



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE

TESI DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA

**Analisi di auditory brainstem response a stimoli
vocali complessi: approccio frequency-following
response e metodi non lineari valutati su un
dataset acquisito con un nuovo dispositivo
a uso clinico**

LAUREANDA

Camilla Furlan

Matricola 2055273

RELATORE

Prof. Giovanni Sparacino

CORRELATORE

Ing. Giulio Dehesh

Hedera Biomedics Srl

ANNO ACCADEMICO
2022/2023

A Giulia

Abstract

Lo speech-evoked auditory brainstem response (s-ABR) è una risposta del tronco encefalico evocata da suoni complessi come sillabe o musica. Rappresenta una misura oggettiva e non invasiva per analizzare la codifica neurale di suoni più articolati e valutare deficit legati all'udito e disturbi del linguaggio, condizioni per le quali i tradizionali click-evoked auditory brainstem response (click-ABR) sono tipicamente normali. La forma d'onda della risposta s-ABR preserva le caratteristiche temporali e spettrali dello stimolo vocale che l'ha generata, per questo motivo viene anche definita frequency-following response (FFR). In letteratura è stata suggerita una vasta gamma di metodi per la registrazione e l'analisi degli FFR allo scopo di dimostrarne l'effettiva applicabilità clinica, che potrebbe non essere sempre evidente. Allo scopo di migliorare l'intelligibilità degli FFR e valutare il loro impiego nella pratica medica, in questa tesi sono state analizzate le componenti spettro-temporali delle risposte suscitate dal fonema /da/ di durata 40 millisecondi, a polarità alternata. Gli stimoli sono stati presentati a 8 soggetti normoacusici adulti e i potenziali evocati sono stati registrati mediante il dispositivo *Socrates*, prodotto da Hedera Biomedics Srl, presso il centro diagnostico veneto di Caldogeno (Vicenza) e il World Hearing Center in Kajetany (Polonia). Per analizzare i segnali, in questa tesi, sono stati implementati in ambiente Matlab: autocorrelazione, analisi spettrale, analisi tempo-frequenza, consistenza di fase e correlazione risposta-risposta. I risultati evidenziano la ripetibilità dei segnali acquisiti, caratterizzati da componenti in frequenza che riproducono quelle presenti nello stimolo sonoro, confermando il fenomeno del "frequency-following". Per testare la robustezza dei metodi sopraccitati l'analisi è stata ripetuta anche per le risposte di due soggetti fisiologici suscitate dallo stimolo complesso /ape/, constatando un esito conforme a quello ottenuto con gli FFR a /da/. Infine, è stato preso in esame anche un nuovo approccio di analisi non lineare, basato sulle misure entropiche, approximate entropy e sample entropy, e sugli indici frattali, Hurst exponent e Higuchi fractal dimension, identificando una significativa riduzione di complessità nelle risposte post-stimolo. Nel complesso, le analisi condotte mostrano il potenziale di *Socrates* nel rilevare l'FFR evocato dalla parola, e non solo l'ABR evocato dai tradizionali stimoli non verbali, come i click. Con ulteriori ricerche e l'introduzione di soggetti patologici nel dataset, l'impatto clinico del presente studio potrebbe diventare ancora più tangibile.

Indice

Elenco delle Figure	xi
Elenco degli Algoritmi	xiii
Elenco degli Acronimi	xv
1 Studio del sistema uditivo con potenziali evocati ABR	1
1.1 Background anatomico e fisiologico	1
1.2 Potenziali evocati uditivi click-ABR e speech-ABR	4
1.3 Misura di click-ABR e speech-ABR	7
1.4 Scopo della tesi	8
2 FFR: caratteristiche del segnale, metodica di misura e applicazioni cliniche	11
2.1 Genesi dell'FFR	11
2.2 Parametri di interesse dell'FFR	12
2.3 Registrazione delle risposte	15
2.3.1 Elettrodi e montaggi	15
2.3.2 Stimoli	16
2.3.3 Frequenza di campionamento	18
2.3.4 Artefatti	19
2.3.5 Filtraggi	20
2.4 Requisiti hardware	21
2.5 Applicazioni dell'FFR in clinica	22
3 Protocollo sperimentale e Dataset	23
3.1 Dataset	23
3.2 Strumentazione	24
3.3 Acquisizione delle risposte	26

INDICE

3.3.1	Stimolazione	27
3.3.2	Protocollo	30
3.4	Pre-processing	30
3.5	Prossimi passi e presentazione	32
4	Analisi lineare degli FFR	33
4.1	Autocorrelazione	33
4.1.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	33
4.1.2	Risultati analisi di autocorrelazione	34
4.1.3	Discussione analisi di autocorrelazione	40
4.2	Consistenza di fase	40
4.2.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	40
4.2.2	Risultati consistenza di fase	41
4.2.3	Discussione consistenza di fase	47
4.3	Analisi spettrale	47
4.3.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	47
4.3.2	Risultati analisi spettrale	48
4.3.3	Discussione analisi spettrale	51
4.4	Analisi tempo-frequenza	51
4.4.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	51
4.4.2	Risultati analisi tempo-frequenza	52
4.4.3	Discussione analisi tempo-frequenza	55
4.5	Correlazione risposta-risposta	55
4.5.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	55
4.5.2	Risultati analisi correlazione risposta-risposta	57
4.5.3	Discussione analisi correlazione risposta-risposta	60
4.6	Conclusioni del capitolo	61
5	Analisi non lineare degli FFR	63
5.1	Approximate Entropy	63
5.1.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	63
5.1.2	Risultati Approximate entropy	64
5.1.3	Discussione Approximate entropy	65
5.2	Sample Entropy	65
5.2.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	65
5.2.2	Risultati Sample entropy	67

5.2.3	Discussione Sample entropy	67
5.3	Hurst Exponent	68
5.3.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	68
5.3.2	Risultati Hurst exponent	69
5.3.3	Discussione Hurst exponent	70
5.4	Higuchi Fractal Dimension	70
5.4.1	Descrizione della metodologia e modalità di calcolo	70
5.4.2	Risultati Higuchi fractal dimension	73
5.4.3	Discussione Higuchi fractal dimension	73
5.5	Conclusioni del capitolo	74
6	Conclusioni e sviluppi futuri	75
A	FFR acquisiti	77
B	Analisi lineare degli FFR allo stimolo /ape/	81
C	Codici Matlab	87
	Bibliografia	91
	Ringraziamenti	97

Elenco delle Figure

1.1	Anatomia dell'orecchio esterno, medio e interno.	2
1.2	Via uditiva primaria.	3
1.3	Esempio di click-ABR.	4
1.4	Esempi di FFR con relativo stimolo sonoro.	5
1.5	Esempio di s-ABR.	6
1.6	Dispositivo <i>Socrates</i>	9
2.1	Forma d'onda di un FFR evocato dallo stimolo /da/ di 40 ms.	13
2.2	FFR evocato dalla melodia di un pianoforte.	17
2.3	FFR evocati da un accordo E2G3 a diverse polarità.	18
3.1	Esempio di acquisizione test e retest post-stimolo.	24
3.2	Componenti del dispositivo <i>Socrates</i>	25
3.3	Interfaccia software <i>Helix</i>	25
3.4	Configurazione degli elettrodi per l'acquisizione FFR.	26
3.5	Stimolo /da/ di 40 msec nel dominio del tempo e della frequenza.	28
3.6	Stimolo /ape/ nel dominio del tempo e della frequenza.	29
3.7	Confronto tra il pre-stimolo e il rumore di fondo.	31
4.1	Autocorrelazione paziente 1	36
4.2	Autocorrelazione paziente 2	36
4.3	Autocorrelazione paziente 3	37
4.4	Autocorrelazione paziente 4	37
4.5	Autocorrelazione paziente 5	38
4.6	Autocorrelazione paziente 6	38
4.7	Autocorrelazione paziente 7	39
4.8	Autocorrelazione paziente 8	39
4.9	Itpl factor paziente 1	43

ELENCO DELLE FIGURE

4.10	Itpl factor paziente 2	43
4.11	Itpl factor paziente 3	44
4.12	Itpl paziente 4	44
4.13	Itpl paziente 5	45
4.14	Itpl paziente 6	45
4.15	Itpl paziente 7	46
4.16	Itpl paziente 8	46
4.17	Fast Fourier transform per i pazienti 1, 2, 3 e 4	49
4.17	Fast Fourier transform per i pazienti 5, 6, 7 e 8.	50
4.18	Spettrogrammi dei pazienti 1, 2, 3 e 4	53
4.18	Spettrogrammi dei pazienti 5, 6, 7 e 8.	54
4.19	Confronto tra risposte monoaurali e binaurali in musicisti e non musicisti.	56
4.20	Correlazione risposta-risposta dei pazienti 1, 2, 3 e 4.	58
4.20	Correlazione risposta-risposta dei pazienti 5, 6, 7 e 8.	59
5.1	Boxplot Approximate entropy.	65
5.2	Boxplot Sample entropy.	67
5.3	Boxplot Hurst exponent.	70
5.4	Esempi di Higuchi fractal dimension in segnali diversi.	72
5.5	Boxplot Higuchi fractal dimension.	73
B.1	Autocorrelazione degli FFR in risposta allo stimolo /ape/.	83
B.2	Itpl degli FFR in risposta allo stimolo /ape/.	84
B.3	Fast Fourier transform degli FFR in risposta allo stimolo /ape/.	84
B.4	Spettrogrammi degli FFR in risposta allo stimolo /ape/.	85
B.5	Correlazione risposta-risposta stimolo /ape/.	85

Elenco degli Algoritmi

C.1	Funzione leggifile.m per la lettura dei file phx.	87
C.2	Codice usato per il calcolo del fattore itpl per gli FFR a /da/. . . .	88
C.3	Calcolo del Lin's concordance correlation coefficient.	88
C.4	Funzione per il calcolo dello Hurst exponent.	89
C.5	Funzione per il calcolo dell'Higuchi fractal dimension.	90

Elenco degli Acronimi

A1 corteccia uditiva primaria

ACF funzione di autocorrelazione

ABR auditory brainstem response

ApEn approximate entropy

CAR riferimento medio comune

click-ABR click-evoked auditory brainstem response

CCC Concordance Correlation Coefficient

CM microfonico cocleare

DFT trasformata di Fourier discreta

DWT discrete Wavelet transform

EEG elettroencefalogramma

FFR frequency-following response

FFT Fast Fourier Transform

F_s frequenza di campionamento

F₀ frequenza fondamentale

H Hurst exponent

HFD Higuchi Fractal Dimension

itpl inter-trial phase-locking

ELENCO DEGLI ALGORITMI

s-ABR speech-evoked auditory brainstem response

SampEn sample entropy

SNR rapporto segnale-rumore

SPL Sound Pressure Level o livello di pressione sonora

STFT Short-time Fourier transform

Capitolo 1

Studio del sistema uditivo con potenziali evocati ABR

In questo capitolo vengono delineati gli obiettivi del lavoro proposto e i concetti fondamentali che ne stanno alla base. Dopo una breve introduzione sull'anatomia e fisiologia dell'orecchio e della via uditiva primaria, viene illustrato lo stato dell'arte degli FFR.

1.1 Background anatomico e fisiologico

Il sistema acustico, oltre a essere coinvolto nella percezione e localizzazione delle sorgenti sonore, è implicato nella comprensione ed elaborazione uditiva grazie a centri neurali specializzati e interconnessi a livello corticale e sub-corticale [1][2]. Le onde sonore provenienti dall'ambiente circostante vengono raccolte dal padiglione auricolare dell'orecchio esterno e incanalate nel canale uditivo fino al raggiungimento della membrana timpanica. Il contatto tra il timpano e le onde di pressione mette in movimento la membrana, che a sua volta provoca la vibrazione di tre ossicini all'interno dell'orecchio medio disposti come in Figura 1.1: martello, incudine e staffa, che trasmettono e amplificano tale energia all'orecchio interno. Le vibrazioni della staffa generano l'oscillazione della finestra ovale fuori e dentro il canale vestibolare alla base della coclea, una struttura spiraliforme contenente l'organo del Corti, composto da cellule recettoriali ciliate altamente specializzate che operano la trasduzione meccano-elettrica dello stimolo. Affinché il cervello possa distinguere nell'impulso elettrico le componenti spettrali e i pattern temporali del suono che lo ha generato, la particolare conformazione della coclea agisce come

1.1 Background anatomico e fisiologico

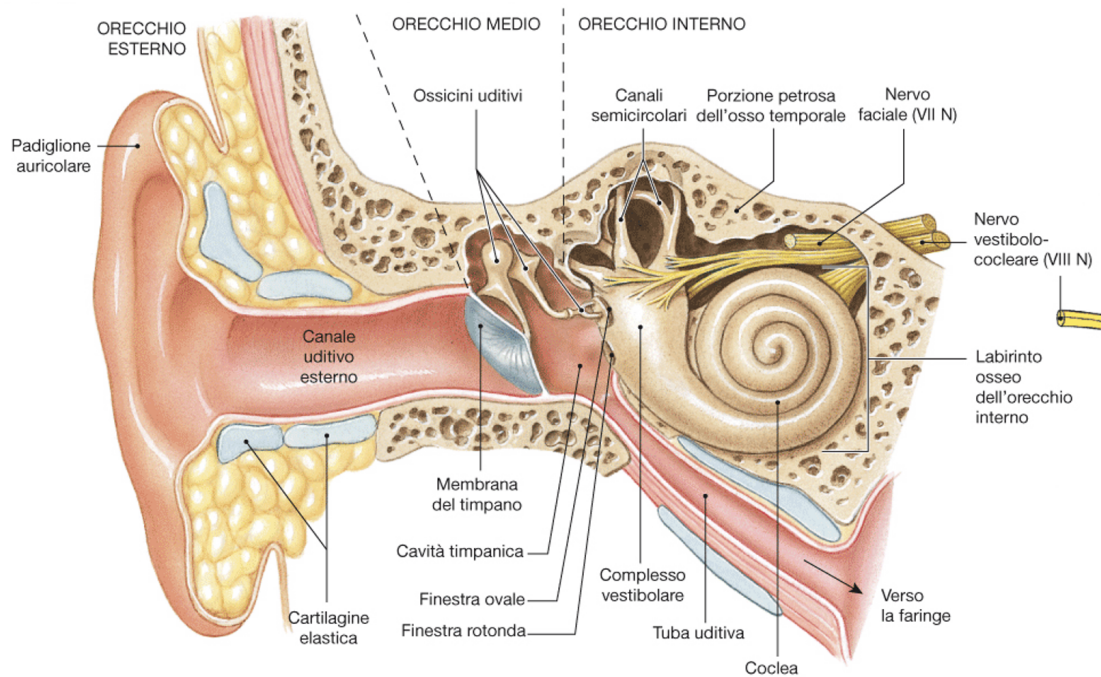


Figura 1.1: Anatomia dell'orecchio esterno, medio e interno. Tratto da [3]

sistema di decomposizione di frequenze: i toni più acuti stimolano principalmente le cellule ciliate alla base della coclea, mentre le zone apicali rispondono in modo più robusto ai toni gravi. [4] L'informazione sonora risultante viene trasmessa mediante il nervo acustico ai nuclei del tronco encefalico uditivo (nucleo cocleare e nuclei olivari superiori), che procedono alla sua decifrazione, estraendone caratteristiche spettrali, temporali e spaziali. Le informazioni vengono poi trasmesse al mesencefalo (nucleo centrale del collicolo inferiore) e al talamo (nuclei genicolati mediali), per poi convergere alla corteccia uditiva primaria (A1) localizzata nel lobo temporale (Figura 1.2). La corteccia A1 è coinvolta nell'interpretazione ed elaborazione delle caratteristiche acustiche principali, quali frequenza, modulazione dell'intensità, durata e localizzazione spaziale. Ciò che ci assicura che le informazioni codificate a livello neurale rispecchino effettivamente lo stimolo sonoro percepito è proprio l'organizzazione tonotopica non solo della coclea, ma anche di tutte le strutture corticali e subcorticali coinvolte: la disposizione dei neuroni che rispondono a toni diversi è anatomicamente ordinata a seconda della frequenza. A ciò si aggiunge il fenomeno del phase-locking, per cui la frequenza di scarica dei neuroni dipende dal periodo del suono. In tal modo, gli elementi periodici ricorrenti nello stimolo (ad esempio, la frequenza fondamentale e la frequenza di modulazione dell'ampiezza) vengono codificati dall'attività sincrona della popolazione neuronale. L'organiz-

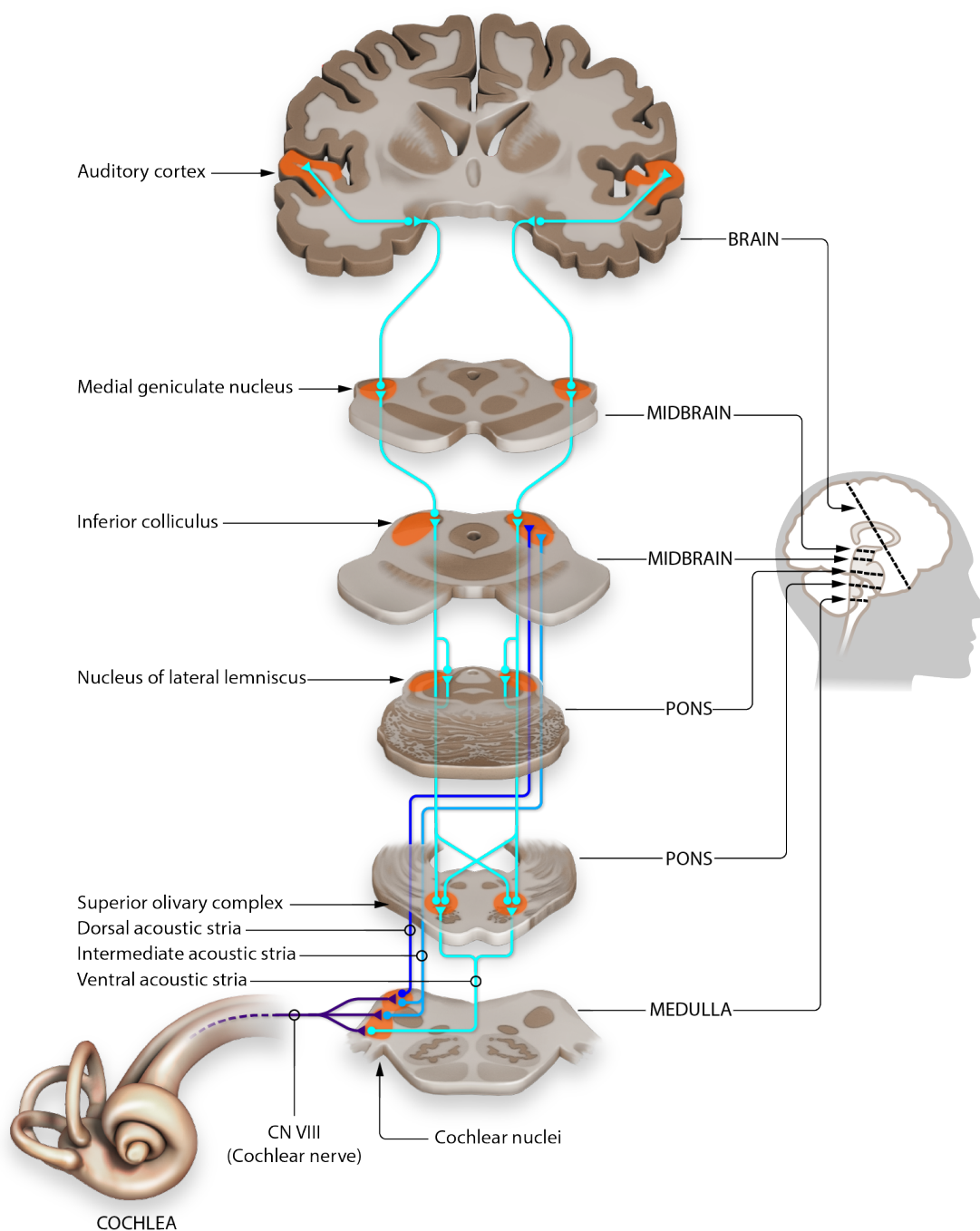


Figura 1.2: Via uditiva primaria: dall'orecchio interno alla corteccia cerebrale.
Fonte: Jonathan E. Peelle, <https://osf.io/u2gxc/>, 2018 [5]

zazione tonotopica e la sincronizzazione di fase delle cellule uditive ricoprono un ruolo chiave nella valutazione della capacità del cervello di rappresentare e interpretare i suoni, fornendo un presupposto per l'indagine di funzioni superiori, quali

percezione musicale, memoria uditiva ed elaborazione del linguaggio. È importante sottolineare come oltre alle vie uditive afferenti vi sia anche una via efferente, che è coinvolta nella percezione soggettiva del suono influenzata da cosa pensiamo, da come ci muoviamo e da come percepiamo l'ambiente circostante. [6]

Comprendere a fondo il funzionamento della vie uditive afferenti ed efferenti ha permesso di affinare le tecniche diagnostiche in campo audiologico.

1.2 Potenziali evocati uditivi click-ABR e speech-ABR

Scoperti per la prima volta da Jewett e Williston nel 1971, le risposte uditive del tronco encefalico (auditory brainstem response (ABR)) [7] possono essere registrate utilizzando elettrodi posti sullo scalpo, che captano i potenziali elettrici generati dall'attività sincrona di popolazioni di neuroni evocata da stimoli semplici ripetuti come click e toni sinusoidali (di cui la Figura 1.3 illustra un esempio). Poiché queste risposte neurali aggregate possono essere registrate

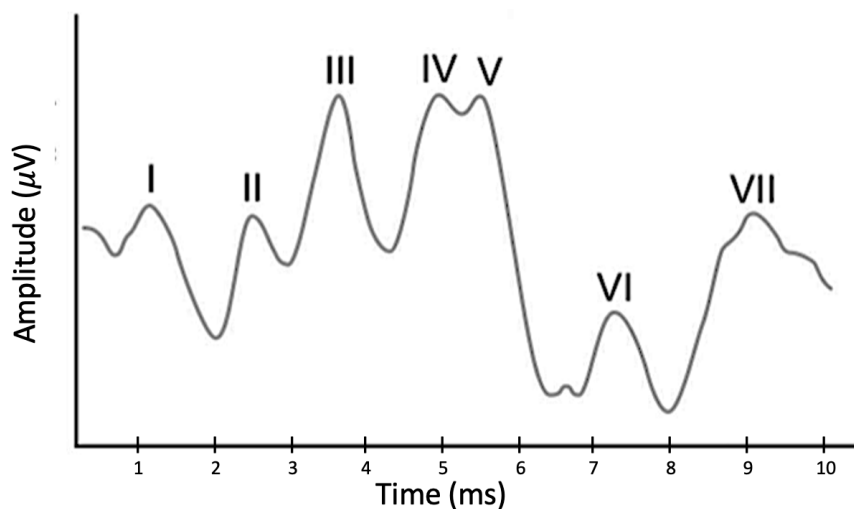


Figura 1.3: Forma d'onda tipica del segnale click-ABR di un soggetto normoudente. È composta da sette picchi positivi, indicati con numeri romani in progressione e di ampiezza generalmente inferiore a $1 \mu V$. Figura riadattata da [8].

in modo oggettivo e passivo, sono largamente utilizzate in ambito clinico per valutare la funzione uditiva. Questo tipo di registrazione elettrofisiologica permette di semplificare l'analisi dei potenziali evocati uditivi, ma ne limita

l'impatto nella realtà quotidiana. Per questo motivo, studi più recenti si sono proiettati nell'utilizzo di stimoli più complessi, che potessero rispecchiare i suoni che normalmente possiamo incontrare al di fuori di un laboratorio. Già nel 1968 [1] Worden e Marsh utilizzarono un modello animale per studiare i potenziali elettrici evocati da toni puri a bassa frequenza (<500 Hz). Le risposte ottenute apparivano come promettenti alternative ad altre misure oggettive della funzione uditiva disponibili all'epoca (ad esempio, i suddetti potenziali evocati uditivi ABR o l'elettrococleografia), essendo quest'ultime meno precise ed efficaci nell'individuare risposte a frequenze di stimolo inferiori a 500 Hz. [7] Greenberg (1980) è stato uno dei primi ad adottare stimoli complessi per la registrazione degli ABR, confermando come le formanti¹ del parlato non solo sono conservate nel modello di scarica dei neuroni del nervo acustico, ma sono anche codificate fedelmente nell'ABR. Questa corrispondenza stimolo-risposta è stata ulteriormente

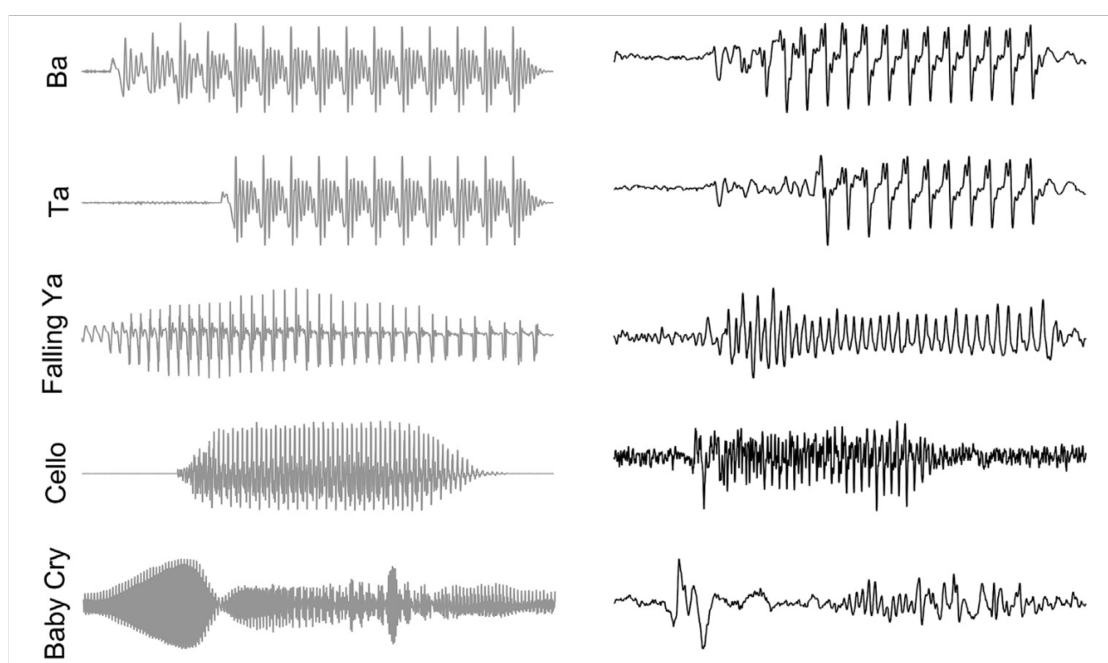


Figura 1.4: Esempi di FFR nel dominio del tempo (pannello a sinistra), evocati da diversi stimoli (pannello a destra). Dall'alto verso il basso i suoni raffigurati corrispondono a: sillabe 'ba' e 'ta' con F_0 costante, sillaba 'ya' con F_0 calante, la nota di un violoncello e il pianto di un bambino. Appare evidente che le risposte contengono molte delle informazioni presenti nello stimolo. Figura tratta da [9].

¹Le formanti sono picchi di intensità di un suono emesso, che ne caratterizzano il timbro. Esse sono indispensabili per la distinzione e caratterizzazione di suoni diversi.

supportata da Galbraith et al. (1995), i quali hanno dimostrato che se la forma d'onda evocata da un'armonica complessa viene convertita da segnale neurale a segnale audio, essa assomiglia allo stimolo stesso sia a livello conformazionale che sonoro. Questo concetto può essere osservato nella Figura 1.4, che presenta esempi di FFR associati al corrispondente stimolo. Da allora è stata utilizzata una pletora di stimoli di diversa durata, quali sillabe consonante-vocale ('ba', 'da', 'ga', 'ta'), parole o intere frasi ('car', 'minute', 'chair', 'rose', 'dani', 'chicken pot pie'). Quello più utilizzato nella pratica clinica è il fonema 'da' per diversi motivi: è praticamente universale e comune a tutte le lingue; è costituito da un segmento transitorio seguito da uno periodico e quindi molto simile a un click seguito da un tono sinusoidale, le cui risposte sono state largamente studiate; e infine, permette di ottenere ABR chiari e ripetibili (Figura 1.5). Per molti

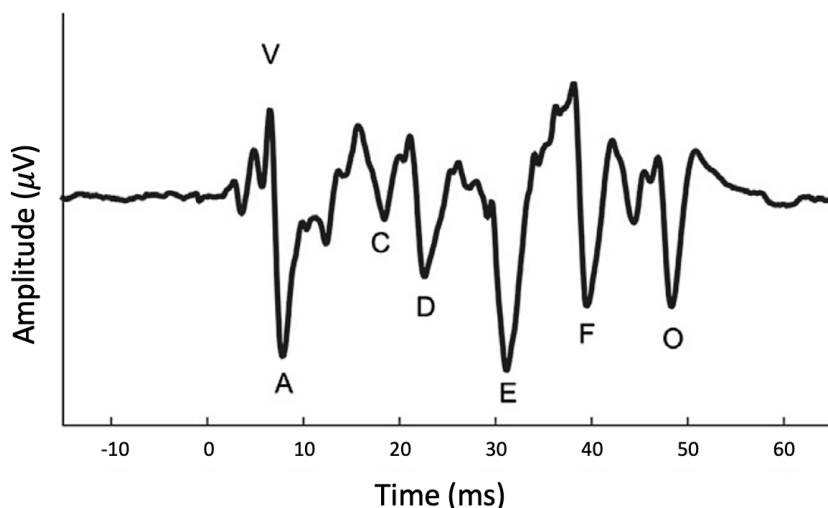


Figura 1.5: Forma d'onda di un segnale s-ABR di un soggetto normoudente in risposta al fonema /da/ di 40 msec. Si individuano 7 picchi caratteristici, analizzati nel dettaglio nel Capitolo 2. I primi 10 msec, evocati dalla consonante /d/ e corrispondenti al complesso VA, sono confrontabili con la componente principale del click-ABR, rappresentata dall'onda V in Figura 1.3. Figura riadattata da [9].

anni in letteratura si è utilizzato il termine s-ABR o speech-ABR, che stava per risposte del tronco encefalico a suoni complessi. Questa denominazione viene presto abbandonata, in parte a causa dell'enfasi potenzialmente fuorviante data al tronco encefalico: sebbene la risposta sia in esso radicata, è in grado di riflettere tutto ciò che un individuo apprende in termini di suono nel corso della vita, che è il risultato dell'interoperabilità di molteplici strutture subcorticali e corticali.

[1][2] Kraus e colleghi [7] ritengono più precisa la terminologia FFR, poiché non presuppone un'unica sorgente e sottolinea senza ambiguità che si tratta di una risposta neurale in grado di riflettere sia le componenti stazionarie che prolungate dello stimolo. A distinguere l'FFR dagli ABR tradizionali è proprio la precisione con cui conserva le caratteristiche morfologiche della forma d'onda sonora [10], rivelando in modo oggettivo come il cervello elabora i suoi elementi acustici. Oltre ad essere risposte stimolo-dipendenti, sono anche soggetto-dipendenti dal momento che dipendono dalle caratteristiche di ciascun individuo, incluse età [11][12] e sesso [13], quasi come fossero una vera e propria "firma neuronale". Sono caratterizzate da un'elevata ripetibilità [14], infatti se misuro l'FFR di uno stesso soggetto in momenti (anche anni) differenti la sua risposta rimane sostanzialmente immutata. Non richiedono l'esecuzione di un task e non sono influenzate dall'attenzione, e possono pertanto essere registrate in modo affidabile e uniforme in neonati, bambini, adulti, anziani e animali. La totalità degli studi condotti concorda sul prezioso contenuto informativo degli FFR e sul suo potenziale impatto sociale e clinico. D'altro canto, ciò che ne ha limitato per molto tempo l'applicabilità è l'assenza di un setup procedurale e analitico standardizzato. Per colmare questa mancanza, Krizman e Kraus [9] hanno proposto una vera e propria guida per acquisire e analizzare i dati raccolti, allo scopo di massimizzarne l'utilità diagnostica.

Mentre i test tradizionali basati su stimoli non vocali sono circoscritti alla sola integrità del sistema uditivo in termini di pura percezione sensoriale, l'introduzione di armoniche realistiche per la rilevazione degli ABR è una diretta conseguenza della necessità di oggettivare la misura di processing e comprensione dei suoni, senza richiedere un feedback soggettivo. In tal senso, gli FFR sono risposte informative non solo dal punto di vista puramente sensoriale ma anche cognitivo, che possono essere compromesse in soggetti con disturbi dell'apprendimento, quali dislessia, autismo, deficit dell'attenzione; o potenziate mediante lo studio o la pratica musicale.[7]

1.3 Misura di click-ABR e speech-ABR

I click-ABR e gli s-ABR [15] sono due varianti dei potenziali evocati uditivi, un test elettrofisiologico impiegato per valutare l'integrità del sistema uditivo e la codifica degli impulsi sonori a livello cerebrale. La loro acquisizione richiede una strumentazione analoga, che include un montaggio a singolo canale con tre elettrodi,

1.4 Scopo della tesi

auricolari o cuffie, un amplificatore e un sistema di registrazione (descritti nel Capitolo 2). I click-ABR sono suscitati da impulsi sonori non verbali, transitori, di breve durata (frazioni di millisecondo), presentati a polarità alternata. Si tratta di risposte precoci, che si manifestano entro 7–9 msec dall’inizio dello stimolo. Tipicamente, il test registra da 500 a 2000 sweep e ha una durata approssimativa di 10 minuti. Le risposte acquisite vengono sottoposte ad amplificazione, filtraggio online e offline, e successivamente mediate lungo le epoche. Sebbene un alto numero di epoche possa migliorare la precisione del segnale, nella maggior parte dei casi, la semplice operazione di averaging risulta sufficiente per estrarre l’attività evocata dal rumore elettroencefalico di fondo. Data la semplicità dei segnali risultanti, l’analisi è condotta esclusivamente nel dominio del tempo e si focalizza sulla latenza² e sull’ampiezza dei picchi caratteristici (mostrati in Figura 1.3), dal momento che la variabilità interindividuale è minima in condizioni di normoacusia. Gli s-ABR sono evocati da suoni più complessi rappresentativi della lingua parlata, anch’essi generalmente presentati a polarità alternata. A differenza degli ABR convenzionali, gli s-ABR vanno oltre la latenza breve, in quanto appaiono dopo 6–60 msec dall’inizio dello stimolo. Il protocollo di acquisizione, come indicato da [16], propone la registrazione di 4000–6000 sweep. Tuttavia, a causa della maggiore durata dei suoni utilizzati e della necessità di limitare i tempi di acquisizione, potrebbe essere necessario registrare un numero inferiore di epoche (1000–2000), garantendo comunque buoni risultati. [7] Si procede, poi, con amplificazione, filtraggio e averaging offline lungo le sweep, di cui si illustreranno i dettagli nel Capitolo 3. Gli s-ABR sono risposte dal ricco contenuto temporale e spettrale, che varia non solo a seconda del tipo di stimolazione sonora ma anche rispetto al soggetto testato. Pertanto, è richiesta un’analisi più complessa sia nel dominio del tempo che della frequenza, per riuscire a estrarre caratteristiche specifiche sulla percezione e sull’elaborazione dei suoni.

1.4 Scopo della tesi

Nel corso di questo lavoro di tesi, sono state implementate diverse tecniche di analisi lineare e non lineare degli FFR utilizzando l’ambiente Matlab. Questi metodi sono stati applicati a dati reali acquisiti presso il centro diagnostico veneto di Caldogeno

²La latenza è l’intervallo di tempo che intercorre tra la presentazione dello stimolo e la sua manifestazione, ossia la comparsa dei picchi nella risposta.

(Vicenza) e il World Hearing Center in Kajetany (Polonia). Per l'acquisizione dei dati è stato utilizzato lo strumento *Socrates*, realizzato dall'azienda Hedera Biomedics S.r.l. e mostrato in Figura 1.6. Questo dispositivo elettromedicale è impiegato in vari ambiti ospedalieri in Italia e all'estero per l'acquisizione e la stima dei tradizionali ABR suscitati da click.



Figura 1.6: Unità di base e unità di amplificazione del dispositivo *Socrates*, descritti nel dettaglio nel Capitolo 3. Immagine fornita da Hedera Biomedics S.r.l.

L'obiettivo del progetto nasce dal desiderio dell'azienda di estendere l'utilizzo di *Socrates* per l'acquisizione di potenziali uditivi evocati da suoni complessi, come il parlato, e di individuare i metodi più opportuni per parametrizzare il possibile residuo cognitivo codificato dall'FFR. In una prima fase, è stato preso in esame lo stato dell'arte degli algoritmi già in uso, per poi procedere con ulteriori sviluppi volti alla ricerca di misure quantitative integrabili nel software, in grado di migliorare l'intelligibilità delle risposte non solo da un punto di vista ingegneristico ma anche medico.

Per quanto riguarda la struttura di questa tesi, i capitoli sono organizzati come segue: il Capitolo 2 offre una panoramica sulle caratteristiche degli FFR, i parametri di maggiore interesse e le modalità di acquisizione; il Capitolo 3 descrive lo strumento utilizzato per registrare le risposte, il setup procedurale e il dataset raccolto; nei Capitoli 4 e 5 verranno presentate le metodologie lineari e non lineari implementate nello studio, insieme alla discussione dei relativi risultati.

Capitolo 2

FFR: caratteristiche del segnale, metodica di misura e applicazioni cliniche

2.1 Genesi dell'FFR

Gli FFR, acronimo di frequency-following response, sono risposte del tronco encefalico uditivo evocate da stimoli sonori complessi, che riflettono l'elaborazione e la codifica neurale di armoniche più articolate come vocali, sillabe o note musicali. Forniscono una misura oggettiva e non invasiva delle capacità uditive del singolo soggetto, specialmente in presenza di disturbi sensoriali e cognitivi che potrebbero compromettere l'affidabilità delle sue risposte comportamentali. Il termine FFR, come descritto in [9], è tutt'ora il più comunemente utilizzato per far riferimento a tali risposte neuronali phase-locked¹, evocate da stimoli periodici, in quanto esse mimano la periodicità dello stimolo che le ha generate. Le fibre nervose uditive si "agganciano" a specifiche fasi della forma d'onda sonora, ossia l'accensione dei neuroni tende a sincronizzarsi alla frequenza del suono, creando un vero e proprio codice temporale.[17] La morfologia e il numero dei picchi risultano, infatti, stimolo-dipendenti: per esempio, l'FFR in risposta a un tono che si ripete con una frequenza di 100 Hz avrà i picchi maggiori che si presentano ogni ~10 msec (corrispondente al reciproco della frequenza, 1/100 Hz). Queste risposte a suoni complessi sono

¹Il blocco di fase o phase-locking si riferisce alla tendenza di un neurone a sparare potenziali di azione a particolari fasi di una forma d'onda sonora periodica in corso (come le forme d'onda sinusoidali che sono tipicamente utilizzate negli studi fisiologici del sistema uditivo).

2.2 Parametri di interesse dell'FFR

in grado di riflettere sia parti transitorie che sostenute (prolungate) dello stimolo; possiamo quindi fare una distinzione tra risposte transitorie e sostenute. Le prime, caratterizzate da picchi di risposta rapidi che durano frazioni di millisecondi, sono evocate da componenti dello stimolo di breve durata, come l'inizio e la fine dei suoni. Le seconde sono risposte phase-locked e time-locked (ossia hanno sempre la stessa fase e latenza costante che dipende dalla frequenza fondamentale dello stimolo) e sono evocate da suoni contenenti caratteristiche acustiche continue e periodiche, come vocali complesse, sillabe, note musicali. [7]

Un esempio significativo è rappresentato dall'FFR evocato dalla sillaba /da/ di 40 msec, che include sia componenti di risposta transitorie che sostenute. La risposta conserva tutti gli elementi cruciali dello stimolo necessari per il riconoscimento della sillaba vocale, dell'intenzione con cui viene pronunciata (ad esempio, l'emozione) e dell'identità dell'interlocutore.[18] Il team della Northwestern University guidato da Kraus [9] ha dimostrato che, quando il fonema /da/ viene sollecitato, la risposta sottocorticale emerge come una forma d'onda di sette picchi, denominati V, A, C, D, E, F e O, che corrispondono ai principali punti di riferimento acustici dello stimolo, come illustrato in Figura 2.1. [7] Lo stesso gruppo di ricerca ha ideato un approccio sistematico per identificare tali picchi e stabilito dei valori di riferimento per bambini di 3-4 anni, 5-12 anni e giovani adulti. I picchi V, A, C e O individuano componenti transitorie della risposta, rispettivamente l'inizio e la fine del voicing. Il periodo di transizione consonante-vocale è contraddistinto dall'onda C. I picchi D, E, F e le piccole fluttuazioni di tensione tra di essi corrispondono alla porzione periodica della sillaba, da cui è possibile estrarre la frequenza fondamentale (F_0) e le armoniche proprie dello stimolo.

2.2 Parametri di interesse dell'FFR

È stato più volte ribadito come l'elaborazione sonora è il risultato della codifica neuronale non solo di componenti prettamente uditive, ma anche sensomotorie, linguistiche e cognitive. Ciò che distingue l'FFR da altre risposte evocate è la sua capacità di catturare tutti questi dettagli sull'elaborazione dei suoni da parte del cervello. Quando registriamo e analizziamo le FFR in genere si focalizza l'attenzione sulle seguenti caratteristiche principali delle risposte [9]: frequenza fondamentale, armoniche, timing e stabilità.

- La frequenza fondamentale (F_0) è la frequenza più bassa di una forma d'onda

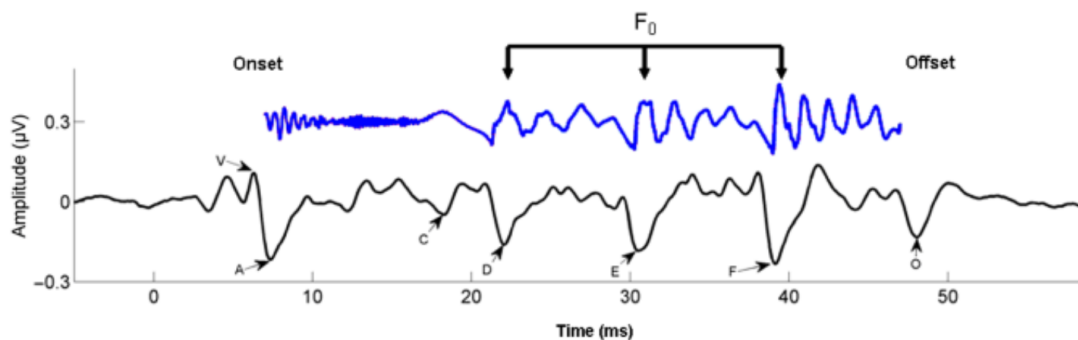


Figura 2.1: Forma d'onda nel dominio del tempo dello stimolo vocale sintetizzato /da/ di 40 msec (in alto), traslata di 6 msec per essere comparabile con la rispettiva risposta. I primi 10 msec corrispondono all'avvio del suono consonantico /d/, mentre i successivi 30 msec coincidono con il periodo di transizione verso la vocale /a/. La forma d'onda del corrispondente FFR a /da/ è mostrata in nero, mettendo in evidenza i caratteristici picchi. Figura tratta da [18].

periodica e quindi corrisponde alla periodicità del suono, o frequenza di ripetizione dell'involuppo sonoro. Nel parlato F_0 equivale alla velocità con cui vibrano le corde vocali e dal punto di vista percettivo coincide con l'altezza (o tono) del suono: i suoi valori variano da ~ 80 Hz per una voce maschile profonda a ~ 400 Hz per un bambino.

- Le armoniche sono multipli interi di F_0 . Negli stimoli sonori complessi ci sono delle armoniche, dette formanti, caratterizzate da una particolare importanza dal punto di vista fonetico e sono indipendenti dalla F_0 del suono vocale. Le formanti hanno un'ampiezza maggiore rispetto alle armoniche circostanti, sia nello stimolo che nell'FFR, e corrispondono ai picchi nello spettro in frequenza (come verrà approfondito nel capitolo 4).

Estrarre la periodicità di F_0 e delle armoniche dagli FFR ci fornisce informazioni su come il cervello è in grado di elaborare l'intonazione dei suoni ed è importante per testare l'abilità di un soggetto nel discriminare gli stimoli in condizioni di ascolto difficili.

- Il timing fa riferimento all'occorrenza nel tempo dei picchi nella risposta evocata corrispondenti a specifiche deflessioni o periodicità nella forma d'onda sonora. Tipicamente, i picchi si distinguono in due categorie: la prima in risposta a un cambiamento dello stimolo (onset, offset o fasi di transizione),

2.2 Parametri di interesse dell'FFR

mentre la seconda riflette la periodicità del suono. Quando si analizza il timing di un FFR è importante tenere in considerazione l'intervallo di tempo tra la presentazione dello stimolo e la sua manifestazione, ossia la latenza. Tale parametro tiene in considerazione il tempo fisiologico di trasmissione tra l'orecchio e le strutture subcorticali e corticali, ossia il ritardo neuronale (tipicamente di $\sim 8-10$ msec), dovuto alla natura della risposta evocata stessa, che risulta essere di tipo neurale e non cocleare.² Facendo sempre riferimento alla Figura 2.1 è possibile standardizzare le latenze dei picchi caratteristici: V è una deflessione di ampiezza positiva che si verifica $\sim 7-8$ ms dopo l'inizio dello stimolo, A è la deflessione di ampiezza negativa che segue immediatamente V. Il picco C riflette la transizione formantica e compare a ~ 18 msec. I picchi D, E e F sono deflessioni di ampiezza negativa che si presentano rispettivamente a ~ 22 , ~ 31 e ~ 39 msec. O è la deflessione di ampiezza negativa in risposta all'offset del suono e si verifica a circa 48 msec (cioè 8 msec dopo la cessazione dello stimolo). Oltre a stimare la latenza dei picchi nel dominio del tempo, un'altra modalità di valutazione del timing consiste nella fase delle singole frequenze all'interno della risposta.

Indipendentemente dalla misura quantitativa, questo parametro ci dice quanto rapidamente e accuratamente il cervello è in grado di elaborare i suoni in esame.

- La stabilità o consistenza della risposta ci dice quanto coerentemente e fedelmente il cervello codifica lo stimolo sonoro tra le varie sessioni di test o in condizioni differenti. È un parametro importante in quanto permette di valutare le capacità di un soggetto di focalizzare l'attenzione a un suono significativo.

Per ribadire l'importanza di questi parametri, consideriamo l'FFR a /da/ di una persona con un click-ABR fisiologico e lo confrontiamo con il template fornito dalla letteratura (Figura 2.1). Se riscontriamo, ad esempio, una discontinuità nelle armoniche, un ritardo nel timing e una scarsa stabilità, queste anomalie nei parametri di interesse rispetto ai range normali sono segno di un possibile disturbo dell'elaborazione uditiva e del linguaggio.

²Una risposta di tipo cocleare si verifica quasi contemporaneamente all'inizio dello stimolo.

2.3 Registrazione delle risposte

2.3.1 Elettrodi e montaggi

Gli FFR sono caratterizzati da un'elevata replicabilità [14] tra le varie sessioni di test e possono essere misurati in condizioni passive con un numero limitato di elettrodi. [7][19] La configurazione più comune è il montaggio verticale a un canale che richiede solo tre elettrodi pre-gellati: l'elettrodo attivo posizionato sul vertex craniale Cz, l'elettrodo di riferimento posizionato sul lobo omolaterale e/o lobo controlaterale, e l'elettrodo di massa posizionato generalmente sulla fronte. Un'altra configurazione prevede il posizionamento del riferimento e della massa sul mastoide omolaterale e controlaterale. La prima risulta preferibile in quanto minimizza l'artefatto da vibrazioni ossee essendo il lobo dell'orecchio un sito non cefalico. Tuttavia, la posizione esatta può variare leggermente a seconda delle procedure specifiche e delle preferenze dei ricercatori o clinici. Indipendentemente dal montaggio, le impedenze degli elettrodi devono essere inferiori a $5\text{ k}\Omega$ e le impedenze interelettrodiche mantenute entro i $2\text{ k}\Omega$.

[20] Un problema legato a questi approcci di registrazione degli FFR è la scelta dell'elettrodo di riferimento, che deve essere collocato in un sito elettricamente neutro. Le posizioni più comuni (testa, lobi, mastoidi) sono, però, generalmente situate in regioni caratterizzate da significativi gradienti di tensione variabili nel tempo, che le rendono tutt'altro che neutre. È noto, ad esempio, che le risposte ABR sono suscettibili alla contaminazione da parte di interferenze miogene o di altre interferenze dell'elettroencefalogramma (EEG) (approfondito in seguito in 2.3.2), poiché il rumore captato dal riferimento viene trasmesso nella registrazione desiderata all'elettrodo attivo. L'attenuazione di tali artefatti si ottiene in parte con l'uso di un riferimento medio comune (CAR), in cui si misura la differenza di voltaggio tra ogni sensore di registrazione attivo e l'attività media intorno al volume conduttore della testa. Tuttavia, il CAR è possibile solo con una registrazione multicanale (64 canali) ad elevata densità, che G.M. Bidelman ha dimostrato essere vantaggioso per due aspetti principali: permette di valutare gli effetti della scelta del riferimento nella morfologia e nei parametri principali degli FFR; consente di ottenere una distribuzione topografica delle risposte evocate e di localizzarne le sorgenti sottostanti.

2.3.2 Stimoli

Dal momento che la risposta captata dagli elettrodi ha un'ampiezza molto ridotta [9], dell'ordine dei microvolt, per poterla misurare accuratamente e discriminare dal rumore è necessario che lo stimolo venga presentato al paziente da centinaia a migliaia di volte per generare un FFR. [7] Questi suoni complessi sono tipicamente emessi con un'intensità compresa tra 60 e 85 dB Sound Pressure Level o livello di pressione sonora (SPL), tramite cuffie a inserto indossate dal soggetto. Generalmente si preferisce utilizzare una stimolazione binaurale negli adulti non solo perché consente di ottenere risposte più ampie e robuste (grazie alla somministrazione binaurale), ma anche perché è più realistica dal momento che normalmente ascoltiamo con entrambe le orecchie. La stimolazione monoaurale destra o sinistra si utilizza in genere quando si testano individui con soglie uditive asimmetriche, bambini o soggetti che presentano difficoltà a stare immobili durante il test. È importante precisare che l'utilizzo di una singola cuffia inserita nell'orecchio destro o sinistro non produce FFR identici, ma simili. Per quanto riguarda il tipo di stimolo da utilizzare, la letteratura scientifica e la realtà circostante ci offrono un'ampia gamma di suoni complessi, ciascuno dei quali può essere studiato per i rispettivi FFR. La scelta deve tenere in considerazione diversi fattori: la popolazione da studiare, le domande di ricerca, le proprietà elettrofisiologiche della vie uditive afferenti ed efferenti, e le caratteristiche acustiche che enfatizzano le componenti di risposta periodiche piuttosto che quelle aperiodiche, o viceversa.

[7] In particolare, per massimizzare le risposte transitorie sono necessari stimoli con tempi di insorgenza netti e forti esplosioni in ampiezza, che causano un'attivazione più ampia della coclea che, a sua volta, stimola simultaneamente una popolazione maggiore di neuroni, portando a risposte più ampie e più precoci. Se si considera, per esempio, uno stimolo musicale come la melodia di un pianoforte mostrato in Figura 2.2, si possono notare come i picchi nell'FFR coincidano con gli onset e i transitori netti presenti nello stimolo.

Per enfatizzare invece le risposte sostenute occorre utilizzare stimoli a tonalità bassa con F_0 compresa tra 80 e 300 Hz, allo scopo di ottenere un forte phase-locking alla frequenza fondamentale e alle armoniche.

Polarità dello stimolo

Le onde sonore periodiche sono costituite da regioni alternate di compressione (ossia condensazione) e decompressione (ossia rarefazione) delle molecole d'aria. Se

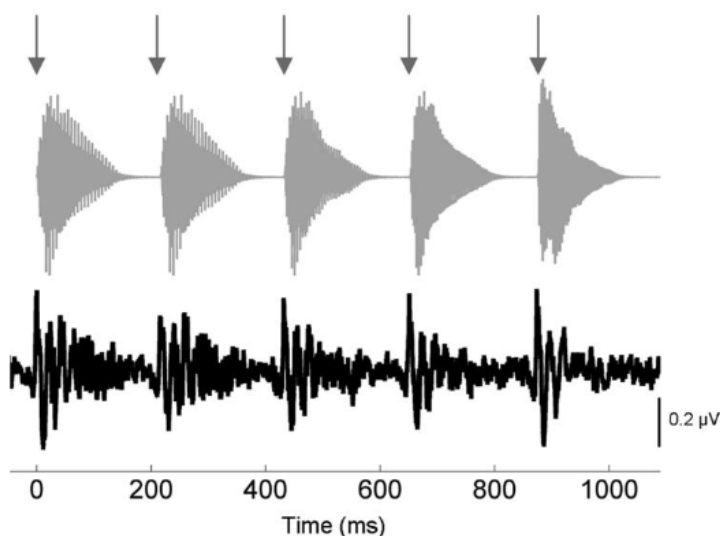


Figura 2.2: FFR (in basso) evocato dalla melodia di un pianoforte (in alto). Lo stimolo è stato traslato in modo tale che si allineasse alla risposta. Figura presa da [7].

si rappresenta graficamente un'onda sonora, la condensazione e la rarefazione si manifestano come deflessioni positive o negative rispetto alla linea di base. Poiché i click sono costituiti da un'unica deflessione positiva o negativa, si dice siano caratterizzati da un'unica polarità di condensazione o rarefazione. Tuttavia, poiché i suoni periodici oscillano tra gli stati di condensazione e rarefazione, occorre fare una distinzione. Esistono due diversi approcci di registrazione degli FFR:

- registrare la risposta a una sola polarità dello stimolo;
- registrare le risposte a entrambe le polarità dello stimolo e sommare o sottrarre le due risposte.

Per convertire uno stimolo da una polarità all'altra, la forma d'onda viene traslata di 180 gradi (cioè moltiplicata per -1).

É probabile che i sistemi di registrazione siano sensibili alla polarità dello stimolo, e questo può essere sfruttato per focalizzare l'attenzione su particolari dettagli delle risposte ed estrarne più informazioni possibili. Il processo di addizione enfatizza le componenti a bassa frequenza (F_0), compreso il phase-locking all'involuppo dell'ampiezza dello stimolo, e minimizza l'artefatto di stimolo e il microfonico cocleare (CM) (approfonditi in 2.3.4); la sottrazione accentua le componenti a più alta frequenza massimizzando la risposta dal punto di vista spettrale.

2.3 Registrazione delle risposte

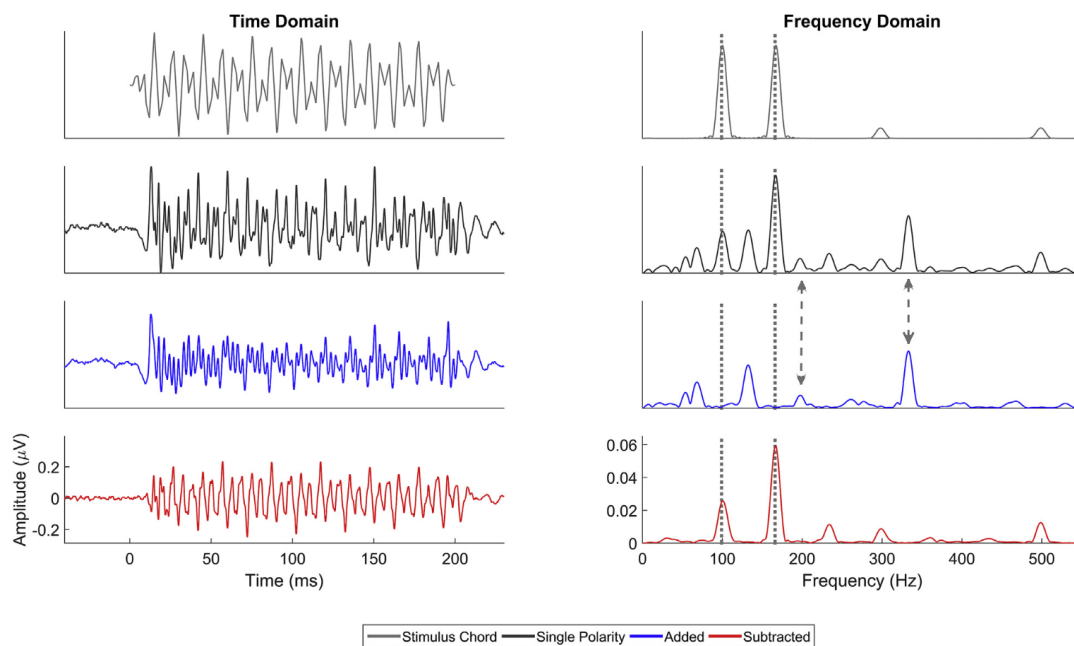


Figura 2.3: Confronto tra FFR evocati da uno stimolo (un accordo E2G3 formato da onde triangolari (primo pannello dall'alto)) a polarità singola (secondo pannello), aggiunta (terzo pannello) e sottratta (quarto pannello) nel dominio del tempo (a sinistra) e della frequenza (destra). Le linee tratteggiate in grigio indicano le frequenze fondamentali degli stimoli (99 e 166 Hz). Le F_0 sono visibili solo nello spettro delle risposte sottratte e a polarità singola. Nella risposta sommata e a polarità singola sono presenti dei picchi in corrispondenza di frequenze doppie delle due F_0 (198 e 332 Hz) indicate dalle frecce grigie tratteggiate. Figura tratta da [9].

La scelta della polarità è comunque dettata dal tipo di stimolo e dagli aspetti di codifica dei suoni che si vogliono studiare. [9]

2.3.3 Frequenza di campionamento

[7] La frequenza di campionamento (F_s) determina quante volte al secondo il segnale neurale viene campionato digitalmente dal sistema di registrazione. Nei casi in cui solo le componenti a bassa frequenza della risposta sono di interesse, una F_s bassa (da 1000 a 2000 Hz) può essere appropriata. Tuttavia, molti ricercatori scelgono di sovracampionare le acquisizioni di FFR con valori di F_s da 7 a 50 kHz (ampiamente al di sopra della frequenza di Nyquist, ossia il doppio della frequenza più alta dello stimolo). Una F_s più alta minimizza gli errori di campionamento, aumenta la precisione temporale della registrazione e consente una differenziazione

più fine dei picchi nella risposta. Sebbene sia auspicabile una frequenza più alta (almeno 10 kHz), la scelta può essere però limitata dal sistema di registrazione. Ad esempio, alcuni sistemi di registrazione utilizzano un numero fisso di campioni e, in tal caso, la F_s dipende dalla durata della finestra di registrazione ($F_s = \text{punti di campionamento}/\text{durata}$).

2.3.4 Artefatti

[7] Nelle registrazioni FFR, esistono diversi tipi di artefatti che possono distorcere o interferire con i segnali neurali di interesse: il rumore elettrico esterno, l'artefatto miogenico (muscolare), il microfonico cocleare, l'artefatto da stimolo. Nonostante sia possibile ridurre al minimo tali artefatti, è buona pratica eliminare il problema alla fonte.

- Il rumore elettrico esterno comprende artefatti di origine non biologica, come il rumore di rete alla frequenza di 60 o 50 Hz, che si verifica quando lo strumento non è messo a terra in maniera corretta e che viene generalmente arginato eseguendo le registrazioni in una cabina schermata elettricamente e privata di ogni fonte elettrica. Un altro tipo di rumore elettrico è il cosiddetto artefatto da innesco elettrico o artefatto da blocco dello stimolo, che deriva dall'impulso inviato per attivare lo stimolo sonoro e sincronizzarlo alla media delle risposte neurali. Questo segnale elettrico può introdurre un'onda indesiderata al tempo zero o al blocco del suono, che può compromettere l'interpretazione degli FFR, e può essere minimizzata accorciando l'impulso di attivazione in modo che si verifichi prima dell'inizio della risposta o rendendolo più lungo dello stimolo.
- L'artefatto miogenico è una tipologia di interferenza causata dalla contrazione o dai movimenti dei muscoli in prossimità degli elettrodi di registrazione, come i muscoli orbicolari, facciali, della mascella e del collo. Poiché questo tipo di rumore è caratterizzato da picchi o deflessioni improvvise con un'ampiezza molto maggiore della risposta del tronco encefalico, nella pratica clinica generalmente si rimuovono i trial che superano una determinata soglia (± 20 mV [21]) e si esortano i partecipanti a rimanere fermi e rilassati per ridurre al minimo i movimenti.
- Il CM è un potenziale generato dall'attivazione involontaria delle cellule ciliate cocleari in seguito a rumori ambientali o suoni intensi. Data la

sua somiglianza con la risposta neurale, è necessario mettere in atto delle accortezze per minimizzare o rimuovere il CM dalle registrazioni, senza distorcere la forma d'onda di interesse. Il microfonico si può distinguere in vari modi: a differenza dell'onset degli FFR, che tiene conto del ritardo neurale, l'inizio del CM è quasi coincidente con lo stimolo; i due potenziali sono inoltre influenzati in modo diverso dall'intensità, dalla frequenza e dal rumore; infine, l'artefatto appare come un'attivazione a intensità linearmente crescente che si discosta dalla risposta cerebrale attesa.

- Durante la registrazione degli FFR, lo stimolo viene inviato sotto forma di segnale elettrico a un trasduttore che lo converte in un segnale acustico. Qualora il trasduttore non fosse adeguatamente schermato, il segnale elettrico può essere captato dagli elettrodi e sovrapporsi alla forma d'onda di interesse causando un artefatto da stimolo. Dal momento che per definizione gli FFR mimano la forma d'onda dei suoni che li hanno evocati, occorre prestare molta attenzione nell'individuare e rimuovere questo tipo artefatto. Fortunatamente, l'artefatto da stimolo è molto facile da captare e può essere minimizzato con le opportune tecniche di registrazione: l'utilizzo delle cuffie a inserto³ ne rende molto improbabile la trasmissione. [1]

Come si era già accennato nella sezione 2.3.2, dal momento che il CM e l'artefatto da stimolo seguono con precisione la fase e l'andamento temporale dello stimolo, un altro modo per minimizzare tali artefatti ed eliminare ogni componente di origine non neurale è la somma di risposte a stimoli con polarità alternata.

2.3.5 Filtraggi

È stato più volte ribadito come uno stimolo vocale complesso evochi una risposta neurale caratterizzata da componenti spettrali e temporali variabili nel tempo, che può essere contaminata da interferenze e artefatti più articolati rispetto ai classici click-ABR. È quindi fondamentale applicare un filtraggio digitale opportuno [7] per isolare l'attività sottocorticale d'interesse dai potenziali corticali e per aumentare il rapporto segnale-rumore (SNR) della risposta. Generalmente ai segnali acquisiti si

³Le cuffie a inserto sono schermate elettromagneticamente e utilizzano un tubicino di plastica per separare adeguatamente i trasduttori e l'inserto in schiuma

applicano filtri analogici passa-banda ⁴ per mantenere la sola gamma di frequenze confrontabile con la fondamentale F_0 e le formanti dello stimolo (tipicamente intorno a 70 e 2000 Hz [9]). Un ulteriore approccio consiste nell'utilizzare filtri più aperti (con una banda di frequenze da 30 a 3000 Hz [7]) che consentono una minore selettività delle componenti spettrali.

2.4 Requisiti hardware

Prima di entrare nel dettaglio del dataset e della strumentazione utilizzati in questo lavoro di tesi (descritti nel Capitolo 3), è opportuno prestare attenzione ai requisiti essenziali per acquisire degli FFR attendibili, in virtù di quanto detto nei Paragrafi precedenti. La proposta di progetto avanzata dall'azienda Hedera Biomedics S.r.l. è emersa, infatti, da un'analisi critica di tali prerogative, con l'obiettivo di valutare la reale applicabilità del loro strumento nella registrazione di ABR evocati da suoni complessi, oltre ai tradizionali stimoli costituiti da click e toni sinusoidali. Questi requisiti riguardano sia la presentazione dello stimolo che l'acquisizione degli FFR, e si possono riassumere nei seguenti punti [7]:

- Dal momento che le risposte di interesse cambiano nell'arco di decimi di millisecondo è necessario un sistema di registrazione opportunamente calibrato e in grado di attivarsi con tempestività ed estrema precisione, riducendo al minimo il rischio di *jitter*⁵ tra l'erogazione dello stimolo e la registrazione della risposta.
- È consigliabile adottare un mascheramento continuo e simultaneo, ossia una tecnica in cui un suono di mascheramento (in genere rumore bianco) viene presentato nello stesso orecchio in cui viene erogato lo stimolo, per sopprimere interferenze indesiderate e isolare la risposta ai soli suoni di interesse.
- In genere si utilizzano suoni brevi (< 1 sec) a polarità alternata e un'elevata velocità di presentazione (fino a 11/sec).

⁴I filtri passa-banda agiscono offline, prima che l'acquisizione raggiunga l'elaborazione dati software.

⁵In questo contesto, per *jitter* si intende una fluttuazione o variazione indesiderata dei tempi di latenza, ossia tra la presentazione dello stimolo e l'acquisizione della sua manifestazione a livello neuronale, che può essere causato da vari fattori come errori di misurazione o interferenze esterne. È importante minimizzare queste deviazioni temporali poiché potrebbero mascherare l'FFR o interferire nella diagnosi di anomalie nella risposta.

2.5 Applicazioni dell'FFR in clinica

- É buona norma impiegare cuffie a inserto correttamente posizionate ed elettrodi Ag-AgCl pre-gellati monouso.
- É raccomandata la stimolazione binaurale, per simulare condizioni di ascolto più realistiche e migliorare la qualità delle risposte mantenendo invariato il tempo di acquisizione. [16]
- Per rilevare risposte molto rapide come gli FFR è necessaria una F_s di almeno 10 kHz.
- Per rimuovere il rumore e contributi estranei alle risposte occorre servirsi di un amplificatore differenziale, un filtraggio offline passa-banda $\sim 20-2000$ Hz e un sistema di rimozione degli artefatti online.

2.5 Applicazioni dell'FFR in clinica

Gli FFR costituiscono un'importante finestra sul passato, presente e futuro, poiché forniscono una misura oggettiva della funzionalità uditiva globale. [22] Il loro prezioso contenuto informativo trova applicazione in molteplici ambiti, non solo prettamente medici ma anche comunicativi ed educativi.

Gli FFR possono essere sfruttati per stabilire la soglia uditiva, esaminare l'integrità del sistema uditivo in pazienti di tutte le età, diagnosticare disturbi come la perdita uditiva neurosensoriale e la neuropatia uditiva, e talvolta per assistere alla selezione delle terapie più idonee o per monitorare l'evoluzione di un trattamento.

Nell'ambito della comunicazione, tali test forniscono informazioni sulla competenza linguistica di un individuo, sulla sua capacità di discriminare un suono di interesse dal rumore circostante e sull'andamento generale della salute del suo cervello. Ad esempio, possono essere utili per identificare e valutare la gravità di una commozione cerebrale. [23]

Gli FFR riflettono, inoltre, la plasticità cerebrale, ossia la capacità del sistema uditivo sottocorticale di adattarsi e modificarsi con l'apprendimento cognitivo e musicale. Questa plasticità legata all'esperienza può essere osservata su più scale temporali [7][22], che vanno dalla valutazione dell'attenzione effettiva nel momento presente, agli effetti a breve termine (come quelli derivanti dall'uso di un apparecchio acustico per alcune settimane), fino all'esperienza accumulata nell'arco di una vita mediante la pratica linguistica e musicale.

Capitolo 3

Protocollo sperimentale e Dataset

In questo capitolo, saranno presentati il dataset utilizzato per condurre lo studio e la strumentazione di acquisizione fornita dall'azienda Hedera Biomedics S.r.l. Successivamente, verranno discussi i dettagli del processo di registrazione, concentrandoci sulla natura degli stimoli sonori e sul protocollo procedurale adottati. Infine, verranno delineate le fasi di pre-processing, sia in tempo reale (online) che in seguito, in ambiente Matlab (offline), mirate a isolare le componenti transitorie e sostenute dell'FFR prima di procedere all'analisi vera e propria.¹

3.1 Dataset

I dati impiegati in questo studio sono stati registrati con un nuovo dispositivo medico professionale chiamato *Socrates*, prodotto da Hedera Biomedics S.r.l., il quale si basa sulla tecnologia PC-based introdotta nel Paragrafo 3.2.

Il progetto ha coinvolto 12 soggetti adulti classificati come normoacusici. Dal numero 1 al numero 8 le registrazioni sono state effettuate presso il centro diagnostico veneto (C.V.D.) di Caldogno (Vicenza) dal Tecnico Audiometrista Barbara Ranzan, sotto la supervisione dell'Ingegnere Giulio Dehesh e delle Responsabili Medici Otorino, la Dottoressa Daria Accordi e la Dottoressa Donatella Croatto. Dal numero 9 al numero 12 le registrazioni sono state condotte presso il World Hearing Center in Kajetany (Polonia), sotto la supervisione del Professore Krzysztof Kochanek. Da questo dataset, sono stati escluse le tracce di 4 pazienti perché

¹Le informazioni tecniche sul dispositivo *Socrates* e le relative illustrazioni incluse in questo capitolo sono state fornite da Hedera Biomedics S.r.l.

3.2 Strumentazione

incomplete e corrotte. Nel complesso, l'analisi, descritta nei capitoli successivi, è stata condotta su 8 pazienti, per ognuno dei quali sono stati acquisiti un file di test e retest nelle medesime condizioni (riportati nell'Appendice A). Ad esempio, la Figura 3.1 mostra i segnali test e retest del paziente 1, stimolato con /da/ per 40 msec. Sebbene vi sia una certa variabilità tra i due tracciati, confrontandoli con il tipico FFR a /da/ di 40 msec (Figura 2.1), è possibile individuare i sette picchi caratteristici in entrambi i segnali, evidenziando latenze molto simili. La decisione di sottoporre ciascun paziente a due test è stata presa con l'obiettivo di indagare l'accuratezza del dispositivo e verificare la ripetibilità e coerenza delle risposte ottenute.

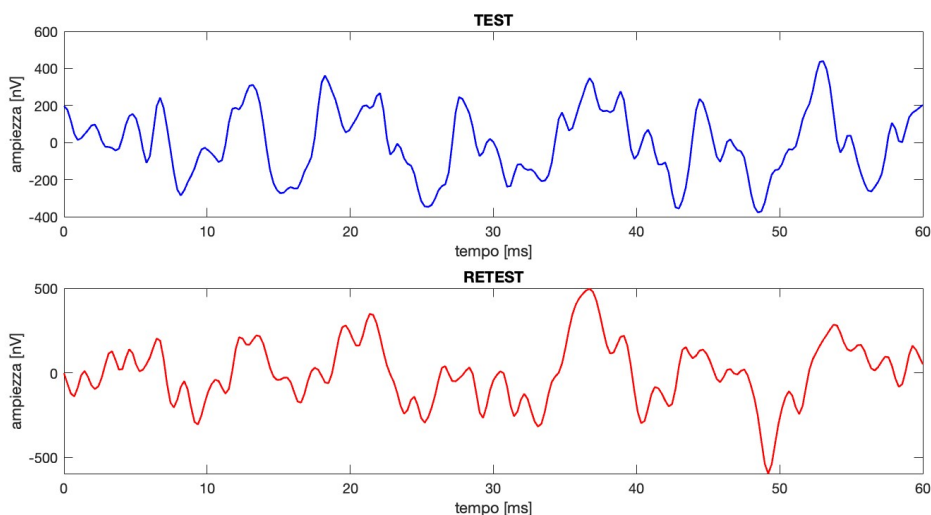


Figura 3.1: Esempio di acquisizione test (in alto) e retest (in basso) dell'FFR, evocato dalla sillaba /da/ di 40 msec e ricavato mediando dati reali registrati con lo strumento *Socrates* di Hedera Biomedics S.r.l.

3.2 Strumentazione

Il dispositivo *Socrates* (Figura 3.2), sviluppato da Hedera Biomedics S.r.l., un'azienda italiana specializzata nella produzione di software e apparecchi elettromedicali, rappresenta un sistema a due canali indipendenti progettato per catturare segnali elettrofisiologici a bassa intensità derivanti dalla stimolazione acustica. L'unità base è interconnessa con un software multilingue denominato *Helix*, sviluppato dalla stessa azienda, che oltre a gestire in modo sicuro tutti i dati anagrafici e clinici dei pazienti, funge da interfaccia con

l'operatore (mostrato in Figura 3.3). Questa sinergia tra hardware e software rende *Socrates* uno strumento di facile utilizzo, in grado di minimizzare i tempi operativi e gestire possibili interferenze come artefatti miogenici e ambientali.

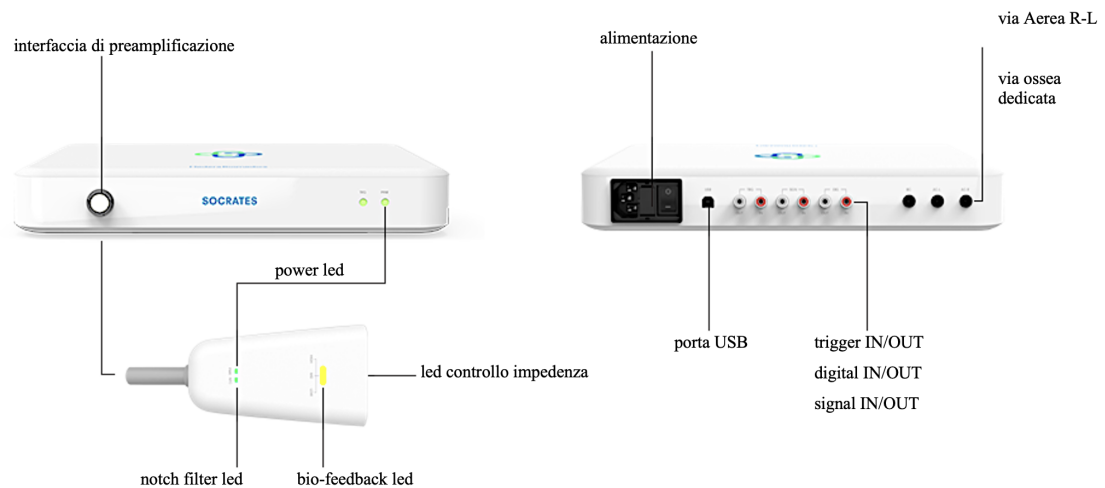


Figura 3.2: Immagine dell'unità base *Socrates* (in alto, vista anteriormente a sinistra e posteriormente a destra) e dell'unità di preamplificazione (in basso, vista dall'alto e vista anteriormente nella Figura 3.4).



Figura 3.3: Esempio di tracciato mostrato dall'interfaccia del software *Helix*.

I dati sono scambiati tra il dispositivo e il computer tramite una porta USB 2.0, e tutte le operazioni di filtraggio e pre-elaborazione vengono gestite direttamente da *Helix*. Lo strumento prevede due livelli di amplificazione: il primo, di preamplificazione, è fisso, mentre il secondo è regolabile mediante l'interfaccia

3.3 Acquisizione delle risposte

software. L'unità di preamplificazione, come illustrato nella Figura 3.2, è collegato alla base via cavo nel rispetto degli standard medici e dispone di un alimentatore interno, conforme anch'esso alle normative di sicurezza in vigore. Il preamplificatore è dotato, inoltre, di ingressi per collegare gli elettrodi da applicare al paziente.

3.3 Acquisizione delle risposte

L'acquisizione degli FFR è stata effettuata utilizzando tre elettrodi Ag-AgCl monouso, pre-gellati applicati in un montaggio verticale a un canale, secondo la configurazione tipica suggerita dalla letteratura e descritta nel Paragrafo 2.3.1. Come illustrato nella Figura 3.4, l'elettrodo attivo è posizionato sul vertex craniale Cz, l'elettrodo di riferimento è posizionato sul lobo omolaterale o controlaterale (a seconda del canale utilizzato), e l'elettrodo di massa è posizionato sulla fronte del paziente.

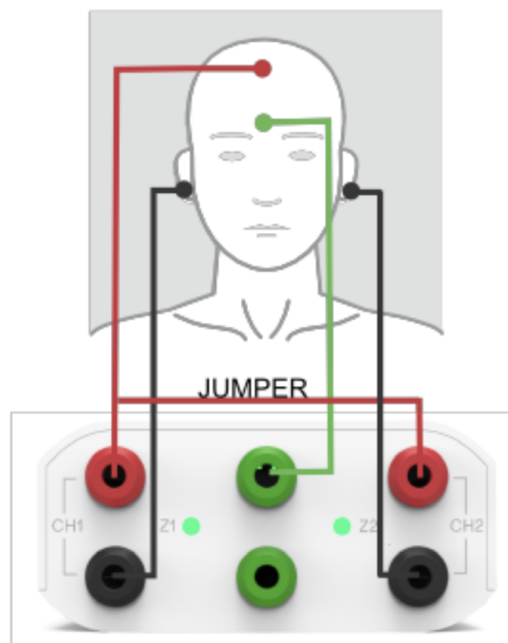


Figura 3.4: Montaggio degli elettrodi per l'acquisizione degli FFR. CH indica il canale utilizzato e Z il led di impedenza per il canale relativo. L'elettrodo attivo è rappresentato in rosso (vertex craniale), quello di riferimento in nero (lobi), quello di massa in verde (fronte).

3.3.1 Stimolazione

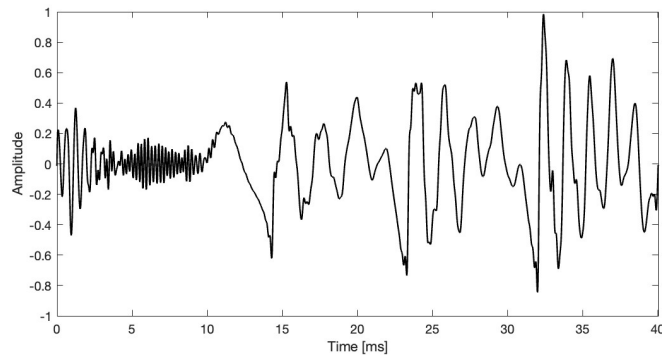
La stimolazione è stata effettuata tramite degli auricolari a inserto di tipo EAR TONE ER-3A, con trasduttori conformi alla normativa ISO0389-1-9 e calibrati opportunamente mediante strumentazione professionale. Come si era già accennato nel Paragrafo 2.3.4, questo tipo di cuffie offre numerosi vantaggi rispetto ad altri accessori, fornendo una totale schermatura da artefatti da stimolo di natura elettromagnetica e garantendo un ottimo contatto e occlusione del condotto uditivo stimolato.

Per la stimolazione dei pazienti è stata utilizzata la sillaba dell’alfabetico fonetico internazionale /da/ di 40 msec (Figura 3.5a), fornita dal gruppo di ricerca guidato da Kraus presso la Northwestern University. Si tratta di un suono sintetizzato a 5 formanti [13] con F_0 di ~ 118 Hz, caratterizzato dai primi 10 msec che contengono l’impulso iniziale dato dalla consonante /d/ e dai successivi 30 msec contrassegnati dalla transizione formantica alla vocale /a/.

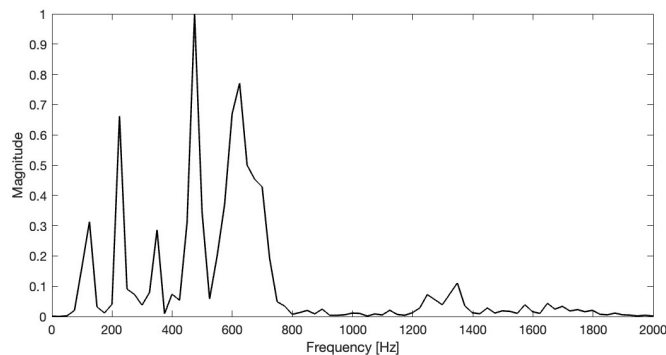
Gli FFR in risposta a questo tipo di stimolo sono stati oggetto di numerosi studi che concordano sull’elevata ripetibilità e chiarezza delle risposte evocate. Questo fornisce un metro di paragone affidabile per valutare i segnali acquisiti tramite il dispositivo *Socrates*. Inoltre, il suono /da/ con una durata di 40 msec, oltre ad essere breve, richiede un numero ridotto di acquisizioni per ottenere picchi di risposta chiaramente identificabili, contribuendo così a notevoli riduzioni nei tempi di esame.

Nello studio sono state anche registrate le risposte di 2 degli 8 pazienti evocate dallo stimolo vocale /ape/ di durata 739 msec di (Figura 3.6) e con $F_0 = \sim 117\text{--}125$ Hz, incluso nel database dell’azienda Hedera Biomedics S.r.l., illustrato nella Figura 3.6. Nonostante il suono /ape/ non sia calibrato con la stessa precisione della sillaba /da/, esso genera risposte che sembrano ripetibili, sebbene con un’ampiezza inferiore. L’analisi degli FFR evocati da un altro suono nasce dalla volontà di dimostrare ulteriormente il fenomeno del “frequency-following” e valutare la robustezza dei metodi di analisi implementati.

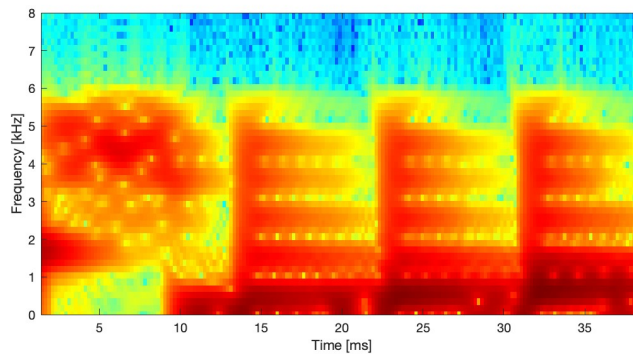
3.3 Acquisizione delle risposte



- (a) Forma d'onda dello stimolo /da/ di 40 msec nel dominio del tempo. Nei primi 10 msec si può vedere l'impulso iniziale e nei successivi 30 msec la transizione consonante-vocale.



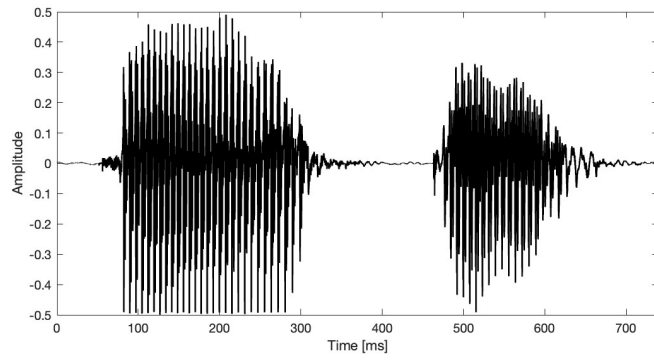
- (b) Spettro dello stimolo /da/. Il primo picco è in corrispondenza di F_0 , gli altri in corrispondenza delle formanti.



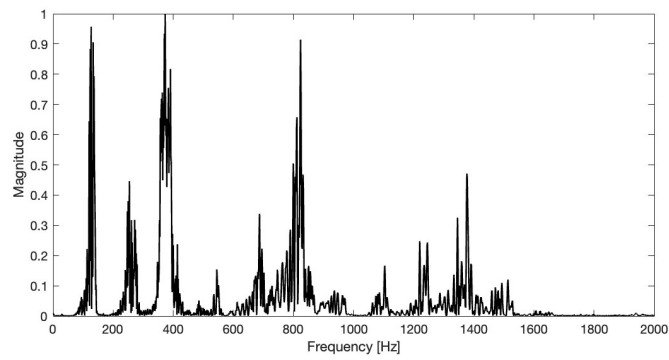
- (c) Spettrogramma dello stimolo /da/ di 40 msec. Le zone più scure corrispondono alle regioni con maggiore intensità spettrale. L'impulso iniziale della durata di 10 msec presenta un'energia diffusa principalmente alle alte frequenze; durante il periodo di transizione consonante-vocale, di durata 30 msec, lo spettro è caratterizzato da bande orizzontali, che indicano le variazioni delle formanti, e da bande verticali, in corrispondenza di F_0 , che evidenziano le pulsazioni glottali.^a

^aLe pulsazioni glottali sono modulazioni periodiche della F_0 durante la produzione del suono vocale, caratterizzate da un rallentamento temporaneo della vibrazione delle corde vocali e dalla successiva ripresa.

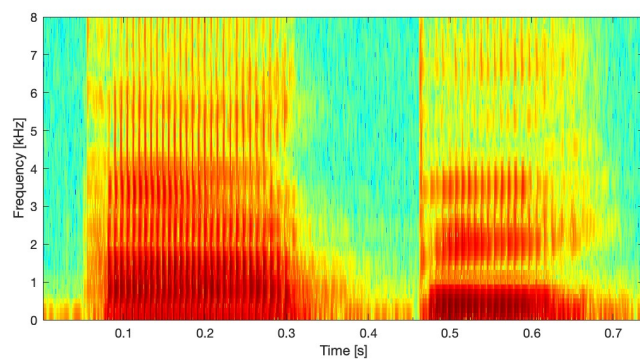
Figura 3.5: Stimolo /da/ di 40 msec nel dominio del tempo e della frequenza.



(a) Forma d'onda dello stimolo /ape/.



(b) Spettro dello stimolo /ape/.



(c) Spettrogramma dello stimolo /ape/.

Figura 3.6: Stimolo /ape/ nel dominio del tempo e della frequenza.

3.3.2 Protocollo

Il protocollo utilizzato prevede una stimolazione binaurale attraverso l'utilizzo del fonema /da/ della durata di 40 msec, con polarità alternata e un livello di intensità di 85 dB SPL. Per ciascun paziente fisico, sono stati registrate 1000 sweep con un ritmo di stimolazione di 4, 4.3 o 1.3 stimoli al secondo (pps). Ogni sweep è composta da 500 campioni (frequenza di campionamento $F_s = 4167$ Hz) con una finestra di acquisizione di 120 msec, che comprende 60 ms per il segnale pre-stimolo e 60 msec per il post-stimolo. Dopo la registrazione, i segnali pre- e post-stimolo vengono sottoposti, in modo identico e per ogni sweep, ad amplificazione e a un filtraggio analogico passa-banda (con frequenze comprese tra 10 e 2500 Hz), mentre i filtri digitali e il filtro notch sono stati disattivati. Prima di passare all'elaborazione offline, il software *Helix* opera una correzione della baseline su ciascuna acquisizione, sottraendo la media a ogni punto della sweep, per rimuovere eventuali fenomeni indesiderati o interferenze. Per lo stimolo /ape/, sono stati acquisite solo 500 sweep vista la maggiore durata del suono, utilizzando lo stesso setup sperimentale.

Le registrazioni dei segnali prima della stimolazione, di durata 60 msec, sono state utilizzate come metro di confronto, per una migliore interpretazione dei risultati ottenuti analizzando le risposte post-stimolo. L'attività non legata allo stimolo può essere considerata una misura del rumore di registrazione o del rumore neurale di fondo. Inoltre, essendo un segnale non evento-correlato, può essere verosimilmente associato a una risposta patologica o a una "non-risposta". [24] Allo scopo di verificare questa correlazione tra il segnale pre-stimolo e il rumore di fondo, nella Figura 3.7 è stato confrontato il segnale acquisito da un paziente prima della stimolazione con il segnale ottenuto dallo stesso paziente, senza l'uso degli auricolari. Emergono notevoli somiglianze tra le due forme d'onda, particolarmente evidenti nei primi e negli ultimi 20 millisecondi della finestra di acquisizione.

3.4 Pre-processing

Prima di essere forniti come input agli algoritmi di analisi descritti nei capitoli successivi, i file binari di test e retest ottenuti dallo strumento sono stati importati in Matlab mediante la funzione `leggifile` (appendice C), fornita da Hederia Biomedics S.r.l. Questa funzione consente la conversione dei dati in nV e la suddivisione in due matrici: una di pre-stimolo e una di post-stimolo, ciascuna di

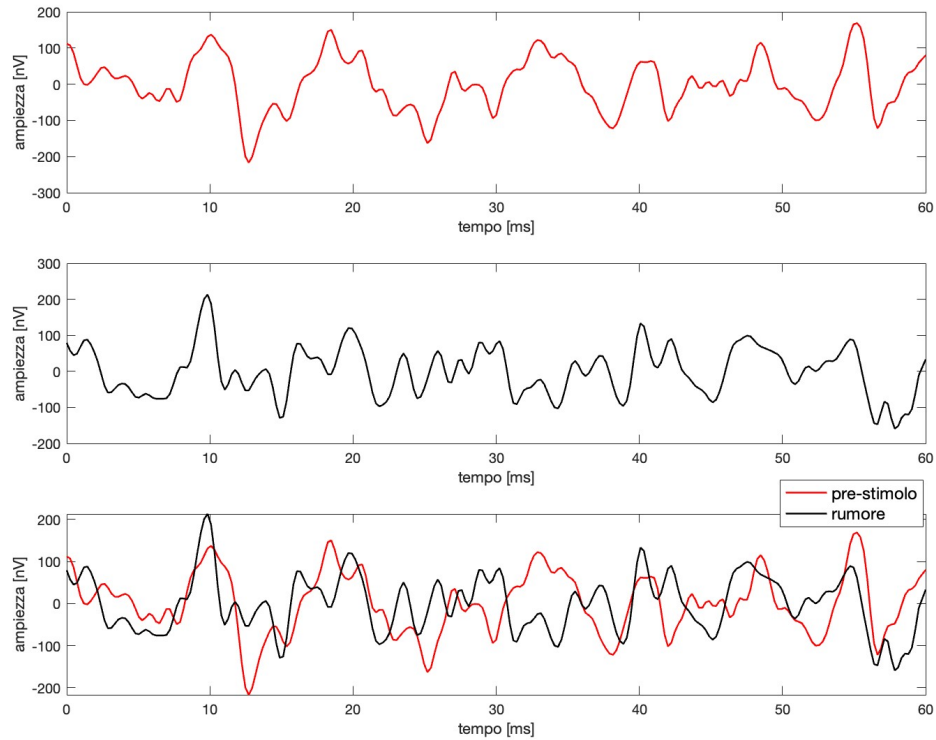


Figura 3.7: Confronto tra il segnale pre-stimolo (pannello in alto) e il rumore di fondo simulato mediante una registrazione senza l’inserimento degli auricolari (pannello in mezzo). I tracciati sono stati ricavati dai dati reali forniti da Hedera Biomedics S.r.l.

dimensione (1000×250), dove 1000 rappresenta il numero di sweep e 250 i campioni acquisiti. È stato, inoltre, scelto di eseguire uno smoothing offline applicando un filtro di Butterworth di quarto ordine. La frequenza di taglio è stata impostata a 900 Hz per le risposte al suono /da/ e a 1500 Hz per le risposte al suono /ape/. Le specifiche del filtro sono state determinate consultando la letteratura [12][23][25] e l’analisi delle componenti di interesse visibili negli spettri degli stimoli vocali esaminati. L’aggiunta di un filtraggio passa-basso più conservativo mira a migliorare la pulizia dei tracciati e a evidenziare ulteriormente le componenti transitorie e sostenute delle risposte.

3.5 Prossimi passi e presentazione

Negli ultimi anni, la ricerca sugli FFR si è maggiormente focalizzata sull'identificazione dei metodi più idonei per l'estrazione e l'interpretazione del loro ricco contenuto. Questo intento è stato vincolato dalla natura e morfologia complesse di tali risposte elettrofisiologiche, che risultano essere non solo tempo-varianti, ma anche stimolo- e soggetto-dipendenti. Grossolanamente, è possibile classificare le metodologie associate in due categorie: metodi lineari e metodi non lineari.

Nel Capitolo 4 si esaminerà una parte dei metodi lineari per l'analisi degli FFR, si valuterà la loro applicazione al dataset a disposizione e si discuteranno i risultati ottenuti. Successivamente, nel capitolo 5, si esplorerà un nuovo approccio basato sull'analisi non lineare, esaminandone la pertinenza e l'applicabilità ai dati disponibili, per poi trarre relative considerazioni e riflessioni. L'intera analisi è stata condotta utilizzando Matlab (versione R2023a), e alcune parti del codice prodotto sono fornite nell'appendice C.

Capitolo 4

Analisi lineare degli FFR

L'analisi lineare condotta comprende l'implementazione di diversi metodi, tra cui autocorrelazione, consistenza di fase, analisi spettrale, analisi tempo-frequenza e correlazione risposta-risposta. Nei prossimi paragrafi, verranno esaminati nel dettaglio sia le metodologie utilizzate sia i risultati ottenuti dalla loro applicazione ai segnali test e retest degli 8 pazienti.

4.1 Autocorrelazione

4.1.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

Il primo metodo applicato ai file di test e retest è la funzione di autocorrelazione (ACF). Si tratta di una misura statistica di memoria e periodicità, che valuta la somiglianza tra un segnale e una sua versione traslata nel tempo. [17][26] Una possibile formulazione matematica è la seguente: data una sequenza discreta di N campioni, la sua ACF a ogni ritardo temporale τ è così definita:

$$ACF_x(\tau) = \sum_{i=1}^N x(i) \cdot x(i-l) \quad \tau \in \mathbb{Z} \quad (4.1)$$

dove $x(i-l)$ rappresenta la copia del segnale ritardato di un certo intervallo $\tau = l/f$ (dove l è il ritardo espresso come numero di campioni e f è la frequenza di campionamento). Un valore di $ACF_x(\tau)$ prossimo a 1 rivela una significativa auto-somiglianza del segnale, mentre un suo valore nullo suggerisce che le due versioni sono ortogonali e discordanti.

Nell'ambito degli FFR, l'autocorrelazione è un metodo oggettivo che permette di

individuare pattern ripetibili nella risposta neurale, riconducibili a componenti temporali periodiche dello stimolo vocale, quali F_0 ; e di quantificare la forza del phase-locking alla periodicità del suono in esame. Inoltre, le funzioni di autocorrelazione che presentano una morfologia più ampia riflettono risposte meno stabili e “phase-locked”, mentre le funzioni più ripide riflettono un bloccaggio di fase più netto e robusto. [7]

L’ACF può essere facilmente implementata in Matlab mediante la funzione built-in `autocorr`, applicata ai segnali di test e retest mediati lungo le sweep. La funzione trasla nel tempo ciascuna forma d’onda rispetto a una sua copia e le correla per i vari spostamenti temporali. L’obiettivo consiste nell’individuare il ritardo τ_{max} in cui si verifica la massima correlazione (escludendo $\tau = 0$), che si presume sia confrontabile con il periodo della frequenza fondamentale (ossia $F_0 = 1/\tau_{max}$). [9][17]

É possibile, inoltre, valutare l’ACF e τ_{max} in punti specifici lungo l’intera durata della registrazione FFR mediante un approccio di tipo “sliding-time window”, che prevede la segmentazione del segnale utilizzando finestre scorrevoli di tipo Hamming di durata 40 msec e 39 msec di overlap. Una volta calcolata l’autocorrelazione per ciascuna porzione finestrata, i valori sono stati combinati e visualizzati rispetto al tempo e alla frequenza, ottenendo così l’autocorrelogramma. Questa rappresentazione tempo-frequenza del grado di correlazione risulta essere particolarmente informativa non solo per valutare più precisamente come varia la periodicità di una FFR a un suono con F_0 invariante, ma anche per analizzare risposte a stimoli con la fondamentale variabile nel tempo o con diverse tonalità. Riuscire a segnalare la percezione dell’intonazione con cui un suono viene emesso (“pitch tracking”) è un aspetto importante nella valutazione dell’integrità del sistema uditivo, soprattutto in presenza di disturbi dello spettro autistico. L’autismo è, spesso, accompagnato da una riduzione del “pitch tracking”, che può influenzare la capacità di comprendere il significato comunicativo. Questo si traduce, ad esempio, in difficoltà nel distinguere se una frase pronunciata da un interlocutore sia una domanda oppure un’affermazione. [22]

4.1.2 Risultati analisi di autocorrelazione

Per esplorare la periodicità dei segnali pre- e post-stimolo, sono state calcolate le autocorrelazioni per ciascun soggetto nel dataset. I risultati, riportati nelle figure sottostanti, forniscono una visione dettagliata delle correlazioni temporali

in entrambi i contesti di acquisizione. Ad esempio, la Figura 4.1 illustra l'ACF della registrazione post-stimolo (nel pannello a in alto) e pre-stimolo (nel pannello a in basso), calcolate per il paziente 1 in funzione degli spostamenti temporali. Inoltre, la stessa figura (pannello b) mostra una sezione di autocorrelogramma ottenuta per un segmento del segnale post-stimolo mediante l'approccio a finestre scorrevoli. Da questa figura si evince che, in seguito alla stimolazione sonora, i picchi dell'autocorrelazione ricorrono periodicamente con un intervallo di circa 8 msec. Tale periodicità non è, invece, riconoscibile per l'ACF del segnale pre-stimolo, che presenta oscillazioni più fitte e randomiche. Andamenti analoghi si ottengono per gli altri pazienti, come è desumibile dalle Figure 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8.

4.1 Autocorrelazione

Paziente 1

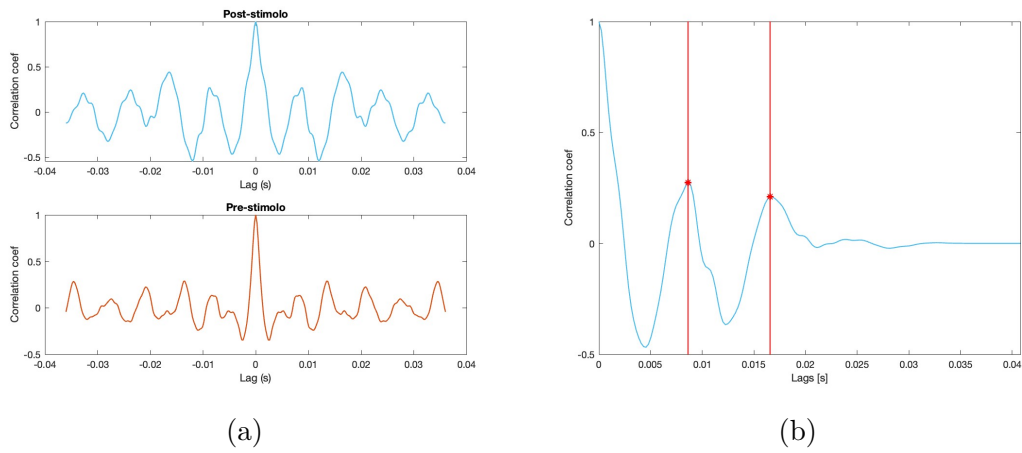


Figura 4.1: (a) Funzione di autocorrelazione dei segnali post-stimolo (in alto) e pre-stimolo (in basso), acquisiti sul paziente 1 in risposta allo stimolo /da/ di 40 msec. (b) Sezione di autocorrelogramma calcolata per un segmento del segnale post-stimolo finestrato mediante l'approccio sliding-time window.

Paziente 2

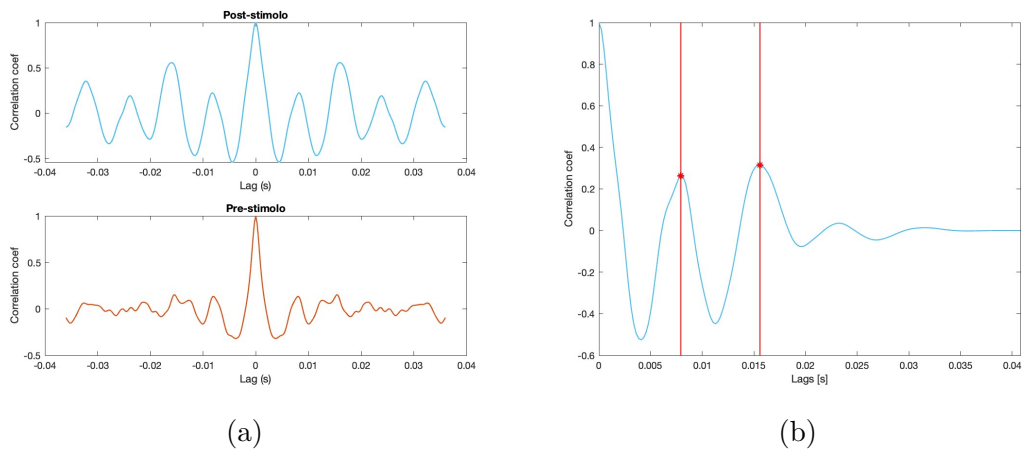


Figura 4.2: Come Figura 4.1 ma per il paziente 2.

Paziente 3

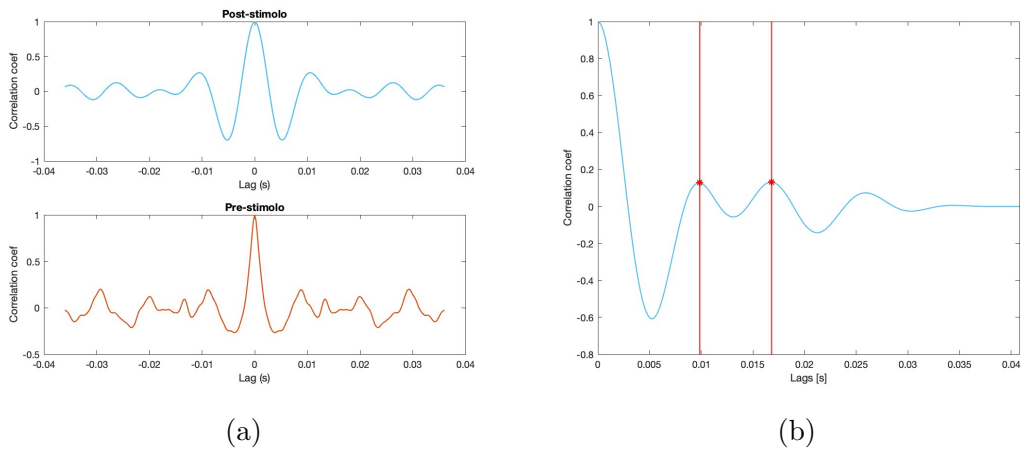


Figura 4.3: Come Figura 4.1 ma per il paziente 3.

Paziente 4

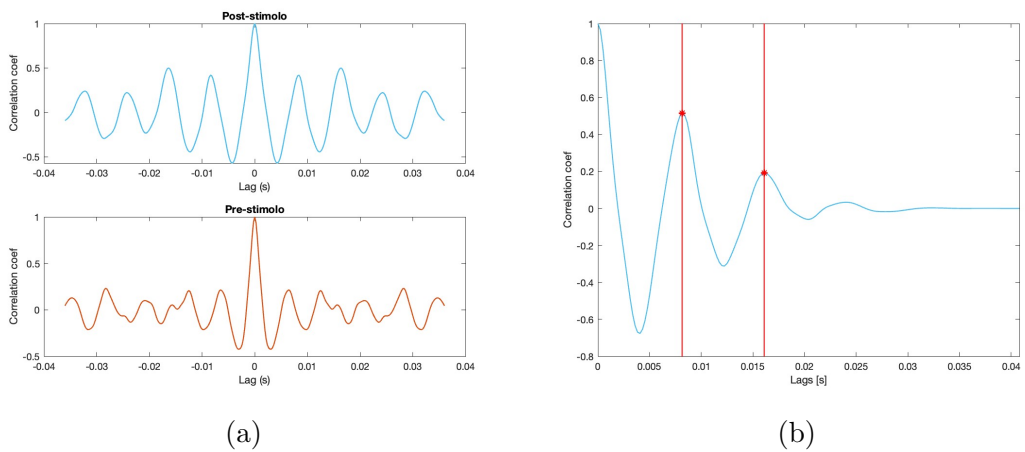


Figura 4.4: Come Figura 4.1 ma per il paziente 4.

4.1 Autocorrelazione

Paziente 5

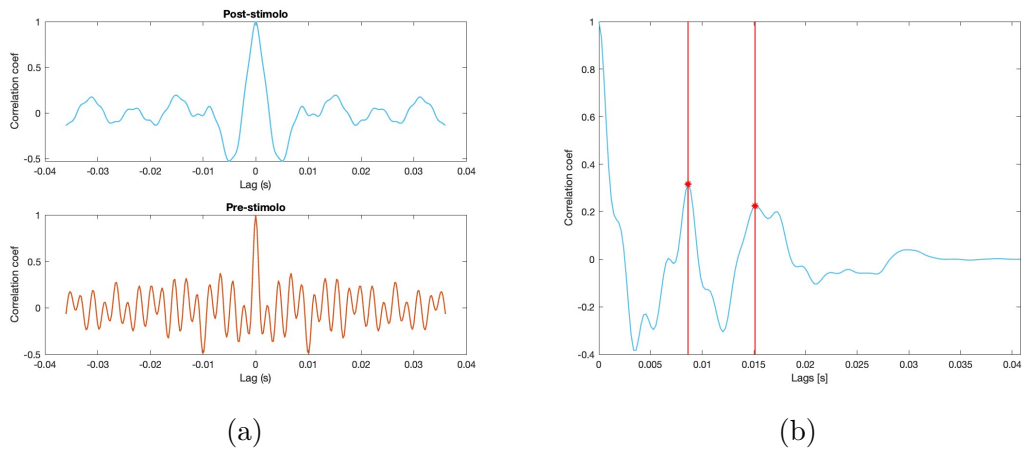


Figura 4.5: Come Figura 4.1 ma per il paziente 5.

Paziente 6

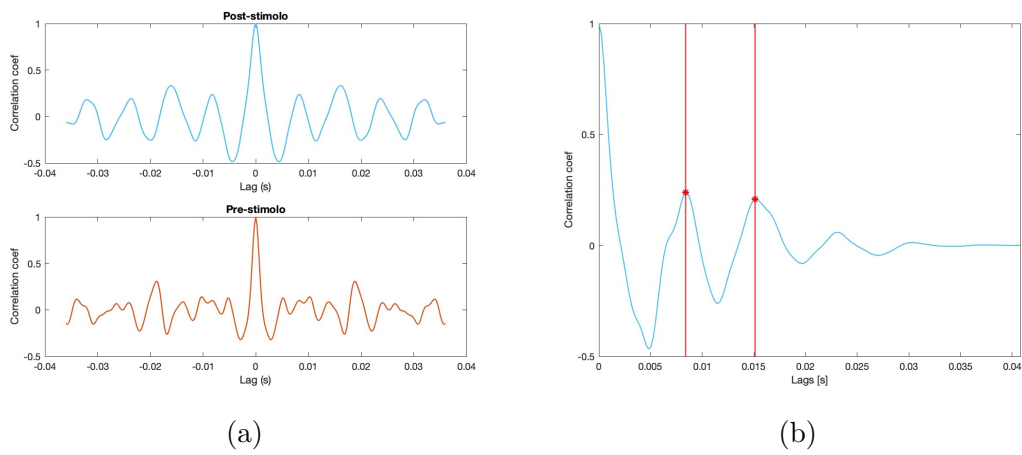


Figura 4.6: Come Figura 4.1 ma per il paziente 6.

Paziente 7

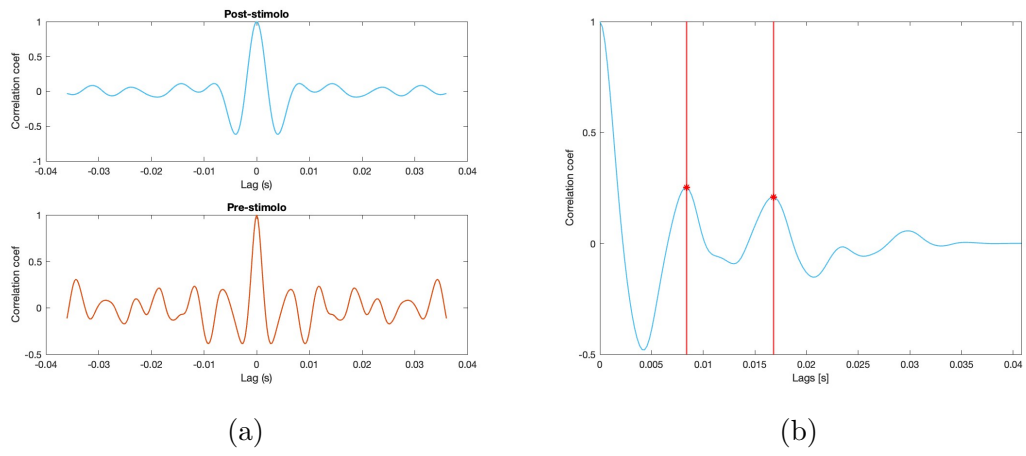


Figura 4.7: Come Figura 4.1 ma per il paziente 7.

Paziente 8

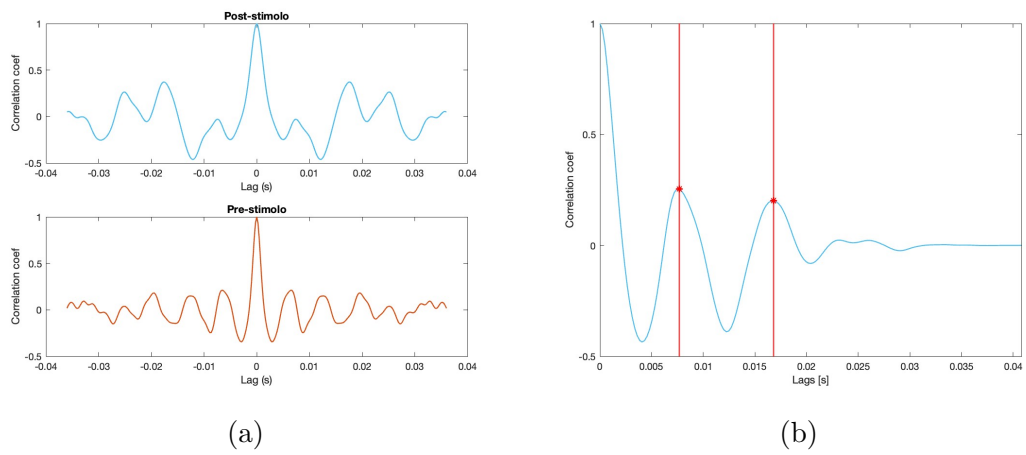


Figura 4.8: Come Figura 4.1 ma per il paziente 8.

4.1.3 Discussione analisi di autocorrelazione

Al fine di esaminare la periodicità dei segnali FFR misurati, ci siamo concentrati sulle distanze inter-picco delle funzioni ottenute correlando ciascuna forma d'onda per se stessa. È emerso che, per tutti i pazienti, il periodo di ricorrenza dei picchi si situa nell'intervallo compreso tra 8 e 10 msec, come evidenziato dalle sottofigure (b) ottenute utilizzando l'approccio a finestra scorrevole. Calcolando, poi, il reciproco dello spostamento temporale corrispondente al picco di maggiore ampiezza (ACF_{max}) è possibile ricavare una stima della frequenza fondamentale della risposta [7]. Nei nostri casi, questa approssimazione assume valori compresi tra 100 e 125 Hz. I risultati sono confrontabili con la F_0 dello stimolo /da/ di 40 msec, che si aggira intorno a 118 Hz.

Dal valore di ACF_{max} e dall'andamento degli autocorrelogrammi è possibile estrarre informazioni relative all'entità del phase-locking e, quindi, valutare la capacità del sistema uditivo dei soggetti di sincronizzare la relativa risposta neurale alle componenti in frequenza dello stimolo sonoro. Il comportamento dell'ACF risulta chiaramente differenziato nei pazienti 1, 2, 4, 6 e 8, con picchi più distinti, suggerendo una potenziale precisione nell'adeguamento all'involuppo temporale dello stimolo sonoro. Questo fenomeno potrebbe indicare un'elevata accuratezza nel phase-locking rispetto all'andamento temporale del suono. Tuttavia, se analizziamo gli FFR mediati acquisiti sui restanti pazienti 3, 5 e 7 (mostrati in Appendice A), si può notare come le forme d'onda siano caratterizzate da un picco C negativo notevolmente accentuato. Questa caratteristica può risultare dominante, oscurando le altre componenti e compromettendo potenzialmente i risultati dell'autocorrelazione.

4.2 Consistenza di fase

4.2.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

Un'ulteriore metodologia implementata prevede l'analisi della consistenza di fase per ciascuna frequenza nel corso della risposta. Questa misura di fase viene quantificata tramite un indice, definito inter-trial phase-locking (itpl) factor, che può assumere valori compresi tra 0 e 1 [27] ed è così espresso:

$$ITPL(f) = \frac{1}{N} \left| \sum_{n=1}^N e^{j\theta_f^n} \right| \quad f \in \mathbb{R} \quad (4.2)$$

Dove $ITLPL(f)$ rappresenta l'ITPL alla frequenza f , N è il numero di epoche acquisite del segnale in esame, j è l'unità immaginaria e θ_f^n è la fase calcolata alla frequenza f per l'epoca n . Quest'ultima si può ricavare tramite il calcolo della trasformata di Fourier a breve termine (Short-time Fourier transform (STFT)) per ciascuna epoca, estraendone l'argomento come segue:

$$\theta_f^n = Arg(S(n, f)) \quad (4.3)$$

Dove $S(n, f)$ rappresenta lo spettrogramma del segnale in esame per la sweep n e la frequenza f e $Arg(\cdot)$ è l'operazione che restituisce l'argomento o fase di un numero complesso.

Tale approccio mira a valutare il timing degli FFR [28], offrendo una valida alternativa al rilevamento, manuale o automatizzato, delle latenze dei picchi nella forma d'onda nel dominio del tempo, in quanto consente di estrarre le medesime informazioni anche con un numero inferiore di acquisizioni e un ridotto SNR. L'analisi della coerenza di fase parte dal presupposto che, nelle frequenze presenti nello stimolo vocale (F_0 , armoniche), si avrà una significativa coerenza di fase tra i trial, mentre le frequenze assenti nello stimolo mostreranno comportamenti casuali e i corrispondenti valori del fattore itpl tenderanno a zero. [9] Occorre precisare che nella pratica i valori di consistenza di fase sono tipicamente bassi ($\sim 0.15 - 0.20$), a causa del rumore di fondo che influisce sulle singole registrazioni delle risposte neuronali. [11]

Per il calcolo è stato utilizzato un approccio a finestre scorrevoli sovrapposte, di durata 40 msec e un overlap di 39 msec, per esaminare con più precisione come la codifica di una specifica frequenza varia lungo la finestra di acquisizione. Come illustrato in Appendice C, una volta ricavato lo spettrogramma (mediante la funzione built-in `spectrogram`), sono state estratte le fasi per ciascuna sweep e i valori di consistenza sono stati calcolati come in 4.2.

4.2.2 Risultati consistenza di fase

I valori di consistenza di fase, ottenuti con il metodo "sliding-window", sono mostrati nelle figure sottostanti mediante rappresentazioni tempo-frequenza. Per ciascun paziente, sono stati confrontati gli itpl corrispondenti prima e dopo l'applicazione dello stimolo /da/ di durata 40 msec. Ad esempio, la Figura 4.9 confronta i valori di itpl calcolati per il paziente 1 prima (pannello a) e dopo (pannello b)

4.2 Consistenza di fase

la stimolazione sonora, utilizzando una mappa colorimetrica tempo-frequenza. Il livello di coerenza di fase per una specifica frequenza è rappresentato attraverso i colori: tonalità più calde indicano un itpl elevato, mentre tonalità più fredde indicano un itpl più modesto. Il colore blu indica l'assenza di coerenza di fase per la frequenza corrispondente. Da questa figura si deduce un aumento di coerenza di fase nel segnale post-stimolo, localizzato principalmente attorno alla frequenza di 100 Hz. Un'informazione analoga si può trarre per gli altri pazienti, come si evince dalle Figure 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15 e 4.16.

Paziente 1

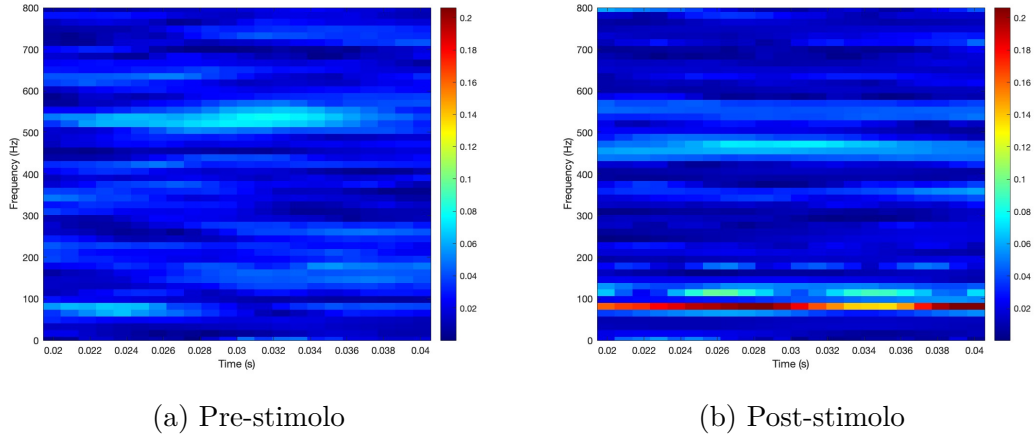


Figura 4.9: Mappa colorimetrica che raffigura l'itpl calcolato per il paziente 1 prima e dopo la stimolazione /da/ di 40 msec.

Paziente 2

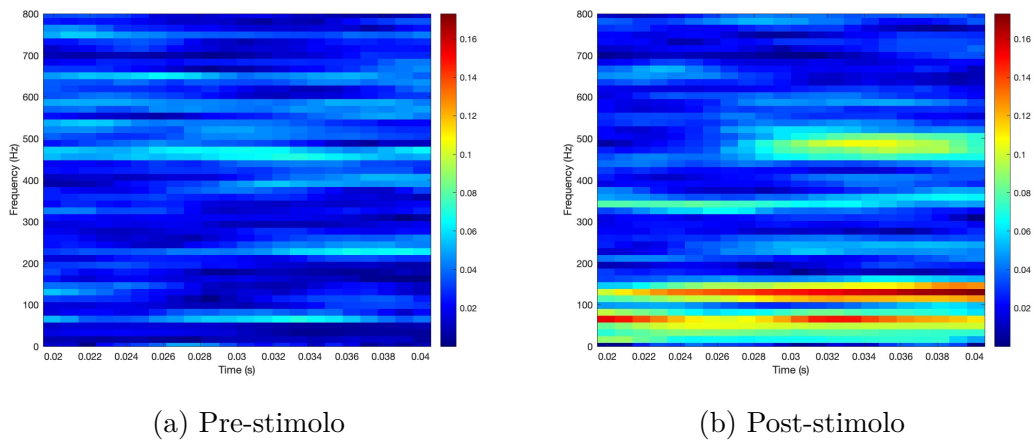
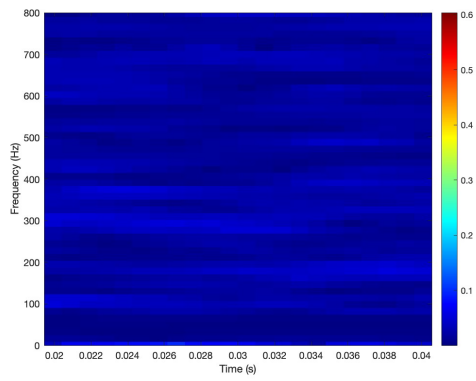


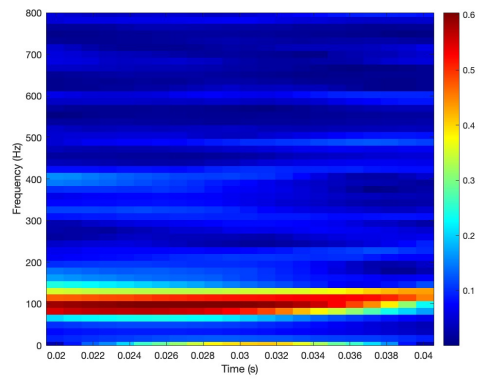
Figura 4.10: Come in Figura 4.9 ma per il paziente 2.

4.2 Consistenza di fase

Paziente 3



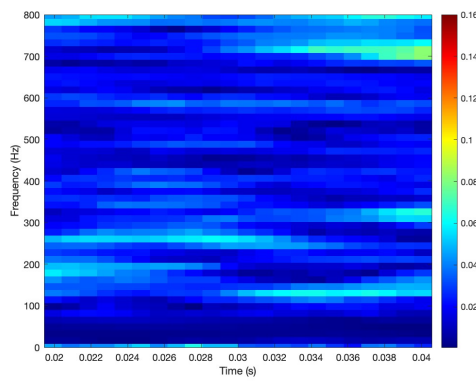
(a) Pre-stimolo



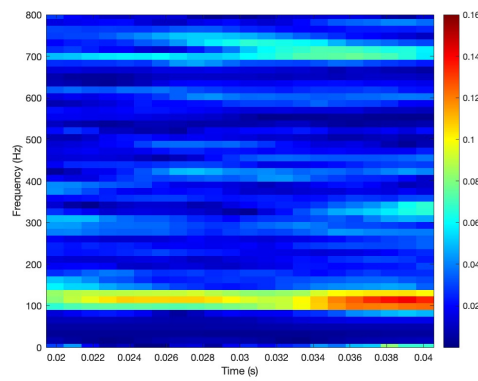
(b) Post-stimolo

Figura 4.11: Come in Figura 4.9 ma per il paziente 3.

Paziente 4



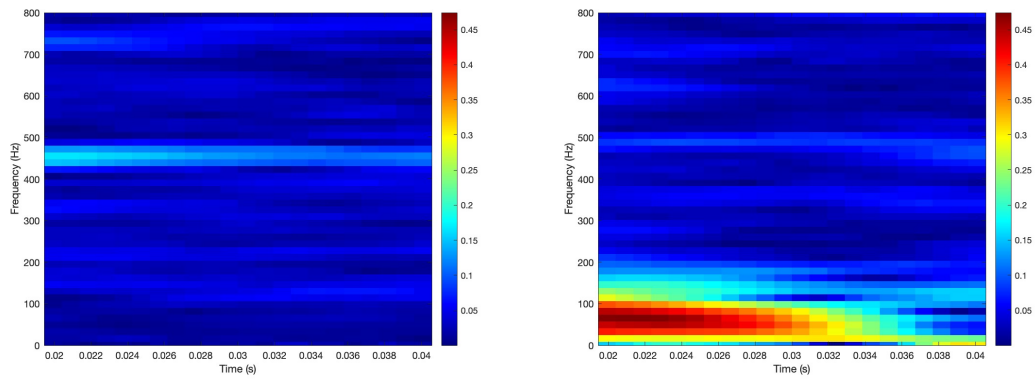
(a) Pre-stimolo



(b) Post-stimolo

Figura 4.12: Come in Figura 4.9 ma per il paziente 4.

Paziente 5

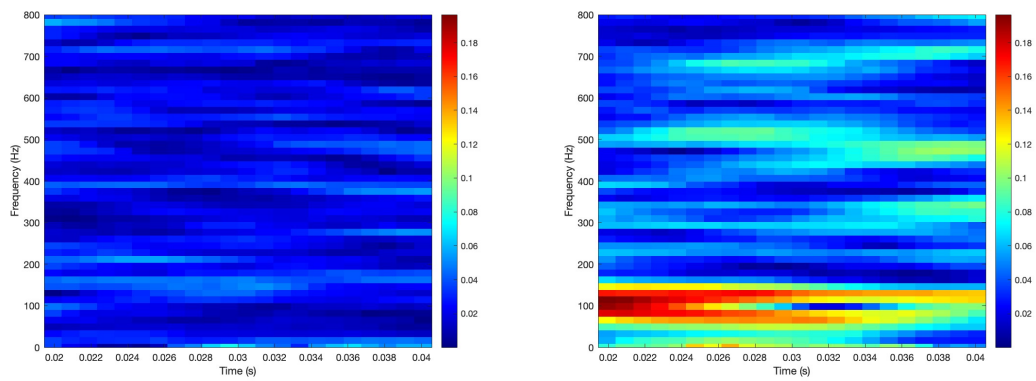


(a) Pre-stimolo

(b) Post-stimolo

Figura 4.13: Come in Figura 4.9 ma per il paziente 5.

Paziente 6



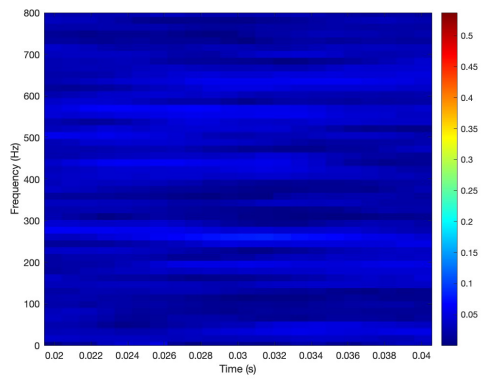
(a) Pre-stimolo

(b) Post-stimolo

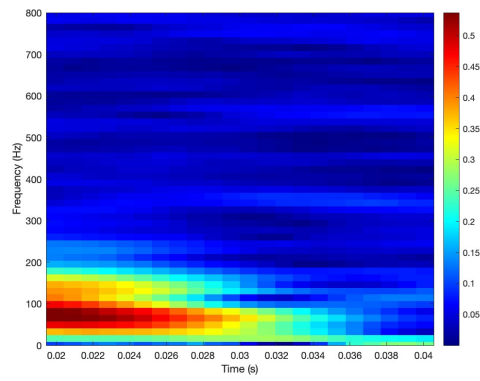
Figura 4.14: Come in Figura 4.9 ma per il paziente 6.

4.2 Consistenza di fase

Paziente 7



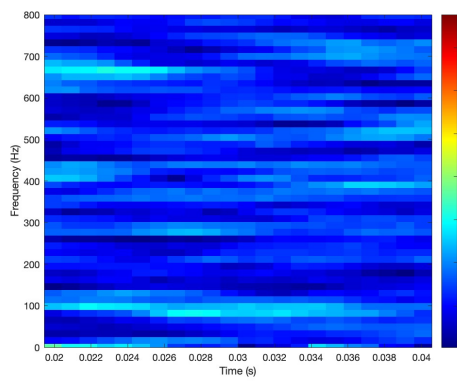
(a) Pre-stimolo



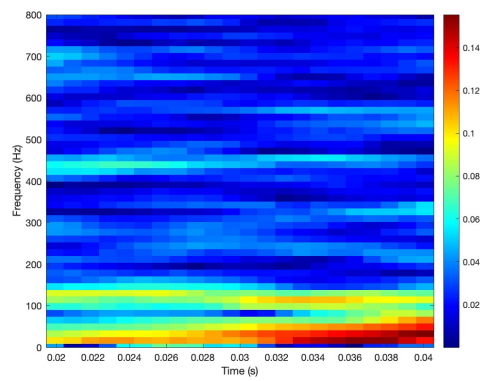
(b) Post-stimolo

Figura 4.15: Come in Figura 4.9 ma per il paziente 7.

Paziente 8



(a) Pre-stimolo



(b) Post-stimolo

Figura 4.16: Come in Figura 4.9 ma per il paziente 8.

4.2.3 Discussione consistenza di fase

La differenza netta tra le rappresentazioni tempo-frequenza dell'itpl prima e dopo lo stimolo suggerisce come il parlato e il non-parlato abbiano effetti ben visibili nella coerenza di fase. In tutti i soggetti, si può notare che le misurazioni più significative dell'itpl nelle risposte post-stimolo, complessivamente comprese tra 0.16 e 0.60, mostrano un picco notevole centrato attorno alla frequenza di 100 Hz. Questo coincide con la frequenza fondamentale dello stimolo /da/ di 40 msec, approssimativamente di 118 Hz, suggerendo un'evidente sincronizzazione fase-fase nelle epoche degli FFR. Le Figure 4.10b e 4.14b presentano valori di itpl più elevati non solo per F_0 , ma anche in corrispondenza di altre frequenze rilevanti, che coincidono con le formanti dello stimolo audio (come evidenziato dai picchi nello spettro del suono in Figura 3.5b). Nel caso del paziente 2, si osserva una coerenza di fase significativa a ~ 350 e ~ 470 Hz, rispettivamente in prossimità della terza e quarta armonica. Analogamente, nell'analisi del paziente 6, emergono quattro bande distintive (approssimativamente a 210, 330, 475 e 680 Hz), suggerendo una possibile corrispondenza con le formanti dello stimolo.

In tutti i casi esaminati, le frequenze non presenti nello stimolo mostrano valori casuali di itpl prossimi allo zero. Allo stesso modo, le rappresentazioni relative ai segnali pre-stimolo evidenziano la mancanza di coerenza di fase per le frequenze analizzate.

4.3 Analisi spettrale

4.3.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

Nel dominio delle frequenze è possibile valutare la precisione e l'ampiezza del phase-locking neuronale a F_0 e alle armoniche tramite un'analisi spettrale utilizzando la trasformata di Fourier discreta (DFT). Pertanto, nel caso di una risposta evento-correlata fisiologica è attendibile un accumulo di energia spettrale, e quindi una maggiore ampiezza dei picchi nello spettro, in corrispondenza delle armoniche fondamentali che caratterizzano lo stimolo vocale.

Formalmente, la DFT di una sequenza $x(n)$ di durata finita (con $n = 0, \dots, N-1$) è una sequenza complessa con un numero di campioni pari a N , così definito:

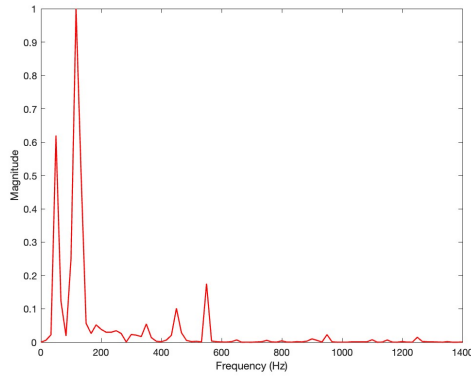
$$X(k) = DFT[x(n)] = \sum_{n=0}^{N-1} x(n) \cdot e^{-j\frac{2\pi}{N}nk} \quad k = 0, \dots, N-1 \quad (4.4)$$

4.3 Analisi spettrale

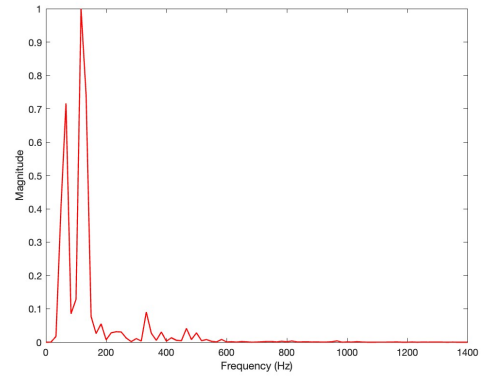
In questo studio, per ottimizzare il carico computazionale [7], gli spettri degli FFR sono stati ricavati applicando la trasformata veloce di Fourier o Fast Fourier Transform (FFT) ai segnali mediati lungo le sweep, implementabile in Matlab utilizzando il comando `fft`.

4.3.2 Risultati analisi spettrale

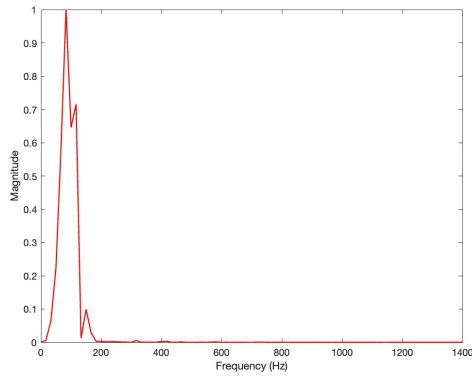
La Figura 4.17 mostra gli spettri degli FFR acquisiti, ottenuti mediante la trasformata di Fourier discreta. Per esempio, il pannello 4.17a illustra lo spettro del segnale post-stimolo acquisito sul soggetto 1. Dalla stessa figura si possono notare due componenti spettrali più evidenti attorno ai 100 Hz e dei picchi più contenuti a frequenze più alte. Le sottofigure b, c, d, e, f, g e h, che mostrano le FFT dei segnali FFR degli altri pazienti, sono caratterizzate da picchi con ampiezze simili a 4.17a per frequenze inferiori a 200 Hz, e da una progressiva attenuazione delle componenti spettrali a frequenze più elevate.



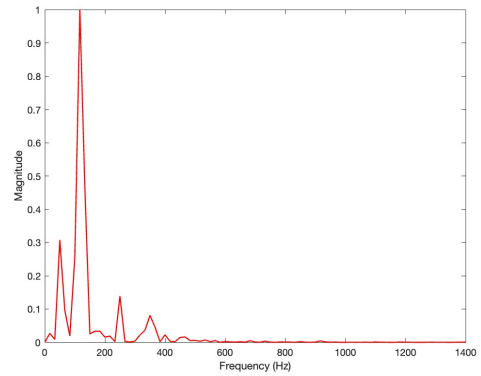
(a) Paziente 1



(b) Paziente 2



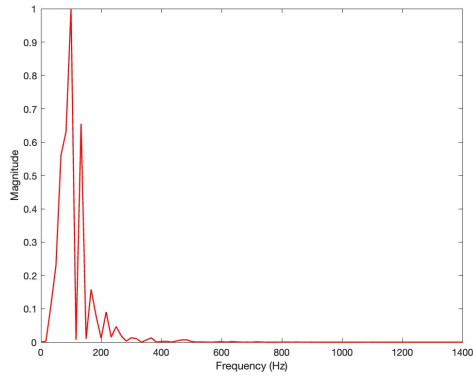
(c) Paziente 3



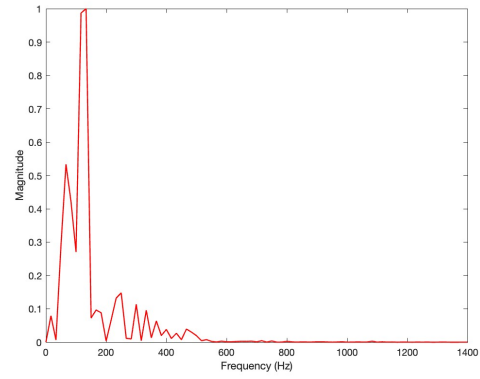
(d) Paziente 4

Figura 4.17: Rappresentazioni dei segnali FFR dei pazienti 1, 2, 3 e 4 nel dominio della frequenza, generati tramite FFT ed evocati dallo stimolo /da/ di 40 msec.

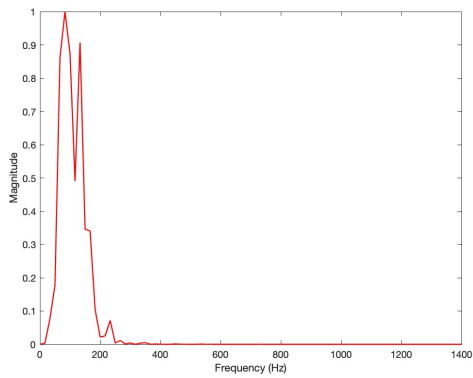
4.3 Analisi spettrale



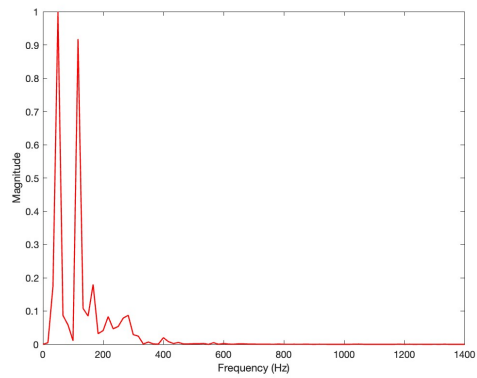
(e) Paziente 5



(f) Paziente 6



(g) Paziente 7



(h) Paziente 8

Figura 4.17: Rappresentazioni dei segnali FFR dei pazienti 5, 6, 7 e 8 nel dominio della frequenza, generati tramite FFT ed evocati dallo stimolo /da/ di 40 msec.

4.3.3 Discussione analisi spettrale

Nel dominio della frequenza è possibile valutare la solidità del phase-locking alle armoniche, consentendo un'indagine sulla modalità attraverso cui il cervello elabora la tonalità di un suono, definita proprio da F_0 .

Le rappresentazioni nel dominio della frequenza degli FFR di ciascun soggetto, generate tramite FFT e mostrate in Figura 4.17, evidenziano un picco di maggiore ampiezza in corrispondenza della fondamentale F_0 (100 – 133 Hz) dello stimolo /da/ di 40 msec. Nel dettaglio, lo spettro relativo al paziente 1 (Figura 4.17a) presenta anche componenti spettrali di ampiezza ridotta, rilevabili in corrispondenza dei picchi della trasformata di Fourier dello stimolo (visibili in Figura 3.5b) che ne individuano le rispettive armoniche. Analogamente, l'analisi spettrale dell'FFR del paziente 4 mostra picchi modesti a frequenze confrontabili con la seconda e terza formante. Nel complesso, l'andamento delle FFT permette di esaminare la forza della codifica neurale quasi esclusivamente associata a F_0 , misurando la relativa tensione.

4.4 Analisi tempo-frequenza

4.4.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

Sebbene l'estensione dei picchi spettrali è proporzionale all'ampiezza del phase-locking neurale alla frequenza corrispondente [29], l'analisi di Fourier tradizionale non fornisce alcuna informazione sulla localizzazione nel tempo delle componenti periodiche o su variazioni temporali delle componenti spettrali. In questo contesto, infatti, può essere particolarmente rilevante riuscire a monitorare potenziali variazioni nella codifica delle frequenze dello stimolo a livello neurale durante la risposta, soprattutto quando si analizzano FFR a suoni con F_0 variabile o che contengono transizioni formantiche. [7] A questo proposito, come suggerito dalla letteratura, oltre ad applicare la FFR su un'unica finestra temporale, è stato implementato un approccio a finestre scorrevoli, la cosiddetta STFT. Analogamente a ciò che è stato descritto nei paragrafi precedenti, è stata utilizzata una finestra di tipo Hamming di durata 40 msec con 39 msec di overlap, garantendo un buon compromesso tra risoluzione temporale e risoluzione in frequenza. Tramite l'omonima funzione disponibile in Matlab, la STFT trasforma un segnale monodimensionale tempo-variante, quale l' FFR mediato, in un segnale bidimensionale del tempo e

della frequenza, che analizza le variazioni temporali del suo contenuto spettrale. Ricavando e visualizzando il modulo al quadrato della trasformata risultante, si ottiene lo spettrogramma, un grafico tridimensionale che fornisce una stima dello spettro di frequenza in funzione del tempo.

Un metodo alternativo per l'analisi tempo-frequenza degli FFR e la rilevazione di un segnale target nell'EEG è la trasformata Wavelet discreta (o discrete Wavelet transform (DWT)). Come la STFT, anche la DWT prevede la scomposizione del segnale e la relativa analisi spettrale, ma la dimensione dei segmenti e, di conseguenza, la risoluzione si adattano alla frequenza e ai dettagli di interesse della forma d'onda: si utilizzano finestre compresse nel tempo alle alte frequenze, per evidenziare variazioni rapide del segnale; e finestre dilatate nel tempo alle basse frequenze, per riconoscere variazioni più lente del segnale. L'utilizzo delle Wavelet incrementa la precisione e le prestazioni, ma allo stesso tempo comporta un aumento della complessità e dei tempi di analisi degli FFR. [19]

4.4.2 Risultati analisi tempo-frequenza

La Figura 4.18 mostra, per ciascun paziente, il contenuto spettrale dei segnali post-stimolo non solo in frequenza, ma anche in funzione del tempo. Si tratta di mappe colorimetriche che mostrano l'intensità spettrale, dove tonalità calde indicano maggior energia spettrale e colori freddi e più scuri denotano minore energia spettrale. Per esempio, la Figura 4.18a mostra lo spettrogramma del paziente 1, da cui si evince un accumulo di intensità spettrale compreso tra 80 e 130 Hz, presente nell'intera finestra di acquisizione. Le restanti frequenze sono, invece, caratterizzate da valori di energia spettrale più contenuti. Le rappresentazioni tempo-frequenza degli altri soggetti presentano un contenuto spettrale qualitativamente simile, come si evince dalle sottofigure b, c, d, e, f, g e h.

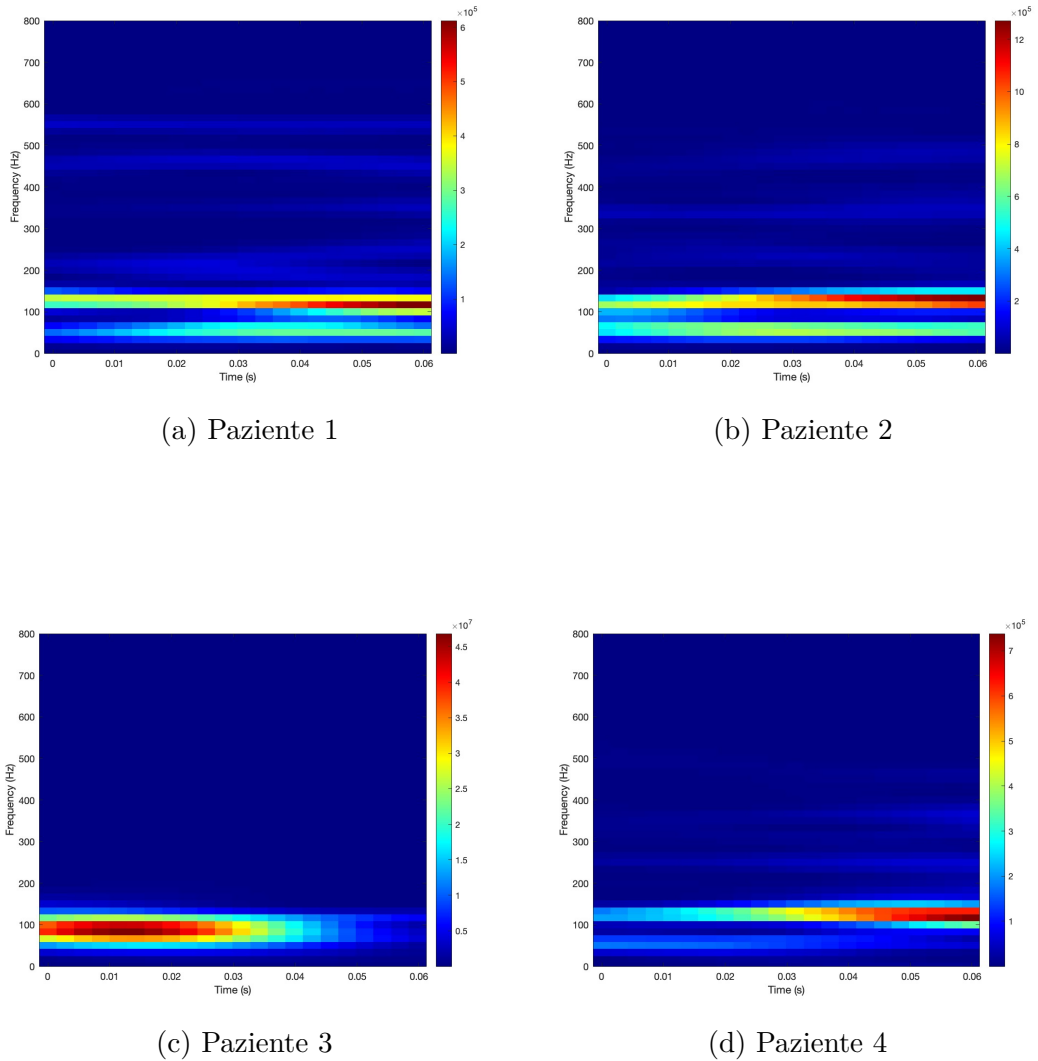
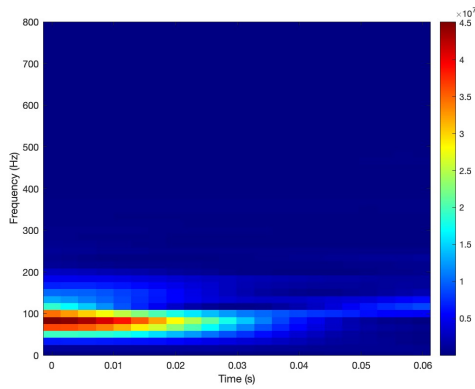
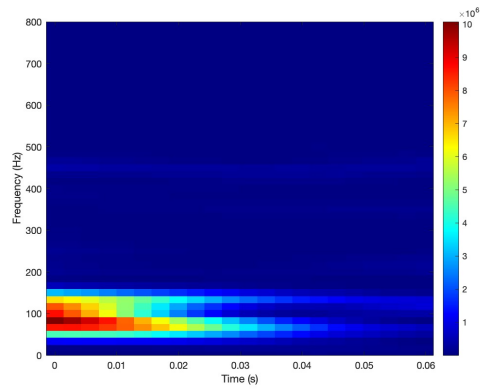


Figura 4.18: Spettrogrammi degli FFR dei pazienti 1, 2, 3 e 4 in risposta allo stimolo /da/ di 40 msec, generati tramite STFT. Le tonalità più calde indicano le regioni caratterizzate da maggiore energia spettrale.

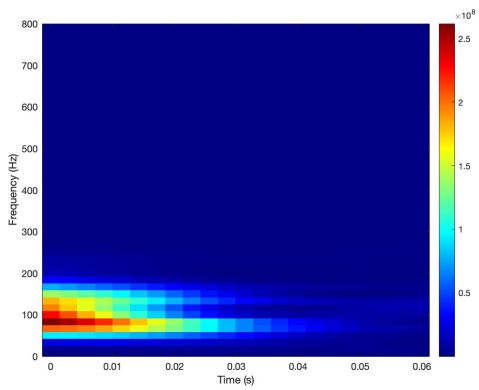
4.4 Analisi tempo-frequenza



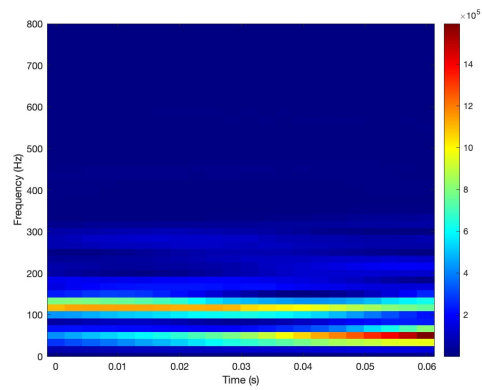
(e) Paziente 5



(f) Paziente 6



(g) Paziente 7



(h) Paziente 8

Figura 4.18: Spettrogrammi degli FFR dei pazienti 5, 6, 7 e 8 in risposta allo stimolo /da/ di 40 msec, generati tramite STFT. Le tonalità più calde indicano le regioni caratterizzate da maggiore energia spettrale.

4.4.3 Discussione analisi tempo-frequenza

Gli spettrogrammi, generati tramite l'utilizzo dell'approccio a finestra scorrevole, mostrano una concentrazione dell'energia spettrale intorno alla frequenza fondamentale (approssimativamente 100 ± 30 Hz). L'analisi tempo-frequenza risulta efficace nel tracciare con maggiore precisione temporale la codifica neurale della sola F_0 , trascurando le altre formanti presenti nello stimolo. Questo risultato, in linea con quanto detto per la trasformata di Fourier nel Paragrafo 4.3.3, potrebbe essere attribuito alla natura passa-basso del fenomeno di phase-locking nei nuclei del tronco encefalico. Inoltre, è plausibile che tale concentrazione sia una conseguenza di processi non lineari che amplificano l'energia in corrispondenza della F_0 , rispetto alle armoniche inferiori.

4.5 Correlazione risposta-risposta

4.5.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

È stato sottolineato più volte come gli FFR a uno stesso stimolo siano risposte ripetibili, caratterizzate da morfologie e tempi uniformi, al più di variazioni legate alle caratteristiche del soggetto sotto esame. L'analisi degli FFR può essere ulteriormente ampliata indagando il grado di fedeltà e riproducibilità delle risposte tra le varie acquisizioni. Come era già stato detto nel Paragrafo 2.2, la stabilità delle risposte nella medesima sessione o in condizioni di ascolto diverse rappresenta un parametro importante, in quanto è indice di coerenza nella codifica neurale degli stimoli sonori. Questa misura di consistenza può essere utile nella diagnosi di disturbi uditivi, nella valutazione delle conseguenze del rumore ambientale sull'elaborazione e comprensione sonora, o nell'indagine degli effetti che diverse condizioni di stimolo hanno sugli FFR (come stimolazione monoaurale destra e stimolazione monoaurale sinistra). [7] Ad esempio, Parbery-Clark et al. [30] hanno analizzato gli FFR monoaurali e binaurali, acquisiti in 30 giovani adulti, classificati come musicisti e non musicisti (15 ciascuno). Il confronto tra i gruppi e le modalità di stimolazioni è stato condotto prendendo in considerazione il timing e la variabilità delle risposte, come schematizzato nella Figura 4.19. Dalla figura si evince come musicisti e non musicisti presentano risposte monoaurali simili in termini di latenze e consistenza. D'altro canto, i musicisti esibiscono risposte binaurali più tempestive e coerenti, associabili a una migliore percezione del parlato

in ambienti rumorosi. Questi risultati suggeriscono che l'analisi della stabilità tra le risposte potrebbe essere in grado di evidenziare gli effetti positivi dell'esperienza musicale sull'elaborazione binaurale dei suoni. [22]

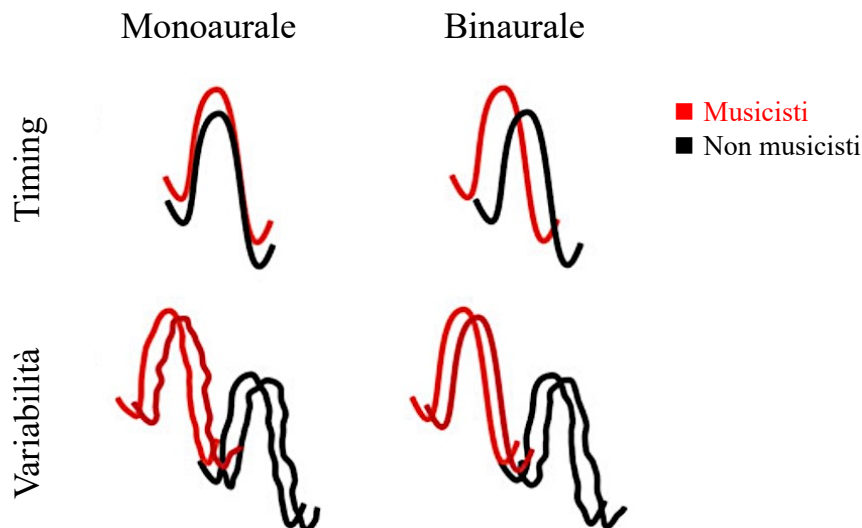


Figura 4.19: Rappresentazione schematica dei risultati dello studio condotto da Parbery-Clark et al., che confrontava gli FFR monoaurali e binaurali di giovani adulti musicisti e non musicisti. La stimolazione monoaurale non mostrava differenze tra i due gruppi, né in termini di occorrenza dei picchi (forme d'onda sovrapposte in alto a sinistra), né in termini di coerenza tra le acquisizioni (in basso a sinistra). Tuttavia, rispetto ai non musicisti, i musicisti hanno manifestato risposte binaurali più rapide (in alto a destra) e più coerenti tra diverse sessioni di test (in basso a destra). La figura è stata rielaborata da [22].

Il metodo più intuitivo per confrontare la forma, la variabilità e il timing delle risposte di uno stesso paziente è la cross-correlazione. La modalità di calcolo è analoga a quella descritta per l'autocorrelazione (vedi Paragrafo 4.1), con la differenza che in questo caso si correlano i segnali di test e retest mediati, anziché ciascun FFR acquisito singolarmente. Se le due forme d'onda sono molto simili ad un determinato spostamento temporale, la correlazione tenderà a 1; viceversa, se le forme d'onda sono totalmente dissimili, la correlazione sarà pari a 0.

[31] Un ulteriore parametro utilizzato per quantificare il grado di concordanza tra gli FFR di uno stesso soggetto è il Lin's Concordance Correlation Coefficient (CCC). Si tratta di un indice statistico compreso tra -1 e 1 , che valuta la somiglianza tra

due misure, X e Y, della medesima variabile. Il Lin's CCC è espresso come segue:

$$CCC = \frac{2 \cdot \rho \cdot \sigma_x \cdot \sigma_y}{\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + (\mu_x - \mu_y)^2} \quad (4.5)$$

Dove:

- ρ è il coefficiente di correlazione di Pearson;
- σ_x e σ_y sono le deviazioni standard delle due variabili;
- μ_x e μ_y sono le medie delle due variabili.

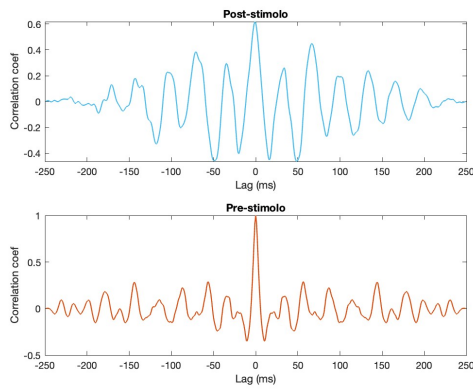
Pertanto, questo indice numerico permette un'interpretazione più esplicita della riproducibilità e della fedeltà delle risposte neurali, tenendo in considerazione non solo la correlazione tra test e retest, ma anche le differenze nelle loro medie e varianze.

4.5.2 Risultati analisi correlazione risposta-risposta

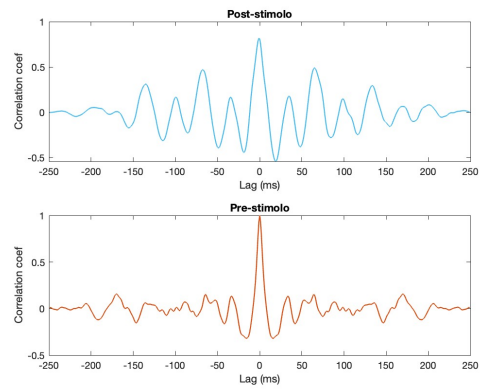
La Figura 4.20 illustra le cross-correlazioni tra i segnali di test e retest, acquisiti su ciascun soggetto, in funzione del ritardo temporale applicato a uno di essi. Sono stati confrontati i risultati ottenuti prima e dopo l'applicazione dello stimolo /da/ della durata di 40 msec. Ad esempio, nella Figura 4.20a è mostrata la correlazione tra test e retest, acquisiti sul paziente 1, prima e dopo lo stimolo, rispettivamente nel pannello superiore e nel pannello inferiore. Da questa figura si evince che, in seguito alla stimolazione sonora, la cross-correlazione presenta un andamento ricorrente, caratterizzato da oscillazioni ogni circa 15 msec. Tale periodicità non è visibile nella correlazione tra le registrazioni pre-stimolo, che presenta picchi più casuali e di ampiezza inferiore. Andamenti pressoché analoghi si ottengono per gli altri soggetti, come è desumibile dalle sottofigure b, c, d, e, f, g e h.

Nella Tabella 4.1 sono riassunti i valori del coefficiente di Lin, espressi in percentuale, calcolati per ciascun soggetto.

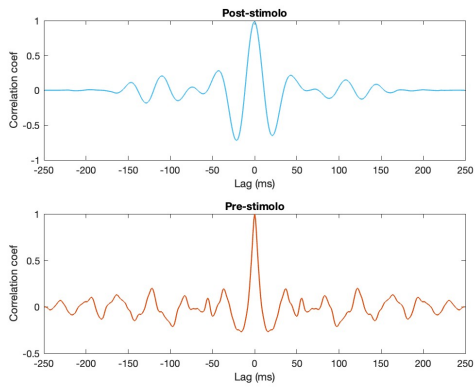
4.5 Correlazione risposta-risposta



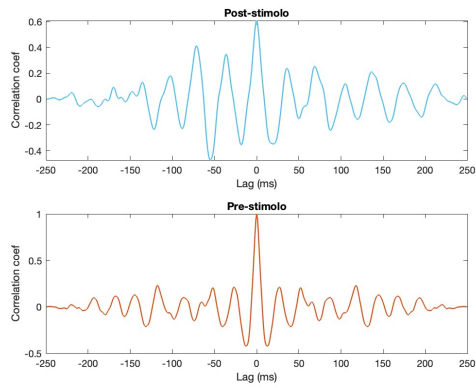
(a) Paziente 1



(b) Paziente 2

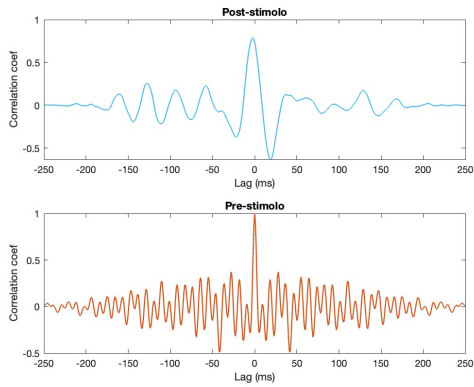


(c) Paziente 3

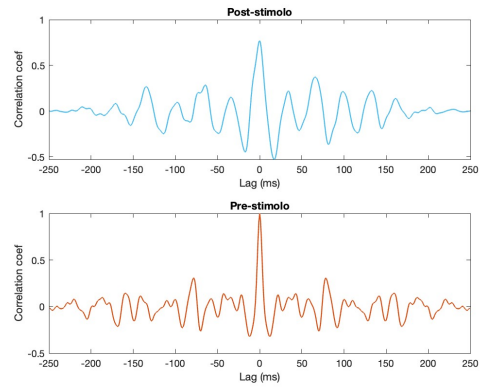


(d) Paziente 4

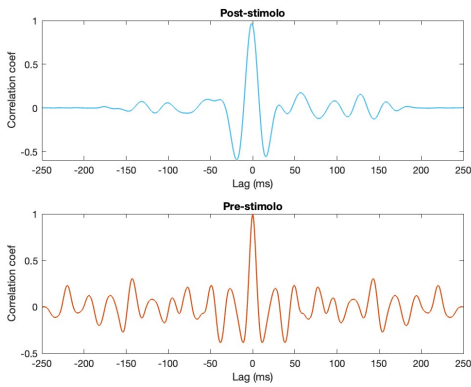
Figura 4.20: Correlazione tra le risposte post-stimolo (pannello superiore) e pre-stimolo (pannello inferiore), acquisite sui pazienti 1, 2, 3 e 4 in risposta allo stimolo /da/ di 40 msec.



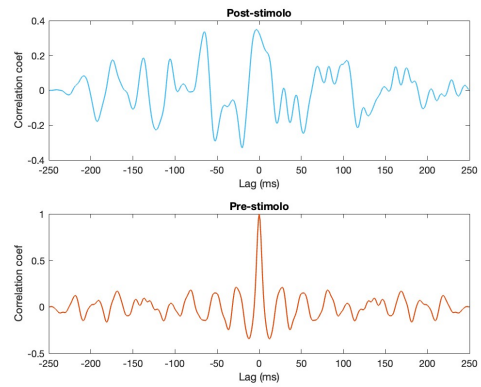
(e) Paziente 5



(f) Paziente 6



(g) Paziente 7



(h) Paziente 8

Figura 4.20: Correlazione tra le risposte post-stimolo (pannello superiore) e pre-stimolo (pannello inferiore), acquisite sui pazienti 5, 6, 7 e 8 in risposta allo stimolo /da/ di 40 msec.

Paziente	CCC [%]
Paziente 1	69
Paziente 2	78
Paziente 3	97
Paziente 4	61
Paziente 5	59
Paziente 6	77
Paziente 7	91
Paziente 8	31

Tabella 4.1: Valori del Lin's CCC, espressi in percentuale, calcolati per ciascun paziente.

4.5.3 Discussione analisi correlazione risposta-risposta

L'analisi della concordanza tra le risposte rappresenta un'ulteriore verifica dell'idoneità di *Socrates* nella rilevazione di potenziali evocati da suoni articolati. Complessivamente, le correlazioni tra le risposte pre-stimolo non mostrano picchi evidenti a un ritardo diverso da zero, e non rivelano una periodicità ricorrente. Nelle correlazioni tra test e retest post-stimolo dei pazienti 1, 2, 4 e 6 si osserva una morfologia qualitativamente simile, caratterizzata da picchi che si ripetono approssimativamente ogni 17 msec. Per quanto riguarda i pazienti 3, 5 e 7, le corrispondenti cross-correlazioni appaiono più regolari, probabilmente a causa dei valori più elevati assunti dal coefficiente in corrispondenza del ritardo nullo. Qui, i picchi secondari, sebbene di ampiezza inferiore, ricorrono approssimativamente ogni 16–19 msec. Infine, per il paziente 8, la cross-correlazione mostra un andamento diverso e non rivela la presenza di picchi definiti o ricorrenti. Si sottolinea che nell'interpretazione delle funzioni ottenute, sono state prese in considerazione le correlazioni massime in valore assoluto. Il coefficiente di correlazione varia da -1 , per segnali identici ma sfasati di 180° , a 0 per segnali scorrelati, fino a $+1$, per segnali identici e in fase. É quindi plausibile aspettarci correlazioni negative, che indicano una relazione inversa tra i segnali. [9] Le funzioni di cross-correlazione rivelano una marcata consistenza e coerenza tra le varie sessioni di registrazione, sia dal punto di vista temporale che morfologico. L'evidenza di periodicità nei picchi di maggiore ampiezza, osservata nella quasi totalità dei pazienti, suggerisce una similitudine non solo intra-soggetto ma anche inter-soggetto, indicando la presenza di pattern ripetibili caratteristici della codifica neurale in risposta allo

stesso stimolo. Tale regolarità dei picchi di correlazione potrebbe essere associata alla periodicità delle armoniche, suggerendo una risposta evocata coerente e riproducibile all'interno del gruppo studiato.

Il CCC fornisce un indice quantitativo della bontà della ripetibilità degli FFR misurati. Tutti i valori del CCC risultanti sono superiori al 58%, fatta eccezione per il paziente 8 (31%), le cui risposte risultano, quindi, meno stabili tra i vari test. Il coefficiente di Lin massimo, pari a 97% e ottenuto per il paziente 3, dimostra una corrispondenza quasi perfetta tra test e retest, confermato dal valore pressoché unitario del coefficiente di correlazione in corrispondenza dello spostamento temporale nullo.

Mentre per gli ABR convenzionali è presumibile una concordanza superiore al 90%, nel caso degli FFR si riscontra una certa discontinuità tra test e retest. Questo risultato è comunque in linea con le aspettative, considerando che gli FFR vanno oltre la latenza breve. Si tratta di test molto più complessi rispetto agli ABR tradizionali, che sono invece focalizzati sull'analisi di risposte neurali precoci, che generalmente si esauriscono entro i primi 10 msec dall'applicazione dello stimolo.

Nel caso in cui si includano pazienti patologici nel dataset, l'analisi della correlazione tra le diverse risposte acquisite può assumere un ruolo cruciale nella diagnosi di disturbi del linguaggio. Infatti, se il cervello elabora in modo variabile lo stesso suono ogni volta che il soggetto lo percepisce, potrebbe rendere estremamente difficile, se non praticamente impossibile, il processo di apprendimento.

4.6 Conclusioni del capitolo

Nel complesso l'analisi lineare evidenzia come il dispositivo *Socrates* sia in grado di acquisire segnali stabili e ripetibili in risposta alla sillaba /da/, anche con un numero limitato di epoche, limitando le tempistiche dell'esame a circa 12–13 minuti. Inoltre, i segnali post-stimolo mostrano componenti in frequenza ricorrenti, confrontabili con la frequenza fondamentale dello suono in esame, mentre tale corrispondenza è assente nei segnali pre-stimolo. Questo suggerisce un corretto processamento del suono da parte dei soggetti sottoposti al test, risultando coerente con la loro condizione di normoacusia.

Per valutare la robustezza dei metodi implementati e indagare più a fondo il fenomeno del “frequency-following”, l'analisi lineare è stata condotta anche

sui segnali acquisiti su due pazienti in risposta allo stimolo /ape/ (Figura 3.6), contenuto nel database dell'azienda. I risultati, riportati nel dettaglio nell'Appendice B, sono complessivamente in linea con quelli visti esaminando gli FFR a /da/, talvolta contraddistinti da maggiori irregolarità, soprattutto in termini di consistenza di fase e correlazione risposta-risposta. Tali discontinuità sembrano derivare, presumibilmente, dalla calibrazione più imprecisa dello stimolo, rispetto a quella applicata al fonema /da/. Tuttavia, la coerenza nei risultati è probabilmente favorita dai valori molto simili delle frequenze fondamentali dei due suoni esaminati. L'analisi di FFR in risposta a stimoli con F_0 eterogenee contribuirebbe a consolidare ulteriormente i metodi implementati e a ottenere maggiori evidenze del fenomeno del "frequency-following", fornendo ulteriori prove del modo in cui il cervello codifica e segue le variazioni nelle frequenze uditive.

Per quanto i metodi lineari implementati per analizzare gli FFR siano per molti aspetti efficaci, intuitivi da interpretare e implementare da un punto di vista ingegneristico, talvolta è possibile che non riescano a cogliere appieno la complessità del meccanismo alla base dell'elaborazione e comprensione sonora. Recenti studi hanno, infatti, dimostrato come una possibile incompatibilità sia legata alle proprietà non-lineari e non-stazionarie dei segnali derivanti dal tronco encefalico uditivo. [32] Nel prossimo capitolo, si prenderanno in esame alcune metodologie non lineari per ottenere maggiori evidenze quantitative sulla codifica neurale dei suoni, arricchendo così l'analisi qualitativa precedentemente condotta.

Capitolo 5

Analisi non lineare degli FFR

In questo capitolo, esploreremo dei potenziali metodi non lineari, volti a cogliere il comportamento complesso che caratterizza le acquisizioni di natura elettroencefalica. L'attività cerebrale, pur presentando un'intrinseca caoticità [33], mostra anche caratteristiche frattali, ovvero esibisce un'organizzazione temporale su più scale temporali. [34] Pertanto, approcci non lineari basati sull'entropia e su metriche frattali, come sample entropy (SampEn), approximate entropy (ApEn), Hurst exponent (H) e Higuchi Fractal Dimension (HFD), potrebbero suggerire riflessioni interessanti.

Gli algoritmi di ApEn, SampEn, H e HFD sono stati applicati ai segnali di test e retest degli 8 pazienti, acquisiti prima e dopo lo stimolo /da/ di 40 msec. Dopo aver valutato la normalità dei valori ottenuti mediante il Lilliefors test, è stato utilizzato il t-test di Student con un livello di significatività α pari 0.05 per determinare eventuali differenze statisticamente significative tra le metriche calcolate, prima e dopo lo stimolo.

5.1 Approximate Entropy

5.1.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

ApEn [35] è un parametro che misura la correlazione, la regolarità o la persistenza di una serie temporale di durata finita. In particolare, valori bassi di ApEn riflettono un sistema molto ripetitivo e predittivo, mentre valori alti sono indice di casualità e indipendenza tra i dati. Data una serie $x(n) = x(1), x(2), \dots, x(N)$ di lunghezza N , si fissa un parametro m intero positivo e si definiscono tutti gli $N-m+1$ pattern

5.1 Approximate Entropy

m-dimensionali possibili, ossia vettori ottenuti dai campioni del segnale tali che

$$\mathbf{x}_m(i) = \{x(i), x(i+1), \dots, x(i+m-1)\} \quad (5.1)$$

Con $i = 1, \dots, N-m+1$. Una volta fissati r reale positivo e un pattern di riferimento $\mathbf{x}(i)$, si dice che un vettore $\mathbf{x}(j)$ è “vicino” al riferimento se $d[\mathbf{x}(i)\mathbf{x}(j)] \leq r$, dove la distanza è così definita:

$$d[\mathbf{x}(i)\mathbf{x}(j)] = \max_{k=1\dots m} |x(i+k-1) - x(j+k-1)| \quad (5.2)$$

Per ogni $i = 1, \dots, N-m+1$, si calcola il valore $C_i^m(r)$, corrispondente alla probabilità di trovare nella serie pattern m-dimensionali simili all'i-esimo di riferimento:

$$C_i^m(r) = \frac{1}{N-m+1} \cdot (\text{numero di } j \text{ coppie tali che } d[\mathbf{x}(i)\mathbf{x}(j)] \leq r) \quad (5.3)$$

Si definisce il logaritmo $\ln(C_i^m(r))$ sugli $N-m+1$ possibili valori di i e si calcola la media algebrica, ottenendo il valore di auto-somiglianza della serie valutata per il pattern di lunghezza m :

$$\phi^m(r) = \frac{1}{N-m+1} \sum_{i=1}^{N-m+1} \ln(C_i^m(r)) \quad (5.4)$$

Si ripete l'intero procedimento descritto individuando tutti $N-m$ vettori $(m+1)$ -dimensionali. L'espressione dell'ApEn è così ricavata:

$$\begin{aligned} ApEn(N, m, r) &= \phi^m(r) - \phi^{m+1}(r) \\ &= \frac{1}{N-m+1} \sum_{i=1}^{N-m+1} \ln(C_i^m(r)) - \frac{1}{N-m} \sum_{i=1}^{N-m} \ln(C_i^{m+1}(r)) \end{aligned} \quad (5.5)$$

Dal momento che vale $\phi^m(r) \leq \phi^{m+1}(r)$, ApEn non assumerà mai un valore negativo, bensì sarà tanto più elevata quanto più i pattern sono tra loro dissimili.

5.1.2 Risultati Approximate entropy

La Figura 5.1 mostra chiaramente come, dopo l'applicazione dello stimolo sonoro, si verifica una diminuzione dell'ApEn degli FFR di tutti i pazienti, come evidenziato dalla posizione della mediana e dalla distribuzione dei dati all'interno delle scatole. Il risultato del t-test supporta una diminuzione statisticamente

significativa dell'ApEn degli FFR post-stimolo rispetto al pre-stimolo, sia nella fase di test ($p\text{-value} = 0.004 < 0.05$) che di retest ($p\text{-value} = 0.0097 < 0.05$).

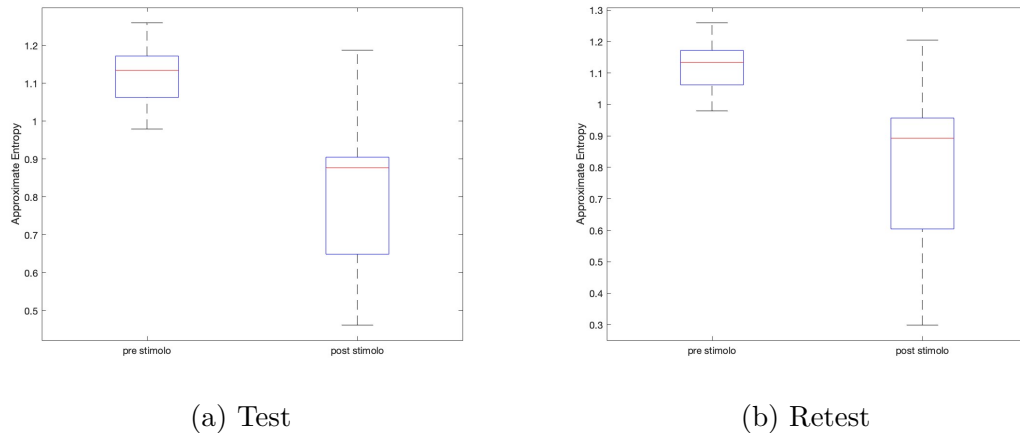


Figura 5.1: Variazione dell'approximate entropy del segnale ottenuto per il gruppo di soggetti prima e dopo la stimolazione /da/ di 40 msec. Ciascuna scatola rappresenta la distribuzione dei valori di ApEn e la linea orizzontale rossa all'interno indica la mediana dei dati.

5.1.3 Discussione Approximate entropy

L'analisi della distribuzione dei valori dell'Approximate entropy dei segnali pre- e post-stimolo rivela una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi di registrazioni. Si osserva che la distribuzione dei valori dell'ApEn degli FFR è significativamente inferiore rispetto alle risposte pre-stimolo. Da questo risultato si evince che i segnali acquisiti dopo lo stimolo sonoro esibiscono un andamento più predicibile e regolare, con una maggiore probabilità di presentare pattern simili.

5.2 Sample Entropy

5.2.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

Come l'ApEn, anche SampEn è un algoritmo utilizzato nell'analisi della complessità delle serie temporali, comprese quelle non lineari. Un valore più basso di SampEn suggerisce una maggiore regolarità o periodicità nella serie temporale, mentre un SampEn più alto suggerisce una maggiore complessità o irregolarità.

5.2 Sample Entropy

SampEn è stata introdotta per affrontare alcune criticità legate all'ApEn [36]: quest'ultima, infatti, è sensibile alla presenza di frequenti outlier; è influenzata dalla scelta dei parametri utente r e m e dalla lunghezza N della serie; un'elevata non linearità comporta un aumento del suo valore, suggerendo una complessità maggiore di quella effettiva. L'impostazione del problema per il calcolo della SampEn è il medesimo descritto nel Paragrafo 5.1, ciò che cambia è l'espressione di $C_i^m(r)$, rielaborata in modo tale da evitare l'auto-conteggio e garantire che tutte le corrispondenze siano reali ripetizioni di pattern:

$$B_i^m(r) = \frac{1}{N - m - 1} \cdot B_i \quad (5.6)$$

$$B^m(r) = \frac{1}{N - m} \sum_{i=1}^{N-m} B_i^m(r) \quad (5.7)$$

Con $B_i =$ (numero di j valori, dove $1 \leq j \leq N - m$ e $j \neq i$, tali che $d[\mathbf{x}(i)\mathbf{x}(j)] \leq r$), e $d[\mathbf{x}(i)\mathbf{x}(j)]$ espresso come in 5.2.

La procedura si ripete incrementando m , trovando il numero di corrispondenze A_i e, successivamente, definendo $A_i^m(r)$ e $A^m(r)$;

$$A_i^m(r) = \frac{1}{N - m - 1} \cdot A_i \quad (5.8)$$

$$A^m(r) = \frac{1}{N - m} \sum_{i=1}^{N-m} A_i^m(r) \quad (5.9)$$

Le due probabilità 5.7 e 5.9 possono essere usate per stimare SampEn [36]:

$$SampEn(N, m, r) = -\ln \left[\frac{A^m(r)}{B^m(r)} \right] \quad (5.10)$$

Anche in questo caso SampEn è sempre non negativa, e maggiore è la probabilità di trovare uno stesso pattern all'interno della serie temporale minore sarà il suo valore.

In ambito biomedico, gli approcci basati sull'entropia sono particolarmente utili per il monitoraggio della variabilità più o meno fisiologica nei dati biologici. In questo studio, i due algoritmi soprascritti sono stati applicati al dataset, fissando m pari a 2 e r pari alla moltiplicazione tra un fattore 0.2 e la deviazione

standard del segnale.¹

5.2.2 Risultati Sample entropy

La Figura 5.2 mostra come, dopo l'applicazione dello stimolo sonoro, si verifica una diminuzione anche della SampEn degli FFR degli 8 pazienti, come evidenziato dalla posizione della mediana e dalla distribuzione dei dati all'interno delle scatole. Il risultato del t-test supporta una diminuzione statisticamente significativa della SampEn degli FFR post-stimolo rispetto al pre-stimolo, sia per il test ($p\text{-value} = 0.010 < 0.05$) che per il retest ($p\text{-value} = 0.025 < 0.05$).

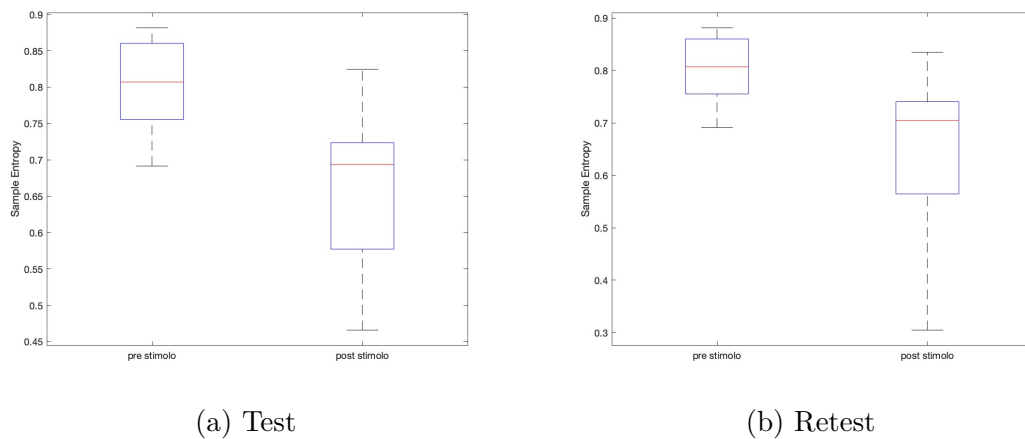


Figura 5.2: Variazione della sample entropy del segnale ottenuto per il gruppo di soggetti prima e dopo la stimolazione /da/ di 40 msec. Ciascuna scatola rappresenta la distribuzione dei valori di SampEn e la linea orizzontale rossa all'interno indica la mediana dei dati.

5.2.3 Discussione Sample entropy

L'analisi della distribuzione dei valori della Sample entropy dei segnali pre- e post-stimolo rivela una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi di registrazioni. Si osserva che la distribuzione dei valori di SampEn degli FFR è significativamente inferiore rispetto alle risposte pre-stimolo. Questo risultato conferma quanto dedotto dall'analisi dell'ApEn, ossia che i segnali pre-stimolo sono caratterizzati da una maggiore imprevedibilità. Si ipotizza, quindi, che la corretta

¹I valori dei parametri utente sono stati scelti consultando la letteratura [35][36][37].

elaborazione di un suono sia associata a una diminuzione dell'irregolarità e della complessità dei segnali acquisiti.

5.3 Hurst Exponent

5.3.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

H è una misura che quantifica l'auto-somiglianza e la memoria a lungo termine di una serie temporale, cioè come i valori passati influenzano quelli futuri. Può assumere valori compresi tra 0 e 1: una serie con $H < 0.5$ ha un comportamento anti-persistente e opposto alla media; una serie con $H > 0.5$ ha un comportamento tendenziale; se $H = 0.5$ il processo è completamente casuale e privo di memoria. [32]

Uno dei metodi per il calcolo di H consiste nella *rescaled range analysis* (R/S analysis), generalmente utilizzata per individuare una dipendenza a lungo termine in una serie di dati. Definita una serie temporale $x = \{x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_N\}$, il metodo, implementato nella funzione `hurst exponent.m` riportata in Appendice C, è il seguente [38]:

- La serie x viene suddivisa in sottosequenze di n campioni (scala), individuando N/n sottoserie;
- Per ogni scala, viene calcolata la media della j -esima sottosequenza:

$$m_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (5.11)$$

- La media viene sottratta da ogni valore della sottosequenza, ottenendo la serie normalizzata Y_t , con $t = 1, \dots, n$:

$$Y_t = x_t - m \quad (5.12)$$

- Viene calcolata la serie di deviazioni cumulative Z_t , con $t = 1, \dots, n$:

$$Z_t = \sum_{i=1}^t Y_i \quad (5.13)$$

- Viene calcolato il range R come:

$$R_t = \max(Z_1, Z_2, \dots, Z_t) - \min(Z_1, Z_2, \dots, Z_t) \quad (5.14)$$

- Viene calcolata la deviazione standard S:

$$S_t = \sqrt{\frac{1}{t} \sum_{i=1}^t (x_i - u)^2} \quad (5.15)$$

Dove u è il valore medio da x_i a x_t ;

- A questo punto, è possibile calcolare il rescaled range per ciascuna scala $t = 1, \dots, n$ come R_t/S_t .

Per stimare l'esponente di Hurst, basterà tracciare il grafico di R/S rispetto a t in scala logaritmica. La pendenza della retta di regressione approssima H.

5.3.2 Risultati Hurst exponent

La Figura 5.3 mostra come, dopo l'applicazione dello stimolo sonoro, si verifica invece un aumento dell'H degli FFR dei pazienti, come evidenziato dalla posizione della mediana e dalla distribuzione dei dati all'interno delle scatole. Il risultato del t-test supporta un incremento statisticamente significativo dell'H degli FFR post-stimolo rispetto al pre-stimolo, sia per il test (p-value = 0.012 < 0.05) che per il retest (p-value = 0.027 < 0.05).

5.4 Higuchi Fractal Dimension

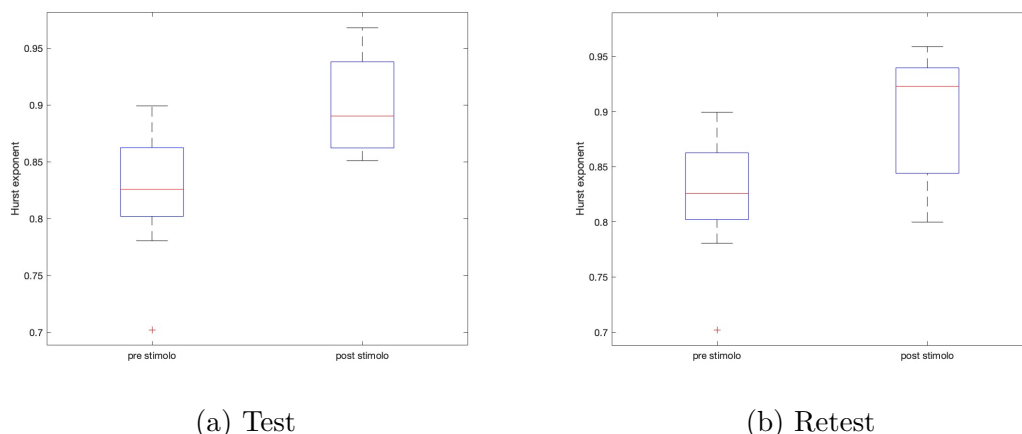


Figura 5.3: Variazione dello Hurst exponent del segnale ottenuto per il gruppo di soggetti prima e dopo la stimolazione /da/ di 40 msec. Ciascuna scatola rappresenta la distribuzione dei valori di H e la linea orizzontale rossa all'interno indica la mediana dei dati.

5.3.3 Discussione Hurst exponent

L'analisi della distribuzione dei valori dell'esponente di Hurst dei segnali pre- e post-stimolo rivela una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi di registrazioni. Si osserva che la distribuzione dei valori di H degli FFR è significativamente maggiore rispetto alle risposte pre-stimolo. Dal momento che H è legato alla memoria a lungo termine di un processo, questo risultato suggerisce che, in seguito alla stimolazione sonora, gli FFR dei pazienti avranno un andamento più tendenziale e auto-somigliante. Tale variazione potrebbe significare che la casualità delle risposte diminuisca grazie all'ascolto di un suono.

5.4 Higuchi Fractal Dimension

5.4.1 Descrizione della metodologia e modalità di calcolo

HFD è una misura di complessità che descrive come la lunghezza di una curva $L(k)$ varia in base alla scala k utilizzata come unità di misura. Si basa sull'algoritmo di Higuchi, implementato nella funzione `xhfd.m` riportata in Appendice C. Tale approccio calcola l'HFD di una serie temporale x nel dominio del tempo, sfruttando la curva l_k ottenuta rappresentando $\log(L(k))$ in funzione di $\log(k)$. L'algoritmo si struttura come segue [39]:

- Per ogni campione i della serie $x = \{x(1), x(2), \dots, x(i), \dots, x(N)\}$ di lunghezza N , si calcola il valore assoluto delle differenze tra i valori $x(i)$ e $x(i - k)$, con $k \in \{1, \dots, k_{max}\}$;
- Ciascuna differenza assoluta viene successivamente moltiplicata per un coefficiente di normalizzazione, il quale tiene conto del numero di campioni disponibili per ogni valore di k . Questo coefficiente viene calcolato in base al punto di partenza $m \in \{1, \dots, k\}$ e al numero complessivo di campioni N ;
- Per ciascun k e m , la lunghezza $L_m(k)$ è così definita:

$$L_m(k) = \frac{1}{k} \cdot \left[\sum_{i=1}^q |x(m + i \cdot k) - x(m + (i - 1) \cdot k)| \right] \cdot \frac{N - 1}{q \cdot k} \quad (5.16)$$

Dove $q = \text{int}[(N - m)/k]$;

- La lunghezza della curva $L(k)$ si ottiene sommando i valori ottenuti in 5.16 e dividendo per k :

$$L(k) = \frac{1}{k} \cdot \sum_{m=1}^k L_m(k) \quad (5.17)$$

- Per definizione, se $L(k) \propto k^{-D}$, cioè $\log(L(k))$ e $\log(k)$ sono in una relazione lineare, per un certo intervallo $k = \{1, \dots, k_{lin}\}$, allora la curva si dice frattale con dimensione D . La dimensione frattale secondo Higuchi corrisponde alla pendenza della retta di regressione presente nella curva l_k e può essere stimata con il metodo dei minimi quadrati.

Come si può vedere nella Figura 5.4, HFD aumenta all'aumentare dell'irregolarità e complessità del segnale. Nel caso di onde periodiche, così come la periodicità non influisce sull'andamento del segnale, non modifica nemmeno le sue proprietà frattali. Una frequenza più elevata comporta un incremento delle oscillazioni nel tratto non periodico della curva l_k . [40]

5.4 Higuchi Fractal Dimension

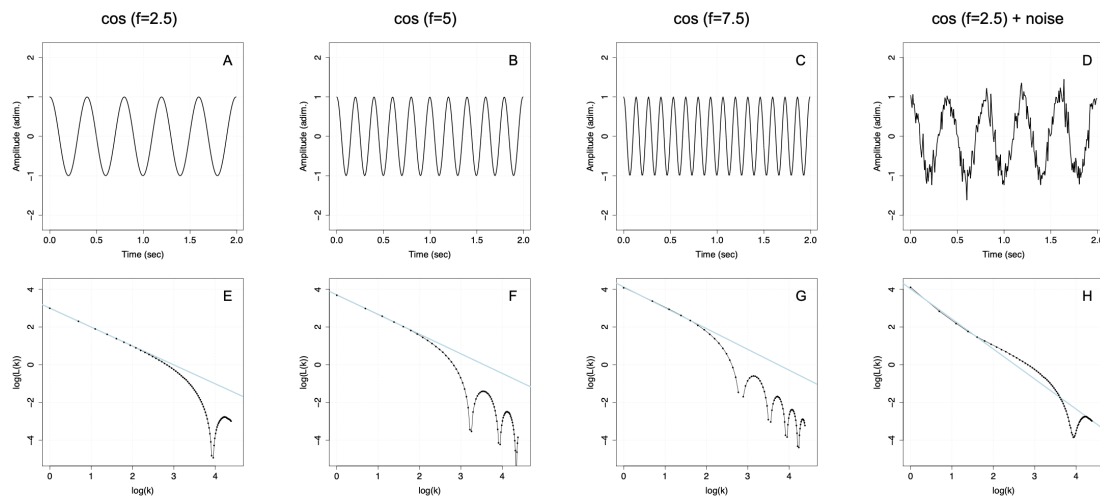


Figura 5.4: La figura mostra l'effetto della periodicit  e del rumore sulla curva l_k , che contiene in ascissa $\log(k)$ e in ordinata $\log(L(k))$. I pannelli A, B, C mostrano la stessa onda cosinusoidale a frequenze differenti (rispettivamente 2.5 Hz, 5 Hz, 7.5 Hz). I tre segnali presentano la medesima HFD, data dal coefficiente angolare dei tratti lineari (in azzurro) delle curve l_k nei pannelli E, F, G (in nero): sono identici da un punto di vista frattale, in quanto il loro andamento   lo stesso a prescindere dalla periodicit . L'ultimo segnale in D   stato generato aggiungendo rumore casuale, con deviazione standard 0.2, all'onda coseno del pannello A. Un aumento dell'irregolarit , dovuto al rumore additivo, comporta un incremento di HFD in H rispetto a E. Figura tratta da [40]

5.4.2 Risultati Higuchi fractal dimension

La Figura 5.5 mostra come, dopo l'applicazione dello stimolo sonoro, si verifica una diminuzione dell'HFD degli FFR dei pazienti, come evidenziato dalla posizione della mediana e dalla distribuzione dei dati all'interno delle scatole. Il risultato del t-test supporta una diminuzione statisticamente significativa dell'HFD degli FFR post-stimolo rispetto al pre-stimolo, sia per il test ($p\text{-value} = 0.0008 < 0.05$) che per il retest ($p\text{-value} = 0.001 < 0.05$).

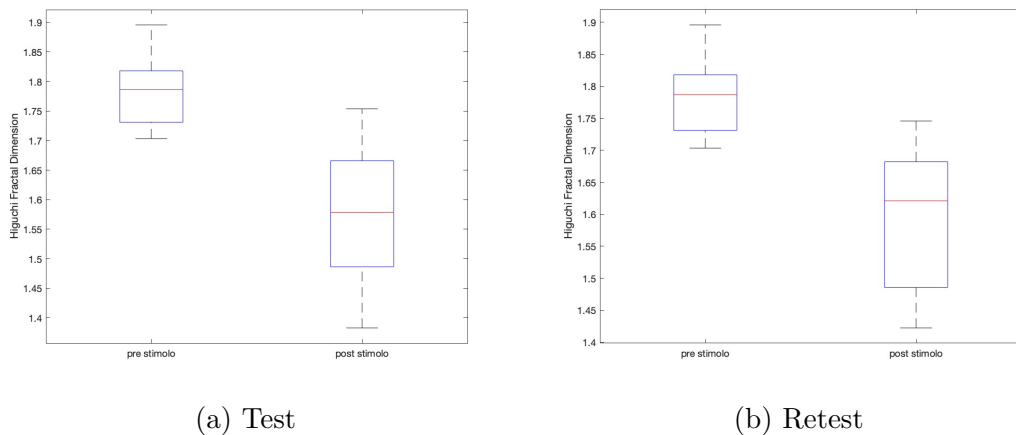


Figura 5.5: Variazione dell'Higuchi fractal dimension del segnale ottenuto per il gruppo di soggetti prima e dopo la stimolazione /da/ di 40 msec. Ciascuna scatola rappresenta la distribuzione dei valori di HFD e la linea orizzontale rossa all'interno indica la mediana dei dati.

5.4.3 Discussione Higuchi fractal dimension

L'analisi della distribuzione dei valori dell'Higuchi fractal dimension dei segnali pre- e post-stimolo rivela una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi di registrazioni. Si osserva che la distribuzione dei valori di HFD degli FFR è significativamente inferiore rispetto alle risposte pre-stimolo. Poiché l'HFD valuta la complessità geometrica di un meccanismo, questo risultato suggerisce che i segnali acquisiti prima della stimolazione presentano una struttura più complessa e caotica, rafforzando l'ipotesi che negli FFR possano essere presenti pattern ripetibili legati alla periodicità dello stimolo sonoro.

5.5 Conclusioni del capitolo

Uno dei potenziali limiti dei metodi lineari implementati è rappresentato dalla mancanza di indici quantitativi facilmente interpretabili in ambito medico, che possano tradurre in modo limpido l'effettiva elaborazione cognitiva del suono in esame. Spesso, infatti, si riesce soltanto a verificare la presenza di solo rumore nel segnale pre-stimolo, senza garantire che nel post-stimolo si manifesti effettivamente la risposta individuale allo stimolo sonoro. L'introduzione di approcci non lineari nell'analisi degli FFR mira a superare tali limitazioni.

L'Higuchi fractal dimension valuta l'auto-similarità di una serie temporale su scale diverse ed è strettamente legata alle sue caratteristiche geometriche. L'esponente di Hurst si concentra sulle proprietà statistiche delle correlazioni a lungo raggio in una serie temporale. Le due misure frattali non sono necessariamente consistenti: una serie può esibire un comportamento persistente e statisticamente prevedibile ($H > 0.5$), e, allo stesso tempo, presentare specifici pattern temporali che ne incrementano la complessità geometrica (HFD elevata).

Dai risultati, infatti, è possibile affermare come H diminuisca con la stimolazione vocale, mentre HFD aumenti. Questo significa che, da un punto di vista geometrico, la percezione di un suono riduce la casualità e caoticità della forma d'onda, e questo trova conferma in [41] e nella diminuzione dell'entropia semplice e approssimata dei segnali acquisiti dopo lo stimolo.

Dal momento che i soggetti sono normofonici, è plausibile aspettarci un andamento complessivo uniforme e tendenziale negli FFR misurati dopo la stimolazione; d'altro canto, il segnale pre-stimolo, essendo una risposta non evento-correlata e potenzialmente patologica, sarà probabilmente caratterizzata da un regime più irregolare e casuale.

È importante tenere in considerazione come il dataset messo a disposizione sia comunque ridotto, e contraddistinto da acquisizioni caratterizzate da ampiezze più o meno amplificate e rumorose. L'introduzione di altri soggetti nello studio potrebbe rafforzare i risultati e suggerire ulteriori considerazioni.

Capitolo 6

Conclusioni e sviluppi futuri

Questa tesi si proponeva di individuare e sviluppare una serie di metodologie per l'analisi dei potenziali evocati da suoni complessi, offrendo soluzioni ingegneristiche efficaci e intuitive, oltre a proposte interpretative rilevanti per la pratica medica. I risultati ottenuti dall'analisi lineare evidenziano la ripetibilità e la stabilità degli FFR a uno stesso stimolo, non soltanto all'interno del medesimo individuo ma anche tra diversi partecipanti, confermando la consistenza e l'affidabilità di tali risposte neuronali sia a livello intra-individuale che inter-individuale. Inoltre, gli FFR presentano componenti temporali e spettrali che preservano la periodicità dello stimolo vocale. Questa correlazione tra il suono e la rispettiva risposta neurale è fondamentale per comprendere i processi neurofisiologici legati alla percezione uditiva: l'analisi dei parametri degli FFR consente di valutare se il cervello di un individuo elabora un suono non soltanto in termini di pura percezione sensoriale, ma anche a livello cognitivo. L'introduzione di indici quantitativi di complessità, potenzialmente integrabili nel software *Helix*, offre uno spunto concreto non solo per migliorare il processo di registrazione dei segnali, ma soprattutto per ottenere un riscontro esplicito della presenza o assenza di una risposta cognitiva allo stimolo uditivo in esame. Le evidenze emerse da questo studio hanno dimostrato l'estensibilità del dispositivo clinico *Socrates* nell'efficace registrazione degli ABR generati da stimoli uditivi complessi, confermandone l'affidabilità nell'ambito diagnostico.

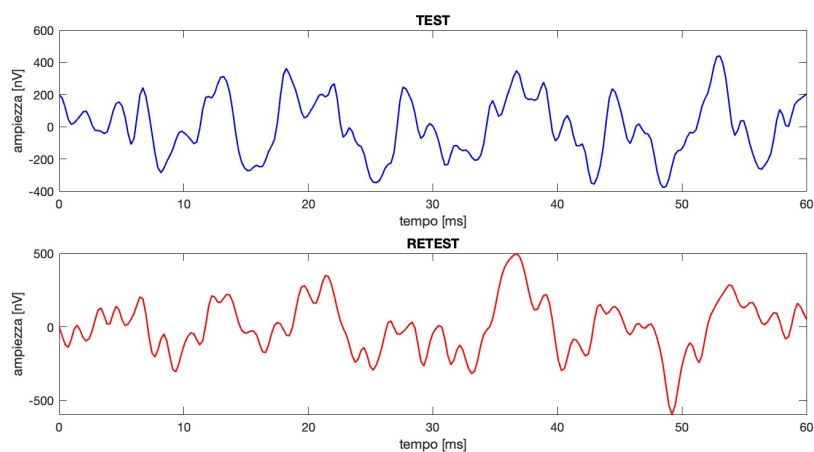
Prospettando sviluppi futuri, l'inclusione di soggetti patologici nel dataset o l'introduzione di condizioni di ascolto differenti potrebbe offrire una prospettiva più dettagliata sulla natura delle risposte neuronali a stimoli uditivi complessi. In

tal modo, l'analisi degli FFR acquisiti con *Socrates* potrebbe rivelare l'impatto dell'apprendimento linguistico e musicale, dei disturbi dell'attenzione, del linguaggio e dello spettro autistico. Questo aprirebbe nuove prospettive nella comprensione o nell'intervento terapeutico di tali condizioni, fornendo un contributo significativo alla pratica clinica.

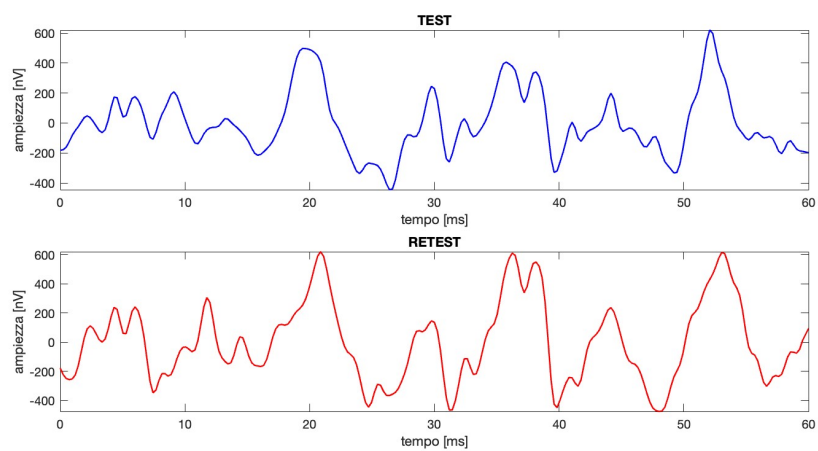
Appendice A

FFR acquisiti

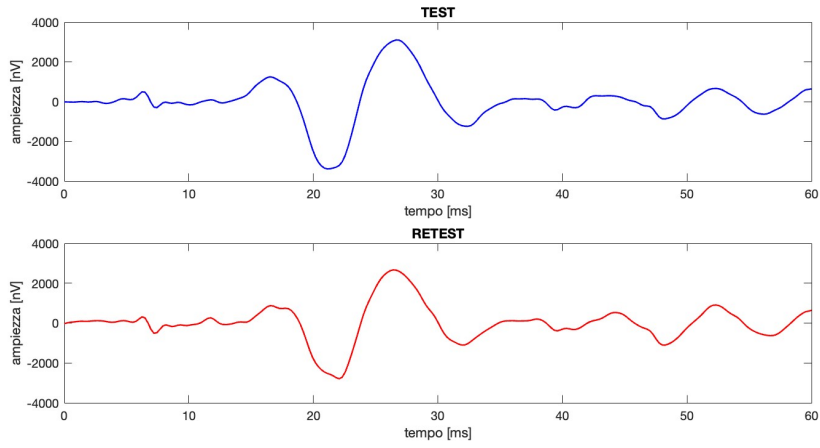
Di seguito sono riportati i segnali test e retest acquisiti dai singoli pazienti dopo l'applicazione dello stimolo /da/ di 40 millisecondi.



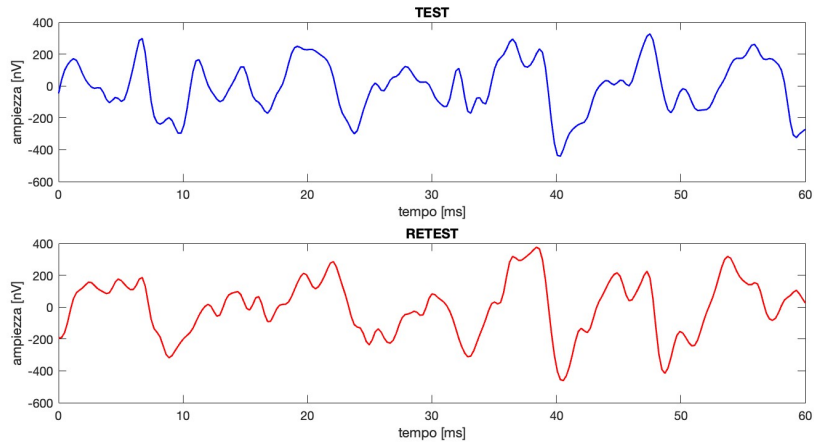
(a) Paziente 1



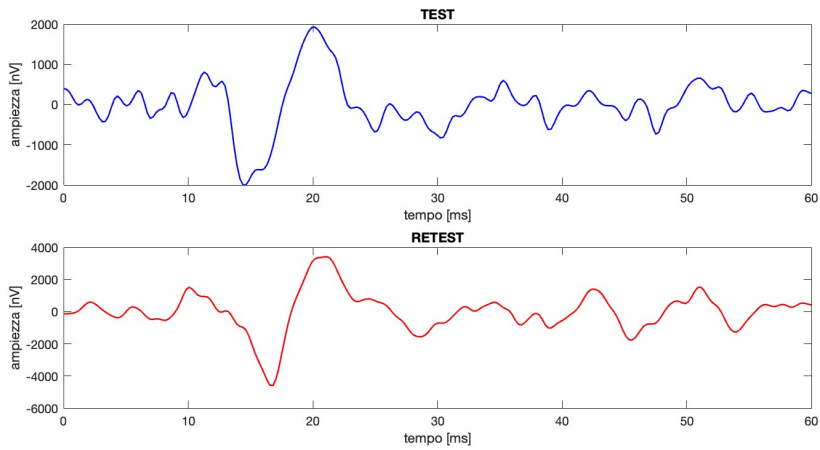
(b) Paziente 2



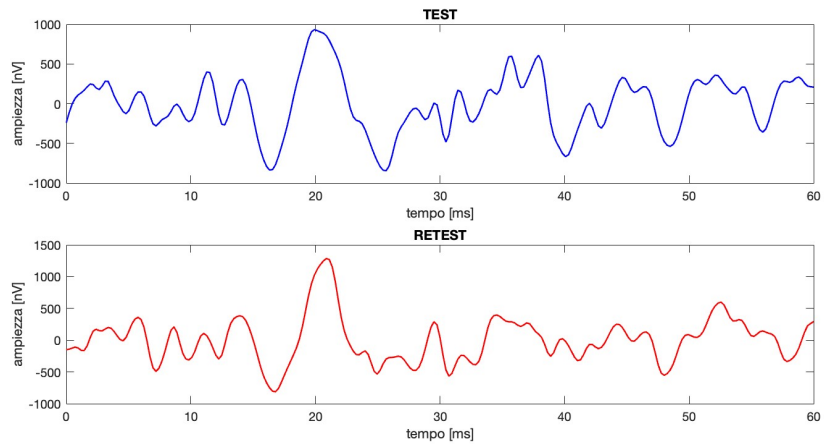
(c) Paziente 3



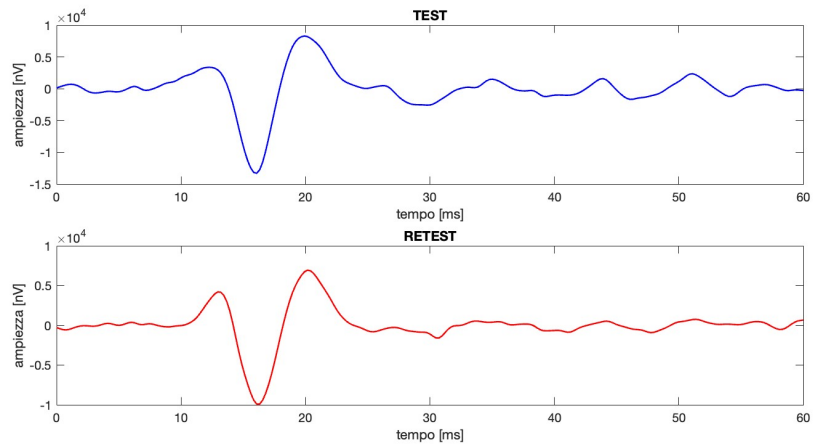
(d) Paziente 4



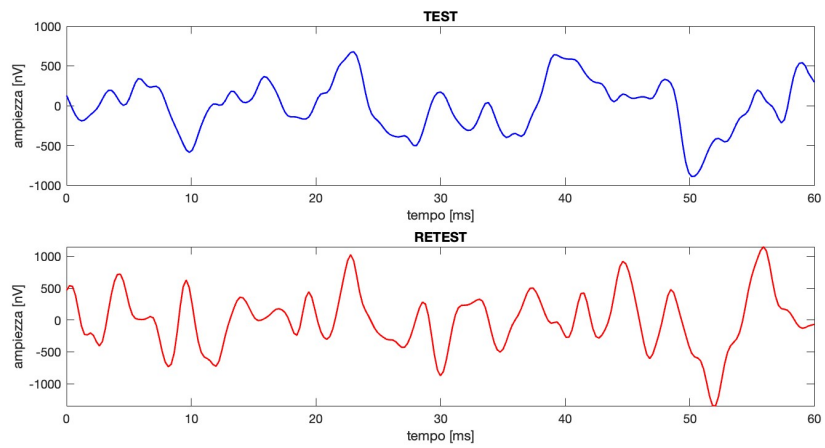
(e) Paziente 5



(f) Paziente 6

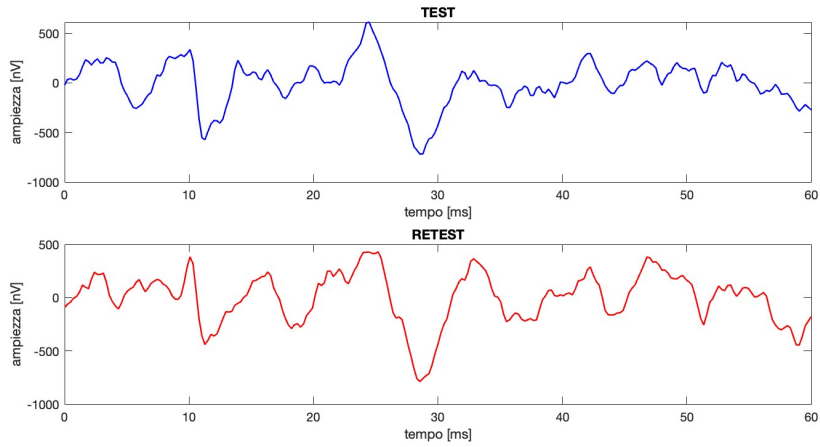


(g) Paziente 7

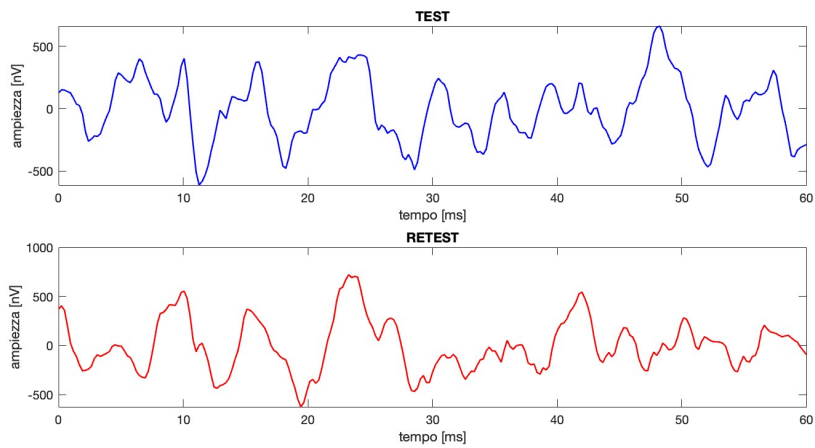


(h) Paziente 8

Di seguito sono riportati i segnali test e retest acquisiti da due pazienti dopo l'applicazione dello stimolo /ape/ di 739 millisecondi.



(a) Paziente 1



(b) Paziente 2

Appendice B

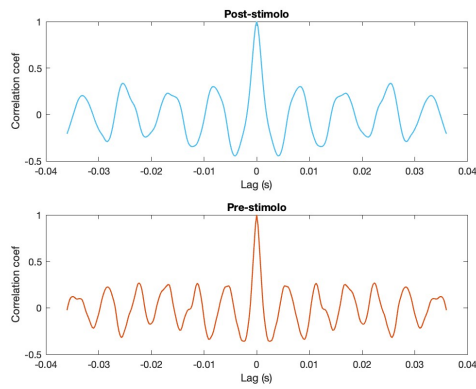
Analisi lineare degli FFR allo stimolo /ape/

L'intera analisi lineare è stata ripetuta anche per i segnali acquisiti da due pazienti in risposta allo stimolo /ape/. I risultati ottenuti per ciascun metodo implementato sono mostrati nelle figure sottostanti.

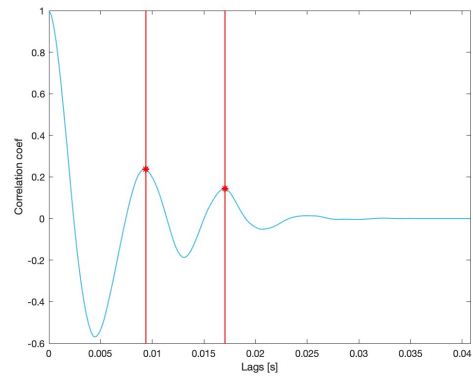
In particolare, la Figura B.1a illustra l'ACF della registrazione post-stimolo (nel pannello a in alto) e pre-stimolo (nel pannello a in basso), calcolate per il paziente 1 in funzione degli spostamenti temporali. Inoltre, la Figura B.1b mostra una sezione di autocorrelogramma ottenuta per una segmento del segnale post-stimolo mediante l'approccio a finestre scorrevoli. Da questa figura si evince che, in seguito alla stimolazione sonora, i picchi dell'autocorrelazione ricorrono periodicamente con un intervallo di circa 8 msec. L'ACF del segnale pre-stimolo presenta oscillazioni più fitte a un periodo inferiore. Andamenti analoghi si ottengono anche nell'analisi dell'FFR del paziente 2, visibili nella Figura B.1c (superiore) e nella Figura B.1d. Al contrario, l'autocorrelazione del pre-stimolo mostra picchi casuali e non periodici. La Figura B.2 illustra i valori di itpl calcolati per i segnali post-stimolo del paziente 1 (pannello a) e del paziente 2 (pannello b), utilizzando una mappa colorimetrica tempo-frequenza. Il livello di coerenza di fase per una specifica frequenza è rappresentato attraverso i colori: tonalità più calde indicano un itpl elevato, mentre tonalità più fredde indicano un itpl più modesto. Il colore blu indica l'assenza di coerenza di fase per la frequenza corrispondente. Da questa figura si deduce un aumento di coerenza di fase principalmente attorno a 100, 300 e 600 Hz, in entrambi i soggetti, e valori di itpl elevati tra 700 e 800 Hz, solo nel paziente 2.

La Figura B.3 illustra lo spettro del segnale post-stimolo acquisito sul soggetto 1 (a) e sul soggetto 2 (b). Entrambi gli spettri mostrano tre componenti di maggiore ampiezza tra 50 e 200 Hz e dei picchi più contenuti a frequenze più alte.

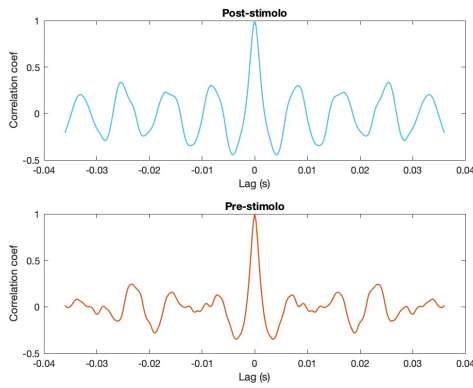
La Figura B.4a mostra lo spettrogramma del paziente 1, da cui si evince un accumulo di intensità spettrale compreso tra 50 e 130 Hz, presente nell'intera finestra di acquisizione. Le restanti frequenze sono, invece, caratterizzate da valori di energia spettrale più contenuti. La rappresentazione tempo-frequenza del paziente 2 (Figura B.4b) presenta un contenuto spettrale qualitativamente simile. La Figura B.5 illustra le cross-correlazioni tra i segnali di test e retest, acquisiti sul soggetto 1 (a) e sul soggetto 2 (b), in funzione del ritardo temporale applicato a uno di essi. Sono stati confrontati i risultati ottenuti prima e dopo l'applicazione dello stimolo. Dalla Figura B.5a si evince che, in seguito alla stimolazione sonora, la cross-correlazione presenta un andamento ricorrente, caratterizzato da oscillazioni ogni circa 18 msec. Tale periodicità non è visibile nella correlazione tra le registrazioni pre-stimolo, che presenta picchi più fitti a un periodo inferiore. Andamenti analoghi si ottengono anche nell'analisi dell'FFR del paziente 2, visibili nella Figura B.5b (superiore), mentre la cross-correlazione del pre-stimolo mostra oscillazioni casuali e non periodiche. La Tabella B.1 riporta il valore del coefficiente di Lin, espresso in percentuale, calcolato per ciascun soggetto.



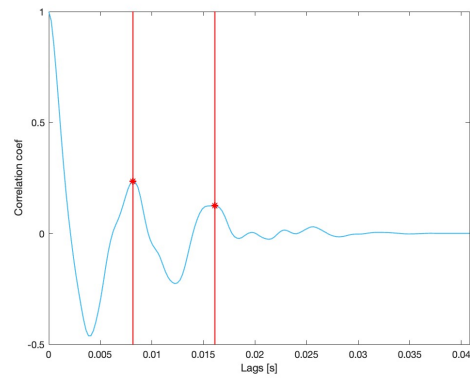
(a) Paziente 1



(b) Paziente 1

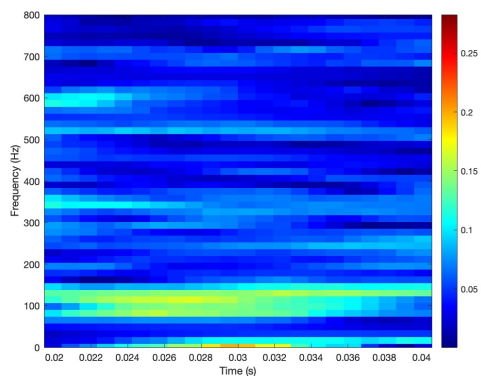


(c) Paziente 2

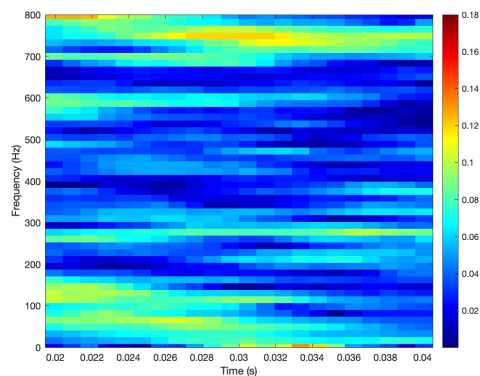


(d) Paziente 2

Figura B.1: Funzioni di autocorrelazione dei segnali post-stimolo (in alto a sinistra) e pre-stimolo (in basso a sinistra), acquisiti sul paziente 1 (a) e sul paziente 2 (c) in risposta allo stimolo /ape/. Sezioni di autocorrelogramma calcolato per un segmento del segnale post-stimolo finestrato mediante l'approccio sliding-time window, acquisito sul paziente 1 (b) e sul paziente 2 (d).

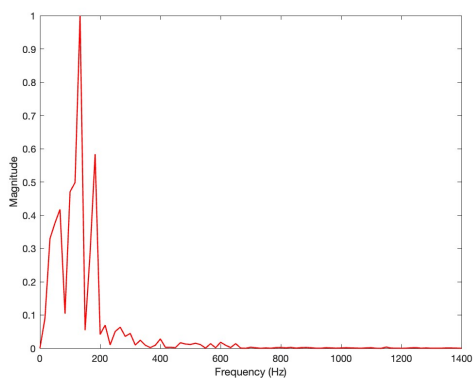


(a) Paziente 1

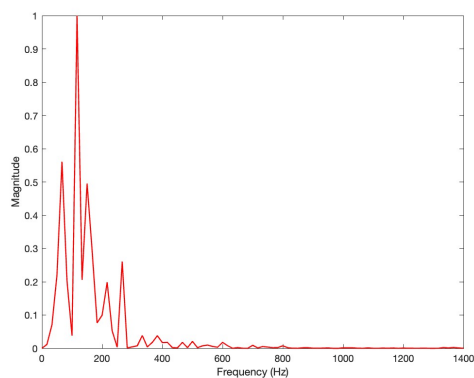


(b) Paziente 2

Figura B.2: Mappa colorimetrica che raffigura l'itpl calcolato per il paziente 1 (a) e il paziente 2 (b) dopo la stimolazione /ape/.



(a) Paziente 1



(b) Paziente 2

Figura B.3: Rappresentazioni dei segnali FFR dei pazienti 1 e 2 nel dominio della frequenza, generati tramite FFT ed evocati dallo stimolo /ape/.

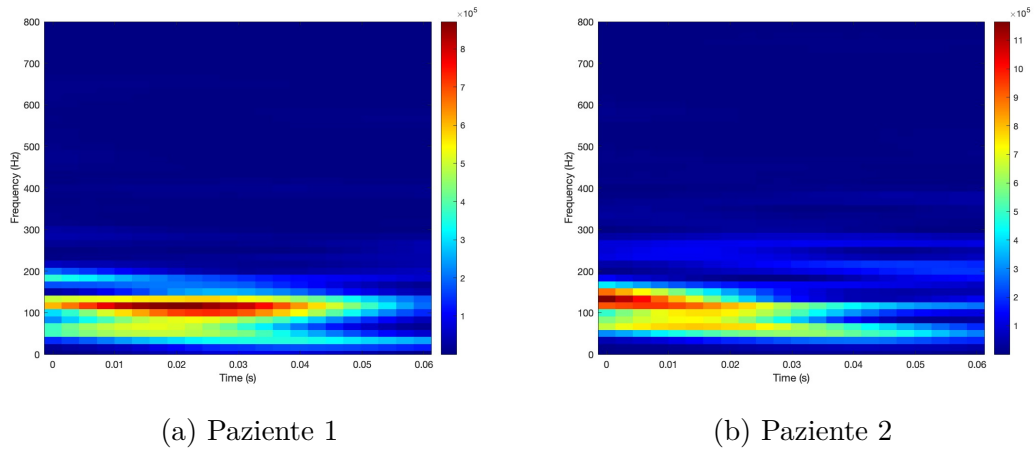


Figura B.4: Spettrogrammi degli FFR dei pazienti 1 e 2 in risposta allo stimolo /ape/, generati tramite STFT. Le tonalità più calde indicano le regioni caratterizzate da maggiore energia spettrale.

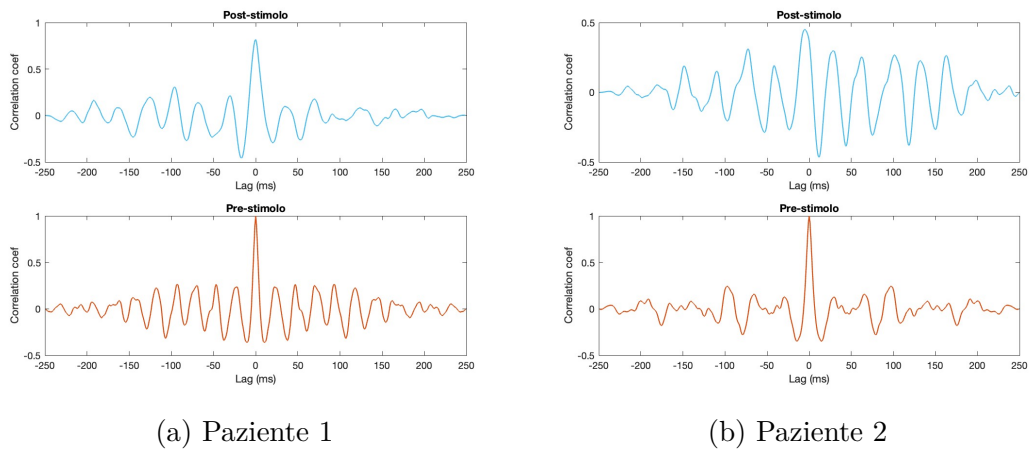


Figura B.5: Correlazione tra le risposte post-stimolo (in alto) e pre-stimolo (in basso), acquisite sui pazienti 1 e 2 in risposta allo stimolo /ape/.

Paziente	CCC [%]
Paziente 1	82
Paziente 2	37

Tabella B.1: Valori del Lin's CCC, espressi in percentuale, calcolati per ciascun paziente in risposta allo stimolo /ape/.

Appendice C

Codici Matlab

Lettura dei file

```
1 function [pre_stimolo,post_stimolo,N] = leggifile(file)
2 % function che legge i file phx. Restituisce:
3 % - pre_stimolo': matrice contenente i dati di prestimolo
4 % - post_stimolo: matrice contenente i dati registrati dopo lo
   stimolo
5 % - N: numero delle sweep acquisite
6
7 % Leggo file binario
8 fileID = fopen(file);
9 file = fread(fileID);
10 N = (length(file)-37)/2004;
11
12 % Fingerprint
13 fseek(fileID,33,'bof');
14 fingerprint=fread(fileID,1,'float32');
15
16 % Acquisizioni
17 fseek(fileID,37,'bof');
18 inizio = ftell(fileID);
19 sweep = [];
20 for i = 1:N
21     acq = fread(fileID,500,'uint16=>int32');
22     acq = acq - 32768;
23     sweep(i,:) = acq;
24     fseek(fileID,1004,'cof');
25 end
26 fine=ftell(fileID);
27 fclose(fileID);
```

```

28 cost = (5/65536)/(10*6000)*10^9; % costante per ottenere i dati in
    nV
29 pre_stimolo = sweep(1:N,1:250)*cost;
30 post_stimolo = sweep(1:N,251:500)*cost;
31
32 % Sottraggo media
33 for i = 1:size(pre_stimolo,1)
34     pre_stimolo(i,:) = pre_stimolo(i,:) - mean(pre_stimolo(i,:));
35     post_stimolo(i,:) = post_stimolo(i,:) - mean(post_stimolo(i,:))
    );
36 end

```

Codice C.1: Funzione leggibile.m per la lettura dei file phx.

Inter-trial phase-locking factor

```

1 % Calcolo della Short-Time Fourier Transform (STFT) utilizzando
    una finestra di Hamming di 40 ms e 39 ms di overlap
2 windowSize = floor(0.04*Fs);
3 overlap = floor(0.039*Fs);
4
5 spectr = zeros(129, 22, N); % N = numero di sweep
6 for n = 1:N
7     [S, asse_f, asse_t] = spectrogram(single_sweep(n,:), hanning(
    windowSize), overlap, [], Fs);
8     spectr(:,:,n) = S;
9 end
10
11 % Estrazione delle fasi dallo spettrogramma
12 phases = angle(spectr);
13
14 % Calcolo dei vettori unitari per le fasi di ogni sweep
15 unit_vectors = exp(1i*phases);
16
17 % Calcolo del fattore inter-trial phase-locking (itpl)
18 itpl = abs(mean(unit_vectors, 3));

```

Codice C.2: Codice usato per il calcolo del fattore itpl per gli FFR a /da/.

Lin's concordance correlation coefficient

```

1
2 % Calcolo delle medie e delle varianze

```



```

3 mean_X = mean(x);
4 mean_Y = mean(y);
5 sd_X = std(x);
6 sd_Y = std(y);
7
8 % Coefficiente di correlazione di Pearson
9 pearson_corr = corrcoef(x, y);
10 pearson_corr = pearson_corr(1, 2);
11
12 ccc_lin = (2*pearson_corr*sd_X*sd_Y)/(sd_Y^2+sd_X^2+(mean_X-mean_Y
    )^2);
13 ccc_lin_perc = round(ccc_lin*100); % Lin's CCC in percentuale

```

Codice C.3: Calcolo del Lin's concordance correlation coefficient.

Hurst exponent

```

1 function [H, RS] = hurstexponent(x)
2 % INPUT:
3 % x: vettore (riga o colonna) di lunghezza N
4 % OUTPUT:
5 % H: Hurst exponent di x
6 % RS: R/S (rescaled range)
7     N = length(x);
8     max_scale = floor(N/8);
9
10    RS = zeros(max_scale, 2);
11    for t = 1:max_scale
12        num_segm = floor(N/t);
13        segments = reshape(x(1:(num_segm*t)), t, num_segm);
14        segment_means = mean(segments);
15        Y = segments - segment_means;
16        Z = cumsum(Y);
17        segment_ranges = max(Z) - min(Z);
18        avg_range = mean(segment_ranges);
19        std_dev = std(x);
20        RS(t, 1) = t;
21        RS(t, 2) = avg_range/std_dev;
22    end
23
24    log_RS = log(RS);
25    p = polyfit(log_RS(:, 1), log_RS(:, 2), 1);
26    H = p(1); % pendenza della retta di regressione

```

27 end

Codice C.4: Funzione per il calcolo dello Hurst exponent.

Higuchi fractal dimension

```
1 function [xhfd, lnk, lnLk] = hfd(x, kmax)
2 % INPUT:
3 % x: vettore (riga o colonna) di lunghezza N
4 % kmax: valore massimo della scala k
5 % OUTPUT:
6 % xhfd: Higuchi fractal dimension di x
7 % lnk: log(k)
8 % lnLk: log(L(k))
9     if ~exist('kmax', 'var') || isempty(kmax)
10         kmax = 5;
11     end
12
13     N = length(x);
14     Lmk = zeros(kmax, kmax);
15     for k = 1:kmax
16         for m = 1:k
17             Lmki = 0;
18             for i = 1:fix((N-m)/k)
19                 Lmki = Lmki + abs(x(m+i*k) - x(m+(i-1)*k));
20             end
21             Ng = (N-1)/(fix((N-m)/k)*k);
22             Lmk(m,k) = (Lmki*Ng)/k;
23         end
24     end
25
26     Lk = zeros(1, kmax);
27     for k = 1:kmax
28         Lk(1,k) = sum(Lmk(1:k,k))/k;
29     end
30
31     lnLk = log(Lk);
32     lnk = log(1./[1:kmax]);
33     b = polyfit(lnk, lnLk, 1);
34     xhfd = b(1); % pendenza della linea
35 end
```

Codice C.5: Funzione per il calcolo dell'Higuchi fractal dimension.

Bibliografia

- [1] E. B. J. Coffey et al. «Evolving perspectives on the sources of the frequency-following response». In: *Nat. Commun.* 10 (2019), p. 5036. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13003-w>.
- [2] Richard A. F., Boris G. e Christine V. P. «Subcortical pathways: Towards a better understanding of auditory disorders». In: *Hearing Research* 362 (2018), pp. 48–60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2018.01.008>.
- [3] F. H. Martini et al. *Anatomia umana*. 5. ed. EdiSES, 2012. ISBN: 9788879597302.
- [4] K.S. Saladin e R. De Caro. *Anatomia umana*. Piccin-Nuova Libreria, 2021.
- [5] J. E Peelle. *Human Auditory Pathway*. 2018. URL: osf.io/u2gxc.
- [6] D. C. Peterson, V. Reddy e R. N. Hamel. «Neuroanatomy, Auditory Pathway». In: *StatPearls* (2023). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532311/>.
- [7] E. Skoe e Nina Kraus. «Auditory brain stem response to complex sounds: a tutorial». In: *Ear and hearing* 31 (2010), pp. 302–24. DOI: <https://doi.org/10.1097/AUD.0b013e3181cdb272>.
- [8] C. Olds e J. Oghalai. «Audiologic impairment associated with bilirubin-induced neurologic damage». In: *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 20 (gen. 2015). DOI: 10.1016/j.siny.2014.12.006.
- [9] J. Krizman e N. Kraus. «Analyzing the FFR: A tutorial for decoding the richness of auditory function». In: *Hearing Research* 382 (2019), p. 107779. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2019.107779>.
- [10] B. Heffernan, H. Dajani e C. Giguère. «Towards Developing a Brain-computer Interface for Automatic Hearing Aid Fitting based on the Speech-evoked Frequency Following Response». In: SciTePress—Science e Technology Publications, 2017, pp. 3–4.

BIBLIOGRAFIA

- [11] S. Anderson et al. «Aging Affects Neural Precision of Speech Encoding». In: *Journal of Neuroscience* 32.41 (2012), pp. 14156–14164. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.2176-12.2012](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2176-12.2012).
- [12] L. Roque et al. «Age Effects on Neural Representation and Perception of Silence Duration Cues in Speech». In: *Journal of Speech, Language, and Hearing Research* 62.4S (2019), pp. 1099–1116. DOI: [10.1044/2018_JSLHR-H-ASCC7-18-0076](https://doi.org/10.1044/2018_JSLHR-H-ASCC7-18-0076).
- [13] J. Krizman, S. Bonacina e N. Kraus. «Sex differences in subcortical auditory processing emerge across development». In: *Hearing Research* 380 (2019), pp. 166–174. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2019.07.002>.
- [14] J. H. Song, T. Nicol e Nina Kraus. «Test–retest reliability of the speech-evoked auditory brainstem response». In: *Clinical Neurophysiology* 122.2 (2011), pp. 346–355. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.07.009>.
- [15] D. Rishiq et al. «Click-evoked and speech-evoked auditory brainstem responses from individuals with multiple sclerosis». In: *Neuroscience Letters* 740 (2021), p. 135460. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135460>.
- [16] S. Hatzopoulos et al. «An Analysis of The Parameters Used In Speech ABR Assessment Protocols». In: *Journal of International Advanced Otology* 14 (2018), pp. 100–105. DOI: [10.5152/iao.2018.3574](https://doi.org/10.5152/iao.2018.3574).
- [17] S. Carcagno e C. Plack. «Subcortical Plasticity Following Perceptual Learning in a Pitch Discrimination Task». In: *Journal of the Association for Research in Otolaryngology : JARO* 12 (2010), pp. 89–100. DOI: [10.1007/s10162-010-0236-1](https://doi.org/10.1007/s10162-010-0236-1).
- [18] B. Chandrasekaran e N. Kraus. «The scalp-recorded brainstem response to speech: Neural origins and plasticity». In: *Psychophysiology* 47.2 (2010), pp. 236–246. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2009.00928.x>.
- [19] A. Fallatah e H. R. Dajani. «Accurate detection of speech auditory brainstem responses using a spectral feature-based ANN method». In: *Biomedical Signal Processing and Control* 44 (2018), pp. 307–313. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2018.05.007>.

- [20] G. M. Bidelman. «Multichannel recordings of the human brainstem frequency-following response: Scalp topography, source generators, and distinctions from the transient ABR». In: *Hearing Research* 323 (2015), pp. 68–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.01.011>.
- [21] A. E. Forte, O. Etard e T. Reichenbach. «The human auditory brainstem response to running speech reveals a subcortical mechanism for selective attention». In: *eLife* 6 (2017), e27203. DOI: 10.7554/eLife.27203.
- [22] N. Kraus et al., cur. *The Frequency-Following Response. A Window into Human Communication*. Vol. 61. Springer Cham, 2017, pp. 121–152. ISBN: 978-3-319-47942-2. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-47944-6>.
- [23] N. Kraus et al. «Auditory biological marker of concussion in children.» In: *Scientific reports* 6 (2016), p. 39009. DOI: 10.1038/srep39009.
- [24] J. Krizman et al. «Non-stimulus-evoked activity as a measure of neural noise in the frequency-following response». In: *Journal of Neuroscience Methods* 362 (2021), p. 109290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109290>.
- [25] E. B. J. Coffey, G. Musacchia e R. J. Zatorre. «Cortical Correlates of the Auditory Frequency-Following and Onset Responses: EEG and fMRI Evidence». In: *Journal of Neuroscience* 37.4 (2017), pp. 830–838. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1265-16.2016.
- [26] A. Maggu et al. «Learning Two Tone Languages Enhances the Brainstem Encoding of Lexical Tones». In: 2018, pp. 1437–1441. DOI: 10.21437/Interspeech.2018-2130.
- [27] N. Guo et al. «Speech frequency-following response in human auditory cortex is more than a simple tracking». In: *NeuroImage* 226 (2021), p. 117545. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117545>.
- [28] A. Tierney e N. Kraus. «The ability to move to a beat is linked to the consistency of neural responses to sound.» In: *Journal of Neuroscience* 33.38 (2013), pp. 14981–8. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0612-13.2013.
- [29] T. Ribas-Prats et al. «The frequency-following response (FFR) to speech stimuli: A normative dataset in healthy newborns». In: *Hearing Research* 371 (2019), pp. 28–39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2018.11.001>.

BIBLIOGRAFIA

- [30] A. Parbery-Clark et al. «Musical Training Enhances Neural Processing of Binaural Sounds». In: *Journal of Neuroscience* 33.42 (2013), pp. 16741–16747. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5700-12.2013.
- [31] L. Lin, A.S. Hedayat e W. Wu. *Statistical tools for measuring agreement*. 2012, pp. 1–161. DOI: 10.1007/978-1-4614-0562-7.
- [32] M. Mozaffarilegha et al. «Complexity-Based Analysis of the Difference Between Normal Subjects and Subjects with Stuttering in Speech Evoked Auditory Brainstem Response». In: *Journal of Medical and Biological Engineering* 39 (2019), pp. 490–497. DOI: 10.1007/s40846-018-0430-x.
- [33] M. Mozaffarilegha et al. «Identification of Dynamic Patterns of Speech-Evoked Auditory Brainstem Response Based on Ensemble Empirical Mode Decomposition and Nonlinear Time Series Analysis Methods». In: *International Journal of Bifurcation and Chaos* 26 (2016), pp. 1–14. DOI: 10.1142/S0218127416502023.
- [34] F. Zappasodi et al. «Fractal Dimension of EEG Activity Senses Neuronal Impairment in Acute Stroke». In: *PloS one* 9 (2014), e100199. DOI: 10.1371/journal.pone.0100199.
- [35] A. Delgado-Bonal e A. Marshak. «Approximate Entropy and Sample Entropy: A Comprehensive Tutorial». In: *Entropy* 21.6 (2019). DOI: 10.3390/e21060541.
- [36] S. Simons, D. Abasolo e J. Escudero. «Classification of Alzheimer’s disease from quadratic sample entropy of electroencephalogram». In: *Healthcare Technology Letters* 2.3 (2015), pp. 70–73. DOI: <https://doi.org/10.1049/htl.2014.0106>.
- [37] J. Yentes et al. «The Appropriate Use of Approximate Entropy and Sample Entropy with Short Data Sets». In: *Annals of biomedical engineering* 41 (2012), pp. 349–365. DOI: 10.1007/s10439-012-0668-3.
- [38] B. Qian e K. Rasheed. «Hurst exponent and financial market predictability». In: *IASTED conference on Financial Engineering and Applications*. Proceedings of the IASTED International Conference Cambridge, MA. 2004, pp. 203–209.
- [39] M. Rubega et al. «EEG Fractal Analysis Reflects Brain Impairment after Stroke». In: *Entropy* 23.5 (2021). DOI: 10.3390/e23050592.

- [40] F. Finotello, F. Scarpa e M. Zanon. «EEG Signal Features Extraction based on Fractal Dimension». In: vol. 2015. 2015, pp. 4154–7. DOI: 10.1109/EMBC.2015.7319309.
- [41] H. Namazi et al. «Analysis of the influence of memory content of auditory stimuli on the memory content of EEG signal». In: *Oncotarget* 7.35 (2016), pp. 56120–56128. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11234>.

Ringraziamenti

Al termine di questa tesi e del mio percorso universitario, vorrei esprimere la mia gratitudine a tutte le persone che sono state per me di fondamentale supporto e ispirazione. Innanzitutto, vorrei ringraziare il Prof. Giovanni Sparacino per la sua professionalità, la sua disponibilità e il suo sostegno, che hanno contribuito ad arricchire il mio approccio alla ricerca e a completare positivamente questo lavoro di tesi. Estendo il ringraziamento all'Ingegnere Giulio Dehesh, co-fondatore di Hedera Biomedics Srl, per l'opportunità datomi di partecipare al progetto e per tutti i suoi consigli, che sono stati per me fonte di ispirazione e genuina curiosità. Ringrazio, inoltre, ogni altra persona che in azienda ha fornito il proprio contributo alla ricerca. Sono grata ai miei genitori, Patrizia e Giuseppe, per essere i miei primi sostenitori, un esempio di sacrificio e costanti punti di riferimento. Ringrazio mio fratello Alberto perché, anche se sono la gemella più responsabile, senza di lui non conoscerei il senso più autentico della leggerezza e spensieratezza. Ringrazio le mie cugine del cuore, Federica e Carlotta, per essere le mie sorelle acquisite, fedeli confidenti e consulenti di moda, e tutta la mia Berni's family perché ovunque sono voi rimanete sempre la mia casa. Ringrazio Gaia, amica e compagna di stanza, per essere sempre stata un punto fermo durante l'intera permanenza padovana e non solo, per la tua bontà e per il tuo immenso altruismo. Sono davvero grata a tutte le mie amiche e i miei amici, storici e più recenti, perché in tutti questi anni siete stati un appoggio costante e fonte di sano divertimento. Ringrazio le mie coinquiline e gli amici dell'università, perché se a Padova lascio un pezzo del mio cuore è anche merito vostro. Infine, mi sento estremamente fortunata ad aver incontrato Chiara e Nicol, colleghe e amiche, nonché tra le mie persone preferite, che ringrazio di cuore perché hanno saputo capirmi più di quanto potessi fare io e per tutti i momenti che abbiamo trascorso insieme.