



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

Fondi 5 per mille ANNO 2018
Abstract ed elenco pubblicazioni scientifiche

Ente della Ricerca Sanitaria

Denominazione Ente: IRCCS E. Medea dell’Associazione La Nostra Famiglia

Codice fiscale: 00307430132

Sede legale: via don Luigi Monza, 1 22037 Ponte Lambro (Co)

Indirizzo di posta elettronica dell'ente: segreteria.scientifica@pec.emedeia.it

Dati del rappresentante legale: Luisa Minoli, nata il 14.01.1968 a Busto Arsizio (VA)

CF: MNLLSU68A54B300V

Titolo del progetto: Tecniche sperimentali e integrate per l'individuazione precoce del disturbo dello spettro autistico

Abstract dei risultati ottenuti:

L’obiettivo del presente progetto è stato quello di indagare le abilità di integrazione visuo-uditiva mediante tecniche sperimentali, quali l’elettroencefalogramma – EEG e l’eyetracking, in un campione longitudinale di bambini ad alto rischio, perché fratellini di bambini con diagnosi di autismo, confrontati con bambini a sviluppo tipico. Inoltre, è stato indagato il ruolo predittivo di queste precoci abilità sullo sviluppo successivo. Il progetto ha coinvolto un campione longitudinale di 104 fratelli di bambini con diagnosi di autismo (HR-ASD) e 74 bambini a sviluppo tipico (TD), valutati a livello neurofisiologico, comportamentale e clinico a 6, 12, 18, 24 e 36 mesi di vita.

Si riportano i prodotti della Ricerca relativamente a:

1. Protocollo clinico di valutazione del neurosviluppo
2. Paradigma sperimentale di valutazione delle abilità di integrazione visuo-uditiva tramite tecnica integrata EEG-eyetracking
 - 2.1 Risultati di pupillometria
 - 2.2 Risultati EEG

Prodotti della Ricerca (correlati al progetto):

1. Protocollo clinico di valutazione del neurosviluppo

L'intero campione ha ricevuto una valutazione del neurosviluppo attraverso una batteria di test standardizzati per l'indagine delle abilità cognitive, socio-comunicative, linguistiche e sensoriali.

Di seguito i test utilizzati:

- Griffiths Mental Developmental Scales -Extended Revision (GMDS-ER) – *Griffiths, 1996*
- Autism Diagnostic Observation Schedule-Second Edition (ADOS-2) – *Lord et al., 2012*
- Vineland Adaptive Behavior Scales – II (VABS-II) – *Sparrow et al., 2016*
- Primo vocabolario del bambino (PVB) – *Caselli e Casadio, 1995*
- Modified Checklist for Autism in Toddlers (M-CHAT) – *Robins, 2001*
- Child Behavior Checklist (CBCL) – *Achenbach, 2001*
- Questionari Italiani del Temperamento (QUIT) – *Axia, 2002*
- Sensory Profile 2 (SP2) – *Dunn, 2014*
- Parenting Stress Index (PSI) – *Abidin, 2008*

Nell tabella che segue (Tabella 1) sono riportati i risultati delle statistiche descrittive (medie e deviazioni standard) nei due gruppi (HR-ASD e TD) relativamente alle misure cliniche raccolte

	Bambini ad alto rischio (HR-ASD) N = 104					Bambini a sviluppo tipico (TD) N = 74				
	T6 Media (DS)	T12 Media (DS)	T18 Media (DS)	T24 Media (DS)	T36 Media (DS)	T6 Media (DS)	T12 Media (DS)	T18 Media (DS)	T24 Media (DS)	T36 Media (DS)
GMDS – ER DQ Total^a	103.98 (9.80)	94.89 (11.94)	96.79 (13.67)	99.79 (17.45)	97.74 (15.47)	108.48 (8.23)	104.28 (9.54)	107.58 (7.58)	109.63 (6.37)	---
ADOS – 2 CSS Total^b	---	---	3.19 (2.05)	3.40 (2.75)	2.07 (1.65)	---	---	---	---	---
VABS – II DQ Total^a	---	85.57 (7.85)	97.22 (10.82)	96.48 (11.37)	89 (11.36)	---	---	---	---	---
PVB Pct Produzione	---	40.08 (27.44)	37.94 (29.32)	39.80 (32.31)	61.54 (31.84)	---	52 (26.03)	52.17 (29.45)	55.45 (27.47)	---
M-CHAT Item Falliti	---	---	1.15 (1.92)	---	---	---	---	0.73 (0.95)	---	---
CBCL Pervasive^c	---	---	52.05 (4.46)	51.85 (4.14)	51.11 (3.37)	---	---	50.61 (2.56)	50.32 (0.57)	50.67 (0.58)
CBCL Withdrawn^c	---	---	51.86 (4.67)	52.43 (4.61)	51.04 (2.82)	---	---	50.82 (2.24)	50.45 (1.30)	52 (3.46)
QUIT Positive emotionality^d	0.20 (1.14)	-0.16 (1.10)	-0.33 (1.16)	-0.23 (1.28)	-0.69 (1.22)	0.44 (1.05)	-0.07 (0.86)	-0.04 (1.01)	-0.09 (0.90)	0.66 (1.00)
QUIT Negative emotionality^d	-1.14 (1.17)	0.15 (0.93)	0.11 (0.87)	0.14 (0.87)	0.60 (1.10)	-0.79 (1.01)	0.57 (0.62)	0.71 (0.67)	0.59 (0.64)	0.86 (0.87)
SP2 Seeking^d	-2.06 (1.55)	-1.89 (1.30)	-2.33 (1.07)	-1.54 (1.05)	-2.19 (0.80)	-0.98 (1.12)	-1.14 (1.33)	-1.61 (1.37)	-1.19 (0.99)	-1.83 (0.98)
SP2 Avoiding^d	-0.25 (0.77)	-0.15 (0.78)	-0.15 (1.22)	-0.31 (0.83)	-0.54 (0.53)	-0.28 (0.42)	-0.14 (0.47)	-0.26 (0.88)	-0.43 (0.29)	-0.47 (0.20)
SP2 Sensitivity^d	-0.66 (0.85)	-0.18 (0.75)	-0.07 (1.10)	-0.28 (0.63)	-0.35 (0.48)	-0.36 (0.56)	-0.11 (0.54)	-0.31 (0.55)	-0.35 (0.35)	-0.06 (0.55)
SP2 Registratio^d	-0.52 (0.76)	-0.39 (0.45)	-0.39 (0.63)	-0.37 (0.60)	-0.45 (0.32)	-0.47 (0.36)	-0.34 (0.31)	-0.45 (0.52)	-0.39 (0.33)	-0.22 (0.19)
PSI pct Total	39.87 (31.64)	41.83 (31.74)	45.02 (28.71)	44.26 (32.72)	46.07 (35.81)	40.58 (31.70)	47.23 (32.37)	46.15 (34.01)	47.33 (26.81)	35 (20.00)

^a I punteggi di quoziente di sviluppo (DQ) hanno media pari a 100 e deviazione standard pari a 15

^b Il Calibrate Severity Score (CSS) è una scala da 1 a 10 e riflette i rispettivi livelli di rischio di autismo (CSS tot 1-3 = rischio lieve; CSS 4-5 = rischio moderato; CSS 6-10 = rischio severo)

^c I punteggi T hanno media pari a 50 e deviazione standard pari a 10

^d I punteggi z (z-scores) hanno media pari a 0 e deviazione standard pari a 1

--- test non previsto per quella fascia d'età

2. Paradigma sperimentale di valutazione delle abilità di integrazione visuo-uditiva tramite tecnica integrata EEG-eyetracking

Il presente studio ha incluso un campione di 41 bambini ad alto rischio di disturbo dello spettro autistico (HR-ASD), di cui 22 maschi e 19 femmine, e un campione di 35 bambini a sviluppo tipico (TD), di cui 18 maschi e 17 femmine, valutati a 18 mesi di vita.

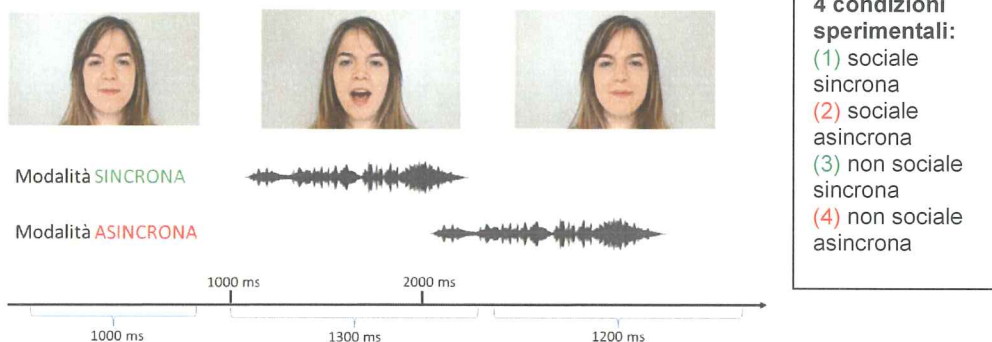
Il paradigma ha previsto la presentazione di video sociali (volto che parla) e video non sociali (immagini di oggetti dinamici) in modalità sincrona e asincrona (vedi Figura 1).

La somministrazione di questo paradigma sperimentale ha previsto la metodologia eye-tracking (Tobii ProSpectrum) con frequenza di campionamento a 300 Hz e un sistema HD-EEG Geodesic a 128 canali. La tecnica integrata EEG+eye-tracking ha permesso di associare la risposta elettrofisiologica con il dato comportamentale di posizione dello sguardo del bambino sullo stimolo visivo presentato.

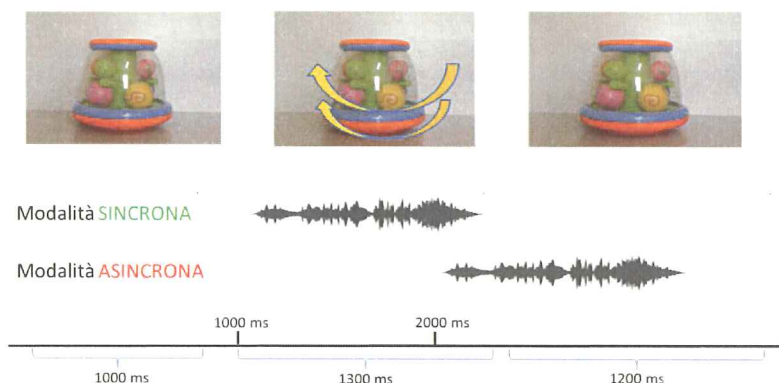
In particolare, è stato implementato un codice MATLAB per verificare, utilizzando i dati di eye-tracking, in quali trials il bambino guarda lo stimolo per una durata di almeno 700 millisecondi (> 20% dello stimolo). La raccolta del dato eye-tracking ha permesso di ottenere una maggiore validità relativa ai dati EEG grazie alla presenza di una misura oggettiva della posizione dello sguardo del bambino durante la presentazione degli stimoli.

Figura 1. Rappresentazione grafica del paradigma sperimentale

(1) SOCIALE



(2) NON SOCIALE



2.1 Risultati di pupillometria

Per l'analisi dei dati di pupillometria, è stato seguito un processo di pre-processing strutturato, articolato in due fasi principali: l'esclusione dei trial e la correzione della baseline.

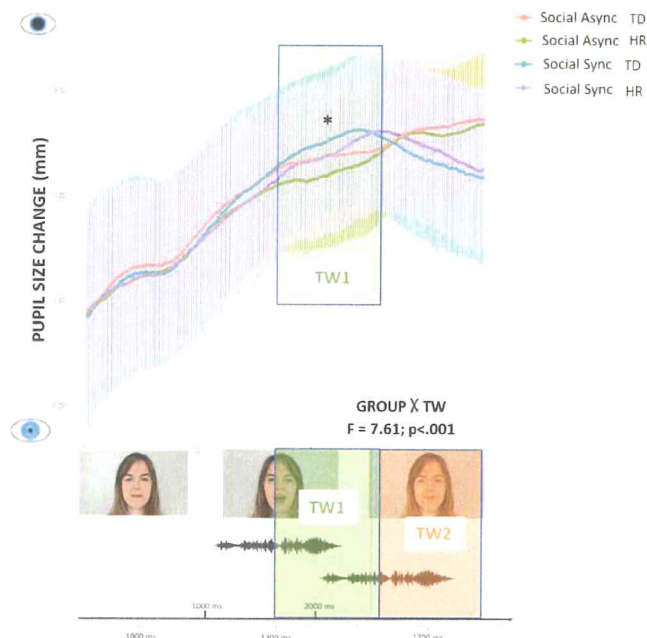
È stata condotta un'Analisi della Varianza (ANOVA) a Misure Ripetute per indagare le differenze nel diametro pupillare nei due gruppi (HR-ASD e TD) per le diverse condizioni.

Nello specifico, il trial considerato ha una durata complessiva di 3500 ms e per le analisi sono state esaminate due finestre temporali: una Time Window 1 (TW1) da 2000 ms a 2750 ms e una Time Window 2 (TW2) da 2750 ms a 3500 ms (vedi Figura 2).

È stato quindi considerato il fattore TW (2 livelli: TW1 e TW2), la condizione SOCIALITÀ (2 livelli: Sociale e Non Sociale) e la condizione SINCRONIA (2 livelli: Sincrono e Asincrono) come fattori entro soggetti (*within subjects*) e il fattore GRUPPO (2 livelli: HR-ASD e TD) come fattore tra soggetti (*between subjects*).

I risultati mostrano un effetto di interazione Time-Window x Socialità x Gruppo significativo ($F(1,76) = 4.058, p = .04$). Nello specifico, solo nella condizione sociale, i bambini ad alto rischio (HR-ASD) mostrano una minor ampiezza del diametro pupillare nella TW1 rispetto al gruppo di bambini TD (vedi figura 2)

Figura 2. Risposta pupillare nei gruppi HR-ASD e TD a 18 mesi nella condizione Sociale

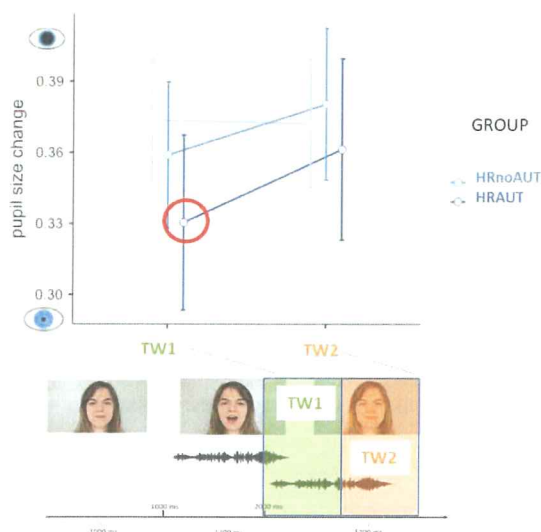


A 24 mesi l'intero campione è stato rivalutato con strumenti standardizzati per la valutazione del profilo sociale e comunicativo.

A seguito della valutazione, il campione dei fratellini (HR) è stato diviso in bambini con e senza sintomi autistici (HRAUT e HRnoAUT) secondo il cutoff clinico dell'ADOS (Punteggio di severità ≥ 6).

I risultati mostrano un effetto di interazione TW x Socialità x Gruppo significativo ($F(1,76) = 5.196, p = .034$); nello specifico i bambini che manifestano successivi sintomi autistici a 24 mesi (HRAUT) sono quelli che manifestano una minor dilatazione pupillare nella TW1 a 18 mesi per gli stimoli Sociali rispetto ai bambini a sviluppo tipico ($p < .01$; vedi Figura 3).

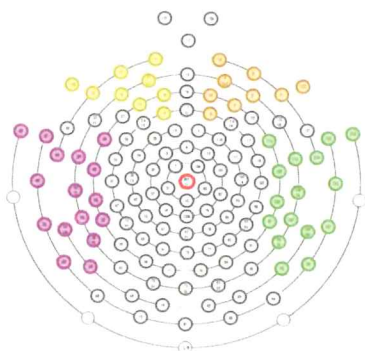
Figura 3. Risposte pupillari nei gruppi suddivisi rispetto alla valutazione clinica a 24 mesi nella condizione sociale



2.2 Risultati EEG

Il pre-processing del segnale EEG è stato effettuato tramite il software MATLAB e utilizzando la pipeline validata Maryland Analysis of Developmental EEG - MADE (Debnath et al., 2020). Il primo step del pre-processing consiste nell'applicazione di un filtro passa alto (High-pass) a 1Hz e un filtro passa basso (Low-pass) a 47Hz che ha permesso di rimuovere le frequenze (da 45Hz a 55Hz) contaminate dall'attività elettrica dei circuiti (rumore elettrico). Vengono quindi esclusi dal set di dati i canali privi di segnale o eccessivamente artefatti e quindi applicato sui restanti un algoritmo di Independent Component Analysis (ICA) sviluppato per l'eliminazione delle componenti artefattuali. Utilizzando il tool adjusted-ADJUST (Leach et al., 2020) vengono eliminate le componenti che sono riconducibili ad artefatti. Infine, viene effettuato un re-reference rispetto alla media degli elettrodi ed una correzione della baseline considerando come finestra temporale su cui calcolare la baseline i 100 ms che precedono la presentazione degli stimoli. In seguito il segnale neurofisiologico è stato analizzato per estrarre indici di potenza nelle bande di frequenza theta (4–7) Hz nelle aree frontali e temporali.

Figura 4. Raggruppamento dei canali nell'area frontale e temporale



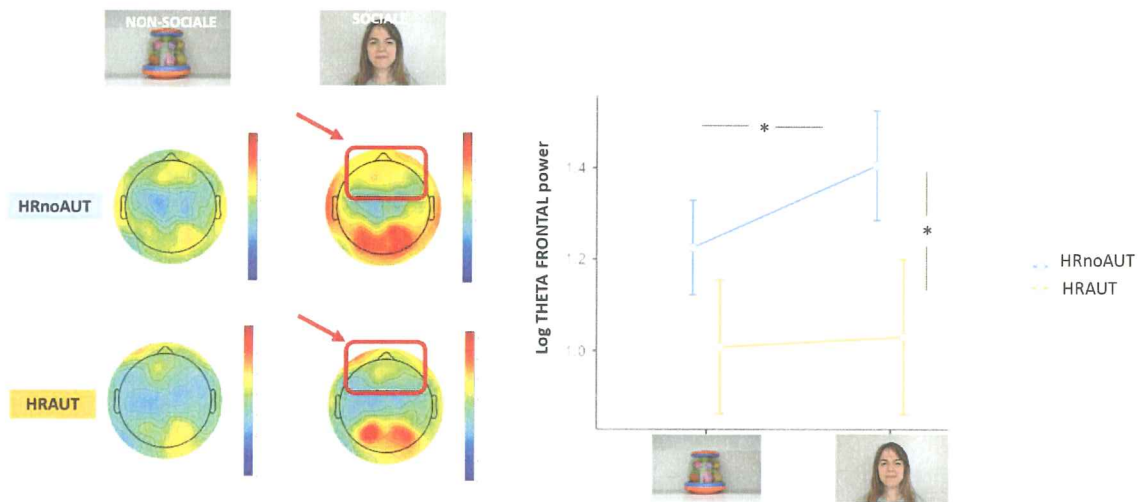
È stata condotta un'Analisi della Varianza (ANOVA) a Misure Ripetute per indagare le differenze nel power della banda theta nei gruppi clinici (HRAUT e HRnoAUT) per le diverse condizioni nelle diverse aree cerebrali.

È stato quindi considerato la condizione SOCIALITÀ (2 livelli: Sociale e Non Sociale), la condizione SINCRONIA (2 livelli: Sincrono e Asincrono) e l'area (2 livelli: frontale e temporale) come fattori entro soggetti (*within subjects*) e il fattore GRUPPO (2 livelli: HRAUT e HRnoAUT) come fattore tra soggetti (*between subjects*).

I risultati mostrano un effetto di interazione Socialità x Gruppo significativo ($F(1,76) = 3.020, p =$

.043). Nello specifico i bambini che manifestano successivi sintomi autistici a 24 mesi (HRAUT) sono quelli che manifestano una minor potenza nella banda theta (area frontale) negli stimoli sociali rispetto ai bambini senza segni autistici a 24 mesi (Figure 5).

Figura 5. Topoplots relativi alla potenza nella banda theta nei bambini ad alto rischio con e senza successivi segni clinici di autismo.



Questi dati suggeriscono come esista una differente base neurale e fisiologica nelle precoci abilità di integrazione visuo-uditiva sociale e non sociale già nei primi anni di vita del bambino maggiormente a rischio per autismo. L'elaborazione di questi risultati, nonché la raccolta di ulteriori dati tramite l'utilizzo di queste tecniche sperimentali potranno costituire una base scientifica per realizzare interventi tempestivi in età precoce nel campo del Disturbo dello Spettro Autistico.

Elenco pubblicazioni su riviste indicizzate

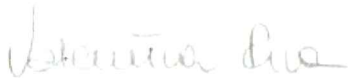
- Capelli, E., Crippa, A., Riboldi, E.M., Beretta C., Siri, E., Cassa, M., Molteni, M., Riva, V.* (2024) Prospective interrelation between sensory sensitivity and fine motor skills during the first 18 months predicts later autistic features. *Developmental Science* <https://doi.org/10.1111/desc.13573>
- Stefanelli, G., Pili, M. P., Crifaci, G., Capelli, E., Beretta, C., Riboldi, E. M., Billeci, L., Cantiani, C., Molteni, M., & Riva, V.* (2024). Pupillary responses for social versus non-social stimuli in autism: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 166, 105872. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2024.105872>
- Falivene, A., Cantiani, C., Dondena, C., Riboldi, E.M., Riva, V., Piazza, C. (2024) EEG Functional Connectivity Analysis for the Study of the Brain Maturation in the First Year of Life; *Sensors* 24(15), 4979; <https://doi.org/10.3390/s24154979>
- Bettoni, R., Cantiani, C., Riboldi, E. M., Molteni, M., Bulf, H., & Riva, V (2024). Visual statistical learning in preverbal infants at a higher likelihood of autism and its association with later social communication skills. *PLoS one*, 19(5), e0300274. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300274>
- Piazza, C., Dondena, C., Riboldi, E. M., Riva, V.*, Cantiani, C.* (2023). Baseline EEG in the first year of life: Preliminary insights into the development of autism spectrum disorder and language impairments. *iScience*, 26(7), 106987. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106987>

-Riboldi, E. M., Capelli, E., Cantiani, C., Beretta, C., Molteni, M., & Riva, V.* (2024). Differentiating early sensory profiles in toddlers at elevated likelihood of autism and association with later clinical outcome and diagnosis. *Autism: the international journal of research and practice*, 28(7), 1654–1666. <https://doi.org/10.1177/13623613231200081>

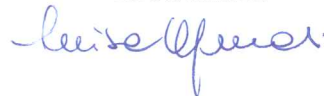
- Riva, V., Villa, L., Fulceri, F., Arduino, G. M., Leonti, G., Valeri, G., Casula, L., Zoccante, L., Puttini, E., Sogos, C., Presicce, M., Bentenuto, A., Apicella, F., Molteni, M., & Scattoni, M. L. (2024). The teleNIDA: Early Screening of Autism Spectrum Disorder Through a Novel Telehealth Approach. *Journal of autism and developmental disorders*, 54(5), 1680–1690. <https://doi.org/10.1007/s10803-023-05927-6>

Data 03/10/2024

Il Responsabile del Progetto
Dr.ssa Valentina Riva



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

