

UN NUOVO METODO PER RIVELARE GLI ERP (Event-Related Potentials), BASATO SULLA CORRELAZIONE DI PEARSON

William Giroladini, Luciano Pederzoli, Marco Bilucaglia, Simone Melloni e Patrizio Tressoldi

*Dipartimento di Psicologia Generale, Università di Padova, Italy;

§EvanLab, Firenze, Italy;

°Rhine Research Center, Durham, NC - USA

Corresponding author:

Patrizio Tressoldi

Dipartimento di Psicologia Generale-Università di Padova

Via Venezia 8, 35131 PADOVA-ITALY

Tel+390498276500

Fax+390498276600

Email: patrizio.tressoldi@unipd

RIASSUNTO

Gli ERP (Event-Related Potentials) sono largamente utilizzati nelle applicazioni di B.C.I (Interfaccia Cervello-Computer) e nelle neuroscienze.

L'attività EEG (ElettroEncefaloGrafica) spontanea è ricca di rumore di fondo e, per rivelare gli ERP, di solito è necessario trarre vantaggio da rilevazioni multiple, per ridurre il rumore di fondo.

Il rumore proprio dell'attività EEG non è correlato con le forme d'onda dell'ERP, quindi, calcolando la media, esso decresce di un fattore pari all'inverso della radice quadrata di N , dove N è il numero di epoche sulle quali si fa la media.

Questa è la strategia più semplice solitamente utilizzata per rivelare gli ERP, basata sul calcolo della media delle forme d'onda di ciascun ERP che sono sincronizzate nel tempo e nella fase.

In questo lavoro viene proposto un nuovo metodo, chiamato GW6, per calcolare l'ERP tramite un procedimento matematico basato solamente sulla correlazione di Pearson.

Il risultato è un grafico con la stessa risoluzione temporale dell'ERP classico e in cui appaiono solo picchi positivi che rappresentano l'aumento, in corrispondenza degli stimoli, della correlazione del segnale EEG fra tutti i canali.

Questo nuovo metodo può consentire d'identificare ed esaltare selettivamente anche altre componenti nascoste della risposta ERP, non sincronizzate in fase, che solitamente restano nascoste nel metodo semplice e standard basato sulla media di tutte le epoche.

Queste componenti nascoste sembrano essere generate da fluttuazioni, tra uno stimolo e il successivo, del periodo di latenza intrinseco degli ERP (jitter della latenza), ma con una discreta costanza della fase del medesimo stimolo su tutti i canali.

Per questa ragione questo nuovo metodo può essere molto utile per indagare tali componenti nascoste della risposta ERP e per sviluppare applicazioni per scopi scientifici e medici.

Inoltre questo nuovo metodo è più resistente agli artefatti EEG del tradizionale calcolo della media e potrebbe essere molto utile nella ricerca e in neurologia.

Il metodo che proponiamo può essere direttamente utilizzato in forma di routine scritta nel noto linguaggio di programmazione Matlab e quindi facilmente e rapidamente scritto in qualsiasi altro linguaggio di programmazione.

Parole chiave: ERP; Interfaccia Cervello-Computer; correlazione di Pearson.

INTRODUZIONE

L'ERP (Event-Related Potential) è un segnale EEG registrato da diverse aree cerebrali in risposta ad un singolo breve stimolo, ad esempio visivo o uditivo, oppure ad un movimento muscolare (Linden, 2005; Sanei e Chambers, 2013; Aydin, 2008; Jin et Al. 2011).

Gli ERP sono largamente utilizzati nelle applicazioni di Interfaccia Cervello-Computer (BCI) e, in neurologia e psicologia, per lo studio dei processi cognitivi, dei disordini mentali, del deficit d'attenzione, della schizofrenia, dell'autismo, ecc. Gli ERP sono segnali deboli, se confrontati con l'attività EEG spontanea, e sono caratterizzati da un bassissimo rapporto segnale/rumore (SNR) - Signal to Noise Ratio - (Linden, 2005; Croft e Barry, 2000) e sono tipicamente costituiti da due a quattro onde di piccola ampiezza ($4 \div 10$ microvolt) che presentano un'onda positiva caratteristica chiamata P300, la quale si verifica con una latenza di circa 300 millisecondi in risposta allo stimolo. La rivelazione degli ERP è un problema importante ed esistono diversi metodi per distinguere questo debole segnale, tant'è vero che la loro analisi oggi è diventata una parte dominante delle ricerche sul cervello, in particolare nella progettazione e nello sviluppo delle Interfacce Cervello-Computer (Sano e Bakardjian, 2009). In questo articolo la definizione e la descrizione dell'ERP è focalizzata principalmente sulla P300, perché questo caso è più semplice al fine di presentare il nostro nuovo metodo per rivelare gli ERP. In particolare noi non considereremo i potenziali evocati veloci (EVP), come gli EVP uditivi del tronco cerebrale, che richiedono un'elevata frequenza di campionamento (circa 1000 Hz), la media di almeno 1000 stimoli e una filtrazione con una frequenza di taglio superiore compresa pressappoco tra 100 e 1000 Hz.

Poiché l'ERP è considerato una risposta riproducibile a uno stimolo, con ampiezza, forma d'onda e latenza relativamente stabili, il metodo standard per estrarre gli ERP si basa sulla presentazione ripetuta dello stimolo, per circa $80 \div 100$ volte, con un intervallo temporale casuale di pochi secondi tra gli stimoli stessi. Questa strategia consente di calcolare gli ERP facendo la media di diverse epoche sincronizzate in tempo e fase. Ogni epoca è generalmente costituita da un intervallo di pre-stimolo, uno di stimolo e uno di post-stimolo.

Il metodo della media è basato sull'assunto che il rumore spontaneo dell'attività EEG non sia correlato con la forma d'onda dell'ERP e di conseguenza l'operazione di calcolo della media fa diminuire il rumore di un fattore pari a $1/\sqrt{N}$ (inverso della radice quadrata di N), dove N è il numero di epoche sulle quali si fa la media. Siccome l'attività EEG di fondo ha un'ampiezza maggiore delle forme d'onda degli ERP, la tecnica basata sul calcolo della media esalta gli ERP e attenua il rumore. Questa è la strategia più semplice correntemente utilizzata per rivelare gli ERP ed è utilizzata anche in questo lavoro come metodo di riferimento da confrontare con il nostro nuovo metodo per calcolare gli ERP stessi.

In generale, per calcolare gli ERP con il metodo della media, bisogna che siano soddisfatte essenzialmente tre condizioni, o ipotesi:

1. Il segnale sia sincronizzato nel tempo e con forma d'onda stabile.
2. Il rumore non sia correlato con il segnale.
3. La latenza sia relativamente stabile (basso jitter).

La sincronizzazione temporale delle epoche dipende solamente da un semplice procedimento tecnico, mentre la stabilità della forma d'onda, la latenza e il rumore sono proprietà intrinseche dell'ERP. Intuitivamente la media può catturare soltanto le componenti dell'ERP che si ripetono significativamente in latenza e fase rispetto ad un evento (lo stimolo), altrimenti le differenze di fase potrebbero causare la parziale cancellazione dell'ERP calcolato come media.

Anche il metodo GW6 richiede queste tre condizioni, ma è meno restrittivo circa la stabilità della latenza e della forma d'onda ed è anche meno sensibile agli artefatti residui presenti nei segnali EEG. Il calcolo della media delle epoche è tuttavia solo l'ultimo passo del calcolo degli ERP.

Normalmente sono necessari diversi stadi di pre-elaborazione, poiché i segnali sono molto facilmente affetti da artefatti importanti, dovuti a movimenti oculari, al battito cardiaco (artefatti ECG - ElettroCardioGrafici), a movimenti della testa, a cattivi contatti pelle-elettrodo, a rumore dalle linee di distribuzione elettrica, a lampade fluorescenti, ecc.

Tutti questi artefatti possono essere parecchio più grandi (anche 10÷20 volte o più) dei sottostanti ERP, quindi onde e picchi casuali possono nascondere la forma d'onda reale dell'ERP e sono quindi in grado di vanificare qualunque calcolo della media. Il primo passo più utilizzato della pre-elaborazione include l'uso di un filtraggio passa-banda da 0,5 a 30 Hz mediante un filtro digitale il quale non deve variare la fase dei segnali. La Trasformata Inversa di Fourier (FFT) è, tra gli altri metodi, adatta a questo scopo.

Molti ricercatori hanno suggerito che le componenti principali della P300 siano eventi oscillatori transitori nella banda comprendente le onde delta, theta e alfa, pertanto una banda passante che va da 1 a 20 Hz potrebbe essere sufficiente (Wastell, 1977).

Il passo successivo può includere vari metodi: tra i più usati c'è l'algoritmo ICA - Independent Component Analysis - (Makeig, 1996; Vorobyov e Cichocki, 2002), il quale consente di separare i segnali EEG veri dalle componenti indesiderate (contrazioni muscolari, battito cardiaco, ecc.).

In genere questo metodo richiede che si decida quale componente di segnale (dopo la separazione) sia da considerare indesiderabile e quale no.

Uno dei problemi più comuni è la rimozione degli artefatti oculari dai segnali EEG, scopo per il quale sono state sviluppate diverse tecniche basate sulla sottrazione di un elettro-oculogramma medio e su modelli autoregressivi o metodi adattivi (Jervis, 1988; Croft e Barry, 2000).

La Blind Source Separation (BSS) (Joyce, Gorodnitsky e Kutas, 2004) è una tecnica fondata sull'ipotesi che i segnali che si osservano in uscita da un sistema di registrazione multicanale siano generati da una mescolanza di parecchi segnali provenienti da sorgenti diverse. Tramite questo metodo è possibile isolare i segnali sorgente originali applicando qualche tipo di trasformazione all'insieme dei segnali osservati.

La Discrete Wavelet Transform (DWT) è un altro metodo che può essere utilizzato per analizzare le proprietà temporali e spettrali di segnali non stazionari (Wang, MaierLeopold, Logothetis e Liang, 2007; Quiroga e Garcia, 2003; Hu et al., 2011). Ricorrendo alla DWT, che è stata già riconosciuta come un'ottima tecnica lineare per l'analisi di segnali non stazionari - come quelli EEG - si possono estrarre caratteristiche sia nel dominio del tempo sia in quello della frequenza, così come in quello tempo-frequenza.

Anche la rete neurale artificiale conosciuta come Adaptive Neuro-Fuzzy Inference System (ANFIS) è stata descritta come utile per la rivelazione della P300 (Ramirez-Cortes, Alarcon-Aquino, Rosas-Cholula, Gomez-Gil ed Escamilla-Ambrosio, 2010).

Inoltre anche il cancellatore di rumore e il filtro adattativi possono rivelare gli ERP (Ahirwal, Kumar e Singh, 2014).

Una valida descrizione delle tecniche ERP e delle relative componenti d'onda è dovuta a Steven J. Luck (2005).

SINCRONIZZAZIONE DEI SEGNALI EEG

La sincronizzazione dei circuiti neuronali è stata ampiamente utilizzata, prevalentemente negli studi tramite elettroencefalografia delle funzioni e disfunzioni cerebrali umane. I fenomeni di sincronizzazione sono stati via via sempre più riconosciuti come aspetti fondamentali della comunicazione tra differenti regioni del cervello.

In questo lavoro, il concetto di correlazioni EEG tra i canali elettroencefalografici è stato proposto come metodo alternativo per calcolare gli ERP.

Sono stati sviluppati diversi metodi per quantificare la relazione tra le serie temporali, ad esempio la "product-moment correlation" di Pearson (Pearson), la "rank-order correlation" di Spearman, la "rank-order correlation" di Kendall, la "mutual information", la "cross correlation", la "coherence" la "wavelet correlation". Nel nostro metodo usiamo la correlazione di Pearson, così definita:

$$r = \frac{COV(A,B)}{\sqrt{var(A)*var(B)}} \quad (1)$$

dove A(t) e B(t) sono due serie temporali, COV(A, B) la covarianza dei campioni e var(A) e var(B) sono le corrispondenti varianze dei campioni.

La correlazione può assumere qualsiasi valore compreso tra -1 e +1 e, in particolare, un valore vicino ad 1 significa che le due serie temporali (cioè due canali EEG) sono fortemente in fase, mentre il valore -1 significa che i due segnali sono in opposizione di fase e i valori vicini a zero indicano mancanza di relazione di fase.

La correlazione di Pearson è stata scelta perché il calcolo di r è semplice, veloce e completamente indipendente dall'ampiezza assoluta dei segnali EEG, quindi rappresenta solamente le variazioni della correlazione di fase tra due o più canali EEG.

MATERIALI E METODI

Strumentazione EEG

I segnali EEG sono stati registrati utilizzando un apparato a basso costo, l'Emotiv EPOC® EEG Neuroheadset. Questa cuffia EEG è wireless (senza fili) e consiste in 14 elettrodi attivi più 2 di riferimento, collocati ed etichettati secondo il Sistema Internazionale 10-20. I nomi dei canali sono: AF3, F7, F3, FC5, T7, P7, O1, O2, P8, T8, FC6, F4, F8 e AF4. I segnali EEG acquisiti vengono inviati al computer per mezzo di deboli segnali radio nella gamma di frequenza dei 2,4 GHz.

La frequenza di campionamento dell'Emotiv è di 128 Hz in ciascun canale e i segnali sono codificati con una definizione di 14 bit. Inoltre l'hardware Emotiv opera preliminarmente sui segnali a frequenza più elevata e poi con un filtro passa-banda da 0,1 a 43 Hz e di conseguenza i segnali d'uscita sono relativamente liberi dai disturbi provocati dalla rete elettrica a 50 Hz, ma sono spesso ricchi di artefatti. La cuffia Emotiv EPOC® è stata utilizzata con successo per registrare gli ERP (Badcock et al., 2013), benché non sia considerata un apparato per uso medico. L'Emotiv EPOC® è stato inoltre largamente utilizzato in numerose ricerche nel campo della BCI (Boutani et al. 2013, Liu Y. et al. 2012).

Abbiamo raccolto e registrato i segnali grezzi provenienti dall'Emotiv EPOC® utilizzando un software da noi sviluppato e uno speciale formato dei dati basato sul formato .CSV (Comma-Separated Values). Lo stesso software da noi sviluppato è stato utilizzato per fornire al soggetto i necessari stimoli uditivi e/o visivi.

Partecipanti

I partecipanti erano dieci volontari in buona salute, di età compresa fra 28 e 69 anni, ed erano stati preliminarmente informati circa gli scopi della sperimentazione. Ciascun partecipante ha dato il proprio consenso scritto, con l'approvazione IRB (Institutional-Review-Board). I soggetti disponevano di una normale capacità visiva ed erano privi di problemi di udito, inoltre avevano una posizione di riposo confortevole durante i test.

Protocollo sperimentale

Innanzitutto, utilizzando un software in dotazione dell'Emotiv EPOC®, l'impedenza del contatto pelle-elettrodo è stata mantenuta al di sotto dei 10 KΩ, per registrare segnali EEG migliori. Gli ERP sono stati indotti con uno stimolo uditivo (onda sinusoidale pura a 500 Hz) e con un contemporaneo lampo di luce emesso da una matrice di 16 LED rossi ad alta efficienza. La durata dello stimolo era di un secondo e gli stimoli venivano ripetuti 128 volte, con un intervallo tra uno stimolo e l'altro variabile in modo casuale tra 4 e 6 secondi.

Utilizzando l'elettrodo di riferimento originale della cuffia Emotiv EPOC® (mastoidale) abbiamo registrato un primo gruppo di dati sperimentali su 14 canali. Un altro gruppo di file EEG, di migliore qualità, è stato registrato con gli elettrodi di riferimento collegati ai lobi delle orecchie, una variante che assicura una migliore qualità dei segnali rispetto alla configurazione standard della cuffia Emotiv EPOC®, i cui elettrodi di riferimento sono collocati in una zona attiva della testa.

Il nuovo algoritmo

In questo lavoro il metodo GW6 è descritto passo-passo come procedura e anche utilizzando una routine scritta nel linguaggio di programmazione Matlab (vedere APPENDICE PUBBLICATA). Tramite il nostro software abbiamo pre-elaborato i file EEG usando un filtro digitale per la banda da 1 a 20Hz, seguito da un metodo che abbiamo chiamato Normalizzazione. La filtrazione è stata realizzata usando la Trasformata Inversa di Fourier, la quale non cambia la fase dei segnali. La conservazione della fase originale dei segnali è molto importante al fine di poter applicare il nostro metodo.

D'altra parte il fatto di conservare l'informazione sugli schemi di fase dei segnali, piuttosto che sulla semplice potenza dei segnali stessi, si è rivelato importante anche nella rappresentazione delle categorie semantiche degli oggetti, specialmente nella banda a bassa frequenza (1 ÷ 4 Hz) (Behroozi, 2015).

Il secondo stadio di pre-elaborazione utilizzato è stata la Normalizzazione dei segnali: il segnale grezzo proveniente da ciascun canale, cioè $S(x)$ - dove x è l'indice di campionamento lungo epoche di 4 o 5 secondi - sono stati normalizzati come:

$$S'(x) = \frac{K * [S(x) - \bar{S}]}{\sqrt{\left(\frac{1}{N} * \sum_{x=1}^N (S(x) - \bar{S})^2\right)}}$$

in cui \bar{S} è la media degli $S(x)$ in quell'epoca.

Il punteggio z (z-score) del segnale viene quindi moltiplicato per un fattore K , dove K è una costante sperimentale che restituisce al segnale EEG l'ampiezza media ottimale.

Il fattore K è la deviazione standard di un segnale medio di buona qualità, trovata per via sperimentale con questo specifico strumento. Tale numero è stato determinato come $K=20$ e questo passo di normalizzazione ha creato un segnale con un aspetto identico a quello del segnale EEG originale, ma caratterizzato da una scala uniforme, con un'ampiezza comparabile per ciascuna epoca.

Per di più questa normalizzazione non cambia la relazione di fase tra tutti i canali EEG.

L'intero file pre-elaborato è stato salvato come nuovo file in formato .CSV, completo delle informazioni riguardanti l'inizio e la fine di ciascun stimolo.

Notare che è anche possibile pre-elaborare solo le epoche sincronizzate nel tempo, per esempio lunghe 3 secondi, corrispondenti a ciascun stimolo [pre-stimolo, + stimolo (1s), + post-stimolo], e in generale questa procedura fornisce risultati non identici, ma molto simili a quelli del metodo precedente, basato sulla filtrazione ed il salvataggio dell'intero file.

Un altro comune metodo di pre-elaborazione dei dati per il calcolo dell'ERP consiste nell'esclusione di tutte le epoche aventi un'ampiezza superiore ad una soglia prefissata, per esempio 80 microvolt.

Un inconveniente di questo metodo è che potrebbe essere scartato un elevato numero di epoche e conseguentemente la media potrebbe essere calcolata su un numero insufficiente di dati.

Nel nostro software abbiamo anche usato questa procedura per eliminare epoche afflitte da forti artefatti, superiori a 100 microvolt, ancora presenti dopo la filtrazione digitale.

In questo articolo descriveremo un nuovo metodo, utile per rivelare gli ERP anche in presenza di segnali particolarmente rumorosi e con significative variazioni della latenza, conosciute come "latency jitter". Il nostro metodo, chiamato GW6, è meno restrittivo circa gli effetti del jitter e inoltre permette di identificare un ERP anche quando l'approccio standard, basato sulla media, fallisce o fornisce un risultato insoddisfacente a causa di numerosi artefatti.

Tuttavia il metodo GW6 non riproduce la tipica forma d'onda bifasica dell'ERP, ma piuttosto una forma d'onda sempre positiva. Per questa ragione, questa nuova procedura è utile se usata insieme alla classica tecnica del calcolo della media, piuttosto che in alternativa ad essa.

Il nuovo metodo utilizza in modo estensivo la correlazione di Pearson fra tutti i segnali EEG, registrati con uno strumento EEG multicanale. Se si utilizza il metodo del calcolo della media è possibile lavorare anche con un singolo canale EEG, mentre il metodo GW6 richiede necessariamente uno strumento EEG multicanale, con un minimo di 6 canali. Tuttavia è poi possibile calcolare successivamente l'ERP in ciascun canale con il metodo standard.

In molti lavori che descrivono un metodo per analizzare qualcosa, vengono normalmente fornite formule matematiche che devono essere successivamente tradotte in un linguaggio adatto ai computer, ad esempio C, C++, Visual Basic, Java, Python, Matlab, o altri. Questo passaggio potrebbe essere complicato e limitare la diffusione e l'applicazione di qualche utile metodo.

In questo articolo descriveremo questo nuovo algoritmo come procedura passo-passo ed anche in un semplice e ben conosciuto linguaggio di programmazione, il Matlab, allo scopo di facilitare l'applicazione del metodo stesso (vedere APPENDICE PUBBLICATA). L'idea che sta alla base di questo nuovo metodo è descritta nelle Figure 1 e 2.

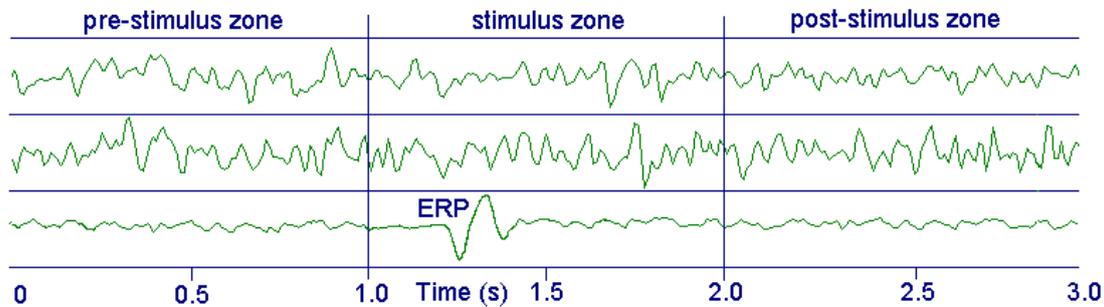


Fig. 1: Le due tracce superiori rappresentano i segnali grezzi di due canali EEG in epoche temporalmente sincronizzate, mentre la traccia inferiore è la media di un numero di epoche sufficientemente elevato (circa 100) per ciascun canale (l'ERP non è in scala). L'immagine mostra un picco positivo circa 300 ms dopo l'inizio dello stimolo (onda P300). L'ERP ha tipicamente una durata di circa 300÷500 ms, a seconda del tipo di stimolo e di filtraggio passa-banda del segnale.

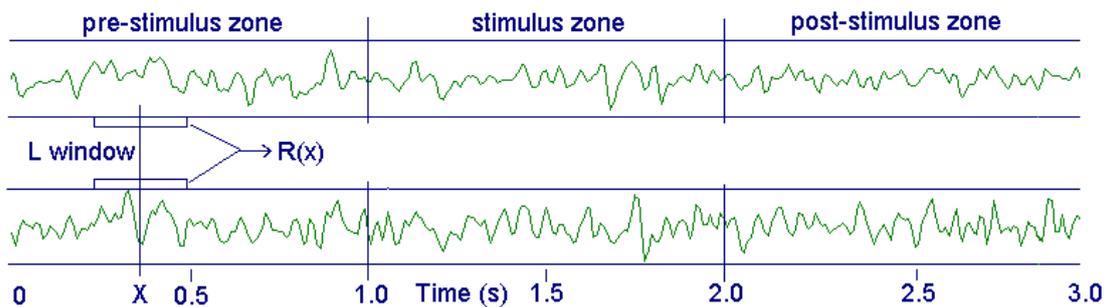


Fig. 2: La doppia finestra-dati di durata L viene fatta scorrere progressivamente lungo le due tracce $S1(x)$ e $S2(x)$ e la corrispondente correlazione di Pearson fra le due finestre viene calcolata e memorizzata nel vettore $R(x)$, dove x è l'indice di campionamento dei dati delle tracce.

Consideriamo adesso la fig. 2 e la doppia finestra-dati di durata L (circa 270 ms, 34 campioni) centrata nel punto X del segnale. Possiamo calcolare la Correlazione Lineare di Pearson tra questi due segmenti di dati e il risultato sarà un numero r rappresentato dal vettore $R(x)$, il quale può essere calcolato per ogni punto X semplicemente facendo scorrere progressivamente di un campionamento unitario la finestra (finestra scorrevole). In generale il valor medio calcolato di $R(x)$ varierà tra la zona di pre-stimolo e quella di stimolo, perché quest'ultimo - uditivo e/o visivo che sia - altera la correlazione tra i due segnali EEG, i quali rappresentano l'attività di parti diverse del cervello. È stato scelto un intervallo di circa 270 ms perché rappresenta il ritardo tipico necessario per avere una risposta cosciente, corrispondente all'onda P300, ma differenti intervalli potrebbero essere scelti per analizzare i Potenziali Evocati veloci o per altri tipi di stimolo.

Questa variazione di correlazione può manifestarsi sia come aumento sia come diminuzione rispetto alla linea di riferimento (la zona che precede lo stimolo, chiamata anche baseline).

Prendiamo in considerazione un esempio reale, basato sull'Emotiv EPOC®, nel quale il numero di canali vale $NC = 14$, la frequenza dei campionamenti è di 128 al secondo, la durata dello stimolo è di un secondo e la durata di un'epoca è di tre secondi.

In tal caso è possibile calcolare il vettore $R(x)$ in un numero di combinazioni a coppie pari a $Nt = NC*(NC -1)/2 = 91$ per ciascuno stimolo (epoca). Si può esprimere il risultato utilizzando un nuovo vettore $R(I, X)$ in cui $I = 1... 91$ e $X = 1... 384$. Quest'ultimo numero trae origine da un'epoca della durata di tre secondi e da 128 campionamenti/secondo, con lo stimolo applicato al campione n. 128 e cessato al campione 256, dopo un'ulteriore secondo.

Ciascun valore di $R(I, X)$ deriva dalla Correlazione di Pearson fra le due finestre di lunghezza L (cioè 34 campioni) centrate nel punto X e per ogni combinazione in coppia degli NC canali.

Inoltre il vettore $R(I, X)$ viene mediato lungo tutti gli Ns stimoli forniti al soggetto.

In generale possiamo rappresentare i segnali grezzi come un vettore temporalmente sincronizzato di tipo $V(C, X, J)$, nel quale $C = 1... 14$ sono i canali EEG, $X = 1... 384$ sono i campionamenti effettuati in 3 secondi e $J = 1... Ns$ è il numero di stimoli a cui il soggetto è stato sottoposto, di solito circa 100. L'intera procedura GW6 è meglio descritta nella routine Matlab (vedere APPENDICE PUBBLICATA). Quelli che seguono sono gli stadi di elaborazione che si basano sull'apparato Emotiv EPOC® a 14 canali EEG, ma non limitati a questo particolare apparato (i numeri che appaiono qui sono solo forniti come esempio):

Stadio 1: Filtrazione del file .CSV nella banda $1 \div 20$ Hz, Normalizzazione e nuovo salvataggio dell'intero file. È tuttavia possibile omettere questo stadio e realizzare direttamente la filtrazione e la Normalizzazione sull'epoca sincronizzata nel tempo di ciascuno stimolo del file.

Stadio 2: Dai segnali grezzi o dal file pre-elaborato, calcolo di tutte le epoche sincronizzate nel tempo e memorizzazione dei dati nel vettore $V(C, X, J)$, dove $C = 1... 14$, $X = 1... 384$ sono i campioni e $J = 1... Ns$ è l'indice degli stimoli. Tuttavia, a causa della presenza della doppia finestra L , abbiamo bisogno di un vettore più lungo per l'elaborazione, per esempio la lunghezza potrebbe essere aumentata con due code lunghe $L = 34$, ottenendo così un numero totale di $L + 384 + L = 452$ campioni, con lo stimolo che inizia a $X=162$ e finisce a $X = 290$. Ora il vettore $V(C, X, J)$, filtrato e normalizzato, viene rinominato $W(C, X, J)$.

$$V(C, X, J) + \text{filtrazione} + \text{normalizzazione} \rightarrow W(C, X, J).$$

È di particolare importanza che venga esclusa l'utilizzazione di qualsiasi metodo di pre-elaborazione che modifichi la correlazione tra i segnali.

Stadio 3: Calcolo della semplice media di $W(C, X, J)$ su tutte le epoche (numero di stimoli) N_s , ottenendo il vettore finale $Ev(C, X)$, il quale rappresenta il semplice e classico ERP per ciascun canale.

$$Ev(C, X) = \frac{1}{N_s} * \sum_{J=1}^{J=N_s} W(C, X, J)$$

Un dettaglio degno di nota: alla fine di questa elaborazione, l'indice X può essere facilmente ricalcolato al fine di tagliare le due code iniziale e finale lunghe L , generando infine un vettore $Ev(C, X)$ dove $C = 1 \dots 14$ e $X = 1 \dots 384$.

Questo vettore $Ev(C, X)$ in questo lavoro è utilizzato come confronto con i risultati del nostro metodo e per mostrare le differenze nella forma d'onda dell'ERP risultante.

Stadio 4: Calcolo di tutte le combinazioni delle Correlazioni di Pearson, utilizzando una finestra scorrevole della durata di 270 ms, come descritto in Fig. 2. Il risultato è il vettore $R(I, X)$, in cui I è l'indice delle combinazioni a coppie, il quale è alla fine calcolato come media di tutte le stimolazioni. Anche in questo caso, alla fine di questo stadio, l'indice X viene ricalcolato al fine di tagliare via le code iniziale e finale di lunghezza L , per fornire il vettore finale $R(I, X)$, in cui $I = 1 \dots 91$ e $X = 1 \dots 384$ (vedere APPENDICE PUBBLICATA). Questo vettore è la media ricavata da tutti gli N_s stimoli. In accordo con la Equazione 1 possiamo descrivere questo stadio anche utilizzando questa espressione formale:

$$R(I, X) = \frac{1}{N_s} * \sum_{J=1}^{J=N_s} Pearson(I, X)$$

dove $Pearson(X, I)$ è il valore della r di Pearson calcolato da $X = 1$ ad $N(1 \dots 384)$;

$t =$ da $(X-L/2)$ a $(X+L/2)$ è la serie temporale e $A(t) = W(Ca, X, J)$; $B(t) = W(Cb, X, J)$;

$I =$ è ogni combinazione a coppie Ca e Cb dei C canali.

Stadio 5: Calcolo del valore medio della linea di riferimento (baseline) per ciascuna combinazione, descritta dall'indice I del vettore $R(I, X)$; $I = 1 \dots 91$ ($N_t = 91$). La migliore baseline viene calcolata come media bilanciata del pre-stimolo più il post-stimolo di ciascuna combinazione

$$Bs(I) = \frac{1}{(N + b1 - b2)} * \left(\sum_{x=1}^{b1} R(I, X) + \sum_{x=b2}^N R(I, X) \right)$$

- dove $b1$ è l'indice temporale relativo all'inizio dello stimolo e $b2$ è quello relativo alla fine dello stimolo stesso - poi sottraendo questa linea di riferimento (baseline) dal vettore $R(I, X)$ e assumendone il valore assoluto:

$$R'(I, X) = Abs[R(I, X - Baseline)].$$

Il valore assoluto viene calcolato perché fornisce una media semplice tra tutte le N_s combinazioni (vedere Stadio 6), infatti la variazione di correlazione durante lo stimolo può

fornire valori sia positivi che negativi di $R(I, X)$ per ciascun I e solo assumendo il valore assoluto la media (vedere Stadio 6) è sempre positiva.

Stadio 6: Media lungo tutte le N_t combinazioni (e tutti gli stimoli), per fornire il vettore finale $Sync1(X)$:

$$Sync1(x) = \frac{1}{N_t} * \sum_{i=1}^{i=N_t} R'(I, X)$$

che rappresenta la variazione complessiva delle correlazioni EEG durante un'epoca di tre secondi. Per la ragione spiegata allo Stadio 5 tale variazione appare sempre come picco positivo.

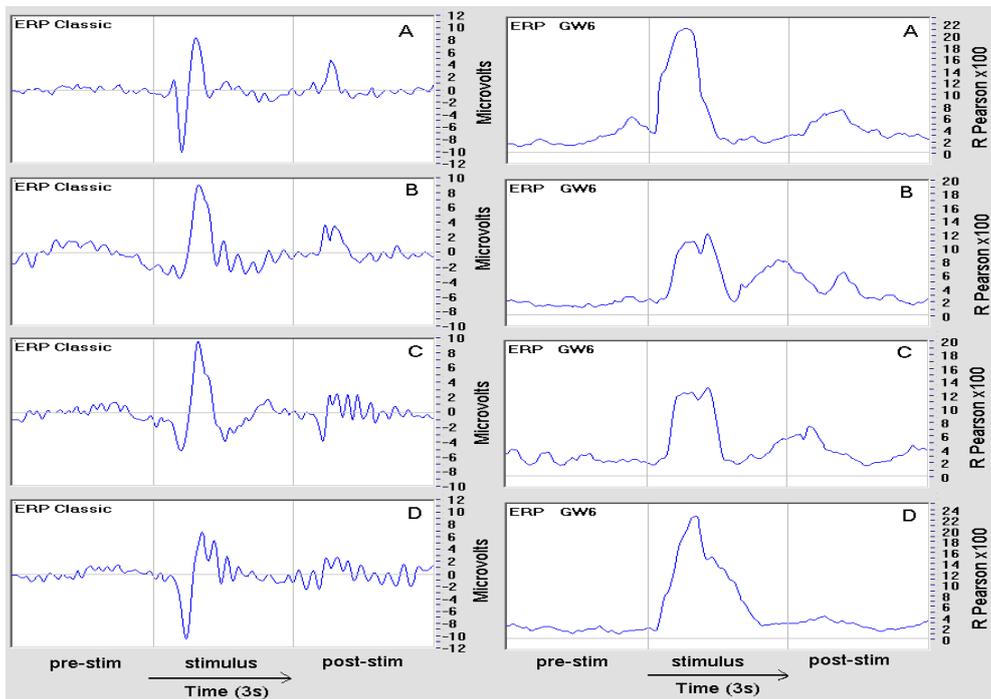


Fig.3: In queste immagini esemplificative, a sinistra compare il classico ERP (ampiezza in microvolt). A destra appare il corrispondente grafico GW6; il risultato è espresso come valore della r di Pearson moltiplicato per 100. Tutti questi grafici sono la media complessiva di 14 canali EEG e di circa 120 stimoli; i dati EEG sono stati filtrati nella banda da 1 a 20 Hz e sottoposti alla routine Normalizzazione. In tutti i casi si osserva un picco positivo in coincidenza con il picco massimo della P300, ma nella maggioranza dei casi il picco positivo del grafico GW6 è più largo del corrispondente ERP classico (vedere, ad esempio i casi B, C e D).

È anche possibile calcolare un vettore equivalente $Sync2(C, X)$ per ciascun canale C (vedere APPENDICE PUBBLICATA):

$$Sync2(C, X) = \frac{1}{(NC-1)} * \sum_{I=(C,K)} R'(I, X)$$

dove I è l'indice di tutte le combinazioni a coppie del canale C con ogni altro canale K. Il numero di queste combinazioni è $(NC-1)$ per ciascun canale.

Il vettore complessivo Sync1(X), e anche il Sync2(C, X), mostrano uno o più picchi positivi nella zona dell'ERP, come appare in Fig. 3, e questi picchi rappresentano le variazioni di correlazione fra le differenti zone del cervello (elettrodi) durante lo stimolo.

Risultati sperimentali.

I grafici di Fig. 3 sono esempi dei risultati tipici forniti da questo metodo.

Per indagare meglio le proprietà del metodo GW6 abbiamo scritto un software di emulazione.

In questo software una semplice forma d'onda ERP artificiale è stata sommata ad un rumore casuale e poi adeguatamente filtrata con un filtro passa-basso, al fine di riprodurre la distribuzione di frequenza tipica del segnale EEG. Il segnale ERP artificiale è stato miscelato con una quantità variabile di tale rumore casuale e poi il risultato è stato sottoposto al classico calcolo della media e al metodo GW6 (Fig. 4).

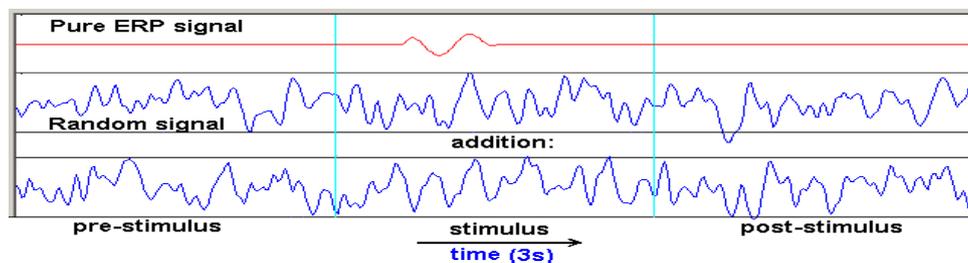


Fig. 4: ERP artificiale mescolato con una quantità variabile di segnale casuale e poi sottoposto al classico calcolo della media e anche al metodo GW6.

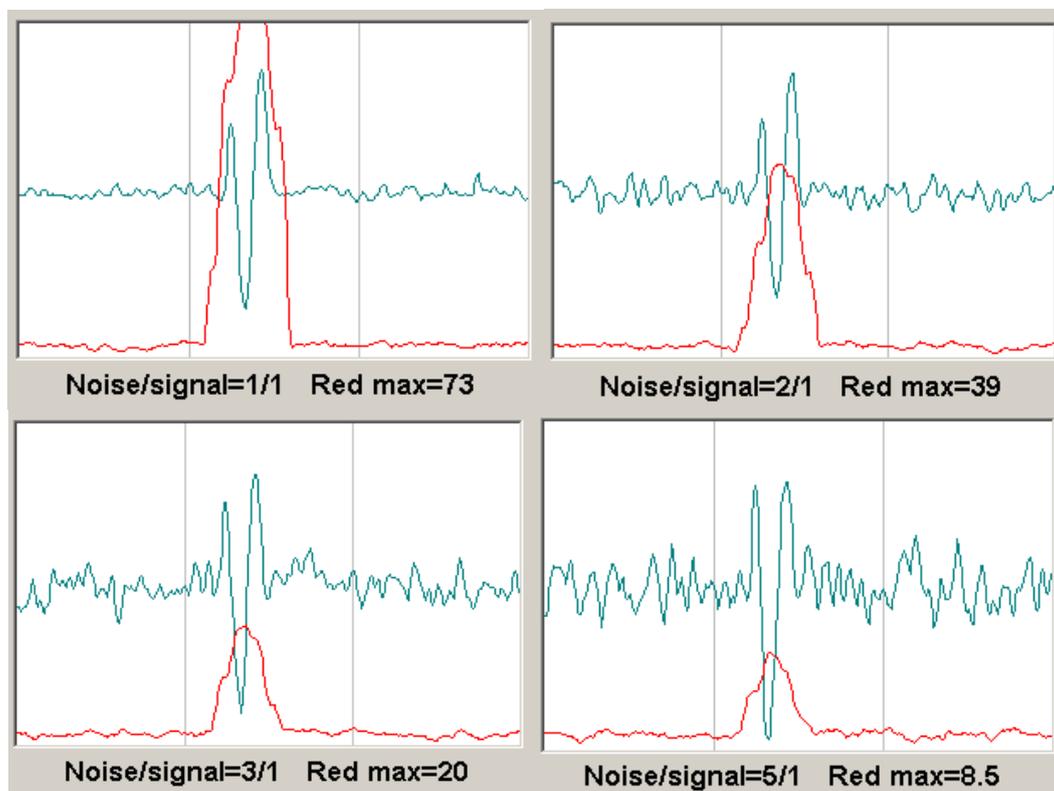


Fig.5. Esempio di emulazione dell'ERP+segnale casuale per 4 livelli di rapporto rumore/segnale.

La Fig.5 mostra i risultati del metodo classico di calcolo della media e del metodo GW6 in corrispondenza di un aumento progressivo del rapporto rumore/segnale, come media di 100 ERP su un singolo canale. Mentre l'ampiezza finale dell'ERP non cambia, ma diventa progressivamente più ricca di rumore, l'ampiezza del grafico GW (curva in rosso) diminuisce progressivamente, ma con un rumore residuo stabile. Inoltre la larghezza della curva in rosso è approssimativamente uguale a quella dell'ERP classico (con l'inclusione di tutti i picchi). Non solo, ma la forma d'onda del grafico GW6 cambia poco utilizzando una finestra L di circa 150 ms invece dei 270 ms di cui si è parlato in precedenza. In generale, più è grande l'ampiezza dell'ERP classico, più è grande la correlazione osservabile mediante il nostro nuovo metodo, ma la relazione non è lineare e dipende dal rumore presente nel segnale EEG.

È molto interessante il confronto fra questi due metodi in presenza del cosiddetto jitter di latenza, che è rappresentato da una latenza temporale instabile dell'ERP, la quale talvolta può influenzare gli ERP stessi.

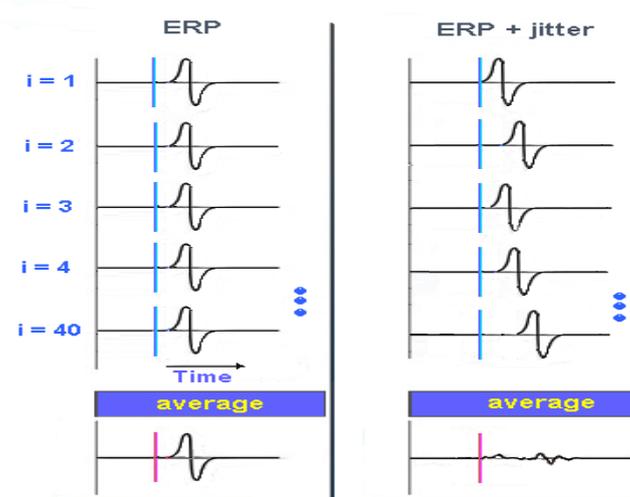


Fig. 6: A sinistra ERP con latenza stabile e a destra con jitter (variazione) della latenza.

Quando la latenza dell'ERP è stabile (Fig. 6 - a sinistra), anche la sua media è stabile e mostra la sua massima ampiezza. Se è invece presente un jitter (provocato da alcune cause fisiologiche), la corrispondente media diminuisce, poiché ciascun ERP non si combina con la medesima fase e di conseguenza gli ERP mostrano la tendenza a cancellarsi reciprocamente. Questo effetto è più pronunciato se il jitter aumenta. Nell'emulazione software di Fig. 7 è stato utilizzato un rapporto rumore/segnale (N/S) stabile (3/1), ma con un jitter casuale in progressivo aumento. Inoltre il jitter era casuale tra i singoli ERP, ma era costante per ciascun ERP in tutti i canali. I risultati mostrano chiaramente che il metodo GW6 è più resistente al jitter rispetto alla semplice media classica.

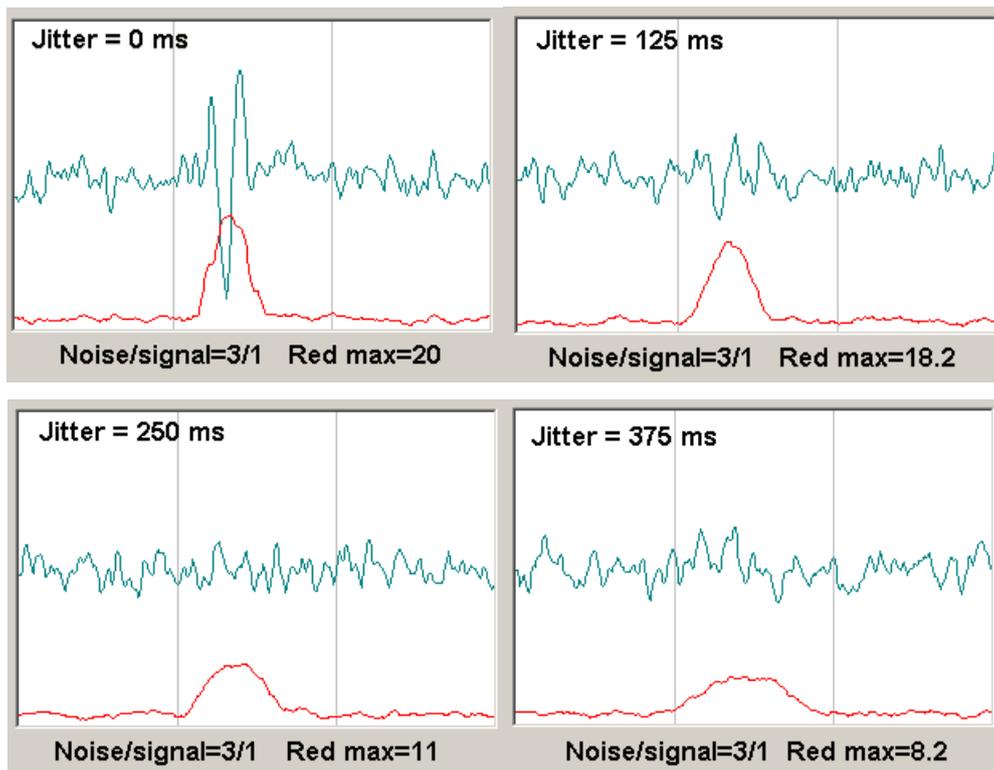


Fig. 7: Rapporto (N/S) stabile (3/1), ma con jitter casuale incrementato progressivamente.

Mentre la classica forma d'onda dell'ERP scompare rapidamente via via che il jitter aumenta, il metodo GW6 fornisce un risultato ancora identificabile (curva in rosso), nel quale l'ampiezza della curva diminuisce, ma non così rapidamente, e la larghezza della curva aumenta.

Questa interessante proprietà è molto importante, in quanto suggerisce qualche altra possibilità riguardo ai grandi picchi che si osservano nei grafici GW6 di Fig. 3, in particolare nei casi B, C e D. Seguendo un'intuizione, abbiamo aggiunto una nuova e semplice routine al nostro software utilizzato per analizzare il vero ERP sia mediante il metodo classico sia mediante il GW6. Al termine dell'elaborazione, la quale fornisce il risultato tipico mostrato in Fig. 3, abbiamo aggiunto una nuova routine in cui la classica media degli ERP (vedere APPENDICE PUBBLICATA) è stata sottratta dal vettore $W(C, X, J)$ dei segnali EEG, ottenendo il nuovo vettore:

$$W'(C, X, J) = W(C, X, J) - Ev(C, X)$$

poi questo nuovo vettore è stato sottoposto agli Stadi 3, 4, 5 e 6 descritti in precedenza. Includendo questa routine nel nostro software di emulazione, e successivamente eseguendo gli stessi Stadi 3, 4, 5 e 6, come risultato non appare alcun ERP e neppure alcun picco GW6 significativo. Questo è ovvio, perché abbiamo in tal modo cancellato la componente ERP dal rumore casuale e di conseguenza non c'è da aspettarsi che appaia nulla, tuttavia questo è vero solo se il jitter è zero (Fig. 8 e Fig. 9).

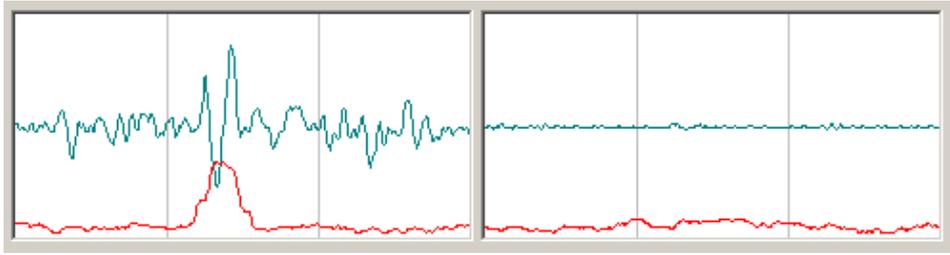


Fig.8: Caso 1- A sinistra: $W(C, X, J)$ ricavato dall'onda ERP pura + rumore casuale, jitter = 0, media di 100 ERP. A destra: con la stessa elaborazione del corrispondente vettore $W'(C, X, J)$ ambedue i grafici si spianano.

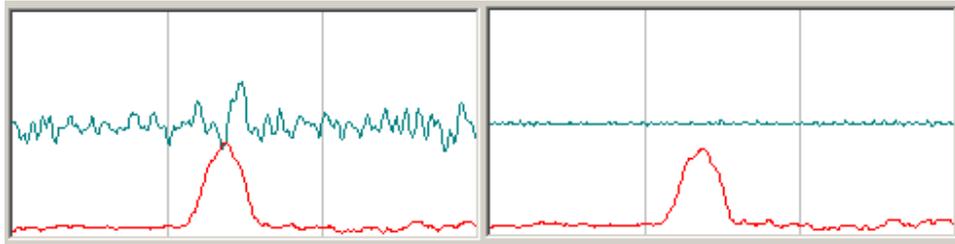


Fig. 9: Caso 2- A sinistra: $W(C, X, J)$ ricavato dall'onda ERP pura + rumore casuale, jitter = 78 ms (casuale tra 0 a 78 ms), media di 100 ERP. A destra: con la stessa elaborazione del corrispondente vettore $W'(C, X, J)$ scompare solo il classico ERP. In presenza di jitter la routine GW6 mostra sempre un ERP.

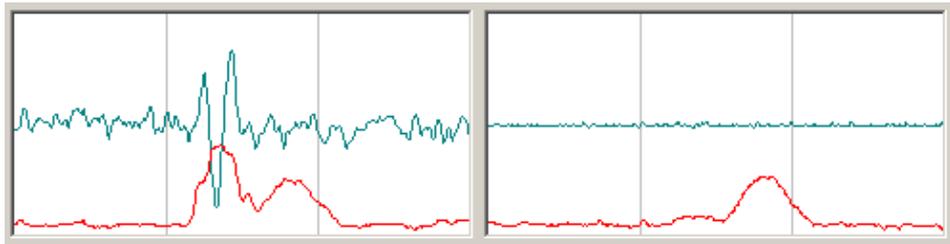


Fig.10: Caso 3- A sinistra: $W(C, X, J)$ ricavato dall'onda ERP pura + rumore casuale, jitter = 0, RCS di circa 400 ms. A destra: con la stessa elaborazione del vettore $W'(C, X, J)$ scompare solamente l'ERP classico, non quello dovuto a RCS.

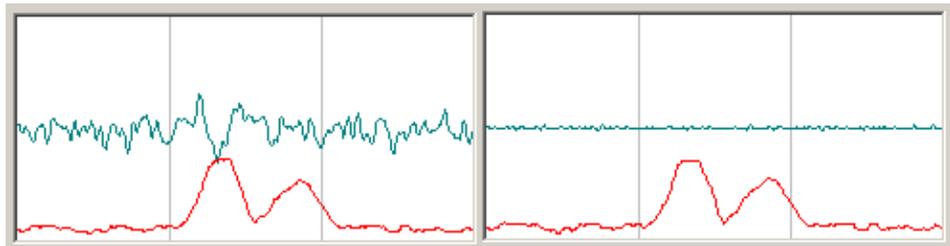


Fig.11: Caso 4- A sinistra: $W(C, X, J)$ ricavato dall'onda ERP pura + rumore casuale, jitter = 78 ms, larghezza dell'RCS di circa 400 ms, media di 100 ERP. A destra: con la stessa elaborazione del corrispondente vettore $W'(C, X, J)$ ora sono visibili ambedue i picchi.

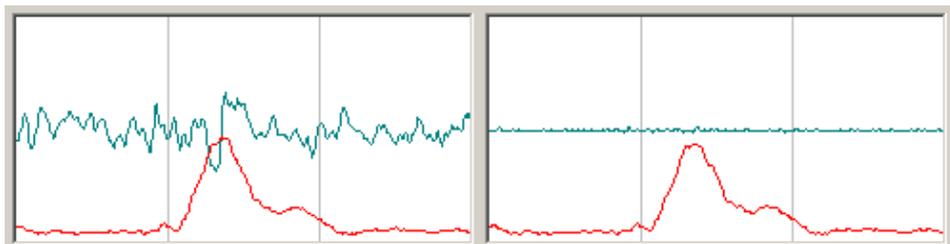


Fig.12: Caso 5- A sinistra : $W(C, X, J)$ ricavato dall'onda ERP pura + rumore casuale, jitter = 78 ms, larghezza dell'RCS di circa 860 ms, media di 100 ERP. A destra: con la stessa elaborazione del corrispondente vettore $W'(C, X, J)$ ora ambedue i picchi sono sovrapposti e visibili.

Abbiamo poi realizzato una nuova variante nel software di emulazione: accanto all'onda ERP pura + segnale casuale, abbiamo aggiunto anche un segnale casuale comune (RCS) a ciascun canale in una zona limitata vicina all'ERP, ma tale RCS è casuale tra gli ERP. In questa variante di emulazione abbiamo fatto l'ipotesi che lo stimolo applicato al soggetto possa causare non soltanto una semplice risposta cerebrale basata su una forma d'onda stabile con basso jitter (il classico ERP), bensì anche una forma d'onda non stabile, ma molto simile o identica, in tutti i canali EEG in corrispondenza di ciascuno stimolo.

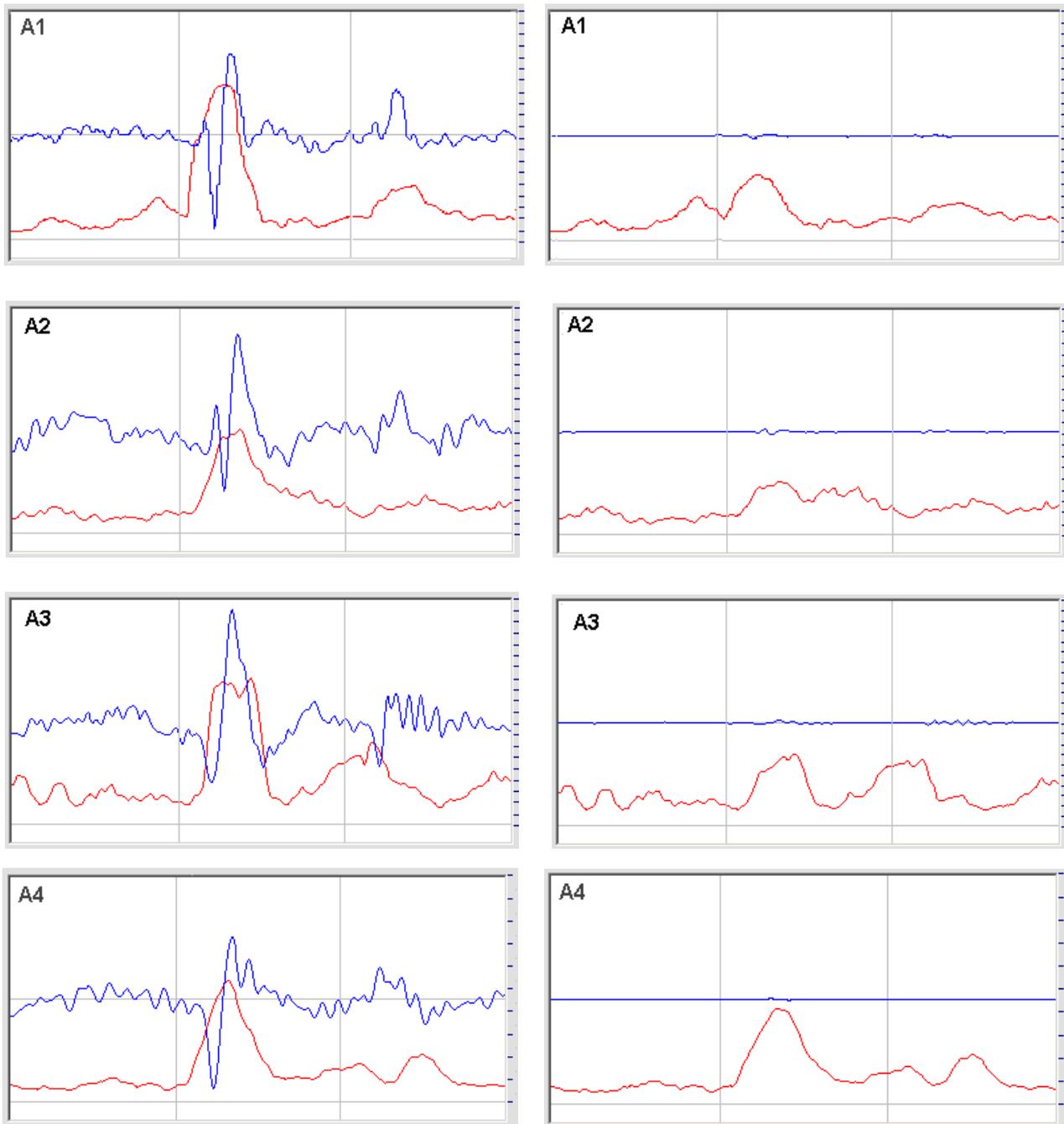


Fig. 13: Risultati dell'analisi dei veri ERP sperimentali [vettore $W(C, X, J)$] dopo la trasformazione dei dati nel vettore $W'(C, X, J)$ e la nuova elaborazione GW6.

Un semplice calcolo della media non rivela questo tipo di risposta elettrica, perché la forma d'onda è quasi-casuale, ma viene facilmente rivelata dal metodo GW6, che è fondato sul calcolo della variazione della correlazione tra tutti i canali EEG durante la stimolazione.

Crediamo che gli ultimi due casi (4 in Fig. 11 e 5 in Fig. 12) siano particolarmente caratteristici dei veri ERP sperimentali. Utilizzando il nostro software di emulazione è possibile calcolare un gran numero di combinazioni e situazioni. Se sottoponiamo i nostri veri ERP sperimentali alla stessa procedura, cioè all'analisi dei dati di $W(C, X, J)$ seguita dalla trasformazione nel vettore $W'(C, X, J)$ e da una nuova analisi, otteniamo questi risultati tipici (Fig.13):

Come mostrato nella fig. 13, nella maggior parte dei casi, dopo aver sottratto dai dati la classica forma d'onda dell'ERP, il metodo GW6 (curva in rosso) mostra una riduzione dell'ampiezza in corrispondenza dell'onda ERP standard, ma gli altri picchi cambiano poco e, in alcuni casi, l'intero grafico varia di poco.

Scomposizione dell'ERP in sottobande

In una recente pubblicazione, Ahirwal et al. Hanno proposto di scomporre il segnale ERP nelle convenzionali bande delta, theta, alfa e beta, al fine di estrarre le prerogative corrispondenti a ciascuna banda e calcolare la Combined Factorised Feature Extraction (CFFE).

Lo scopo è di migliorare i controlli di comando per le applicazioni nell'importante campo dell'interfaccia cervello-computer (BCI).

Il nuovo metodo qui descritto lavora molto bene anche quando viene applicato ad un segnale ERP pre-filtrato in qualunque sotto-banda. È molto importante che il filtraggio sia realizzato con qualsiasi tipo di filtro digitale che non vari la fase del segnale.

Al fine di verificare il comportamento del nostro metodo anche in questo caso, abbiamo filtrato i segnali EEG prima a piena banda ($1 \div 40$ Hz), poi nelle bande delta ($1 \div 4$ Hz), theta ($4 \div 8$ Hz), e alfa ($8 \div 12$ Hz). Abbiamo quindi calcolato l'ERP tramite GW6 e confrontato il risultato con quello della procedura standard di calcolo della media. Con sorpresa abbiamo notato che alcuni soggetti dotati di un livello intrinseco medio-alto di ritmo alfa mostrano la tendenza a generare un ERP (a banda piena) con due picchi principali, il primo dopo circa 300 ms dall'inizio dello stimolo e il secondo dopo $600 \div 800$ ms (vedere Fig. 14).

I soggetti con ritmo alfa basso (determinato dalla semplice media dell'FFT dell'EEG normalizzato, come descritto in precedenza) mostrano in generale solo il picco dominante dopo circa 300 ms.

Il nuovo metodo sembra capace di identificare correlazioni (picchi) in bande e con una latenza non facilmente accessibili all'individuazione da parte del semplice calcolo standard della media.

Questa osservazione fa nascere alcune domande: perché la latenza dell'ERP in banda alfa è così diversa rispetto a circa 300 ms? Perché viene osservato principalmente in soggetti con ritmo alfa spontaneamente alto?

Tuttavia lo scopo di questo lavoro non è, attualmente, quello di fare indagini su queste domande.

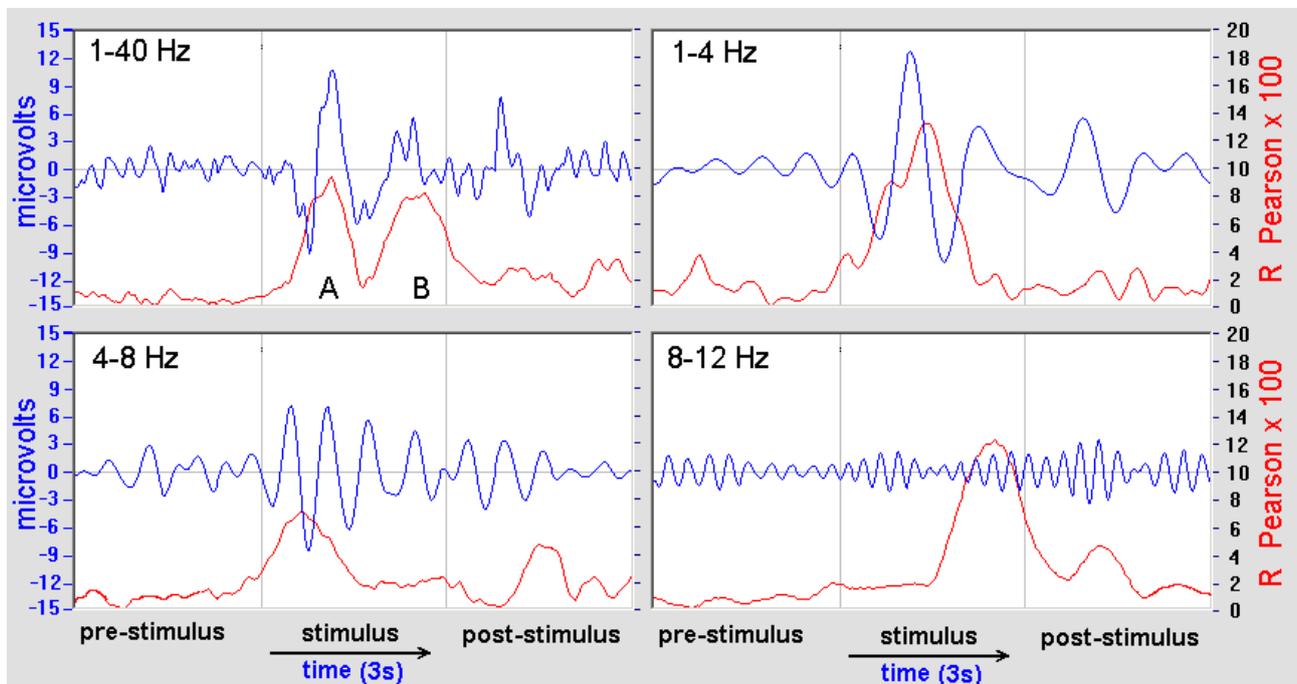


Fig.14: Quando si applica il nuovo metodo alle sotto-bande EEG, a banda intera (1 ÷ 40 Hz) si possono distinguere alcuni picchi, (come A e B in questo esempio), con il picco A particolarmente presente nella banda 1 ÷ 8 Hz e il picco B prevalentemente nella banda alfa. L'ERP standard, al contrario, non mostra alcun picco in banda alfa.

DISCUSSIONE

Questo nuovo metodo permette di calcolare gli ERP come variazione della correlazione globale fra tutti i canali EEG, rispetto alla zona di pre-stimolo e post-stimolo. L'idea fondamentale consiste in una finestra scorrevole di correlazione di Pearson tra due canali EEG per ogni combinazione a coppie, nella zona dell'ERP. Il metodo non dovrebbe essere visto come un'alternativa al classico calcolo della media, bensì come un'integrazione e un'espansione delle informazioni che si possono estrarre dai dati EEG.

Inoltre, il metodo mostra picchi significativi nella zona del P300 più larghi rispetto ai picchi calcolati col metodo standard della media. In presenza di significativo jitter (instabilità della latenza) il nuovo metodo è superiore a quello classico e mostra picchi significativi anche in questo caso. Questi risultati sperimentali potrebbero significare che, nella maggior parte dei casi, è presente una certa quantità di jitter in coincidenza con l'ERP classico e/o anche la significativa presenza di altre componenti non sincronizzate in fase, come quelle ipotizzate nel software di emulazione.

Queste componenti potrebbero essere facilmente computate semplicemente sottraendo il classico ERP dal segnale EEG di ciascun canale, e ri-analizzando i nuovi dati con il metodo GW6 oppure filtrando il segnale EEG in diverse sottobande.

D'accordo con Roach e Mathalon, supponiamo che si verifichi una sincronizzazione interneurale in corrispondenza a ciascuna applicazione di stimolo, ma che la latenza sia variabile a seconda dei percorsi neuronali.

In generale è facile spiegare perché la grande maggioranza delle componenti dell'ERP sia nella banda inferiore di frequenza ($0.5 \div 8$ Hz). Infatti, se assumiamo un jitter di circa $50 \div 100$ ms tra i percorsi, questo ritardo casuale è sufficiente a distruggere ogni media delle componenti di frequenza vicino a o sopra gli $8 \div 10$ Hz, ma non alle frequenze più basse, essendo $\text{Periodo} = 1/\text{Frequenza}$.

Il nuovo metodo sembra essere significativamente meno sensibile al jitter casuale e, di conseguenza, ci consente di osservare componenti (picchi) anche nella gamma $8 \div 12$ Hz.

Conseguentemente diventa ora possibile ottenere tre tipi di ERP: il primo è l'ERP classico basato solo sulla semplice media, che mostra le componenti contemporaneamente sincrone nel tempo e nella fase - il secondo è il nuovo ERP, il quale mostra componenti aggiuntive, incluse quelle non-sincrone in fase tra le varie sedute di rilevazione, ma sufficientemente in fase tra i vari canali EEG in ciascuna seduta di rilevazione, e il terzo mostra solo le componenti dell'ERP non stabili in fase.

Il nostro metodo è inoltre intrinsecamente più resistente agli artefatti perché la Correlazione di Pearson dipende solo dalla fase dei segnali, e non dalla loro ampiezza, mentre gli artefatti sono principalmente dovuti proprio a grosse variazioni dell'ampiezza del segnale.

Sebbene questo metodo non sia compatibile con tutti metodi di pre-elaborazione che modificano la correlazione fra i segnali EEG, esso è applicabile nella maggior parte dei casi, probabilmente anche in alcuni qui non presentati o discussi, a causa di limitazioni della nostra strumentazione e del nostro setup sperimentale.

CONCLUSIONI

Lo scopo di questo lavoro non è, al momento, quello di fare indagini accurate sulle risposte EEG ad uno specifico stimolo o ad uno specifico protocollo sperimentale, ma solamente di proporre un nuovo metodo di calcolo per la rilevazione e l'analisi degli ERP che potrebbe diventare molto importante per future ricerche sulla natura, l'origine e le caratteristiche degli ERP stessi, alla luce dei risultati preliminari qui presentati.

In particolare questo nuovo metodo potrebbe essere molto utile per fare indagini sulle componenti nascoste della risposta ERP, con possibili importanti applicazioni a scopi medici e nei campi della neurofisiologia e psicologia.

Inoltre sottolineiamo anche che la scelta di fornire le routine direttamente nel noto linguaggio di programmazione Matlab, allo scopo di facilitare l'applicazione del metodo in software indipendenti ed in Ricerca.

Conflitti d'interesse

Gli autori dichiarano di non avere nessun conflitto d'interesse.

Ringraziamenti:

Questo studio è stato parzialmente finanziato da: The research grant n. 124/12 of Bial Foundation.

Grazie a Svetlana Kucherenko per la traduzione del nostro software da Visual Basic a Matlab.

Grazie anche al Prof. Alessandro Sperduti e a Luca Franceschi per i loro suggerimenti su come tradurre il nostro algoritmo in espressioni matematiche

BIBLIOGRAFIA

- MK Ahirwal, A Kumar, GK Singh, Adaptive filtering of EEG/ERP through noise cancellers using an improved PSO algorithm. *Swarm and Evolutionary Computation* 14, 76–91 (2014)
- MK Ahirwal, A Kumar, GK Singh, A new approach for utilisation of single ERP to control multiple commands in BCI. *International Journal of Electronics Letters* 2(3), 166–171 (2014)
- MK Ahirwal, A Kumar, GK Singh, Sub-band adaptive filtering method for electroencephalography/event related potential signal using nature inspired optimisation techniques. *Science, Measurement & Technology, IET* 9(8), 987–997 (2015)
- S Aydin, Comparison of basic linear filters in extracting auditory evoked potentials. *Turkish Journal of Electrical Engineering* 16(2), 111–123 (2008)
- NA Badcock, P Mousikou, Y Mahajan, P de Lissa, J Thie, G McArthur, Validation of the Emotiv EPOC® EEG gaming system for measuring research quality auditory ERPs. *PeerJ*, 1, (2013). doi: 10:7717peerj.38
- M Behroozi, M Reza Daliri, B Shekarchi, EEG phase patterns reflect the representation of semantic categories of objects. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 1-17 (2015). doi: 10.1007/s11517-015-1391-7.
- JD Bonita, LC Ambolode, BM Rosemberg, CJ Cellucci, TA Watanabe, PE Rapp, AM Albano, Time domain measures of inter-channel EEG correlation: a comparison of linear, nonparametric and nonlinear measures. *Cogn. Neurodyn.* 8, 1–15 (2014). doi:10.1007/s11571-013-9267-8
- H Boutani, M Ohsuga, Applicability of the Emotiv EEG Neuroheadset as a user-friendly input interface. *Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 35th Annual International Conference of the IEEE*, 1346-1349 (2013).
- RJ Croft, RJ Barry, Removal of ocular artifact from the EEG: a review. *Clinical Neurophysiology* 30(1), 5–19 (2000).
- WJ Dixon, JW Tukey, Approximate behavior of the distribution of Winsorized t (Trimming/Winsorization 2). *Technometrics* 10(1), 83–98 (1968)
11. J Farquhar, NJ Hill, Interactions between pre-processing and classification methods for event-related-potential classification. *Neuroinform* 11, 175–1992 (2013). doi:10.1007/s12021-012-9171-0
- D Gajic, Z Djurovic, J Gligorijevic, S Di Gennaro, I Savic-Gajic, Detection of epileptiform activity in EEG signals based on time-frequency and non-linear analysis. *Front. Comput. Neurosci.* 9, 38 (2015). doi:10.3389/fncom.2015.00038
- L Hu, M Liang, A Mouraux, RG Wise, Y Hu, GD Iannetti, Taking into account latency, amplitude, and morphology: improved estimation of single-trial ERPs by wavelet filtering and multiple linear regression. *Journal of Neurophysiology* 106(6), 3216–3229 (2011). doi:10.1152/jn.00220.2011
- BW Jervis, EC Ifeachor, EM Allen, The removal of ocular artefacts from the electroencephalogram: a review. *Medical and Biological Engineering and Computing* 26(1), 2–12 (1988)

- J Jin, BZ Allison, EW Sellers, C Brunner, P Horki, X Wang, C Neuper, Optimized stimulus presentation patterns for an event-related potential EEG-based brain-computer interface. *Medical and Biological Engineering and Computing* 49(2), 181–191 (2011)
- CA Joyce, IF Gorodnitsky, M Kutas, Automatic removal of eye movement and blink artifacts from EEG data using blind component separation. *Psychophysiology* 41(2), 313–325 (2004). doi:10.1046/j.1469-8986.2003.00141.x
- DE Linden, The P300: where in the brain is it produced and what does it tell us? *The Neuroscientist* 11(6), 563–576 (2005). doi:10.1177/1073858405280524
- Y Liu, X Jiang, T Cao, F Wan, PU Mak, PI Mak, M Vai, Implementation of SSVEP based BCI with Emotiv EPOC. *Virtual Environments Human-Computer Interfaces and Measurement Systems (VECIMS)*, IEEE International Conference, 34-37 (2012).
- S Makeig, AJ Bell, TP Jung, TJ Sejnowski, Independent component analysis of electroencephalographic data. *Advances in neural information processing systems* 8, 145–151 (1996)
- LF Marton, ST Brassai, Z German-Sallo', L Bako', L Losoncz, Technical signal processing with application in EEG channels correlation. *Interdisciplinarity in Engineering International Conference "Petru Maior" University of Tirgu Mures, Romania* (2012).
- RQ Quiroga, H Garcia, Single-trial event-related potentials with wavelet denoising. *Clinical Neurophysiology* 114(2), 376–390 (2003). doi:10.1016/S1388-2457(02)00365-6
- RQ Quiroga, A Kraskov, T Kreuz, P Grassberger, On the performance of different synchronization measures in real data: a case study on EEG signals. *Phys. Rev. E* 65, 041903 (2002). doi:10.1103/PhysRevE.65.041903
- JM Ramírez-Cortes, V Alarcon-Aquino, G Rosas-Cholula, P Gomez-Gil, J Escamilla-Ambrosio, P-300 Rhythm Detection Using ANFIS Algorithm and Wavelet Feature Extraction in EEG Signals. *Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science*, vol. 1 (International Association of Engineers, San Francisco, 2010), pp. 963–968
- BJ Roach, DH Mathalon, Event-related EEG time-frequency analysis: an overview of measures and an analysis of early gamma band phase locking in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 34(5), 907–926 (2008). doi:10.1093/schbul/sbn093
- S Sanei, JA Chambers, *EEG signal processing*. John Wiley & Sons (2013).
- A Sano, H Bakardjian, Movement-related cortical evoked potentials using four-limb imagery. *International Journal of Neuroscience* 119(5), 639–663 (2009). doi:10.1080/00207450802325561
- JL Steven, *An Introduction to the Event-Related Potential Technique*. Cambridge, Mass: The MIT Press. ISBN 0-262-12277-4 (2005)
- S Vorobyov, A Cichocki, Blind noise reduction for multisensory signals using ICA and subspace filtering, with application to EEG analysis. *Biological Cybernetics* 86(4), 293–303 (2002). doi:10.1007/s00422-001-0298-6

Z Wang, A Maier, DA Leopold, NK Logothetis, H Liang, Single-trial evoked potential estimation using wavelets. *Computers in Biology and Medicine* 37(4), 463–473 (2007).
doi:10.1016/j.combiomed.2006.08.011

DG Wastell, Statistical detection of individual evoked responses: an evaluation of Woody's adaptive filter. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 42(6), 835–8

APPENDICE PUBBLICATA

Supponiamo che il vettore $W(C, X, J)$ rappresenti tutti i dati che devono essere analizzati, dove C sono i canali (14 nell'Emotiv Epor), X i campioni da $X = 1 \dots 452$, $J = 1 \dots N_s$ dove N_s è il numero di stimoli somministrati al soggetto (usualmente almeno 100).

Inoltre dobbiamo supporre che la frequenza di campionamento sia di 128 Hz e che si prenda in considerazione un'epoca sincronizzata nel tempo lunga 3 secondi (pre-stimolo, stimolo, post-stimolo: 384 campioni) più due code aggiuntive (le finestre L di 34 campioni) ottenendo un totale di 452 campioni. Queste code sono necessarie per l'elaborazione, ma poi esse sono tagliate via al termine, allo scopo di fornire un'epoca finale di 3 secondi.

Inoltre supponiamo che lo stimolo inizi al $X = 162$ e termini a $X = 290$.

I dati presenti nel vettore $V(C, X, J)$ devono essere a media-zero (facile da realizzare e qui omessa). L'unità dei dati nel vettore $V(C, X, J)$ può essere microvolt, oppure possono essere dati grezzi a 10, 12, 16 bit, ecc.

% The essential core of GW6.m routine in Matlab language

```
V1 = zeros(1,800) ;
V2 = zeros(1,800) ;
A1 = zeros(1,800) ;
A2 = zeros(1,200) ;
F1 = 0; F2 = 0; F3 = 0; I = 0; J = 0;
XM = 0; YM = 0; Rc = 0; X = 0;
Ax = 0; Bx = 0; Np = 0; Tc = 0; C = 0;
Nz = 0; A = 0; U = 0; X1 = 0; X2 = 0;
```

% definition of the value of data

```
N1 = 452 ; % 384 samples + 2 tails of 34 samples
NC = 14 ;
Ns = 100 ;
Np = 34 ; % 34 is a L window of about 270 ms, at 128 samples/s, could be changed
Tc = Np/2; % half window L
Nt = (NC ^ 2 - NC) / 2 ; % in our case Nt=91 is the number of combination with 14 channels
```

```
R = zeros(Nt+1,N1+1); % put zero each element of array R(I, X)
```

```
for J = 1 : Ns % for all the stimuli given
```

```
U = 0 ; I = 0;
```

```
for Ax = 1 : (NC - 1)
```

```
for Bx = (Ax + 1) : NC
```

```
I = I + 1 ; % counter of the progressive combinations of two channels
```

```
for U = Tc : (N1-Tc)
```

```
X1 = U - Tc + 1 ;
```

```
X2 = U + Tc + 1 ;
```

```
A = 0;
```

```
for X = X1 : X2
```

```
A = A + 1;
```

```
V1(A) = W(Ax, X, J) ;
```

```
V2(A) = W(Bx, X, J) ;
```

```
end
```

```
Nz = A;
```

```

correlas ; % subroutine of Pearson's Correlation
A1(U) = Rc ;
A = 0;
end
  for X = Tc : (N1-Tc)
    R(I, X) = R(I, X) + A1(X) ;
  end
end
end
end
% averaging along all the Ns stimuli
for I = 1 : Nt
  for X = 1 : N1
    R(I, X) = R(I, X) /Ns ;
  end
end
% cutting of the two L tails in order to recover the interval of 3 seconds
for I = 1 : Nt
U = 0 ;
  for X = (Np + 1) : (N1 - Np)
    U = U + 1 ;
    R(I, U) = R(I, X) ;
  end
end
N1 = U; % now N1 value is 384, equivalent to 3 seconds
% now the array R(I, X) is the output of this stage of elaboration

```

```

%Correlas: %%' Pearson's correlation subroutine
F1 = 0 ; F2 = 0 ; F3 = 0 ; XM = 0 ; YM = 0;
for X = 1 : Nz ;
  XM = XM + V1(X) ;
  YM = YM + V2(X) ;
end
XM = XM / Nz ;
YM = YM / Nz ;
for X = 1 : Nz
  F1 = F1 + (V1(X) - XM) * (V2(X) - YM);
  F2 = F2 + (V1(X) - XM) ^ 2 ;
  F3 = F3 + (V2(X) - YM) ^ 2;
end
F1 = F1 / Nz ; F2 = F2 / Nz ; F3 = F3 / Nz;
if (F2 == 0 || F3 == 0 )
Rc = 0 ;
return
end
Rc = 100 * F1 / sqrt(F2 * F3) ; % the r of Pearson is multiplied by 100
return

```

```

% successive FinalElab.m elaboration
Bs = zeros(100);

```

```

B1 = 0; B2 = 0; C = 0; J = 0; X = 0; I = 0;
% Nt = 91 is defined in the previous elaboration
B1= 128 ; B2 = B1 + 128 ; N1 = 384;
% the stimulus zone is between X = B1 and X = B2
% for the calculation of a balanced baseline, we take the pre-stimulus zone
% (from X = 1 to B1), the second is the post-stimulus zone (from X = B2 to N1)

Sync1=zeros(N1);
Sync2=zeros(NC, N1);
A=0;
for I = 1 : Nt    % baseline calculation
    A = 0 ; Bs(I) = 0 ;
    for X = 1 : B1
        A = A + 1 ;
        Bs(I) = Bs(I) + R(I, X) ;
    end
    for X = B2 : N1
        A = A + 1 ;
        Bs(I) = Bs(I) + R(I, X) ;
    end
    Bs(I) = Bs(I) / A;    % baseline for each combination
end
for I = 1 : Nt
    for X = 1 : N1 ;
        Sync1(X) = Sync1(X) + abs(R(I, X) - Bs(I)) ;
    end
end
for X = 1 : N1
    Sync1(X) = Sync1(X) / Nt ;
end
% Now the array Sync1(X) is the average (global average) of Correlation for all the Nt
combinations and for all the Ns number of stimuli.

% Calculation of the array Sync2(C, X) for each EEG channel
I = 0 ; U = 0;
for Ax = 1 : (NC - 1)
    for Bx = (Ax + 1) : NC
        I = I + 1 ; % counter of all the combinations of the channels
        for U = 1 : NC
            if (U == Ax) || (U == Bx)
                for X = 1 : N1
                    Sync2(U, X) = Sync2(U, X) + abs(R(I, X) - Bs(I)) ;
                end
            end
        end
    end
end
end
end

for C = 1 : NC
    for X = 1 : N1
        Sync2(C, X) = Sync2(C, X) / (NC-1) ;
    end
end

```

```

end
% Now the array Sync2(C, X) is the Correlation for each channel.
% Each channel is the average of (NC-1) data.

% Simple example of the ClassicERP.m calculation
% NC are the EEG channels, N1 the number of samples time-locked
% if N1 = 452 as in the W(C, X, J) array, a final cutting of two tails of length L = 34 should be done
% like in the GW6.m elaboration.

Ev= zeros(NC, N1); % Ev(C, X) is the array of classic ERP for each EEG channel
for J = 1 : Ns % for all the stimuli
    for C = 1 : NC %for all the channels
        for X = 1 : N1
            Ev(C, X) = Ev(C, X) + W(C, X, J) ;
        end
    end
end
for C = 1 : NC
    for X = 1 : N1
        Ev(C, X) = Ev(C, X) / Ns ;
    end
end

% Now the array Ev(C, X) is the classic ERP .

```

APPENDICE AGGIUNTIVA

Routine di elaborazione-dati scritte nel linguaggio VB6.

Nota: il simbolo ':' rappresenta la separazione fra due successive istruzioni e le dichiarazioni circa i vettori e le variabili sono talvolta omesse (in generale, esse sono del tipo Currency o Integer).

Molte istruzioni sono scritte sulla stessa riga per ragioni di compattezza.

Supponiamo che il vettore W(C, X, J) rappresenti tutti i dati che devono essere analizzati, dove C sono i canali (14 nell'Emotiv Epoc), X i campioni da X = 1... 452, J = 1... Ns dove Ns è il numero di stimoli somministrati al soggetto (usualmente almeno 100).

Inoltre, supponiamo che la frequenza di campionamento sia di 128Hz e che si prenda in considerazione un'epoca sincronizzata nel tempo lunga 3 secondi (pre-stimolo, stimolo, post-stimolo: 384 campioni) più due code aggiuntive (la finestra L: 34 campioni) ottenendo un totale di 452 campioni. Queste code sono necessarie per l'elaborazione, ma poi esse sono tagliate via al termine, allo scopo di fornire un'epoca finale di 3 secondi.

Inoltre supponiamo che lo stimolo inizi al X = 162 e termini a X = 290.

In questa routine sono usati altri vettori di supporto e variabili. I dati presenti nel vettore V(C, X, J) devono essere a media-zero (facile da realizzare e qui omesso).

L'unità dei dati nel vettore V(C, X, J) può essere microvolt, oppure possono essere dati grezzi a 10, 12, 16 bit, ecc.

1) La parte essenziale della routine GW6

Private Sub GW6()

Dim V1(800) As Single, V2(800) As Single, A1(800) As Single

Dim F1 As Single, F2 As Single, F3 As Single, I As Integer, J As Integer

Dim XM As Single, YM As Single, R As Single, X As Integer

Dim Ax As Integer, Bx As Integer, Np As Integer, Tc As Integer, C As Integer

Dim Nz As Integer, A As Integer, A2(200) As Single, U As Integer

Dim X1 As Integer, X2 As Integer

' Dim R(100,150) As Single nella Option Explicit, anche Nt, NC etc

N1 = 452 : NC = 14 : Ns = 100 'definizione del valore dei dati

Np = 34 ' 34 corrisponde a una finestra di circa 270 ms, a 128 campioni/secondo

Tc = Np/2 ' mezza finestra L

Nt = (NC ^ 2 - NC) / 2 ' Nt = 91 nel nostro caso è il numero di combinazioni di 14 canali

For I = 0 To Nt

For X = 0 To N1 : R(I, X) = 0 : Next X

Next I

For J = 1 To Ns 'per tutti gli stimoli somministrati

U = 0 : I = 0

For Ax = 1 To (NC - 1)

For Bx = (Ax + 1) To NC

I = I + 1 'contatore progressivo delle combinazioni di due canali

For U = Tc To (N1 - Tc)

X1 = U - Tc : X2 = U + Tc : A = 0

For X = X1 To X2 : A = A + 1

V1(A) = W(Ax, X, J) : V2(A) = W(Bx, X, J)

```

Next X
Nz = A
GoSub Correlas
A1(U) = R : A = 0
Next U
For X = Tc To (N1-Tc) : R(I, X) = R(I, X) + A1(X) : Next X
Next Bx
Next Ax
Next J
' media lungo tutti gli Ns stimoli
For I = 1 To Nt
  For X = 1 To N1 : R(I, X) = R(I, X) / Ns : Next X
Next I
' taglio delle due code L allo scopo di recuperare un intervallo di 3 secondi
For I = 1 To Nt : U = 0
  For X = (Np+1) To (N1-Np) : U = U + 1 : R(I, U) = R(I, X) : Next X
Next I
N1 = U 'ora il nuovo valore di N1 diventa N1 = 384
Exit Sub
Correlas: 'Pearson correlazione
F1 = 0 : F2 = 0 : F3 = 0 : XM = 0 : YM = 0
For X = 1 To Nz : XM = XM + V1(X) : YM = YM + V2(X) : Next X
XM = XM / Nz : YM = YM / Nz
For X = 1 To Nz : F1 = F1 + (V1(X) - XM) * (V2(X) - YM)
F2 = F2 + (V1(X) - XM) ^ 2 : F3 = F3 + (V2(X) - YM) ^ 2
Next X
F1 = F1 / Nz : F2 = F2 / Nz : F3 = F3 / Nz
If F2 = 0 Or F3 = 0 Then R = 0 : Return
R = 100 * F1 / Sqr(F2 * F3) ' il valore r di Pearson è moltiplicato x 100
Return
End Sub

```

2) Successiva elaborazione del vettore di uscita R(I, X)

```

Private Sub FinalElab()
Dim Bs(100) As Single , B1 As Integer, B2 As Integer , C As Integer, J As Integer,
Dim X As Integer, I As Integer , A As Integer
' I vettori Sync1(X) e Sync2(C, X) devono essere definiti nella sezione Option Explicit di VB6
' Nt = 91 è definito nella precedente routine
B1 = 128 : B2 = B1 + 128 : N1 = 384
' i valori B1 e B2 sono la definizione delle zone pre-stimolo e post-stimolo per un calcolo
' bilanciato della baseline. In particolare, la prima zona di pre-stimolo è da X= 1 a X=B1, la seconda
' zona è da X = 256 a X = N1 ciascun elemento dei vettori Sync1(X) e Sync2(C,X) sono posti
' inizialmente a zero.
For X = 1 To N1 : Sync1(X) = 0 : Next X
For C = 1 To NC
  For X = 1 To N1 : Sync2(C, X) = 0 : Next X
Next C
For I = 1 To Nt : A = 0 : Bs(J) = 0
  For X = 1 To B1 : A = A + 1 : Bs(I) = Bs(I) + R(I, X) : Next X
  For X = B2 To N1 : A = A + 1 : Bs(I) = Bs(I) + R(I, X) : Next X

```

```

Bs(I) = Bs(I) / A ' baseline bilanciata per ciascuna combinazione
Next I
For I = 1 To Nt
  For X = 1 To N1 : Sync1(X) = Sync1(X) + Abs(R(I, X) -Bs(I)) : Next X
Next I
For X = 1 To N1 : Sync1(X) = Sync1(X) / Nt : Next X
' Ora il vettore Sync1(X) rappresenta la media globale della Correlazione fra tutte le Nt '
combinazioni e per tutti gli Ns stimoli.
' Calcolo del vettore Sync2(C, X) per ciascun canale EEG
I = 0 : U = 0
For Ax = 1 To (NC -1)
  For Bx = (Ax + 1) To NC
    I = I + 1 'contatore di tutte le combinazioni dei canali
    For U = 1 To NC
      If (U = Ax) Or (U = Bx) Then
        For X = 1 To N1 : Sync2(U, X) = Sync2(U, X) + Abs(R(I, X) -Bs(I)) : Next X
      End If
    Next U
  Next Bx
Next Ax

For C = 1 To NC
  For X = 1 To N1 : Sync2(C, X) = Sync2(C, X) / (NC-1) : Next X
Next C
' Ora il vettore Sync2(C, X) rappresenta la Correlazione per ciascun canale.
' Ciascun canale è la media di (NC-1) data.

End Sub

```

3) Calcolo classico dell' ERP mediante la semplice media del vettore $W(C, X, J)$

```

Private Sub ClassicERP()
Dim J As Integer, C As Integer, X As Integer, K As Single
For C = 1 To NC
  For X = 1 To N1 : Ev(C, X) = 0 : Next X
Next C
For J = 1 To Ns 'per tutti gli stimoli
  For C = 1 To NC 'per tutti i canali
    For X = 1 To N1 : Ev(C, X) = Ev(C, X) + W(C, X, J) : Next X
  Next C
Next J
For C = 1 To NC
  For X = 1 To N1 : Ev(C, X) = Ev(C, X) / Ns : Next X
Next C
' Ora il vettore Ev(C, X) rappresenta l'ERP classico
End Sub

```

4): Sottrazione dell' ERP classico dal vettore $W(C, X, J)$

(Routine descritta solo per scopi di ricerca; non dev'essere usata normalmente nel metodo GW6).

```
Private Sub SWX()
```

```
Dim X As Integer, J As Integer, C As Integer
```

```
' assai semplice routine per sottrarre il classico ERP dai dati EEG originali.
```

```
For J = 1 To Ns 'per tutti gli ERP
```

```
For C = 1 To NC 'per tutti i canali
```

```
For X = 1 To N1 :  $W'(C, X, J) = W(C, X, J) - Ev(C, X)$  : Next X
```

```
Next C
```

```
Next J
```

```
End Sub
```