il canale senza alcun numero;
- Infine, gli ultimi caratteri sono quelli che discriminano la qualità del segnale EMG e del Labjack, quindi: E + 0/1/2/3 per l'EMG e L+ 0/1/2/3 per il Labjack.

4.5 Metodi

I dati acquisiti dal segnale EEG sono importati in MRCPLAB utilizzando la funzione importtoEEGLAB.m. Prima di tutto, viene utilizzato il tasto ERP Computing, attraverso la funzione di Matlab epochandfilter.m. Attraverso questa funzione, non soltanto si calcolano gli ERP, ma prima di fare ciò, l'intero tracciato EEG è diviso in epoche, che sono estratte utilizzando la funzione pop_epoch.m. In questo modo, ciascuna epoca ha una finestra temporale che va da -5000 milli secondi a 3000 milli secondi ed è allineata sullo zero all'EMG onset.

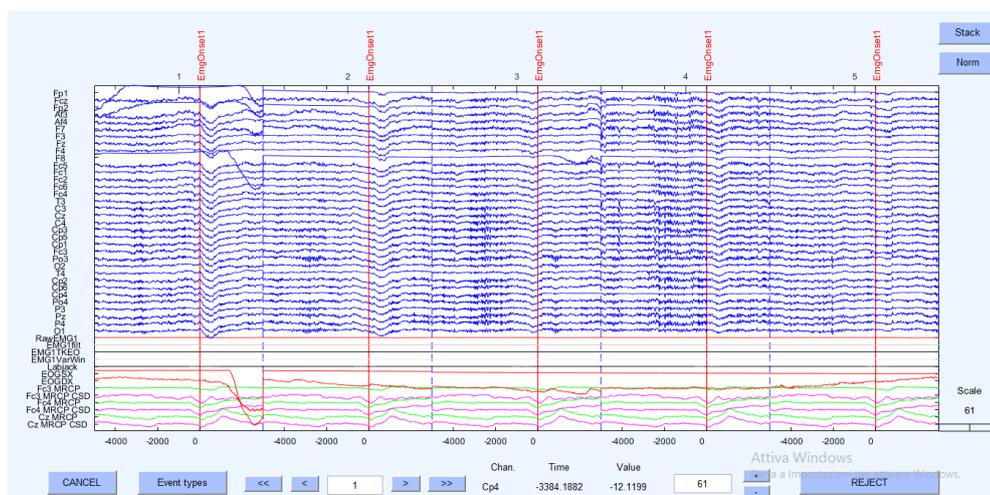


Figura 20: interfaccia che visualizza il tracciato EEG, insieme con EMG, EOJ e Labjack, dopo aver effettuato la divisione in epoche

Per tutti i dataset la frequenza di campionamento è sotto campionata da 512 Hz a 128 Hz e, per evitare il fenomeno dell'aliasing, tutti sono filtrati. In primo luogo, il segnale EEG viene preprocessato con un filtro passa-banda dai 0,016 Hz ai 70 Hz, con un amplificatore passa-banda da 0,001 a 100 Hz e un filtro notch a 50 Hz, poi un filtro passa bassa con frequenza di taglio a 40 Hz e un filtro passa alto con frequenza di taglio a 0,05 Hz. In questo modo, gli ERP possono essere calcolati facendo la media fra le epoche, allineate sull'EMG onset. In questa fase tutte le epoche con artefatti evidenti vengono scartate, in quanto gli artefatti possono causare un'interpretazione scorretta della forma d'onda dell'ERP. Questa procedura è portata avanti internamente ad EEGLAB, in cui inizialmente viene osservato l'andamento temporale dell'intera traccia EEG, e poi, utilizzando il pulsante "Edit Menu" e l'elemento "Select epochs or events", possono essere selezionate tutte le epoche da eliminare. In questo modo si crea un altro dataset, che contiene tutte le epoche eccetto quelle con gli artefatti. Dal momento che l'ERP interessa la corteccia sensoriale-motoria, incluse le aree motorie e premotorie, in corrispondenza del lobo frontale e della corteccia somatosensoriale e del lobo parietale, vengono utilizzati sette canali: Cz, C3, C4 per l'area motoria; Fcz, Fc3, Fc4 per l'area premotoria; Pz per l'area somatosensoriale.

Nello sviluppo di un metodo per la rimozione o la correzione degli artefatti all'interno del progetto per la realizzazione di una BCI, ho considerato un insieme di dataset, che ho sottoposto ad un'accurata ispezione visiva. Nel caso in cui ho ritenuto di dover rimuovere l'artefatto, ho effettuato una divisione in epoche del segnale e, sulla base di alcuni criteri, ho scelto di rimuovere quella specifica epoca, eliminando così, sia la componente artefattuale che l'informazione neuronale associata. Nel caso in cui ho cercato, invece, di effettuare una

correzione dell'artefatto, mi sono servita di alcuni plug-in esterni al toolbox di EEGLAB, ma compatibili con esso, ciascuno dei quali riesce ad effettuare una correzione automatica o semiautomatica degli artefatti, basata sull'analisi alle componenti indipendenti.

4.6 Analisi alle componenti indipendenti (ICA)

L'analisi ai componenti indipendenti è un metodo per processare un segnale in modo da separare le sorgenti indipendenti linearmente tenute insieme da diversi sensori. Si basa su una statistica indipendente. Se pensiamo all'EEG, noi abbiamo degli elettrodi che si posano sulla pelle, al di sotto della quale c'è la corteccia. Vogliamo in qualche modo rilevare quello che è il segnale prodotto da ciascun singolo elettrodo e non il tracciato nella sua totalità. Quindi ICA è un metodo per ricavare una versione del segnale che deriva dalle sorgenti originali, moltiplicando il segnale con una matrice:

$$U = WX$$

Dove X rappresenta il segnale che registriamo, cioè i differenti canali nel tempo, l'analisi ai componenti indipendenti mira a ricavare U, che è l'attività originale e rappresenta le diverse componenti nel tempo e W che è la matrice moltiplicatrice (le componenti per i canali). L'analisi ai componenti indipendenti tenta di rendere gli output statisticamente indipendenti, non ponendo alcun vincolo alla matrice W.

Questo è un esempio in cui abbiamo due sorgenti, la sorgente a e la sorgente b e abbiamo una combinazione lineare di queste due sorgenti. Sulla destra vediamo i segnali che si ricavano dalla registrazione del segnale EEG e vogliamo

ricavare le sorgenti a e b. Quindi applichiamo l'analisi ai componenti indipendenti e otteniamo il segnale originario.

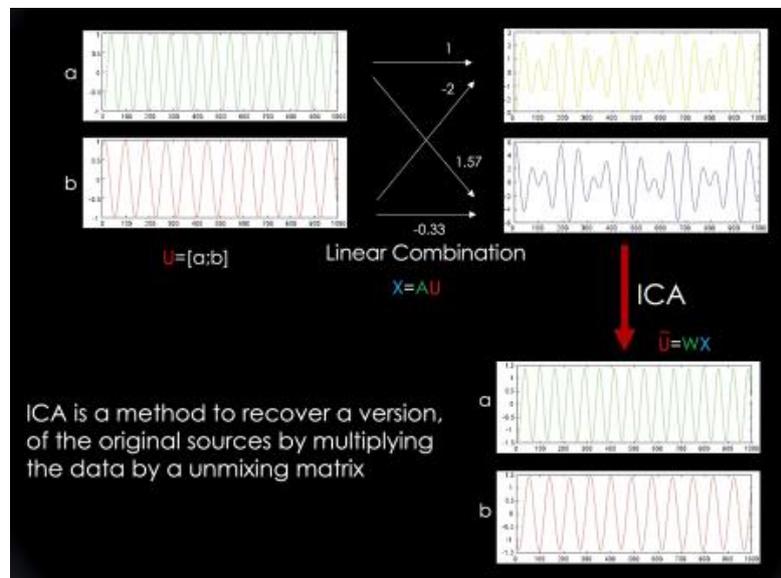


Figura 21: immagine esplicativa del metodo ICA

I primi studi riguardanti ICA derivano da Herault & Jutten nel 1986, seguito nel 1995 da Bell & Sejnoski. La prima applicazione di ICA a segnali biomedici è avvenuta nel 1996 attraverso una analisi EEG/ERP e successivamente un'analisi FMRI. I dati che derivano da un elettroencefalogramma possono essere facilmente contaminati da segnali che non derivano dall'attività cerebrale. L'analisi ai componenti indipendenti può aiutare a correggere l'EEG da questi artefatti. Le componenti indipendenti artefattuali possono essere identificate dagli esperti tramite ispezione visiva. Ma le caratteristiche degli artefatti sono un po' ambigue e difficilmente comprensibili, e persino gli esperti potrebbero trovarsi in disaccordo su come classificare un particolare componente. Quindi è importante documentarsi sulle proprietà degli artefatti. La più grande problematica che riguarda l'interpretazione del segnale misurato sullo scalpo è

che il segnale riflette un insieme di differenti sorgenti di attività che hanno origine esterna, quindi usare un metodo come l'analisi ai componenti indipendenti che permette di isolare le sorgenti di attività indipendenti può essere utile. ICA permette l'isolamento delle componenti statisticamente indipendenti come combinazioni lineari degli elettrodi. Ciascuna componente è caratterizzata da una sua topografia e un tempo. Le componenti indipendenti possono essere intese come singoli elettrodi. In particolare, possono essere sottratte al segnale esattamente come si può pensare di togliere un cattivo elettrodo dopo una registrazione. In questo modo il segnale è libero da artefatti che erano concentrati proprio in quell'elettrodo. Le caratteristiche delle componenti artefattuali possono essere visualizzate utilizzando svariate rappresentazioni. EEGLAB offre un grande numero di rappresentazioni visive che permettono ad un osservatore allenato di identificarle, ma alcune caratteristiche non sono immediatamente ovvie da queste rappresentazioni. Esistono un gran numero di procedure automatiche che computano misure statistiche oggettive nei segnali EEG.

L'analisi ai componenti indipendenti riesce ad isolare differenti categorie di segnali. Nello specifico riesce a catturare una sorgente di attività neurale, le variazioni dei potenziali dovute ai battiti di ciglia, i movimenti oculari, contrazioni muscolari, rumore e elettrodi ad alta impedenza. C'è da dire che l'analisi ai componenti indipendenti potrebbe fallire in quanto spesso molte componenti non rientrano esattamente in una sola categoria. In pratica, separare classi diversi di componenti indipendenti è quindi un problema che riguarda due possibili errori: mancare componenti artefattuali o reputare come tali componenti che non lo sono. Tutti i metodi automatici hanno dei propri criteri per identificare almeno alcune di queste componenti.

Tool	Artifact type	Measure	Abbreviation
SASICA	Blinks/vertical eye movements	Correlation with vertical EOG electrodes	CorrV
	Horizontal eye movements	Correlation with horizontal EOG electrodes	CorrH
	Muscle	Low autocorrelation of time-course	LoAC or AutoCorr
	Bad channel	Focal channel topography	FocCh
	Rare event	Focal trial activity	FocTr
	Non dipolar component	Residual variance	ResVar
	Bad channel	Correlation with Bad channel	CorrCh
FASTER	Eye blinks/saccades	Correlation with EOG electrodes	EOGcorr
	“Pop-Off”	Spatial Kurtosis	SK
	White noise	Slope of the power spectrum	SpecSl
	White noise	Hurst exponent	HE
	White noise	Median slope of time-course	MedGrad
ADJUST	Eye blinks	Temporal Kurtosis	TK
	Eye blinks	Spatial average difference	SAD
	Eye blinks	Spatial variance difference	SVD
	Vertical Eye Movements	Maximum epoch variance	MEV
	Horizontal Eye Movements	Spatial eye difference	SED
	Generic Discontinuities	Generic discontinuity spatial feature	GDSF

Tabella 22: misure computate da questi tre plug-in automatici.

Il successo dell'ICA nell'analisi EEG è in gran parte dovuta al fatto che la soluzione ricavata sia davvero plausibile. Infatti, nella maggior parte dei casi, quando si fa una prova su un dataset molto grande, la topografia e il corso del tempo di almeno una manciata di componenti permettono la loro identificazione attraverso la cattura selettiva dell'attività neurale. Queste componenti sono spesso dipolari e la loro topografia è regolare e liscia. Inoltre, spesso si collocano tra le componenti più forti nel dataset, ad esempio rappresentano quelle che causano più variazione nel segnale, contengono un picco di frequenze fisiologiche e possono mostrare un'ampia risposta evocata ad uno stimolo esterno. La natura dipolare di queste componenti può essere misurata, in primo luogo, adattando una sorgente dipolare alla componente e poi misurando la varianza residua dopo aver rimosso i dati manipolati. Si può notare che alcune componenti con una bassa varianza residua possono essere artefatti. L'analisi ai componenti indipendenti che cattura attività neurale spesso contiene un picco nel range Alfa (8-12 Hz), Beta (15-30 Hz), Delta (1-4 Hz), o Teta (5 Hz). Questo è particolarmente vero per quelle componenti la cui topografia ha maggiore peso sui sensori posteriori, medi o frontali rispettivamente per le frequenze Alfa, Beta e Teta. Infine, l'altra caratteristica fondamentale è quella di mostrare una risposta evocata molto forte agli stimoli esterni. Però, questa natura non sempre può essere diagnosticata perché non tutti i protocolli prevedono una stimolazione e non tutte le componenti che mostrano una risposta evocata possono essere classificati come attività neurale pura.

L'analisi ai componenti indipendenti si dimostra davvero efficiente nel separare l'attività relativa ad un gran numero di artefatti da quella neuronale, isolando automaticamente il segnale base in specifiche componenti indipendenti. Poiché il numero di risorse è potenzialmente più alto rispetto al numero di componenti indipendenti, questa separazione non sarà mai perfetta. In ogni caso, dopo aver

rimosso gli artefatti non comuni attraverso un pre-processing del segnale, è possibile ottenere una decomposizione alle componenti indipendenti pulita. C'è da dire che l'usabilità pratica dell'analisi alle componenti indipendenti come strumento per la rimozione degli artefatti ha un'importante limitazione: la rilevazione delle componenti indipendenti associate ad artefatti richiede tempo e coinvolge anche decisioni soggettive. Sono stati fatti diversi tentativi per cercare di guidare la classificazione delle componenti indipendenti utilizzando un numero di misure adeguato per discriminare le componenti artefattuali da quelle non artefattuali sia nel dominio nel tempo che nel dominio dello spazio.

Vediamo, adesso, tre plug-in che ho nello specifico preso in considerazione: SASICA, MARA e ADJUST.

4.7 SASICA

SASICA computa un numero di misurazioni sulle topografie di componenti indipendenti e marca quelle che devono essere rigettate. Ciascuna misura può essere attivata o disattivata e le soglie possono essere adattate in base alle richieste di un particolare dataset o un particolare studio. Dopo la computazione, ogni misura o metodo è caratterizzata dal colore rosso che è usato per marcare determinate componenti come artefatti. SASICA si basa su 6 misure:

- $n=1,2,\dots,N$ indica lo specifico canale (N è il numero di canali nel dataset);
- $c=1,2,\dots,C$ indica la specifica componente (C è il numero di componenti nel dataset);
- $k=1,2,\dots,K$ indica uno specifico esperimento (K è il numero di esperimenti);
- $t=1,2,\dots,T$ indica lo specifico tempo di campionamento (T è il numero di istanti presenti in ogni esperimento);

- $x(n,k,t)$ o $x(c,k,t)$: segnale EEG al canale n o alla componenti c , con l'esperimento k e al tempo t ;
- $W_c(n)$: peso inverso del canale n nella componente c ;
- $Z_j(x)$: z-score di x lungo la dimensione J (canali, tempo o esperimenti).

Per ciascuna di queste misurazioni presentate, viene settata una soglia per la rimozione. SASICA permette di inserire sia una soglia assoluta dall'utente, sia una soglia che si adatta e che seleziona le componenti il cui valore in una data misurazione va oltre il numero delle deviazioni standard della media di tutte le componenti per quel dataset. Per la maggior parte delle misurazioni, viene settata la soglia di default pari a 2 per le deviazioni standard. Per le misure di correlazione fra i canali, è raccomandata una soglia più conservativa pari a 4.

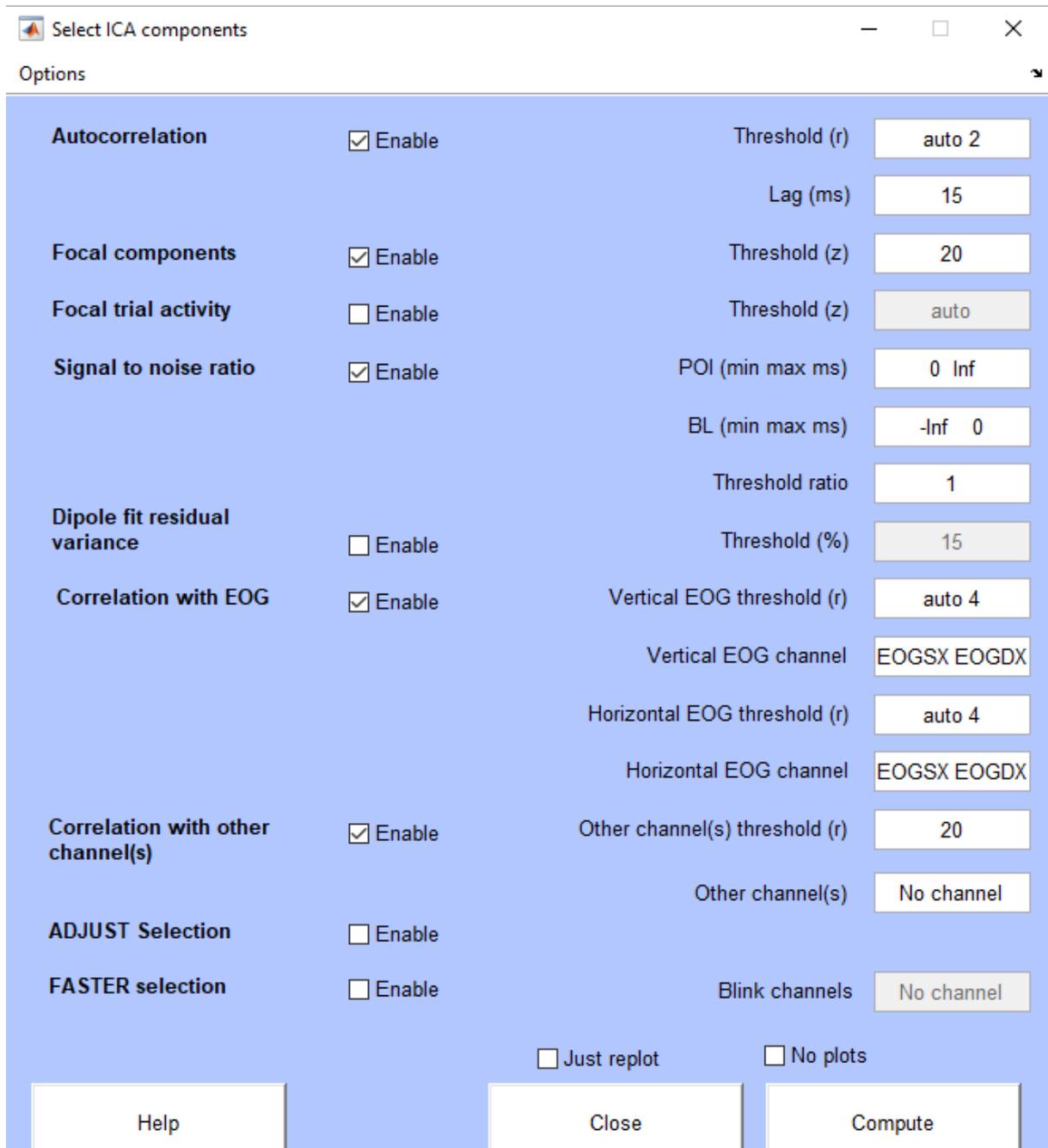


Figura 23: GUI di SASICA con le soglie da impostare, attraverso questa finestra operativa possiamo scegliere il metodo o i metodi da utilizzare per selezionare le componenti. Quando si clicca sul pulsante “Compute”, il plug-in computa tutti i metodi che sono stati attivati sul dataset che è stato importato e mostra i risultati in successive finestre operative.

4.7.1 Autocorrelazione

Le componenti che riflettono l'attività cerebrale sono solitamente fortemente autocorrelate. Questo significa che il livello del segnale in una componente in qualsiasi punto del tempo solitamente è correlata con il segnale della stessa componente qualche millisecondo prima. Al contrario, le componenti rumorose come quelle muscolari, tendono a mostrare una bassa autocorrelazione. Computare l'autocorrelazione di ciascun componente è un modo per evidenziare un'eventuale rimozione se il valore di autocorrelazione è al di sotto di una specifica soglia. L'autocorrelazione è definita come un ritardo "l" per una componente "c" attraverso la seguente legge:

$$A_c = \sum_{t=l}^T x_c(t) \times x_c(t - l)$$

Solitamente il ritardo è settato a 20 milli secondi, grazie al quale si riesce a mostrare la migliore corrispondenza fra le classificazioni effettuate da esperti nei dataset.

4.7.2 Focal topography

Le componenti che riflettono l'attività neurale raramente coinvolgono un solo elettrodo. Le componenti che hanno maggior peso solo su un elettrodo sono quelle che maggiormente riflettono artefatti, piuttosto che attività cerebrale. Questa misura si effettua computando lo z-score del peso inverso dell'analisi ai componenti indipendenti tra i canali. Le componenti che hanno un canale il cui peso massimo assoluto supera la soglia sono considerate focali. La misura focale della componente "c" è data da:

$$F_c = \max_n \left(Z_N(W_c(n)) \right)$$

dove la quantità tra parentesi denota il massimo tra i canali.

4.7.3 Focal trial activity

Gli artefatti possono presentarsi con una grande ampiezza, ma in rare occasioni. Quindi bisogna applicare una strategia che riesca a scovare eventi rari, allora, piuttosto che misurare lo z-score dei pesi inversi delle componenti indipendenti tra i canali, possiamo computare lo z-score di un range di attività tra le componenti indipendenti fra differenti esperimenti. Le componenti che hanno delle prove che sono superiori alla soglia sono considerate focal trial activity. Essa è espressa come segue:

$$FT_c = \max_k \left(Z_K \left(\max_t (x(c, k, t)) - \min_t (x(c, k, t)) \right) \right)$$

Dove max(k) e max(t) indicano rispettivamente il massimo fra gli esperimenti e il massimo nel tempo.

4.7.4 Correlazione tra i canali

I canali che sono fortemente contaminati da artefatti possono essere spesso identificati prima degli altri, per come appaiono sul tracciato. Spesso questi artefatti sono catturati in una singola componente della soluzione derivante da ICA e questa componente è altamente correlata con il canale in questione. Misuriamo la correlazione di specifici canali con tutte le componenti e settiamo

una soglia per la rimozione. SASICA riesce ad utilizzare tre tipi di canali per computare la correlazione fra componenti indipendenti. Ha due campi per l'EOG verticale e orizzontale e un campo per i "bad channels". Se vengono inseriti due canali per l'EOG verticale e orizzontale, automaticamente sarà computata la differenza fra quei canali. Questo serve ad incrementare il rapporto del rumore del segnale prima di effettuare la correlazione con le componenti indipendenti.

Misure aggiuntive che vengono utilizzate per selezionare componenti, sia per la rimozione ma anche per il processamento del segnale stesso sono: "weak signal to noise ratio" ed "high residual variance of dipole model".

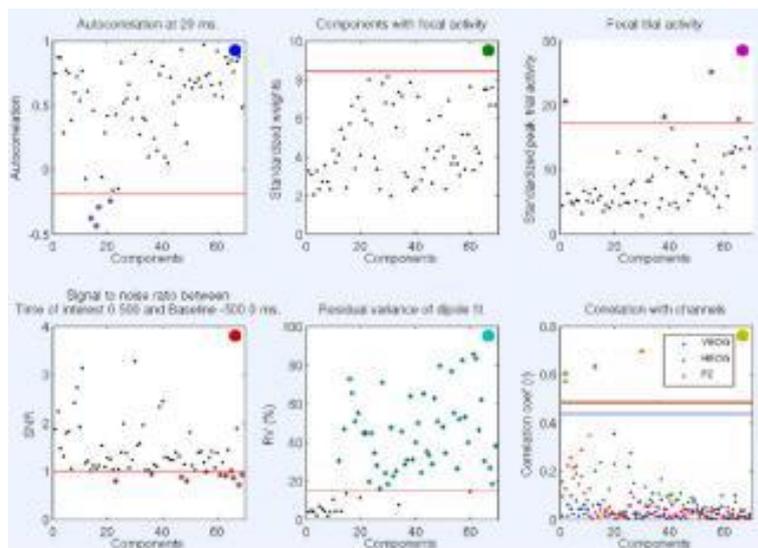


Figura 24: soglie individuate da SASICA. La soglia di selezione è mostrata nella linea rossa presente in ciascun pannello e ogni componente che supera la soglia è evidenziata attraverso un colore specifico, rispetto alla misura che si sta considerando. Se si clicca su qualunque punto della finestra, si apre una finestra che mostra in maniera dettagliata le proprietà delle componenti.

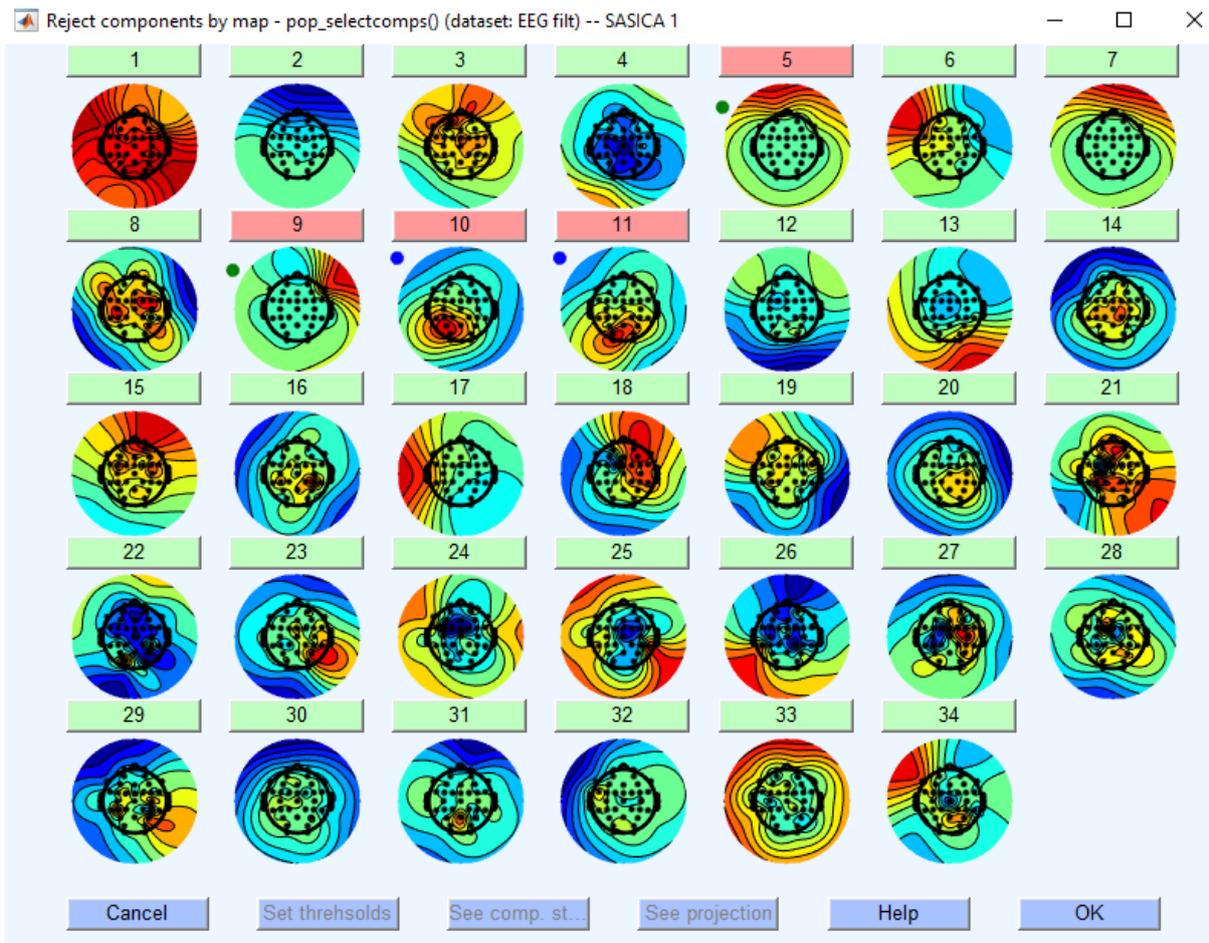


Figura 25: rappresentazione delle mappe topografiche di SASICA; in rosso sono evidenziate le componenti individuate come artefatti, in verde le restanti. Si possono notare i punti colorati che indicano quali delle misurazioni computate hanno oltrepassato la soglia.

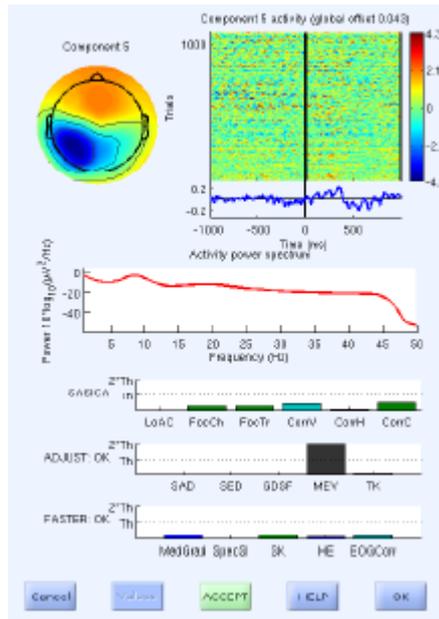


Figura 26: tutte le proprietà e le misure possono essere riassunte in finestre individuali. Tutte le misure sono scalate in modo che una colonna più ampia sta a significare che la misurazione starà più probabilmente ad indicare una componente da rigettare.

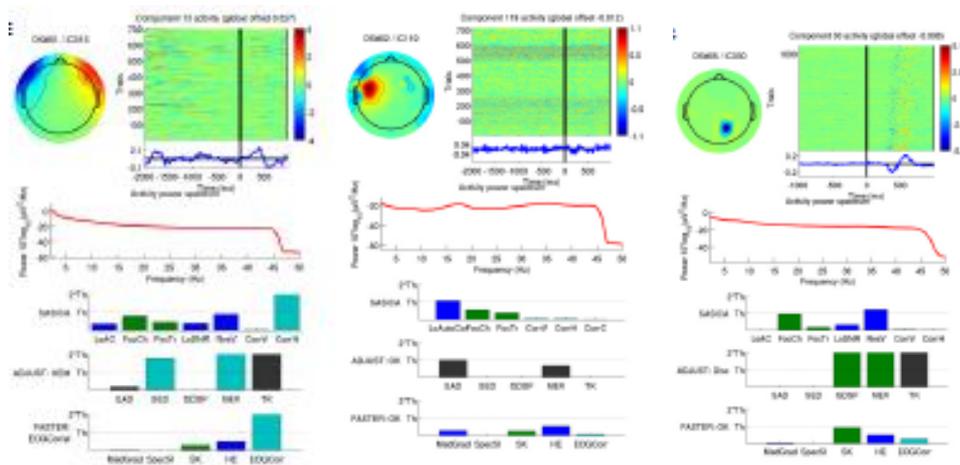


Figura 27: da sinistra sono mostrati alcuni esempi in cui si mostra come SASICA riconosca componenti artefattuali, rispettivamente, che derivano da movimenti oculari, muscolari e dall'elettrodo.

4.8 MARA

La rimozione dei canali attraverso l'analisi ai componenti indipendenti è basata sull'idea che le componenti artefattuali e l'attività neuronale sono generate indipendentemente. Il segnale EEG è decomposto in componenti indipendenti nella speranza che le componenti artefattuali possano essere separate dal segnale derivante dal cervello. Lo scopo del plug-in MARA è quello di identificare le componenti che sono maggiormente contaminate da artefatti, in modo da poter poi ricostruire il segnale EEG senza di esse. MARA realizza una classificazione automatica delle componenti indipendenti attraverso un classificatore lineare precedentemente preparato. Si basa su sei criteri che sono stati determinati attraverso una selezione delle caratteristiche. Una caratteristica mira a localizzare le anomalie che ci sono nel tempo, tre caratteristiche sono estratte dallo spettro e due caratteristiche estraggono l'informazione dalla mappa dello scalpo di una componente indipendente.

- Current Density Norm: l'analisi alle componenti indipendenti, da sola, non dà informazioni circa la localizzazione delle componenti indipendenti. In ogni caso la mappa dello scalpo può essere interpretata come potenziali EEG per i quali può essere stimata, appunto, la localizzazione di ogni sorgente. MARA considera 2142 locazioni organizzate in uno spazio di 1 cm disposte in una griglia 3D e cerca la distribuzione della sorgente con una norma minima "l2". Poiché la distribuzione della sorgente può modellare solo sorgenti cerebrali, è naturale che gli artefatti originati dall'esterno del cervello possono essere modellizzati solo attraverso sorgenti più complicate. Queste sono caratterizzate da una norma l2 più grande.

- Range Within Pattern: questo è il logaritmo che si basa della differenza tra l'attivazione minima e massima sullo scalpo.
- Mean Local Skewness: questa è la media assoluta locale dell'asimmetria in intervalli di tempo di 15 secondi. Questa caratteristica mira a trovare anomalie nel dominio del tempo.
- λ e Fit Error: queste due caratteristiche descrivono la deviazione dello spettro di una componente da una curva tipica $1/f$ e dalla sua forma.
- 8-13 Hz: questa è la banda media di potenza. Questa caratteristica mira a decretare il tipico picco alfa in componenti di origine neurale.

Per far partire il plug-in MARA, si va in Tools, poi IC Artifact Classification (MARA), poi MARA Classification:

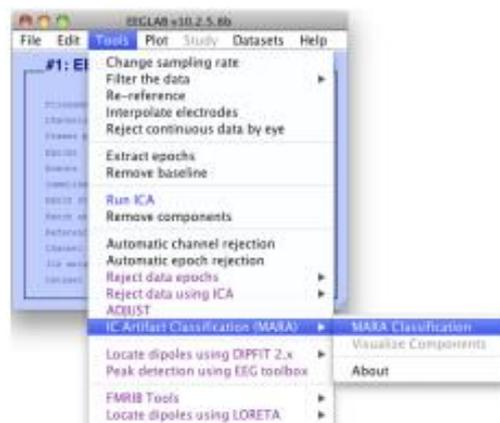


Figura 28: Menù a tendina di EEGLAB

Si apre a quel punto una GUI come quella che segue:



Figura 29: pop-up window interattiva del plugin MARA

Se il segnale non è stato precedentemente processato o non è stata ancora effettuata l'analisi alle componenti indipendenti, si può allora selezionare una di queste funzioni da questa finestra. Successivamente MARA offre tre differenti opzioni:

- L'opzione di default è di utilizzare MARA solo per marcare le componenti da rimuovere. In questo caso, però, le componenti non verranno né rimosse né visualizzate. A quel punto si devono utilizzare altre funzioni di EEGLAB per approfondire l'investigazione.
- Se invece si clicca su "Plot and select components for removal", MARA provvede ad una propria visualizzazione delle componenti indipendenti che permette anche di modificare eventualmente la classificazione. Neanche in questo caso le componenti saranno rimosse automaticamente.
- Infine, se si clicca su "Automatically remove components", si accetta automaticamente la scelta di MARA che procederà a rimuovere alcune componenti.

Quando si sceglie di visualizzare le componenti, si apre una finestra come quella che segue, in cui le componenti selezionate per la rimozione sono marcate di rosso:

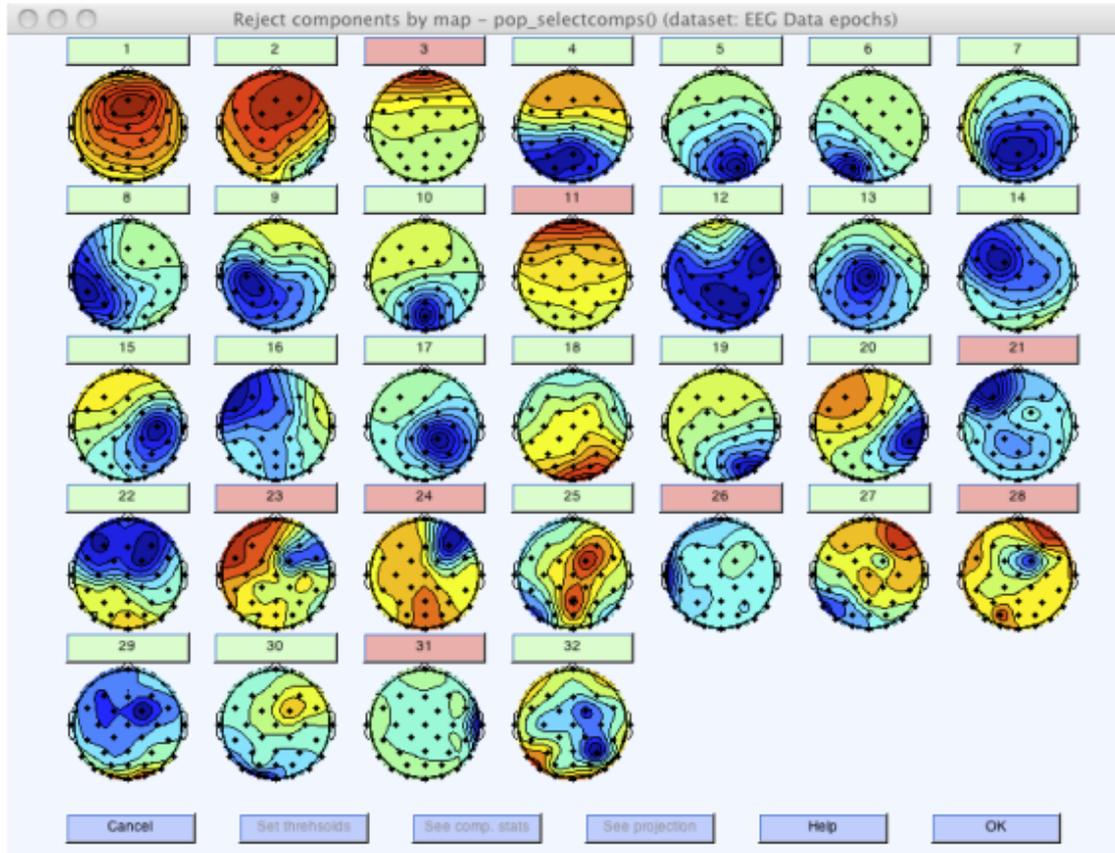


Figura 30: rappresentazione delle mappe topografiche di MARA; in rosso sono evidenziate le componenti individuate come artefatti, in verde le restanti.

A questo punto si può decidere di plottare le proprietà di ciascuna componente e cambiare il suo stato (Accept/Reject), cliccando sul pulsante rettangolare presente:

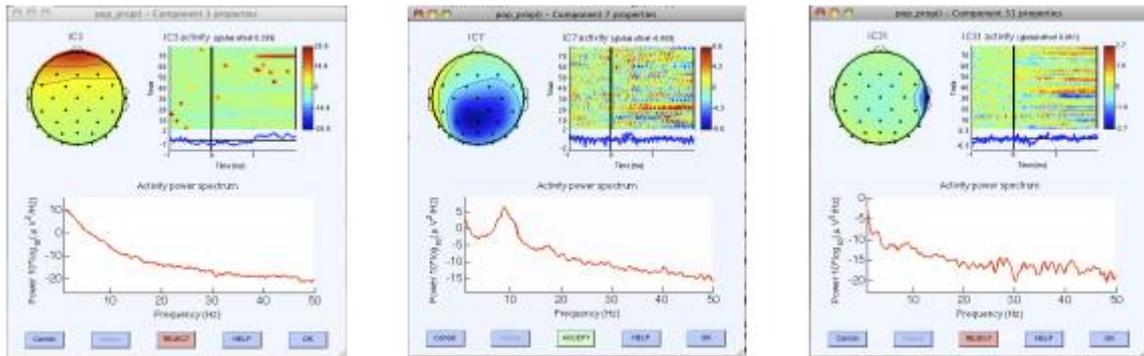


Figure 31: esempi di mappe topografiche e dello spettro di potenza dei canali IC3, IC7 e IC31 presi ad esempio.

Ad esempio, IC3, a sinistra, rappresenta un tipico artefatto oculare, infatti notiamo una forte attività frontale e un ripido spettro di potenza; IC7, invece, nel mezzo, rappresenta una componente neurale con un picco alfa attorno ai 10 Hz e dalla mappa si evince una sorgente cerebrale occipitale; infine, IC31, a destra, è un tipico artefatto muscolare.

A scopo informativo, le finestre che mostrano per ciascuna componente le sei caratteristiche su cui si basa la classificazione di MARA sono mostrate di seguito:



Figura 32: interfaccia grafica che mostra i parametri di classificazione su cui si basa MARA

Le caratteristiche che contribuiscono a reputare una componente come un artefatto vengono plottate in rosso, quelle che indicano, invece, attività cerebrale sono marcate in blu.

4.9 ADJUST

ADJUST è un algoritmo completamente automatico che identifica componenti indipendenti artefattuali combinando specifici artefatti spaziali e caratteristiche temporali. I criteri sono stati ottimizzati per catturare movimenti oculari e generiche discontinuità in un dataset. La classificazione che effettua ADJUST delle componenti indipendenti si unisce a quella manuale che può essere effettuata da un esperto e la rimozione delle componenti artefattuali evidenziate da ADJUST porta ad una netta ricostruzione dei potenziali visivi e auditori event-related. Questi risultati dimostrano che ADJUST fornisce un veloce, efficiente ed automatico metodo che si basa sull'utilizzo dell'analisi ai componenti indipendenti per la rimozione degli artefatti. Questo metodo si basa sulla regressione dei segnali artefattuali, tipicamente registrati vicino agli occhi, rispetto all'intero segnale EEG con un modello di propagazione dell'artefatto, sia nel dominio del tempo che della frequenza. A causa, però, del fatto che l'EEG e l'attività oculare si uniscono in modo bidirezionale, la regressione degli artefatti oculari inevitabilmente porta alla rimozione di una rilevante porzione di segnali neurali da ciascuna registrazione, così come attività oculare. L'acronimo ADJUST sta per "Automatic EEG Artifact Detection Based on the Joint Use of Spatial and Temporal features"; questo plug-in automaticamente modella i suoi parametri rispetto al segnale in modo da computare l'insieme di caratteristiche spaziali e temporali relative agli artefatti di cui si ha bisogno per la classificazione delle componenti indipendenti, senza informazioni aggiuntive. Il primo passo di

ADJUST consiste nella decomposizione del segnale EEG in componenti indipendenti. Vengono considerate quattro classi di artefatti: tre classi sono relative agli artefatti oculari ed una generica classe è deputata a catturare attività anomala registrata dai singoli elettrodi dovuta all'alta impedenza o alle instabilità elettriche del dispositivo. Per ciascuna delle quattro classi di artefatti, è stato implementato un rivelatore che computa un insieme specifico di caratteristiche spaziali e temporali tra tutte le componenti indipendenti. Per ciascuna, è stata stimata una soglia che divide gli artefatti dai "non-artefatti" su tutto l'insieme di componenti in un modo completamente automatico. Per ogni rivelatore, le componenti indipendenti sono classificate come artefatti se tutte le caratteristiche sia spaziali che temporali di uno specifico artefatto appartenente a quel rivelatore eccedono il loro rispettivo valore di soglia. Le caratteristiche spaziali e temporali di ADJUST sono state ottimizzate in un dataset di EEG basato su una "feature selection". Poi ADJUST è stato validato con un dataset di validazione attraverso un differente sistema EEG in un laboratorio diverso e con un paradigma nuovo in relazione al dataset di selezione. La validazione consta di tre passi: in primo luogo, la classificazione di ADJUST è stata effettuata comparandola ad una classificazione manuale realizzata da tre esperti indipendenti; in secondo luogo, è stato convalidato il vantaggio di utilizzare una combinazione di caratteristiche; infine, è stata valutata la performance del plugin nella pulizia della topografia del segnale ERP affetto da artefatti comparando gli ERP in seguito alla correzione di ADJUST con quelli ottenuti da dati non soggetti a correzione e con quelli ancora ottenuti mediante classificazione automatica degli esperti.

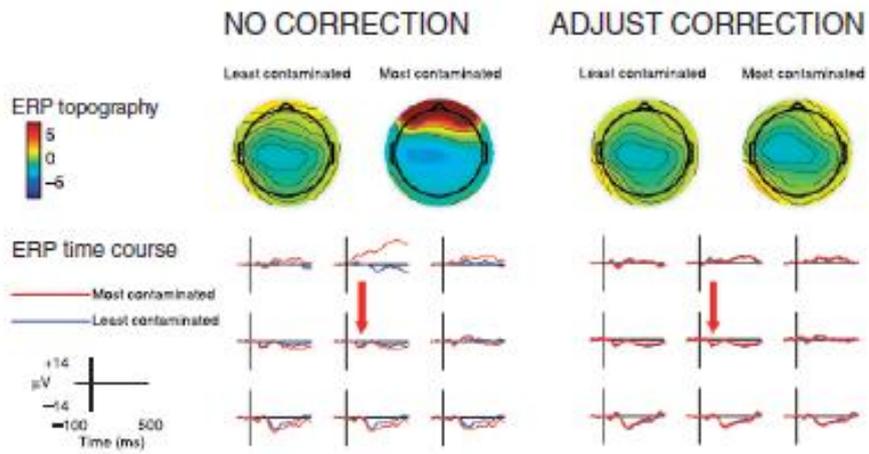


Figura 33: esempio di topografie e andamento nel tempo dell' ERP prima e dopo la correzione del plug-in ADJUST

Capitolo 5

5.1 Risultati

La principale problematica comune a diversi studi su segnali EEG è che l'attività causata da artefatti ha tipicamente un'ampiezza maggiore rispetto a quella cerebrale. Tipicamente per ricavare un ERP, il segnale viene diviso in epoche bloccate nel tempo rispetto allo stimolo e gli artefatti sono rimossi considerando e scartando, quindi, quelle epoche in cui l'attività registrata dall'EEG supera certe soglie predefinite, sia in specifici elettrodi, come ad esempio quelli oculari, sia su tutti gli elettrodi posizionati sullo scalpo. In questo modo, un ERP libero da artefatti può essere ottenuto facendo la media del segnale sulle epoche che sono rimaste, in modo che si incrementi il rapporto segnale rumore. In ogni caso però, questa procedura risulta complicata quando sono disponibili solo poche epoche o quando gli artefatti sono davvero frequenti, soprattutto negli studi che coinvolgono i bambini o i pazienti. Inoltre, essa è inapplicabile negli studi che si focalizzano su attività lenta che deriva dal segnale EEG continuo, ad esempio oscillazioni cerebrali lente o correlazioni temporali lunghe. Procedure alternative consistono nel modellare i segnali generati da movimenti oculari e rimuoverli dal segnale, cercando di preservare l'attività restante.

Il presente capitolo ha lo scopo di ripercorrere il percorso di studio per l'analisi degli artefatti che ho portato avanti durante il mio progetto di tesi. Sono partita effettuando l'analisi ai componenti indipendenti e cercando fra i diversi plugin disponibili, quale mi desse migliori risultati. Solitamente, nella prima fase di correzione, procedevo alla rimozione del canale o dei canali maggiormente rumorosi. EEGLAB offre un metodo di rimozione automatica dei canali, tramite

“Tools” -> “Automatic Channel Rejection”. Attraverso MRCPLAB, invece, è stato implementato un algoritmo che decreta, in primo luogo, i canali plausibilmente da eliminare, tramite “Seek Noisy Channel” e, successivamente, l’utente può confermare la loro eliminazione, tramite “Select or Reject Data”. Questo pulsante, in realtà, permette di fare diverse cose, tra cui appunto la rimozione del canale, precedentemente discriminato.

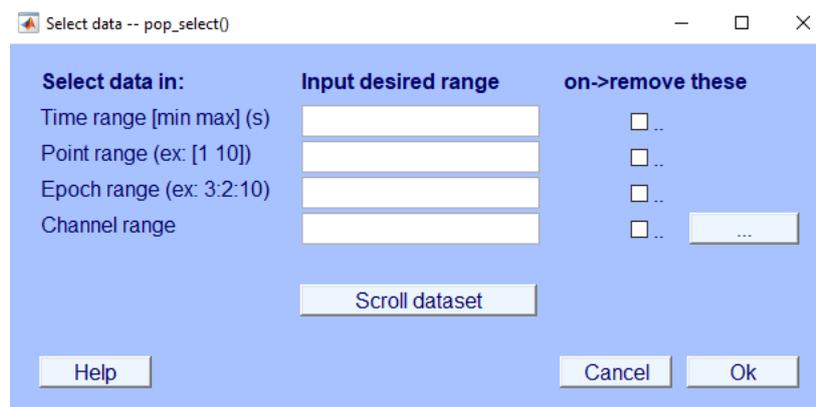


Figura 34: GUI di “Select or Reject Data”

Una volta superato questo step, procedo all’avvio dell’analisi ai componenti indipendenti tramite “Run ICA”. A questo punto inizio le prove con i diversi plugin; consideriamo ora il dataset GO862071 semivolontario.

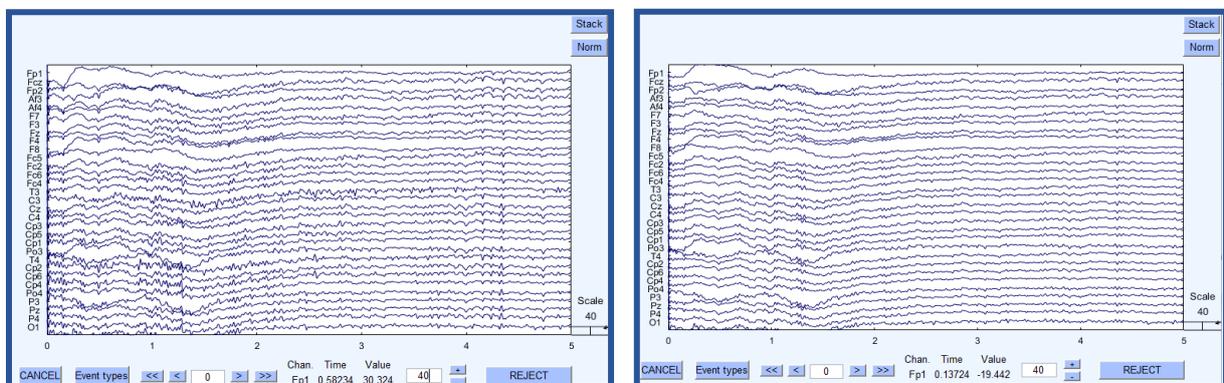


Figure 35: Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato “Automatic Artifact Rejection (AAR)”

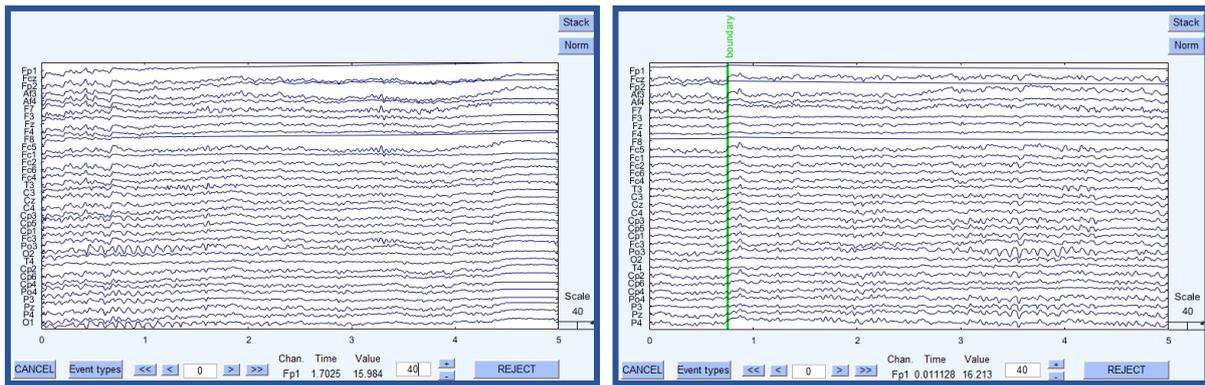


Figure 36: Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato il plugin “IC Label (Independent Component)”

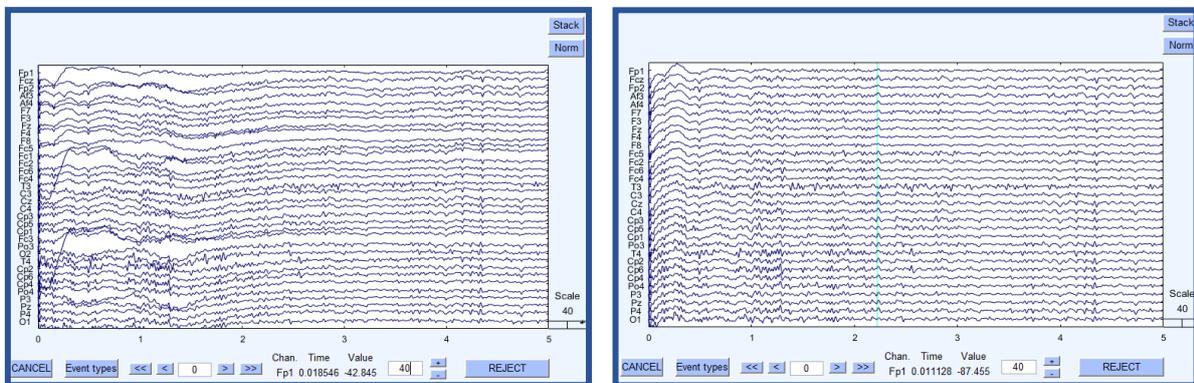


Figure 37: Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato il plugin “MARA (Multiple Artifact Rejection Analysis)”

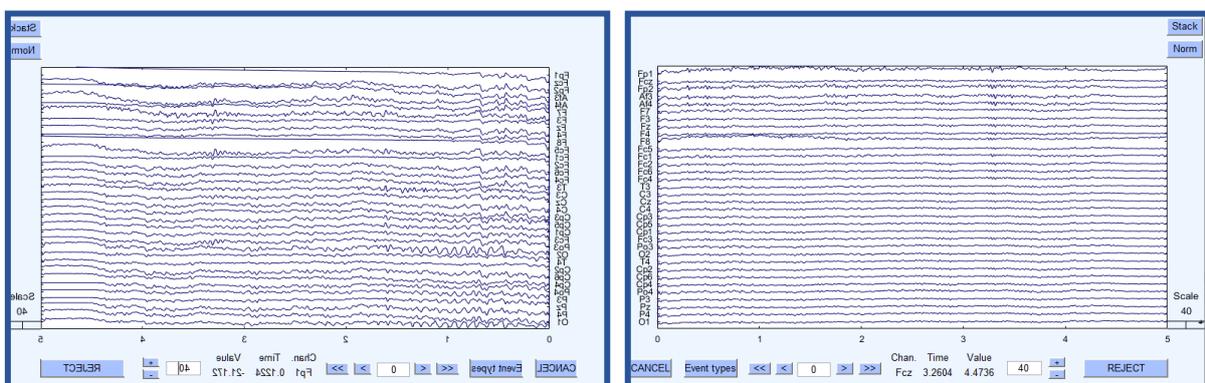


Figure 38: Channel Data Scroll di una finestra temporale che va da 0 a 5 secondi, prima e dopo aver applicato il plugin “SASICA (Semi-Automated Selection of Independent Components of the electroencephalogram for Artifact correction)”

Quello che però, ad una vista poco scrupolosa e veloce, può sembrare un netto miglioramento del segnale, si traduce, invece, in uno stravolgimento dello stesso, che appare quasi identico su tutti i canali, situazione praticamente molto poco realistica. Ho deciso, a questo punto, di proseguire nel mio studio solo con l'utilizzo dei plug-in MARA e SASICA, che mi sono sembrati essere quelli più promettenti. Ho iniziato con il diversificare le varie soglie preimpostate, con lo scopo di ottenere un risultato migliore ma mi sono ben presto resa conto che, in realtà, non esiste una scelta universale che si possa attuare e che sia valida per tutti i dataset, ma che le soglie e i criteri di valutazione per la rimozione e la correzione degli artefatti variano da segnale a segnale.

Da questo momento in poi ho iniziato a valutare i dataset attraverso la divisione in epoche e la visualizzazione delle stesse, con lo scopo di riuscire a capire quali possono essere considerate "buone" e quali debbano essere scartate, in seguito ad ispezione visiva. Quindi importo il dataset in EEGLAB, effettuo "Epoch Operation", che divide il segnale in epoche; mi posiziono, allora, sul dataset corretto e a quel punto posso far eseguire il codice che, dopo aver diviso il segnale in epoche e aver decretato quelle da eliminare, somma e fa la media di quelle buone, in modo da ottenere un ERP solo di epoche non contaminate da troppi artefatti. Vado così a valutare gli ERP sui differenti canali. Posso poi considerare di applicare il plug-in in continua solo sulle epoche che ho deciso di scartare perché ritenute troppo contaminate da artefatti. Dal momento il segnale ERP, come precedentemente detto, interessa la corteccia sensoriale-motoria, incluse le aree motorie e premotorie, in corrispondenza del lobo frontale e della corteccia somatosensoriale e del lobo parietale, vengono utilizzati solo sette canali: Cz, C3, C4 per l'area motoria; Fcz, Fc3, Fc4 per l'area premotoria; Pz per l'area somatosensoriale. Più in avanti nel mio lavoro, ho valutato esclusivamente gli elettrodi centrali e quelli sinistri, in base al fatto che

durante gli esperimenti è stato rilevato il segnale EMG relativo al movimento dell'indice destro (quindi considero solo elettrodi posizionati sull'emisfero opposto, o al più quelli centrali).

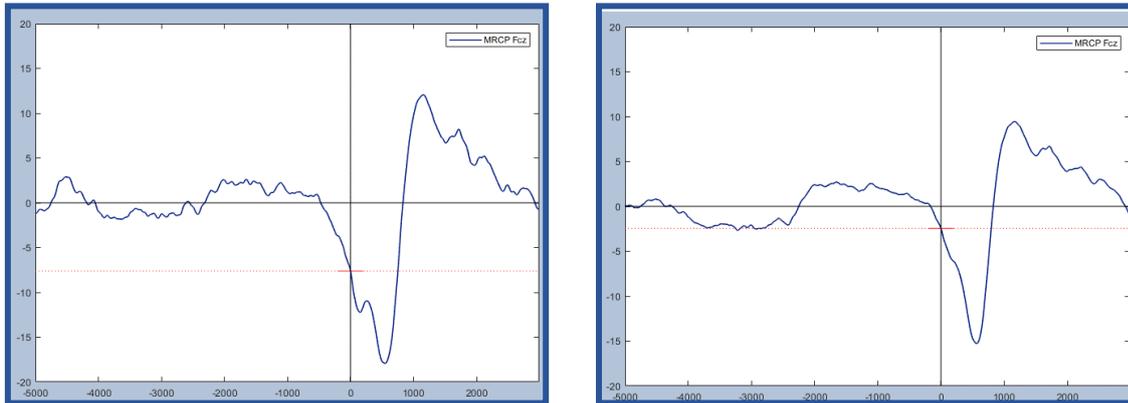


Figura 39: ERP del dataset GO862071 semivolontario sul canale Fcz prima dell'utilizzo del plugin, a sinistra, e dopo l'attuazione di SASICA, a destra. Si può notare come il plugin abbia interferito sull'ampiezza dell'ERP.

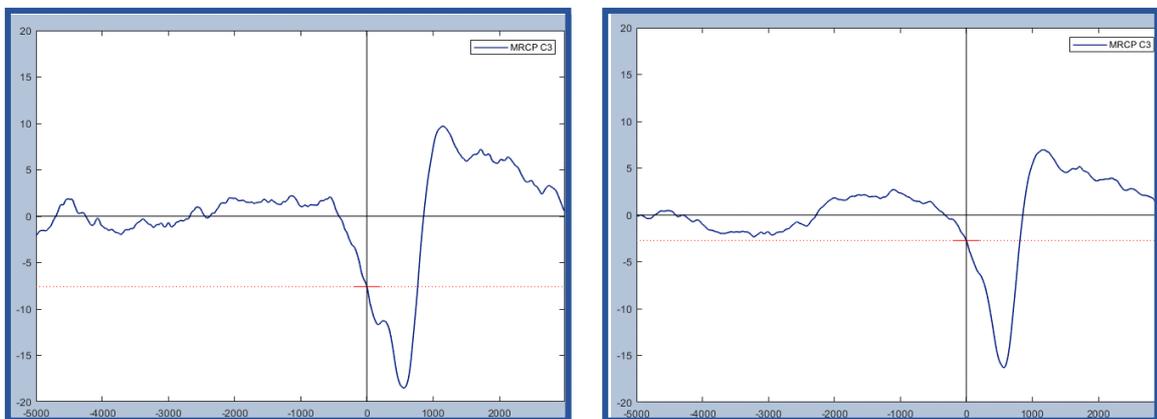


Figura 40: ERP del dataset GO862071 semivolontario sul canale C3 prima dell'utilizzo del plugin, a sinistra, e dopo l'attuazione di SASICA, a destra. In questo caso, l'ampiezza è rimasta più o meno la stessa; il plug-in ha eliminato alcune delle componenti artefattuali presenti prima dell'EMG Onset, nelle oscillazioni intorno allo zero.

Sono state poi effettuate delle prove in cui si metteva a confronto lo stesso dataset con un duplice scopo: da una parte, rimuovendo le epoche troppo contaminate, ma senza aver applicato il plugin per la rimozione degli artefatti e dall'altra, invece, senza aver rimosso le epoche troppo contaminate ma dopo aver applicato il plug-in. Ovviamente si voleva cercare di mettere in evidenza la validità del plugin, e se ciò fosse stato vero doveva essere palese che l'ERP del segnale in seguito all'utilizzo del plugin, applicato a tutte le epoche originarie, doveva essere migliore di quello in cui sono state rimosse alcune epoche, ma senza alcun utilizzo di plug-in. Ciò, però, non è mai stato vero, ad evidenza del fatto che il segnale apparirà sempre più "pulito" se si sceglie di eliminare del tutto le epoche troppo contaminate, anziché cercare di "aggiustare" lo stesso attraverso plug-in, mantenendo tutte le epoche originarie. Tutto questo ci fa concludere che l'utilizzo stesso del plugin porta con sé troppo segnale neurale fondamentale e ciò ha conseguenze negative sull'ERP.

A questo punto del lavoro ho iniziato a prendere in considerazione l'algoritmo per il jitter compensation già precedentemente implementato, il quale al suo interno ha già un suo criterio di eliminazione di epoche basato sulla cross-correlazione tra i canali. Vediamo di seguito un esempio relativo al dataset già precedentemente considerato:

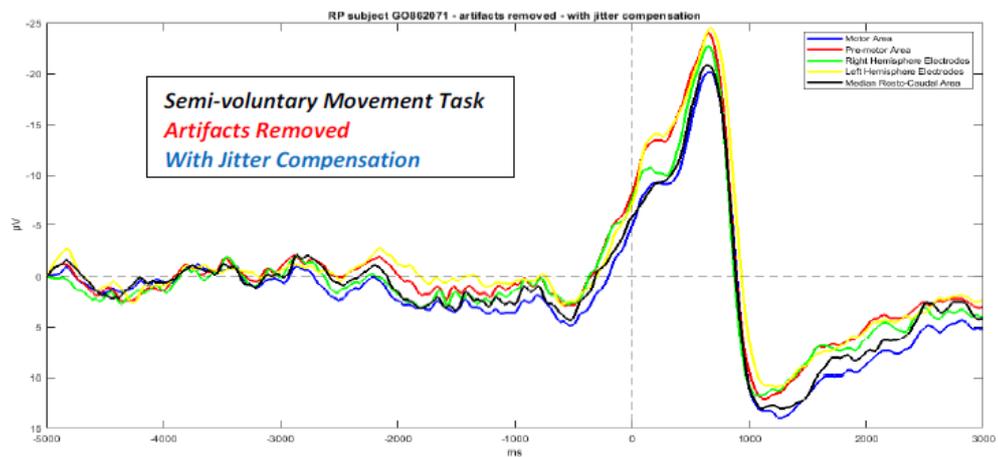
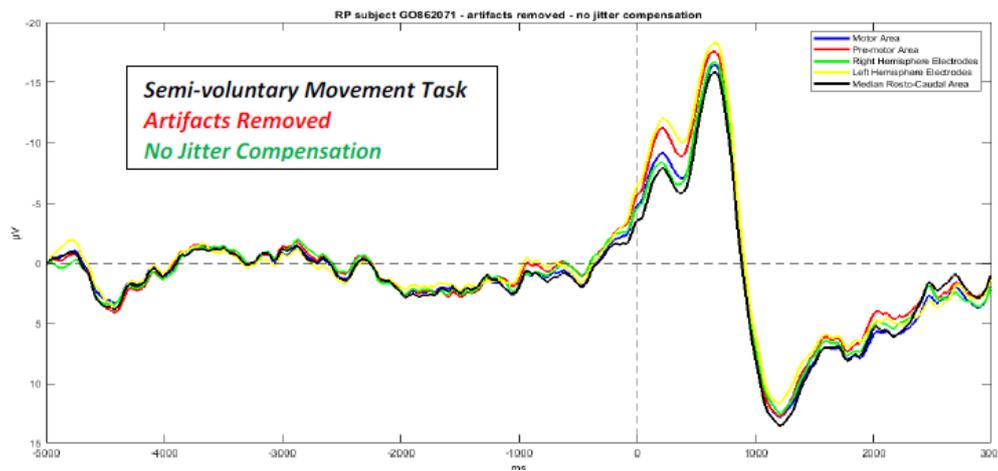
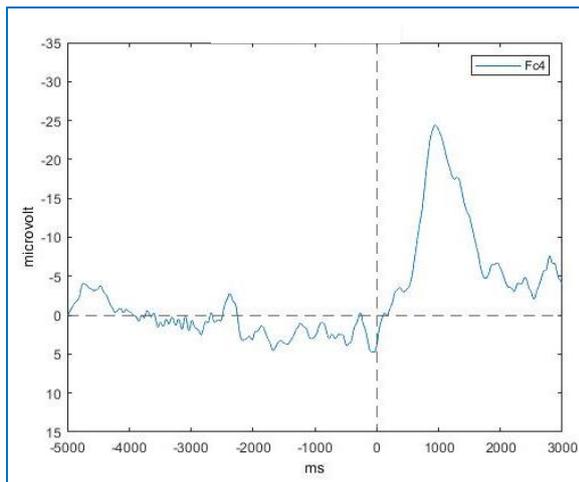
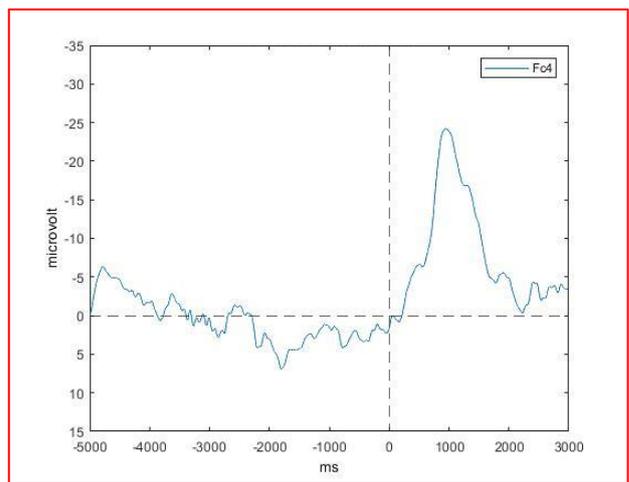


Figura 41: in alto è mostrato l'RP del dataset in questione, in seguito ad una rimozione manuale degli artefatti; in basso, l'RP è ottenuto dopo aver anche utilizzato l'algoritmo di jitter compensation

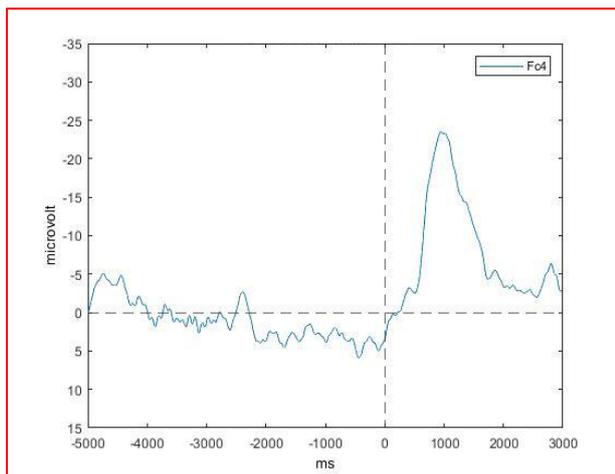
Per capire se una rimozione manuale delle epoche potesse far ottenere risultati migliori rispetto alla scelta interna all'algoritmo, ho effettuato numerose prove:



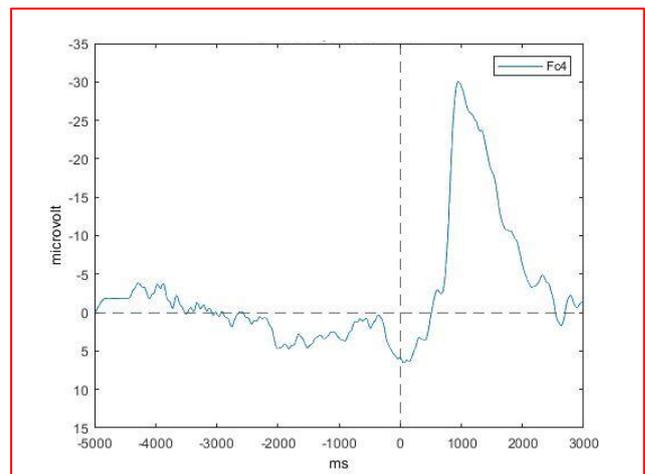
(13) -> 5, 6, 10, 12, 16, 18, 29, 30, 31,
33, 35, 38



(17) -> 5, 6, 10, 12, 16, 18, 20, 23, 25, 27, 28
29, 30, 31, 33, 35, 38



(16) -> 5, 6, 7, 10, 12, 15, 16, 18, 27, 29, 30,
31, 33, 35, 38, 39



(13) -> 5, 6, 10, 11, 12, 16, 18, 27, 31, 34,
35, 38, 39

Figura 42: nel riquadro in blu è mostrato l'RP del segnale in questione ottenuto tramite la rimozione delle epoche selezionate dall'algoritmo del jitter compensation; nello specifico esso elimina 13 epoche che sono elencate. Nei riquadri in rosso, invece, ci sono gli RP che sono stati ottenuti in seguito alla rimozione di epoche manualmente, che cambiano di prova in prova. Sono elencate le epoche rimosse per ciascun grafico, in giallo sono evidenziate le epoche scelte che differiscono rispetto a quelle scelte dall'algoritmo.

Fino a questo punto la scelta per la rimozione viene effettuata guardando epoca per epoca, tutti i canali insieme, ma focalizzandoci sugli artefatti che si trovano molto vicini all'onset. Risultati nettamente superiori ho iniziato ad averli nel momento in cui ho deciso di focalizzarmi su un canale principale, scelto in base all'RP, da me ritenuto migliore. A questo punto ho iniziato a valutare epoca per epoca ma sulla base di un solo canale, preferibilmente Fcz, Cz, Pz, C3 o Fc3. Quindi attraverso la Command Window di Matlab, visualizzo epoca per epoca sul canale scelto per quel dataset.

Plot (EEG.times, -smooth(signal_original(1,:), 100), se ad esempio sto visualizzando la prima epoca.

Effettuo così una scelta mirata all'ottenimento di un RP migliore, eliminando quelle epoche che non danno un buon contributo al segnale nel suo complesso.

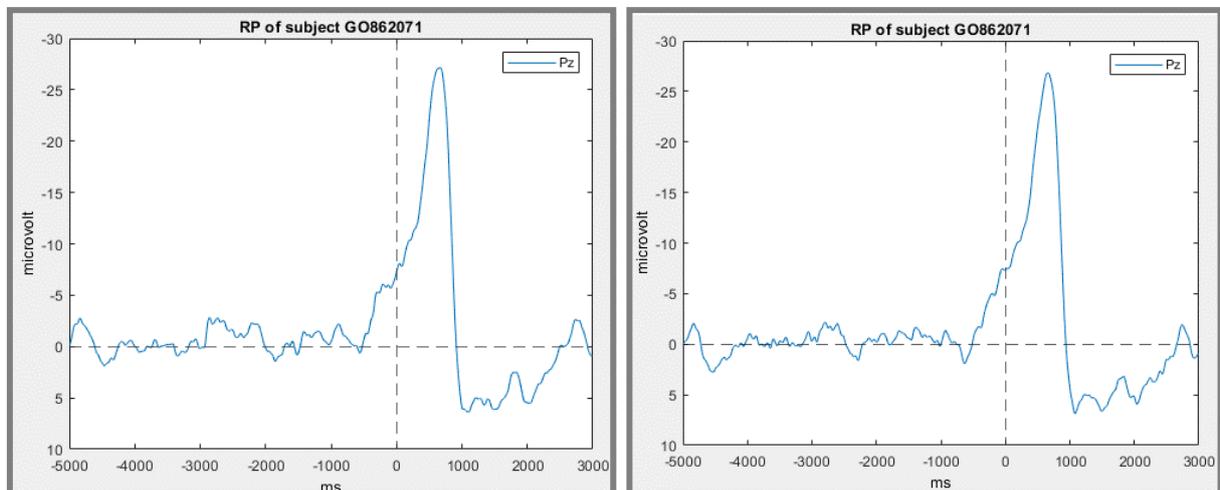


Figura 43: dataset GO862071 semivolontario con 38 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Pz. A sinistra l'algoritmo elimina le epoche: 8, 26, 34, 12, 28, 35, 3, 15, 5, 6, 29; a destra, ho scelto di eliminare le epoche: 3, 5, 6, 10, 12, 14, 15, 19, 24, 28, 29, 34, 35, 38.

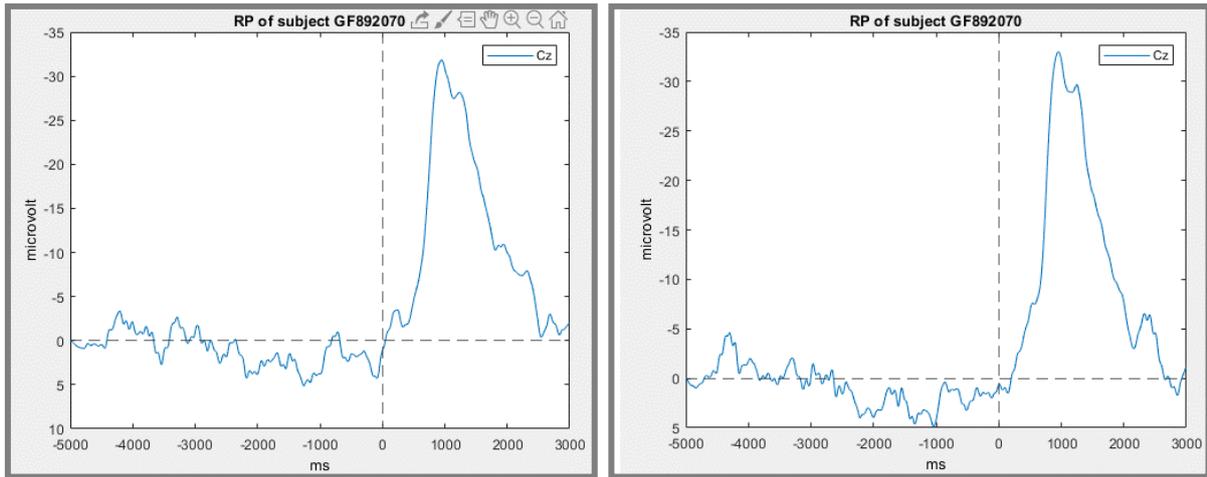


Figura 44: dataset GF892070 volontario con 39 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Cz. A sinistra, l'algoritmo elimina le seguenti epoche: 4, 7, 21, 20, 39, 27, 5, 22, 19, 13, 32, 24, 23; a destra, ho scelto di rimuovere le epoche: 3, 4, 5, 6, 9, 13, 14, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 32, 33, 39.

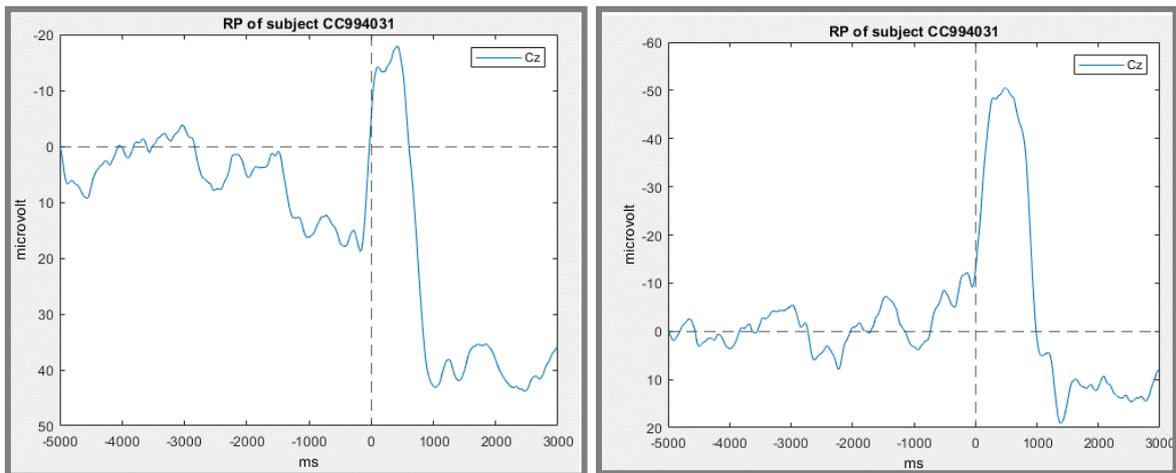


Figura 45: dataset CC994031 con 27 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Cz. A sinistra, l'algoritmo elimina le seguenti epoche: 13, 8, 21, 6, 10, 14, 17, 5, 18, 23, 24; a destra, ho scelto di rimuovere le epoche: 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 24, 27.

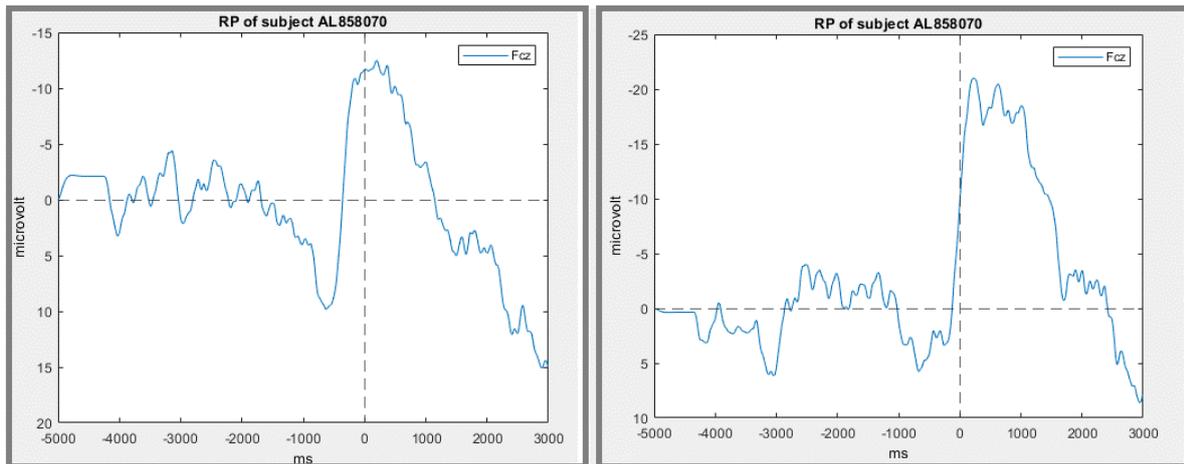


Figura 46: dataset AL85070 con 37 epoche originarie, RP ottenuto sul canale Fcz. A sinistra, l'algoritmo elimina le seguenti epoche: 19, 37, 26, 25, 2, 28, 33, 27, 12, 17, 35, 18. A destra, ho deciso di eliminare le epoche: 2, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 16, 20, 24, 25, 27, 29, 31, 32, 33, 34, 37.

Ultimo step è stato quello di valutare il rumore di un dataset sempre concentrandomi su uno specifico canale. Attraverso lo script *rumore.m*, valuto il rapporto segnale rumore e lo plotto in modo che se l'ampiezza dell'RP è paragonabile all'ampiezza del rumore stesso, posso dedurre che quel segnale è tutto inutilizzabile, quindi posso scartare il dataset. Se, invece, il rumore è di molto inferiore all'ampiezza dell'RP, allora quel dataset è buono e si evince che è stato corretto in maniera opportuna, in seguito alla rimozione delle epoche giuste, in quanto troppo contaminate da artefatti. Per ogni dataset, ho fatto tre prove: la prima considerando tutte le epoche originarie, quindi senza alcuna rimozione, la seconda considerando l'algoritmo del jitter compensation e successivamente considerando l'RP ottenuto sulla base delle mie scelte.

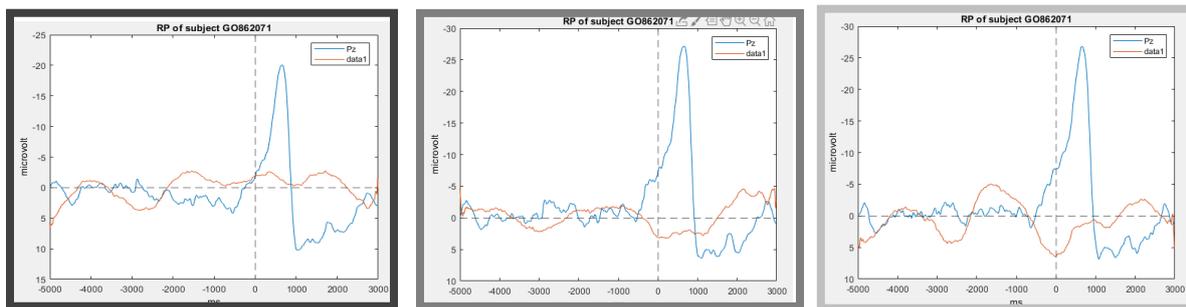


Figura 47: dataset GO2071, task semivolontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie, nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall'algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.

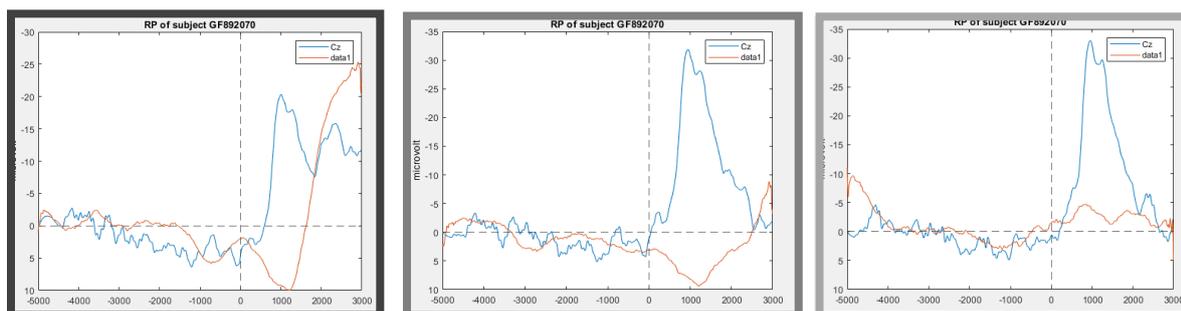


Figura 48: dataset GF892020, task volontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie, nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall'algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.

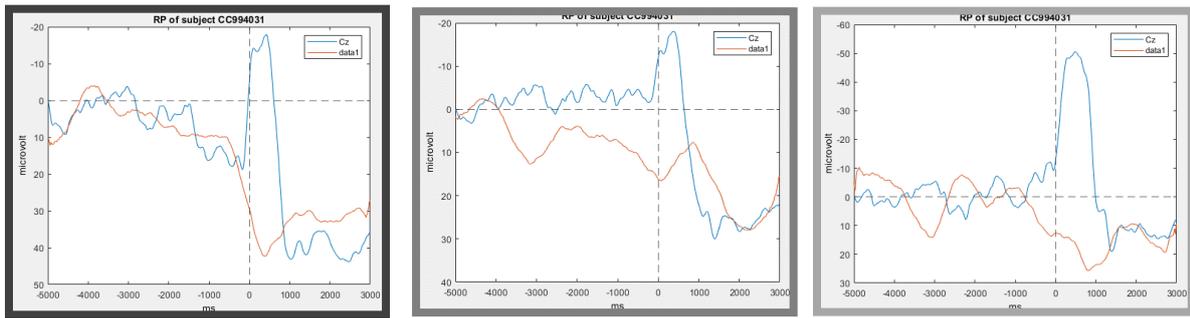


Figura 49: dataset CC994031, task semivolontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie, nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall’algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.

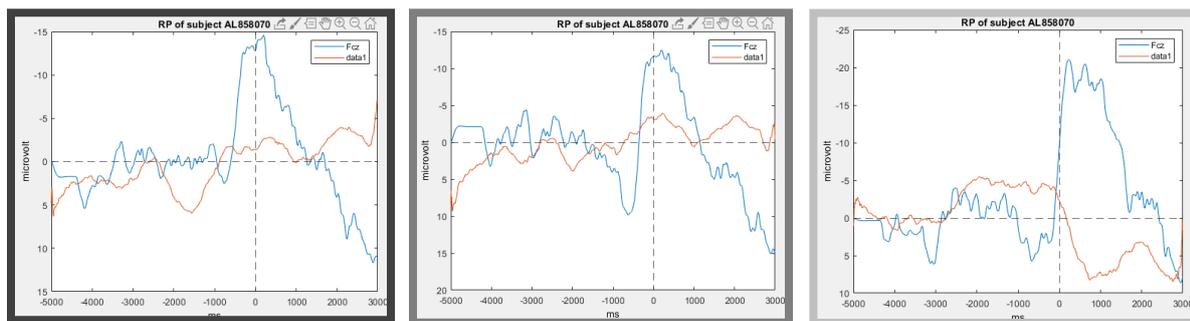


Figura 50: dataset AL858070, task semivolontario. Da sinistra a destra, sono mostrati gli RP e il rapporto segnale rumore nel caso in cui vengano utilizzate tutte le epoche originarie; nel caso in cui, si eliminano automaticamente le epoche decretate dall’algoritmo del jitter compensation e infine sulla base di una scelta manuale, tramite ispezione visiva.

Per stilare delle regole che possano essere le fondamenta per un futuro sviluppo di un algoritmo per la rimozione automatica o semiautomatica delle componenti artefattuali, mi sono focalizzata su un’ispezione visiva accurata del segnale EEG relativamente allo specifico canale, insieme con EMG ed EOG. Questo per vedere l’influenza che questi segnali hanno uno sull’altro, in termini di artefatti.

5.2 Regole per la rimozione delle epoche

- Dai grafici che si ottengono tramite “Channel Data Scroll” di EEGLAB, valutare il tracciato EEG del solo canale preso in considerazione e confrontarlo con il tracciato EMG e EOG dello stesso dataset, per capire le influenze che determinati artefatti muscolari o oculari possono avere sul mio segnale ed in particolare su quel canale. Dopo effettuare una valutazione generale con i 7 canali insieme che interessano l’RP: Cz, Fcz, Pz, C3, Fc3, C4, Fc4.
- Filtrare tra 0,1 Hz e 4 Hz, ma se i canali sembrano apparire così tutti uguali, provare senza filtro e poi dividere in epoche. I filtri sono usati per rimuovere cambiamenti di tensioni molto lenti e molto veloci.
- Se l’artefatto compare su tutti i canali, l’epoca è da eliminare tramite criteri di crosscorrelazione.
- Valutare sempre in un primo step gli artefatti oculari e se questi incidono nel tracciato EEG su tutti i canali, compreso quello che si sta considerando.
- Se l’ampiezza del picco dell’oscillazione supera i $\frac{1}{3}$ di 100 microVolt, bisogna eliminare quell’artefatto. Dalla letteratura si evince che si potrebbe arrivare ad un valore di più o meno 75 microV, ma questa soglia può andar bene solo per blink rejection. Quindi si deve valutare una soglia, a seconda del tipo di artefatto.
- Se artefatto è presente solo sui 7 canali, allora probabilmente sarà un RP. Se compare anche su tutto il resto probabilmente sarà un artefatto.
- Un’epoca con un EEG che non oscilla, ma è totalmente ascendente o discendente va eliminata.

- Andamenti lenti sono quasi sicuramente artefatti oculari da eliminare, invece oscillazioni troppo fitte non per forza causano problemi.
- Considerare una durata di oscillazione dell'EEG, cioè dallo zero allo zero nuovamente, compresa entro 0,15 secondi, o analogamente pari a 6-7 Hz. In letteratura è esplicitato un metodo detto "Moving window peak-to-peak amplitude", che definisce una durata pari a 200 milli secondi, come ampiezza della finestra temporale. L'algoritmo pone questa finestra all'inizio di ciascuna epoca e cerca la differenza fra un picco e l'altro come la massima differenza tra il maggiore fra i valori positivi e il maggiore fra i valori negativi nella finestra. La finestra è poi spostata sulla destra di una quantità definita dall'utente e viene definita una nuova ampiezza fra i picchi in questa nuova finestra. La differenza più ampia che viene ricavata, è poi comparata con la soglia definita per la rimozione degli artefatti.
- Ho riscontrato l'importanza del confronto tra EEG ed EMG e/o EOG in letteratura, ovviamente sia per quel che concerne la preparazione del paziente prima della rilevazione del segnale sia nell'analisi a posteriori per la rimozione del rumore dal segnale EEG.
- È difficile definire una soglia univoca a cui affidarsi nell'analisi per la rimozione degli artefatti, in quanto la scelta di una soglia comporta sia la quantità di artefatti rimossi che la quantità di segnale neurale che viene distorto allo stesso tempo. Una soluzione possibile è utilizzare una soglia universale proposta da Safieddine et Al., 2012 :

$$T_j = \alpha_j \sqrt{2 \ln N_j}$$

In cui N rappresenta la lunghezza del segnale, j è la stima della varianza del rumore di W_j che si calcola secondo la seguente formula:

$$\alpha_j = \frac{\text{median}(|W_j|)}{0.6745}.$$

- Valutare la presenza di RP su un sottogruppo di canali (tra cui appunto C3, C4, Pz, Fcz, Cz, Fc3, Fc4)
- Le caratteristiche comuni all'onda RP sono le seguenti: l'onda si alza lentamente verso l'alto a circa 1600 milli secondi prima dell'inizio del movimento. Il picco dell'onda compare tra circa 400 e 120 milli secondi prima del movimento e continua a decrescere dopo il movimento stesso. Utilizzando queste soglie per discriminare l'RP, si può più facilmente differenziare un artefatto, che non rispetta appunto questi criteri.
- Ci sono diversi plugin che rimuovono gli artefatti oculari sia nel dominio del tempo che della frequenza, allora se si riesce ad eliminare un artefatto oculare più facilmente, ne consegue che il riconoscimento e conseguente eliminazione degli artefatti sul canale EEG potrebbe risultare meno complesso.
- È importante indagare metodi di cross correlazione, utilizzare filtro spaziale e valutare il rapporto segnale rumore.

Per concludere il mio processo e fare delle ultime considerazioni, ho effettuato differenti prove in cui prima ho dato in input al plugin un dataset già pulito dalle epoche troppo contaminate e poi ho fatto il procedimento inverso, cioè ho attuato prima il plug-in per poter poi, successivamente, effettuare una rimozione delle epoche, che a questo punto sarà sicuramente più limitata, in quanto il plug-in ha già effettuato una prima correzione. I risultati relativi al dataset GO862071, per il task semivolontario sono visualizzati di seguito e le considerazioni sono sempre fatte sulla base di come appare l'RP.

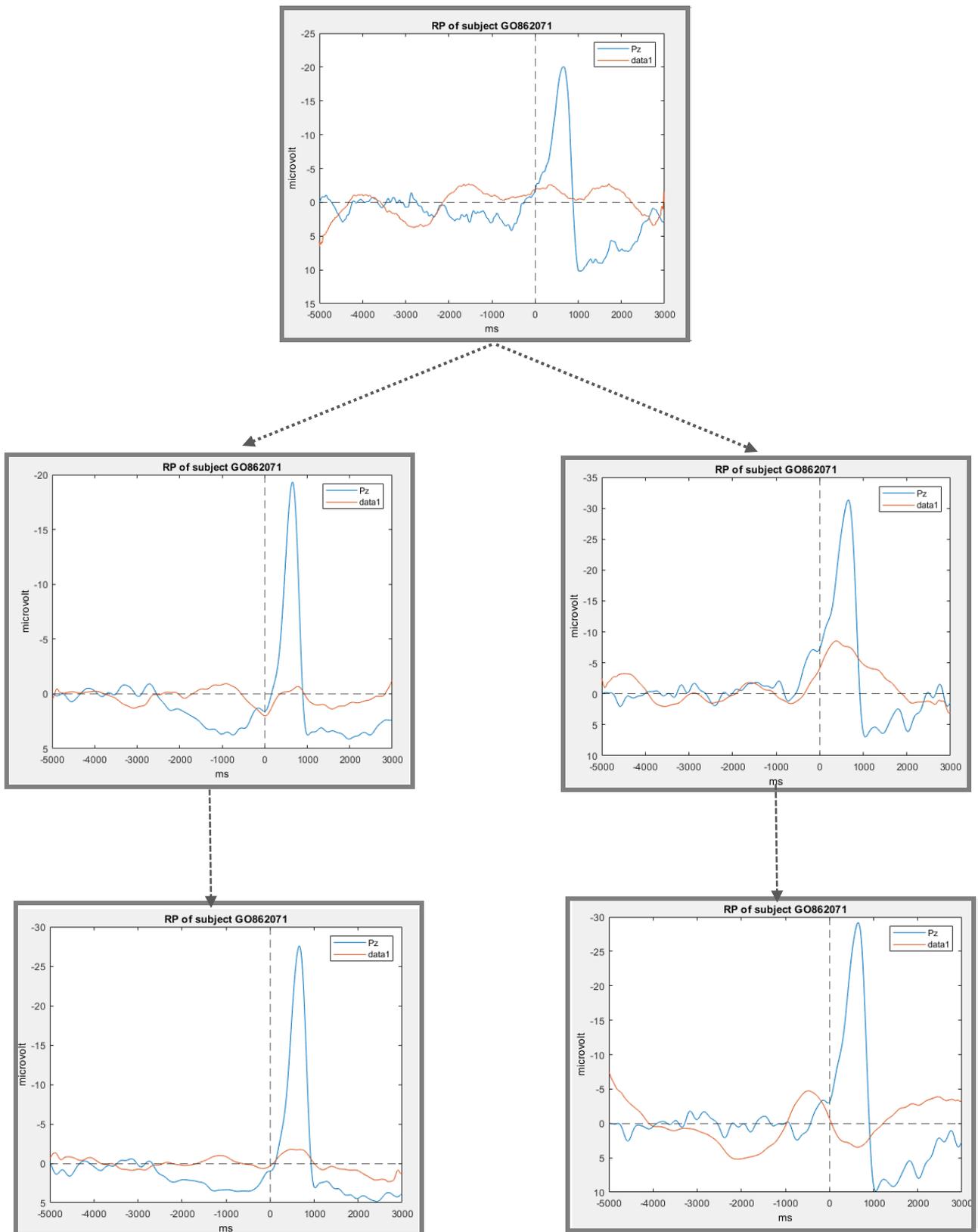


Figure 51: a partire, in alto, dallo stesso RP del segnale GO862071, semplicemente importato e diviso in epoche, a sinistra: il segnale è stato sottoposto prima a correzione degli artefatti, grazie all' utilizzo del plug-in SASICA e dopo i restanti artefatti sono stati eliminati, tramite la rimozione di opportune

epoche; a destra invece, è stato fatto il processo inverso, cioè si visualizza l'RP del segnale che prima è stato sottoposto a rimozione delle epoche troppo contaminate e dopo è stato applicato lo stesso plug-in. Risultati migliori si riscontrano nel processo di sinistra, in cui il rapporto segnale rumore è davvero basso, rispetto all'ampiezza dell'RP, in concomitanza dell'onset.

5.3 Discussione

L'applicabilità di algoritmi automatici, come i plugin precedentemente approfonditi, basati sull'analisi ai componenti indipendenti, porta a dei risultati discreti per quel che concerne la pulizia del segnale dalla presenza di artefatti ed, inoltre, velocizza anche i tempi di lavorazione per l'utente. Analizzando i risultati, è plausibile come questi metodi riescano ad identificare buona parte degli artefatti presenti, ma bisogna prestare molta attenzione al fatto che non venga denaturato il segnale stesso. Gli artefatti oculari sono quelli più facilmente riconoscibili ed eliminabili da parte degli algoritmi automatici. È di fondamentale importanza, quindi, ricorrere ad una rimozione delle epoche per perfezionare il processo, prima o dopo l'applicazione del plugin. In questo lavoro, si è effettuata una rimozione manuale delle epoche troppo rumorose e si è posta la base per un futuro sviluppo di un algoritmo automatico per la rimozione delle stesse, sulla base di differenti criteri. Si è cercato, inoltre, di mantenere almeno 15 epoche sui dataset a nostra disposizione, che sono in media dotati di 35 epoche.

Come si evince dagli ultimi grafici, il rapporto segnale rumore mostra quanto il segnale sia corrotto da rumore. In particolare, esso cresce subito dopo l'onset dell'EMG. Il dataset GO862071 del task semivolontario, che è stato maggiormente analizzato, è uno dei dataset con la forma d'onda dell'RP migliore, fra quelli a disposizione. Grazie al parametro SNR, quindi, si può evincere quanto è ampio il potere del segnale rispetto a quello del rumore.

Per quanto qualsiasi strumento automatizzato possa velocizzare i tempi di esecuzione e portare a dei miglioramenti sul segnale, è sempre opportuno integrare metodi automatici con contributi manuale da parte dell'utente sulla base di una precedente ispezione visiva. In questo modo è possibile adattare un criterio piuttosto che una soglia allo specifico segnale che si sta analizzando, attuando così un piano di rimozione degli artefatti "personalizzato", che possa portare ai migliori risultati ottenibili.

Conclusioni

Questo lavoro di tesi si basa sulla rilevazione di biosegnali in un esperimento finalizzato all'individuazione dei Readiness Potential e propone un protocollo di acquisizione. Dopo la fase sperimentale si è proceduto con lo sviluppo di un metodo per la rimozione degli artefatti, all'interno di un grande progetto, che è quello della realizzazione di una Brain Computer Interface, per pazienti non responsivi. La mia tesi fa parte di un lavoro molto ampio, iniziato nel 2012 e che oggi riesce ad andare avanti con la collaborazione del Centro Puzzle di Torino e di molte figure professionali. Riuscire a rilevare il livello di coscienza nei pazienti con un minimo errore nella diagnosi è, ancora oggi, una grande sfida.

È stato esposto, quindi, il protocollo di controllo utilizzato finora; esiste un protocollo pazienti da utilizzare sui pazienti per la registrazione del segnale EEG e la ricerca dell'RP e si continuerà ad acquisire il segnale anche su altri soggetti di controllo per ampliare il numero di dataset a disposizione per lo studio.

Nell'analisi dei dati che sono stati ottenuti durante l'attività sperimentale, si evince che è di fondamentale importanza dedicare maggiore attenzione alla fase di acquisizione, in particolare al momento del montaggio degli elettrodi, nonché fare in modo di eseguire l'esperimento nel modo più corretto possibile. Infatti quanto più si riesce a registrare un segnale pulito e privo di artefatti e di rumore, più sarà facile rilevare il segnale ERP. In questo modo, si può lavorare su dei segnali che, di base, si presentano più chiari e sarà quindi più semplice procedere all'individuazione e alla rimozione degli artefatti. Infatti, laddove non si è riusciti ad ottenere una forma d'onda canonica di un RP, la motivazione risiede proprio nel fatto che il segnale è troppo rumoroso o troppo contaminato da artefatti.

Per le acquisizioni future, quindi, si consiglia di prestare più attenzione e precisione al montaggio degli elettrodi, cercando di ottenere minimi valori di impedenza. Si deve, inoltre, fare in modo che il soggetto resti quanto più fermo possibile e non parli durante l'esecuzione, pensando anche alla deglutizione e al movimento istintivo delle palpebre, concentrandosi solo al movimento da compiere. Un passo avanti nel proseguimento di questo lavoro potrebbe essere quello di investigare il livello di coscienza in pazienti non responsivi, che si trovano in uno stato vegetativo o di minima coscienza. Il rapporto segnale rumore potrebbe indicare l'indice di coscienza perché, attraverso questo parametro, si può leggere l'intenzione di compiere un movimento all'interno del segnale stesso. Partendo dall'onset del movimento, dove c'è la maggior parte del segnale, si può dedurre quanto il soggetto è cosciente nella sua intenzione di effettuare un movimento.

Bibliografia

Posner, J. B., Saper, C.B, Schiff, N.D., & Plum, F. (2009). Stupor e coma.

Milano: Raffaello Cortina.

Giacino, J. T., Kalmar, K., & Whyte, J. (2004). The JFK Coma Recovery

Scale-Revised: measurement characteristics and diagnostic utility.

Arch Phys Med Rehabil, 85(12), 2020-2029.

Shiel, A., Horn, S. A., Wilson, B. A., Watson, M. J., Campbell, M. J.,

& McLellan, D. L. (2000). The Wessex Head Injury Matrix (WHIM)

main scale: a preliminary report on a scale to assess and monitor

patient recovery after severe head injury. Clin Rehabil, 14(4), 408-416.

Riccardo Fesce (2015), tra neuroni e coscienza: elaborazione relazionale e soggettività.

Tina Broccoli , Il cervello.

Huesing, B., Ja'ncke, L. and Tag, B. (2006), Impact Assessment

of Neuroimaging, vdf Hochschulverlag, Zuerich.

Coleman, M. R., Bekinschtein, T., Monti, M. M., Owen, A. M., & Pickard,

J. D. (2009). A multimodal approach to the assessment of patients with disorders of consciousness. *Progress in brain research*, 177,

231-248.

Owen AM, Coleman MR, Menon DK, Johnsrude IS, Rodd JM, Davis MH, et al. Residual auditory function in persistent vegetative state: a combined PET and fMRI study. *Neuropsychol Rehabil* 2005; 15: 290–306.

Sacco, K. (2013). *Le Neuroimmagini. Nuove frontiere per lo studio del cervello umano in vivo.*

Owen, Adrian M., et al. "Detecting awareness in the vegetative state" *science* 313.5792 (2006): 1402-1402

Libet, Benjamin, Elwood W. Wright, and Curtis A. Gleason. "Readiness-potentials preceding unrestricted' spontaneous' vs. pre-planned voluntary acts." *Neurophysiology of Consciousness*. Birkhäuser, Boston, MA, 1993. 229-242.

Deecke, Lüder, Peter Scheid, and Hans H. Kornhuber. "Distribution of readiness potential, pre-motion positivity, and motor potential of the human cerebral cortex preceding voluntary finger movements." *Experimental Brain Research* 7.2 (1969): 158-168.

Libet, Benjamin, et al. "Time of conscious intention to act in relation to onset of cerebral activity (readiness-potential) the unconscious initiation of a freely voluntary act." *Brain* 106.3 (1983): 623-642.

Fried, Itzhak, Roy Mukamel, and Gabriel Kreiman. "Internally generated preactivation of single neurons in human medial frontal

cortex predicts volition." *Neuron* 69.3 (2011): 548-562.

Pedersen, Jane R., et al. "Origin of human motor readiness field linked to left middle frontal gyrus by MEG and PET." *Neuroimage* 8.2 (1998): 214-220.

Coleman, M. R., Rodd, J. M., Davis, M. H., Johnsrude, I. S., Menon, D. K., Pickard, J. D., & Owen, A. M. (2007). *Do vegetative patients retain aspects of language comprehension? Evidence from fMRI*. 2494–2507.
<https://doi.org/10.1093/brain/awm170>

Giacino, J. T., & Kalmar, K. (2005). Diagnostic and prognostic guidelines for the vegetative and minimally conscious states. *Neuropsychological Rehabilitation*, 15(3–4), 166–174.
<https://doi.org/10.1080/09602010443000498>

Laureys, S., Goldman, S., Phillips, C., Van Bogaert, P., Aerts, J., Luxen, A., Franck, G., & Maquet, P. (1999). Impaired effective cortical connectivity in vegetative state: Preliminary investigation using PET. *NeuroImage*, 9(4), 377–382.
<https://doi.org/10.1006/nimg.1998.0414>

Neumann, N., & Kotchoubey, B. (2004). Assessment of cognitive functions in severely paralysed and severely brain-damaged patients: Neuropsychological and electrophysiological methods. *Brain Research Protocols*, 14(1), 25–36.

<https://doi.org/10.1016/j.brainresprot.2004.09.001>

Soddu, A., Gómez, F., Heine, L., Di Perri, C., Bahri, M. A., Voss, H. U., Bruno, M. A., Vanhaudenhuyse, A., Phillips, C., Demertzi, A., Chatelle, C., Schrouff, J., Thibaut, A., Charland-Verville, V., Noirhomme, Q., Salmon, E., Tshibanda, J. F. L., Schiff, N. D., & Laureys, S. (2016). Correlation between resting state fMRI total neuronal activity and PET metabolism in healthy controls and patients with disorders of consciousness.

Brain and Behavior, 6(1), 1–15. <https://doi.org/10.1002/brb3.424>

Z. Yuan, N. Viswam Nathan, J. Roostbeh, “Automatic Identification of Artifact related Independent Components for Artifact Removal in EEG Recordings”, *IEEE J Biomed Health Inform*, 20(1): 73–81, Jan 2016

A Hyvärinen, E. Oja, “Independent Component Analysis: Algorithms And Applications”, *Neural Networks*, 13(4-5): 411-430, June 2000.

Chaumon, M., Bishop, D. V. M., & Busch, N. A. (2015). A practical guide to the selection of independent components of the electroencephalogram for artifact correction. *Journal of Neuroscience Methods*, 250, 47–63.

<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.02.025>

Steven J. Luck, Second Edition. “An introduction to the Event-Related Potential Technique”

Oriano Mecarelli, “Manuale Teorico Pratico di Elettroencefalografia”.

Andrea Mognon, Jorge Jovicich, Lorenzo Bruzzone and Marco Buiatti. “ADJUST:

An automatic EEG artifact detector based on the joint use of spatial and Temporal features”.

MARA Tutorial

Irene Winkler, Stefan Haufe, Michael Tangermann. “Automatic Classification of Artifactual ICA-Components for Artifact Removal in EEG Signals”.

Daniel Kondziella. “Human consciousness in health and disease”.

Eoin Travers, Nima Khalighinejad, Aaron Schurger, Patrick Haggard. “Do readiness potentials happen all the time?”.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116286>

Hiroshi Shibasaki, Mark Hallett. “What is the Bereitschaftspotential?”

<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2006.04.025>