

POLITECNICO DI TORINO

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Tesi di Laurea Magistrale

**Definizione di protocolli per il campione di controllo in
uno studio sulla realizzazione di una Brain-Computer
Interface per pazienti non responsivi con disturbi di
coscienza**



Laureanda: Mylene Noelle Nicolucci

Relatrice: Prof.ssa Gabriella Olmo
Correlatore: Prof. Vito De Feo

Definizione di protocolli per il campione di controllo in uno studio sulla realizzazione di una Brain-Computer Interface per pazienti non responsivi con disturbi di coscienza

Mylene Noelle Nicolucci

Abstract

Negli ultimi anni la medicina, grazie anche allo sviluppo di nuove tecnologie, si è interessata sempre di più ai disturbi di coscienza (DOC) nei pazienti usciti dal coma e, in particolare, alla diagnosi differenziale tra stato vegetativo e stato di minima coscienza. Tale diagnosi presenta ancora molte difficoltà ed un tasso d'errore relativamente elevato. Un possibile metodo per effettuare tale diagnosi differenziale è quello di elicitare movimenti volontari e finalistici da parte dei pazienti in stato di minima coscienza. Purtroppo, questi pazienti compiono molti movimenti involontari ed è difficile capire se dietro ad un loro movimento si celi l'intenzione cosciente di muoversi, cosa che darebbe prova della presenza di coscienza. A volte, questi pazienti pur non essendo in grado di compiere alcun movimento volontario, possono rispondere ad una sollecitazione esterna immaginando di muoversi. Attraverso l'uso dell'EEG è possibile distinguere i movimenti volontari, reali o immaginati, da quelli involontari. Infatti, i primi originano nel tracciato EEG dei potenziali di prontezza, i cosiddetti Readiness Potential, immediatamente prima di un movimento volontario, sia esso reale o immaginato. Da questa idea è nato un nuovo modo per effettuare una diagnosi differenziale, dando origine ad un progetto per la realizzazione di una Brain-Computer Interface (BCI) per pazienti non responsivi. Questo lavoro di tesi descrive i protocolli ideati per questo progetto sia per i pazienti non responsivi che per i soggetti di controllo necessari a calibrare e a validare la BCI. Utilizzando questi protocolli sono stati registrati i tracciati EEG di soggetti di controllo attraverso il software Galileo. La tesi descrive la strumentazione utilizzata e le misure effettuate. Infine, sono presentati i metodi utilizzati per la rimozione degli artefatti da movimento, oculari ed elettrici.

Indice

Introduzione	5
Capitolo1	8
1.1 Introduzione.....	8
1.2 Neurofisiologia.....	8
1.3 I disturbi di coscienza	11
1.4 Diagnosi differenziale tra disturbi di coscienza (DOC) mediante l'utilizzo di un'interfaccia cervello-computer (BCI).....	17
1.5 Studi effettuati sulla valutazione strumentale dei disturbi di coscienza.....	23
 Capitolo 2	
2.1 Introduzione.....	33
2.2 I Readiness Potential.....	36
2.3 Protocollo sperimentale per i pazienti non responsivi..	37
2.4 Protocolli utilizzati per il gruppo di controllo.....	43
2.5 Prime prove.....	44
2.6 Vecchio protocollo- protocollo 2015 controlli.....	45
2.7 Nuovo protocollo-protocollo 2018 controlli.....	51

2.7 Salvataggio dati.....	58
----------------------------------	-----------

Capitolo 3

3.1 Introduzione.....	62
3.2 Registrazione EEG.....	64
3.3 EMG.....	79
3.4 Segnale di cue nel segnale acustico e nel segnale EMG ..	80
3.5 Analisi dati.....	83

Capitolo 4

4.1 Introduzione.....	86
4.2 Artefatti fisiologici ed extrafisiologici.....	87
4.3 Analisi delle componenti Indipendenti.....	92
4.4 Rimozione artefatti: SASICA e ADJUST.....	98

Capitolo 5

4.1 Risultati.....	109
4.2 Discussione.....	128

Conclusioni.....	130
-------------------------	------------

Bibliografia

Introduzione

Da diversi anni la scienza, grazie anche allo sviluppo di nuove tecnologie e al miglioramento di quelle già esistenti, ha iniziato ad avvicinarsi sempre più al concetto di coscienza di sé e a quella parte ancora poco conosciuta del nostro cervello. Grazie ai diversi studi effettuati negli ultimi decenni si è venuti a conoscenza della struttura del cervello in maniera più completa e il primo capitolo di questa tesi ha proprio il compito di illustrare le principali funzioni cerebrali e la struttura del cervello in generale.

Negli ultimi anni si è dato più attenzione a quei pazienti che, a causa di un grave trauma cerebrale dovuto o ad un incidente piuttosto che ha una patologia come ictus o infarto, sono entrati in uno stato alterato di coscienza. Tra questi ci sono il coma, lo stato vegetativo, lo stato di minima coscienza e la sindrome del locked-in. Compito della scienza è quello di trovare una strumentazione adeguata e sicura per poter arrivare ad una diagnosi chiara dello stato alterato di coscienza così da permettere una adeguata riabilitazione al paziente. In particolare, si vuole riuscire a distinguere in maniera chiaro lo stato vegetativo dallo stato di minima coscienza, infatti in quest'ultimo, come si deduce dal nome, il paziente presenta ancora coscienza di sé anche se in minima parte.

Sempre nel primo capitolo verrà presentato un quadro generale delle strumentazioni adottate e quali esperimenti sono stati fatti precedentemente dagli studiosi con relativi risultati.

Il nostro progetto si basa sul concetto di Readiness Potential, ossia potenziali di prontezza che si ritrovano nel tracciato EEG quando il soggetto in analisi compie un movimento volontario, è una sorta di preparazione del nostro cervello prima di dare l'impulso del movimento. Si è riscontrato che in pazienti incapaci di compiere movimenti, ma con un certo grado di coscienza, quando si richiede di compiere un determinato movimento, sul tracciato EEG è possibile osservare questo potenziale di prontezza. In questo modo, progettando un protocollo sperimentale standardizzato si può creare un supporto alla strumentazione per arrivare alla diagnosi del paziente in maniera più oggettiva. Difatti uno dei problemi principali è che ancora oggi la diagnosi è soggetta ad errori dovuti anche dalla soggettività dell'operatore.

Nel secondo capitolo verrà quindi presentato il protocollo sperimentale che veniva utilizzato precedentemente e quello utilizzato attualmente sia per i pazienti sia per i soggetti di controllo.

Nel terzo capitolo verrà invece presentata la strumentazione adottata nella sperimentazione e descritto in maniera approfondita il software utilizzato durante la sperimentazione. Il mio compito è stato quello di gestire il

laboratorio e la strumentazione al Centro Puzzle di Torino, che è una cooperativa socio-assistenziale ad alta valenza sanitaria, fondata nel 2001, che ha come obiettivo la riabilitazione cognitiva e neuro-comportamentale di soggetti con grave trauma cranico e grave cerebrolesione acquisita. Inoltre mi sono occupata di creare la domanda del protocollo del comitato etico per la sperimentazione sui pazienti in stato vegetativo o in stato di minima coscienza.

Nel capitolo quarto verrà presentato un metodo per la rimozione degli artefatti, con lo scopo di trovare un metodo automatizzato con risultati accettabili si sono utilizzati due plugin differenti: ADJUST e SASICA, i risultati verranno presentati nel capitolo quinto.

L'obiettivo finale di questo progetto è, quindi, quello di andare a creare una Brain-Computer Interface che sia in grado di riconoscere se un paziente, entrato in uno stato alterato di coscienza a seguito di un evento traumatico, presenta un certo grado di coscienza o meno. Una volta riscontrata la coscienza si potrebbe pensare di creare una finestra per permettere ai pazienti ancora coscienti, ma con l'impossibilità di comunicare con l'esterno, di potersi esprimere attraverso questa interfaccia neurale.

Capitolo 1

1.1 Introduzione

In questo primo capitolo verrà presentata la struttura del cervello in maniera più generale e la coscienza in neurologia, in particolare verranno spiegati i diversi stati di alterazione di coscienza: Il coma, lo stato vegetativo, lo stato di minima coscienza e la sindrome Locked-in. Esistono diverse scale di valutazione per poter classificare in maniera più oggettiva i diversi stati di alterazione di coscienza come, ad esempio, la scala di Gasglow oppure la scala di JFK.

Diversi studiosi negli ultimi anni si sono occupati di questa questione e hanno utilizzato diverse tecniche per indagare la coscienza come la tomografia ad emissione di positroni (PET), la risonanza magnetica funzionale (fMRI) e l'utilizzo dell'elettroencefalogramma (EEG).

1.2 Neurofisiologia

Prima di spiegare il ruolo del cervello sulla coscienza è importante avere chiaro di come il cervello umano funzioni. Il sistema nervoso centrale è un importante sistema che coordina l'attività degli organi e l'attività percettiva del soggetto. Il sistema nervoso centrale si suddivide in cervello, midollo

spinale e nervi, quest'ultimi hanno il compito di portare le informazioni a tutto il corpo e raccogliere le informazioni per trasmetterle al cervello.

Il cervello può essere suddiviso in tre grandezze:

Il tronco cerebrale: regola le funzioni di base (respirazione, circolazione, sonno- veglia),

Il cervelletto: regola le funzioni legate ai movimenti (postura, equilibrio) e regola gli stimoli sensoriali.

Corteccia cerebrale: è la parte più esterna del cervello ed è la zona in cui nascono i pensieri e i movimenti volontari.

Il cervello può essere diviso in due emisferi, sinistro e destro, e quattro regioni o lobi:

Lobo frontale Si estende davanti alla fessura di Rolando che lo divide dal lobo parietale. È separato dal lobo temporale attraverso la scissura di Silvio.

Il lobo frontale coordina i movimenti volontari del lato opposto del corpo.

Lobo parietale È posto dietro la scissura centrale di Rolando che lo separa dal lobo frontale, sopra la scissura laterale di Silvio che lo separa dal lobo temporale e confina dietro con il lobo occipitale. Il lobo parietale coordina le sensazioni del lato opposto del corpo.

Lobo occipitale È situato dietro ai lobi parietale e temporale ed è responsabile della capacità visiva e riconoscimento degli oggetti.

Lobo temporale Si trova al di sotto dei lobi frontale e parietale separato da questi attraverso la scissura laterale di Silvio. Posteriormente, confina col

lobo occipitale. Il lobo temporale coordina la comprensione del linguaggio e degli stimoli acustici. (Il cervello, Broccoli.)

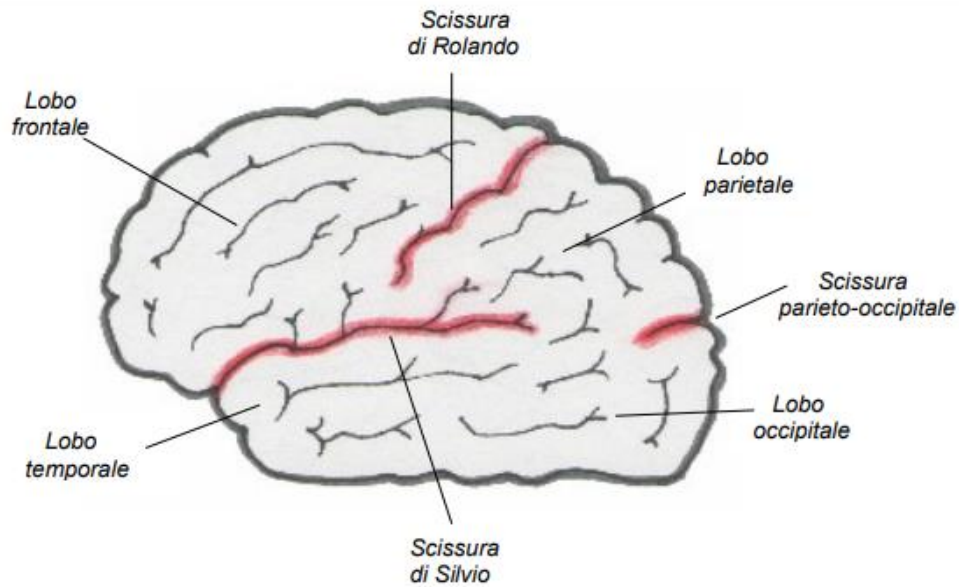


Figura 1 Le scissure del cervello

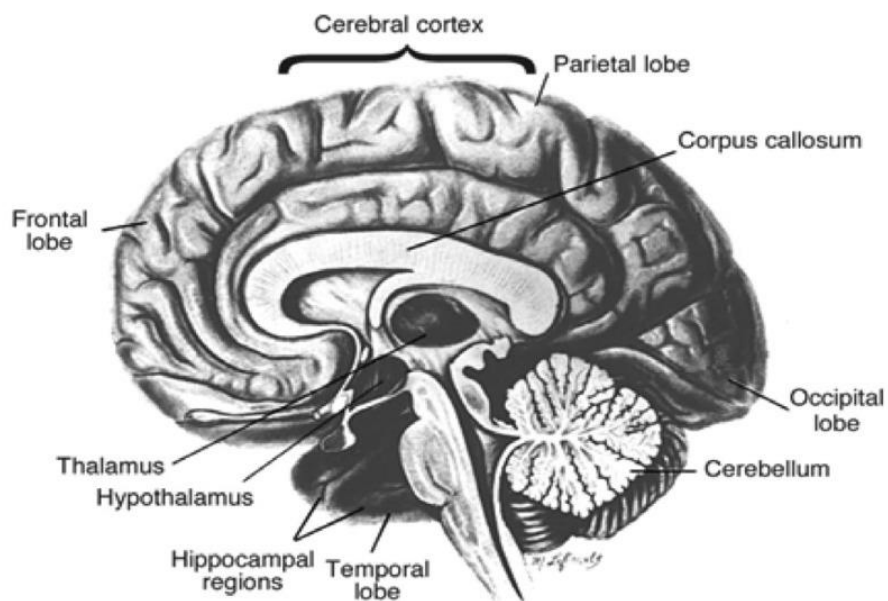


Figura 2 Cervello Umano

1.3 I Disturbi di Coscienza

La Coscienza, in termini neurologici, si compone di due elementi:

- **la vigilanza:** si occupa del giusto ciclo sonno-veglia. A livello clinico è identificata con l'apertura degli occhi ed è gestita dal sistema reticolare ascendente.

- **la consapevolezza:** si occupa di tutta quella sfera che comprende le attività affettive, cognitive ed integrative, di ciò si occupa la zona corticale, inclusi i sistemi esecutivi, percettivi e mnestici. A livello clinico si valuta l'esecuzione di comandi richiesti e movimenti non riflessi o risposta a degli stimoli. A livello scientifico non si sa ancora quale collocazione precisa abbia la consapevolezza, ma è chiaro che la corteccia e le sue connessioni sottocorticali giocano un ruolo importante.

In generale, lo stato di coscienza è stabilito unicamente dal buon funzionamento di entrambe le componenti, è possibile osservare vigilanza senza consapevolezza, ma non il contrario. (Posner et al., 2009)

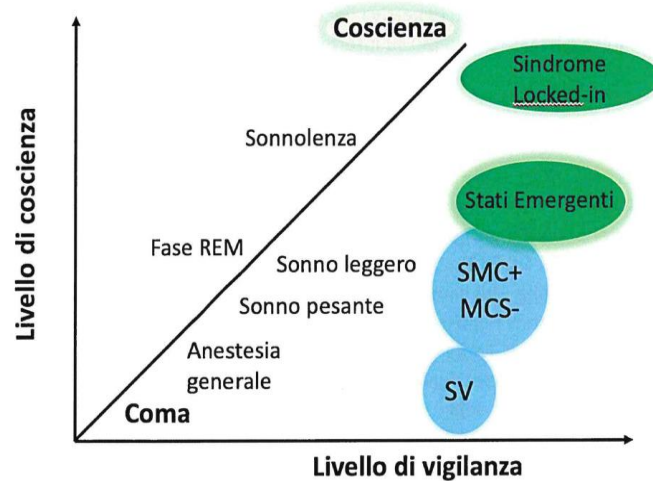


Figura 2. La figura rappresenta il confronto tra stati patologici e fisiologici.

Alcune patologie come ictus, problemi al midollo spinale, strokes, ecc si traducono in una incapacità del paziente a svolgere alcune o tutte le attività che quotidianamente facciamo a causa di una impossibilità di controllo del movimento motorio. Il problema è strettamente correlato alla gravità della lesione cerebrale che porta ad una alterazione più o meno grave dello stato di coscienza.

Gli stati alterati di coscienza che verranno trattati si dividono in quattro condizioni cliniche:

1. Coma
2. Stato vegetativo
3. Stato di minima coscienza
4. Sindrome Locked-in

1.3.1 Coma

È lo stato più grave, in cui non vi è alcuna attività cerebrale che varia nel tempo e nessun livello di coscienza. La natura della lesione può essere vascolare o traumatica, seppure più raramente le cause possono essere dovute ad una malattia cerebrale degenerativa o dismetabolica. Il corpo è come senza vita e gli occhi sono chiusi e il paziente è impossibile da risvegliare. È una condizione che si mantiene per un breve tempo. Poi, se non si ha decesso, transita in una condizione diversa che varia tra SV e MCS.(Giacino & Kalmar, 2005)

1.3.2 Stato vegetativo

La maggior parte dei pazienti sopravvissuti passano a questa condizione, in cui il movimento degli occhi, spontaneo o generato da uno stimolo doloroso, indica una parvenza di vigilanza. Che è ben diversa da una capacità di coscienza.

Lo SV è caratterizzato da:

- mancata coscienza di sé e mancata consapevolezza dell'ambiente circostante;
- assenza di qualunque gesto volontario e finalizzato di tipo spontaneo e di risposte motorie, verbali e comportamentali a stimoli di diversa natura;

- assenza di comprensione o produzione verbale;
- intermittente vigilanza che si manifesta con la presenza di cicli sonno-veglia;
- sufficiente conservazione delle funzioni autonome tale da permettere la sopravvivenza con adeguate cure mediche;
- incontinenza urinaria e fecale;
- variabile conservazione dei nervi cranici e dei riflessi spinali.

Lo SV deve essere distinto da altre condizioni cliniche specie nel linguaggio comune ed in quello dei media (coma, locked-in syndrome, morte cerebrale).

La diagnosi di SV è estremamente delicata e può essere difficile anche per il personale più esperto, infatti non mancano numerosi errori nella diagnosi.

Le indagini strumentali, benché al momento non consentano di distinguere con certezza tra la condizione di stato vegetativo e lo stato di minima coscienza, possono comunque offrire importanti elementi di conferma. (Giacino & Kalmar, 2005)

1.3.3 Stato di minima coscienza

È la condizione intermedia, nella quale si possono riconoscere comportamenti saltuari di coscienza, anche se la persona non ha alcuna

consapevolezza di sé nel mondo e neppure capacità di autogestione o di esprimere i propri bisogni. Ancora una volta gli occhi sono il principale indicatore, quando si fissano nello sguardo degli altri o ne seguono i movimenti.

Criteri diagnostici:

- Apertura spontanea degli occhi
- Ritmo sonno-veglia
- Range di vigilanza: ottundimento / norma
- Percezione riproducibile, ma inconsistente
- Abilità comunicativa riproducibile, ma inconsistente
- Range di comunicazione: nessuna risposta / risposta si/no inconsistente /verbalizzazione / gestualità
- Attività motoria finalistica, riproducibile, ma inconsistente
- Inseguimento con lo sguardo
- Comportamenti ed azioni intenzionali (non attività riflessa) sulla stimolazione ambientale
- Comunicazione funzionale interattiva: Uso funzionale di 2 oggetti diversi o verbalizzazione, scrittura, risposte si/no, uso di comunicazione alternativa o comunicatori facilitanti.

1.3.4 Sindrome Locked-in

La sindrome Locked-in è uno stato di coscienza diverso dagli altri disturbi poiché il paziente non è incosciente, ma è letteralmente “chiuso dentro” impossibilitato al movimento. Il paziente non riesce a compiere nessun movimento, ma è totalmente cosciente della sua situazione riuscendo generalmente a dimostrarlo attraverso movimenti oculari. In base alla gravità si divide in:

- LIS incompleta, in cui il paziente conserva, anche se in minima parte, i movimenti volontari;
- LIS completa, in cui al paziente riesce impossibile persino il movimento oculare, pur conservando la coscienza.

La differenziazione di diagnosi tra un paziente locked-in e un paziente in stato comatoso è molto difficile: molte volte si incorre in errore e soltanto to una lunga pratica clinica può far sperare che l'esaminatore riesca ad accorgersi della persona rimasta imprigionata in un corpo immobile.

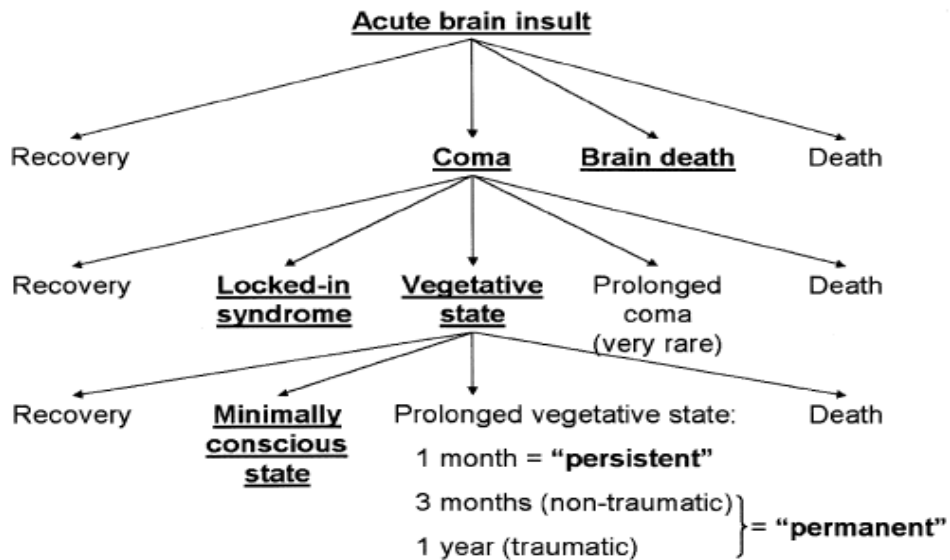


Figura 3 Evoluzione di un trauma cranico

1.4 Diagnosi differenziale tra disturbi di coscienza (DOC) mediante l'utilizzo di un'interfaccia cervello-computer (BCI)

L'obiettivo di questo studio è quello di trovare un metodo efficace in grado di supportare la diagnostica per differenziare gli stati di alterazione di coscienza andando ad analizzare l'intenzione del movimento, infatti diversi studi hanno osservato come in pazienti con minima coscienza nel tracciato EEG sia possibile osservare l'intenzione del movimento anche se il paziente è impossibilitato nel compierlo. Ottenere un importante risultato è

essenziale poiché pazienti in MCS con adeguata riabilitazione potrebbero idealmente recuperare alcune funzioni, ma se non vengono riconosciuti adeguatamente o classificati ad esempio in coma il paziente non potrà essere trattato nella maniera migliore.

1.4.1 Modalità diagnostiche

La diagnosi a livello neurologico non è affatto semplice da fare, ci sono molti fattori da tenere in considerazione e in ogni caso non si può avere una certezza assoluta del referto. Per aiutare ad analizzare lo stato del paziente sono state create delle scale di valutazione, soprattutto basate principalmente sul livello comportamentale.

1.4.2 Glasgow Coma Scale

La *Glasgow Coma Scale*, dall'inglese Scala del coma di Glasgow o Scala di Glasgow o scala GCS è una scala di valutazione neurologica utilizzata da personale medico per tenere traccia dell'evoluzione clinica dello stato del paziente in coma.

Essa si basa su tre tipi di risposta agli stimoli (oculare, verbale e motoria) e si esprime sinteticamente con un numero che è la somma delle valutazioni

di ogni singola funzione. Il massimo punteggio è 15 e il minimo 3 che indica un profondo stato di incoscienza.

Inizialmente questa scala veniva utilizzata per valutare i pazienti in seguito di un trauma cranico, dopo è stata utilizzata anche per tutti gli altri pazienti acuti.

Generalmente, le lesioni cerebrali sono classificate come:

- Grave, con GCS ≤ 8
- Moderata, GCS 9-13
- Minore, GCS ≥ 14 .

SIGN Guideline No. 46. ¹⁵		
Feature	Scale responses	Score notation
Eye opening	Spontaneous	4
	To speech	3
	To pain	2
	None	1
Verbal response	Orientated	5
	Confused conversation	4
	Words (inappropriate)	3
	Sounds (incomprehensible)	2
	None	1
Best motor response	Obey commands	6
	Localise pain	5
	Flexion	Normal 4
		Abnormal 3
	Extend	2
	None	1
Total Coma 'Score'		3/15–15/15

Figura 4 Glasgow Coma Scale

1.4.3 JFK Coma Recovery Scale-Revised (CRS-R)

Questa scala rappresenta un buon strumento in termini diagnostici, prognostici e di pianificazione del trattamento.

Si tratta di 23 item con il relativo punteggio e 6 sotto-scale che valutano le funzioni relative all'attività fisiologica, uditiva, visiva e comunicativa.

Gli item sono disposti in maniera gerarchica all'interno delle sotto-scale:

In alto rappresenta i pazienti con lo stato comportamentale cosciente, mentre quello più in basso rappresenta i pazienti con risposte di tipo riflesse ed involontarie.

Lo scoring è standardizzato sulla base di risposte comportamentali definite a livello operativo, ragion per cui detiene un buon livello di proprietà psicometrica. (Giacino & Kalmar, 2005)

La CRS-R rappresenta uno strumento utilissimo per la diagnosi differenziale tra le condizioni di VS e MCS.

JFK COMA RECOVERY SCALE-REVISED © 2004 VERSIONE ITALIANA © 2007																																																			
Scheda di registrazione																																																			
Questa scheda dovrebbe essere utilizzata solo insieme con le "Linee guida per le modalità di impiego e di determinazione del punteggio della CRS-R" che forniscono le istruzioni per la somministrazione standardizzata della scala.																																																			
Paziente:				Diagnosi:				Eziologia:																																											
Data di insorgenza:								Data di ricovero:																																											
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Data</th> <th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th> </tr> <tr> <th colspan="2">Settimana</th> <th>Ric</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th><th>13</th><th>14</th><th>15</th><th>16</th> </tr> </thead> </table>																	Data																	Settimana		Ric	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Data																																																			
Settimana		Ric	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16																																		
Scala per la funzione uditiva																																																			
4	Movimenti consistenti su ordine*																																																		
3	Movimenti riproducibili su ordine*																																																		
2	Localizzazione del suono																																																		
1	Reazione di sussulto uditivo																																																		
0	Nessuna risposta																																																		
Scala per la funzione visiva																																																			
5	Riconoscimento dell'oggetto*																																																		
4	Localizzazione dell'oggetto, raggiungimento*																																																		
3	Inseguimento visivo*																																																		
2	Fissazione*																																																		
1	Reazione di sussulto visivo																																																		
0	Nessuna risposta																																																		
Scala per la funzione motoria																																																			
6	Uso funzionale dell'oggetto†																																																		
5	Risposte motorie automatiche*																																																		
4	Manipolazione degli oggetti†																																																		
3	Localizzazione dello stimolo nocettivo*																																																		
2	Allontanamento in flessione																																																		
1	Postura anomala																																																		
0	Nessuna risposta/riacclività																																																		
Scala per la funzione motoria orale/verbale																																																			
3	Verbalizzazione comprensibile*																																																		
2	Vocalizzazione/movimenti orali																																																		
1	Movimenti orali messi																																																		
0	Nessuna risposta																																																		
Scala per la comunicazione																																																			
2	Funzionale: Appropriata†																																																		
1	Non funzionale: Intenzionale*																																																		
0	Nessuna risposta																																																		
Scala per la vigilanza																																																			
3	Attenzione																																																		
2	Apertura degli occhi senza stimolazione																																																		
1	Apertura degli occhi con stimolazione																																																		
0	Non risvegliabile																																																		
PUNTEGGIO TOTALE																																																			

Figura 5 JFK Coma Recovery Scale-Revised

1.4.4 Wessex Head Injury Matrix (WHIM)

Sviluppata nel 2000 presso l'Università di Southampton, questa scala è stata creata per tenere in osservazione le funzioni cognitive durante la riabilitazione dopo gravi danni cerebrali.

La scala è composta da una sequenza di un massimo di 62 item (parametri osservabili) sulle capacità di comunicazione, abilità cognitive e interazione sociale. La scala è rivolta a paziente con un'età maggiore o uguale di 16 anni e si possono eseguire un numero illimitato di osservazioni. L'elaborazione inizia con avvisi di attenzione di base (occhi aperti lentamente) e viene confermata con un segno di spunta o contrassegnata come non disponibile con una croce. Dopo che sono state fatte dieci croci di fila, l'esame è terminato. Il valore WHIM è il numero più alto di valori osservati. (Shiel et al., 2000)

1.5 Studi effettuati sulla valutazione strumentale dei disturbi di coscienza

Negli ultimi anni si sono fatti molti passi avanti nella diagnosi di pazienti con disturbi di coscienza, ancora troppo spesso, però, non si riesce a rilevare segni di consapevolezza in un certo numero di pazienti che conservano isole di funzionalità cerebrale.

Dal punto di vista scientifico e sperimentale, l'unica misurazione oggettiva disponibile è lo studio della attività elettrica e biochimica cerebrale, attraverso l'elettroencefalogramma (EEG) (che tratteremo più avanti) o tecniche come la PET o la risonanza magnetica funzionale; questi approcci suggeriscono che l'intensità generale della attività mentale cosciente abbia una diretta corrispondenza con l'attività delle aree associative multimodali e con la complessità di tale attività, ovvero il grado in cui diverse elaborazioni, e livelli di elaborazione e integrazione, si intersecano e influenzano a vicenda, determinando non un singolo chiaro percorso di elaborazione, ma una complessa interazione tra modalità e criteri diversi di elaborazione.

1.5.1 – Applicazione tecniche di neuroimaging cerebrale

Le metodiche di neuroimmagine sono tecniche che permettono di creare immagini del sistema nervoso in maniera invasiva e non, sia a livello strutturale (neuroimaging morfologico), sia a livello funzionale di tutto il cervello o di solo una certa area del cervello (neuroimaging funzionale).

1.5.1.1 Tomografia ad emissione di positroni (PET)

La tomografia ad emissione di positroni (PET) è una tecnica di neuroimaging della medicina nucleare in campo neurologico e consente di indagare il funzionamento cerebrale e le relative dinamiche neurochimiche, sia a riposo sia durante lo svolgimento di specifici compiti mentali. La differenza di altre tecniche di neuroimmagine è che utilizza dei radiofarmaci, ossia molecole marcate con radioisotopi. A seconda della concentrazione del radiofarmaco nelle aree in cui avvengono i processi metabolico-chimici, rilevata dalla strumentazione, si possono avere informazioni sulla loro attivazione funzionale. (Sacco, 2013).

Si sono svolti studi attraverso la PET per misurare i cambiamenti di flusso ematico cerebrale in risposta a stimoli vocali da parte della madre del paziente in stato vegetativo: De Jong e colleghi (1997) hanno riscontrato un aumento del flusso sanguigno nella corteccia cingolata anteriore e nella

corteccia temporale, riflettendo forse l'elaborazione emotiva, dei contenuti o del tono, della storia della madre. L'attivazione specifica e selettiva in risposta a stimoli uditivi semplici e dolorosi delle aree cerebrali deputate all'elaborazione di quel tipo di informazioni è stata confermata anche da ulteriori studi, tuttavia, gli stessi studi hanno mostrato come non coinvolge le aree corticali associative di livello gerarchico più alto, concludendo che i pazienti in stato vegetativo mostrano delle attività cerebrali disconnesse dal circuito fronto-parietale necessario per la consapevolezza.

Un altro esperimento svolto da Laureys et al. (Laureys et al., 1999) su diversi pazienti in stato vegetativo, che presentavano apertura e chiusura oculare senza evidenza di consapevolezza dell'ambiente, senza risposte volontarie o espressione linguistica, ha dimostrato come in alcune zone del cervello, in particolare nella zona della corteccia prefrontale e premotoria nell'area sinistra, ci sia una connettività significativamente compromessa tra i voxel più significativi, questo in accordo con la letteratura che mostra come queste zone siano quelle legate alla percezione e alla modulazione della percezione visiva e dell'attenzione, inoltre si può notare che la corteccia cingolata posteriore è una delle le regioni cerebrali più attive nella veglia cosciente (Andreasen et al., 1995; Maquet et al., 1997) ed è sistematicamente una delle regioni meno attive nell'inconscio o stati di minima coscienza. Questi argomenti suggeriscono che la corteccia posteriore potrebbe rappresentare una parte della rete neurale legata all'esperienza cosciente.

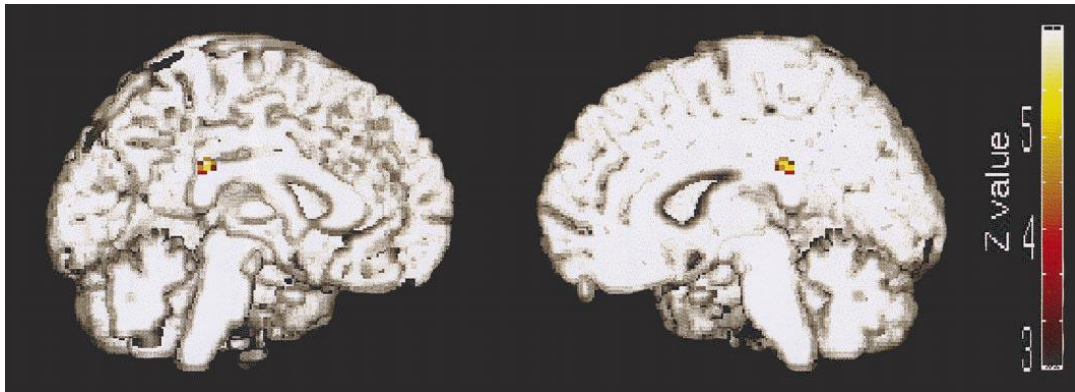


Figura 6 Localizzazione di voxel che mostravano una connettività compromessa con la corteccia prefrontale / premotoria sinistra.

1.5.1.2 Risonanza magnetica funzionale (fMRI)

La risonanza magnetica funzionale (fMRI) è attualmente la tecnica di imaging cerebrale funzionale più utilizzata (Huesing et al., 2006). La fMRI è una tecnica di neuroimaging funzionale che misura l'attività cerebrale in maniera indiretta, ossia sfrutta il livello di ossigenazione del sangue chiamato anche effetto BOLD; il segnale che viene acquisito dipende dai cambiamenti di flusso e dall'ossigenazione sanguigna nel cervello (emodinamica), i quali sono strettamente correlati all'attività neurale. (Soddu et al., 2016).

Rispetto alla PET la risonanza magnetica presenta dei vantaggi importanti, prima di tutto ha una disponibilità maggiore e caratteristiche tecniche migliori, come la risoluzione spaziale e temporali, ma anche dal punto di vista dell'invasività la fMRI non utilizza radiazioni ionizzanti e quindi non comporta limitazioni da questo punto di vista.

Idealmente, gli studi fMRI dovrebbero essere progettati per esplorare la funzione cognitiva in modo gerarchico, iniziando con risposte percettive primarie agli stimoli sensoriali somministrati per seguire, successivamente, la catena di eventi fisiologici mentre le informazioni subiscono livelli di elaborazione sempre più elevati attraverso l'interpretazione e l'azione consapevole. (Coleman, 2009).

Nella pratica questi obiettivi non sono raggiungibili, ma utilizzati insieme ad altre tecniche possono fornire importanti informazioni per ottenere una diagnosi del paziente più chiara e sicura.

Ci sono diversi esempi in letteratura di studi svolti per descrivere la funzionalità e l'efficacia della tecnica della fMRI combinata insieme ad altre tecniche di imaging, un esempio di studio è descritto da Owen e colleghi (2006) in cui hanno dimostrato come fosse preservata la comprensione del linguaggio e le risposte volontarie in un paziente che ha soddisfatto i criteri internazionali che definiscono lo stato vegetativo. In particolare, alle istruzioni verbali di immaginare due differenti azioni, giocare a tennis e camminare in casa propria, seguivano risposte di attivazioni differenziali dell'area supplementare motoria (tennis), del giro paraippocampale, della corteccia parietale posteriore e della corteccia premotoria laterale (camminare in casa) nello stato vegetativo esaminato, senza distinzioni evidenti dalle attivazioni osservate nei controlli sani. (Coleman et al., 2007).

Inoltre, la "prestazione" delle attività utilizzate richiedono non solo la

comprensione della lingua, ma anche la traduzione della richiesta in un atto volontario (ad esempio immaginare di giocare a tennis) osservando che il paziente può comprendere il discorso ma non essere in grado di agire in base a esso, questo è un punto particolarmente importante a causa del problema dei falsi negativi in tutti gli studi di neuroimaging funzionale. (Owen et al., 2005)

Ulteriori studi di fMRI hanno confermato in pazienti con stato di minima coscienza, in risposta alla somministrazione di stimoli verbali di diverso tipo come frasi o storie dal contenuto rilevante per il paziente da parte di un familiare, l'attivazione di vaste reti corticali in modo del tutto sovrapponibile a quanto rilevato con i controlli sani. L'attivazione si è, inoltre, ottenuta in risposta a stimoli quali la pronuncia del nome del paziente, frasi contenenti parole dal significato ambiguo e con compiti di immaginazione mentale questo perché l'utilizzo di questi contrasti comporta l'attivazione di diverse regioni. In effetti, la misura in cui i pazienti possono sentire e capire il linguaggio è di importanza critica sia per i parenti che per le figure professionali nel fornire un ambiente ottimale per la riabilitazione. Da tutti questi risultati si ottiene un'ulteriore prova che alcuni pazienti vegetativi conservano isole con funzionalità preservata e che in assenza di prove comportamentali, l'imaging funzionale fornisce uno strumento prezioso al team di valutazione e quindi un impiego futuro nel

fornire prove inequivocabili della conservazione della consapevolezza di sé e dell'ambiente e influenzando nella formulazione della diagnosi.

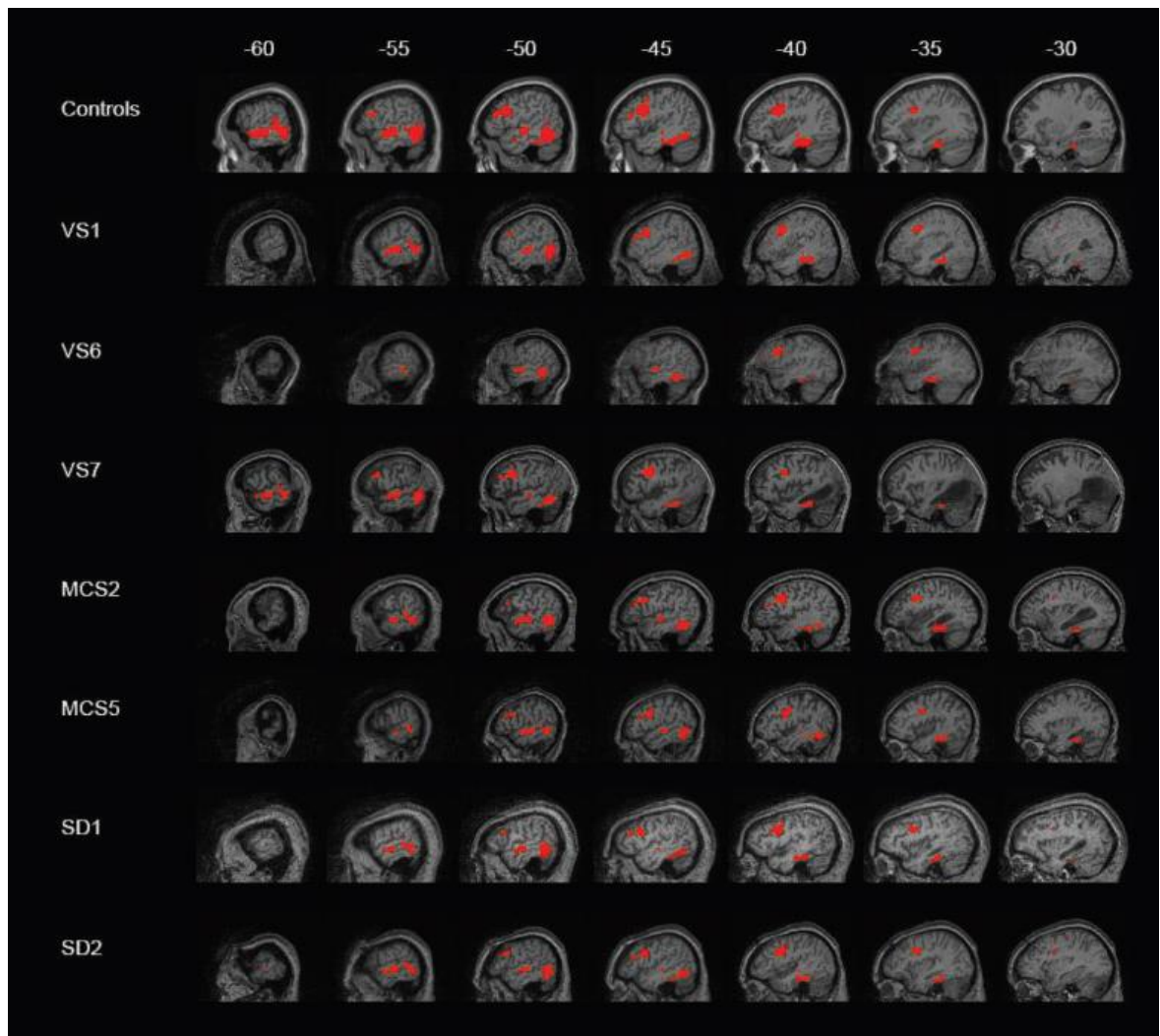


Figura 7 Confronto attivazione aree cerebrali con frasi ad alta e bassa ambiguità tra soggetti di controllo e pazienti.

1.5.1.6 Elettroencefalogramma (EEG)

Nel capitolo terzo tratteremo la strumentazione da noi utilizzata per lo svolgimento del protocollo sperimentale, come tecnica di imaging abbiamo utilizzato l'EEG. L'EEG misura le fluttuazioni della tensione sul cuoio capelluto. Si verificano le correnti ioniche sottostanti piuttosto lontano dagli elettrodi (attraverso la pelle e il cranio) nelle aree della corteccia vicino alla superficie e il risultato di cambiamenti nella conduttività della membrana indotti dall'attività sinaptica e processi intrinseci della membrana. Un elettrodo sulla pelle virtualmente "Vede" i potenziali sommati generati da un gran numero di neuroni. Con una risoluzione temporale di millisecondi e inferiore, l'EEG può facilmente rilevare il decorso temporale dell'attività neuronale, ma la risoluzione spaziale rimane limitata a causa di il cosiddetto problema inverso (Helmholtz, 1853). Poiché un numero infinito di sorgenti configurazioni possono generare potenziali identici sulla pelle, soluzioni stimate del problema inverso, cioè la localizzazione della sorgente, richiede appropriate ipotesi a priori su sorgenti e conduzione del volume al fine di fornire dati fisiologicamente significativi (Babiloni et al., 2005; Michel et al., 2004).

L'utilizzo dell'EEG per indagare la coscienza è presente in diversi studi degli ultimi anni, ad esempio in uno studio di Neumann e Kotchoubey si indaga attraverso i potenziali evocati sensoriali e cognitivi su un campione

di 98 pazienti con gravi deficit cerebrali; hanno utilizzato un EEG con nove elettrodi montati con il sistema internazionale 10-20. Ai pazienti sono stati presentati sei differenti test neuropsicologici, tutti i test non richiedevano una risposta motoria rapida e tenevano in considerazione di una possibile stanchezza del paziente.

Test 1: Ogni articolo presenta una figura con un pezzo mancante, il paziente deve scegliere il pezzo corretto per il completamento della figura.

Test 2: i pazienti devono abbinare le carte a una di quattro carte chiave secondo diversi criteri.

Test 3 e 4: Vengono presentate diverse forme al paziente, per poi decidere se un elemento è già stato presentato o meno.

Test 5: Vengono presentate cinque foto di volti diversi che il paziente deve poi riconoscere tra altri 15 foto, inoltre durante la prima presentazione devono dire se il soggetto è maschio o femmina e se ha più o meno di 40 anni.

Test 6: Stimoli verbali associati ad una figura, il paziente deve indicare la figura corretta.

Nel confronto dei risultati è evidente come la differenza nei diversi pazienti con diversi gradi di gravità di alterazione di coscienza era in termini di tempi di occorrenza del fenomeno ERP, si è visto in particolare come la risposta in un paziente totalmente paralizzato, ma cosciente, fosse molto simile a quella di un paziente sano. (Neumann & Kotchoubey, 2004).

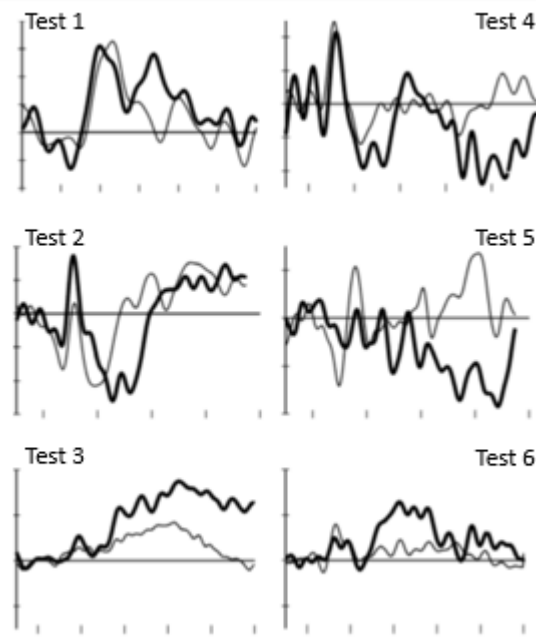


Figura 8 Esempi di ERP di pazienti con danno cerebrale molto grave nei sei paradigmi sperimentali descritti nel testo. Test 1: riconoscimento di una figura mancante, test 2: abbinamento carte secondo determinati criteri, test 3 e 4 : memoria di una forma, test 5:riconoscimento volti, test 6: stimoli verbali.

Capitolo 2

Protocollo sperimentale

2.1 Introduzione

L'obiettivo di questo studio è, come già detto nel precedente capitolo, quello di andare a dare un supporto tecnico agli attuali supporti diagnostici che sono limitati e dipendono da interpretazioni soggettive da parte dell'esaminatore, in particolare per quanto riguarda la distinzione tra pazienti VS e MCS, rendendo quindi la diagnosi oggettiva e non più soggettiva. Lo scopo, quindi, è quello di andare a creare un'interfaccia neurale che sia in grado di rilevare l'intenzione di muoversi in pazienti aresponsivi.

In questo studio la rilevazione dell'intenzione di muoversi viene studiata mediante registrazione del tracciato elettroencefalografico (EEG) in pazienti aresponsivi. Questo perché all'interno del tracciato EEG insorgono potenziali, detti di prontezza (Readiness potentials, RP.) in corrispondenza

di una preparazione volontaria nel compiere un movimento, l'interfaccia neurale quando rileverà questi potenziali classificherà lo stato del soggetto come uno stato in cui il soggetto ha una marcata intenzione a muoversi, mentre, in assenza di questi potenziali non sarà dimostrabile la presenza di coscienza o intenzione a muoversi. In questo modo si potrà creare per alcuni pazienti un canale di comunicazione, il paziente potrebbe per esempio comunicare provando o immaginando di muovere il braccio sinistro (es. per dire "sì") o quello destro (es. per dire "no").

Lo studio è stato condotto al Centro Puzzle che è una cooperativa socioassistenziale ad alta valenza sanitaria, fondata nel 2001, che ha come obiettivo la riabilitazione cognitiva e neuro-comportamentale di soggetti con grave trauma cranico e grave cerebrolesione acquisita, finalizzata ad un reinserimento sociale nell'ambito lavorativo-scolastico.



Questo studio ha iniziato le prime attività sperimentali al Puzzle nel 2012 ed inizialmente veniva utilizzato un protocollo più semplice con una strumentazione basilare, con il passare degli anni il protocollo è stato perfezionato e con esso anche la strumentazione. Dal 2012 al 2015 si è utilizzato quello che di seguito verrà illustrato nel capitolo delle prime prove effettuate e veniva utilizzato un montaggio manuale di elettrodi a ponte per la registrazione EEG. Dal 2015 al 2018 il protocollo utilizzato è indicato come protocollo controlli 2015 ed ha introdotto modifiche rispetto a quello precedente, mentre il montaggio degli elettrodi utilizzato era sempre quello manuale. Dal 2018 in avanti si è invece utilizzato il protocollo indicato come protocollo controlli 2018, tuttora utilizzato; per quanto riguarda il montaggio della strumentazione EEG si utilizza una cuffia precablata a 32 elettrodi rendendo la parte della preparazione più veloce e più standardizzata.

2.2 I Readness Potential

Da molti anni la ricerca neuroscientifica indaga le dimensioni dell'intenzionalità e della consapevolezza delle azioni motorie (Deecke,1969) (Owen et al,2006). In particolare, si è scoperta l'insorgenza di certi potenziali elettrici, detti di prontezza (Readiness Potentials, RP), in corrispondenza dell'intenzione (preparazione volontaria) di compiere un movimento. I potenziali di prontezza sono rilevabili mediante un comune elettroencefalogramma, prima di ogni movimento volontario e sarebbero legati alla volontà del soggetto di compiere il movimento (Libet et al.,1993). Il Readiness Potential consiste in un rapido incremento del segnale elettroencefalografico e precede l'inizio del movimento volontario (realmente compiuto o anche solo immaginato) di circa 1 secondo. Il Readiness Potential è un potenziale evento relato (ERP), cioè che insorge in relazione ad un evento (un movimento o un'intenzione di muoversi). L'andamento temporale dell'RP può essere scomposto in due stadi: c'è una componente precoce (*early RP*) che inizia circa un secondo e mezzo prima dell'esecuzione del movimento (~1500 ms) e una componente tardiva (*late RP*) che inizia circa 500 ms prima del movimento. L'RP è un potenziale lateralizzato, cioè, soprattutto nella sua componente tardiva, il segnale è molto più intenso nell'emisfero controlaterale alla parte del corpo che compie il movimento; per questo motivo, quando l'RP è calcolato a partire

dal segnale proveniente da un elettrodo laterale rispetto alla linea mediana della testa, lo si chiama potenziale di prontezza lateralizzato o LRP, per sottolineare lo sbilanciamento (asimmetria) tra i segnali ipsilaterale e contralaterale.

In sintesi, la componente precoce dell'RP è legata alla preparazione e all'intenzione al movimento, non è lateralizzata ed è presente soprattutto nell'area premotoria e supplementare motoria (AMS) (Lang, W., et al, 1991). La componente tardiva, invece, è lateralizzata, è legata all'esecuzione del movimento vero ed è presente soprattutto in corrispondenza della corteccia motoria primaria M1 (Pedersen, Jane R., et al, 1998).

2.3 Protocollo sperimentale per i pazienti non responsivi

Lo scopo dello studio è quello di realizzare un sistema di biomarcatori digitali, basato su caratteristiche del segnale di prontezza, in grado di rivelare l'intenzione a muoversi in pazienti aresponsivi. Tali biomarcatori saranno rilevati mediante un'interfaccia cervello-computer che misuri sia l'elettroencefalogramma (EEG) che l'elettromiogramma (EMG). I biomarcatori digitali indicheranno in quale misura le variazioni del segnale elettromiografico siano dovute ad una volontà cosciente di muoversi.

Sulla base della consistenza del segnale RP e delle caratteristiche di tale segnale, verrà progettato un sistema di due biomarcatori digitali, che avranno un valore compreso tra zero (assenza di intenzione motoria cosciente) e uno (presenza fisiologica e non patologica di intenzione motoria cosciente). I due biomarcatori avranno un significato simile ma non uguale e saranno calcolati con due differenti metodi. In presenza di un potenziale di prontezza consistente e riproducibile, l'interfaccia cervello-computer classificherà lo stato del soggetto come uno stato in cui il soggetto ha una marcata intenzione a muoversi ed entrambi i biomarcatori avranno valore 1. Nel caso opposto, in assenza di potenziale di prontezza e, quindi, di dimostrabile presenza di cosciente intenzione a muoversi, entrambi i biomarcatori avranno valore 0. Nei vari casi intermedi, i due biomarcatori avranno valore compreso tra 0 e 1.

- **Selezione soggetti:**

È importante ottenere come primo passo in forma scritta il consenso informato da parte del rappresentante legale, o amministratore di sostegno, del paziente.

I pazienti inclusi nella sperimentazione sono:

- Pazienti con diagnosi di Stato vegetativo o Stato di minima coscienza.

I pazienti esclusi sono pazienti che presentano una o più delle seguenti caratteristiche:

- Condizioni per cui il tracciato EEG sia alterato,
 - Pazienti craniectomizzati,
 - Allergie verso alcol o gel abrasivo,
 - Presenza di cicatrici o dermatiti estese sul cuoio capelluto
 - Portatori di pacemaker cardiaci, stimolatori nervosi, impianti cocleari,
 - Presenza di materiale ferromagnetico a livello cranico (protesi, punti meccanici di sutura, schegge e frammenti metallici per esiti di interventi chirurgici o traumi),
 - Persone con un'anamnesi di attacchi epilettici, o con episodi di epilessia tra familiari,
 - Incapacità di ottenere un consenso firmato dal rappresentante legale.
-
- **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 conduttrice TEN20 , pasta abrasiva NUPREP, gel conduttivo per EEG, siringa con ago smussato per il montaggio della strumentazione
- Computer con OpenSesame e Labjack per il segnale acustico

- **Montaggio:**

Dopo aver pulito la cute del paziente con del cotone idrofilo imbevuto di alcool e si posiziona la cuffia pre-cablata con gli elettrodi posizionati secondo il sistema internazionale 10/20. Per il montaggio lo sperimentatore utilizza una pasta abrasiva per rimuovere eccesso di sebo e cellule morte dalla cute del paziente per permettere maggiore aderenza e per il posizionamento viene utilizzato un gel elettroconduttivo assicurando un'impedenza inferiore a 5 k Ω . Due elettrodi sono posizionati sopra gli occhi per registrare l'attività oculare (EOG) da poter rimuovere l'artefatto generato sul segnale.

Per quanto riguarda il segnale EMG vengono posizionati 4 elettrodi su gambe e braccia così da avere in uscita 4 canali elettromiografici, inoltre vengono posizionati elettrodi aggiuntivi in base al movimento possibile

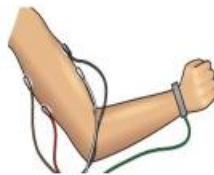
del paziente in esame. Dopo il posizionamento degli elettrodi si passa all'esperimento vero e proprio che ha una durata di circa 35 minuti.

• Esperimento:



Montaggio : cuffia pre-cablata EEG, elettrodi EMG, elettrodi di riferimento

Esperimento: viene richiesto al paziente di compiere o immaginare di compiere un movimento per un totale di 70 richieste con una pausa tra una richiesta e l'altra di 25-35 secondi



Acquisizione e visualizzazione dati: strumentazione Galileo NT

Figura 9 Dopo il montaggio della strumentazione per la registrazione del segnale EEG e EMG, si procede con l'esperimento che consiste nella richiesta da parte di un familiare o operatore al paziente di compiere o immaginare di compiere un movimento; vengono effettuate 70 richieste intervallate da una pausa che varia dai 25 ai 35 secondi.

Durante l'esperimento al paziente viene chiesto di compiere un movimento o immaginare di compiere un movimento (a seconda della mobilità del paziente). La tipologia della richiesta è: "nome del paziente, prova a muovere la mano destra, se non ci riesci immagina di muoverla" (questa richiesta viene fatta per mano destra e sinistra e gamba destra e sinistra) oppure "prendi questo oggetto". La richiesta può essere effettuata da un operatore o da un familiare. Lo studio prevede di ripetere la stessa richiesta un certo numero di volte (ogni richiesta verrà utilizzata 7 volte non consecutive) per un totale di 70 stimoli verbali. I pazienti verranno sottoposti alle richieste ad intervalli di durata media 30 secondi (la durata degli intervalli sarà uniformemente distribuita tra 25 e 35 secondi, in modo tale da non favorire movimenti automatici e stereotipati). La durata dell'esperimento sarà approssimativamente di 35 minuti. Prendendo in considerazione anche la fase di preparazione e la fase di smontaggio, l'esperimento avrà una durata complessiva di circa 75 minuti. Nel caso in cui il paziente abbia capacità di pianificare movimenti, ci aspettiamo che di rilevare il potenziale di prontezza come risposta ad alcune delle 70 richieste (nel corso dei 35 minuti).

2.5 Protocolli utilizzati per il gruppo di controllo

Il protocollo sperimentale per i pazienti ha lo scopo di andare a stimolare verbalmente il paziente con il fine di fargli effettuare o immaginare un movimento volontario finalistico, in modo da avere il relativo correlato neurale identificabile come RP, analizzando il tracciato EEG, che sarà registrato per tutta la durata dell'esperimento. Oltre al segnale EEG si utilizzerà il segnale EMG come segnale di riferimento per la ricerca degli RP, nel calcolo di quest'ultimi ci si focalizza nelle finestre temporali in cui ci si aspetta l'intenzione del segnale, quindi prima dell'onset del segnale EMG. Per poter delineare un modello da confrontare con i risultati dei pazienti e per avere un'idea di dove ricercare i potenziali RP sono necessari studi sui soggetti sani con lo scopo di ricavare i potenziali RP da un soggetto sano a cui è stato chiesto di compiere un movimento.

Di seguito verrà illustrato prima il protocollo controlli 2018 utilizzato attualmente e successivamente il protocollo controlli 2015 che veniva utilizzato prima.

2.5.1 Prime prove

Le prime prove svolte all'interno della cooperativa utilizzavano come strumentazione un pc, l'orologio visualizzato sullo schermo del computer, la strumentazione di acquisizione (elettrodi EEG, elettrodi EMG, Galileo NT che è un software che permette di leggere e salvare le rilevazioni EEG), che verrà illustrata in maniera dettagliata nel capitolo terzo, ed infine una sedia ergonomica per il soggetto in esame.

Lo sperimentatore faceva partire il timer dopo aver dato le indicazioni sul funzionamento dell'esperimento e il soggetto sperimentale doveva compiere una flessione dell'indice della mano destra a partire dai 5 secondi una volta ogni 10 secondi per 6 minuti (totale 40 epoche).

Oltre a questa prova standard venivano svolte prove alternative illustrate di seguito:

- Utilizzo del mouse: invece di far flettere l'indice veniva utilizzato il movimento che si compie per cliccare il tasto del mouse;

- Uso di entrambe le mani: per rimuovere l'effetto del movimento stereotipato, il soggetto in esame utilizzava entrambe le mani ed era lo sperimentatore ad indicare quale;
- Trial brevi: l'esperimento veniva svolto come quello standard, ma con la durata dei trial minore.

La differenza di svolgimento dell'esperimento tra i soggetti sani ed i pazienti consisteva nel fatto che per quest'ultimi, invece di visualizzare loro lo schermo con rappresentato l'orologio, era lo sperimentatore a dare l'indicazione su quando compiere il movimento.

2.5.2 Vecchio protocollo- protocollo controlli 2015

Il protocollo utilizzato del 2015 al 2018 prevedeva di far compiere al soggetto in esame una semplice flessione del dito indice nei tempi stabiliti.

Questo esperimento aveva lo scopo di studiare la volontà del soggetto di compiere il movimento attraverso il potenziale di prontezza RP ottenuto dalla media di tutte le epoche.

Vecchio protocollo – Soggetti sani

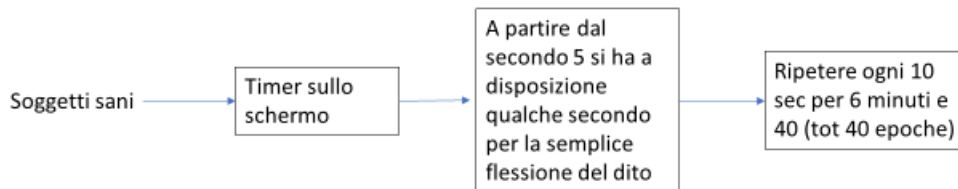


Figura 10 . Rappresentazione schematica del vecchio protocollo. Per i soggetti di controllo veniva utilizzato un orologio visualizzato sullo schermo di un PC e il sistema di acquisizione dati; il soggetto doveva compiere una flessione del dito indice della mano destra ogni 10 secondi per 6 minuti (totale 40 epoche). Per quanto riguardava i pazienti, il comando di svolgere il movimento o immaginare di compierlo veniva dato dall'operatore o da un familiare, anche qui le epoche totali da raggiungere erano 40, ovviamente in caso di stanchezza del paziente si fermava l'esperimento prima. Venivano utilizzati elettrodi a ponte montanti a mano.

- **Selezione soggetti:**

La scelta dei partecipanti per il gruppo di controllo è stata fatta in maniera che il gruppo fosse eterogeneo in sesso ed età:

- Volontari neurologicamente sani di età compresa tra 18 e 65 anni

Venivano esclusi i soggetti:

- Di età inferiore o superiore a quella dichiarata nel criterio di inclusione

- Che soffrivano di eczema/dermatite sul cuoio capelluto
- Che presentavano cicatrici estese sul cuoio capelluto
- Che soffrivano di allergie verso alcool o gel abrasivo
- Presenza di patologie neurologiche e psichiche gravi che potevano interferire con l'esecuzione del compito
- Incapacità di fornire un consenso informato
- Soggetti che non erano in grado di eseguire i compiti richiesti dalla procedura sperimentale
- Portatori di pacemaker cardiaci, stimolatori nervosi, impianti cocleari
- Presenza di altro materiale ferromagnetico a livello cranico (protesi, punti meccanici di sutura, schegge e frammenti metallici per esiti di interventi chirurgici o traumi)

- **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 con OpenSesame e Labjack per il segnale acustico
- Sistemi di supporto: carrello, sedia, tavolo.

- **Montaggio strumentazione**

Dopo aver pulito la cute del soggetto di controllo con del cotone idrofilo imbevuto di alcool si posizionavano gli elettrodi per l'EEG Ag/Ag/AgCl con derivazione unipolare in corrispondenza dei siti di interesse (Cz, C3 e C4 per il lobo "centrale"; FC3 e FC4 per il lobo frontale; Pz per il lobo parietale; Oz per il lobo occipitale). Per verificare il corretto posizionamento degli elettrodi si utilizza la visualizzazione dell'impedenza tramite Galileo NT. Oltre agli elettrodi unipolari venivano posizionati uno o due elettrodi auricolari con lo scopo di riferimento e una fascia al polso con la funzione di messa a terra, utile a pulire il segnale EMG.

Per quanto riguarda il montaggio degli elettrodi per l'EMG sui soggetti di controllo veniva posto un elettrodo sulla prima falange dell'indice destro dorsale e un elettrodo sulla prima falange dell'indice destro palmare.

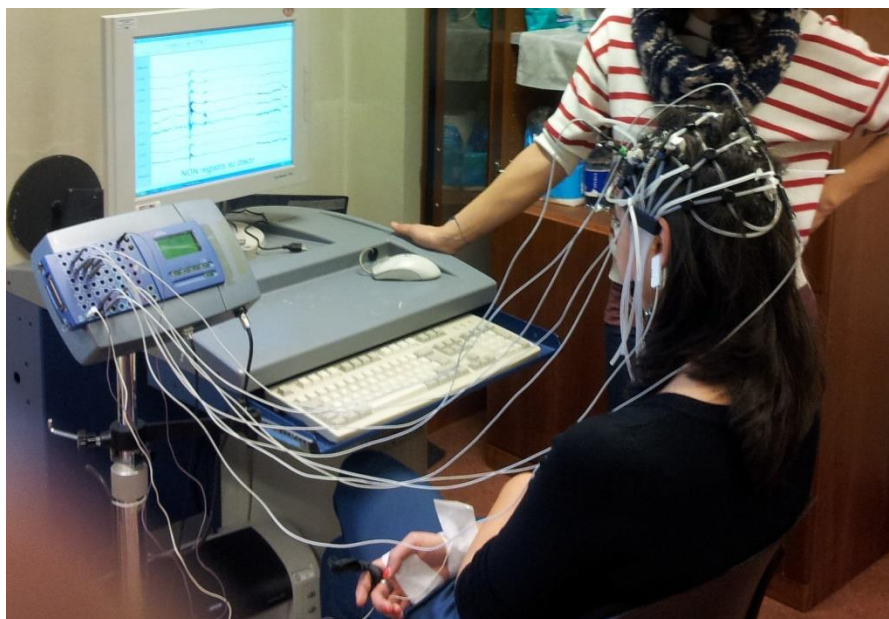


Figura 11 Montaggio strumentazione per la registrazione EEG.

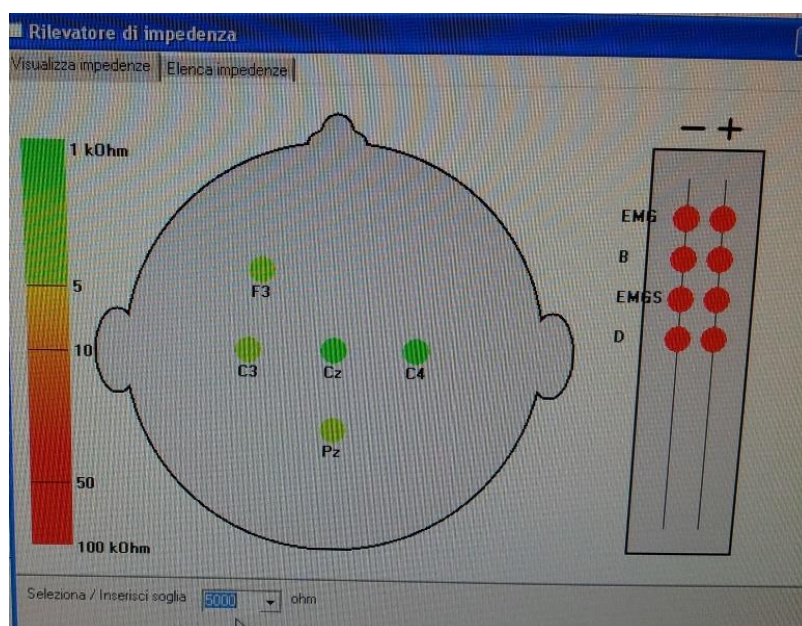


Figura 12 Impedenza elettrodi visualizzati tramite Galileo NT.

- **Esperimento**



Figura 13 Schema vecchio protocollo per i soggetti di controllo: montaggio, esperimento e acquisizione dati.

Il soggetto veniva posizionato su una sedia ergonomica in una posizione rilassata e disposto di fronte al pc con proiettato un orologio, dopo avergli spiegato il task iniziava l'esperimento: si richiedeva di effettuare una semplice flessione del dito indice destro, osservando l'orologio proiettato sul PC : la flessione, infatti, doveva iniziare al secondo 5 e ripetersi ogni 10 secondi per 6 minuti e 40 secondi, per un totale, anche qui, di 40 epoche.

Alcuni task venivano svolti con il soggetto bendato, in questo caso era

l'operatore che osservava l'orologio e dava l'indicazione al soggetto su quando compiere il movimento. Questo veniva fatto per vedere non influenzare il soggetto dall'ambiente esterno. La flessione del dito veniva situata al centro di ogni epoca.

2.5.3 Nuovo protocollo-protocollo 2018 Controlli

A partire dal 2018 si è introdotto un nuovo protocollo controlli che, a differenza di quello precedente, consisteva nel far compiere al soggetto tre differenti task: uno volontario, uno semivolontario e uno involontario. Lo scopo è quello di ottenere tre modelli di ERP, ottenuti mediando tutte le epoche di ogni soggetto, da utilizzare come template per il protocollo dei pazienti.

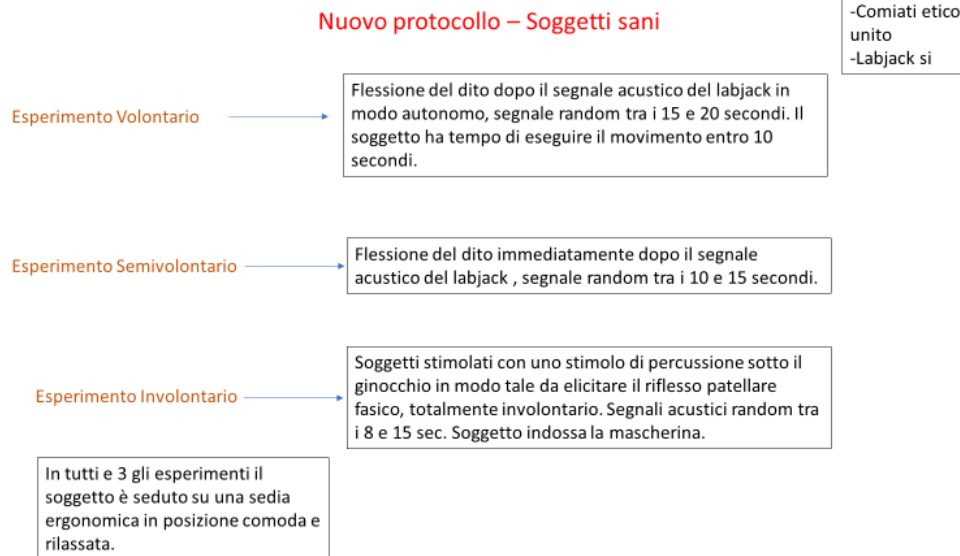


Figura 14 . Rappresentazione schematica del nuovo protocollo attualmente utilizzato al Centro Puzzle di Torino per i soggetti di controllo. In questo protocollo si utilizzano tre task differenti per distinguere i movimenti volontari da quelli involontari e stereotipati; durante il primo task il soggetto deve compiere una flessione scattante dell'indice destro in un finestra temporale di 10 secondi dopo aver udito il segnale acustico attraverso l'utilizzo del Labjack, che è uno strumento che permette di convertire un segnale acustico in un segnale di tensione permettendo la sincronizzazione tra il segnale audio e le tracce EEG, in questo modo il movimento è del tutto volontario poiché dipende dal soggetto in esame. Nel secondo task il soggetto deve compiere una flessione del dito indice della mano destra subito dopo il segnale acustico, in questo modo il movimento è un movimento volontario, ma "costretto" ad avvenire in un preciso istante. Nel terzo e ultimo task il soggetto non compie più il movimento, ma viene colpito tramite un martelletto dallo sperimentatore per attivare il riflesso patellare, in questo modo il movimento è del tutto involontario. Il protocollo è stato approvato dal comitato etico.

• Selezione soggetti:

La scelta dei soggetti è stata effettuata in modo da avere un gruppo eterogeneo in età e sesso:

- Volontari neurologicamente sani di età compresa tra 18 e 65 anni

Venivano esclusi i soggetti:

- Di età inferiore o superiore a quella dichiarata nel criterio di inclusione

- Che soffrivano di eczema/dermatite sul cuoio capelluto
- Che presentavano cicatrici estese sul cuoio capelluto
- Che soffrivano di allergie verso alcool o gel abrasivo
- Presenza di patologie neurologiche e psichiche gravi che potevano interferire con l'esecuzione del compito
- Incapacità di fornire un consenso informato
- Soggetti che non erano in grado di eseguire i compiti richiesti dalla procedura sperimentale
- Portatori di pacemaker cardiaci, stimolatori nervosi, impianti cocleari
- Presenza di altro materiale ferromagnetico a livello cranico (protesi, punti meccanici di sutura, schegge e frammenti metallici per esiti di interventi chirurgici o traumi)

Ad ogni partecipante è stato fatto firmare l'informativa in cui è spiegata la procedura nel dettaglio e dopo si è passati alla sperimentazione. Lo studio e le procedure sono stati approvati dal comitato etico.

Set-up sperimentale



Figura 15 Materiale utilizzato nell'esperimento

- 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 conduttrice TEN20 , pasta abrasiva NUPREP, gel conduttivo per EEG, siringa con ago smussato per il montaggio della strumentazione
- Computer con OpenSesame e Labjack per il segnale acustico
- Sistemi di supporto: carrello, sedia, tavolo.

- **Montaggio**

Dopo aver pulito la cute del paziente con del cotone idrofilo imbevuto di alcool e si posiziona la cuffia pre-cablata con gli elettrodi posizionati secondo il sistema internazionale 10/20. Per il montaggio lo

sperimentatore utilizza una pasta abrasiva per rimuovere eccesso di sebo e cellule morte dalla cute del paziente per permettere maggiore aderenza e per il posizionamento viene utilizzato un gel elettroconduttivo assicurando un'impedenza inferiore a 5 k Ω . Due elettrodi sono posizionati sopra gli occhi per registrare l'attività oculare (EOG) da poter rimuovere l'artefatto generato sul segnale.

Per quanto riguarda il segnale EMG vengono posizionati 2 elettrodi sull'indice destro (nella zona della prima falange dorsale e palmare) per i primi due task e due elettrodi sulla gamba destra (sul quadricipite femorale e uno sul muscolo tibiale anteriore) per il terzo task.

- **Esperimento:**



Figura 16 Schema nuovo protocollo per i soggetti di controllo: montaggio, esperimento e acquisizione dati.

Il volontario viene fatto sedere su una sedia ergonomica, con i piedi sollevati per lo svolgimento del task involontario e gli si richiede di acquisire una posizione il più comoda e naturale possibile, dopo di che si istruisce il soggetto e si verifica che tutta la strumentazione sia posizionata correttamente.

Ad ogni partecipante viene richiesto lo svolgimento di 3 task:

- Movimento volontario

- Movimento semivolontario
- Movimento involontario

Per il movimento volontario viene richiesto al soggetto di compiere la flessione del dito indice destro dopo il segnale acustico (il segnale parte dal Labjack, descritto dettagliatamente nel capitolo terzo) entro una finestra temporale di 10 secondi. In questo modo il movimento è del tutto volontario perché la scelta su quando compiere il movimento dipende totalmente dal soggetto in esame.

Per il movimento semivolontario invece viene richiesto di compiere la flessione dell'indice subito dopo il suono acustico che avviene in maniera random per non creare preavviso nel soggetto.

Infine, per il movimento involontario non è il soggetto a compiere un movimento, ma è l'operatore che va a stimolare il riflesso patellare tramite un martelletto. Lo sperimentatore indossa le cuffie per il suono acustico e va a sollecitare con un martelletto il ginocchio del volontario che per questo task indossa una mascherina sugli occhi in modo da non essere influenzato da stimoli esterni.

Per ciascun task si registrano 40 trial scanditi da un segnale audio, il quale ha una durata random in modo da non abituare il cervello. Inoltre l'intervallo del segnale audio ha una durata differente per ciascun task, infatti per il primo esperimento il tempo deve essere più lungo per lasciare al soggetto in esame il tempo di decidere su quando muovere il dito, mentre per il secondo ciò non è necessario. La finestra temporale tra un suono ed il successivo un numero casuale tra:

- 12-17 secondi nel primo task
- 10-15 secondi per il secondo
- 8-15 secondi per il terzo task.

2.6 Salvataggio dati

Tutti i dati registrati dagli esperimenti descritti precedentemente sono stati salvati utilizzando una specifica codifica, qui di seguito descritta, per poter riconoscere velocemente durante l'analisi dati di quale protocollo si tratta, quale montaggio e quale task.

Il file viene salvato con una stringa lunga 45 caratteri così suddivisi:

- 8 caratteri che identificano il soggetto in esame (prima lettera del nome, prima lettera del cognome, ultima cifra dell'anno di registrazione, ultime due cifre dell'anno di nascita, mese di nascita, 0/1 per maschio/femmina);
- 5 caratteri per il montaggio degli elettrodi dell'EEG (32C18 per il montaggio con la cuffia a 34 elettrodi, OBE12 per il montaggio con gli elettrodi a ponte);
- 4 caratteri per indicare il protocollo utilizzato per i controlli (A18C per il nuovo protocollo, B18C per il vecchio protocollo, VOPC per le registrazioni precedenti al vecchio protocollo)
- 3 caratteri per indicare se il soggetto era bendato o no (FOL per i bandati, UNF per i non bandati);
- 5 caratteri per indicare se il task era volontario, semivolontario o involontario(rispettivamente VOL18, SEM18, INV18);
- 4 caratteri per indicare il task :
 - RFOF right forefinger,

- LFOF left forefinger
- BFOF bimanual forefinger
- RMOU right mouse
- RLEG right leg
- LLEG left leg
- RFOO right foot
- LFOO left foot
- RHLE mano+gamba destra
- LHLE mano+gamba sinistra
- 4 caratteri per il canale EMG (EMG1 per il canale 1, EMG2 per il canale 2, EMGX per il canale senza numero);
- 2 caratteri per il valore assegnato al tracciato EMG E + (0 1 2 3);
- 2 caratteri per il valore assegnato al Labjack L+ (0 1 2 3)

Esempio di stringa:

TC995011_32C18_A18C_UNF_VOL18_RFOF_EMG1_E3_L2

Il primo gruppo indica il soggetto, seguito dal montaggio della cuffia pre-cablata, è stato utilizzato il protocollo nuovo, il soggetto non era bendato, il

task era il task volontario standard (quello della flessione del dito indice destro, il canale EMG1 era il primo, il segnale EMG è un molto buono e il segnale del labjack è buono.

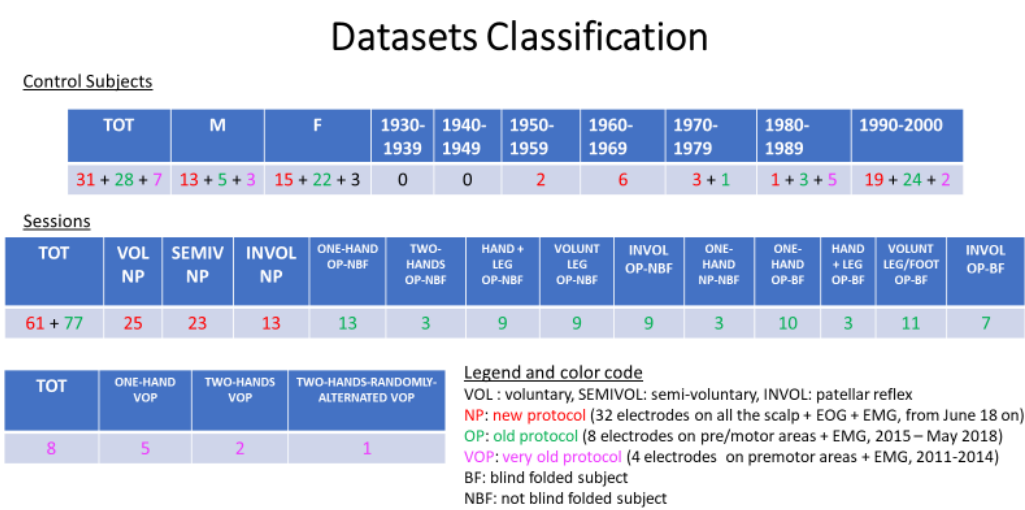


Figura 17. In figura sono rappresentati il numero dei soggetti volontari che hanno preso parte al progetto: 31 soggetti per il nuovo protocollo 2018, 28 soggetti per il vecchio protocollo 2015 e 7 per le prime prove effettuate.

Capitolo 3

Strumentazione

3.1 Introduzione

In questo capitolo verrà illustrata la strumentazione utilizzata nel nuovo protocollo sperimentale in maniera dettagliata e i metodi di analisi adottati una volta registrato il segnale. Per quanto riguarda il segnale EEG, l'apparecchiatura di registrazione dell'elettroencefalogramma è il Galileo NT e per il montaggio viene utilizzata una cuffia pre-cablata a 34 elettrodi posizionati secondo il sistema internazionale standardizzato 10-20.

Per il segnale EMG vengono usati elettrodi monouso adesivi pre-gelati in colori differenti per registrare il segnale EMG delle mani, gambe e segnale EOG per l'attività oculare. Inoltre, vengono utilizzati come riferimento da terra braccialetti antistatici.

Per la produzione del segnale acustico viene utilizzato il DAQ LabJack U3-LV e OpenSesame: il segnale acustico viene prodotto tramite il programma

OpenSesame, il quale è un programma ideato per gli esperimenti psicologici e neuroscientifici, di semplice uso e programmabile attraverso il linguaggio Python.

Il Labjack permette di mettere in comunicazione il pc con le informazioni riguardante il tempo che scandisce l'esperimento e la testina dell'EEG, in questo modo è possibile ritrovare il segnale audio sul tracciato EEG così da sapere quando aspettarci i Readiness Potential.

Un altro strumento utilizzato è il pulsante, collegato alla testina dell'amplificatore permette di scartare i trial non buoni o indicare quelli migliori.

Una volta acquisiti e salvati i tracciati EEG si utilizza MATLAB, un software per il calcolo numerico e analisi statistica in linguaggio C, in questo studio si usa la versione 2019b; in particolare è utile il Toolbox di Matlab, EEGlab, che permette di lavorare sui segnali EEG in maniera semplice e diretta. Il segnale acquisito necessita di essere filtrato e rielaborato poiché ricco di rumori ed artefatti. Il segnale viene quindi filtrato e successivamente diviso in epoche sincronizzate al segnale EMG.

3.2 Registrazione EEG

3.2.1 Sistema internazionale 10-20

Il Sistema Internazionale 10-20 descrive il posizionamento standard degli elettrodi secondo linee ideali fondamentali:

- linea sagittale antero-posteriore, mediale e laterale
- linea coronale frontale centrale e parietale

queste linee vengono impostate attraverso punti di repere fissi che sono:

- nasion, che è il punto d'incontro tra osso nasale e osso frontale,
- inion, che è una protuberanza esterna dell'osso occipitale
- punti pre-auricolari

Ogni elettrodo è posizionato a distanza di 10% o 20% della lunghezza della linea.

Si contraddistinguono le regioni della corteccia con una lettera:

- F – lobo Frontale (Fp – Frontopolare)
- T – lobo Temporale
- P – lobo Parietale
- C - Centrale
- O– lobo Occipitale

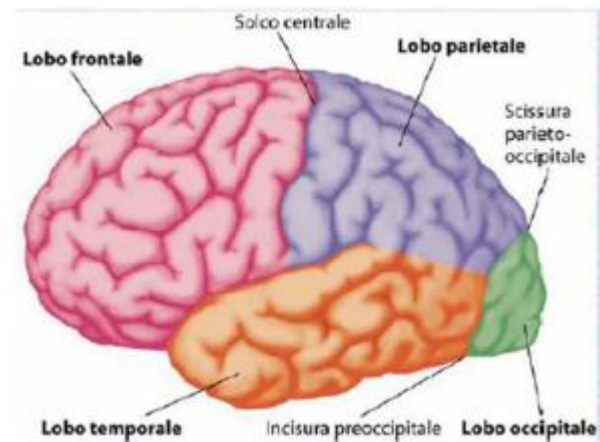


Figura 18 Regioni corteccia cerebrale

Alla lettera si aggiunge un numero posizionale, dispari per l'emisfero sinistro, pari per l'emisfero destro e la Z per la linea mediana.

In questo modo si ottengono quindi 21 posizioni elettrode standard:

Fp2,F4,F8,C4,P4,T4,T6,O2 a destra; Fp1,F3,F7,C3,P3,T3,T5,O1 a sinistra;

Fz,Cz,Pz lungo la linea mediana; A2 e A1 come elettrodi auricolari di riferimento.

Di recente l'ACNS ha proposto un'estensione del Sistema 10-20 definendolo

10-10, in questo modo è possibile aumentare di 75 posizioni sullo scalpo per

altrettanti elettrodi posti lungo 11 catene sagittali e 9 coronali.

La cuffia pre-cablata utilizzata nello studio sperimentale è una cuffia con 34 elettrodi ottenuti con il sistema internazionale 10-20 con l'aggiunta di 11 elettrodi rispetto a quelli standard così da avere un'informazione più ampia delle onde cerebrali della corteccia.

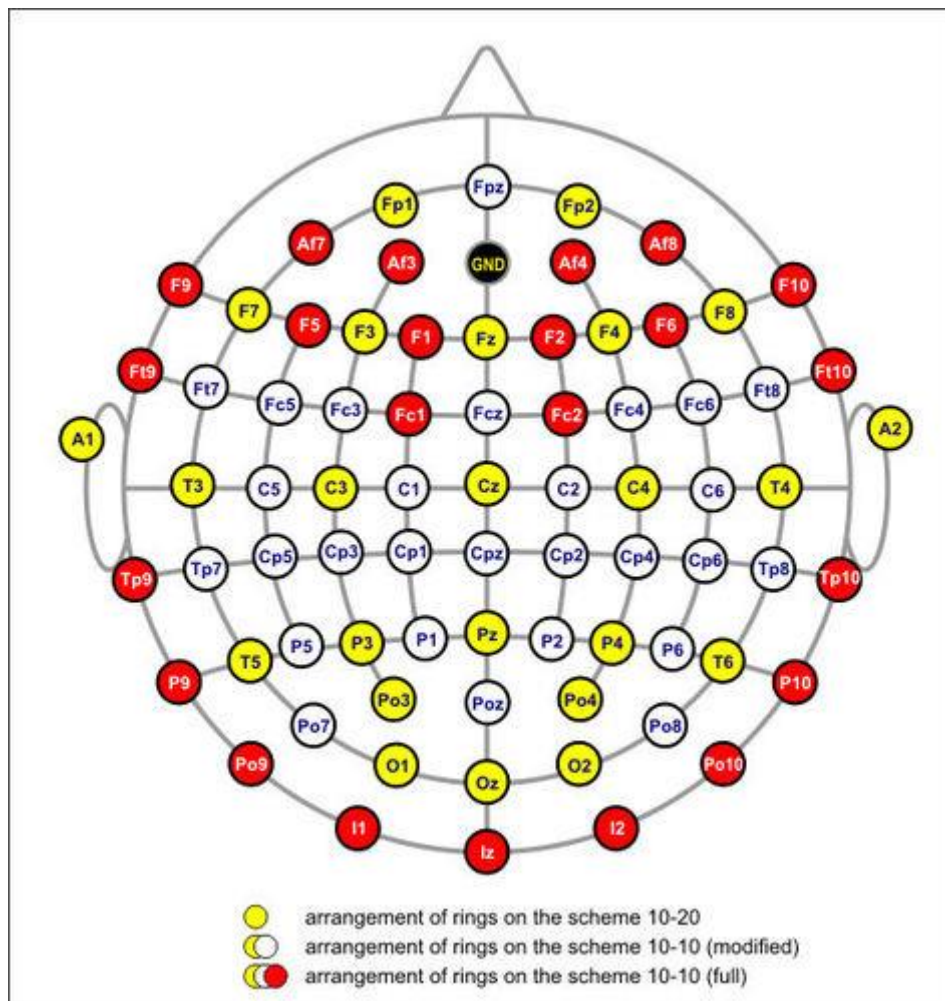


Figura 19 Elettrodi secondo il Sistema Internazionale 10-20 e 10-10.

3.2.2 Galileo NT

L'elettroencefalografo utilizzato è il Galileo NT composto anche da un amplificatore, un pc di visualizzazione e acquisizione.



Figura 20 Strumentazione Galileo NT

- **Amplificatore EEG**

La testina EEG utilizzata è composta da 64 ingressi:

- Gli ingressi celesti sono riferiti al Ground, ossia al riferimento a terra:

qui si inseriscono lo spinotto relativo al canale Pz e gli spinotti relativi ai riferimenti degli arti,
- Gli ingressi rossi REF sono utilizzati per il riferimento biauricolare:

inizialmente venivano utilizzati due riferimenti auricolari (orecchio destro e sinistro) per poi passare ad un solo riferimento auricolare, orecchio destro,

- Gli ingressi intorno alla testa collegati al riferimento REF sono ingressi monopolari utilizzati per gli elettrodi della cuffia,
- Gli ingressi bipolari (indicati con una lettera): utilizzati per collegare il segnale EMG, il Labjack ed il Pulsante. Sono canali indipendenti tra loro e presentano un morsetto – ed un morsetto +.

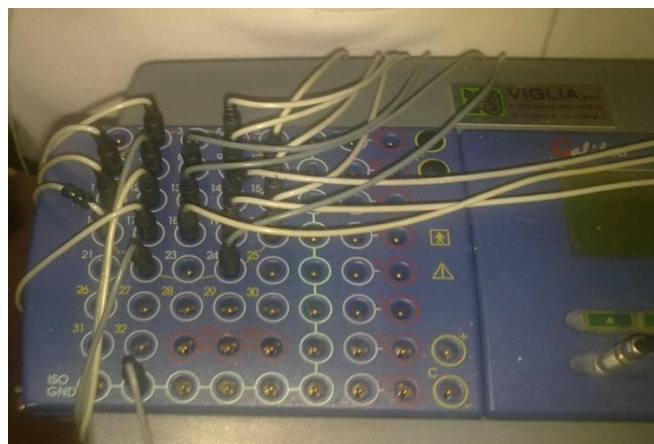


Figura 21 Amplificatore EEG

I segnali cerebrali registrati dalla corteccia del soggetto in esame vengono trasmessi attraverso gli elettrodi all'amplificatore differenziale, ogni canale è composto da un amplificatore differenziale con un ingresso invertente e uno non invertente.

A seconda della richiesta sperimentale gli elettrodi possono essere posizionati secondo derivazioni monopolari o bipolari. La registrazione monopolare preleva il segnale nelle zone più in profondità rispetto alla

registrazione bipolare, la quale invece rappresenta la differenza tra i due elettrodi e quindi mostra il segnale proveniente dalla corteccia più esterna. Per quanto riguarda la prima conformazione (monopolare), uno degli elettrodi viene posizionato sull'area elettricamente attiva, mentre l'altro (elettrodo di riferimento) in un sito elettricamente neutro (ad esempio il lobo dell'orecchio), nella bipolare invece gli elettrodi sono posizionati entrambi su siti attivi.

In questo studio si è optato per un montaggio in configurazione monopolare con riferimento biauricolare ottenuti collegando un elettrodo su ciascun lobo dell'orecchio. Oltre a questo, un amplificatore per operare ha bisogno anche di una connessione a terra per permettere alla corrente di passare tra essa e l'elettrodo attivo o di riferimento, in questo studio si è utilizzato l'elettrodo Oz come riferimento a terra.

Utilizzando elettrodi di superficie il segnale elettrico in uscita è molto debole poiché va da 25 a 100 μV , compito dell'amplificatore quindi è quello di andare ad amplificare il segnale per trasmetterlo e visualizzarlo senza che esso sia coperto dal rumore di trasmissione e distorsioni. Oltre

all'amplificazione, il segnale viene campionato e dopo di che reso disponibile

al pc per la visualizzazione dall'utente.

Al pc di acquisizione è possibile visualizzare il segnale durante la registrazione, selezionare quali canali visualizzare e quali filtri applicare (solo per la visualizzazione).

Tutorial Software Galileo NT:

1. Dalla schermata del Desktop aprire il software Galileo NT (figura 22)

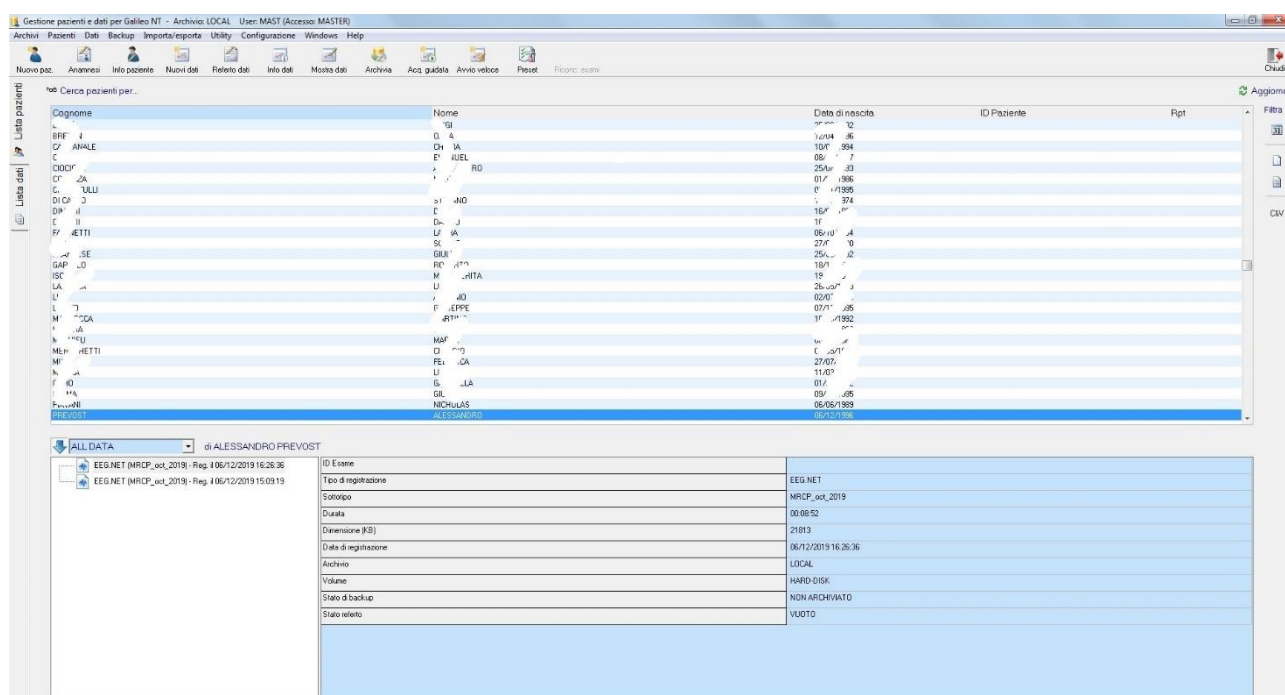


Figura 22 Schermata iniziale del software Galileo

2. Inizialmente è necessario registrare il nuovo soggetto con l'inserimento dei suoi dati anagrafici, si seleziona l'icona nuovo paziente (figura 23)

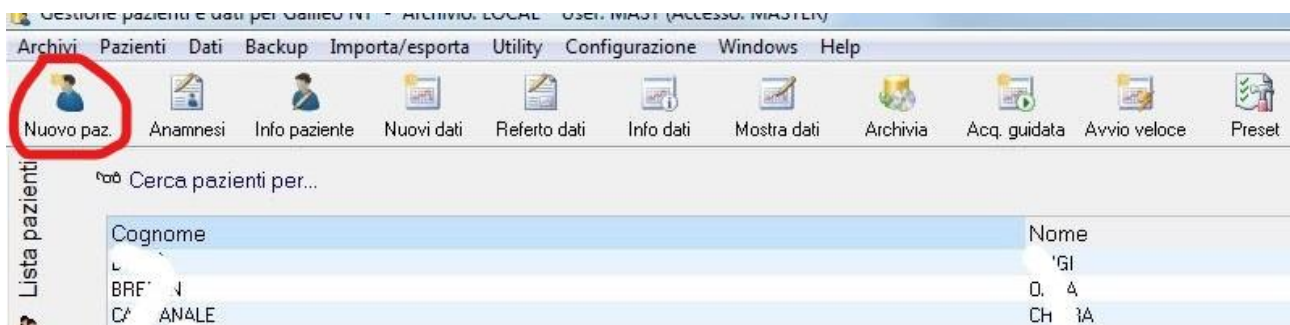


Figura 23 Icona nuovo paziente per l'inserimento dei dati

- Una volta aperta la schermata relativa ai dati del paziente, si inseriscono i dati e si conferma il nuovo paziente (figura 24).

Figura 24 Schermata per l'inserimento dei dati del nuovo paziente

4. Successivamente bisogna selezionare il protocollo da utilizzare (il nostro è chiamato MRCP_oct_2019) attraverso l'icona nuovi dati e confermare (immagine 25), è possibile inoltre cambiare le impostazioni dei parametri per la visualizzazione di ciascun canale cliccando sull'icona del protocollo: in questo modo si apre la finestra dedicata (figura 26). Sulla schermata i dati sono così suddivisi: un riquadro per le etichette cefaliche con 6 colonne:

- Colonna 1: Nome del canale
- Colonna 2: Frequenza di campionamento
- Colonna 3: Etichetta sorgente, ossia su quale spinotto è posizionato l'elettrodo di quel canale
- Colonna 4: Tipo di accoppiamento (AC o DC)
- Colonna 5: Range dinamico
- Colonna 6: Polarità

un riquadro per le etichette poligrafiche con 9 colonne:

- Colonna 1: Nome del canale
- Colonna 2: Frequenza di campionamento
- Colonna 3: Tipo di canale (oculare, EMG, ecc)
- Colonna 4: Sottotipo
- Colonna 5: Etichetta sorgente, ossia su quale spinotto è posizionato l'elettrodo di quel canale, per queste sorgenti si utilizzano gli spinotti indicati con una lettera (A per l'EOG destro, B per l'EOG sinistro, E per il segnale EMG, F usato per EMG in caso di problemi del canale E, G per il Labjack e H per il pulsante)
- Colonna 6: Tipo di accoppiamento (AC o DC)
- Colonna 7: Range dinamico
- Colonna 8: Tipo di sensore
- Colonna 9: Polarità

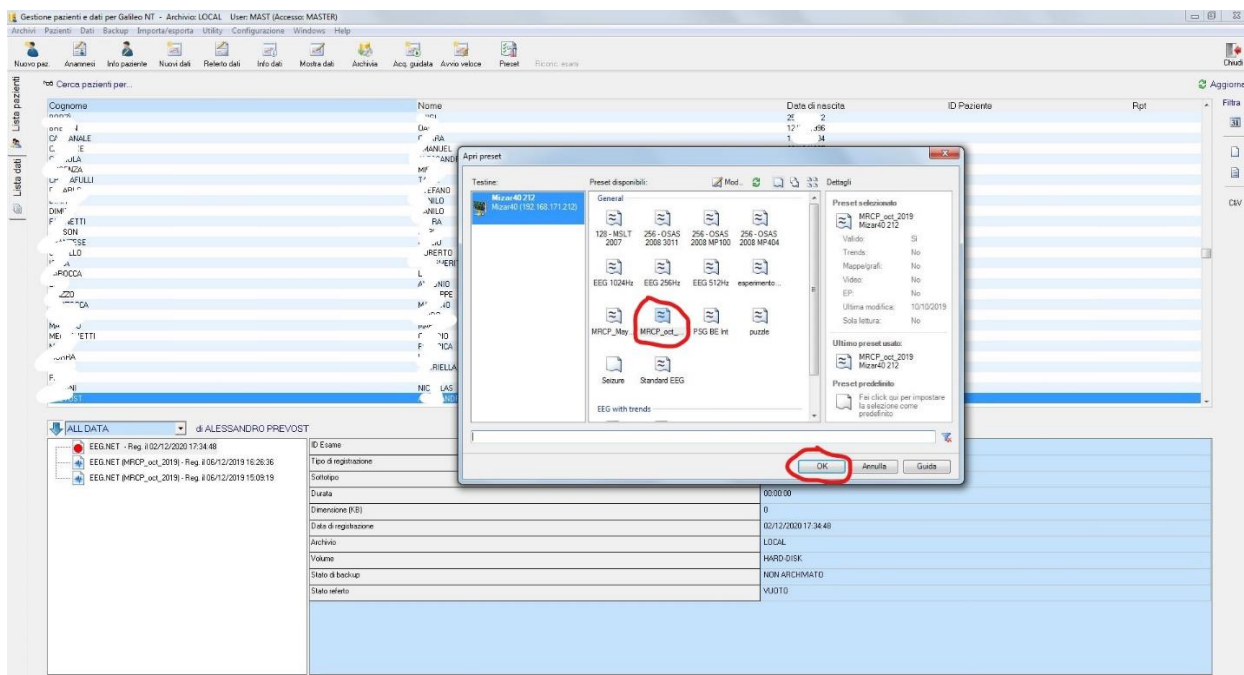


Figura 25 Schermata dedicata alla scelta del protocollo

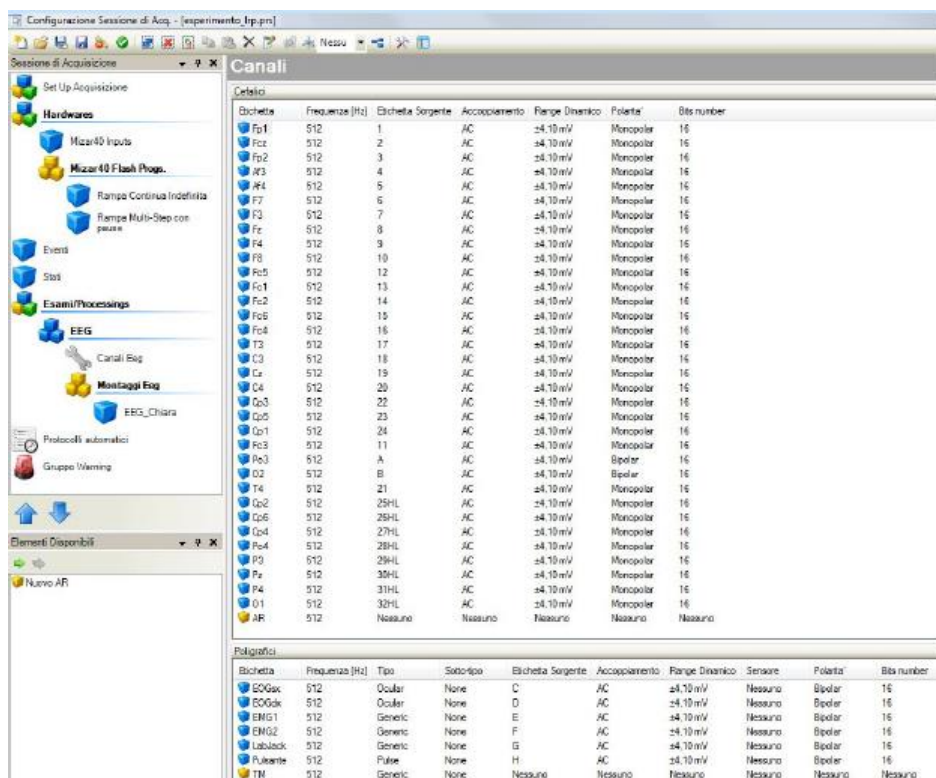


Figura 26 Schermata relativa all'impostazione dei parametri dei canali per la visualizzazione

5. A questo punto si apre la schermata di registrazione (figura 27) , prima di procedere alla registrazione del segnale durante l'esperimento, è necessario controllare l'impedenza degli elettrodi durante il montaggio cliccando l'icona dell'impedenza, si seleziona il montaggio relativo al SI 10-20 e a questo punto si apre una schermata con tutti gli elettrodi sullo scalpo e le relative impedenze, una volta che tutti gli elettrodi presentano un'impedenza inferiore ai 5 K Ω (attraverso il montaggio spiegato nel capitolo relativo ai protocolli) si conferma (figura 28)

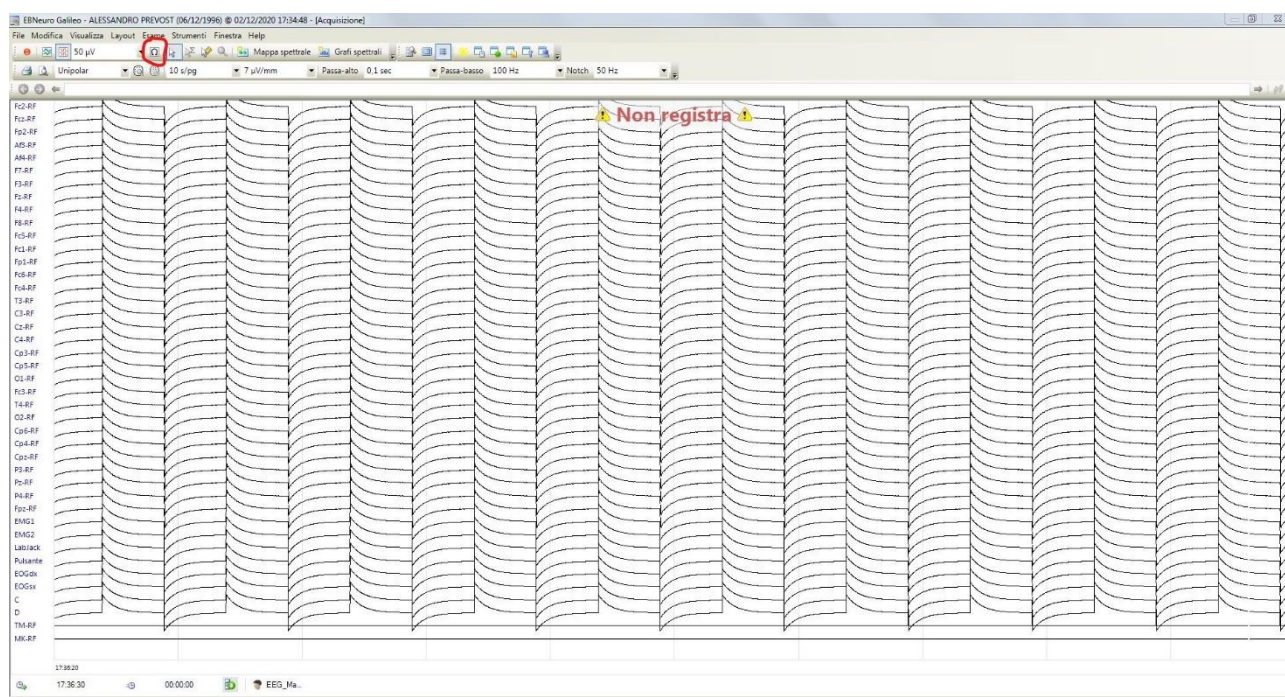


Figura 27 Schermata principale di registrazione, da qui si seleziona l'icona per aprire la schermata relativa all'impedenza degli elettrodi

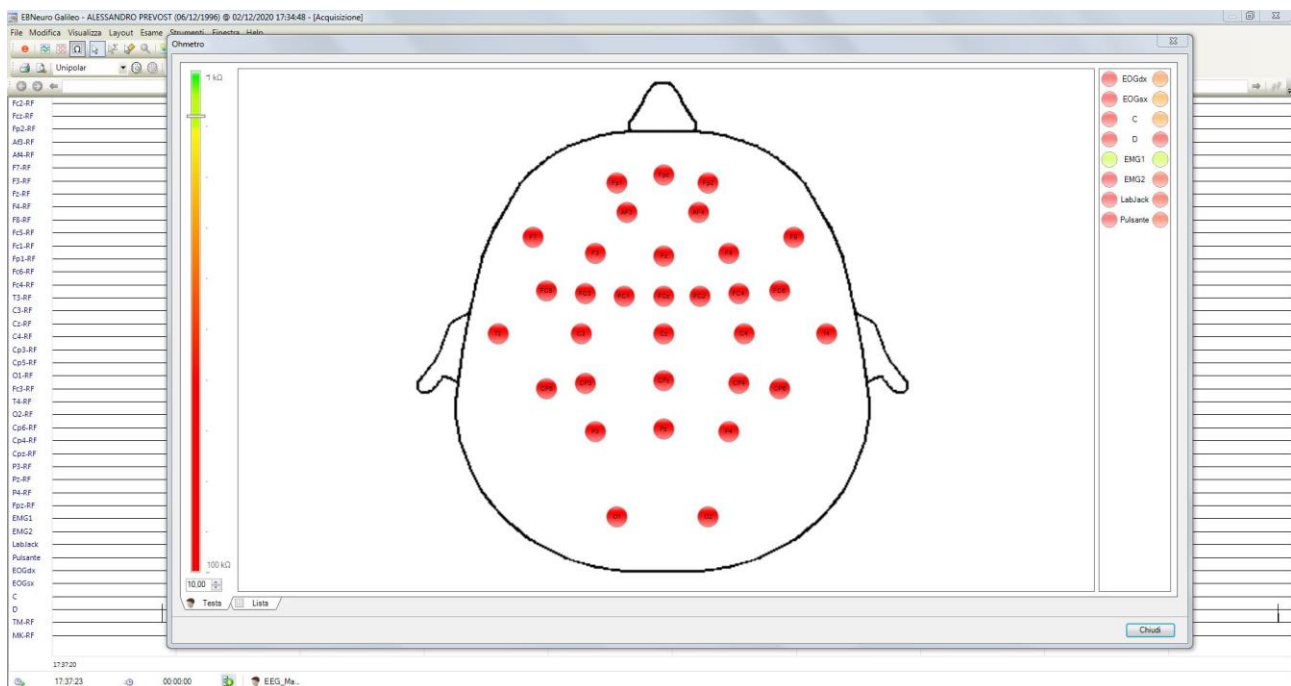


Figura 28 Impedenza elettrodi, è necessario che sia inferiore a 5 K Ω

6. A questo punto è possibile procedere con l'esperimento, una volta che il soggetto è pronto ed è stato istruito per l'esperimento, si inizia a registrare cliccando sull'apposita icona, inoltre per la visualizzazione è possibile inserire dei parametri per migliorare l'aspetto del segnale (figura 29)

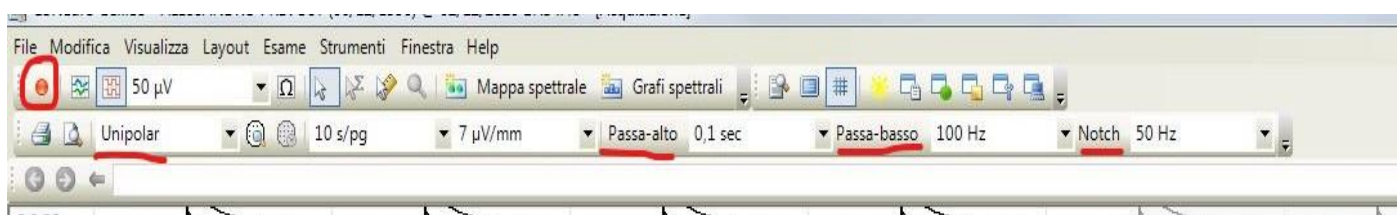


Figura 29 Icona per la registrazione e inserimento parametri per la visualizzazione del segnale durante l'acquisizione

I nostri parametri impostati sono per il segnale EMG:

- Range: 65mV,
- Sample frequency: 512Hz
- Pass-band filter cut-off frequencies: $[500 \div 5]$ Hz
- Notch filter cut-off frequency: 50Hz

Per il segnale EEG:

- Range: 4mV
- Sample frequency: 512Hz
- Pass-band filter cut-off frequencies: $[50 \div 0.015]$ Hz,
- Notch filter cut-off frequency: 50Hz

7. Alla fine dell'acquisizione, la registrazione viene stoppata attraverso la stessa icona utilizzata per l'avvio della registrazione ed il software permette il salvataggio dei dati in diversi formati, in questo studio si è

deciso di salvare in formato *.asc*: File → esporta → in formato *.asc* → si selezionano tutti i canali → si imposta la frequenza di campionamento (512 Hz) → si esporta il file.

NOTA BENE: Durante il percorso di questo studio ci siamo resi conto di quanto sia importante la fase di registrazione ed acquisizione del segnale. Spesso durante l'analisi dei segnali sarebbe stato utile avere qualche informazione in più sul montaggio e sull'esecuzione dell'esperimento di quel soggetto, per questo è consigliato allegare al file *.asc* del soggetto anche un file note con informazioni riguardanti l'esperimento. Ad esempio, è capitato di dover spostare lo spinotto del Labjack dal suo "solito" ingresso ad un altro per problemi di interferenza, se non fosse stato appuntato in fase di analisi avrebbe creato problemi e rallentamenti nello studio del segnale.

3.3 EMG

Per quanto riguarda il segnale EMG si utilizzano elettrodi monouso pre-gelati:

- 2 per il segnale EMG dell'indice
- 2 per il segnale EMG della gamba
- 4 per il segnale EOG degli occhi, ciò viene fatto per permettere di identificare gli artefatti oculari in maniera più veloce.

Inoltre, si utilizza un bracciale antistatico per il riferimento a terra.



Figura 30 elettrodi EMG e braccialetto per il riferimento a terra

3.4 Segnale di cue nel segnale acustico e nel segnale EMG

Per la generazione del segnale acustico, che regola i tempi sui movimenti dei task da compiere durante l'esperimento, si utilizza OpenSesame, un software pensato per gli esperimenti neuroscientifici e psicologici, che utilizza come linguaggio di programmazione Python. In questo esperimento, partendo da una GUI iniziale si seleziona quale dei tre task si vuole svolgere e il software produce il segnale audio nei tempi prestabiliti nel programma.



Figura 31 GUI di OpenSesame

Per poter sincronizzare il segnale audio con il segnale EEG viene utilizzato il DAQ LabJack U3-LV, che trasmette il segnale audio dal pc alla testina dell'EEG, quando il suono viene prodotto, il canale della DAQ

precedentemente impostato come pin di output digitale, viene portato ad 1 logico (LLA) per poi reimpostarlo a zero logico (LLB). In questo modo si ottiene un segnale in tensione che rappresenta la storia temporale del segnale audio in ogni task., in questo modo è possibile avere un'idea di quando i RP devono avvenire sul tracciato EEG.



Figura 32 Labjack

Per garantire l'isolamento tra la parte di ingresso e di uscita del circuito si utilizza un fotocoppiatore, il quale è costituito da un diodo emettitore e un fototransistor. Il suo funzionamento è molto semplice: il diodo dopo essere stato eccitato emette una radiazione luminosa che provoca la conduzione del transistor così da creare una trasmissione fotonica del segnale.

L'isolamento tra ingresso ed uscita viene così garantito poiché vi è la trasmissione del segnale senza che vi sia la continuità del dal punto di vista elettrico, infatti non vi è uno scambio di corrente elettrica tra due punti, ma piuttosto uno scambio attraverso le onde luminose. In questa tesi si è utilizzato il 4N35 di VISHAY come componente elettronico utilizzato per ottenere il disaccoppiamento tra l'uscita della DAQ e l'ingresso della testina EEG.

Inoltre, viene utilizzato anche uno strumento chiamato pulsante, realizzato con una batteria e un partitore resistivo collegato poi alla testina dell'amplificatore. Quando il pulsante viene premuto si chiude il circuito e viene trasmessa una tensione in uscita alla testina dell'amplificatore.

3.5 Analisi dati

Una volta salvati i dati in formato *.asc* con tutti i canali selezionati e con la frequenza di campionamento a 512 Hz, è possibile tramite il software Matlab analizzare ed elaborare i segnali acquisiti.



Figura 33 Logo Matlab

In particolare, viene utilizzato il Toolbox di Matlab EEGLab, che è un toolbox interattivo per l'elaborazione di EEG di tipo continuo o evento-correlati, permette l'analisi di dati elettrofisiologici mediante analisi dei componenti indipendenti (ICA), analisi tempo / frequenza e altri metodi inclusa la rimozione di artefatti.

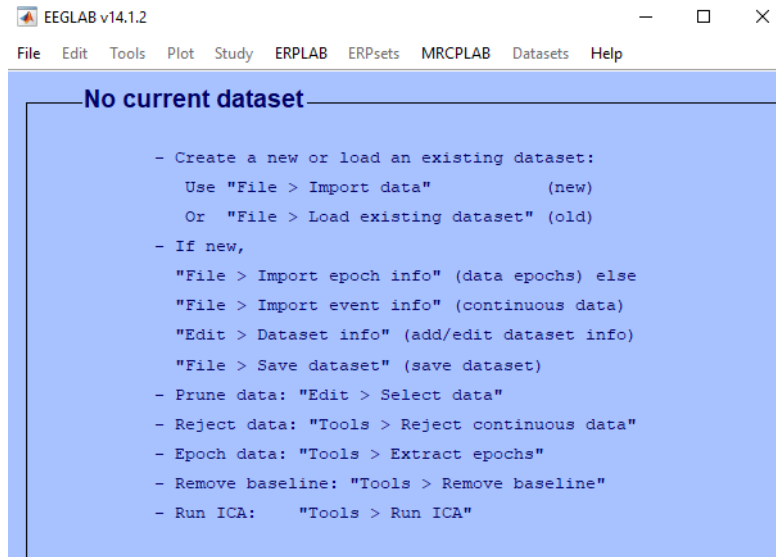


Figura 34 Interfaccia grafica EEGLab

Inizialmente EEGLab viene utilizzato per pulire i dati grezzi del segnale EEG e EMG. EEGLab permette l'installazione di diversi plugin addizionali, in questo studio si è utilizzato MRCPLAB. Per riportare il data set si seleziona MRCPLAB, import data ascii, si seleziona il dataset e si impostano dei parametri iniziali:

- **Sampling frequency:** normalmente 0;
- **Epoch duration:** 0 se è presente il segnale audio, altrimenti va specificato;
- **EMG trace name;**
- **EMG characteristics:** 0 standard, 1 impulsivo;

- **Cue Channel Name;**
- **EMG Plots:** 0 se non si vogliono i plot, 1 per plottare il segnale EMG, 2 per plottare sia il segnale EMG che il segnale audio;

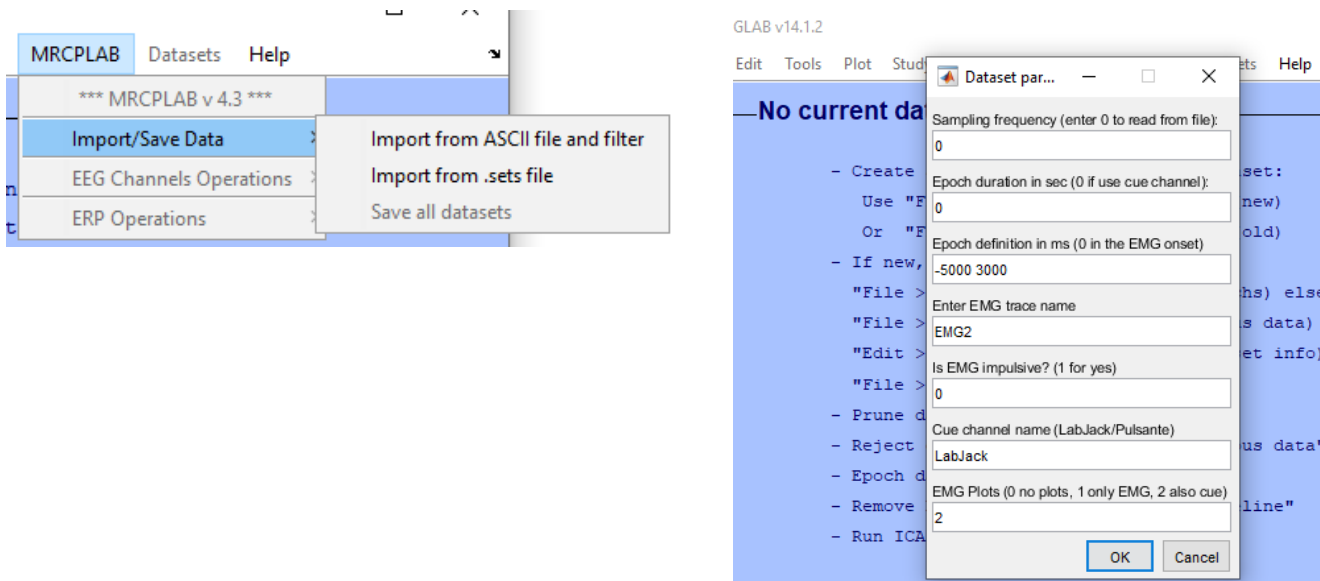


Figura 35 Importazione data set e impostazione parametri iniziali

Capitolo 4

Artefatti

4.1 Introduzione

Uno dei problemi principali durante la registrazione del segnale EEG è che oltre a registrare il segnale di interesse si registrano altri segnali di sorgenti extra-cerebrali, questi segnali si chiamano artefatti. È importante rimuovere gli artefatti poiché molte volte creano disturbo sul segnale e non permettono una determinazione chiara delle informazioni di interesse.

Di seguito verranno presentati i principali tipi di artefatti, quelli di natura fisiologica e quelli di natura extra-fisiologica, seguiti da esempi estratti dai segnali registrati durante la fase sperimentale. Gli esempi sono stati ottenuti con il Toolbox EEGLab di Matlab.

La rimozione degli artefatti è stata fatta tramite diversi plugin di EEGLab automatizzati basati sull'analisi delle componenti indipendenti, in particolare sono stati utilizzati SASICA e ADJUST.

4.2 Artefatti fisiologici ed extrafisiologici

Gli artefatti fisiologici sono artefatti che riguardano altri segnali del corpo diverse dal cervello, come i movimenti oculari, movimenti muscolari, movimenti della lingua, movimenti della pelle e il battito cardiaco.

- Artefatti muscolari

Sono gli artefatti più comuni da riscontrare sul tracciato EEG. Sono facilmente individuabili poiché hanno una durata più breve rispetto ai segnali cerebrali e si presentano spesso in cluster, estendendo l'artefatto su tutti gli elettrodi.

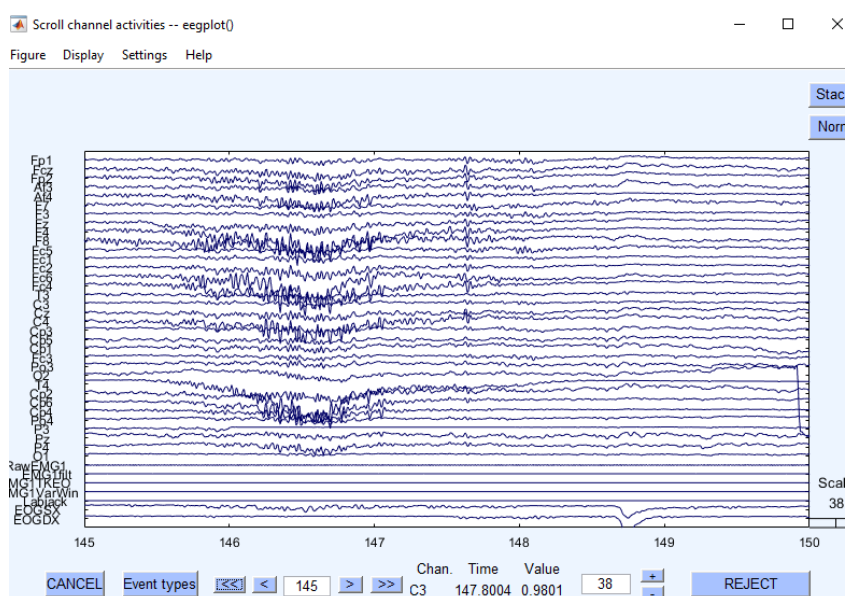


Figura 36 Artefatti muscolari

- Artefatti da movimenti linguali

La lingua funziona come un dipolo con punta negativa rispetto alla parte della radice, la punta è la zona che si muove di più creando un campo potenziale. Si presenta quando il soggetto parla o deglutisce.

- Artefatti movimenti oculari

Anche l'occhio come la lingua si comporta come un dipolo: il polo positivo è posizionato anteriormente (cornea), quello negativo posteriormente (retina).

L'occhio, ruotando attorno al proprio asse, genera un campo di corrente alternata che si ritrova soprattutto sui canali degli elettrodi più vicini: quando i movimenti sono laterali il segnale assume la forma di un'onda quadra, quando il movimento è verticale (blinking) il segnale presenta deviazioni verso il basso. Quando, oltre al segnale EEG, si registra anche il segnale EOG è più facile rimuovere questi artefatti poiché danno indicazione su quando vengono aperti e chiusi gli occhi.

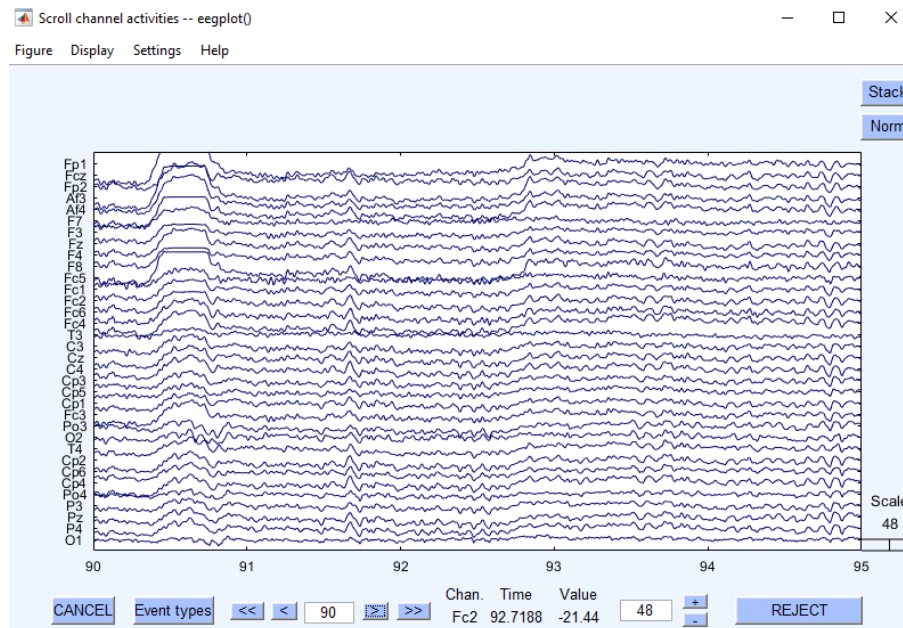


Figura 37 Artefatto oculare

- Artefatto da pelle

Questi tipi di artefatti modificano l'impedenza dell'elettrodo, provocando onde a bassa frequenza, succede quando il soggetto presenta sudorazione.

- Artefatto da movimento

Vibrazioni o movimenti del soggetto in esame portano a una variazione della linea basale del segnale che si rispecchia su tutti gli elettrodi.

- Artefatto cardiaco

Artefatto facilmente individuabile perché il segnale assume l'andamento tipico del segnale ECG

Gli artefatti extrafisiologici sono dovuti a interferenza di rete, cavi elettrici, disturbi ambientali e interfaccia elettrodo cute.

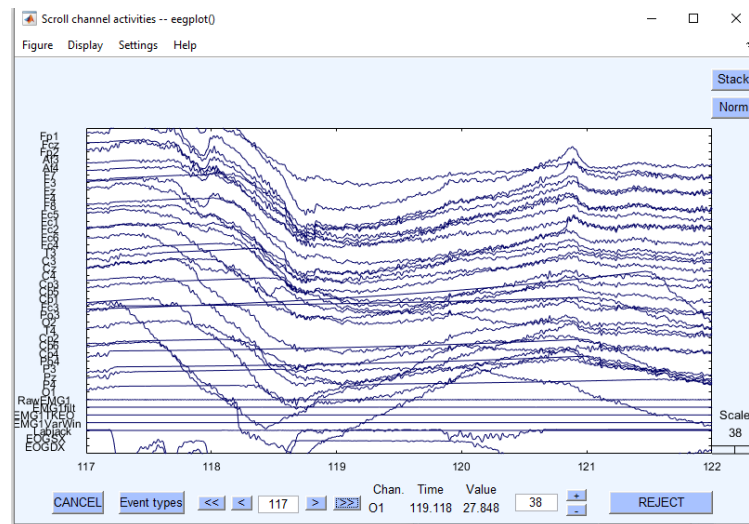


Figura 38 Artefatto da interferenza

- Artefatto da rete

Tipicamente alla frequenza di 50 Hz, si manifesta come rumore additivo. Per rimuoverlo si può inserire un filtro notch.

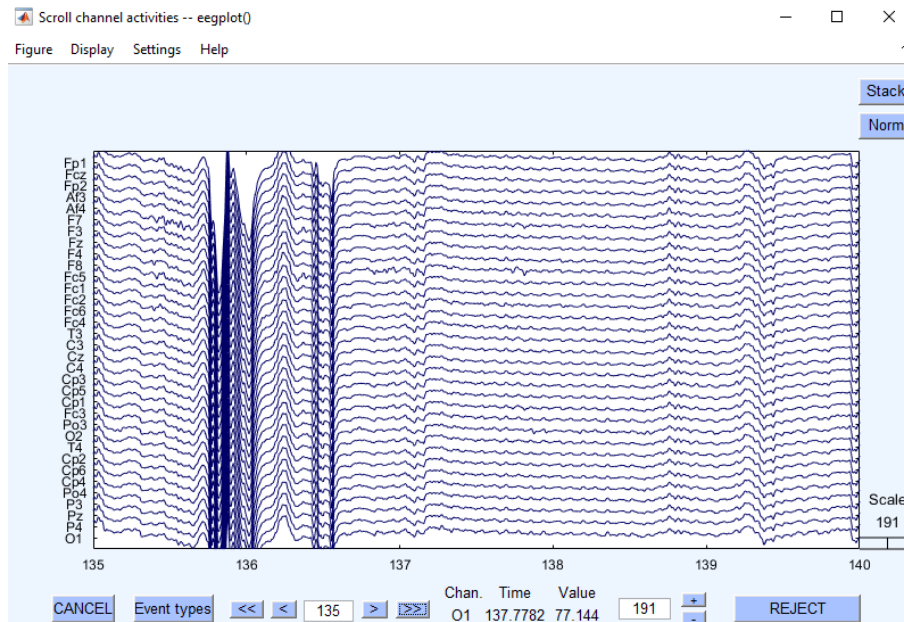


Figura 39 Artefatto da interferenza di rete

- Cavi elettrici

È importante che i cavi non siano penzolanti o tirati, poiché il loro movimento causa rumore.

- Artefatto da elettrodo

L'impedenza elettrodo-cute è importante verificarla al momento del montaggio degli elettrodi, garantendo un valore inferiore ai 5 K Ω , in caso contrario vuol dire che non c'è una buona aderenza.

- Disturbi ambientali

Alimentazione di carica, telefono, persone, ecc sono tutte fonti possibili di rumore e artefatti sul segnale EEG.

4.3 Analisi delle componenti indipendenti (ICA)

L'Independent Component Analysis ha un ruolo importante nell'ingegneria biomedica poiché l'obiettivo è quello di andare a separare segnali statisticamente indipendenti a partire da combinazioni lineari degli stessi. Nel segnale EEG registrato oltre al segnale elettroencefalografico, come visto precedentemente, vengono registrati altri segnali non di interesse che devono essere rimossi. Per identificare questi segnali un metodo utile è quello dell'analisi delle componenti indipendenti: separando le componenti del segnale è possibile riconoscere quelle extra-cerebrali e rimuoverle.

L'ICA è un metodo di analisi che fa parte della Blind Source Separation (BSS), che ha come scopo quello di stimare le sorgenti conoscendo solo la loro combinazione. Esistono diversi modi di misurare l'indipendenza, ciò da origine a diversi algoritmi BSS. L'idea alla base dell'analisi BSS è di distinguere componenti che corrispondono a distinte attività neurali e non neuronali, ad esempio, un rumore generato esternamente o un artefatto oculare. I dati vengono elaborati "alla cieca". La stima delle componenti dai dati EEG è formulata come segue: essendo che le onde elettromagnetiche in

tutta la testa si combinano in modo precoce per produrre la corrente totale misurata sul cuoio capelluto, è possibile scomporre questa corrente nelle proprie componenti, matematicamente si considerano m segnali sorgenti $S_1(t), S_2(t) \dots S_m(t)$, e si assume che siano disponibili n sensori ($n \geq m$) che acquisiscono i segnali $x_1(t), x_2(t), \dots x_n(t)$ che sono una combinazione lineare dei segnali sorgente:

$$\mathbf{x}^T(t) = \mathbf{A} \mathbf{s}^T(t)$$

$$\mathbf{x}(t) = [x_1(t), x_2(t), \dots x_n(t)]^T$$

$$\mathbf{s}(t) = [s_1(t), s_2(t), \dots s_m(t)]^T$$

in cui A è una matrice ($n \geq m$) chiamata matrice di mixing. Il problema della BSS consiste nello stimare i segnali $s_1(t), s_2(t) \dots s_m(t)$ dati solo i segnali $x_1(t), x_2(t), \dots x_n(t)$, senza conoscere la matrice A . Se A fosse quadrata e nota, ma in generale ciò non accade mai, il problema sarebbe risolto semplicemente per via algebrica:

$$\vec{s}(t) = W \vec{x}(t)$$

dove $W = A^{-1}$ è una matrice chiamata matrice di demixing. Non conoscendo però la matrice A il problema diventa più complesso.

Per risolvere questo problema, l'approccio ICA presuppone che le sorgenti siano statisticamente indipendenti, in questo modo si può utilizzare per stimare gli a_{ij} così da poter calcolare le sorgenti originali ($s_1(t)$ e $s_2(t)$) a partire dalle loro miscele $x_1(t)$ e $x_2(t)$.

Per poter utilizzare l'analisi delle componenti indipendenti bisogna considerare valide delle condizioni:

- Le sorgenti originali sono statisticamente indipendenti,
- Il numero dei sensori deve essere pari o maggiore al numero delle sorgenti,
- Il modello di mixing deve essere istantaneo e lineare,
- Il processo di mixing deve essere stazionario.

Jutten e Herault hanno implementato il primo algoritmo ICA, presentando una rete neurale ricorrente e un algoritmo di apprendimento basato sulla

versione di Hebb, questo algoritmo è riuscito a separare le miscele ciecamente (A. Hyvärinen, E. Oja, 2000).

In questa tesi si è usata un'implementazione pratica dell'ICA attraverso due plugin di EEGLab, basati sull'algoritmo INFOMAX di Bell e Sejnowski.

L'algoritmo INFOMAX è un algoritmo che si basa su una rete neurale che utilizza l'idea dell'entropia: quanto più è casuale una variabile aleatoria tanto più il suo valore di entropia sarà maggiore.

Entropia $H(Y) = -\sum P(Y = a_i) \log P(Y = a_i)$

Entropia variabili aleatorie continue $H(y) = -\int p(y) \log_2 p(y) dy +\infty -\infty$

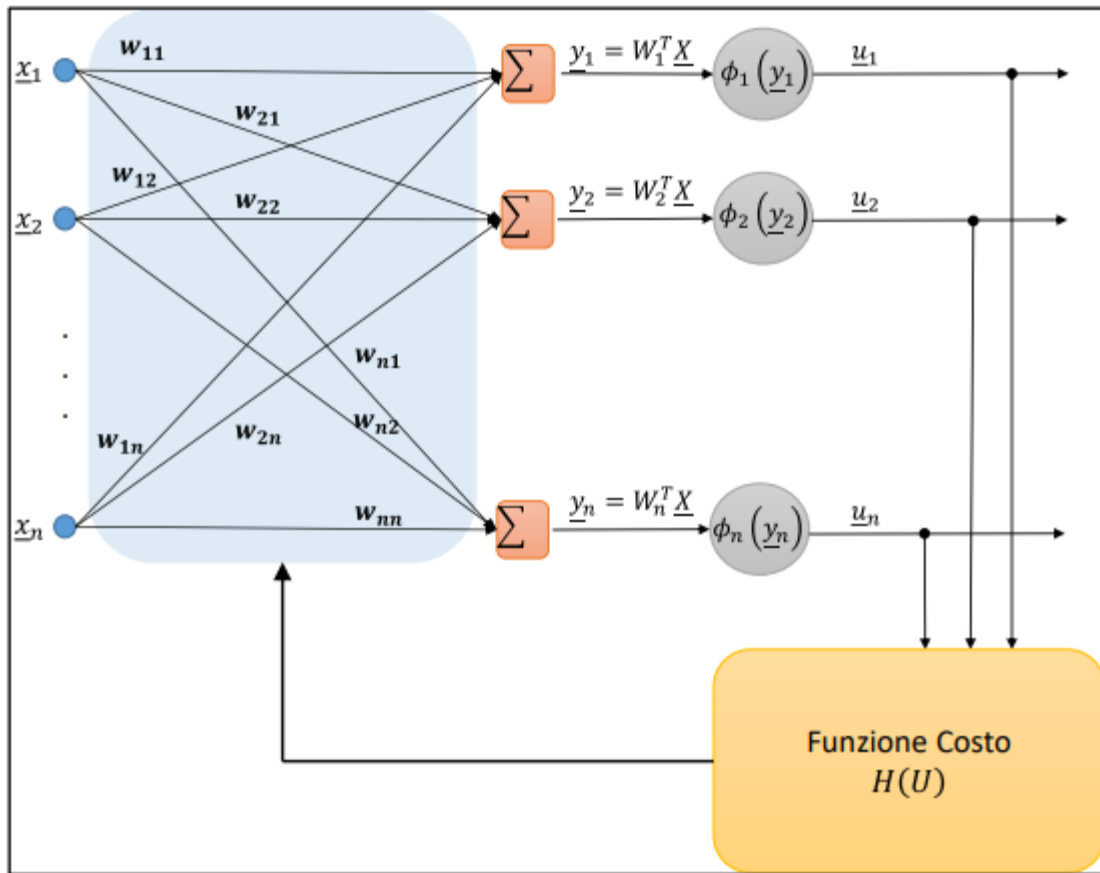


Figura 40 Algoritmo INFOMAX

Nella figura 33 è rappresentata la rete neurale utilizzata dall'algoritmo INFOMAX, in ingresso ci sono n neuroni (le variabili x_i centrate e sbiancate) ed in uscita ci sono altrettanti n neuroni in uscita, i quali ricevono come input una somma pesata degli ingressi: $y_i = w_i^T x$, w_i è il vettore corrispondente alla riga della matrice W . Viene calcolata per via di una funzione $\phi_i(\cdot)$ non lineare, una variabile di uscita u_i . Inoltre bisogna sapere che

- $\phi_i(\cdot)$ sono funzioni scalari, monotone crescenti con valore tra 0 e 1,

- Per massimizzare la funzione $H(U)$ (che rappresenta l'entropia) si utilizzano W differenti. Massimizzare $H(U)$ vuol dire trovare la matrice che minimizza la mutua informazione tra le variabili, essa è pari a 0 se e solo se le variabili sono statisticamente indipendenti.

Per concludere si può dire quindi che l'algoritmo INFOMAX può essere visto come la ricerca della matrice W che risolve:

$$\begin{cases} \max_W F_{infomax}(W) = \max_W H(\phi_1(w_1^T \underline{x}), \phi_2(w_2^T \underline{x}), \dots, \phi_n(w_n^T \underline{x})) \\ W^T W = I \end{cases}$$

La matrice W viene imposta ortogonale ossia vengono imposte componenti indipendenti a varianza unitaria. (Z. Yuan, 2016).

4 Rimozione degli artefatti : SASICA e ADJUST

Per la rimozione degli artefatti dai nostri data set si sono utilizzati due diversi plugin di EEGLab: SASICA ed ADJUST. Questi plugin vengono applicati dopo aver scomposto il nostro data set nelle sue componenti indipendenti per la ricerca degli artefatti in maniera automatizzata, infatti lo scopo è quello di trovare un metodo che rimuova gli artefatti in maniera automatica con risultati accettabili.

Dopo aver importato il nostro dataset con EEGLab come spiegato nel capitolo precedente, è possibile visualizzare il segnale EEG temporale con tutti i suoi canali (figura 30). Inoltre è possibile osservare da una prima analisi visiva come il segnale sia affetto da rumore e da diversi tipi di artefatti: eye-blinking, pelle e muscolari (figura 31). Per quanto riguarda gli artefatti da eye-blinking avendo anche il segnale EOG è più facile identificarli.

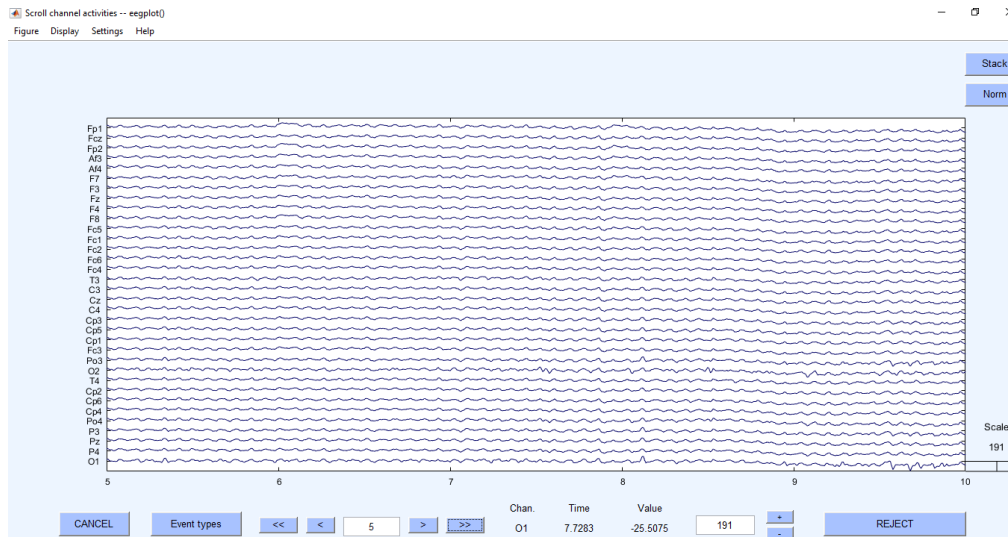


Figura 41 Plot canali EEG

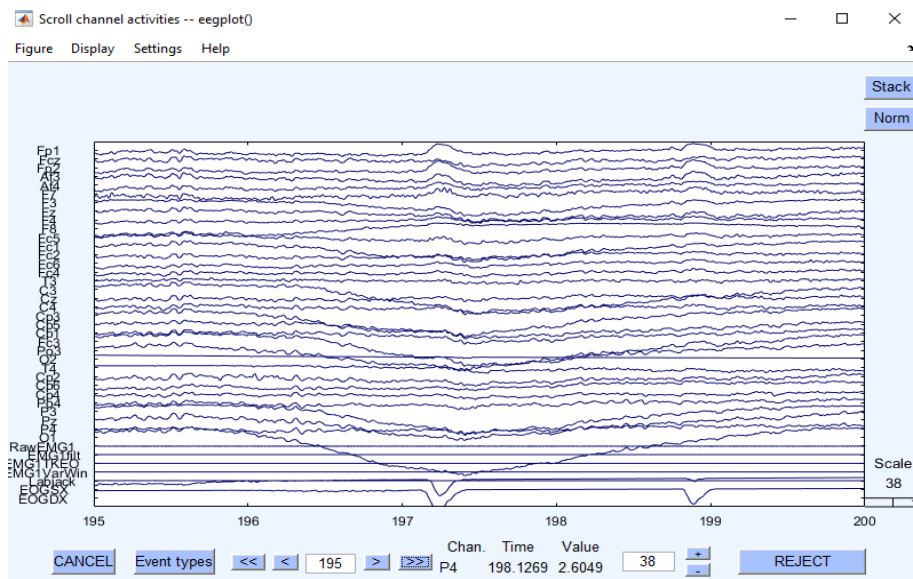


Figura 42 Artefatto eye-blinking

Ora è possibile scomporre il nostro segnale nelle sue componenti indipendenti tramite la funzione Run ICA. A questo punto i processi possono essere o di tipo

manuale-visivo, attraverso l'osservazione delle mappe topografiche è possibile riscontrare componenti tipicamente artefattuali, oppure utilizzando delle soglie che è proprio quello che va a fare il plugin.

SASICA si basa su diversi indici per identificare una componente artefattuale:

- Autocorrelazione. Di solito i componenti dell'attività neuronale sono fortemente autocorrelati intorno agli stessi ms, al contrario invece i componenti rumorosi presentano una bassa autocorrelazione. Qui viene calcolato l'autocorrelazione di ciascun componente al ritardo in ms, se il valore è inferiore ad una certa soglia viene rifiutato. Viene definita, con c componente e l ritardo (di default il ritardo è 20 ms poiché è risultata la soglia migliore), da:

$$Ac = T_{t=l} x_c(t) \times x_c(t - l)$$

- Topografia focale: Normalmente le componenti che riflettono l'attività cerebrale colpiscono più elettrodi, quindi componenti che si ritrovano solo su un elettrodo vengono considerati artefatti. Viene calcolato facendo

l'inverso dei pesi delle componenti di ciascun canale, quelli che superano con il peso massimo una certa soglia vengono rimossi.

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

Con \max_n il massimo peso di ciascun canale.

- Attività focale dei trial. Alcuni artefatti si presentano con una grande ampiezza, ma con una frequenza bassa. Questi artefatti vengono calcolati in maniera simile alla topografia focale con la differenza che lo z-score su tutti i canali viene calcolato su ogni trial (come differenza tra il punto di massimo e minimo in ampiezza) e rimossi quelli che superano una certa soglia.

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

Con \max_k il massimo tra i trial e \min_t il minimo dei punti temporali.

- Correlazione tra i canali. Se si sono utilizzati altri canali per la registrazione dell'attività oculare, SASICA permette di verificare se i componenti hanno correlazione con questi segnali impostando una soglia.

- Rapporto segnale rumore. Prendendo la deviazione standard tra un periodo di attività media e un periodo di riferimento si calcola il rapporto, se il rapporto aumenta dopo uno stimolo viene considerato artefatto. (Chaumon, M., Bishop, D. V. M., & Busch, N. A. (2015))

ADJUST anche utilizza indici per la identificazione di artefatti:

- Cutosi: molto sensibile ai valori anomali di distribuzione dell'ampiezza, è calcolata all'interno di ciascuna epoca dopo aver rimosso la media dell'epoche:

$$Temporal\ Kurtosis = trim_and_mean \left(\frac{\langle s_i(t)^4 \rangle_{ep}}{\langle s_i(t)^2 \rangle_{ep}^2} - 3 \right)$$

Dove s_i indica l'andamento temporale dell'IC nell'epoca i , ep indica la media entro un'epoca, e $trim_and_mean$ la media in epoche dopo che è stato raggiunto l'1% superiore dei valori rimossi.

- Differenza media spaziale: utile per la rilevazione di artefatti oculari poiché sensibile all'ampiezza nelle aree frontali, calcolata :

$$Spatial\ Average\ Difference = |\langle a \rangle_{FA}| - |\langle a \rangle_{PA}|$$

a è il vettore dei pesi normalizzati, FA indica la media dei canali sull'area frontale e PA la media dei canali sull'area posteriore.

- Varianza massima dell'epoca: sensibile alle grandi fluttuazioni di ampiezza nei canali frontali che sono tipicamente più lente di quelle generate dal blinking, tipiche dei movimenti oculari verticali, calcolata:

$$\text{Maximum Epoch Variance} = \frac{\text{trim_and_max}\left(\left\langle s_i(t)^2 \right\rangle_{ep} - \langle s_i(t) \rangle_{ep}^2\right)_i}{\text{trim_and_mean}\left(\left\langle s_i(t)^2 \right\rangle_{ep} - \langle s_i(t) \rangle_{ep}^2\right)_i}$$

Trim_and_max indica il valore massimo del vettore troncato dei valori di varianza delle epoche, normalizzato rispetto alla media.

- Differenza spaziale degli occhi:

$$\text{Spatial Eye Difference} = |\langle a \rangle_{LE} - \langle a \rangle_{RE}|$$

Con LE e RE la media dei canali della zona sinistra e destra rispettivamente.

- Caratteristica spaziale delle discontinuità generiche: per identificare artefatti dovuti o ad una alta impedenza degli elettrodi o ad una interferenza, presentano generalmente improvvise fluttuazione di ampiezza in un canale, il corso del tempo di questo artefatto viene

acquisito in base alla varianza massima dell'epoca, la sua distribuzione spaziale è catturata da una caratteristica sensibile allo spazio locale discontinuità:

$$\text{Generic Discontinuities Spatial Feature} = \max(|a_n - \langle k_{mn} a_m \rangle_m|)_n.$$

Con a_n l'ennesimo peso topografico, k_{mn} indica la media su tutti i canali.

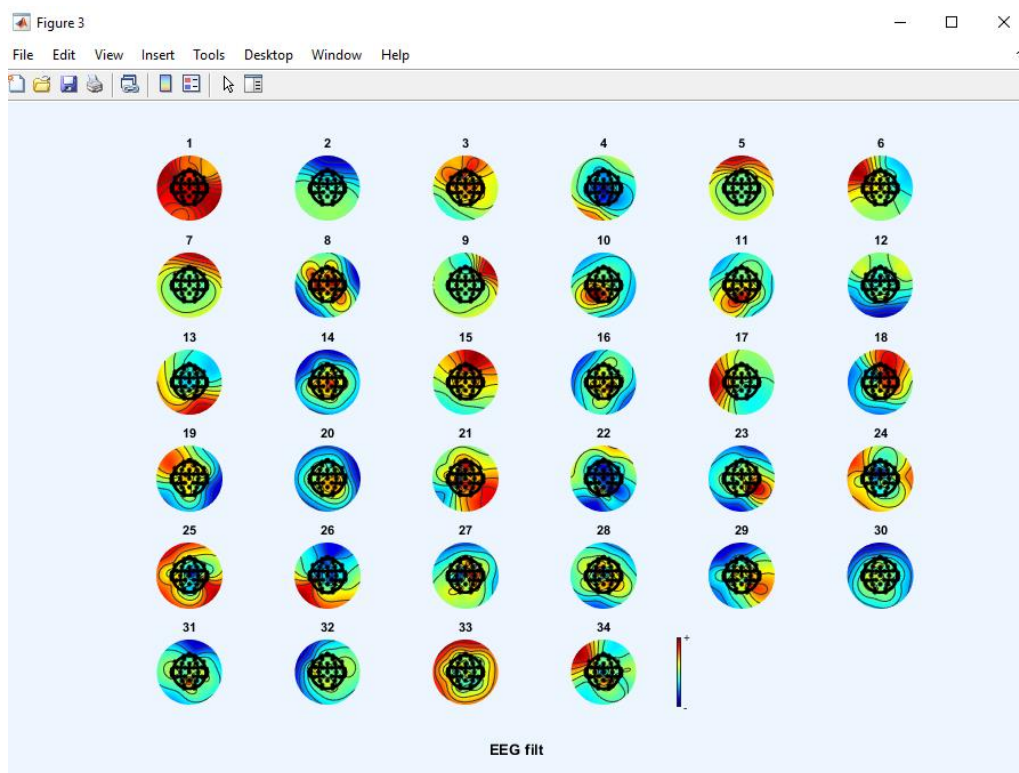


Figura 43 Le 34 componenti indipendenti

Una volta scomposto il nostro data set nelle sue 34 componenti indipendenti è possibile andare a vedere le mappe di ciascuna componente per poter vedere lo spettro di potenza e la componente del segnale per capire se si tratta di un artefatto o no. Il plugin applica le soglie e suggerisce le mappe topografiche delle componenti da rimuovere.

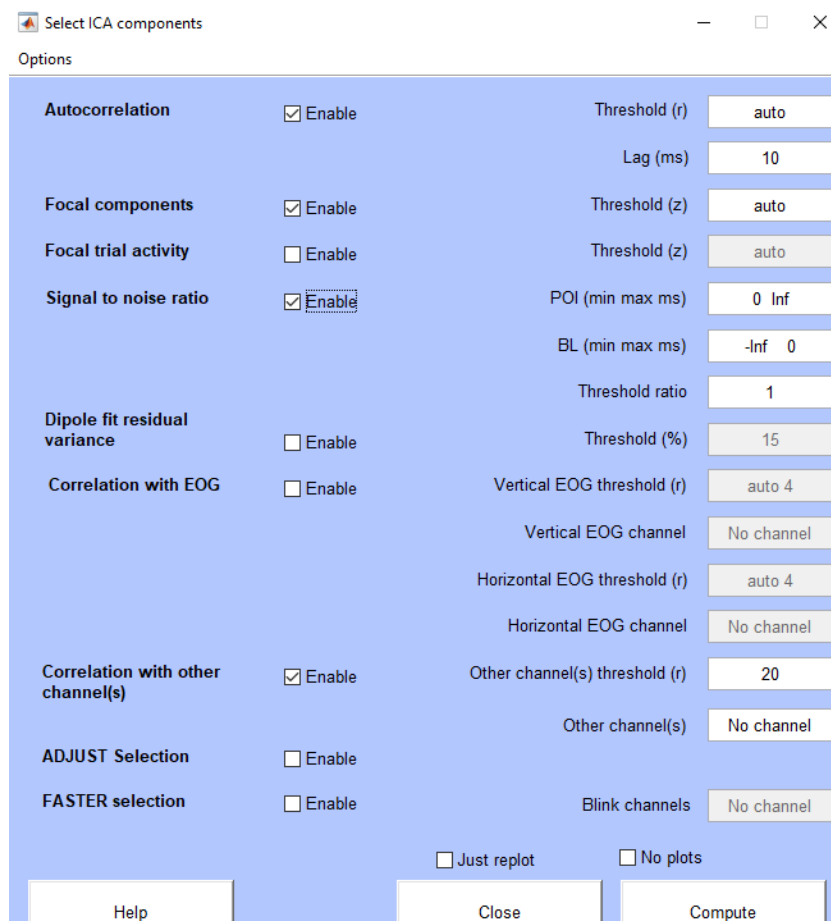


Figura 44 GUI di SASICA con le soglie da impostare.

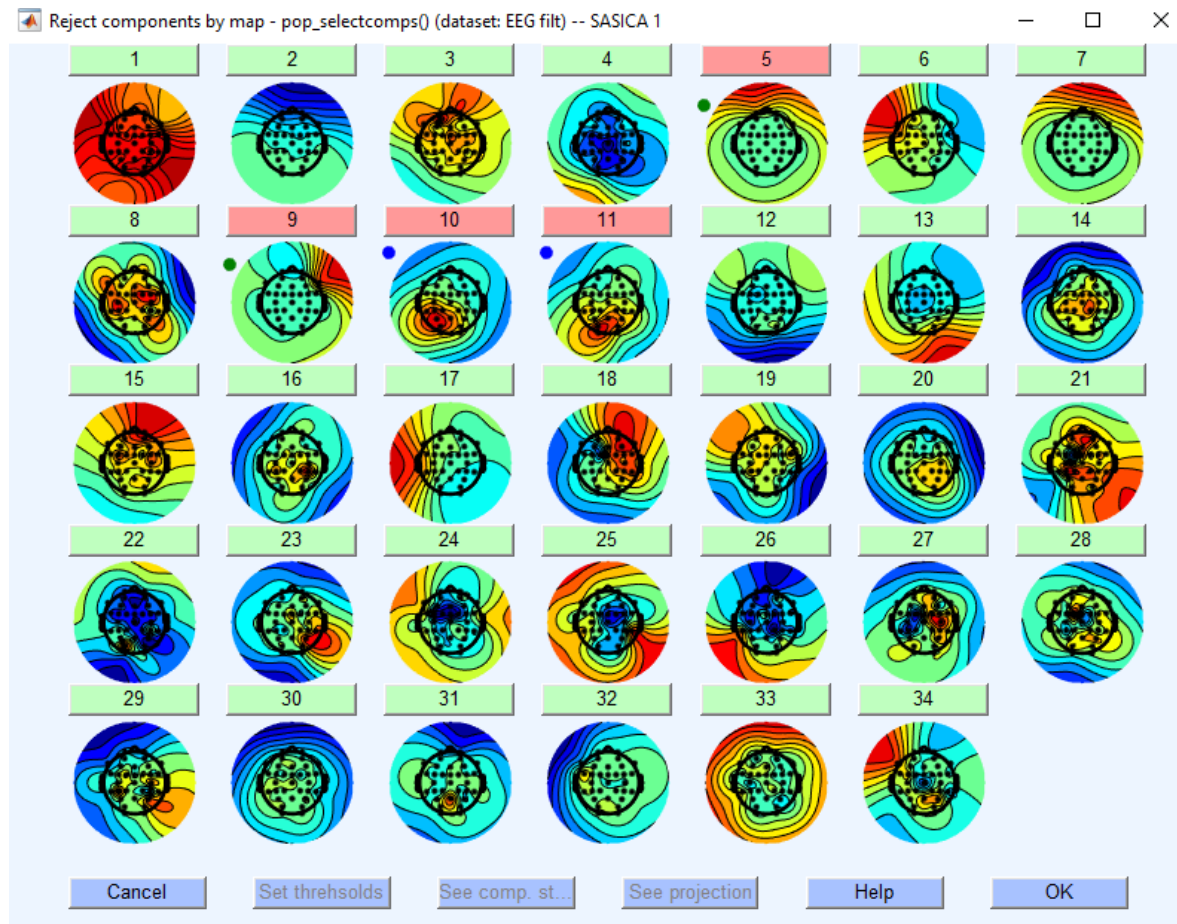


Figura 45 Rappresentazione delle mappe topografiche identificate come artefatti (in rosso)

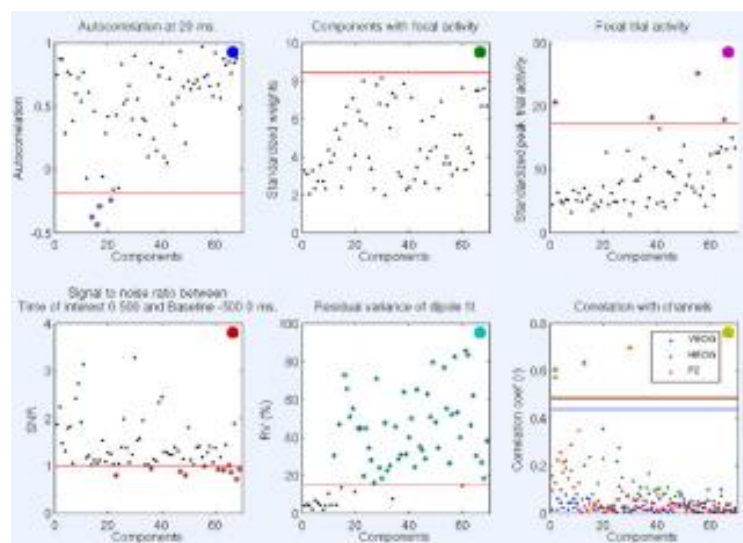


Figura 46 Soglie utilizzate da SASICA

Osservando le mappe suggerite dal plugin è importante verificare che non si trattino di componenti che contengono anche informazione del segnale, altrimenti oltre a rimuovere l'artefatto si rimuove anche parte di interesse.

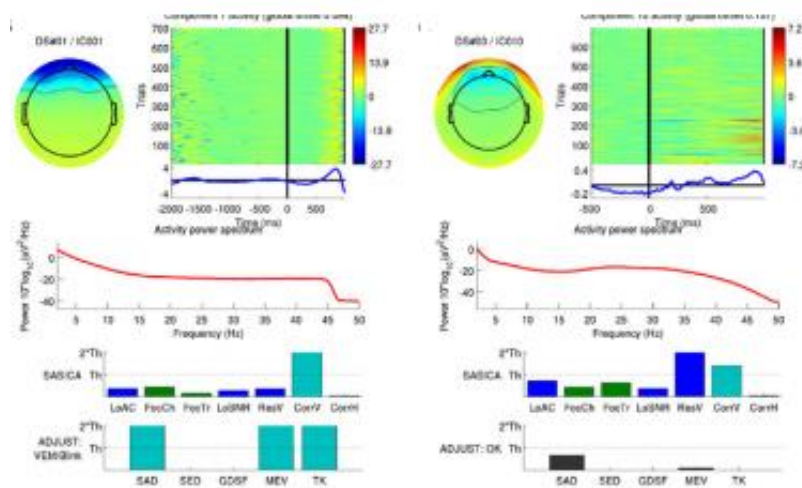


Figura 47 Componenti con artefatti oculari: queste due immagini rappresentano componenti di Blink, infatti hanno una topografia frontale, una grande ampiezza, polarità opposte degli occhi, nessun picco alle frequenze fisiologiche, un'alta correlazione con i canali EOG e misure relative al movimento oculare alte.

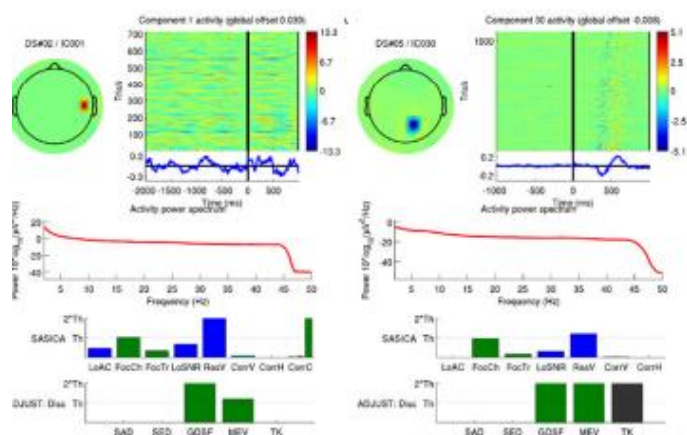


Figura 48 Componenti di canali non buoni: presentano un canale nella topografia focale, rumore, correlazione con i canali considerati non buoni.

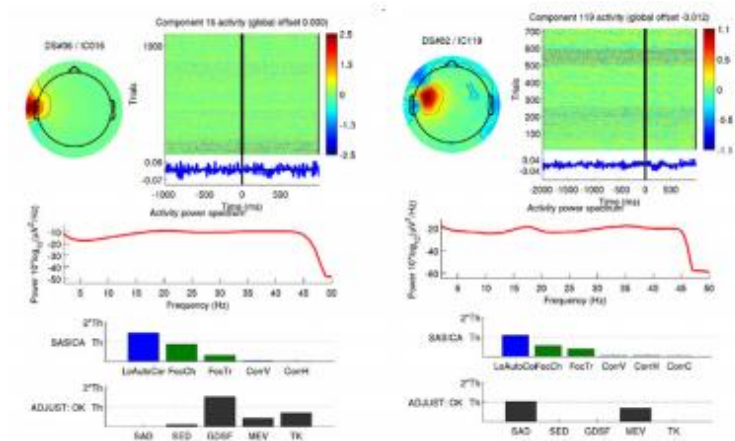


Figura 49 Componenti muscolari: presentano una misura alta del rumore, spettri ad alta frequenza, segnali rumorosi, topografia focale.

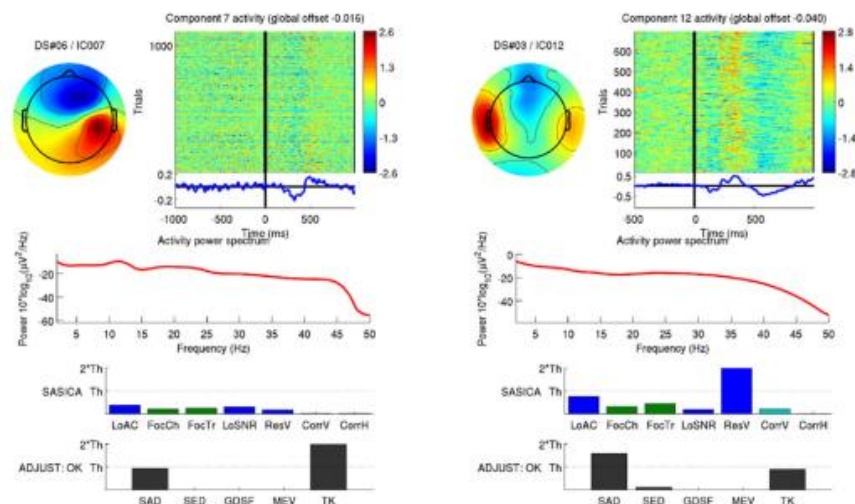


Figura 50 Componenti con attività neurali: presentano topografia liscia, un'ampiezza larga, una forte attività evocata, picchi fisiologici.

Dopo aver identificato le componenti con artefatti, vengono rimosse con l'apposito canale della GUI di EEGLab e a questo punto il segnale è ripulito dagli artefatti.

Capitolo 5

5.1 Risultati

Sono stati analizzati in totale 6 dataset:

GF892070 Task volontario

GO862071 Task semivolontario

AL858070 Task volontario

MS861070 Task volontario

SD874070 Task volontario

TC995011 Task volontario

Per tutti e 6 i dataset si riportano i risultati sia dei canali prima e dopo la rimozione/correzione degli artefatti sia del segnale ERP calcolato tramite l'averaging: è riportato prima l'averaging dei sette canali di interesse per lo studio dell'ERP (Cz, Fcz, Fc4, C3, C4, Fc3, Pz) prima della rimozione degli artefatti per capire su quale canale studiare il miglioramento del segnale, dopo di che è riportato il segnale ERP del canale prima della rimozione degli artefatti, dopo la rimozione degli artefatti con SASICA e dopo la rimozione degli artefatti con ADJUST.

GF892070 Task volontario

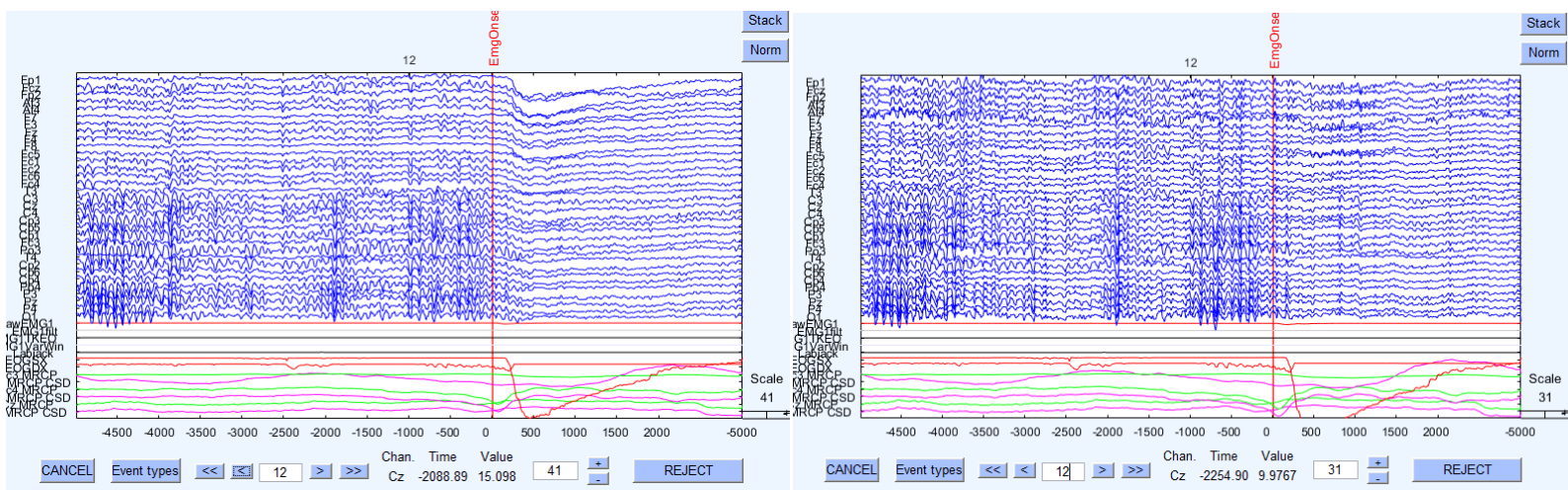


Figura 51 Correzione Artefatto epoca 12

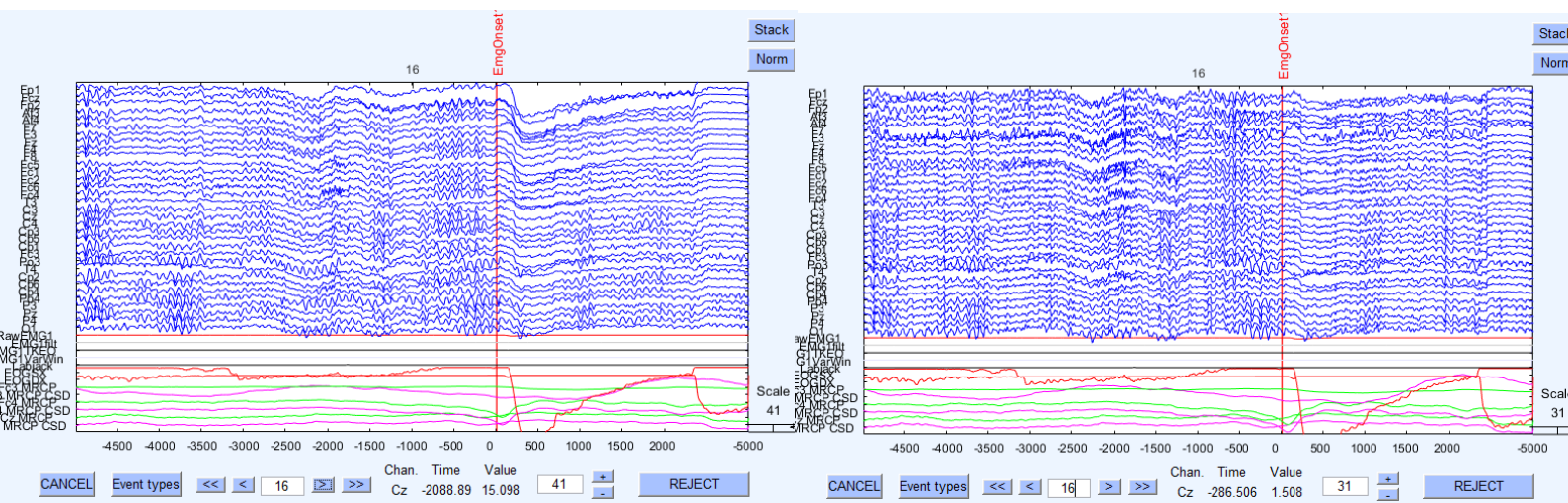


Figura 52 Correzione artefatto epoca 16

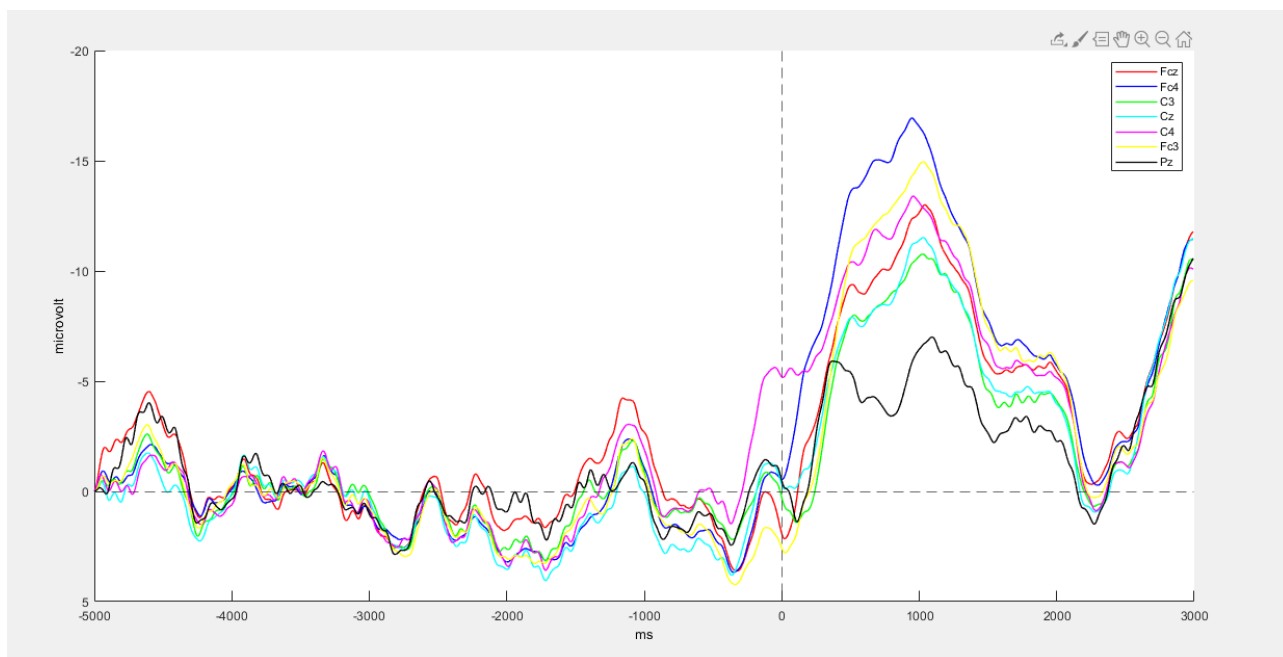


Figura 53 Segnale ERP per i 7 canali di interesse prima della rimozione degli artefatti

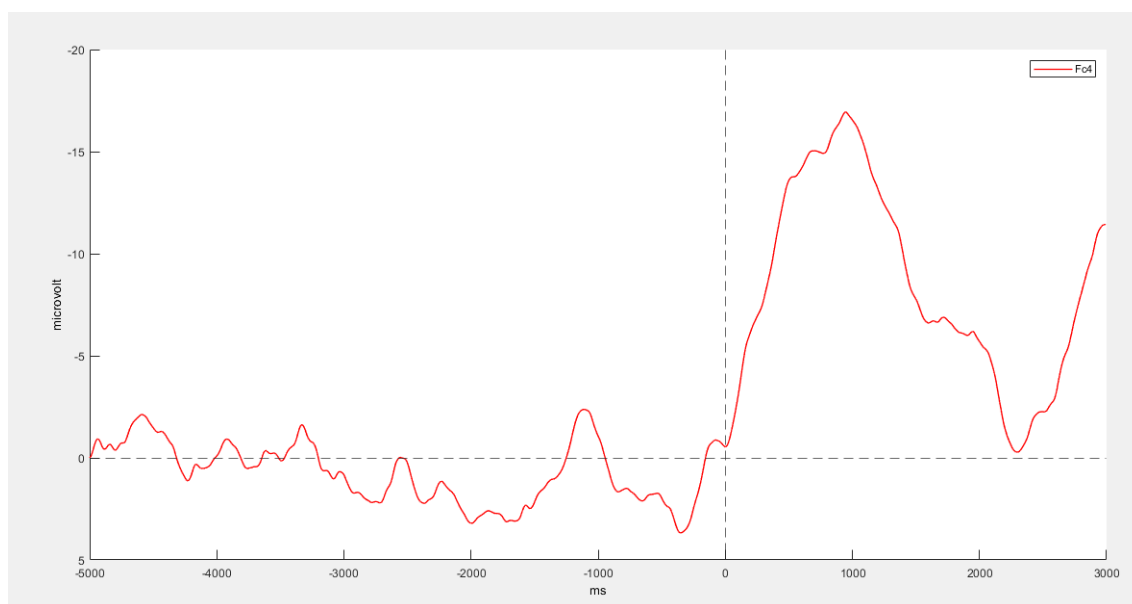


Figura 54 Canale Fc4 selezionato prima della rimozione degli artefatti

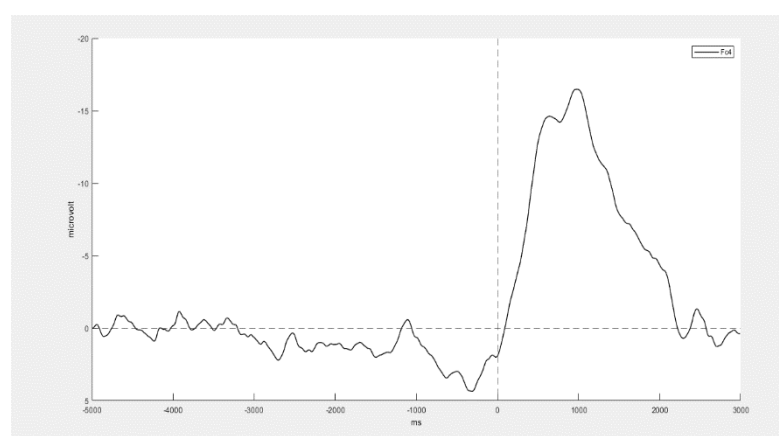
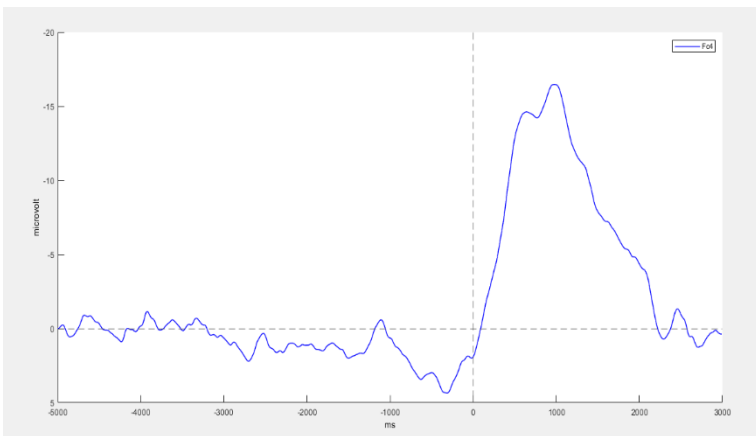


Figura 55 Segnale ERP dopo la rimozione degli artefatti con SASICA a sinistra e con ADJUST a destra, in questo caso i due plugin eliminano le stesse componenti indipendenti

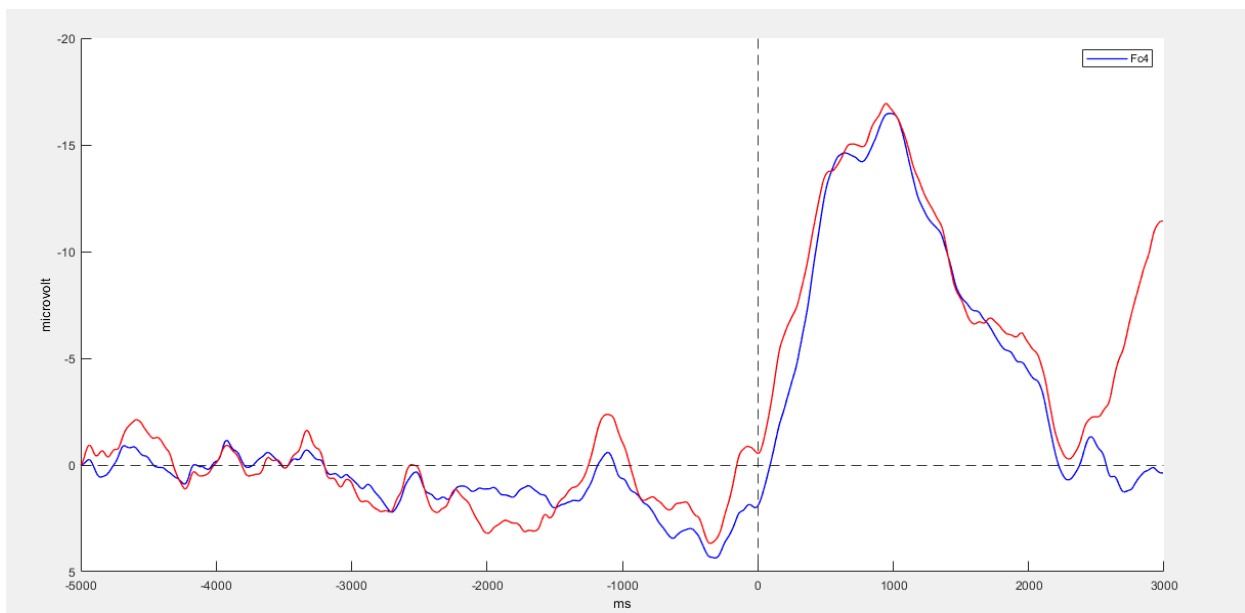


Figura 56 Segnale ERP prima della rimozione (in rosso) e dopo la rimozione con SASICA e ADJUST (in questo caso la rimozione coincide nei due plugin)

GO862071 Task semivolontario

Figure Display Settings Help

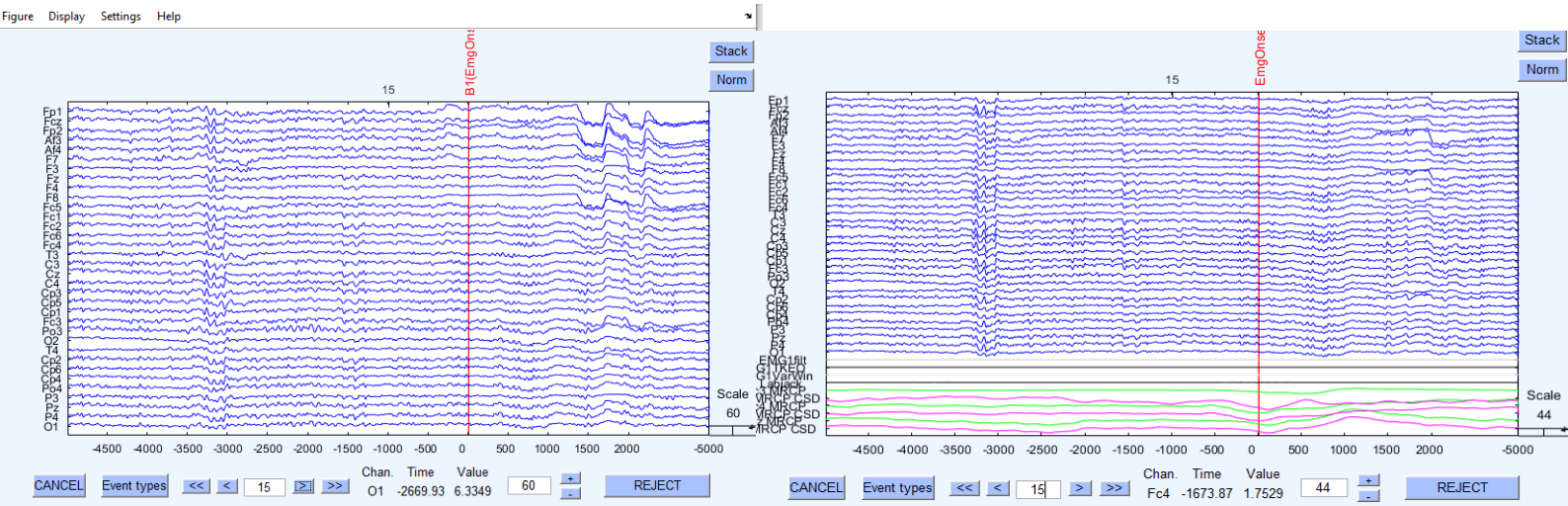


Figura 57 Correzione artefatto epoca 15

Figure Display Settings Help

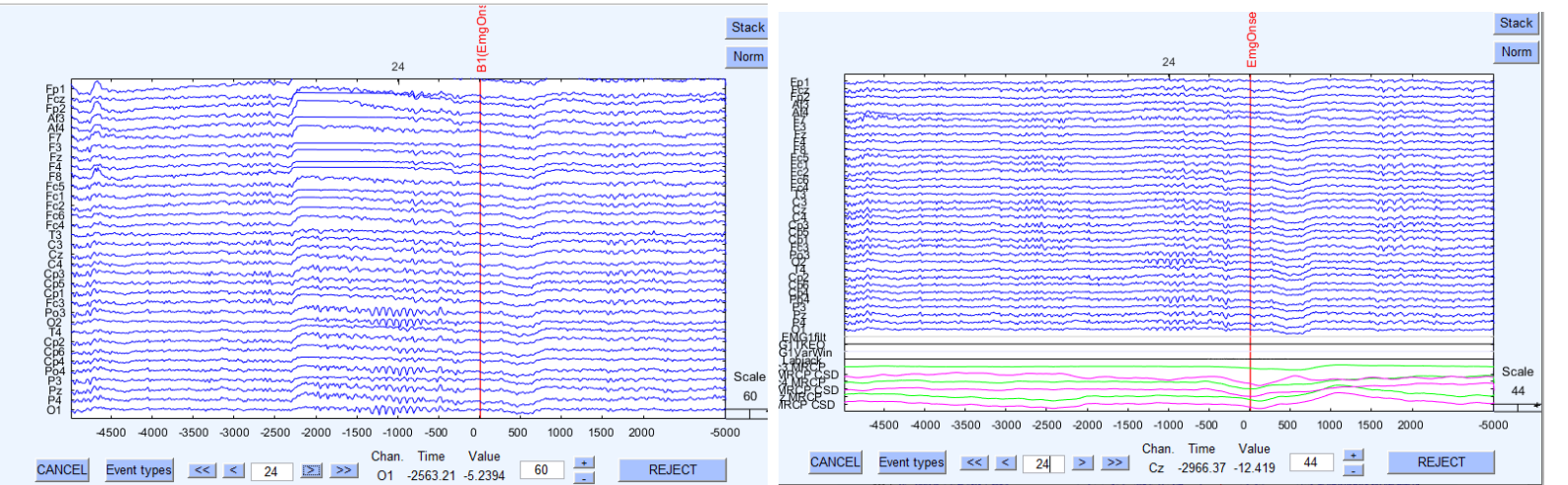


Figura 58 Correzione artefatto epoca 24

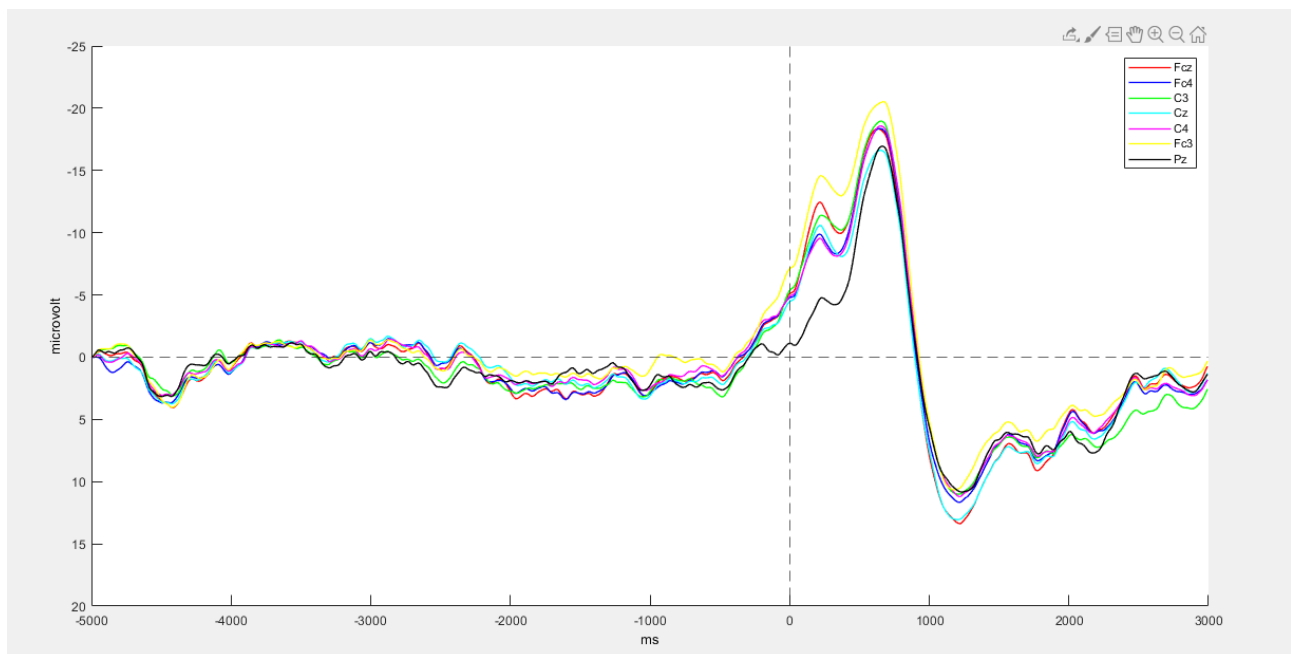


Figura 59 Segnale ERP per i 7 canali di interesse prima della rimozione degli artefatti

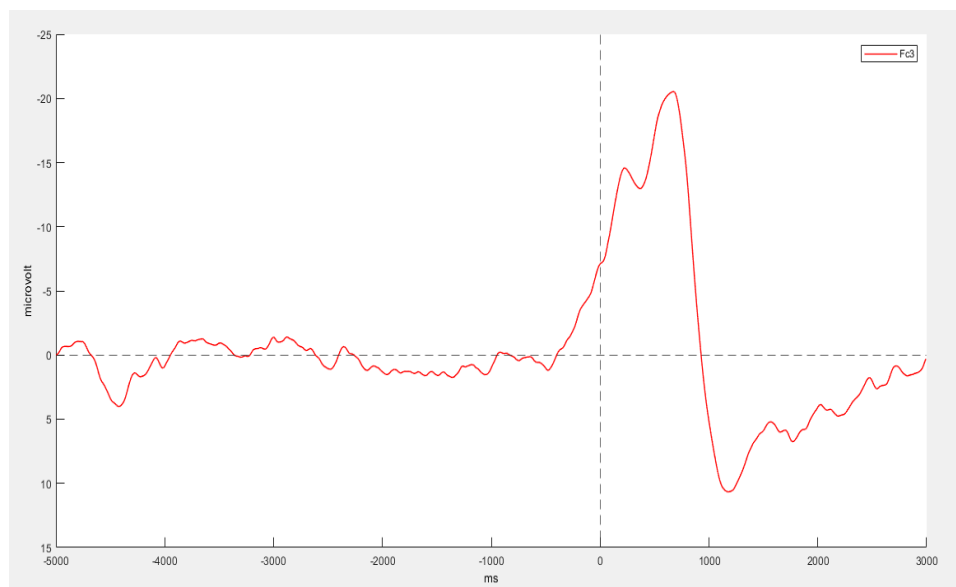


Figura 60 Canale Fc3 selezionato prima della rimozione degli artefatti

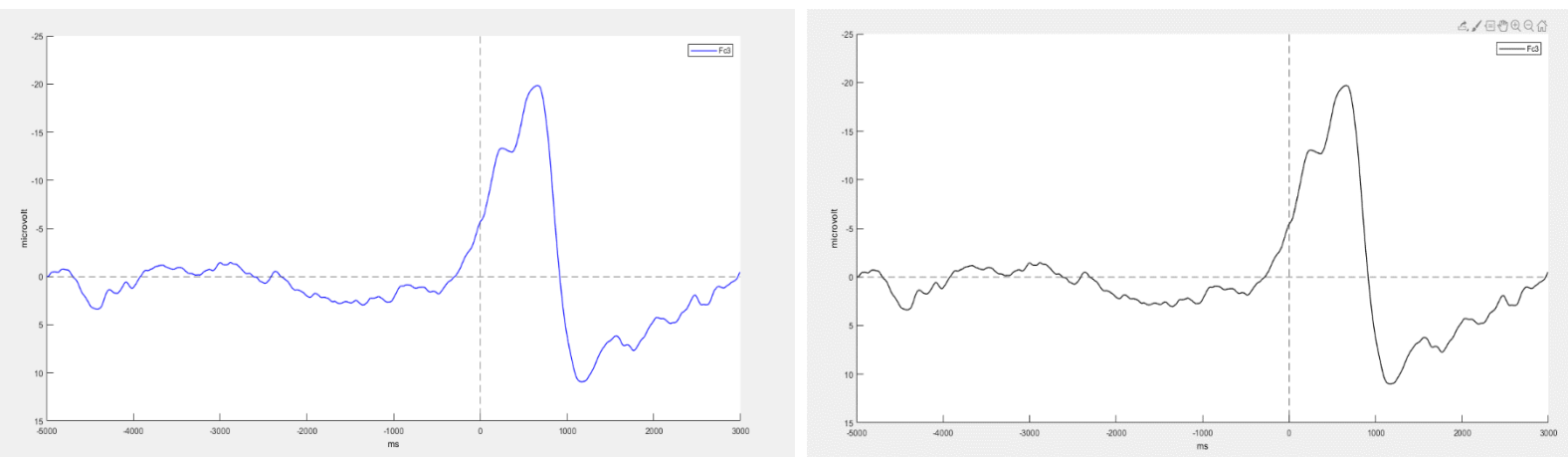


Figura 61 Segnale ERP dopo la rimozione degli artefatti con SASICA a sinistra e con ADJUST a destra

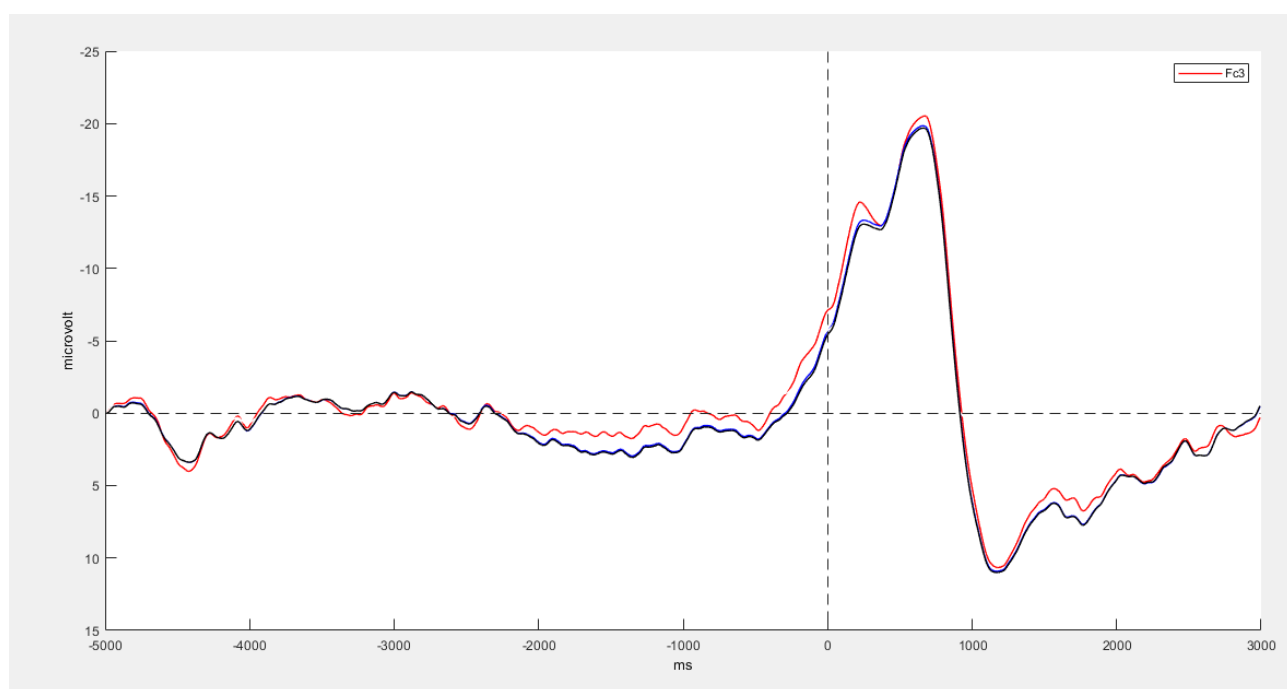


Figura 62 Segnale ERP prima della rimozione (in rosso) e dopo la rimozione con SASICA (in blu) e dopo la rimozione con ADJUST (in nero)

AL858070 Task volontario

Figure Display Settings Help

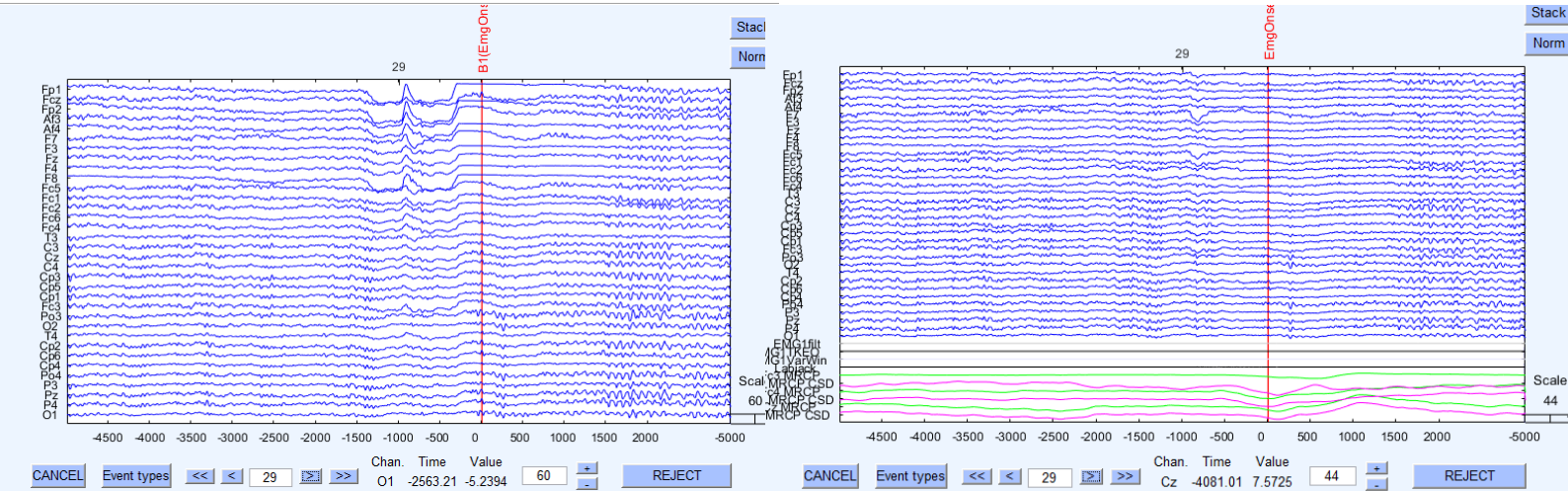


Figura 63 Correzione artefatto epoca 29

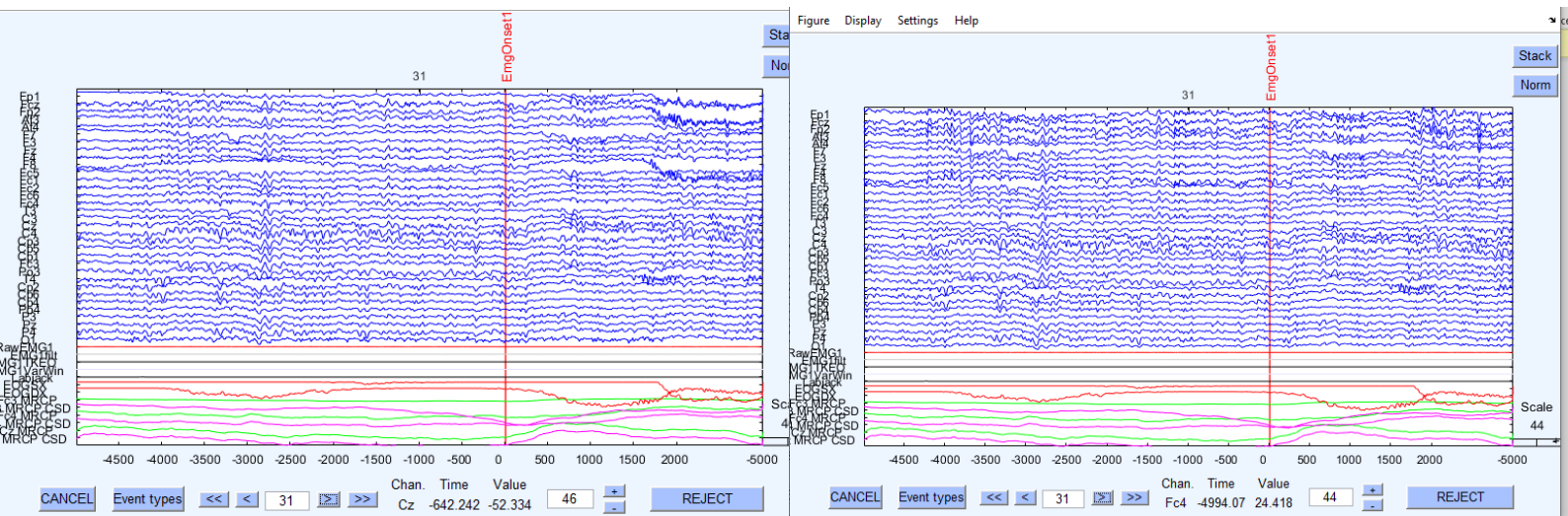


Figura 64 Correzione artefatto epoca 31

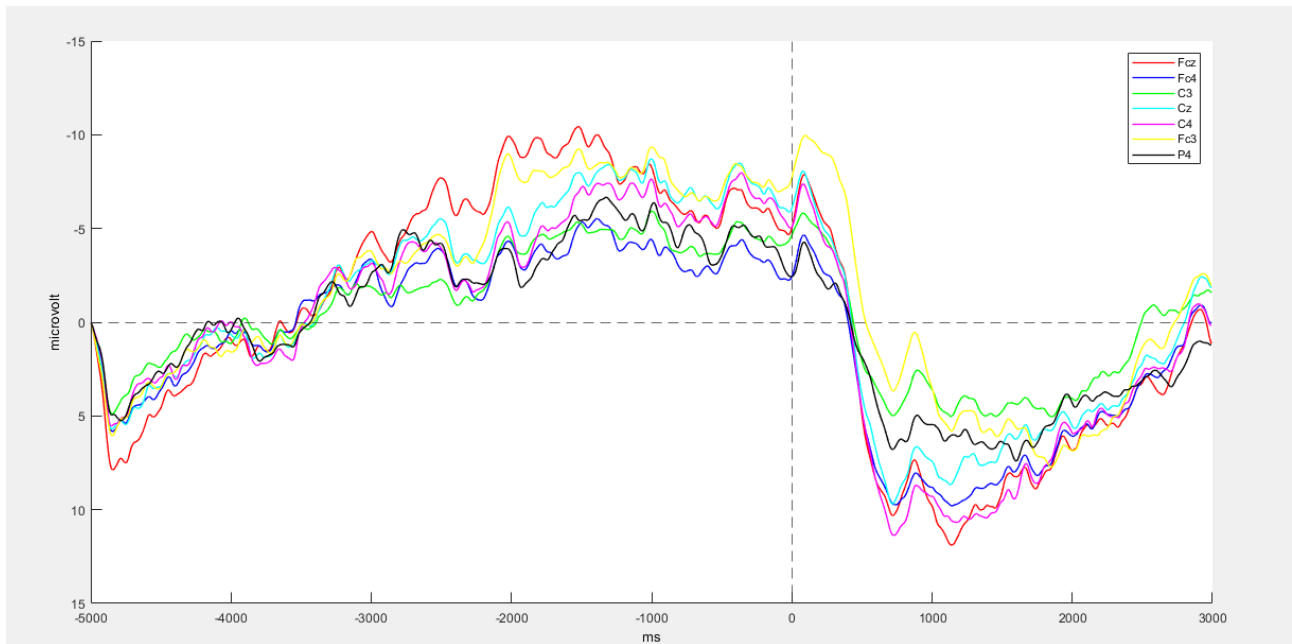


Figura 65 Segnale ERP per i 7 canali di interesse prima della rimozione degli artefatti

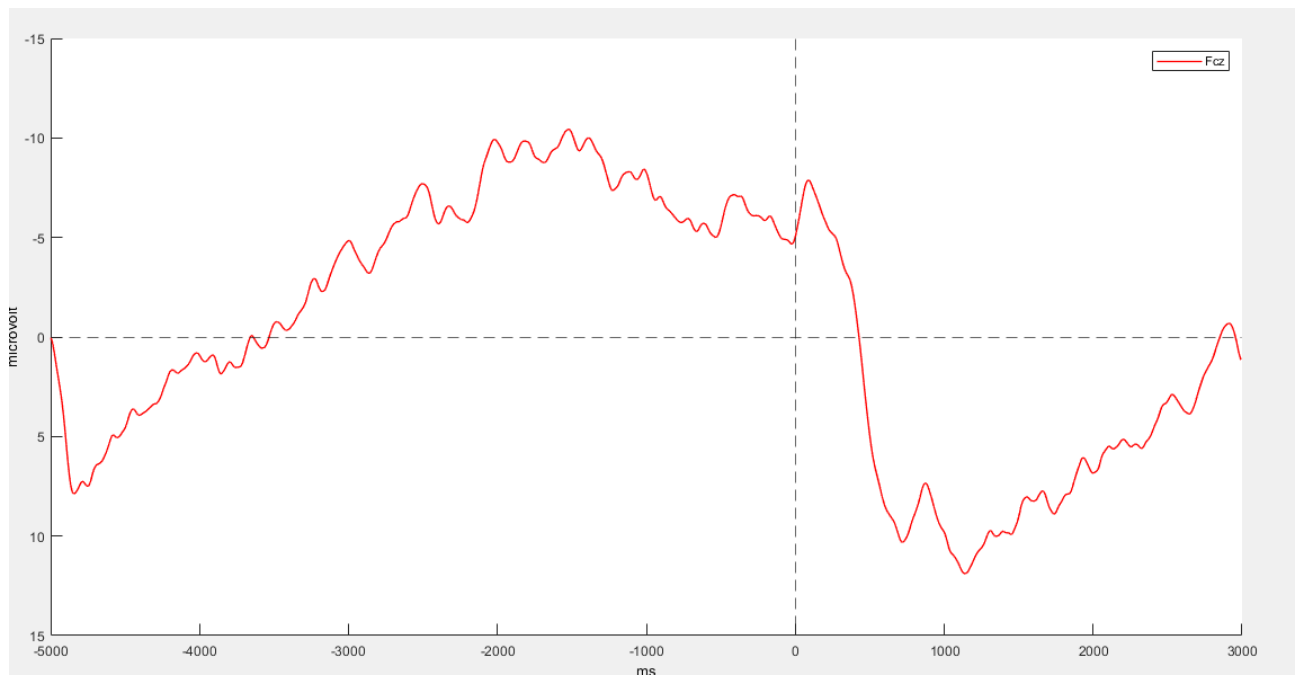


Figura 66 Canale Fcz selezionato prima della rimozione degli artefatti

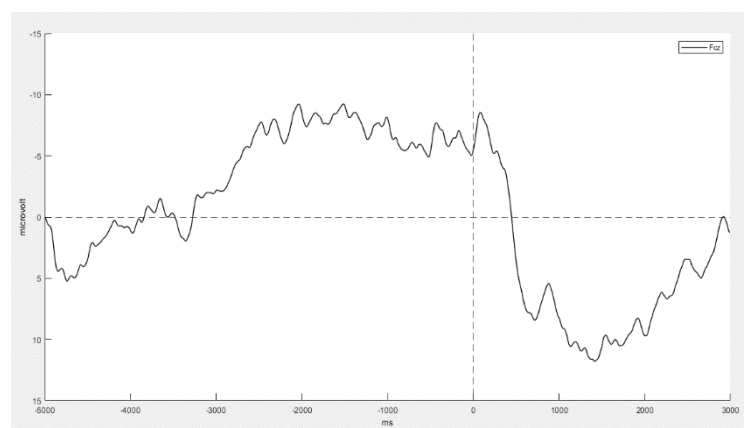
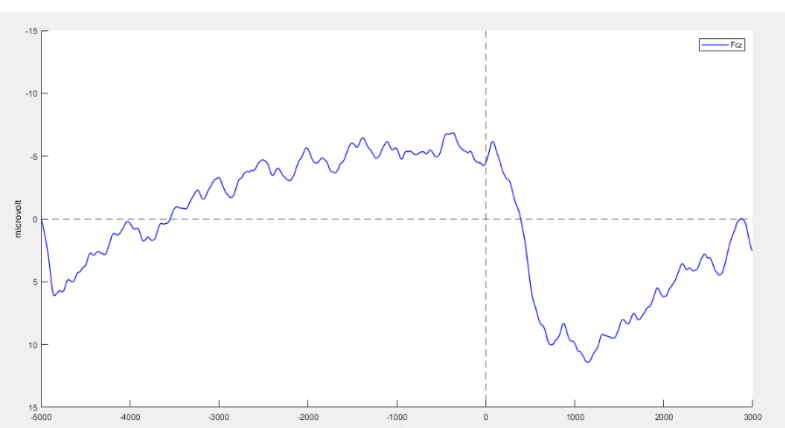


Figura 67 Segnale ERP dopo la rimozione degli artefatti con SASICA a sinistra e con ADJUST a destra

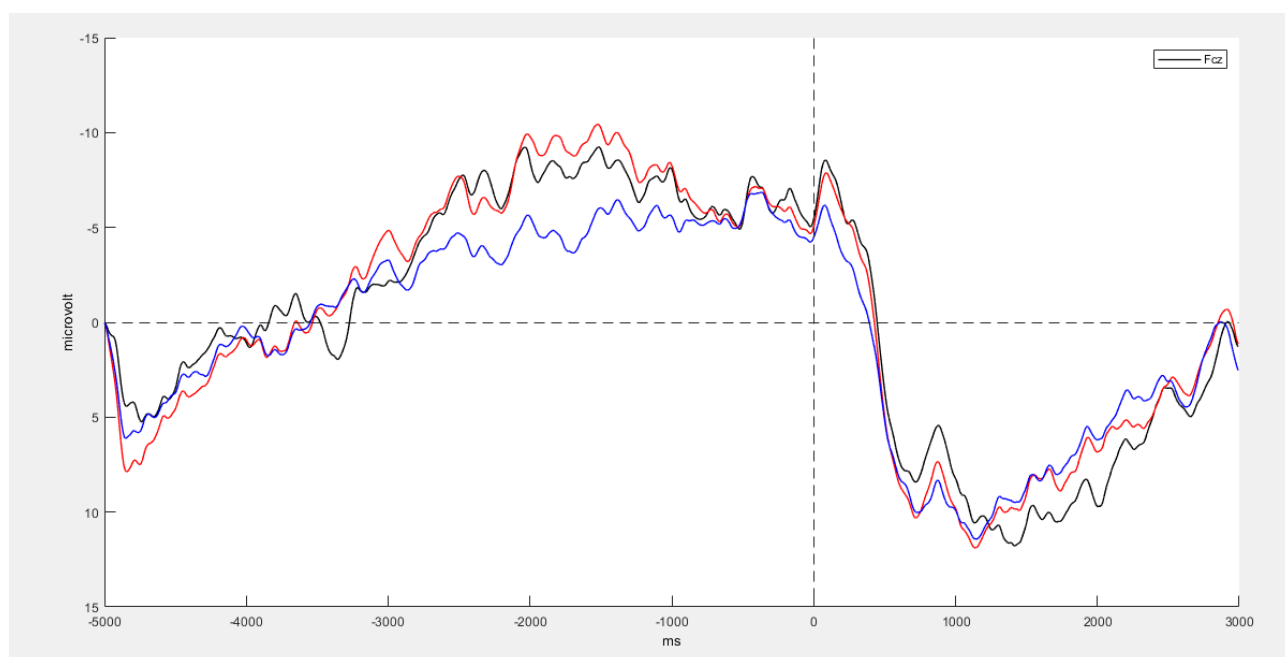


Figura 68 Segnale ERP prima della rimozione (in rosso) e dopo la rimozione con SASICA (in blu) e dopo la rimozione con ADJUST (in nero)

MS861070 Task volontario

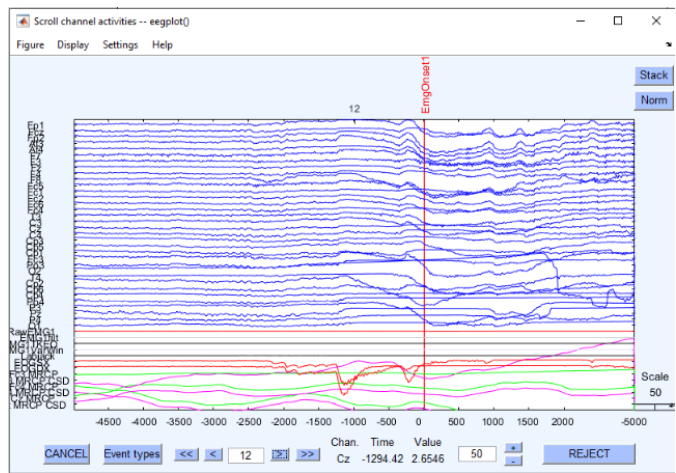


Figura 69 Correzione artefatto epoca 12

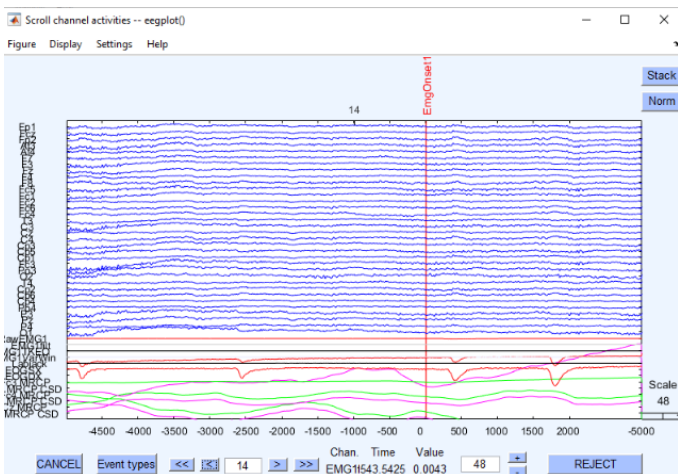
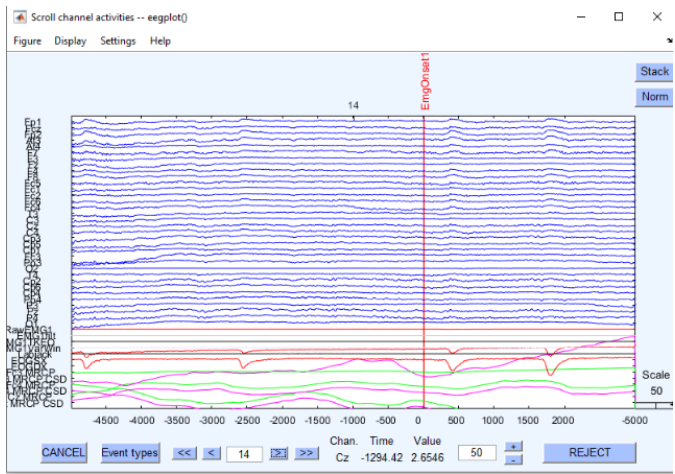
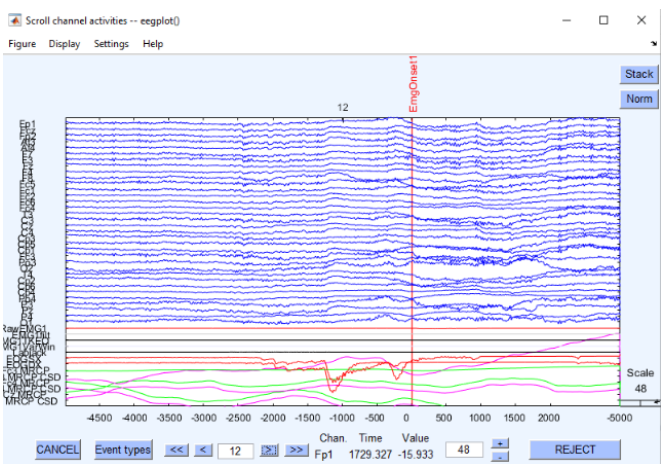


Figura 70 Correzione artefatto epoca 14

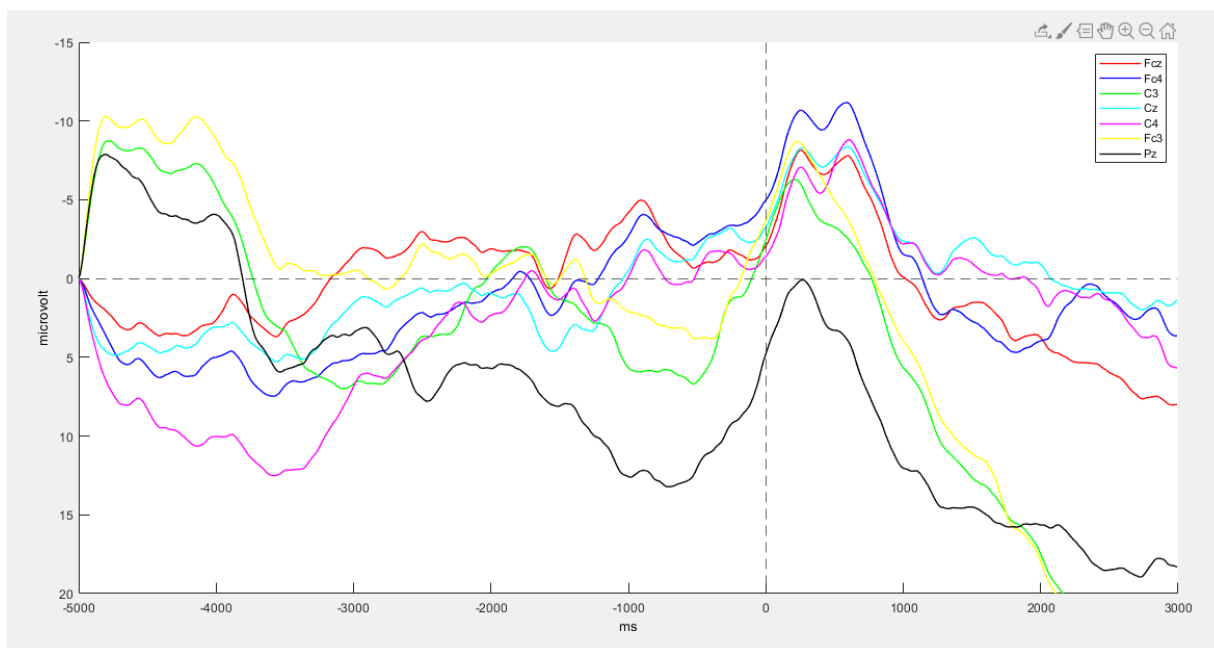


Figura 71 Segnale ERP per i 7 canali di interesse prima della rimozione degli artefatti

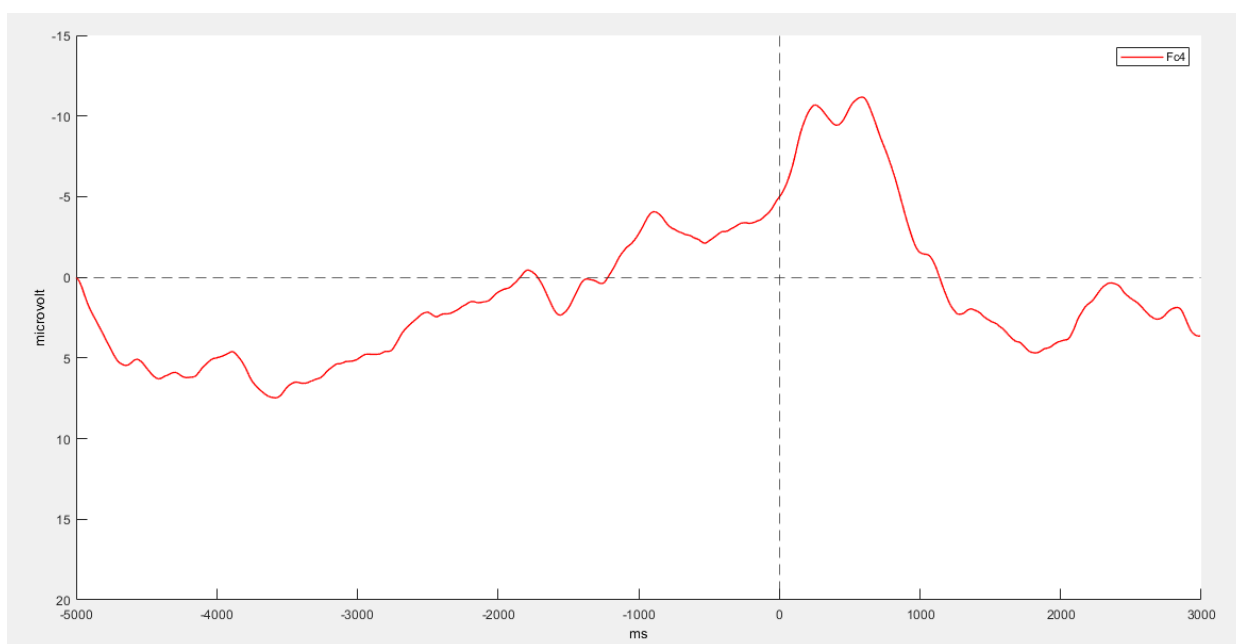


Figura 72 Canale Fc4 selezionato prima della rimozione degli artefatti

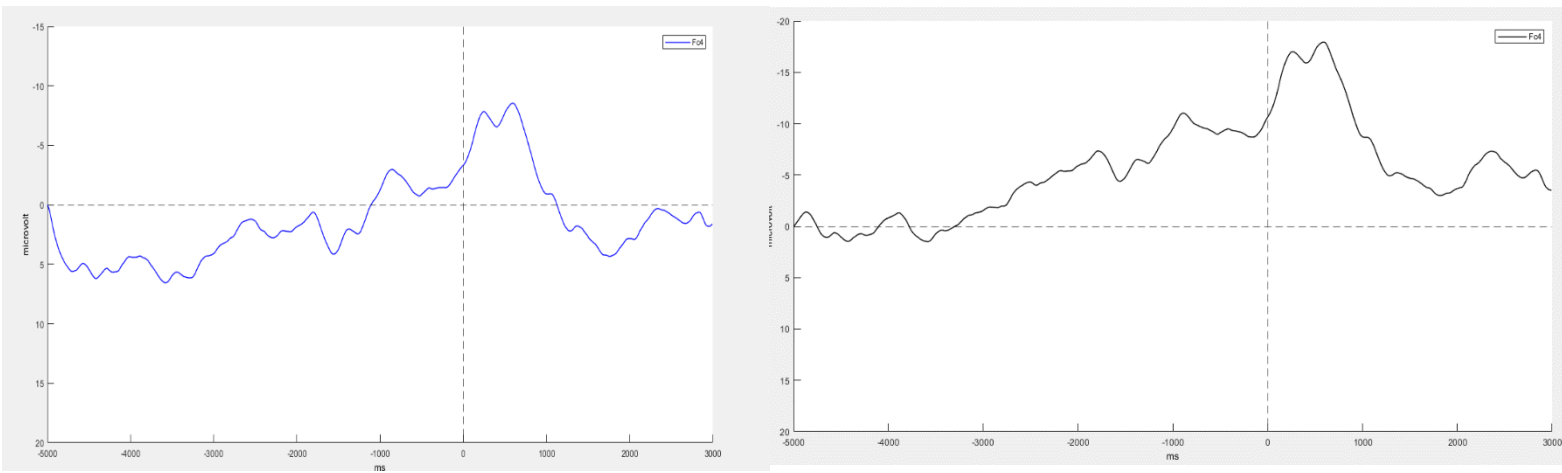


Figura 73 Segnale ERP dopo la rimozione degli artefatti con SASICA a sinistra e con ADJUST a destra

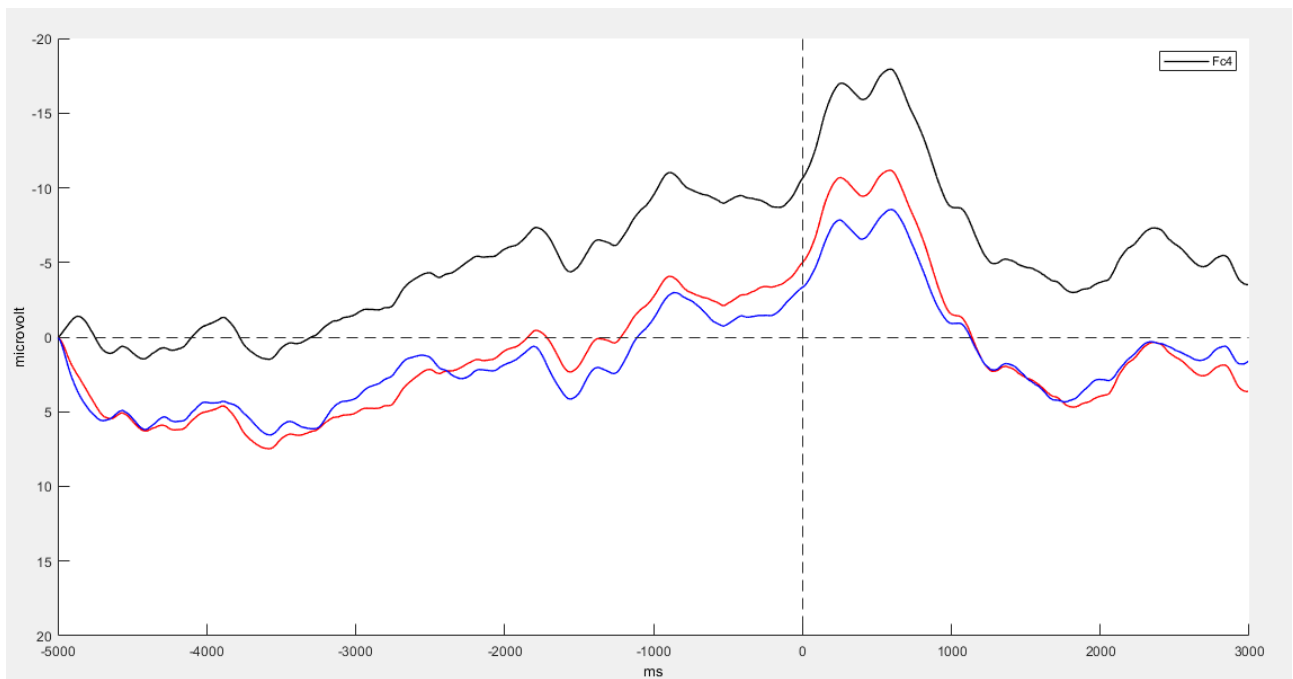


Figura 74 Figura ERP prima della rimozione (in rosso) e dopo la rimozione con SASICA (in blu) e dopo la rimozione con ADJUST (in nero)

SD874070 Task volontario

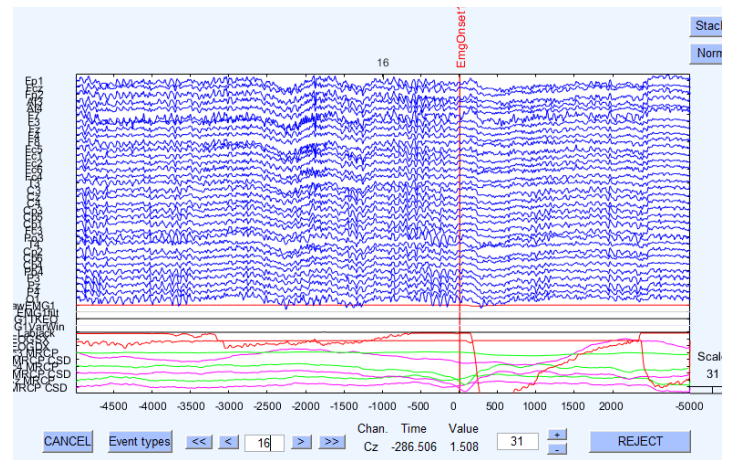
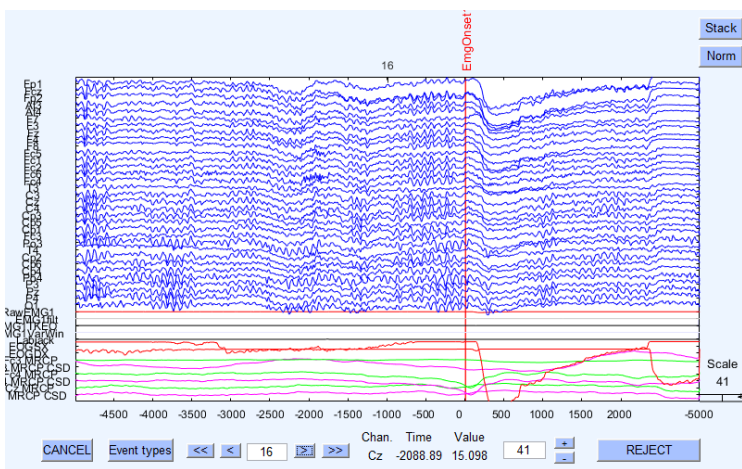


Figura 75 Correzione artefatto epoca 16

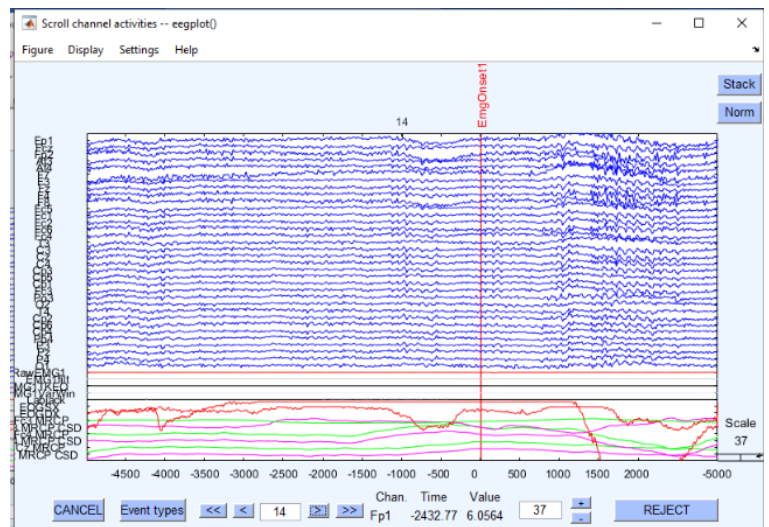
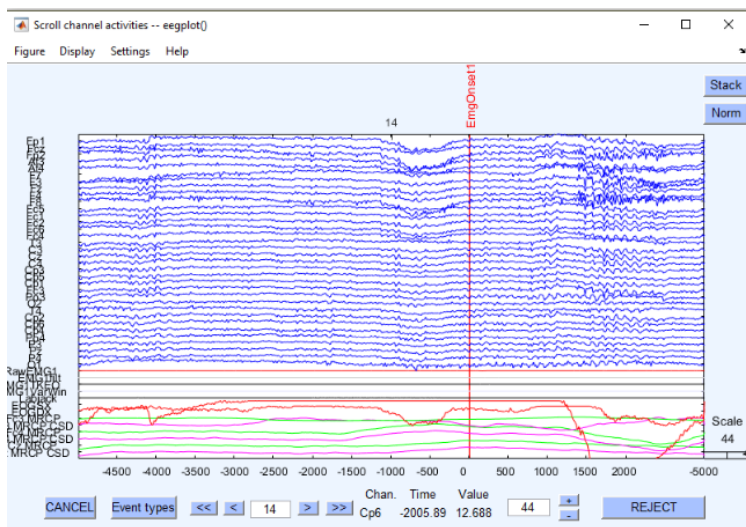


Figura 76 Correzione artefatto epoca 14

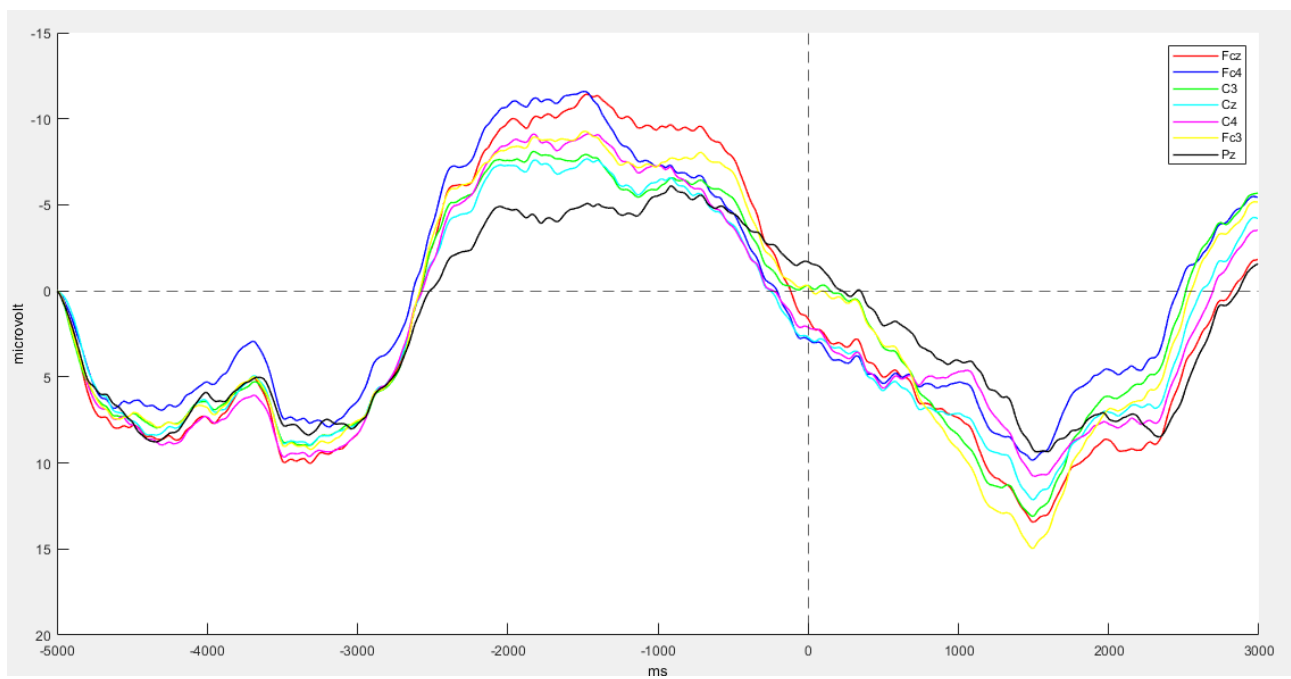


Figura 77 Figura ERP per i 7 canali di interesse prima della rimozione degli artefatti

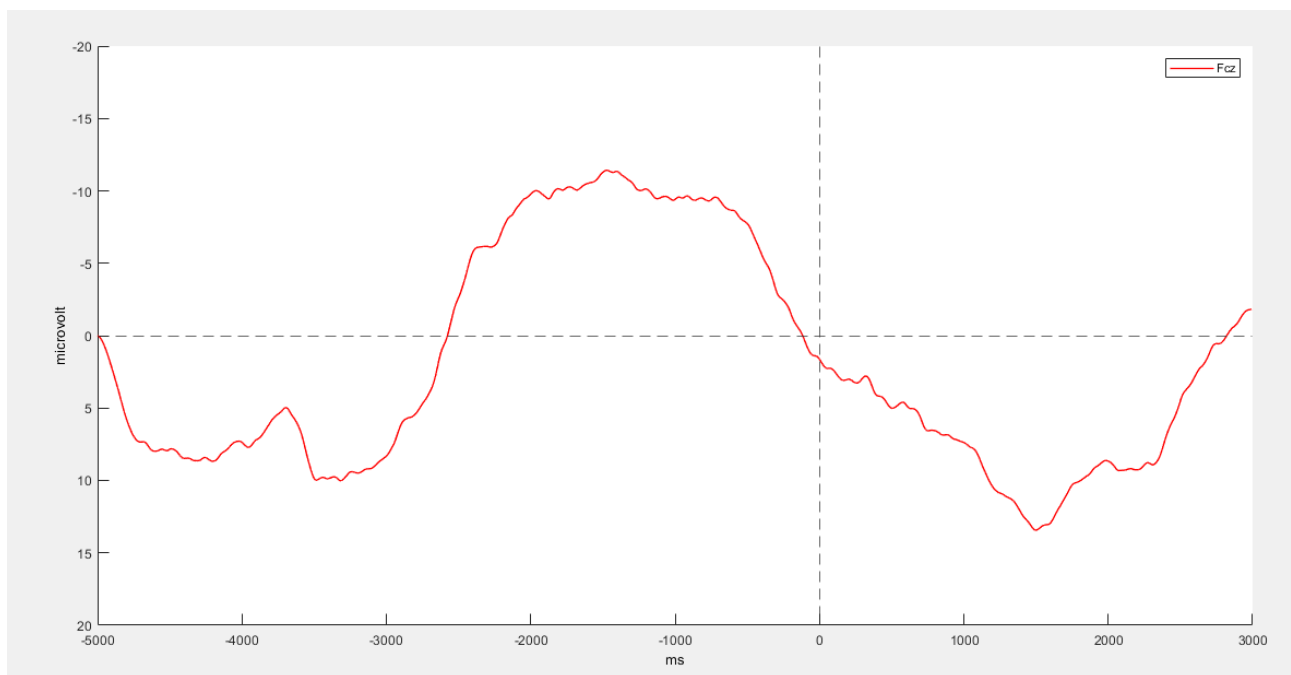


Figura 78 Figura Fcz selezionato prima della rimozione degli artefatti

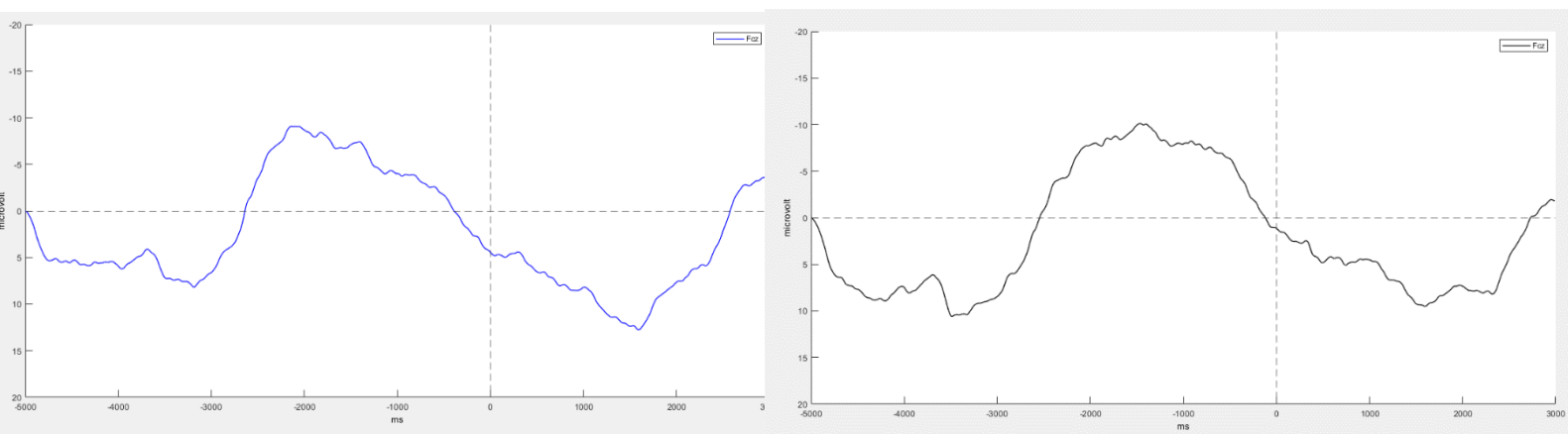


Figura 79 Segnale ERP dopo la rimozione degli artefatti con SASICA a sinistra e con ADJUST a destra

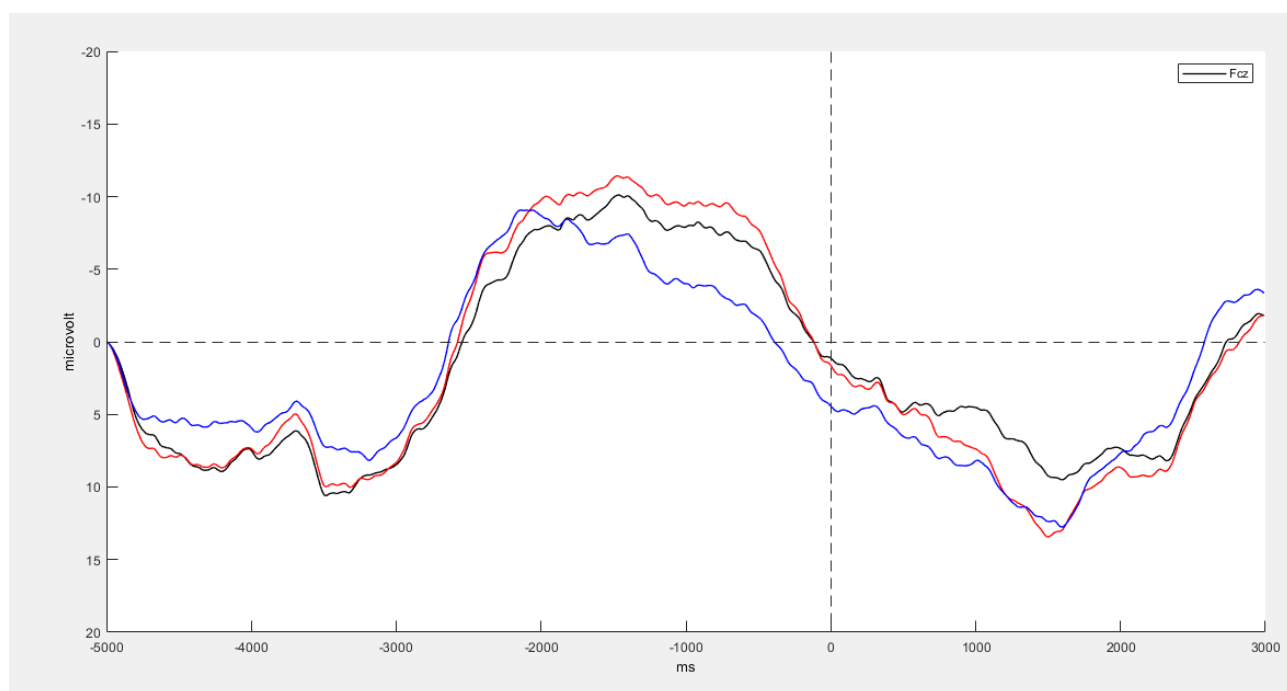


Figura 80 Figura ERP prima della rimozione (in rosso) e dopo la rimozione con SASICA (in blu) e dopo la rimozione con ADJUST (in nero)

TC995011 Task volontario

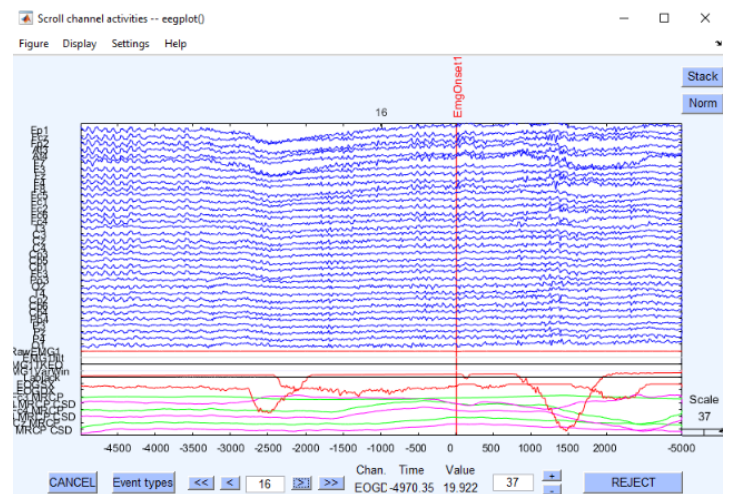
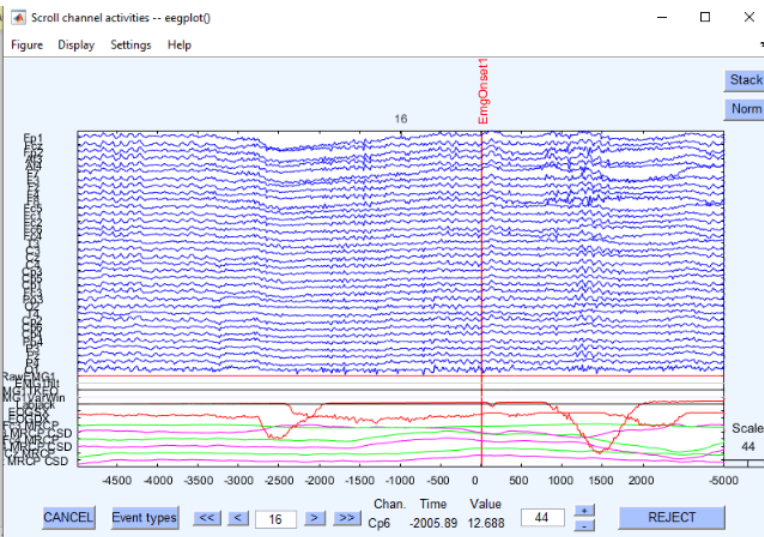


Figura 81 Correzione artefatto epoca 16

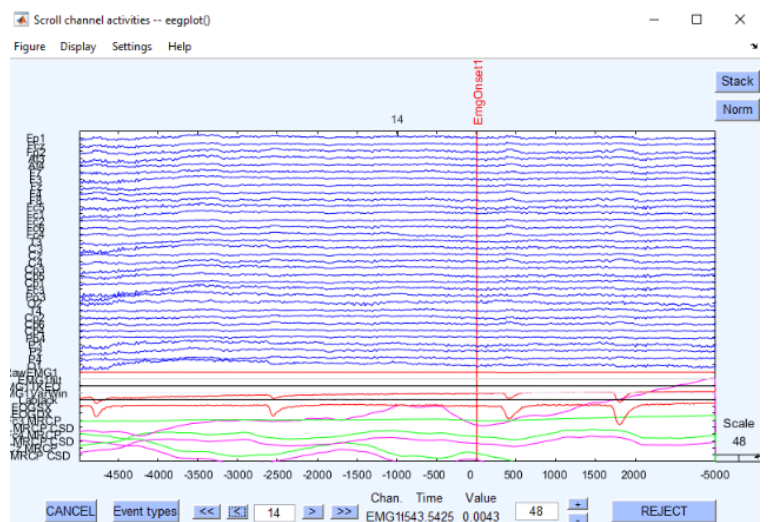
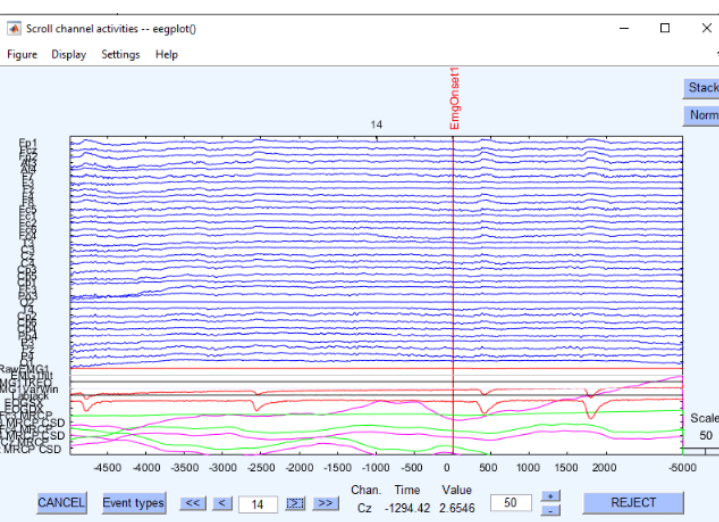


Figura 82 Correzione artefatto epoca 14

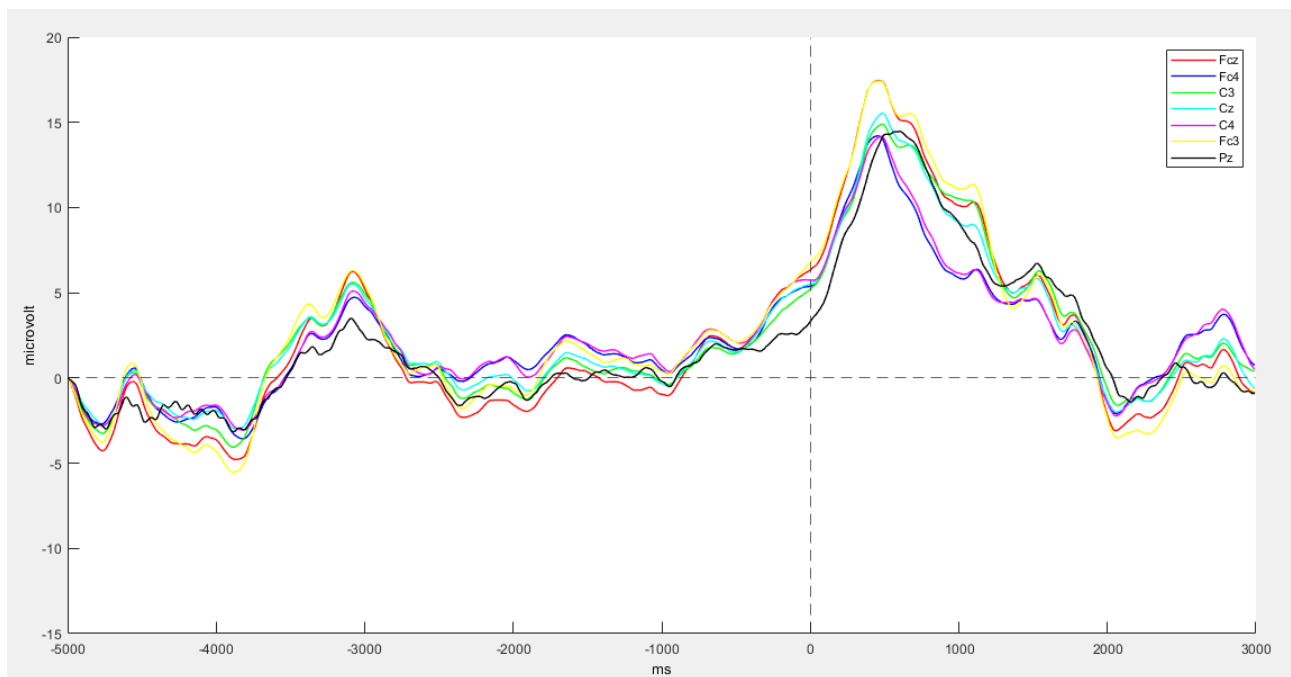


Figura 83 Figura ERP per i 7 canali di interesse prima della rimozione degli artefatti

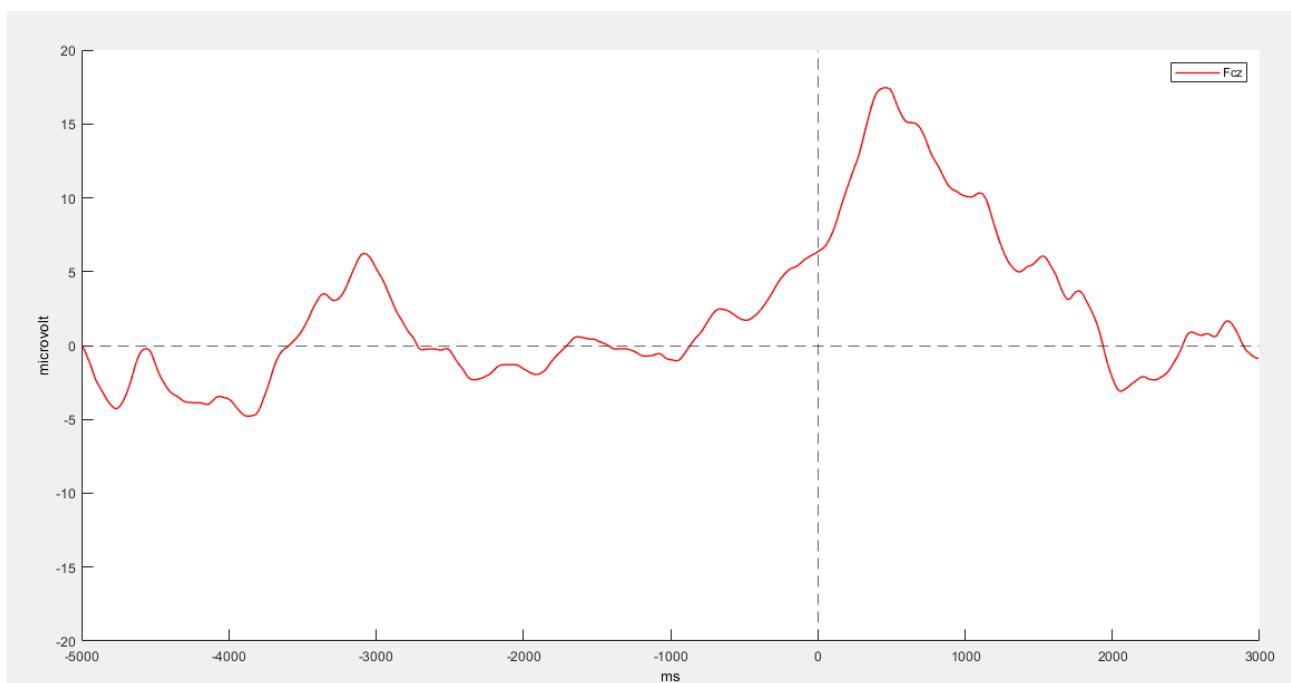


Figura 84 Figura Fcz selezionato prima della rimozione degli artefatti

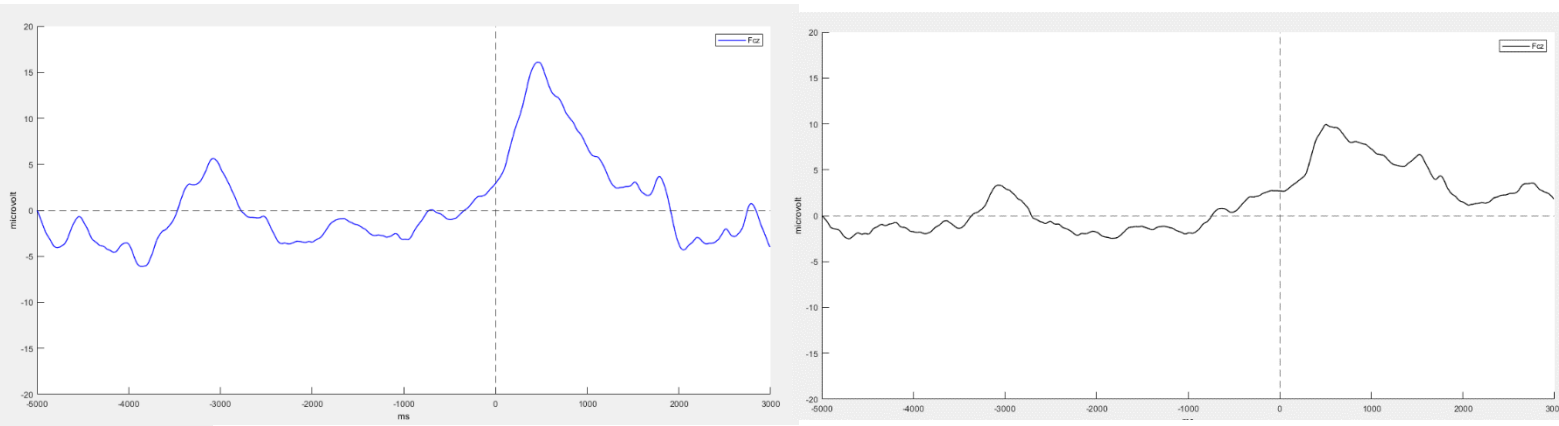


Figura 85 Figura 77 Segnale ERP dopo la rimozione degli artefatti con SASICA a sinistra e con ADJUST a destra

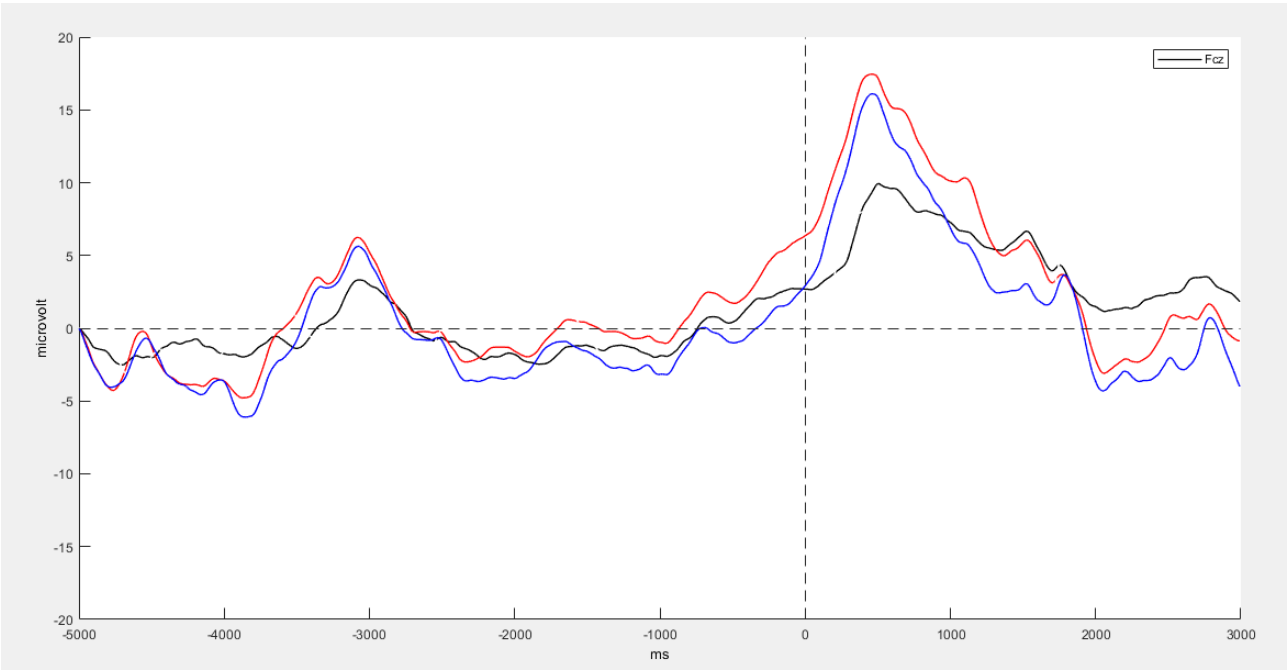


Figura 86 Figura ERP prima della rimozione (in rosso) e dopo la rimozione con SASICA (in blu) e dopo la rimozione con ADJUST (in nero)

5.2 Discussione

L'applicabilità dell'algoritmo automatico basato sull'analisi delle componenti indipendenti permette una pulizia del segnale EEG piuttosto rapida rispetto alla rimozione manuale degli artefatti ed elimina inoltre la dipendenza dall'utente permettendo di analizzare più segnali in meno tempo.

Dallo studio dei risultati è possibile osservare come effettivamente i plugin siano in grado di identificare buona parte degli artefatti, in particolare per quelli oculari: infatti avendo utilizzato durante la fase di registrazione del segnale EEG anche il segnale EOG, la correlazione con questi canali permette un'identificazione più semplice.

Dal confronto tra i due plugin utilizzati emerge come il più delle volte identifichino le stesse componenti indipendenti artefattuali, portando ad una risposta identica. Si è visto, però, come in situazione di dataset molto rumoroso, il plugin ADJUST si comporta meglio migliorando il segnale, mentre SASICA identifica alcune componenti che contengono parti di segnale di interesse andando quindi a peggiorare il segnale ERP del soggetto studiato.

In conclusione, il metodo delle analisi delle componenti indipendenti e l'applicazione successiva dei plugin, porta a dei risultati accettabili per una pulizia veloce dei segnali per poter passare alle fasi successive di analisi e

poter studiare più dataset velocemente, non risolve però completamente il problema degli artefatti, poiché in presenza di segnali troppo rumorosi non sempre la rimozione delle componenti identificate come artefatti porta ad una correzione completa degli stessi. In questi casi si è optato prima alla rimozione delle epoche troppo rumorose manualmente, cercando di mantenere almeno 15-20 epoche per dataset su 40, e dopo si è applicato il metodo dell'ICA e dei plugin, ottenendo così un segnale nettamente migliorato.

Conclusioni

Questa tesi prende parte ad un progetto molto ampio iniziato nel 2012 e che ancora oggi va avanti con la collaborazione di molte figure professionali che cooperano per raggiungere come obiettivo la realizzazione di un'interfaccia neurale capace di classificare correttamente i pazienti in stato di minima coscienza. Infatti, come abbiamo visto nei primi capitoli, l'errore di diagnosi è ancora elevata e le strumentazioni attualmente in uso non sono sufficienti per ottenere certezza nella valutazione.

Nei capitoli successivi si sono analizzati i protocolli di controllo utilizzati fino ad ora ed è stato presentato il nuovo protocollo pazienti da utilizzare sui pazienti a cui si andrà a registrare il segnale EEG per la ricerca del RP, ci si aspetterà di ritrovare il potenziale di prontezza in alcuni dei pazienti considerati. Inoltre, si continuerà ad acquisire i segnali sui soggetti di controllo per avere un numero di dataset maggiore con lo scopo di rafforzare la BCI che si sta costruendo.

Nell'analizzare i dati ottenuti durante l'attività sperimentale, si è capito quanto sia importante il momento del montaggio degli elettrodi e l'esecuzione corretto dell'esperimento: più il segnale registrato è pulito e privo di artefatti e rumori, più sarà semplice la ricerca del segnale ERP. Per

le acquisizioni future, quindi, sarà importante prestare più attenzione al montaggio degli elettrodi cercando di ottenere i valori quanto migliori possibili, durante la sperimentazione ricordare al soggetto di stare il più fermo possibile prestando attenzione alla deglutizione e a non parlare durante tutta la durata dell'esperimento concentrandosi, invece, sul movimento da compiere.

.

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., Jaäncke, L. and Tag, B. (2006), Impact Assesment 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. Roozbeh, “Automatic Identification of Artifactrelated 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>