



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Fondi 5 per mille ANNO 2016
Abstract ed elenco pubblicazioni scientifiche

Ente della Ricerca Sanitaria
Denominazione Ente:
Associazione La Nostra Famiglia – IRCCS “Eugenio Medea”
Codice fiscale: 00307430132
Sede legale: Via Don Luigi Monza n. 1 – Ponte Lambro (Co)
Indirizzo di posta elettronica dell'ente: segreteria.scientifica@pec.emedea.it
Dati del rappresentante legale: Luisa Minoli nata il 14.01.1968 a Busto Arsizio (Va)
– CF: MNLLSU68A54B300V

Titolo del progetto: Analisi dei segnali EEG ad alta densità per la selezione dei pazienti con epilessia invalidante e farmaco-resistente per la chirurgia dell'epilessia

Abstract dei risultati ottenuti:

Razionale

Il presente progetto ha la finalità di utilizzare la metodica della elettroencefalografia (EEG) ad alta densità, per lo studio dell'attività neurale di pazienti con epilessia invalidante e farmaco resistente, allo scopo di ampliare con informazioni rilevanti il quadro diagnostico nella valutazione pre-chirurgica e nell'identificazione della zona epilettogena. L'EEG ad alta densità è un promettente strumento per lo studio non invasivo delle sorgenti corticali dell'attività ictale ed interictale, e sempre di più si sta diffondendo come strumento clinico applicato alla diagnostica pre-chirurgica dei pazienti con epilessia. Tuttavia, la semplice stima delle sorgenti corticali che generano l'attività ictale o interictale può non essere sufficiente per identificare la zona epilettogena. Infatti recenti studi hanno evidenziato come sia necessario anche esaminare la struttura comunicativa cerebrale, ovvero la connettività funzionale, durante le crisi o le scariche interictali (interictal epileptiform discharge-IED).

Alla luce di questo, nel presente progetto abbiamo utilizzato l'EEG ad alta densità, non solo per stimare la sorgente delle anomalie interictali, ma anche per investigare le dinamiche dell'organizzazione funzionale del cervello durante tali eventi, tenendo conto della loro evoluzione temporale.

Tali informazioni hanno quindi una grande rilevanza nella valutazione pre-chirurgica, in aggiunta al quadro diagnostico, aiutando il neurochirurgo nella sua scelta di operare, indicando quali siano i nodi che maggiormente stanno influenzando il funzionamento cognitivo del paziente con dirette ricadute sulla sua qualità di vita.

Obiettivi e risultati

Obiettivo- ricostruzione di sorgente anomalie epilettiformi

Come primo risultato si dimostra che la procedura di marcaggio manuale al picco dell'anomalia epilettiforme ha permesso una sincronizzazione delle epoche aumentando il rapporto segnale - rumore, ottenendo in questo modo un'anomalia epilettiforme media ottimale, che ha rappresentato il punto di partenza per la ricostruzione di sorgente.

Inoltre, sfruttando l'anatomia individuale ed il montaggio EEG ad alta densità, la ricostruzione spaziale della stima della sorgente corticale ha prodotto risultati focali, in concordanza con le ipotesi localizzative dell'equipe pre-chirurgica. La pipeline di analisi applicata ha generato una serie temporale per ogni indice della teoria dei grafi, che ha mostrato una modulazione sincronizzata con la presenza dell'anomalia epilettiforme, in specifiche bande di frequenza. Nello specifico, sono stati effettuati confronti statistici con t-test per campioni appaiati, confrontando i valori degli indici della teoria dei grafi nella finestra temporale pre-anomalia (Pre-IED) con la finestra che includeva l'anomalia epilettiforme (IED), ed infine anomalia (IED) vs. post-anomalia (Post-IED).

Obiettivo - Analisi delle dinamiche temporali degli indici di connettività

Risultati degli indici - Pre- anomalia vs. anomalia

L'analisi ha rivelato una perturbazione, dipendente dall'anomalia epilettiforme (IED), della dinamica degli indici locali relativi al nodo in cui è stata stimata la sorgente dello IED. In particolare, è stato rilevato un aumento significativo della forza di connessione (degree) nella banda theta, durante l'anomalia epilettogena rispetto al periodo Pre-IED ($t = -2.95$; $p = .022$; $c.i = [-11.94; -2.09]$), così come un aumento dell'efficienza dell'integrazione e dello scambio di informazioni con gli altri nodi della rete, riflesse negli indici di local efficiency ($t = -6.07$; $p < .001$; $c.i = [-0.14; -0.07]$) e clustering coefficient ($t = -5.69$; $p < .001$; $c.i = [-0.15; -0.07]$). Inoltre, è stato osservato un aumento significativo dell'integrazione delle informazioni in tutta la rete (global efficiency, $t = -8,60$; $p < .001$; $c.i = [-0,04; -0,02]$). Nella banda alfa è stata osservata una differenza significativa tra attività Pre-IED vs. IED nella forza delle connessioni (strength) ($t = -2.76$; $p = .033$; $c.i = [-8.41 -1.20]$), così come negli indici clustering coefficient ($t = -4.48$; $p < .001$; $c.i = [-0.10 -0.04]$), local ($t = -4.75$; $p < .001$; $c.i = [-0.09 -0.03]$) e global efficiency ($t = -4.76$; $p < .001$; $c.i = [-0.02 -0.008]$). Nella banda beta è stata individuata una modulazione esclusivamente nella global efficiency ($t = -4.05$; $p < .007$; $c.i = [-0.01 -0.003]$). Nessun risultato significativo è stato rilevato nella banda gamma (tutti $ps > .05$). Le soglie indicano la percentuale delle connessioni più forti incluse nella matrice. Se per esempio la soglia è del 20% significa che l'80% delle connessioni sono state poste a zero mantenendo solo il 20% di quelle più forti. L'applicazione di una soglia alla matrice di connettività permette di eliminare connessioni spurie che potrebbero generare falsi positivi. Tuttavia è importante ricordare che se viene applicata una soglia troppo alta il network potrebbe perdere la sua struttura. Per questo è importante investigare il comportamento del network con più soglie, allo scopo di comprendere quale sia il punto di equilibrio e la soglia appropriata da applicare al network.

Risultati degli indici - anomalia vs. Post- anomalia

La rappresentazione grafica della modulazione temporale degli indici dinamici della teoria dei grafi ed i contrasti statistici convergono nell'evidenziare una diminuzione dei valori degli indici locali e globali dopo l'offset dell'anomalia epilettiforme, come evidenziato da una differenza statisticamente significativa tra intervalli IED vs. Post-IED. Nella banda theta abbiamo osservato una maggiore ampiezza media degli indici di strength ($t = 3.04$; $p = .018$; $c.i = [2.20; 11.57]$),

clustering coefficient ($t = 6.57$; $p < .001$; $c.i = [0.07; 0.15]$), local efficiency ($t = 6.94$; $p < .001$; $c.i = [0.07; 0.13]$) e global efficiency ($t = 9.15$; $p < .001$; $c.i = [0.02; 0.04]$). Nella banda alfa si evidenzia un aumento del numero di connessioni (degree) del nodo in cui è stata ricostruita l'anomalia durante la scarica epilettiforme, solo a partire da una soglia del 30 % ($t = 2,70$; $p = .037$; $c.i = [1,37; 10,34]$). Alla soglia del 20% è stato osservato un aumento significativo nel periodo IED rispetto al Post-IED negli indici degree ($t = 3.21$; $p = .013$; $c.i = [1.67; 7.72]$), clustering coefficient ($t = 3.86$; $p = .003$; $c.i = [0.02; 0.09]$), local ($t = 4.25$; $p = .001$; $c.i = [0.03; 0.08]$) e global efficiency ($t = 4.88$; $p < .001$; $c.i = [0.01; 0.02]$). Nella banda beta abbiamo osservato solo una differenza IED vs. Post-IED nell'indice di global efficiency ($t = 3.46$; $p = .007$; $c.i = [0.002; 0.01]$). Nessun risultato significativo è stato identificato nella banda di frequenza gamma (tutti i p-valori $> .05$).

Obiettivo - differenze della riorganizzazione dei network (pazienti con epilessia temporale vs. controlli)

Flessibilità ed integrazione - livello dei nodi

Abbiamo osservato una differenza significativa nell'indice di flessibilità del gruppo di controllo rispetto ai pazienti con epilessia del lobo temporale, consistente in punteggi di flessibilità complessivamente più alti per il gruppo di controllo nelle bande delta, theta e alfa. Più specificamente, queste differenze sono state espresse principalmente a livello del solco intraparietale destro (right-IPS), della corteccia prefrontale ventrale e dorsale, del precuneo, della corteccia visiva e del polo temporale, così come della corteccia somato-motoria sinistra ($p < .05$). Al contrario, i pazienti con epilessia hanno mostrato una maggiore flessibilità del giro temporale superiore destro e dell'area motoria destra nelle bande delta, theta, beta e gamma ($p < .05$). Inoltre, nelle bande ad alta frequenza (vale a dire beta e gamma) è stato osservato un aumento della flessibilità nei pazienti con epilessia temporale anche nell'area motoria sinistra ($p < .05$). A differenza della flessibilità, l'indice di integrazione ha mostrato un punteggio più alto nei pazienti con epilessia temporale rispetto al gruppo di controllo nelle bande delta, theta e gamma. Queste differenze sono principalmente espresse nelle aree temporo-parietali, visive e sensorimotorie ($p < .01$).

Flessibilità e integrazione - Livello del network

Mediando valori di flessibilità ed integrazione attraverso i nodi che formano i 17 network a riposo utilizzati in questo studio, è stato possibile indagare le differenze tra i gruppi nel comportamento di specifici network cerebrali, fornendo un quadro più diretto ed intuitivo della connettività funzionale nei pazienti con epilessia del lobo temporale. I network utilizzati in questo studio si riferiscono ai 17 network corticali identificati da Yeo e colleghi (Yeo et al., 2018), che rappresentano pattern di attività organizzata del funzionamento del cervello a riposo, come ad esempio il celebre Default Mode Network (DMN). Alcuni di questi network sono stati correlati con specifiche funzioni cognitive a cui devono il loro nome, come ad esempio il network Attentivo (dorsale o ventrale), o quello di Controllo cognitivo. I risultati hanno evidenziato che il gruppo di controllo è caratterizzato da una maggiore flessibilità nei network che nella letteratura scientifica sono stati principalmente correlati con funzioni cognitive come l'attenzione e le funzioni esecutive. In particolare, il gruppo di controllo ha mostrato una maggiore flessibilità nelle bande delta, theta e alfa selettivamente per il network di Controllo, il DMN ed il Network Attentivo Dorsale (tutti i $p < .05$). Lo stesso comportamento è stato individuato nel network Somatomotorio e nel network visivo sia centrale che periferico ($p < .05$). È importante evidenziare come il network Somatomotorio mostri un aumento di flessibilità nei pazienti con epilessia temporale nelle bande

delta, beta e gamma, mentre l'aumento di flessibilità del network di Controllo è stato modulato esclusivamente nella banda beta ($p < .05$).

D'altra parte, l'indice di integrazione è caratterizzato da valori complessivamente più elevati nei pazienti con epilessia temporale in tutti i 17 network, ma solo nella banda theta ($p < .01$). Allo stesso modo, abbiamo osservato una differenza significativa tra i due gruppi nella banda gamma, comprendente la maggior parte dei network ($p < .01$) escludendo il Somatomotorio, il DMN, il network di Controllo, ed il network limbico. È interessante notare che i network temporo-parietali e di Controllo differiscono anche nella banda di frequenza delta.

Obiettivo -Relazione tra indici di riconfigurazione dei network e funzionamento cognitivo

Le analisi hanno rivelato correlazioni significative tra gli indici di integrazione nelle bande di frequenza delta e gamma da un lato, e i punteggi neuropsicologici dall'altro. In dettaglio, è stata osservata una correlazione significativa tra i punteggi di flessibilità cognitiva (Trail Making Test - TMT) e il valore medio di integrazione nella banda delta del network di Controllo ($r = .508$, $p = .022$), del network visivo centrale ($r = .534$, $p = .015$) così come del network attentivo dorsale ($r = .515$, $p = .019$). Una misura del funzionamento del controllo esecutivo ottenuto dalla differenza tra il tempo di esecuzione del TMT parte B - A, ha mostrato un comportamento simile rivelando correlazioni con gli stessi network (Controllo $r = .463$, $p = .039$; Attentivo dorsale $r = .460$, $p = .04$; network centrale visivo $r = .494$, $p = .027$).

Inoltre, la capacità di ricerca visiva misurata dal TMT, ha evidenziato una correlazione significativa con l'indice di integrazione del network Attentivo dorsale nella banda delta ($r = .454$, $p = .044$). È importante sottolineare che punteggi più alti al TMT, che sono indicativi di una ridotta flessibilità cognitiva, sono correlati a un più alto livello di integrazione. Infine, l'indice di integrazione nella banda gamma ha mostrato una correlazione significativa esclusivamente con il punteggio di richiamo differito del test della figura di Rey-Osterrieth nei network di Controllo ($r = -.674$, $p = .004$), Somatomotorio ($r = -.751$, $p < .001$) e Temporo-parietale ($r = -.498$, $p = .049$).

Conclusioni

I risultati evidenziati hanno permesso di far luce su diversi meccanismi neurofisiologici in relazione alle dinamiche dell'organizzazione funzionale dei network in epilessia. Inoltre, hanno permesso di utilizzare la connettività funzionale non solo in relazione al funzionamento fisiologico del cervello, ma anche in relazione alle funzioni cognitive da esso derivate.

Dalla prima parte dello studio è emerso come, durante le anomalie epilettogene interictali, la sorgente corticale aumenti non solo il numero delle sue connessioni, ma anche la forza di queste ultime e l'efficienza dello scambio di informazioni con le altre aree cerebrali. Inoltre è stato notato come questo pattern sia associato ad un aumento dello scambio ed integrazione dell'informazione, rendendo il nodo includente la sorgente dell'anomalia un nodo fondamentale nello scambio di informazioni nel network. Questo avviene specificatamente nelle bande theta ed alpha. Le bande a maggiore ampiezza d'onda sono infatti collegate allo scambio di informazione tra nodi distali del cervello. Dunque, i risultati suggeriscono che durante l'anomalia epilettiforme la zona irritativa aumenta le sue connessioni funzionali anche con nodi spazialmente più distanti. L'aumento di connessioni, nonché di scambio e di efficienza delle informazioni, rappresenta un meccanismo fisiologico in grado di spiegare come l'anomalia epilettica sia un processo che parte dalla zona irritativa e perturba il funzionamento globale del network cerebrale come osservato anche dalla modulazione della global efficiency.

I risultati riguardanti la dinamica temporale delle connessioni del network rappresentano anche un

potenziale strumento di discriminazione della zona epilettogena. Si può infatti facilmente immaginare uno scenario nel quale la ricostruzione di sorgente identifica un'attivazione diffusa in diversi nodi, anziché focalizzata. Dovendo individuare quale nodo del network (area cerebrale) andare a rimuovere chirurgicamente, lo studio della dinamica temporale degli indici di connettività può permettere di comprendere quale/i nodo/i perturbano maggiormente il sistema, guidando l'eventuale rimozione. Se si ipotizza che in due di tre nodi di un network diffuso non ci sia alcuna modulazione nel numero o forza delle connessioni e/o nell'efficienza di scambio ed integrazione con gli altri nodi, mentre questo succede nel terzo nodo, si potrà ipotizzare che sia quest'ultimo il nodo che maggiormente perturba il sistema cerebrale, identificandolo quindi come candidato per la rimozione chirurgica.

Lo studio dell'attività di sorgente ricostruita a partire dal segnale EEG ad alta densità, insieme allo studio della dinamica temporale della connettività ha permesso di analizzare la riconfigurazione dei network cerebrali nei pazienti con epilessia temporale. Sono stati calcolati due indici, ovvero la flessibilità e l'integrazione dei network. I risultati hanno evidenziato che i pazienti con epilessia presentano una ridotta flessibilità espressa al livello nodale nel solco intraparietale destro (right-IPS), corteccia prefrontale ventrale e dorsale, precuneo, corteccia visiva e polo temporale, così come nella corteccia somato-motoria sinistra. È importante sottolineare come, al contrario, i pazienti con epilessia temporale presentino un aumento di flessibilità nelle zone temporo-parietali, ovvero nodi dei network che con alta probabilità includono le zone epilettogene. Questo risultato è di particolare importanza poiché evidenzia, in concordanza con i risultati del primo studio, che i nodi che includono la zona epilettogena/irritativa hanno la proprietà di alterare il funzionamento del network cerebrale, non solo aumentando le connessioni e lo scambio di informazioni, come evidenziato precedentemente, ma anche aumentando il numero di moduli ai quali essi partecipano nel tempo. In accordo con questa ipotesi, i risultati evidenziano come in generale i pazienti presentano livelli più elevati di integrazione rispetto ai controlli, maggiormente espressi nelle zone temporo-parietali ed occipitali. L'integrazione è il valore medio di connessioni che un nodo ha con nodi appartenenti ad altri moduli. Questo suggerisce che i nodi che presentano una eccessiva flessibilità ed integrazione, avranno un maggiore impatto sull'organizzazione funzionale cerebrale, perturbando l'equilibrio di quest'ultima. Tale perturbazione può essere in grado di trainare il cervello verso uno stato di crisi epilettica o generare anomalie epilettiformi. Tale effetto ha una rilevanza anche al livello cognitivo. Infatti i risultati mostrano come l'aumento dei punteggi di integrazione dei network di Controllo, Attentivo dorsale, Somatomotorio e Temporo-parietale sia correlato nei pazienti con epilessia a più bassi livelli di funzionamento della memoria a lungo termine (misurata attraverso il Rey-Osterrieth Complex Figure Test), delle abilità di ricerca visiva (TMT-A), della flessibilità cognitiva (TMT-B) e delle funzioni esecutive (TMT-B-A).

Il quadro complessivo generato dai risultati ottenuti, indica come l'analisi di sorgente del segnale EEG registrato usando un montaggio ad alta densità, unitamente all'analisi della connettività dinamica al livello di sorgente, rappresentino delle procedure in grado di fornire in maniera non invasiva preziose informazioni riguardanti la zona epilettogena, di potenziale utilizzo nei processi diagnostici pre-chirurgici. Inoltre i livelli di flessibilità ed integrazione possono rappresentare un marker indicante l'impatto sul funzionamento cognitivo dei nodi che maggiormente perturbano il funzionamento basale del cervello, aiutando le ipotesi localizzative riguardanti le zone cerebrali da asportare.

Prodotti della Ricerca (correlati al progetto):

Elenco pubblicazioni su riviste indicizzate

- Duma, G. M., Danieli, A., Vettorel, A., Antoniazzi, L., Mento, G., & Bonanni, P. (2021). Investigation of dynamic functional connectivity of the source reconstructed epileptiform discharges in focal epilepsy: A graph theory approach. *Epilepsy Research*, 176, 106745. doi:10.1016/j.eplepsyres.2021.106745 pmid:34428725

Duma, G.M, Danieli, A., Mattar., M.G., Baggio., M., Bonanni, P., & Mento, G. Resting state network dynamic reconfiguration and neuropsychological functioning in temporal lobe epilepsy: an HD-EEG investigation. (2022). *Cortex*, under review

Data, 01/03/2022

Il Responsabile del Progetto
Dr. Paolo Bonanni



Il Legale Rappresentante
Dr.ssa Luisa Minoli



Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante
Dr.ssa Luisa Minoli

