



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia Generale

**Corso di laurea magistrale in Neuroscienze e
Riabilitazione Neuropsicologica**

Tesi di laurea magistrale

**Dinamiche dei network corticali e
correlati neuropsicologici nell'epilessia
del lobo temporale: uno studio resting
state EEG ad alta densità**

**Cortical network dynamics and
neuropsychological correlates in
temporal lobe epilepsy: a resting state
high density EEG study**

Relatore

Prof. Giovanni Mento

Correlatore esterno

Dott. Gian Marco Duma

Laureanda/o:

Alessandro

Bettinzana

Matricola:

1230602

Anno Accademico 2021/2022

Indice

1. Introduzione.....	1
1.1 – Epilessia: quadro generale.....	1
1.1.1 - Classificazione tipi di epilessia	4
1.1.2 - Diagnosi.....	8
1.1.3 - Trattamento e prognosi	11
1.1.4 - Epilessia del lobo temporale.....	12
1.1.5 - Epilessia, neuropsicologia ed analisi anatomico-funzionali: epilessia come disturbo del network	17
1.2 Connettività funzionale.....	20
1.2.1 - Connettività funzionale: panoramica.....	20
1.2.2 - Cervello come sistema complesso e graph theory	25
1.2.3 - Connettività funzionale in epilessia	35
1.2.4 Scopi della ricerca	39
2. Metodo.....	43
2.1 - Partecipanti	43
2.2 - Punteggi neuropsicologici.....	43
2.3 - Resting-state EEG	43
2.4 - Pre-processing dei dati EEG	43
2.5 - Modellamento delle sorgenti corticali	44
2.6 - Connettività funzionale dinamica e calcolo degli indici.....	45
2.6.1 - Flessibilità	46
2.6.2 - Integrazione	46
2.7 - Analisi statistica	47
3. Risultati	49
3.1 - Flessibilità e Integrazione: analisi a livello del nodo.....	49
3.2 - Flessibilità e Integrazione: analisi a livello del network.....	49
3.3 - Risultati di correlazione	51
4. Discussione	53
4.1 – Considerazioni finali	53
4.2 - Limiti metodologici	56
Bibliografia	59

1. Introduzione

1.1 – Epilessia: quadro generale

L'epilessia è una delle condizioni neurologiche più comuni e disabilitanti fra quelle conosciute e studiate. L'incidenza stimata è di circa 50 nuovi casi ogni anno su 100.000 persone (Stafstrom & Carmant, 2015; Hauser & Harsdorffer, 1990). Circa lo 0,5-1% della popolazione soffre di questa complessa sindrome, con una prevalenza di 5-10 casi per 1000 abitanti (Allone et al., 2017; van Mierlo et al., 2014) e in un caso su tre l'epilessia si caratterizza come refrattaria, cioè farmacoresistente, oppure si ripresenta dopo tentativi di operazione chirurgica volta alla sua eliminazione una volta trovata la sede d'interesse, sia essa emisferectomia, recisione del corpo calloso o rimozione della porzione epilettogena (Muldoon et al., 2018; Scheid et al., 2021; Tellez-Zenteno & Ronquillo, 2012). Non è ancora chiaro cosa determini l'insuccesso della rimozione chirurgica della porzione epilettogena, ma i dati di neuroimmagine ed elettrofisiologici suggeriscono che le anomalie distribuite ed estese possano influenzarne il risultato e l'efficacia dell'operazione (Bernhardt et al. 2013).

È inoltre significativo notare come nel 75% dei casi l'epilessia cominci a presentarsi durante l'infanzia, un periodo in cui il cervello è in fase di sviluppo e quindi anche fortemente vulnerabile (Stafstrom & Carmant, 2015; Dinkelacker et al., 2016, Holmes & Ben-Ari, 2000). L'incidenza di crisi nei bambini è infatti significativamente più alta che negli adulti, con eccezione degli anziani che superano i 65 anni, con l'incidenza maggiore durante i primi due anni di vita (Holmes & Ben-Ari, 2000; van Mierlo et al., 2014). La presenza di continue anomalie epilettiformi nel tracciato elettroencefalografico, infatti, può mettere a repentaglio lo sviluppo cerebrale nell'infanzia, influenzando su cognizione e maturazione del cervello (Dinkelacker et al., 2016). L'anatomia cerebrale dei pazienti con epilessia in età pediatrica è caratterizzata da alterazioni nei normali indici di integrità di materia grigia (come spessore corticale) e bianca, che si associano a deficit neuropsicologici. L'epilessia focale in sede frontale è spesso associata a deficit delle funzioni esecutive (fluenza verbale, pianificazione visuo-spaziale, coordinazione motoria fine, accompagnati da deficit attentivi), laddove un ridotto funzionamento delle capacità

mnestiche (memoria semantica, episodica autobiografica) è osservato con maggiore incidenza nelle epilessie del lobo temporale (Smith, 2016).

La International League Against Epilepsy (ILAE) definisce l'epilessia come una condizione caratterizzata da due o più crisi epilettiche ricorrenti durante un periodo superiore alle 24 ore, provocata da cause non immediatamente identificate (Tellez-Zenteno & Ronquillo, 2012).

L'epilessia si caratterizza al primo e immediato livello di analisi per la presenza di crisi spontanee di natura epilettica. Una crisi è un periodo di anormale eccitazione sincrona di una estesa popolazione di neuroni (Scharfman, 2007). La crisi genera una distorsione del normale equilibrio tra eccitazione ed inibizione nell'attività elettrica del cervello (Holmes & Ben-Ari (2000) portando ad alterazioni nella normale neurofisiologia cerebrale, con effetti a cascata, spesso irreversibili, su vari domini, da quello funzionale a quello strutturale-anatomico. L'alterazione può essere acquisita (per esempio nell'alterazione del network ippocampale in seguito ad un trauma cranico) oppure congenita o causata da anomalie genetiche, e può interessare diversi livelli di funzionamento, dalla connettività sinaptica a quello dell'attività recettoriale e dei canali ionici (Lenck-Santini & Scott, 2015; Scharfman, 2007). Le alterazioni a livello fisiologico e molecolare interessano il genoma, l'espressione genica, le caratteristiche dei recettori e i peptidi, e queste alterazioni sono associate non solo all'insorgenza delle crisi, ma alle anomalie funzionali sottostanti alle difficoltà cognitive (Lenck-Santini & Scott, 2015). I meccanismi che determinano l'insorgere, il propagarsi e, ancora di più, la terminazione delle crisi, rimangono ad ora tuttavia largamente sconosciuti e non compresi (Bui et al., 2015).

L'epilessia si presenta con un quadro clinico complesso e che manifesta molto più delle sole crisi ricorrenti. Vi è un grado di comorbidità con altri disordini, di natura comportamentale e/o psichiatrica, per esempio depressione, ansia, difficoltà nell'apprendimento, deficit di attenzione, problemi di iperattività, disabilità cognitiva. La depressione, in particolare, è molto frequente in pazienti affetti da epilessia; si stima che al 30% degli adulti con epilessia venga diagnosticato un quadro depressivo, e al 10% dei pazienti, una diagnosi di disturbo bipolare. Com'è intuibile, l'associazione tra depressione ed epilessia si manifesta in modo bidirezionale, creando un circolo vizioso (Kanner, 2013; Strafstrom & Carmant, 2015). Alla depressione inoltre sono spesso associate anomalie funzionali e strutturali nelle zone amigdoilee ed ippocampali, aree che

sono a loro volta spesso alterate nei circuiti epilettici (Thom et al., 2009).

Queste manifestazioni psichiatriche erano considerate un tempo secondarie all'effetto dei farmaci antiepilettici e/o alle crisi incontrollate, ma ora sono riconosciute come parte integrante dello spettro epilettico. Il disturbo del network neuronale quindi si configura come complesso e stratificato e, come mostrato da alcuni studi, perfino singole crisi isolate possono alterare il neurosviluppo modificando l'espressività e la distribuzione dei recettori, questo pure in assenza di morte neuronale, comportando quindi cambiamenti di natura cognitiva e comportamentale, oltre che neurofunzionale (Cornejo et al. 2007, Strafstrom & Carmant, 2015).

Come traspare da questa breve rassegna, l'epilessia è una condizione neurologica fortemente disabilitante che va trattata con estrema cura, sia per le alterazioni del neurosviluppo e del normale assetto neurale che l'accompagnano, che per i disagi immediatamente quotidiani. Per esempio, la condizione definita di crisi d'assenza può far sorgere anche centinaia di crisi al giorno, le quali si accompagnano a periodi di amnesia memoria anterograda fino a 4-15 secondi prima dell'inizio della crisi, o ancora, le crisi complesse, comportando anche una perdita di coscienza e l'insorgenza di movimenti corporei e contrazioni muscolari improvvise e violente, richiedono che i soggetti a rischio di epilessia siano tenuti monitorati e sotto controllo per la loro salute e incolumità.

Come si vedrà in seguito, le condizioni epilettiche si accompagnano a deficit di natura cognitiva più o meno marcati a seconda di fattori quali la localizzazione della sede epilettogena, la frequenza delle crisi e durata delle crisi; semplificando: dove e da/per quanto tempo il cervello è esposto a questa condizione di attività alterata (Allone et al, 2017; Smith, 2016; Lenck-Santini & Scott, 2015).

Tutti questi cambiamenti di natura cognitiva e comportamentale sono critici nel determinare una riduzione nella qualità di vita osservata in pazienti con epilessia (Lenck-Santini & Scott, 2015).

Appare evidente la necessità di sviluppare dei migliori marker e strumenti per la diagnosi e il riconoscimento dell'epilessia, oltre (e per) lo sviluppo di trattamenti volti al suo trattamento.

1.1.1 - Classificazione tipi di epilessia

Nel 2010 l'International League Against Epilepsy (ILAE) ha proposto una classificazione dei tipi di crisi ed epilessie più moderna, con terminologia rivisitata e una suddivisione basata su teorie e concetti più rappresentativi dell'attuale panorama scientifico (Allone) Nella più recente classificazione, i tipi di crisi che accompagnano la condizione dell'epilessia sono divisi in tre categorie principali: generalizzate, focali (precedentemente chiamate parziali) e spasmi epilettici. Ad un primo e macroscopico livello di descrizione, si può indicare come l'epilessia focale origini da aree di un singolo emisfero cerebrale, mentre le crisi generalizzate mostrino una distribuzione bilaterale nel cervello. Una crisi può iniziare focalmente e in seguito generalizzarsi e coinvolgere anche l'intero cervello (Smith, 2016; Allone et al., 2017). È inoltre importante notare come le crisi epilettiche non intacchino solo la corteccia cerebrale, ma anche le strutture sottocorticali. Studi hanno mostrato un coinvolgimento importante di strutture sottocorticali come il talamo, i nuclei della base, il cervelletto, porzioni del tronco encefalico (es. tegmento) nella genesi e nella diffusione delle crisi, o anche nel loro mantenimento, e nelle manifestazioni comportamentali e cliniche secondarie riscontrate nelle epilessie (Taylor, 2003; Norden & Blumenfeld 2002; Blumenfeld & Taylor 2003). In particolare, l'alterazione di attività nel talamo e il tronco encefalico, aree che regolano l'eccitabilità corticale, potrebbero influenzare la soglia di generazione delle crisi, mentre i nuclei della base sembrerebbero coinvolti nei fenomeni di distonia ictale.

I cambiamenti neurofunzionali diffusi possono quindi alterare l'attività anche in queste strutture che apparentemente sembrerebbero distanti o risparmiate dal fuoco epilettogeno (Norden & Blumenfeld 2002).

Per quanto riguarda i sottotipi delle crisi generalizzate, vengono solitamente indicate le crisi di assenza, le crisi di tipo tonico-clonico, le crisi miocloniche e infine quelle atoniche.

Nelle prime, chiamate in passato petit mal, la persona entra in uno stato di non-responsività rispetto a segnali esterni, verbali o di stimolazione sensoriale; l'assenza, appunto. Tipicamente le crisi d'assenza consistono in brevi episodi di non-responsività, in cui la persona mostra uno sguardo fisso e perso nel vuoto. Tipicamente, la persona non ricorda l'evento dopo la sua insorgenza (Kostopoulos, 2001). Queste crisi durano solitamente meno di una decina di secondi e sono molto comuni soprattutto durante

l'infanzia. A livello elettroencefalografico sono accompagnate da scariche spike-wave a 3-4 Hz, solitamente con predominanza frontale (Kostopoulos, 2001; Allone et al, 2017). Studi umani e animali suggeriscono inoltre che crisi d'assenza sono generate attraverso oscillazioni anormali che coinvolgono sia la corteccia che il talamo (Blumenfeld & Taylor, 2003). La crisi d'assenza non è definita come alterazione di coscienza, anche se la linea di demarcazione è sottile, data la non responsività della persona durante gli episodi. Kostopolous avanza l'ipotesi che lo stato di assenza sia dovuto ad una alterazione del normale assetto cortico-talamico e dei rispettivi loop, dove le informazioni vengono scambiate solitamente ad alta frequenza (>30 Hz), in quanto durante le crisi di assenza i loop cortico-talamici sono arruolati per secondi ad una frequenza ben più bassa di oscillazione (3Hz circa) (Kostopolous, 2001). Questa modifica delle oscillazioni risulterebbe da una modifica dei normali ritmi dei fusi del sonno in seguito ad un anormale incremento dell'eccitabilità corticale che risulta in una maggior attivazione dei neuroni inibitori della corteccia e dei nuclei reticolari del talamo (Kostopolous, 2001; Buzsaki, 2004; Buzsaki, 2006).

Le crisi di tipo tonico-clonico (in passato grand mal) invece, forse le più presenti nell'immaginario collettivo comune, sono caratterizzate da movimenti convulsi e repentini degli arti e sono accompagnate da una perdita temporanea di coscienza, solitamente coincidente con l'intero decorso temporale della crisi (Stafstrom & Carmant, 2015). Le crisi tonico-cloniche possono essere a loro volta divise in crisi generalizzate primarie e secondarie, a seconda che si riesca o meno ad individuare la sede focale epilettogena da cui la crisi poi si estende (Blumenfeld & Taylor, 2003).

Durante la fase tonica vi è una sostenuta contrazione muscolare, accompagnata da attività EEG ad alta frequenza. La durata della fase tonica è solitamente di 10-20 secondi, ed è seguita immediatamente da una contrazione clonica ritmica (fase clonica) degli arti, mentre sul tracciato EEG è possibile osservare delle scariche "polyspike-and-wave". Dopo qualche minuto, la crisi si interrompe bruscamente, lasciando il soggetto in uno stato di profonda letargia e non-responsività agli stimoli, con una marcata diminuzione dell'ampiezza nell'attività EEG registrata.

Studi precedenti basati su dati elettroencefalografici, di metabolismo cerebrale e flusso sanguigno cerebrale, concepivano le crisi generalizzate tonico-cloniche come in grado di coinvolgere in maniera omogenea tutte le aree del cervello. Altri studi, tra cui modelli

animali, hanno mostrato che le alterazioni non sono di uguale entità in ogni zona colpita, ma possono esservi delle differenze regionali (Ackermann et al., 1986; Cintyre et al., 1991). Questo mostra come anche se la crisi è generalizzata all'intero cervello, alcune aree siano più coinvolte di altre.

Uno studio del 2003 ha mostrato che nel gruppo studiato di pazienti con crisi secondarie generalizzate tonico-cloniche le aree maggiormente coinvolte dalla crisi sono quelle frontali bilaterali e la corteccia associativa parietale, oltre che un forte coinvolgimento del talamo e della porzione superiore del tronco encefalico. La propagazione fino alle strutture sottocorticali (oltre alla diffusa alterazione frontale e parietale) secondo gli studiosi potrebbe essere il motivo della perdita di coscienza in questo tipo di crisi epilettica (Blumenfeld et al., 2003).

Le ultime due tipologie di crisi epilettiche di natura generalizzata sono quelle miocloniche e atoniche; le prime contraddistinte da contrazioni muscolari fulminee e transitorie non associate a disturbi della coscienza; le seconde da una perdita del tono muscolare corporeo.

Per quanto riguarda le crisi focali, possiamo notare come la sintomatologia clinica dipenda in primo luogo dalla zona corticale interessata. Per esempio, una crisi epilettica che colpisca primariamente il lobo occipitale potrebbe far provare al soggetto esperienze di natura visiva, oppure ancora un'attività epilettica che interessi maggiormente le aree del giro postcentrale potrebbe alterare la sensibilità somatosensoriale della persona, con esperienze come la parestesia.

Appare evidente però che definire le crisi parziali come focali può essere in qualche modo fuorviante. Anche se la sede epilettogena si può localizzare con precisione, i cambiamenti funzionali nel cervello non sono confinati alla zona di onset della crisi e numerosi studi riportano la presenza di alterazioni diffuse di natura neurofisiologica e strutturale (Allone et al., 2017)

Quando la coscienza è disturbata in condizioni di epilessia focale, la crisi viene classificata come crisi parziale complessa. Crisi che si generano dal lobo temporale sono solitamente di questo tipo, altresì dette discognitive, anche se l'utilizzo del termine è attualmente dibattuto per via di un riscontro negativo che ha riscosso da parte del pubblico (Fisher et al., 2017).

Alterazioni o perdite della coscienza sono anch'esse associate in epilessia ad alterazioni della normale attività neurale. Per esempio, l'incremento anormale di attività nei network associativi frontoparietali e nelle rispettive strutture sottocorticali è associato a perdite di coscienza in crisi generalizzate, laddove un decremento anormale di attività dei neuroni negli stessi network può causare perdita di coscienza in condizioni di epilessia parziale complessa. Alterazioni sia in un senso che nell'altro (eccitazione vs inibizione eccessive) possono quindi alterare il normale stato della coscienza negli stessi network (Blumenfeld & Taylor, 2003). Un altro studio (Norden & Blumenfeld, 2002) ha messo a confronto crisi parziali complesse e semplici in due gruppi di pazienti affetti da crisi epilettiche nel lobo temporale e ha potuto notare come il flusso sanguigno cerebrale differisca notevolmente nei due casi: nel caso delle crisi parziali semplici, senza perdita di coscienza, l'afflusso di sangue monitorato con la SPECT mostrava un aumento nel lobo temporale e nessun cambiamento in altre zone; al contrario, in casi di crisi parziale complessa, vi era un aumento notevole di flusso sanguigno nella zona temporale e nelle strutture sottocorticali della linea mediana (in particolare talamo e zone del mesencefalo superiore), oltre che una netta diminuzione nelle aree fronto-parietali. Gli autori ipotizzano che l'estensione della stimolazione abnorme al talamo e alle strutture sottocorticali porti ad una inibizione eccessiva in zone bilaterali del cervello (fronto-parietali) e che il quadro complessivo di alterazione possa generare la perdita di coscienza; studi EEG intracranici hanno mostrato che durante le crisi epilettiche temporali vi sia la presenza di slow wave frontali, come durante il sonno. Attività epilettica focale nel lobo temporale potrebbe quindi, estendendosi alle strutture sottocorticali, spingere il cervello in uno stato simile al sonno, facendo perdere conoscenza.

Un buon modello di studio dell'epilessia dovrebbe cercare di includere quindi anche un'analisi dei vari stati/livelli di coscienza, sia normale, che alterata, includendo anche sonno, anestesia, lesioni focali cerebrali, sviluppo e, naturalmente, condizioni di epilessia (Blumenfeld & Taylor, 2003).

Un altro sintomo di alcune condizioni epilettiche, in questo caso anticipatorio rispetto alle crisi stesse, è quello dell'aura, cioè uno stato in cui il soggetto mantiene consapevolezza e coscienza e può descrivere esperienze di natura sensoriale, motoria e psicologica; l'aura può anticipare la crisi focale discognitiva o generalizzata per secondi o interi minuti ed è

comune nella epilessia del lobo temporale, che per la sua importanza (in generale nel quadro dello studio dell'epilessia e anche per la presenza di un campione di pazienti in questo studio) verrà approfondita in un capitolo successivo.

1.1.2 - Diagnosi

Per quanto riguarda la diagnosi dell'epilessia, sono centrali l'analisi neurologica e della storia del paziente, specialmente quella clinica. L'esame neurologico cerca di valutare segni che possano implicare o aiutare a valutare la localizzazione delle crisi epilettiche (per esempio il tono muscolare dei due lati corporei).

I test di laboratorio, come quelli di neuroimmagine ed EEG hanno in questo caso un ruolo confermativo, inserendosi nel quadro diagnostico come test aggiuntivi in grado di avvalorare o ampliare le precedenti ipotesi (Allone et al., 2017).

L'EEG si può definire come la registrazione dell'attività elettrica del cervello. È uno strumento prezioso, nonostante i suoi limiti, in quanto è in grado di cogliere l'attività del campo elettrico generato da milioni di neuroni, con una risoluzione temporale nell'ordine del millisecondo, quindi l'attività diretta di questi, invece che un suo effetto indiretto (van Mierlo et al., 2014; Buzsaki, 2006; Bui et al., 2015). L'EEG è utilizzata per classificare la tipologia di crisi e per localizzare il focus epilettogeno (van Mierlo et al., 2014). In alcuni casi di epilessia però l'EEG sullo scalpo può non mostrare alcuna alterazione e per questo può essere necessario il ricorso alla registrazione intracranica (iEEG), utilizzata solitamente nelle situazioni di valutazione preoperatoria, per identificare il focus delle crisi (Allone et al., 2017). Rimangono tuttavia importanti limitazioni nella tecnica, in termini di risoluzione spaziale (il segnale rappresenta una media dell'attività sincrona di un gran numero di neuroni, nell'ordine solitamente dei milioni), che è intrinsecamente incerta. L'EEG, per il suo essere un segnale fondamentalmente "macroscopico" non è in grado di discriminare o riconoscere l'attività di singoli neuroni, e neppure l'attività in microcircuiti neurali (Bui et al., 2015)

Vengono utilizzate come ulteriori conferme anche le tecniche di neuroimmagine strutturale, come la tomografia computerizzata (CT) e la risonanza magnetica (MRI). La MRI possiede una maggior risoluzione della CT e per questo è preferita al suo utilizzo. Le analisi strutturali permettono di valutare la presenza di malformazioni corticali e altri danni evidenti, come la sclerosi ippocampale, molto comune nell'epilessia del lobo

temporale (Dinkelacker et al., 2016; Norden & Blumenfeld, 2002; Thom et al., 2009). Analisi quantitative possono inoltre far notare delle asimmetrie emisferiche non apparentemente visibili ad una semplice ispezione visiva (Allone et al., 2017). Le anomalie strutturali identificate con la MRI possono inoltre essere correlate all'attività EEG, unendo quindi l'informazione spaziale della prima con quella funzionale della seconda, tenendo ovviamente in considerazione i limiti di entrambe queste tecniche (per esempio volume conduction e incertezza sulle sorgenti corticali nell'EEG) (Luck, 2014). Oltre all'EEG, viene dove possibile impiegata anche la magnetoencefalografia (MEG), la quale si basa su principi elettromagnetici e registra un dato in un certo senso complementare all'EEG, cioè il campo magnetico generato dall'attività elettrica diretta dei dipoli, anche se, secondo le prospettive teoriche, viene colto il contributo dei dipoli neuronali paralleli (tangenti) allo scalpo, mentre l'EEG coglierebbe le sorgenti perpendicolari. Data la maggior risoluzione spaziale rispetto all'EEG, la MEG può essere in grado di cogliere meglio i dipoli epilettici (Luck, 2014; Allone, 2017; Muldoon et al., 2018).

Rimanendo nelle neuroimmagini funzionali, vengono utilizzate talora anche la tomografia ad emissione di positroni (PET), che basandosi sul consumo di glucosio nel cervello può identificare asimmetrie nel suo consumo bilateralmente, suggerendo la presenza di aree "problematiche", poi ancora la tomografia ad emissione di singoli fotoni (SPECT), con la quale si possono comparare differenze nel flusso ematico locale cerebrale. Anche la risonanza magnetica funzionale (fMRI) si basa su principi magnetici (proprietà dell'emoglobina ossigenata rispetto a quella non ossigenata) e sull'afflusso sanguigno al cervello; col segnale che le è proprio, cioè il segnale BOLD (blood oxygen level dependence) è possibile registrare l'indiretta attività neurale, sotto forma della loro richiesta metabolica, e mappare attività ictali ed interictali, sia durante lo stato di riposo, che durante attivazioni task-based, come compiti di memoria o linguaggio (He et al., 2015). La fMRI, come si vedrà in un capitolo successivo, è molto utilizzata anche per le analisi di connettività funzionale, di connettività strutturale e di connettività effettiva (libro neuroimaging). Recentemente, l'utilizzo della fMRI si è spostato da uno studio di tipo segregativo ad uno di tipo integrativo: invece che identificare una sede specifica e proporre quindi una visione statica e localizzazionista per una funzione cerebrale, questa attività viene ricontestualizzata in un'ottica di network, quindi viene studiato come la sua

attività varia in rapporto ad altre aree del cervello (van Mierlo et al., 2014). Studi integrativi sono per esempio condotti mediante analisi di connettività effettiva e funzionale. Lo studio qui condotto utilizza indici di connettività funzionale secondo un approccio di graph theory, di cui si discuterà più avanti in capitoli appositi, cioè in quello sulla stessa connettività funzionale, e nella sezione dedicata alla metodologia più specificamente adottata.

Negli ultimi decenni sono state sviluppate e perfezionate delle metodologie che permettono una co-registrazione tra EEG e fMRI, così da, si spera, bypassare i limiti di entrambe le tecniche (e unirne i punti di forza) e ottenere dati più robusti in grado di coprire aspetti diversi di stessi fenomeni. Per esempio, lo studio di Kobayashi e colleghi (2005) ha messo in correlazione i cambiamenti del segnale BOLD con le attività interictali registrate con EEG durante crisi epilettiche temporali, mostrando come nell'83% il segnale BOLD, predominante nelle zone temporali, mostri una fluttuazione, sia come aumento, che come diminuzione (Kobayashi et al., 2005). I dati però mostrano una variabilità alle volte difficile da spiegare e rimangono ancora dei dubbi sul rapporto effettivo tra EEG, segnale BOLD, oscillazioni di membrana e potenziali d'azione dei neuroni (Logothetis & Wandell, 2004; Gotman et al., 2006). Infatti, non è ancora chiaro se EEG e fMRI siano in grado di registrare le stesse popolazioni di neuroni, e anzi, è appurato che l'EEG di superficie possa cogliere solo l'attività dei neuroni degli strati superiori, e rimangono i dubbi sugli stessi segnali d'origine delle due modalità di registrazione. La sorgente elettrica del tracciato EEG sullo scalpo è intrinsecamente incerta, ignota, mentre il segnale fMRI potrebbe originare da sedi distanti dalla popolazione neuronale effettivamente attiva. Entrambi, inoltre, sono vulnerabili a numerosi artefatti e motivi di confusione, come la volume conduction nell'EEG (Gotman et al., 2006; Logothetis & Wandell, 2004) e l'effetto dei larghi vasi nel caso del segnale BOLD, il quale può come detto indicare un'attivazione dove, o un residuo di attività metabolica che però non riflette null'altro che il ritorno del sangue in eccesso ai vasi (Huettel, Song & McCarthy, 2004). Studi mostrano come il segnale BOLD sembri correlare positivamente con l'attività della banda gamma nell'EEG, probabilmente riflettendo un'elaborazione locale, correlando però inversamente con attività dei local field potentials (LFP) a più bassa frequenza. Sia LFP che BOLD mostrano un rapporto

ambiguo, tuttavia, con le scariche dei singoli neuroni nelle registrazioni di singole unità (Logothetis & Wandell, 2004; Huettel, Song & McCarthy, 2004).

Questi dati mostrano come vi sia del potenziale nell'integrazione fra EEG e fMRI, e questo nell'ambito dell'epilessia si traduce in strumenti per definire e comprendere meglio il quadro epilettogeno, e anche per una più puntuale ed efficiente valutazione pre-chirurgica, ma molto lavoro è ancora necessario per districare le incertezze nell'utilizzo combinato delle due tecniche (Gotman et al., 2006)

1.1.3 - Trattamento e prognosi

Il metodo primariamente utilizzato per trattare l'epilessia è quello della somministrazione di farmaci antiepilettici. Il 60-70% dei pazienti riesce in questo modo a tenere controllate le crisi epilettiche e a tornare ad una vita relativamente normale (van Mierlo et al. 2014). I farmaci antiepilettici influenzano l'attività elettrica del cervello, agendo sulla ricaptazione o sul rilascio di neurotrasmettitori, o più direttamente sull'attività dei canali ionici dei neuroni. Per esempio, i farmaci antiepilettici possono ostacolare la depolarizzazione dei neuroni (e quindi la loro scarica) bloccando i canali ionici per il sodio o il calcio, oppure ancora potenziare la sensibilità dei canali per il potassio, o inibendo l'eccitazione neuronale agendo sul rilascio del glutammato, il principale neurotrasmettitore eccitatorio nel cervello, o promuovendo l'inibizione sinaptica mediata dal neurotrasmettitore GABA, che ha la funzione opposta al glutammato (Allone et al., 2017; Buzsaki, 2004, Buzsaki, 2006).

Ovviamente, l'efficacia di questi farmaci non è assoluta e varia altresì in funzione anche del quadro clinico e dell'eziologia della condizione epilettica d'interesse.

Indipendentemente dal farmaco utilizzato, l'obiettivo è quello di trattare la crisi epilettica con il minor dosaggio possibile. Se il primo ciclo di trattamenti non porta ai risultati sperati, alle volte si opta per l'aggiunta di un secondo farmaco, che possa agire in sincronia col primo, oppure che lo sostituisca in pieno. È bene sottolineare che, come ogni altro farmaco, anche quelli antiepilettici sono accompagnati da effetti secondari di variabile entità. Uno fra questi è la stanchezza, lamentata da molti pazienti (Allone et al., 2017).

Se la medicazione con farmaco antiepilettico non agisce come sperato, altre soluzioni possono essere adottate, spaziando dalla terapia dietetica (ketogenica), alla chirurgia

(lesionectomia, emisferectomia, callosotomia) (Muldoon et al., 2018) e alla stimolazione cerebrale, come la deep-brain stimulation, la stimolazione elettrica transcranica e la responsive neurostimulation, tecniche che cercano di sopprimere l'attività epilettica e la propagazione della crisi mediante stimolazione elettrica del cervello, per esempio con elettrodi intracranici (Scheid et al., 2021; Huettel, Song & McCarthy, 2004; van Mierlo et al., 2014). Queste tecniche, anche se alle volte efficaci, sono tuttavia ancora molto approssimative e i punti (temporali, rispetto all'inizio della crisi, e spaziali, rispetto alla sede di intervento su cui intervenire) sono ancora incerti e non completamente conosciuti (Scheid et al., 2021)

I dati prognostici mostrano come il 60-70% dei pazienti epilettici trattati con farmaci riescano come detto a tenere controllate le crisi epilettiche. In molti casi, il trattamento è rinviato all'insorgenza di una seconda crisi. Il rischio che si manifesti una seconda crisi epilettica in seguito ad una prima mostra una grande variabilità, spaziando dal 27% al 71% dei casi. Di questi casi, l'80% ricorre entro i primi due anni dalla prima crisi. I numeri sono simili per adulti e bambini. Non ci sono ancora evidenze certe che trattamenti precoci influenzino la prognosi sul lungo periodo, ma è stato osservato come bambini che abbiano subito l'effetto di più di dieci crisi epilettiche prima del trattamento mostrino uno sviluppo meno ottimale di bambini il cui l'intervento antiepilettico sia stato più tempestivo (Allone et al., 2017).

1.1.4 - Epilessia del lobo temporale

L'epilessia del lobo temporale (TLE) è la forma più comune di epilessia focale refrattaria, con un'incidenza del 40% su tutta la popolazione affetta da epilessia (Allone et al., 2017; Tellez, Zenteno & Ronquillo, 2012).

La ILAE (International League Against Epilepsy) descrive due tipi principali di epilessia del lobo temporale: l'epilessia del lobo temporale mediale (mTLE) e l'epilessia del lobo temporale laterale (lTLE). L'epilessia temporale laterale coinvolge principalmente zone della neocorteccia temporale, ed è assai meno frequente. La prima forma invece è la più diffusa e coinvolge zone mediali come l'ippocampo, il giro ippocampale e l'amigdala, causando alterazioni strutturali e funzionali, locali e non (Allone et al., 2017, Dinkelacker et al., 2016). Manifestazioni cliniche della epilessia temporale mediale includono sintomi e segni quali aura, alterazioni di coscienza, afasia, amnesia e automatismi (Wieser, 2004).

L'epilessia temporale si caratterizza da un punto di vista funzionale per una ricca e diversa fenomenologia: l'analisi dell'attività elettroencefalografica ha identificato varie forme di crisi possibili che coinvolgono o si generano dalle porzioni temporali del cervello, come crisi parziali semplici, crisi parziali complesse e crisi generalizzate secondarie di tipo tonico-clonico (Dinkelacker et al., 2016).

Molto comune nella TLE mediale è la sclerosi ippocampale, che sembra essere la causa principale dell'onset delle crisi parziali semplici (SPS) e dell'esperienza dell'aura in TLE (Wiesel, 2004). La sclerosi ippocampale, quando si estende ad aree circostanti, si generalizza in una condizione definita temporale, che coinvolge più indiscriminatamente il lobo temporale e le sue strutture mediali (come l'amigdala) e viene diagnosticata in circa il 10% dei casi di sclerosi ippocampale (Thom et al. 2009). Le condizioni di epilessia temporale e sclerosi ippocampale non sono però completamente sovrapponibili e un puntuale rapporto causale fra le due non è ancora stato definito, anche se è stato notato che entrambe possono sorgere a seguito di crisi accadute nei primi anni di vita e mantenersi in seguito, specialmente in condizioni di stato epilettico febbrile (FSE) (Patterson et al., 2014). Fatta questa doverosa specifica, studi mostrano come il 94% delle "spike waves" e "sharp waves" (SW) in epilessie del lobo temporale ha origine nella sede della sclerosi, ipsilateralmente (Dinkelacker et al., 2016). La condizione di sclerosi ippocampale è caratterizzante della sclerosi temporale, e si manifesta con morte delle cellule neuronali ippocampali e successiva gliosi (proliferazione delle cellule gliali, solitamente astrociti, con la conseguente creazione di una placca/cicatrice riparativa gliale a seguito della morte delle cellule circostanti) (Lenck-Santini & Scott, 2015). Negli animali, la sclerosi ippocampale si accompagna ad alterazioni nella plasticità cerebrale, nell'attività di scarica di singoli neuroni, nell'attività oscillatoria e nella connettività funzionale, con una minore precisione e stabilità delle cosiddette place cells (Lenck-Santini & Scott, 2015; Liu et al., 2003).

Condizioni croniche di epilessia del lobo temporale si associano a delle alterazioni diffuse e importanti del substrato neuroanatomico e funzionale del cervello. In pazienti affetti da epilessia del lobo temporale a lungo termine sono state riscontrate riduzioni del volume totale di materia grigia e bianca, anomalie nella girificazione nelle aree temporali, soprattutto in pazienti con sclerosi ippocampale, e nei tratti connettivi di materia bianca inter e intra emisferici (Allone et al., 2017; Oyegbile et al., 2006; Pereira et al., 2010;

Dinkelacker et al. 2016), oltre che profili di connettività funzionale alterati, sia in resting state che in condizioni task-based, per esempio di natura linguistica e mnestica (Smith 2016; Bassett et al., 2011; Nakai et al. 2021).

Deficit cognitivi sono inoltre frequentemente riscontrati in pazienti con epilessia temporale, con correlazioni significative tra le alterazioni funzionali e strutturali e le performance rispetto a soggetti di controllo (Nakai et al., 2021). Frequenza delle crisi e durata delle crisi sono fra i fattori che maggiormente correlano coi deficit, anche se vi è una differenza intergruppo nella popolazione clinica a seconda dell'entità e diffusione della condizione epilettica e delle crisi, per esempio tra pazienti con sclerosi ippocampale bilaterale o unilaterale (Miro et al., 2015; Pereira et al., 2010; Dinkelacker et al., 2016). Pazienti con crisi temporali sinistre sembrano avere, se confrontati con pazienti con crisi temporali originanti dall'emisfero destro, un QI individuale più basso e peggiori performance in compiti di fluenza verbale fonemica e semantica, dati che correlano con la maggior frequenza di scariche interictali nel gruppo (Dinkelacker et al., 2016).

Tra i domini più colpiti vi è quello della memoria (Muldoon et al., 2018; Allen et al., 2017; Pereira et al., 2010; Tramoni-Negre et al., 2017), soprattutto la memoria episodica nel caso di mTLE, per via dell'immediato coinvolgimento di strutture centrali per le funzioni mnestiche (Tramoni-Negre et al., 2017; Dinkelacker et al., 2016; Jokeit & Ebner, 1999), ma sono stati riscontrate alterazioni significative rispetto a gruppi di controllo anche nelle funzioni esecutive (Allen et al., 2017; Dinkelacker et al., 2016), nel linguaggio (He et al.; Bassett; Dinkelacker et al. 2016, Caciagli et al. 2021) e nell'intelligenza (Pereira et al. 2010, Dinkelacker et al. 2016; Leck Santini & Scott 2015, Jokeit & Ebner, 1999).

Il numero delle scariche interictali correla negativamente con le performance cognitive globali e frontali, pur presentando profili differenti a seconda della lateralità delle crisi (Dinkelacker et al., 2016) o della presenza di crisi bilaterali.

Per citare alcuni esempi di correlazioni tra deficit cognitivi e anomalie strutturali e funzionali, le alterazioni morfologiche nei giri e solchi temporali e la riduzione del volume di materia grigia correlano con una performance più bassa in tutti i domini cognitivi studiati nei pazienti TLE rispetto ai controlli (Tramoni-Negre et al., 2017). Anomalie della connettività effettiva e nell'integrità dei fascicoli connettivi nei pazienti con epilessia del lobo temporale sembrano inoltre essere altri aspetti sottostanti a questi

deficit manifesti, per esempio in pazienti con crisi temporali è stata riscontrata mediante DTI (Diffusion Tensor Imaging) una riduzione della fractional anisotropy (FA), che si può interpretare come una compromissione dell'integrità mielinica ed assonale, quindi della materia bianca connettiva (Smith, 2016), in quattro regioni specifiche: lobo temporale anteriore, lobo temporale posteriore mediale, cervelletto nell'emisfero epilettogeno e lobo frontoparietale del lato controlaterale alla sede epilettogena. Queste anomalie sono associate a performance deficitarie in memoria differita, memoria visiva e memoria verbale, assieme alla riduzione del volume di materia grigia ippocampale riscontrato spesso in pazienti con epilessia temporale. Inoltre, i pazienti con TLE esibiscono dei profili di ridotta connettività funzionale con le aree fronto-parietali, accompagnate da una aumentata diffusività e ridotta FA in queste zone, alterazioni che si sostanziano con deficit nella memoria a lungo termine e riduzione dell'efficienza della memoria di lavoro (Holmes et al., 2014; Keller et al., 2009; Tramoni-Negre et al., 2017). Gli effetti sulla memoria a lungo termine si estendono anche ai dati autobiografici e alla difficoltà di trattenere le nuove informazioni acquisite, creando una situazione di forte disagio per il paziente (Tramoni-Negre et al. 2017). La memoria retrograda appare colpita in maniera pronunciata (Butler & Zermant, 2008; Tramoni-Negre et al., 2017), così come la memoria autobiografica, con zone di vuoto che possono estendersi dai passati cinque anni a tutta la vita. La memoria semantica pare intatta, ma gli studi al riguardo sono contrastanti (Tramoni-Negre et al., 2017).

Una condizione particolare dell'epilessia del lobo temporale, chiamata amnesia epilettica transitoria (transitory epileptic amnesia; TSA), si caratterizza per episodi transitori di acuta amnesia, solitamente con una durata inferiore all'ora, dove però le altre funzioni cognitive rimangono intatte. Evidenze elettrofisiologiche e di neuroimmagine puntano nuovamente il dito in direzione del lobo temporale mediale, in particolare della formazione ippocampale, per la sede d'origine della crisi che genererà successivamente l'amnesia transitoria (Tramoni-Negre et al., 2017).

Effetti acuti di scariche interictali in pazienti con epilessia del lobo temporale sono inoltre associate ad una transitoria incapacità di ritrovare parole imparate durante l'occorrenza di una spike wave, generando una condizione definita di disturbo cognitivo transitorio (TCI) (Dinkelacker et al., 2016).

Una spiegazione avanzata riguardo i deficit di memoria in TLE vorrebbe che l'attività abnorme del lobo temporale mediale si estenda ai network autobiografici neocorticali, cosa evidenziata da numerosi studi (Tramoni-Negre et al., 2017; Dinkelacker et al., 2016). Il problema si caratterizzerebbe quindi per un disturbo della traccia mnestica, o dell'immagazzinamento della stessa traccia. In pazienti con TLE è stato dimostrato che le abilità di apprendimento sono preservate e che la ritenzione delle nuove informazioni è normale rispetto a brevi periodi di tempo, tuttavia vi è un grado di dimenticanza accelerato nei giorni e nelle settimane successive. Questa forma di amnesia evidente solo su lunghi periodi di tempo è stata chiamata "accelerated long-term forgetting" (ALF) (Butler & Zeman, 2008) ed è stata riscontrata frequentemente in pazienti affetti da epilessia del lobo temporale (Tramoni-Negre et al., 2017). Un altro fattore che potrebbe incidere sulla qualità della memoria dei pazienti con epilessia del lobo temporale è il sonno, la cui attività elettroencefalografica risulta disturbata da anomalie epilettiforme in pazienti con TLE; la relazione tra sonno, memoria e plasticità cerebrale è stata trattata in numerosi studi e non sorprenderebbe notare un effetto negativo dell'attività epilettica su di essi, anche se altri studi sono necessari, in quanto i risultati sono ancora pochi e non sempre concordanti (Buzsaki, 2006; Walker & van Der Helm, 2009).

Come già anticipato, neppure le funzioni esecutive sono risparmiate in TLE, in quanto le alterazioni date dall'anomalia epilettica si estendono spesso alle regioni extratemporali e, come già visto, anche a quelle sottocorticali. I pazienti con TLE esibiscono un profilo di ridotto volume della corteccia prefrontale dorsale rispetto ai controlli e questo dato correla con minori capacità esecutive, misurate con test neuropsicologici (Keller et al, 2008).

La connettività della materia bianca tra lobo temporale e la parte ipsilaterale del talamo aumenta in TLE rispetto a controlli e questo cambiamento diffuso si associa nuovamente a disfunzioni esecutive (Allone et al., 2017).

La sede della sclerosi, condizione in cui è riscontrabile un'alterazione nella materia grigia e bianca (a seguito della morte neuronale), correla con la frequenza di scariche interictali epilettiche e la peggiore abilità dei pazienti in compiti di natura esecutiva come task switching, compiti con interferenza e anticipazione spaziale (Dinkelacker et al., 2016).

1.1.5 - Epilessia, neuropsicologia ed analisi anatomo-funzionali: epilessia come disturbo del network

Come già anticipato, e come discusso più approfonditamente nella sezione sull'epilessia del lobo temporale, l'epilessia si presenta come una condizione neurologica che provoca alterazioni cognitive, comportamentali e funzionali (Caciagli et al., 2021). I deficit cognitivi sono una conseguenza di interazioni complesse tra l'eziologia dell'epilessia, le stesse crisi, la presenza di scariche interictali, e pure dei farmaci antiepilettici (Lenck-Santini & Scott, 2015).

È stato riscontrato che i deficit cognitivi sono più gravi in persone colpite da epilessia fin dall'infanzia, deficit che interessano domini cognitivi come memoria, attenzione e intelligenza. In bambini con epilessia si riscontra una riduzione del QI medio e in competenze più specifiche come capacità di lettura e matematiche (Lenck-Santini & Scott, 2015).

Gli effetti sul cervello in sviluppo possono essere gravi e paiono irreversibili, con cambiamenti permanenti sulla plasticità cerebrale che si manifestano sottoforma di danni cerebrali e perdita di cellule neuronali specialmente nelle aree cerebrali considerate epilettogene ed in quelle limitrofe (Lenck-Santini & Scott, 2015; Holmes & Ben-Ari, 2000). L'esposizione a crisi ed alterazioni del normale bilanciamento eccitatorio-inibitorio nel cervello rendono il cervello sul lungo periodo più vulnerabile e suscettibile alle crisi (Holmes & Ben-Ari, 2000).

I deficit si mantengono o peggiorano in età adulta; difficoltà nel dominio della memoria sono stati riscontrati in adulti con epilessia del lobo temporale, mentre adulti con epilessie generalizzate (per esempio juvenile myoclonic epilepsy) possono mostrare mild cognitive impairment.

Anche nel cervello adulto la presenza di crisi porta ad una plasticità maladattiva, con alterazioni nel meccanismo di rafforzamento sinaptico (LTP), crescita abnorme e non ottimale di dendriti e connessioni assoniche, come per esempio avviene negli assoni delle cellule granulari nelle zone sopragranulari e infrapiramidali dell'ippocampo (Holmes & Ben-Ari, 2000; Scharfman, 2007; Thom et al., 2009).

Tra i fattori studiati che incidono sulla cognizione vi sono le scariche interictali, i cui effetti sono stati identificati nell'alterazione del normale funzionamento cognitivo in diversi processi come lettura e abilità matematiche, abilità di guida, oltre che memoria e

attenzione, tuttavia gli effetti appaiono transitori e concomitanti con la loro insorgenza, e quindi secondari come importanza rispetto ad altri fattori legati all'epilessia. L'ipotesi più probabile è che i deficit transitori siano dovuti all'alterazione dei sottostanti normali processi fisiologici data dall'insorgenza delle scariche interictali (Lenck-Santini & Scott, 2015).

Anche studi animali mostrano deficit in vari domini cognitivi, come apprendimento, memoria e apprendimento, e la gravità dei deficit è associata all'età di insorgenza delle crisi e quindi alla loro durata in anni, con un effetto negativo graduale e costante sulle performance cognitive e comportamentali (Holmes & Ben-Ari, 2000).

L'epilessia è stata classicamente concepita come un disturbo che interessa in maniera indifferenziata e/o omogenea il cervello nella sua totalità (nel caso di crisi generalizzate) oppure solo l'area del focus epilettogeno nelle crisi focali (Smith, 2016). Il riferimento funzionale era quello della ipersincronia diffusa e generalizzata, che ne caratterizza l'inizio, e la fine, oltre che l'andamento complessivo, registrata mediante EEG (Bui et al., 2015).

Tuttavia, negli ultimi decenni la concezione dell'epilessia è cambiata, passando da una visione in cui l'alterazione del funzionamento cerebrale è limitata in specifiche ed isolate zone epilettogene, ad un disordine dei network neurali distribuiti, quindi un problema complesso che coinvolge, in modi differenti, l'intero sistema neurale, nel suo funzionamento e soprattutto nella sua organizzazione (Bernhardt et al., 2013; Bartolomi, Wedling and Chauvel, 2008).

I dati neuroanatomici mostrano che l'epilessia possa generare una condizione di plasticità maladattiva, in cui i network stessi si ridefiniscono, mostrando quindi profili di alterata connettività funzionale. Queste alterazioni si sostanziano in una riorganizzazione delle cellule delle zone maggiormente colpite e non, per esempio nell'ippocampo nella condizione di sclerosi ippocampale in epilessia del lobo temporale, dove si può notare che le cellule piramidali sopravvissute si riorganizzano in un network funzionale alterato e caratterizzato da aumentata connettività funzionale, cosa che implica un cambiamento nell'elaborazione dell'informazione locale e del network, a seguito di questo rimodellamento (Lenck-Santini & Scott, 2015; Bernhardt, 2013). O ancora, il rimodellamento plastico che avviene nelle condizioni epilettiche che interessano i network linguistici e che coinvolgono o possono causare pattern atipici di

rappresentazione linguistica, come cambiamenti nella dominanza emisferica, riorganizzazione intraemisferica o lo spostamento di alcune regioni linguistiche da un emisfero all'altro (Basset et al., 2011; He et al., 2015)

Non è quindi solo la morte neuronale ad interessare i cambiamenti cognitivi, ma un'estesa rete di trasformazioni, che coinvolge immediatamente le aree epilettogene da cui le crisi si diffondono, e in seguito le strutture connesse funzionalmente e anatomicamente (Lenck-santini & Scott, 2015). Come si è già visto nella sezione sulla epilessia del lobo temporale, infatti, si possono riscontrare anche cambiamenti ed alterazioni della materia bianca e materia grigia diffuse, al di là della sezione circoscritta delle zone temporali, inter- e intra-regionali, corticali e sottocorticali.

Oltre che a livello macroscopico, nell'intero network neurale, studi recenti hanno mostrato alterazioni locali o differenti profili di attivazione nei micro-network durante vari eventi epilettici, sia in modelli animali che in pazienti umani. In tessuti epilettici umani si è potuto notare che i clusters neuronali sincroni (aggregati cellulari) non mostrano sempre la medesima attività durante eventi neuronali su larga scala, e alle volte non sono coinvolti del tutto (Feldt Muldoon et al., 2013; Bui et al., 2015), o ancora, in pazienti epilettici, è stato riscontrato un coinvolgimento di popolazioni neuronali altamente variabile e non uniforme durante l'inizio e la progressione dell'evento epilettico (Keller et al., 2010; Bui et al., 2015).

Questi studi mostrano quindi una grande eterogeneità tra eventi epilettici macroscopici e attività micro-circuitale, oltre che una notevole variabilità di coinvolgimento dei cluster di neuroni epilettici durante le crisi. Ciò mostra quindi come la condizione epilettica non coinvolga solo il cervello nella scala di grandi popolazioni neurali, caratterizzate da attività ipersincrona, ma anche alterazioni nella circuiteria locale, svelando una complessa interazione di circuiti (epilettici e non) e le differenti scale di funzionamento del cervello (Bui et al., 2015; Buzsaki, 2006; Buzsaki, 2012)

Emergono quindi sempre più evidenze sull'utilità delle proprietà dei network per l'indagine e lo studio dell'epilessia, ma anche per il loro utilizzo come marker diagnostici. Per studiare queste proprietà di network, invece che di semplice "sede" del problema, vengono utilizzate tecniche di vario genere, da quelle volte ad analizzare l'organizzazione topologica dei network cerebrali mediante analisi di tipo strutturale (es. diffusion MRI tractography e structural MRI covariance), così da verificarne l'inter-relazione fisica e

topografica nel cervello, oppure ancora analisi di tipo funzionale, volte ad analizzare come le varie unità di analisi si comportano le une con le altre, svelandone quindi i profili di funzionamento e relazione. Il prossimo capitolo sarà dunque dedicato all'applicazione di analisi di network in relazione allo studio dell'epilessia, evidenziando come queste misure possano permettere una migliore comprensione sia dei meccanismi neurali sottostanti la eziopatologia dell'epilessia, che l'alterazione in diversi domini del profilo cognitivo caratterizzante il quadro sintomatologico.

1.2 Connettività funzionale

1.2.1 - Connettività funzionale: panoramica

Si definisce connettività funzionale l'associazione statistica (per esempio, correlazione significativa) tra misure neurofisiologiche registrate da neuroni o regioni anatomicamente distinte in differenti punti temporali (Bullmore & Sporns, 2012; van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010).

Esistono diverse misure di connettività e ciascuna di esse concepisce diversamente i nodi del sistema e quindi le connessioni esistenti tra essi.

Nella connettività "strutturale" o "anatomica" si prendono in considerazione nodi collegati da connessioni fisiche. Con dati di risonanza magnetica, queste connessioni sono rappresentate solitamente tratti fibrosi di materia bianca ricostruiti con l'applicazione di algoritmi (come algoritmi trattografici).

Nei network funzionali si indaga invece la forza statistica delle relazioni tra l'attività dei vari nodi lungo un decorso temporale. Di solito la relazione statistica è operationalizzata mediante un coefficiente di correlazione o di coerenza (Betz et al., 2016; Liao et al., 2010).

Anche se esiste una netta differenza teorica tra questi due tipi di connettività, è interessante osservare che vi sia un certo grado di relazione tra funzione e struttura. La forza della connettività funzionale correla positivamente con la forza della connettività strutturale. Questo a prima vista può essere intuitivamente banale, in quanto appare quasi ovvio come qualcosa (per esempio due strutture) che esibisca una funzione simile, sia anche collegato fisicamente, tuttavia la relazione non è puntuale e assoluta, mostrando come il rapporto tra le due sia meno facilmente risolvibile di quanto si possa credere. In questi casi è ipotizzabile che una terza struttura colleghi i punti in cui si presenta una

correlazione funzionale mediante connessioni indirette (Hutchinson et al., 2013; Damoiseaux & Greicius, 2009).

La connettività funzionale (FC) tra due regioni cerebrali è stimata come l'interdipendenza statistica (correlazione temporale, coerenza, mutua informazione) delle spontanee fluttuazioni della serie temporale del segnale BOLD e viene generalmente interpretata come la misura della comunicazione tra le regioni studiate (Betzel et al., 2017; Faskowitz et al., 2020). La tecnica di registrazione più diffusa per analisi di connettività è quella della risonanza magnetica funzionale, mediante analisi del segnale BOLD, ma la connettività funzionale può essere indagata anche con dati di altra natura, tra cui quelli di elettrofisiologia (EEG, MEG, ecc), come avviene in questo studio. Le varie modalità possono tra loro dare risultati discordanti, ma è bene ricordare che non misurano necessariamente gli stessi fenomeni e che, oltre alla differenza (e alla complementarità) dei processi biologici riflessi, la presenza di artefatti può portare alle differenze osservate (Bettus et al., 2011).

È bene evidenziare che la connettività funzionale non si esprime sulla relazione della connessione esistente tra i due punti analizzati, ma fa notare semplicemente il grado di somiglianza nella co-attivazione simultanea, nella finestra temporale (Liao et al., 2010). La coerenza nel profilo temporale è di tipo correlazionale, quindi non direzionato. Non è espresso, né implicito, il grado in cui uno dei due nodi esercita influenza sull'altro. Per questo la connettività funzionale si differenzia dalla cosiddetta connettività effettiva, che poggia invece su assunti di causalità. Infatti, una statistica di connettività funzionale misura il grado in cui due processi si comportano in modo simile nel tempo. Una statistica di connettività effettiva misura il grado in cui un processo può essere predetto o spiegato dall'altro. Quindi, la matrice d'associazione generata in un'analisi di connettività funzionale tra ogni paio di nodi sarà simmetrica, mentre in connettività effettiva, avrà una direzione, e un peso differenti (Faskowitz et al., 2020; Power et al., 2011).

La connettività funzionale può essere esaminata e ricavata con differenti approcci di partenza. Ve ne sono alcuni che selezionano a priori delle regioni di interesse (regions of interest, ROI), chiamati anche seeds (semi); questi sono chiamati metodi "model-dependent", perché hanno delle posizioni di partenza, teoriche e/o avvalorate da precedenti studi, e tendono a ridurre il focus d'attenzione dello studio a poche aree selezionate. Di contro, i metodi "model-free", o data-driven, hanno un carattere

esplorativo, analizzando i pattern di connettività senza assunti a priori, e spesso dell'intero cervello (Rogers et al., 2007; van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010).

Uno dei metodi maggiormente condivisi per calcolare la connettività funzionale è quello basato sull'utilizzo del coefficiente di correlazione di Pearson (Fallahi et al., 2020).

Varie tecniche di analisi di connettività funzionale hanno rivelato set di regioni cerebrali spazialmente distribuite ma temporalmente connesse nella loro attività. Tra queste ci sono i cosiddetti network intrinseci (intrinsic connectivity network, ICNs), altresì chiamati network resting-state (Hutchinson et al., 2013). Pattern di connettività funzionale a riposo hanno mostrato notevoli somiglianze in quelli elicitati da paradigmi "task-based" (Hutchinson et al., 2013; van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010).

Il paradigma resting-state è divenuto col tempo uno degli approcci più comunemente diffusi e utilizzato nello studio dei network cerebrali, in particolare con l'utilizzo della risonanza magnetica funzionale, dove il segnale BOLD è registrato, durante la sessione sperimentale, in assenza di compiti specifici ed espliciti (Sporns et al., 2021). L'attività di resting-state è definita spontanea (invece che indotta), e per questo viene spesso utilizzata come baseline in studi di neuroimmagine ed elettrofisiologia (Greicius et al., 2009; Hutchinson et al., 2013; Rogers et al., 2007). La connettività funzionale resting-state è sensibile alle fluttuazioni dell'attività cerebrale a riposo e specifica quindi il grado in cui queste fluttuazioni sono correlate tra le varie aree cerebrali d'interesse. Con ciò, non è sensibile al livello dell'attività cerebrale delle varie regioni, quanto alla fluttuazione del segnale che risulta più o meno sincronizzata nello stesso momento, tra aree differenti (Waites et al., 2006). Il resting state non è studiato solo con risonanza magnetica funzionale, ma è stato indagato con successo con altre modalità, tra cui PET, MEG ed EEG, mostrando una certa consistenza e generalizzabilità (Hutchinson et al., 2013; Waites et al., 2006)

La differenza tra la baseline e l'attivazione "task-related" rappresenta all'incirca l'1-5% del segnale BOLD totale. Questo mostra come solo una piccolissima parte del segnale BOLD rifletta quindi, in line di principio, una risposta ad uno stimolo esterno (Damoiseaux & Greicius, 2009).

Gli studi sui network resting state hanno trovato un alto livello di connettività funzionale nei network motori, come nel primo pionieristico studio (Ralchle et al., 2001), e anche in altri numerosi network funzionali, tra cui quello visivo primario, uditivo e network di

funzioni cognitive di alto livello. Questi studi mostrano come il cervello a “riposo” non sia fermo, o statico, ma che invece mostri una intensa attività spontanea che è altamente correlata con multiple regioni cerebrali, suggerendo la presenza di network funzionalmente distinti anche quando questi non sono esplicitamente utilizzati per uno specifico compito (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010; Damoiseaux & Greicius, 2009; Waites et al., 2006). Questo permette di identificare quindi una serie di network spazialmente e topograficamente distinti, corrispondenti, per certi gradi di approssimazione, a specifiche funzioni cerebrali (Liato et al., 2010).

Uno dei network resting state di maggiore interesse è quello chiamato default mode network (DMN), un set di regioni che includono la corteccia cingolata posteriore (PCC), il precuneo (pCu), la corteccia retrospleniale (RSC), la corteccia parietale inferiore (IPC), la corteccia mediale prefrontale (mPFC) e, in misura meno consistente, il lobo temporale mediale (MTL) (Zhang et al., 2010; Laufs et al., 2007). Questo insieme di regioni mostra un comportamento atipico per le neuroscienze funzionali classicamente concepite, cioè che definiscono il cervello come un sistema che risponde e si trasforma in relazione all'esposizione a stimoli esterni, in quanto il DMN ha un'attività spontanea a riposo e, inversamente ad altri circuiti neurali, mostra una de-attivazione durante compiti più specifici, di natura cognitiva, percettiva, o comportamentale (Damoiseaux & Greicius, 2009), un fenomeno che si definisce “task-independent deactivation” (Laufs et al., 2007). Il DMN è stato correlato a fondamentali processi della cognizione umana, quali l'integrazione di processi cognitivi ed emotivi, monitoraggio rispetto al mondo esterno e mind wandering, oltre per la memoria episodica e la consapevolezza di sé (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010; Zhang et al., 2010). Nonostante la relazione con uno stato di riposo, tuttavia, il default mode network correla positivamente con la coscienza e la consapevolezza, e meno, o negativamente, con stati di coscienza alterati, quali il sonno, il coma, o anestesia (Laufs et al., 2007).

1.2.1.1 – Dynamic functional connectivity

Negli ultimi anni, misure della connettività intrinseca del cervello, tipicamente indagate con approcci di resting state in risonanza magnetica funzionale, si sono evolute da primariamente “statici” a “dinamici”, per includere misure dinamiche della connettività funzionale (White & Calhoun, 2019; Bassett & Gazzaniga, 2011). L'assunto era che

l'interdipendenza statistica nei segnali di regioni distinte fosse costante nell'intero arco di registrazione (Hutchison et al., 2013). Questo ha portato notevoli avanzamenti nella comprensione delle proprietà su larga scala del funzionamento neurale, ma rimane una visione parziale, e i cui risultati rappresentano delle medie tra complessi fenomeni che hanno anche una componente temporale, largamente ridotta, o ignorata (Hutchison et al., 2013; White & Calhoun, 2019).

Misure di connettività funzionale dinamica espandono la nostra comprensione del cervello, accettando che le regioni cerebrali possano avere pattern temporali di comunicazione differenti tra regione e regione e che questi, in sintesi, non siano statici, ma altamente variabili e fluttuanti, come mostra per esempio il segnale BOLD perfino tra i robusti e consistenti network resting state, e che quindi vi sia un significato in questa variabilità, o un fondamentale meccanismo di funzionamento del network neurale, una sua proprietà caratteristica, un modo di essere del cervello (Betz et al., 2017; Damoiseaux & Greicius, 2009). Questo sembra essere il caso, in quanto la connettività funzionale ha mostrato di essere influenzata e modulata da diversi fattori, tra cui dalla natura del compito sperimentale (es. linguistico, mnestico, motorio), dall'apprendimento e dal tono dell'umore (Basset et al., 2011; Basset et al., 2015; Hutchinson et al., 2013; Basset et al., 2008; He et al., 2017). Inoltre, sembra esserci una considerevole variabilità within-subjects, perfino tra momenti differenti all'interno della stessa sessione di registrazione (Hutchinson et al., 2013). Questa variabilità, questa non-stazionarietà, sembrano mostrare una caratteristica intrinseca del funzionamento cerebrale e sono associate a stati cognitivi (Fallahi et al., 2020). Le tecniche di analisi di connettività funzionale dinamica, esplorando la riconfigurazione dei network cerebrali, si sono mostrate particolarmente utili nell'investigare la variabilità su larga scala del connettoma cerebrale durante differenti stati cognitivi e mentali (Liao et al., 2013).

Il grado e la forza delle connessioni possono quindi differenziarsi nel tempo, e queste differenze possono essere quantificate, ed interpretate (White & Calhoun, 2019; Hutchinson et al., 2013).

Anche se viene utilizzato il termine "statico" per indicare questo approccio alla connettività funzionale bisogna precisare che non ci si riferisce tanto alla serie temporale BOLD come statica, quanto al fatto che la connettività funzionale statica utilizza l'intera serie temporale BOLD (o di qualsiasi altro segnale, come quello EEG) per derivare una

connettività funzionale media tra regioni o punti di interesse, quindi un quadro relativamente statico rappresentativo di tutto l'arco di tempo considerato, come una fotografia, mentre invece un approccio dinamico, per esempio con "sliding window", considera il risultato di connettività funzionale finestra per finestra, potendo quindi sia avere un risultato medio (mediante averaging, a livello locale, o globale), che un quadro più preciso di come il profilo di connettività si evolva o trasformi (in generale, si comporti), istante per istante (definito dalle finestre e dalla loro sovrapposizione), nel tempo. (White & Calhoun, 2019; Hutchinson et al., 2013; Bassett et al. 2015; Fallahi et al., 2020).

I risultati dati da approcci dinamici alla connettività funzionale pare si stiano rivelando utili nell'identificazione di differenze individuali nello sviluppo cerebrale e della psicopatologia, ponendosi come potenziali marcatori o predittori, per esempio per la capacità di apprendimento, per la flessibilità cognitiva, per la modulazione del linguaggio, per la performance intellettuale, per lo spettro autistico e, come si vedrà più avanti, per l'epilessia (White & Calhoun, 2019; He et al., 2017, Hutchinson et al; Bassett et al., 2011; Bassett et al., 2015, van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010; Rogers et al., 2007).

1.2.2 - Cervello come sistema complesso e graph theory

Il cervello è un sistema complesso, composto da molte parti interagenti e interconnesse fra loro, dai neuroni, ai gruppi di neuroni e alle aree cerebrali, che dinamicamente si adattano ad un ambiente continuamente in cambiamento, e che operano su differenti scale temporali e spaziali (Bassett et al., 2011; Gu et al., 2017; Betzel, 2020). Per far ciò, il cervello ha bisogno di un certo grado di flessibilità e adattabilità dei suoi sistemi, senza che la struttura sottostante si alteri (Braun et al., 2015). Questa continua riconfigurazione è stata riscontrata nel controllo delle funzioni esecutive (Bassett et al., 2015), nel linguaggio (He et al., 2018) e anche nell'apprendimento (Bassett et al., 2011), e include livelli di analisi che possono coinvolgere singoli neuroni e sinapsi, oppure specifici cambiamenti regionali, fenomeni che tuttavia sono ancora in larga parte sconosciuti, in se stessi, e nelle reciproche interazioni (Power et al., 2011).

La teoria dei sistemi complessi si innesta su principi di fisica, matematica, computer science e scienze sociali per fornire un framework in cui analizzare sistemi complessi, cioè composti da componenti riconoscibili e in grado di mostrare relazioni vicendevoli di

tipo non banale (Betzel & Bassett, 2016). Negli ultimi anni la teoria dei sistemi complessi si sta interessando anche al cervello umano (Bassett e Gazzaniga, 2011), e spesso ci si riferisce ad essa col nome di network neuroscience o complex network science, o ancora dynamic network science (Bassett et al., 2015; Muldoon & Bassett, 2015; Betzel, 2020). L'applicazione più immediata della teoria dei sistemi complessi prevede l'utilizzo della teoria dei grafi, cioè una teoria matematica atta a descrivere le proprietà di connettività statistiche di un sistema, con l'intento di esplicitarne i principi organizzativi sottostanti (Muldoon & Bassett, 2015). I grafi possono essere utilizzati per studiare sistemi complessi di natura diversa, come sistemi biologici, fisici e pure sociali (Bullmore & Sporns, 2012; Bullmore & Bassett, 2011). In questo formalismo, si definiscono "topologiche" le relazioni esistenti tra le parti di un grafo, cioè l'insieme complessivo delle interazioni, espresse in forma di relazioni tra nodi e spigoli (Betzel, 2020). I primi sono gli elementi fisici del sistema, i secondi le connessioni che legano fra loro gli stessi elementi. Le scale di riferimento topologiche possono spaziare dai singoli nodi al network nella sua interezza (Betzel & Bassett, 2016). Per "topologico", nel framework di lavoro della teoria dei grafi, ci si riferisce a proprietà spaziali che non variano sotto continua deformazione (Bullmore & Bassett, 2011). Analisi topologiche nei grafi cerebrali considerano la connettività tra nodi indipendentemente dalla loro locazione fisica o anatomica (Bullmore & Bassett, 2011).

La teoria dei grafi è particolarmente adatta ad essere utilizzata allo studio del cervello umano, in quanto questo si può concepire come un sistema complesso caratterizzato da un funzionamento su multiple scale temporali e spaziali e che può essere scomposto in sottocomponenti e analizzato nelle interazioni fra esse (Muldoon & Bassett, 2015). Un grafo cerebrale si potrebbe quindi concepire come un modello semplice del connettoma sottostante, del sistema nervoso (Bullmore & Bassett, 2011) L'organizzazione cerebrale sembra essere formata sulla base di un bilanciamento economico tra la minimizzazione dei costi energetici (e quindi un'efficienza di "cablaggio" fisico e funzionale) e l'emergenza di proprietà topologiche adattive tra le varie popolazioni neuronali (Bullmore & Sporns, 2012)

Le proprietà della teoria dei grafi (graphical properties) applicate al network cerebrale sono state direttamente correlate a variabili cognitive e comportamentali come fluenza verbale, IQ e accuratezza della memoria di lavoro. Inoltre, alterazioni di certi indici

sembrano essere correlabili ad alterazioni delle strutture sottostanti d'interesse in casi clinici quali schizofrenia e Alzheimer (Bassett e Gazzaniga, 2011; Waites et al., 2006; Laufs et al., 2007).

Nelle neuroscienze sistemiche si mappano sistemi cerebrali in forma di grafi, dove neuroni o regioni cerebrali sono rappresentati in forma di nodi o vertici (nodes), e le connessioni strutturali o funzionali in forma di spigoli (edges) (Bullmore & Bassett, 2011).

La teoria dei grafi è stata applicata con successo a tutte le maggiori modalità di imaging con risonanza magnetica (MRI, DTI, fMRI) e con dati di natura neurofisiologica (EEG, MEG), mostrando un certo grado di generalizzabilità dei suoi parametri topologici in network funzionali e strutturali, oltre che la presenza costante di certe proprietà globali (Bullmore & Bassett, 2011).

Da questo tipo di rappresentazione, possono poi essere estratte delle proprietà di sistema, o statistiche di network.

Prima di tutto bisogna chiedersi come definire i nodi (node selection). Questi dipendono in larga parte dal tipo di dati a disposizione. Per esempio, se si utilizza l'elettroencefalografia, i nodi del network potrebbero essere gli elettrodi sullo scalpo, o ancora i dipoli neurali identificati mediante la stima delle sorgenti neurali. Per i dati in fMRI invece si utilizzano solitamente i singoli voxels col quale lo spazio d'interesse è parcellizzato, o ancora degli aggregati di voxel, scelti per rappresentare delle aree funzionali o anatomiche (Muldoon/Bassett 2015)

Anche la scelta degli edges/spigoli è in funzione del tipo di dati con cui si lavora. Per i network cerebrali strutturali, per esempio con previa diffusion tractography, uno spigolo potrebbe essere definito come una connessione soppesata (weighted) la cui forza è data dal numero di tratti (o dalla anisotropia frazionale) che collegano due nodi. Per i network funzionali, invece, si possono definire gli spigoli sulla base di relazioni statistiche tra serie temporali di attività registrate regionali, come correlazioni interregionali, coerenza, o sincronizzazione di fase. Questi producono network non direzionati (A è connessa a B con la stessa forza con cui B è connessa ad A). Alternative possono invece utilizzare la causalità di Granger (Granger causality) per produrre network direzionati (la forza da A e B e tra B ed A è differente) (Muldoon & Bassett, 2015).

1.2.2.1 – Statistiche di sistema

Un network cerebrale si può caratterizzare utilizzando delle statistiche di network. Assumendo che abbiamo un grafo con un certo numero di nodi N , avremo una matrice d'adiacenza (adjacency matrix) $N \times N$ chiamata A ; l'elemento A_{ij} rappresenta la forza della connessione tra il nodo i e il nodo j . Posto questo, potremo avere diverse statistiche di network, definite locali o globali, o proprietà topologiche, tra le quali:

- Degree di un nodo. Si riferisce al numero di connessioni incidenti su ciascun nodo, e può essere interpretata come la misura dell'influenza di un nodo (Betzel & Bassett, 2016; Bullmore & Bassett, 2011). Come tale, il degree di un nodo è una misura strettamente locale. Nodi con un alto valore di degree sono spesso indicati come “hubs”. Gli hubs, o nodi centrali, sono strutture topologicamente importanti, e vengono definiti anche da misure di centralità, quali degree centrality (numero di spigoli) e betweenness centrality (Bullmore & Sporns, 2012). La centralità si riferisce all'importanza o influenza di un nodo o uno spigolo nell'organizzazione complessiva del sistema. Quindi, misure di centralità rappresentano quanto l'informazione sia integrata e trasmessa attraverso le varie regioni del network cerebrale (Fallahi et al., 2020). Tipicamente i grafi cerebrali hanno un grado di distribuzione su larga scala, implicando la presenza di qualche “hub” centrale con alto degree (Bullmore & Bassett, 2011).
- Path length; misura la distanza tra due nodi, più nello specifico la distanza più breve che unisce i due nodi, la quale si caratterizza come il numero di spigoli che bisogna attraversare per giungere da un nodo all'altro, tra tutti gli spigoli disponibili nel grafo (Bullmore & Sporns, 2012). Un breve path length, in teoria, implica che l'informazione possa essere distribuita velocemente attraverso il network (Betzel & Bassett, 2016)
- Clustering coefficient; il coefficiente di clustering può essere locale o globale. Se locale, si indica il coefficiente di un nodo come la frazione dei nodi vicini di quel nodo che sono a loro volta connessi tra loro. Il valore globale indica la media di questo indice, ottenuta da tutti i valori di clustering dei singoli nodi N di tutto il grafo. Proprietà organizzative di tipo “small-world” sono rappresentate da un alto valore di clusterizzazione locale e da un alto valore medio di short path length

(quindi alta efficienza). Questo tipo di struttura potrebbe facilitare la computazione locale e inoltre la distribuzione dell'informazione sulle lunghe distanze. Proprietà di tipo "small-world" nel cervello sono state riscontrate in diversi studi e rappresentano un equilibrio tra segregazione ed integrazione, oltre che una combinazione di efficienza locale e globale alta nella trasmissione dell'informazione nel network (Bullmore & Bassett, 2011).

- Efficienza; è una misura interpretata indicativamente come l'efficienza di trasmissione dell'informazione. Tipicamente, un network con alta efficienza globale avrà una corta path length (Bullmore & Bassett, 2011).
- Robustezza: il grado di robustezza indica quanto il network sia in grado di sostenere perdite o "lesioni" nella sua organizzazione, per esempio come la rimozione o la perdita (temporanea o definitiva) di un nodo o di uno spigolo (Bullmore & Sporns, 2012).

La modularità, altra proprietà topologica, merita un approfondimento a parte per la lunghezza del discorso. L'intero cervello può essere scomposto in moduli o sottosistemi. Nel dominio temporale, esempi di moduli possono essere quelli di memoria a lungo o breve termine, mentre nel dominio spaziale potrebbero essere moduli anatomici, in forma di colonne corticali, o neuroni, o regioni cerebrali, funzionali o strutturali. In ciascuno di questi moduli sono compresi degli elementi che sono maggiormente connessi con elementi dello stesso modulo che con elementi di altri moduli, generando così una compartimentazione (e quindi il modulo stesso), che aumenta la robustezza del sistema e riduce l'interdipendenza dei moduli (Kennet et al., 2020; Bullmore & Bassett, 2011).

In aggiunta a questo, la modularità facilita l'adattamento comportamentale, perché ogni modulo può funzionare e cambiare il suo funzionamento senza ostacolare o alterare il resto del sistema (Bassett & Gazzaniga, 2011).

Applicazioni di analisi grafiche ai network ricavati da vari tipi di neuroimmagine (fMRI, MRI strutturale, EEG, MEG) hanno mostrato come i network cerebrali siano caratterizzati generalmente da proprietà di tipo small-world e da una struttura modulare di comunità (Bullmore & Sporns, 2012; Kennet et al., 2020)

Lo studio del resting state mediante fMRI è stato ampiamente utilizzato per confermare la natura modulare del cervello (Mattar et al. 2015). Le fluttuazioni spontanee a bassa

frequenza del segnale BOLD in specifici gruppi di regioni cerebrali sono maggiormente correlate fra loro rispetto alle fluttuazioni di altri gruppi, cosa che suggerisce una suddivisione di natura funzionale, spesso (ma non sempre) avvalorata anche da un punto di vista anatomico e strutturale. Studi infatti mostrano che i vincoli di natura fisica vincolano a loro volta, com'è intuitivamente immaginabile, il funzionamento cerebrale delle aree interessate, anche se la sovrapposizione non è totale. Aree fra loro attive in maniera coerente (connesse da un punto di vista funzionale) sono infatti spesso connesse da tratti di materia bianca (Basset & Gazzaniga, 2011; Betzel & Basset, 2017).

La modularità è intuitivamente una proprietà importante per sistemi adattabili e dinamici. Può essere una proprietà morfologica, come è stata ampiamente descritta in contesti di sviluppo ed evoluzione. Evidenze suggeriscono come l'organizzazione modulare, in differenti scale spaziali (o in gerarchie modulari) possa caratterizzare la connettività anatomica su larga scala del cervello, così come le fluttuazioni spontanee che si innestano sui pattern anatomici (Bassett et al., 2011).

Definiamo “modulare” quindi una struttura composta da un aggregato di sottosistemi più piccoli (moduli) che possono svolgere specifiche funzioni senza alterare il resto del sistema. Una struttura modulare comprende una combinazione di compartimentazione e ridondanza, cosa che riduce l'interdipendenza delle componenti, migliora la robustezza e facilita il comportamento adattivo (Bassett et al., 2011; Bassett et al. 2015)

Una struttura modulare si definisce anche di comunità, quindi come gruppi di nodi densamente interconnessi. L'esistenza di diverse comunità è la caratteristica di un network modulare, quindi, pare, una caratteristica onnipresente nei sistemi biologici (Betzel, 2020). Da un punto di vista topologico, la modularità si riferisce all'esistenza di multiple comunità di neuroni o di regioni cerebrali, definite secondo pattern di connettività: la densità delle connessioni è generalmente maggiore all'interno di un modulo che fra diversi moduli (Muldoon & Bassett, 2015). Questo significa che i nodi all'interno della comunità sono fra loro intimamente e fortemente connessi, ma lo sono debolmente con nodi di altre comunità, creando quindi una compartimentazione funzionale e/o strutturale (Betzel, 2020).

La struttura di comunità di un network è sconosciuta a priori e non è possibile inferirla mediante semplice ispezione visiva. L'estrazione, e quindi l'identificazione della struttura di comunità, avviene mediante un processo algoritmico definito community detection

(Muldoon & Bassett, 2015; Betzel, 2020). La scelta dell'algoritmo è soggettiva, non univoca ed è ovviamente un momento delicato. L'algoritmo si può considerare come un set di processi che si svolgono partendo da una serie di assunti; questi assunti concernono la natura dei nodi e degli spigoli e quindi la loro definizione (Betzel, 2020; Bassett et al., 2015).

Uno dei metodi più diffusi di community detection è quello della modularity maximization, il quale definisce le comunità come gruppi di nodi che sono più densamente connessi nel network osservato rispetto a come potrebbero esserlo in un network casuale. Più è alto il valore Q, più la qualità della partizione è alta. Q è definito indice di modularità, ed è calcolato comparando il network reale con un network ottenuto da un modello nullo. Anche la scelta del modello nullo è critica e deve essere sostenuta dalle giuste domande sperimentali e dalle proprietà del network volute (Kennet et al., 2020, Betzel, 2020).

La struttura di comunità dei network cerebrali è stata descritta come un set di moduli in gerarchia, dove ogni modulo consiste in un numero di nodi regionali intra-connessi, e dove ogni nodo spesso divide specializzazione funzionale e/o locazione anatomica con altri nodi dello stesso modulo (Pedersen et al., 2018).

Le comunità nel contesto di network neurali rappresentano i confini tra i sistemi cognitivi e sono concepite come in grado di promuovere la specializzazione funzionale. (Betzel & Bassett, 2016).

La community structure di network dinamici, quindi, coglie la dinamica formazione e dissoluzione delle comunità nel tempo. Con questa misura è quindi possibile identificare configurazioni flessibili da un punto di vista temporale, dove certi nodi/regioni tendono a cambiare la loro comunità di assegnazione, e altre regioni che sono meno flessibili, quindi mantengono con più consistenza l'appartenenza a date comunità (Betzel et al., 2017)

L'identificazione delle comunità inoltre rappresenta un potenziale e flessibile strumento per l'identificazione di biomarker cerebrali e quindi per un collegamento tra cervello, comportamento, cognizione e patologia (Betzel, 2020; van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010).

È bene specificare che l'entità del modulo e quindi di un'organizzazione modulare/di comunità emerge prettamente ad un livello di analisi di tipo "meso"-scopico. Come detto

prima, degree di un nodo e path length sono utili per descrivere il network nei suoi estremi, cioè localmente (studio delle unità fondamentali, dei nodi) e globalmente (network come collettivo di unità). A metà strada esiste un'altra scala, che è quella definita "meso-". La meso-scala, è dove possiamo indagare aggregati di nodi che adottano differenti tipi di organizzazione e configurazione. Qui possiamo identificare strutture di comunità, nuclei (cores), periferie (peripheries) e "rich clubs" (Faskowitz et al, 2020; Betzel, 2020; Betzel & Bassett, 2016).

Sui moduli e sulle comunità è già stato detto abbastanza, ma potrebbe essere utile approfondire le altre voci citate.

I rich clubs sono definiti come gruppo di hubs (high degree, high strength nodes) che sono anche densamente interconnessi tra loro. Si ipotizza che i rich clubs agiscano come strutture integrative in network anatomici, legando fra loro i moduli e facilitando la trasmissione delle informazioni. (Bassett et al. 2013).

Le strutture "core-periphery" (nucleo periferia) sono strutture concepite sull'idea che il network, in linea di principio, sia costituito da un nucleo denso (o pochi nuclei) e che le periferie vi interagiscano. Le periferie, però, tra loro, interagirebbero raramente. Come i rich clubs, anche i nuclei avrebbero un ruolo integrativo, servendo da zone centrali per i collegamenti con le altre aree cerebrali. I nuclei (core) sarebbero dei gruppi di nodi densamente connessi, e le periferie sarebbero invece nodi sparsamente connessi. Uno studio ha mostrato come in un contesto di apprendimento di nuove abilità, i partecipanti con una maggior separazione tra nucleo e periferia fossero in grado di apprendere meglio nelle successive sessioni di training rispetto a soggetti con minor separazione. Questi risultati suggeriscono che l'organizzazione core-periphery possa essere una proprietà importante quanto la modularità per la comprensione e la predicibilità di cognizione e comportamenti (Bassett et al., 2013).

1.2.2.2 – Temporal networks

Anche se applicazioni recenti della teoria dei sistemi complessi ai dati di neuroimmagine hanno portato importanti scoperte rispetto alla struttura e alla funzione del cervello, la maggior parte degli studi si è focalizzata sul rappresentare il cervello come un sistema statico (Gazzaniga & Bassett, 2011). Con ciò, la comprensione della configurazione spaziotemporale dei network cerebrali è ancora scarsa (Pedersen et al., 2018).

Appare ormai evidente da anni però che i network cerebrali, sia dal punto di vista funzionale che strutturale, non sono statici, ma invece fluttuano su diverse scale temporali, spaziando dai millisecondi all'intera vita. Queste fluttuazioni nell'organizzazione del network sono particolarmente evidenti su scale temporali brevi (Betzel & Bassett, 2016). Procedure di clustering o community detection rivelano gruppi di regioni cerebrali densamente accoppiati che costituiscono network funzionali o network resting state; questi si manifestano chiaramente quando la connettività funzionale è campionata su lunghe finestre temporali, e mantengono una certa consistenza, ma su scale temporali più piccole, dai millisecondi ai minuti, appaiono fluttuanti, instabili, in trasformazione. Le connessioni funzionali e le comunità del network sembrano essere transitorie e intermittenti, come se fossero un gruppo di stati temporanei del network, una configurazione momentanea (Sporns et al., 2021). Questo è evidente in analisi più macroscopiche di neuroimmagine, che mostrano come certe aree del cervello siano coinvolte differentemente in vari compiti in tempi diversi (alcune con consistenza, altre in maniera transitoria), e in studi di connettività funzionale più fine (Hutchinson et al., 2013; White & Calhoun, 2019; Braun et al., 2015).

Queste fluttuazioni coinvolgono uno spostamento nell'equilibrio tra stati segregati (alta modularità) e integrati (bassa modularità), con episodi di alta modalità che mostrano proprietà topologiche consistenti nel tempo e soggette a modulazione da parte di stati interni, task performance e comportamenti (Sporns et al., 2021).

Possiamo definire come "temporali" i network interessati a cogliere la dinamica dei network nel tempo, quindi il loro comportamento. I network temporali (temporal networks) sono tipi di network analizzati nelle neuroscienze sistemiche dinamiche che concepiscono il network neurale come in evoluzione, interconnesso e quindi in cambiamento. La sua natura si definisce e ridefinisce, appunto, nel tempo. Questo aspetto dinamico è quello che le neuroscienze sistemiche cercano di sviscerare, per capire la natura complessa dei fenomeni neurofisiologici sottostanti alla cognizione (Betzel & Bassett, 2017). Un esempio di utilizzo della cornice teorica dei network temporale può essere quello dei network multilayer, nei quali ogni strato rappresenta la stima di un network funzionale da una singola finestra di dati fMRI e dove i nodi sono collegati attraverso strati sequenziali per indicarne l'identità (Bassett et al. 2015; Muldoon & Bassett, 2015). L'analisi dei network multilayer è un modello teoretico relativamente

recente inseribile nella teoria dei grafi dove i nodi sono connessi e analizzati su più dimensioni (spazio e tempo), quindi dinamici. Il modello “multilayer modularity” permette di tracciare e quantificare i cambiamenti temporali per ciascun nodo quando cambiano modulo o network di riferimento (Pedersen et al., 2018).

Oltre alle statistiche discusse prima, i network temporali, per via quindi dell’attenzione all’evoluzione dinamica e temporale dei network cerebrali, utilizzano altre statistiche di sistema, quali la flessibilità e la stazionarietà (Bassett et al., 2011), o l’integrazione (Braun et al., 2015), statistiche che permettono di quantificare i cambiamenti nel dominio del tempo nella struttura di comunità (community structure) identificata (Bassett et al., 2015). In questo studio vengono prese in considerazione quattro parametri, cioè: flessibilità, promiscuità, integrazione e reclutamento, sia a livello dei nodi, che a livello del network. La flessibilità, espressa a livello del nodo, indica il numero di volte in cui ogni nodo cambia “modulo di appartenenza”, normalizzato dal numero totale e possibile di cambiamenti. La flessibilità tiene in considerazione se un nodo i cambia la sua comunità di appartenenza nel tempo. La flessibilità di un network, a livello globale, rappresenta quindi la flessibilità media di tutti i nodi, ed è una misura che definisce il cambiamento nelle proprietà locali degli elementi del network (Bassett et al., 2011). Si definiscono poco flessibili (low-flexibility) regioni (o nodi) del cervello che mantengono la “fedeltà” (allegiance) con le stesse comunità durante l’esperimento, mentre sono flessibili (high flexibility) che hanno un tasso di “cambiamento” (switching) di comunità più elevato (Basset et al., 2011; Pedersen et al., 2018).

La flessibilità del network cerebrale sembra correlare con il grado di apprendimento motorio e rappresenta un predittore per la quantificazione e solidità di questo apprendimento (Basset et al., 2011). La flessibilità potrebbe essere indotta da processi fisiologici atti a facilitare la partecipazione di regioni corticali in differenti comunità funzionali (es nell’apprendimento), ma potrebbe essere anche causato da processi “task-dependent” che richiedano la capacità di ribilanciare l’apprendimento su (across) vari sotto-compiti (Basset et al., 2011).

La flessibilità, oltre che con l’apprendimento motorio, correla anche con compiti di natura cognitiva quali compiti di memoria, un risultato riflesso anche dai risultati ai test neuropsicologici con punteggi migliori, e pure pianificazione e ragionamento (Pedersen et al., 2018). La flessibilità di un network sembra essere quindi un meccanismo

fondamentale neurofisiologico legato alle funzioni cognitive ed esecutive (Braun et al., 2015; Pedersen et al., 2018; Basset et al., 2011)

L'integrazione può essere definita come la probabilità che le regioni di un sistema possano co-occorrere con in comunità con le regioni di un altro sistema. Il coefficiente di integrazione tra due sistemi indica la probabilità che un nodo di un sistema sia anche il nodo di una comunità di un altro sistema. Con questo, il coefficiente di integrazione rappresenta la probabilità di intercomunicazione con regioni di altri sottosistemi, quindi che un nodo compartecipi a comunità di sistemi differenti (Mattar et al., 2015).

Il reclutamento di un nodo rappresenta la probabilità che un nodo sia assegnato ad una stessa comunità di una regione di interesse funzionale che sia parte di un sottosistema comune; quindi, un nodo che compartecipa a comunità appartenenti a sottosistemi parte di un unico sistema funzionalmente definito (Bassett et al., 2015; Mattar et al., 2015). Il reclutamento di un sistema è la probabilità che le sue regioni co-occano in comunità con regioni differenti ma sempre parte del medesimo sistema (Mattar et al. 2015).

La promiscuità descrive la frazione di tutte le comunità di un network in cui un nodo vi partecipa almeno una volta (Papadopolous et al., 2016).

1.2.3 - Connettività funzionale in epilessia

Come già detto, l'epilessia negli ultimi anni sta venendo riconcepita come disturbo del network cerebrale (Liao et al., 2013; Tracy & Doucet, 2015). La nostra comprensione dei meccanismi dell'inizio delle crisi, del loro mantenimento e della loro terminazione durante attacchi epilettici, così come durante le sue varie fasi e manifestazioni, è però ancora limitata (Kramer & Cash, 2012; Liao et al., 2013). Tuttavia, l'applicazione di analisi di connettività funzionale, soprattutto del tipo dinamica, si sta rivelando un utile strumento per lo studio di queste condizioni, soprattutto per determinare l'impatto dell'epilessia sull'attività cerebrale e nell'identificazione dei network cerebrali alterati associati alle crisi (Fallahi et al., 2020; Song et al., 2014; Liao et al., 2013; Kramer & Cash, 2012; Tracy & Doucet, 2015). Per esempio, analisi di connettività funzionale con risonanza magnetica funzionale hanno permesso di correlare alterazioni dell'attività funzionale intrinseca del cervello durante crisi d'assenza con un set di specifici deficit cognitivi, quali alterazioni nel network attentivo e nel DMN (Liao et al., 2013). Tra le alterazioni riscontrabili in pazienti affetti da epilessia del lobo temporale nel default mode

network si segnalano un decremento nella connettività funzionale nel lobo temporale mesiale e un aumento di connettività nella corteccia cingolata posteriore. La diminuzione di connettività nel lobo temporale è associata alla durata dell'epilessia, mentre l'aumento di connettività nella corteccia cingolata posteriore suggerisce un ruolo compensativo (Zhang et al., 2010). Soggetti con crisi d'assenza mostrano una connettività funzionale alterata tra talamo e DMN, specificandosi in una correlazione negativa durante la crisi, che tornava positiva durante un normale stato fisiologico (Liao et al., 2013; Yang et al., 2020). Attivazioni nel talamo e deattivazioni nel DMN legate a scariche generalizzate "spike and wave" (generalized spike and wave discharges, GSWD) sono tipicamente osservate in pazienti con crisi d'assenza, suggerendo un legame tra la generazione di GSWD e la sospensione funzionale durante la crisi. Inoltre, la anti-correlazione tra talamo e DMN scompare nei successivi state ictali e post-ictali, suggerendo un recupero dinamico dopo un periodo di inibizione dato dalle GSWD dal talamo sul DMN (Liao et al., 2013). Alterazioni del default mode network in pazienti con crisi epilettiche croniche (pazienti con epilessia del lobo temporale, epilessia frontale ed epilessia genetica generalizzata), espresse soprattutto in sospensioni del network e ad alterazioni della connettività funzionale, sono state associate a cambiamenti della coscienza e a deficit cognitivi (Yang et al. 2020). La variabilità temporale del DMN analizzata a livello degli spigoli (edge-wise), nodi (node-wise) e globale, mostra una iper-variabilità a livello degli spigoli e una ipo-variabilità a livello dei nodi rispetto a soggetti di controllo, suggerendo che i cervelli colpiti da epilessia siano più soggetti (in breve tempo) a transitare da uno stato all'altro, presentandosi con profili funzionali meno stabili nel tempo (Yang et al., 2020). Altri studi mostrano che l'impatto sul default mode network, espresso mediante una modifica funzionale, può avvenire anche in presenza dell'alterazione di un solo nodo del network (Zhang et al., 2010).

La connettività funzionale può essere inoltre utile per identificare dei cambiamenti nei profili di connettività fra soggetti di controllo e pazienti epilettici. La connettività sembra seguire un pattern di iper-connettività all'interno dei network ipereccitabili (e nelle loro connessioni col resto del cervello), oltre che di ipo-connettività negli "spiking network". Questi risultati supportano l'idea che attività epilettica cronica possa alterare in modo permanente la connettività cerebrale (Courtiol et al., 2020). Cambiamenti nelle proprietà topologiche del network includono diminuzione del clustering coefficient e un aumento

della global efficiency in pazienti con epilessia del lobo temporale ed epilessia idiopatica generalizzata rispetto a soggetti di controllo (Wang et al., 2014; Tracy & Doucet, 2015). Altri studi trovano inoltre alterazioni di proprietà locali, come della local efficiency, significativamente diminuita, suggerendo un'alterazione importante nella trasmissione dell'informazione regionale e della segregazione del network, quindi una riconfigurazione funzionale dei network funzionali, causata dalla condizione epilettica (Song et al., 2014). Uno studio recente ha mostrato che pazienti con epilessia del lobo temporale mediale intrattabile (farmacoresistente) mostrano una ridotta connettività funzionale tra network corticali e nuclei sottocorticali (specialmente ippocampo) e in generale una minore connettività funzionale intra-network nel lobo temporale laterale rispetto a soggetti di controllo, oltre che una ridotta connettività funzionale tra ippocampo, i networks resting state task-positive e sensoriali (Fu et al., 2021).

Studi di connettività funzionale in paradigmi resting state in generale hanno descritto alterazioni nella connettività funzionale in diversi network cognitivi in pazienti epilettici, quali il DMN e i suoi sottosistemi, e anche sistemi attentivi, linguistici, visuospatiali, mnestici (Liao et al., 2010; Tracy & Doucet, 2015). I cambiamenti funzionali si riflettono (e correlano) con i deficit nelle performance cognitive (Tracy & Doucet, 2015; Yang et al., 2020; Laufs et al., 2007). Per esempio, una ridotta connettività funzionale tra ippocampo e neocorteccia si esprime in performance peggiori in pazienti con epilessia del lobo temporale in compiti di memoria verbale (Wagner et al., 2007); o ancora, alterazioni della connettività tra lobo temporale mediale e regioni extratemporali riflettono peggiori risultati in compiti di memoria episodica cognitive, ed epilessie del lobo temporale, sinistre o destre, che mostravano peggiori performance in compiti linguistici, erano associate a profili di connettività funzionale con ridotta connettività funzionale nell'emisfero dominante e anche tra i due emisferi (Tracy & Doucet, 2015; Laufs et al., 2007) Un altro studio ha riscontrato una ridotta connettività funzionale nelle aree linguistiche in pazienti con epilessia temporale nel lobo sinistra in resting state (in particolar modo nelle aree "seed" prese in considerazione), ma non durante compiti di natura linguistica, una differenza che non si presentava nei soggetti di controllo (Waites et al., 2006).

Pazienti con mTLE mostrano inoltre una ridotta connettività funzionale, in lobi frontali, parietali e occipitali, oltre che nel già citato default mode network e nel network attentivo,

così come un aumento significativo nella connettività dei lobi temporali mediali ed altre aree (Liao et al., 2010).

Questo riconferma la validità della visione euristica dell'epilessia come disturbo del network, mostrando una (rapida, o duratura) riconfigurazione del connettoma funzionale durante le varie tipologie di crisi ed epilessie, con anomalie dei network, a livello locale e globale, che si manifestano in alterazioni di funzioni quali linguaggio, memoria, percezione (Tracy & Doucet, 2015; Liao et al., 2010)

Nel 30% dei casi dei pazienti con TLE, inoltre, la sorgente epilettogena non si riesce a determinare con precisione, rendendo impossibile l'operazione chirurgica. Risultati di connettività funzionale, con EEG o fMRI potrebbero fornire informazioni aggiuntive utili a questo scopo, sia per la valutazione chirurgica, che come predittori dell'outcome dell'operazione (Fallahi et al., 2020; Tracy & Doucet, 2015; Carr et al., 2021).

Studi recenti hanno mostrato che pattern di connettività funzionale in TLE sinistri e destri sono differenti, incluse la redistribuzione del funzionamento globale in L-TLE e deficit funzionali in R-TLE. Anche i network motori e il default mode network mostravano delle alterazioni funzionali (Fallahi et al., 2020). Questi risultati sono basati su analisi di FC con la teoria dei grafi e mostrano una miglior capacità di identificazione della lateralità di TLE con analisi di FC dinamica invece che statica. FC statica: né il clustering coefficient né il node neighbor's degree hanno mostrato una differenza significativa tra i due gruppi TLE, mentre invece misure di connettività funzionale dinamica hanno identificato delle differenze (Fallahi et al., 2020). In pazienti con epilessia del lobo temporale, l'analisi pre-chirurgica della connettività funzionale può essere indicativa, per esempio, del valore del recupero, del mantenimento, o del declino di certe funzioni cognitive, per esempio di memoria episodica rispetto alla connettività tra ippocampo epilettico e cingolo posteriore (Tracy & Doucet, 2015).

Analisi di connettività funzionale possono essere inoltre utili per una comprensione più approfondita dello sviluppo e dell'andamento delle crisi. L'andamento in tandem di sincronia e asincronia, caratterizzato da dinamiche temporali complesse, può essere quindi analizzato mediante il comportamento del network nel tempo, quindi la sua riconfigurazione, per esempio quando la crisi inizia, si diffonde e infine termina, mostrando come la forza della connettività cambi a seconda del "momento" della crisi, quindi la formazione e la dissoluzione di nuovi (temporanei, o anche tendenzialmente

stabili) network funzionali, tra cui network epilettogeni (Khambhati et al., 2014; Song et al., 2014; Carr et al., 2021).

Alla scala macroscopica, la transizione tra inizio della crisi e propagazione può risultare in una diminuzione della correlazione lineare tra regioni. Questo “decoupling” è indipendente dalla localizzazione anatomica dell’inizio della crisi, della sua durata e del numero di canali interessati per la registrazione (Kramer & Cash, 2012). Misure delle proprietà di network mostrano come average path length e clustering coefficient aumentino durante la prima metà della crisi e diminuiscano poi gradualmente. Questo suggerisce la transizione del network verso una organizzazione funzionale più stabile (meno “random”) durante la propagazione della crisi, rendendo più marcate le proprietà di un network cosiddetto “small-world” e mostrando alcuni aspetti, in passato non considerati, della transizione da stati interictali a ictali (Ponten et al. 2007; Kramer & Cash, 2012).

Queste evidenze riconfermano, nel complesso, che l’epilessia si conferma come una condizione grave, che può alterare in maniera transitoria o duratura l’equilibrio del funzionamento cerebrale, portando a modifiche sostanziali nell’assetto neurofunzionale, di connettività (strutturale e funzionale), di formazione e dissolvimento dei network, e di gran parte delle proprietà utilizzate per descrivere queste configurazioni cerebrali (Liao et al., 2010; Morgan et al., 2015). Tutto questo riconferma, inoltre, la possibilità di utilizzare le misure di connettività e delle proprietà topologiche dei network complessi come marker per la patologia, ma anche per la normalità, quindi marker predittivi e in generale elementi utili per una descrizione e una comprensione più esaurienti del network neurale e del suo funzionamento (Liao et al., 2010; Morgan et al., 2015; He et al., 2018).

1.2.4 Scopi della ricerca

Come si è visto, l’epilessia rappresenta una delle condizioni neurologiche più diffuse e una di quelle più invalidanti. La condizione epilettica, infatti, rappresenta un disagio e un pericolo, a livello quotidiano, e se non trattata (o se non trattabile), può portare con sé diversi effetti collaterali e ricadute sul funzionamento neurale e psicologico. La comprensione dell’epilessia, tuttavia, è ancora parziale, in particolare nei suoi aspetti dinamici, solo recentemente studiati in ottica di network temporali e con framework di connettività funzionale dinamici.

Tra i tipi di epilessia, l'epilessia del lobo temporale è quella con incidenza maggiore, rappresentando oltre il 50% dei casi e, nuovamente come già visto, anche questa condizione si accompagna a ben riconoscibili deficit in diverse funzioni cognitive, oltre che a configurazioni dinamiche del network alterate rispetto ai controlli, alterazioni che possiamo correlare alle ridotte performance nei domini cognitivi.

Alla luce di tutto questo appare chiaro come uno studio più approfondito dell'epilessia sia doveroso, per apprendere di più sul funzionamento neurale, in generale (nella patologia, e in assenza di alterazioni dell'architettura cerebrale), e per riconoscere e meglio descrivere le condizioni epilettiche, e quindi delineare nuove strade di intervento, siano esse farmacologiche, o di chirurgia, o altre ancora al momento non esistenti. Come spesso accade nella ricerca scientifica, l'esigenza etica e d'intervento e quella di conoscenza si intersecano là nella concretezza pratica, cioè, in questo caso, il paziente che soffre di epilessia, con le sue difficoltà.

L'investigazione delle dinamiche di network in epilessia può rappresentare uno strumento utile alla comprensione del funzionamento neurale sottostante i deficit cognitivi in epilessia, e gli indici di connettività funzionale (quali flessibilità ed integrazione), in particolare, hanno il potenziale di essere interpretati ed utilizzati come possibili biomarker.

In questo studio, specificamente, si è voluta analizzare l'epilessia del lobo temporale da un punto di vista funzionale nei suoi aspetti dinamici, in un paradigma resting-state con elettroencefalografia ad alta densità. I risultati di connettività funzionale sono stati poi confrontati con quelli ottenuti da un gruppo di controllo, e a loro volta messi a confronto con i risultati nei test neuropsicologici che hanno indagato i domini dell'intelligenza, della memoria e dell'attenzione visiva.

Il primo scopo è quello di identificare delle differenze più specifiche nella riconfigurazione dinamica della comunicazione intrinseca del cervello a riposo, tra pazienti con epilessia del lobo temporale e soggetti di controllo.

Il secondo obiettivo della ricerca è quello di gettare un ponte tra queste differenze specifiche e i profili neuropsicologici emersi dai test neuropsicologici adottati, in particolare considerando due indici di connettività funzionale (flessibilità e integrazione), analizzati sia a livello nodale, che a livello globale.

Questo pare inoltre essere al momento il primo studio che ha cercato di studiare e cogliere la riconfigurazione dinamica del network neurale a partire dall'attività elettroencefalografica ad alta densità. La scelta del mezzo di registrazione è stata data dalla storia e dall'affidabilità della tecnica nello studio presente e passato dell'epilessia, e la caratteristica ad alta densità ne permette una maggior risoluzione spaziale, oltre che il mantenimento dell'eccellente risoluzione temporale tipica dell'elettroencefalografia con minor numero di elettrodi, e la maggior affidabilità nella ricostruzione di sorgente.

2. Metodo

2.1 - Partecipanti

Ventiquattro soggetti con epilessia del lobo temporale unilaterale hanno partecipato allo studio (16 con epilessia temporale sinistra e 8 con epilessia temporale destra; età media = 44,14 [SD = 16,11]; 10F). Il gruppo di controllo è stato formato da trentasei soggetti di controllo, nessuno dei quali ha avuto precedenti complicazioni neurologiche o disturbi psichiatrici (età media = 35,30 [SD (8,97); 28F).

2.2 - Punteggi neuropsicologici

I pazienti con epilessia del lobo temporale hanno ricevuto una valutazione neuropsicologica concentrata su memoria, funzioni esecutive/attenzione e intelligenza. Più nello specifico, la memoria a lungo termine è stata indagata mediante Rey-Osterrieth Complex Figure Test (ROCF), un test specifico per la rievocazione differita (Caffarra, Vezzadini, Dieci, Zonato & Venneri, 2000). Attenzione e funzioni esecutive sono state ricavate mediante Trail Making Tests (Giovagnoli et al., 1996). Per l'intelligenza, come misura dell'intelligenza globale, è stato utilizzato il quoziente intellettivo totale (TIQ) della scala WAIS-IV (Orsini & Pezzuto, 2013). In questo studio, sono stati considerati solamente i soggetti con un quoziente intellettivo superiore a 75. Sono stati quindi esclusi tre pazienti con epilessia del lobo temporale, con un QI, rispettivamente, di 55, 61 e 59.

2.3 - Resting-state EEG

La registrazione con EEG ad alta densità è stata ottenuta utilizzando il sistema Micromed con 128 canali. Il segnale è stato campionato a 1024 Hz e l'impedenza è stata mantenuta al di sotto di 5k Ω per ciascun sensore. Sono stati ricavati 10 minuti di resting-state ad occhi chiusi.

2.4 - Pre-processing dei dati EEG

Il processamento del segnale è stato fatto con EEGLAB 14.1.2b (Delorme & Makeig, 2004). Il segnale continuo EEG è stato inizialmente sotto-campionato a 250 Hz e poi filtrato con un filtro passa-banda (0.1-45 Hz). Il segnale è stato poi ispezionato

visivamente per identificare le scariche interictali epilettiformi (IEDs) e in seguito segmentato in epoche di 2 secondi. Le epoche contenenti attività epilettiforme sono state scartate. Il segnale suddiviso in epoche è stato successivamente sottoposto ad un'analisi mediante il plugin TBT implementato in EEGLAB, la quale ha rimosso in automatico canali reputati non idonei e artefatti. Questo algoritmo identifica i canali che hanno superato un'ampiezza soglia, nello specifico $250\mu\text{V}$ contrassegnandoli come canali 'cattivi o bad channels. I canali definiti come "cattivi" per più del 30% delle epoche totali sono stati esclusi. Inoltre, epoche con più di 10 bad channels venivano automaticamente scartate.

In seguito, sono stati automaticamente individuati dei possibili canali "piatti" con il plugin Trimoutlier di EEGLAB, con il limite inferiore di $1\mu\text{V}$. La pulizia dei dati è avvenuta mediante analisi delle componenti indipendenti (ICA) (Stone, 2002), utilizzando l'algoritmo Infomax implementato in EEGLAB (Bell & Sejnowski, 1995).

Le componenti ottenute sono state ispezionate visivamente (mappe topografiche e serie temporali) e quelle associate ad artefatti muscolari, movimenti oculari e saccadi sono state scartate. Le componenti rimanenti sono state proiettate nello spazio degli elettrodi per ottenere epoche EEG pulite da artefatti. Infine, i canali scartati sono stati ricostruiti mediante interpolazione (metodo di interpolazione sferica) (Ferree, 2006; Perrin, Pernier, Bertrand & Echallier, 1989). I dati sono stati poi ri-riferiti alla media di tutti gli altri elettrodi.

2.5 - Modellamento delle sorgenti corticali

Per i pazienti con epilessia del lobo temporale è stata utilizzata l'anatomia individuale derivante dalla risonanza magnetica per generare modelli della testa individualizzati. Per ricostruire l'anatomia individuale sono state utilizzate immagini derivanti dalla sequenza T1 di risonanza magnetica strutturale (risoluzione 1mm, matrice $256 \times 256 \times 256$). Per 3 partecipanti è stata usata l'anatomia di default MNI-ICBM152 perché non erano presenti immagini di risonanza magnetica. Le immagini di risonanza sono state segmentate in tessuti, cranio e materia grigia utilizzando il processo di segmentazione del Computational Anatomy Toolbox (CAT12; Christian Gaser, 2018). Le superfici individuali sono state poi importate in Brainstorm (Tadel et al., 2011), e successivamente sono state ricostruite le superfici necessarie per il Boundary Element Method, che è stato

utilizzato come per la risoluzione del modello diretto, ovvero la misura dell'espressione del campo elettrico di un dipolo (vertice) su un determinato elettrodo. Queste superfici comprendevano cranio interno, cranio esterno e scalp. Infine, la superficie corticale è stata sotto-campionata a 15,002 vertici. Il processo di coregistrazione degli elettrodi sullo scalp è stato effettuato manualmente per ogni soggetto. Per il gruppo di controllo è stata invece utilizzata l'anatomia di default presente in Brainstorm (modello anatomico ICBM152) per approssimarsi all'anatomia individuale di ciascun partecipante. Il modello diretto è stato risolto utilizzando il BEM con i seguenti parametri i tre strati (conduttività: 0.33, 0.165, 0.33 S/m; rapporto: 1/20 rispettivamente, cranio interno, cranio esterno, e scalp) (Goncalves et al., 2003), utilizzando il metodo openMEEG implementato in Brainstorm (Kybic et al., 2005). Infine, i dipoli sono stati orientati normalmente alla superficie corticali. È stato in seguito utilizzato il weighted Minimum Norm Estimate (wMNE) per ricavare il modello inverso, con i parametri di default di Brainstorm.

2.6 - Connettività funzionale dinamica e calcolo degli indici

Per calcolare la connettività funzionale la superficie corticale è stata prima di tutto parcellizzata in 100 aree corrispondenti ai 17 resting-state network (RSN) (Schaefer et al., 2018). È stata poi calcolata la coerenza risolta nel tempo con una lunghezza delle finestre temporali di 6 secondi, con massima frequenza di 1Hz e con una sovrapposizione tra finestre del 50%. La coerenza è stata in seguito raggruppata nelle cinque canoniche bande di frequenza: Delta (2-4 Hz), Theta (4-7 Hz), Alpha (8-12 Hz), Beta (13-29 Hz), Gamma (30-45 Hz). Questo ha fatto risultare una matrice di connettività $N \times N \times T$ (N = nodi dell'atlante; T = time points) separatamente per ciascuna frequenza. Per ciascun soggetto, le matrici di connettività sono state partizionate in moduli utilizzando l'algoritmo di Louvain (Mucha, Richardson, Macon, Porter & Onnela, 2010) utilizzando i seguenti valori dei parametri $\gamma = \omega = 0.95$. Il parametro γ bilancia il relativo contributo della connettività attesa e controlla di fatto il numero di moduli identificati per ciascuno strato. Il parametro ω definisce il peso di ciascuno edge (connessione) inter-layer che collega ciascun nodo i a se stesso attraverso i vari strati (cioè i punti temporali); quando il suo valore è alto, i moduli identificati tendono ad essere più simili tra loro nei i layer. Tuttavia, questo algoritmo non essendo deterministico, non presenta una soluzione univoca ed ogni volta che viene applicato potrebbe portare a risultati parzialmente

differenti. Un approccio utilizzato in letteratura per far fronte a questo problema è quello di applicare l'algoritmo di Louvain molteplici volte per ogni soggetto, calcolare i vari indici che si possono estrarre, in ogni sua applicazione e poi mediare. Nello specifico la partizione in moduli è stata effettuata 100 volte per ogni soggetto (Basset et al., 2011; Basset et al., 2013; Braun et al., 2015).

2.6.1 - Flessibilità

L'indice di flessibilità indica se e quanto un dato nodo cambia la sua comunità assegnata (modulo) nel tempo (Basset et al., 2011). Per ognuna delle 100 ripetizioni, è stata calcolata la flessibilità di ogni nodo. Mediando il valore di flessibilità in tutte le ripetizioni, è ottenuto il valore di flessibilità del nodo per ogni soggetto. Infine, calcolando la media tra i nodi che formano una specifica rete, è stato ottenuto l'indice di flessibilità medio per ognuno dei 17 RSN (Gifford et al., 2020).

2.6.2 - Integrazione

Per calcolare l'indice di integrazione, come prima cosa è stato applicato un algoritmo di consenso per trovare la partizione di consenso S , cioè la più rappresentativa di un numero n di partizioni date (Basset et al., 2013). La partizione ottenuta dall'algoritmo di Louvain generalizzato è una matrice nodo per punto temporale che indica il modulo a cui ogni specifico nodo è assegnato in ogni punto temporale. Come menzionato prima, l'algoritmo è stato eseguito su più iterazioni (100) ottenendo una matrice di partizione nodo $(i) \times$ tempo $(j) \times$ iterazione (t) . Questo ha permesso quindi di trovare la partizione di consenso che fosse la più rappresentativa tra tutte le iterazioni. Questa partizione è stata utilizzata per calcolare la cosiddetta allegiance matrix, ovvero la matrice T i cui elementi T_{ij} indicano quanto spesso due nodi sono stati assegnati allo stesso modulo attraverso il tempo. A partire dalla allegiance matrix T , è stato poi calcolato l'indice di integrazione dei nodi che è definito come il valore medio di connessioni di che questo ha con nodi appartenenti ad altri moduli. (Mattar et al., 2015). Come per la flessibilità, l'integrazione dei network è stata ottenuta facendo la media tra i nodi che formano i vari RSN.

2.7 - Analisi statistica

Come primo step analitico, un approccio permutativo con t-test non appaiato ($\alpha = .05$) per controllare per l'errore statistico di primo tipo (Groppe, Urbach & Kutas, 2011) è stato applicato per ciascuna banda di frequenza e misura (flessibilità ed integrazione) al livello dell'intero cervello contrastando il gruppo di partecipanti di controllo vs. gruppo di pazienti con epilessia del lobo temporale. Per il controllo dell'errore del I tipo, sono state eseguite 2,000 permutazioni Monte-Carlo e una correzione per confronti multipli con il false discovery rate (FDR) (Benjamini & Hochberg, 1995) lungo le dimensioni della frequenza e dei nodi. In seguito, sono state eseguite le stesse analisi per gli indici mediati per i network. Infine, selezionando gli indici di connettività per network e frequenze statisticamente differenti, è stato calcolato il coefficiente di correlazione di Pearson's con i punteggi neuropsicologici.

3. Risultati

3.1 - Flessibilità e Integrazione: analisi a livello del nodo

È stata osservata una differenza significativa nell'indice di flessibilità nel gruppo di controllo rispetto al gruppo di pazienti con epilessia del lobo temporale. Il gruppo di controllo presenta valori più alti di flessibilità nelle bande delta, theta e alpha; inoltre, queste differenze si esprimono particolarmente a livello del solco intraparietale (IPS), nella corteccia prefrontale dorsale e ventrale, nel precuneo, nella corteccia visiva e nel lobo temporale, oltre che nella corteccia somato-motoria sinistra ($p < .05$).

Pazienti con epilessia del lobo temporale mostrano invece una più alta flessibilità nel giro temporale superiore destro e nella area motoria destra nelle bande delta, theta, beta e gamma ($p < .05$). Nel medesimo gruppo, è stato osservato un incremento dell'indice di flessibilità nell'area motoria sinistra nelle bande di frequenza più alta (come beta e gamma).

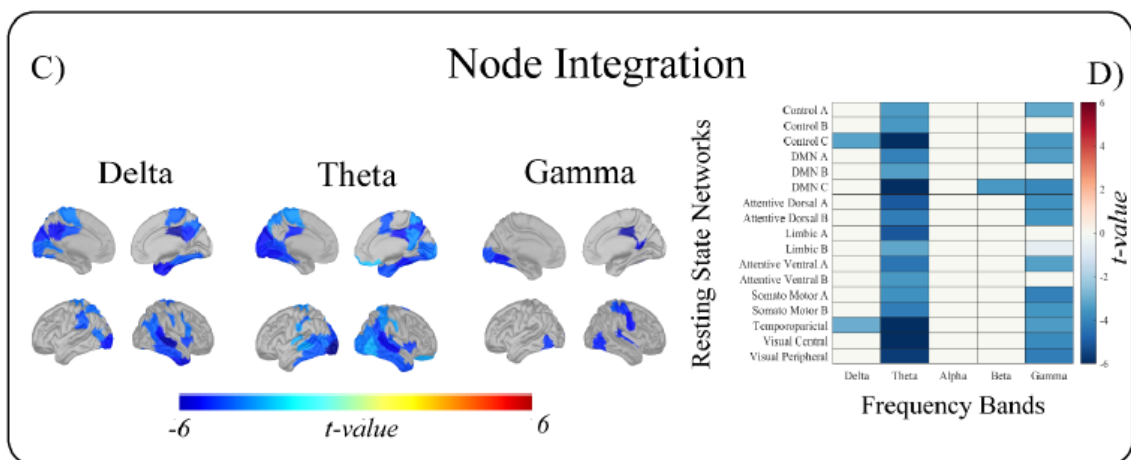
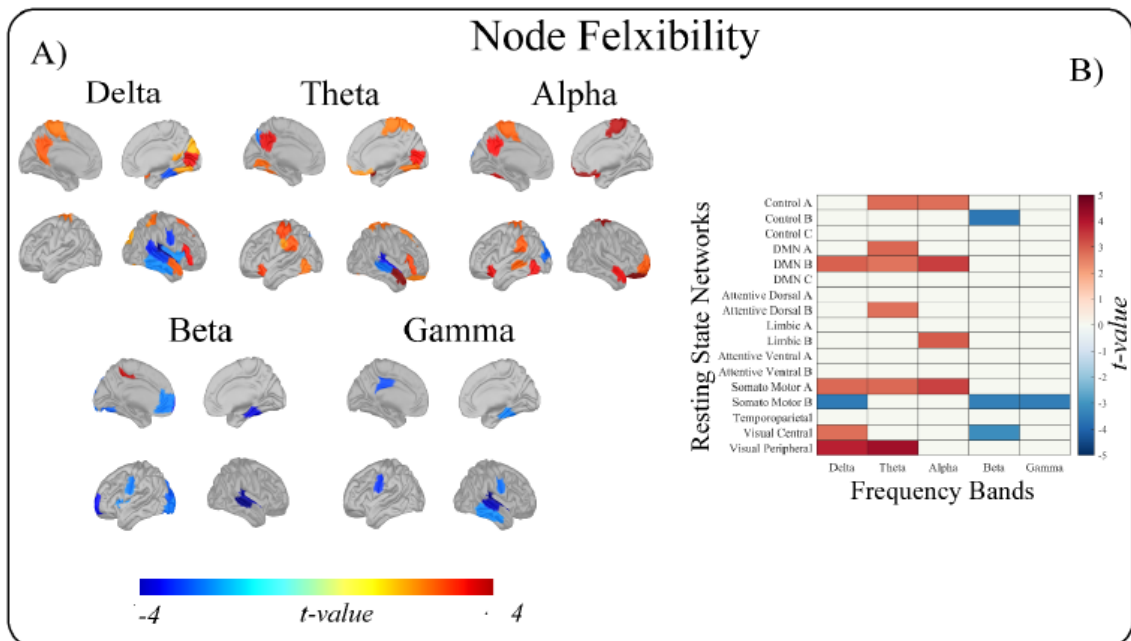
A differenza della flessibilità, l'indice di integrazione mostra valori più alti nei pazienti con epilessia del lobo temporale, rispetto al gruppo di controllo, esclusivamente nelle bande delta, theta e gamma. Queste differenze sono primariamente espresse nelle aree temporo-parietali, visive e sensomotorie.

3.2 - Flessibilità e Integrazione: analisi a livello del network

Mediando il valore degli indici tra i vari nodi è stato possibile investigare le differenze tra i gruppi in specifici network resting-state. Questo ha permesso di delineare una più completa panoramica delle dinamiche cerebrali espresse in forma di connettività funzionale dei pazienti con epilessia temporale. I risultati mostrano una maggiore flessibilità nel gruppo di controllo nei network resting-state adibiti primariamente alle funzioni attentive ed esecutive. Più nello specifico, il gruppo di controllo ha mostrato un incremento dell'indice di flessibilità nelle bande delta, theta e alpha nei network di controllo, nel default mode network e nel network attentivo dorsale ($p < .05$). Lo stesso comportamento è stato riscontrato nel network somato-motorio e visivo centrale e periferico ($p < .05$).

Il network somato motorio ha mostrato un aumento di flessibilità nei pazienti con epilessia del lobo temporale nelle bande delta, beta e gamma, mentre invece nel network di controllo l'incremento di flessibilità è modulato esclusivamente nella banda beta. Per quanto riguarda l'indice di integrazione, nei pazienti con epilessia temporale è stato riscontrato un alto valore in tutti i 17 network, ma solo nella banda theta ($p < .01$). è stata inoltre osservata una differenza significativa tra i due gruppi nella banda gamma, nella maggior parte dei network resting state, ma non nel network somatomotorio, DMN, di controllo e limbico. I network temporo-parietale e di controllo differiscono inoltre nella banda di frequenza delta.

Controls vs. Patients with TLE



La figura mostra differenze significative a livello del nodo per gli indici di flessibilità e integrazione nelle cinque bande di frequenza. Le regioni colorate in rosso rappresentano differenze significative con valori più grandi degli indici di interesse nei gruppi di controllo rispetto al gruppo di pazienti. Viceversa, aree indicate col colore blu rappresentano zone in cui gli indici di flessibilità e integrazione nel gruppo di pazienti hanno valori maggiori rispetto al gruppo di controllo

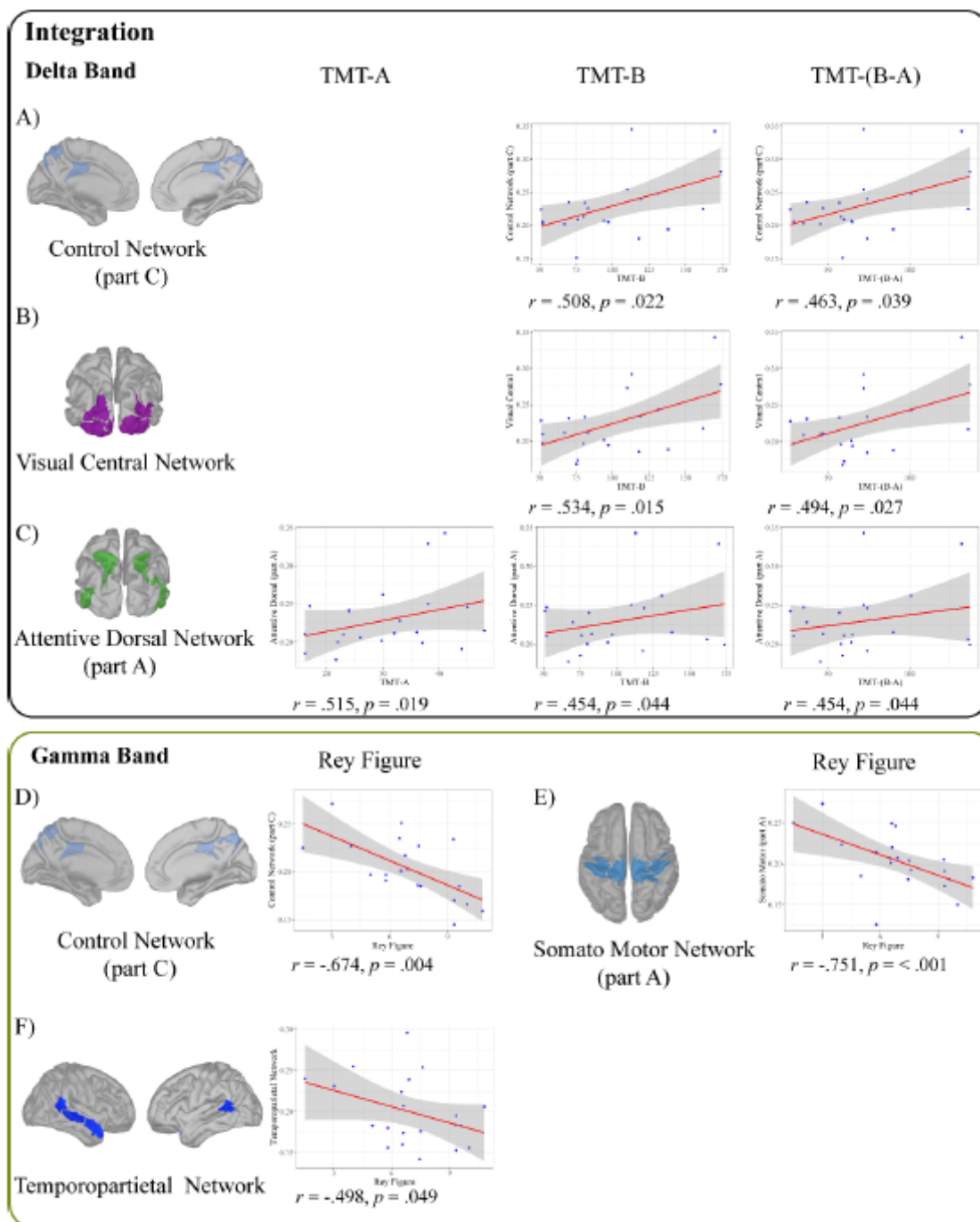
3.3 - Risultati di correlazione

L'analisi ha rivelato correlazioni significative tra l'indice di integrazione nelle bande di frequenza delta e gamma e tra i punteggi neuropsicologici. Più nel dettaglio, sono state osservate delle correlazioni significative tra i punteggi di flessibilità cognitiva (TMT-B) (Bowie & Harvey, 2006) e il valore medio di integrazione nella banda delta nel network di controllo ($r = .508$, $p = .022$), visivo centrale ($r = .534$, $p = .015$), oltre che nel network attentivo dorsale ($r = .515$, $p = .019$).

Una misura della funzione di controllo esecutivo ottenuta dall'indice del TMT B-A (Giovagnoli et al., 1996) ha mostrato un comportamento simile rivelando correlazioni significative con gli stessi network resting-state (network di controllo: $r = .463$, $p = .039$; network attentivo dorsale: $r = .460$; $p = .04$; network visivo centrale: $r = .494$, $p = .027$). Inoltre, l'abilità di ricerca visiva misurata dal TMT-A ha mostrato una correlazione significativa con l'indice di integrazione nella banda delta per il network attentivo dorsale ($r = .454$, $p = .044$).

Viene inoltre osservato come i punteggi TMT-B più alti, che sono interpretati come un ridotto funzionamento, sono relati ad un più alto livello di integrazione.

Infine, l'indice di integrazione nella banda gamma mostra una correlazione significativa unicamente con la rievocazione differita del test delle figure Rey-Osterrieth nei network di controllo ($r = -.674$, $p = .004$), somato-motorio ($r = -.751$, $p < 0.001$) e temporo-parietale ($r = -.498$, $p = .049$).



La figura mostra la correlazione significativa tra l'indice di integrazione nei network resting-state nelle bande di frequenza delta e gamma e i punteggi neuropsicologici. Questi, misurano rispettivamente la ricerca visiva (TMT-A), la flessibilità cognitiva (TMT-B), le funzioni esecutive (TMT-(B-A)) e la memoria a lungo termine (rievocazione differita nel test delle figure di Rey-Osterrieth).

4. Discussione

4.1 – Considerazioni finali

Gli indici di connettività funzionale si stanno recentemente rivelando essere riferimenti sempre più utili per indagare le dinamiche del network neurale e, come nello studio qui condotto, anche gli aspetti e i comportamenti caratteristici del suo funzionamento, quali la riorganizzazione nel tempo, il suo andamento dinamico. Questo può avvenire sia a livello di singole strutture corticali (nodi) sia a quello dei circuiti distribuiti.

Questo studio, più nel dettaglio, si è interessato al funzionamento intrinseco (resting-state) del network cerebrale, e si è dedicato ad approfondire il funzionamento neurale in una popolazione clinica con disturbi neurologici, nello specifico, in una popolazione epilettica, caratterizzata da epilessia del lobo temporale. L'epilessia è infatti una condizione patologica che comporta una disorganizzazione sia nella comunicazione cerebrale locale che in quella distante cortico-corticale, le quali sono associate a distinti deficit di natura neuropsicologica.

L'utilizzo degli indici di integrazione e flessibilità ha permesso di portare ulteriori evidenze allo studio di queste condizioni, oltre che ad aprire la strada ad ulteriori studi con metodi non invasivi differenti dalla fMRI, quali appunto la qui utilizzata elettroencefalografia ad alta densità, con l'applicazione, per la prima volta, di questo framework di connettività funzionale dinamica allo studio delle dinamiche di riorganizzazione del network in pazienti con epilessia del lobo temporale.

Nel complesso, le evidenze sembrano indicare che i pazienti con epilessia del lobo temporale mostrino un indice di flessibilità significativamente ridotto rispetto a soggetti sani di controllo. Questi risultati sono consistenti sia a livello dei nodi, che del network. È infatti osservata una ridotta flessibilità in varie regioni cerebrali distinte, quali il solco intraparietale destro, il precuneo, la corteccia prefrontale dorsale e ventrale, la corteccia visiva, la corteccia somato-motoria sinistra e il polo temporale; il cambio di appartenenza modulare di questi nodi appare inoltre ridotto in diverse frequenze oscillatorie, quali le bande delta, theta e alpha.

Il differente peso nodale nella riconfigurazione funzionale è inoltre riflesso a livello del network, con maggiore flessibilità nei controlli sani rispetto ai pazienti nei network di controllo, default mode, attentivo dorsale, somato-motorio e in quello visivo.

Questi risultati, allineati con la precedente letteratura, confermano un'alterazione nello scambio di informazione cortico-corticale nei pazienti epilettici.

Oltre queste evidenze a sostegno, tuttavia, il presente studio porta con sé nuove implicazioni.

In primo luogo, una scarsa flessibilità dei nodi in specifici network resting-state potrebbe riflettere un fondamentale meccanismo disfunzionale neurofisiologico in grado di spiegare l'alterazione dei profili di connettività osservati in pazienti con epilessia del lobo temporale. Infatti, un sistema "rigido" è meno in grado di comportarsi in maniera adattiva rispetto alle richieste ambientali di uno flessibile (Bassett et al., 2013; Mattar et al., 2016). Una ridotta flessibilità in network cerebrali coinvolti in funzioni cognitive di alto livello, riscontrata nei pazienti con epilessia temporale nel DMN e nei network attentivi e di controllo potrebbe quindi spiegare la ridotta performance di questa popolazione nei domini cognitivi quali memoria, attenzione e funzioni esecutive.

Di contro, l'eccessiva flessibilità dei pazienti con epilessia del lobo temporale nelle aree temporali appartenenti ai sistemi somato-motorio e di controllo (nelle bande delta, theta, beta e gamma) sembra rivelare la presenza di un meccanismo complementare ed opposto, attraverso il quale l'attività epilettiforme impatta negativamente sulla connettività funzionale del cervello. L'abnorme flessibilità nelle aree che includono zone epilettogene potrebbe trasformarsi in un veicolo patofisiologico per la diffusione dell'attività epilettica nel cervello, quindi implicato nella disfunzione dei numerosi network resting-state interconnessi (seppur distanti dalle aree cerebrali epilettogene o irritative).

Questa doppia evidenza, cioè di ridotta flessibilità nei network connessi a funzioni di controllo cognitivo, in combinazione ad una abnorme flessibilità delle zone coinvolte primariamente nell'attività epilettiforme, potrebbe quindi mostrare la presenza di un doppio processo maladattivo e funzionale associato all'epilessia temporale.

Come appare evidente, quindi, la flessibilità (che, si ricorda, rappresenta il numero di volte in cui un nodo cambia l'appartenenza rispetto ad uno specifico modulo nel tempo) del sistema cognitivo e del network funzionale non è da prendere univocamente come caratteristica positiva del funzionamento intrinseco. Esattamente come segregazione e integrazione richiedono un bilanciamento per far funzionare la macchina cerebrale ed ottimizzare costi, qualità della rappresentazione e quantità e stabilità dell'informazione, anche la flessibilità necessita di un equilibrio. Infatti, l'eccessiva flessibilità in alcuni nodi

e network nei pazienti con epilessia del lobo temporale potrebbe limitare sia la precisione che la stabilità della rappresentazione dell'informazione, interferendo negativamente con le funzioni cognitive associate al network colpito.

Oltre ad alterazioni nell'indice di flessibilità, i pazienti con epilessia del lobo temporale mostrano una differenza significativa rispetto a soggetti di controllo anche nell'integrazione a livello dei nodi e del network. Più nello specifico, come già mostrato nei risultati, i pazienti con epilessia temporale mostrano un valore più alto di integrazione nella maggior parte dei network resting-state, specialmente nelle bande delta, theta e gamma. L'integrazione è vista come un marker di comunicazione inter-modulo. Rappresenta la probabilità di intercomunicazione di un nodo con nodi (regioni) di altri moduli. Con ciò, un valore più alto di integrazione corrisponde ad un incremento nello scambio di informazione tra multipli sottosistemi nel tempo. Partendo da queste considerazioni, è ragionevole considerare il valore più alto di integrazione in pazienti con epilessia del lobo temporale come indicatore di iper-comunicazione. Tornando all'esempio della perdita di equilibrio tra segregazione e integrazione, stavolta più direttamente contestualizzato, l'eccesso di integrazione potrebbe essere un meccanismo col quale l'attività epilettica, coinvolgendo differenzialmente aree (anche distanti tra loro), porti un'alterazione funzionale, riflettendosi nella ridotta performance nei domini cognitivi. Infatti, l'integrazione nei pazienti con epilessia temporale risulta alterata nei network di controllo, in quello attentivo dorsale, in quello temporo-parietale e in quello visivo centrale, e che queste alterazioni sono correlate significativamente a minori performance nelle funzioni cognitive ad essi associati, quali attenzione visiva (TMT-A), flessibilità cognitive (TMT-B), funzioni esecutive (TMT-(B-A)) e nella memoria a lungo termine (valutata nel compito delle figure di Rey-Osterrieth come rievocazione differita). L'effetto è stato riscontrato nelle bande di frequenza delta e gamma, in linea col loro significato funzionale. Le bande a bassa frequenza, infatti (come delta e theta) sono considerate veicoli per l'integrazione su larga scala (Buzsaki, 2004; Buzsaki, 2006; Bruns & Eckhorn, 2004; Sauseng & Klimesch, 2008), mentre la banda gamma, è associata al binding dell'informazione e alla comunicazione locale (Engel & Singer, 2001; Varela et al., 2001; Bruns & Eckhorn, 2004).

L'alterazione dell'indice di integrazione potrebbe quindi rappresentare un utile riferimento rispetto alle condizioni del network, quindi alla comunicazione inter-area e

all'integrazione dell'informazione, e come tale potrebbe rivelarsi un utile e potenziale marker per segnalare l'alterazione di funzionamento cognitivo in pazienti con epilessia. I risultati di questo studio, nel complesso, ampliano quindi i precedenti sull'argomento, mostrando e approfondendo aspetti funzionali del network in pazienti con epilessia del lobo temporale, e svelandone potenziali marcatori, per legare assieme l'attività dinamica del network neurale, più nello specifico, quella intrinseca, e gli aspetti cognitivi in una popolazione neurologica specifica.

Un altro valore aggiunto dello studio è l'utilizzo, per la prima volta, di un nuovo approccio metodologico basato sull'EEG ad alta densità per investigare le dinamiche di riconfigurazione dei network funzionali, una metodologia che in precedenza è stata applicata solo a studi con fMRI.

In conclusione, lo studio condotto ha usato un innovativo approccio EEG ad alta densità e ha investigato specifici indici delle dinamiche del network a livello dei nodi e del network complessivo (flessibilità e integrazione) per studiare l'intrinseca e dinamica organizzazione funzionale del cervello in pazienti con epilessia del lobo temporale. Oltre a fornire evidenze circa il fatto che tutti gli indici sono alterati significativamente in pazienti TLE rispetto ai soggetti di controllo, lo studio è stato in grado di mostrare anche che alcune di queste misure sono correlate a fondamentali funzioni neuropsicologiche, in particolare nei domini della memoria, dell'attenzione e delle funzioni cognitive.

Nonostante i limiti metodologici, che verranno discussi fra poco, lo studio qui condotto potrebbe essere in grado di dare il via ad una serie di nuovi studi sull'argomento, di natura non invasiva, per investigare le dinamiche di riconfigurazione del network, interpretate come meccanismi funzionali di centrale importanza per comprendere e definire l'organizzazione neurale e l'outcome clinico in epilessia.

4.2 - Limiti metodologici

Un primo limite dello studio è riscontrabile nella tecnica di registrazione utilizzata. L'elettroencefalografia, infatti, rispetto alla fMRI possiede una risoluzione spaziale nettamente inferiore, non ottimale, per via della sua intrinseca incertezza. Per questo, è necessario procedere con cautela nell'interpretare i risultati in termini di localizzazione spaziale. Tuttavia, è da considerarsi che nello studio sono state utilizzate delle anatomie individuali (dove possibile) e che sono stati applicati affidabili algoritmi per la stima di

sorgente. In aggiunta, c'è da considerare che l'elettroencefalografia ad alta densità, avendo un maggior numero di punti di interesse (vertici), consente di ottenere una ricostruzione di sorgente più solida. Tutto questo permette, nei giusti limiti, di essere sufficientemente confidenti nei risultati e nella loro interpretazione spaziale. Inoltre, ciò che l'EEG perde in termini di risoluzione spaziale, lo guadagna in risoluzione temporale, e di frequenza di attività.

C'è inoltre da far notare che il campione di pazienti con epilessia del lobo temporale è costituito da pazienti la cui forma epilettica è investigata mediante investigazione non invasiva, e che gli aspetti radiologici e clinici dei soggetti sono fra loro eterogenei. È al momento poco chiaro se sottogruppi ben differenziati di epilessia del lobo temporale (identificati con sostrati anatomici e neurofisiologici specifici, quali mesiali vs laterali o unilaterali vs bilaterali) siano associati pure a profili neuropsicologici relativamente distinti. Il gruppo clinico, tuttavia, può essere considerato rappresentativo della popolazione di appartenenza.

L'ideale potrebbe essere quello di aver la possibilità di seguire e studiare pazienti operati con successivi prolungati follow up o di pazienti sottoposti a sedute di stereo-EEG (elettrodi intracranici), per avere una più precisa correlazione tra gli aspetti anatomico-clinici, i dati EEG, le dinamiche di network neurale e il funzionamento cognitivo. In aggiunta a questo, tuttavia, gli studi sull'epilessia sembrano supportare sempre di più l'ipotesi di una genesi e di un mantenimento multifattoriale delle alterazioni neuropsicologiche in pazienti con epilessia temporale. I fattori coinvolti sarebbero quelli del contributo del neurosviluppo, fattori socioeconomici, ai quali si aggiungono variabili più strettamente legate all'epilessia. Questo quadro molto complesso e variegato potrebbe rendere difficile l'identificazione del peso relativo dell'epilessia sull'outcome cognitivo. In sintesi, data la natura intrinsecamente dinamica dell'epilessia, sarebbero necessari studi longitudinali meticolosamente progettati, per caratterizzare meglio l'evoluzione e la possibile riorganizzazione dei network cerebrali e il loro legame con l'andamento, lo sviluppo e il decorso dell'epilessia e del funzionamento neuropsicologico. Un approccio del genere potrebbe contribuire sensibilmente a chiarire il problema controverso circa la correlazione tra durata dell'epilessia, progressione della genesi epilettogena, e l'aumento dei disturbi e cali cognitivi.

Bibliografia

- 1) Allone, C., Buono, V. L., Corallo, F., Pisani, L. R., Pollicino, P., Bramanti, P., & Marino, S. (2017). Neuroimaging and cognitive functions in temporal lobe epilepsy: a review of the literature. *Journal of the neurological sciences*, 381, 7-15.
- 2) Bassett, D. S., Wymbs, N. F., Porter, M. A., Mucha, P. J., Carlson, J. M., & Grafton, S. T. (2011). Dynamic reconfiguration of human brain networks during learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(18), 7641-7646.
- 3) Bassett, D. S., & Gazzaniga, M. S. (2011). Understanding complexity in the human brain. *Trends in cognitive sciences*, 15(5), 200-209.
- 4) Bassett, D. S., Bullmore, E., Verchinski, B. A., Mattay, V. S., Weinberger, D. R., & Meyer-Lindenberg, A. (2008). Hierarchical organization of human cortical networks in health and schizophrenia. *Journal of Neuroscience*, 28(37), 9239-9248.
- 5) Bassett, D. S., Wymbs, N. F., Rombach, M. P., Porter, M. A., Mucha, P. J., & Grafton, S. T. (2013). Task-based core-periphery organization of human brain dynamics. *PLoS computational biology*, 9(9), e1003171.
- 6) Bassett, D. S., Porter, M. A., Wymbs, N. F., Grafton, S. T., Carlson, J. M., & Mucha, P. J. (2013). Robust detection of dynamic community structure in networks. *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, 23(1), 013142.
- 7) Bell, A. J., & Sejnowski, T. J. (1995). An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural computation*, 7(6), 1129-1159.
- 8) Bernhardt, B., Hong, S. J., Bernasconi, A., & Bernasconi, N. (2013). Imaging structural and functional brain networks in temporal lobe epilepsy. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 624.
- 9) Bettus, G., Ranjeva, J. P., Wendling, F., Bénar, C. G., Confort-Gouny, S., Régis, J., ... & Guye, M. (2011). Interictal functional connectivity of human epileptic networks assessed by intracerebral EEG and BOLD signal fluctuations. *PloS one*, 6(5), e20071.
- 10) Betzel, R. F., & Bassett, D. S. (2017). Multi-scale brain networks. *Neuroimage*, 160, 73-83.
- 11) Betzel, R. F., Satterthwaite, T. D., Gold, J. I., & Bassett, D. S. (2017). Positive affect, surprise, and fatigue are correlates of network flexibility. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.

- 12) Betzel, R. F. (2020). Community detection in network neuroscience. *arXiv preprint arXiv:2011.06723*.
- 13) Blumenfeld, H., & Taylor, J. (2003). Why do seizures cause loss of consciousness?. *The Neuroscientist*, 9(5), 301-310.
- 14) Braun, U., Schäfer, A., Walter, H., Erk, S., Romanczuk-Seiferth, N., Haddad, L., ... & Bassett, D. S. (2015). Dynamic reconfiguration of frontal brain networks during executive cognition in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(37), 11678-11683.
- 15) Bui, A., Kim, H. K., Maroso, M., & Soltesz, I. (2015). Microcircuits in epilepsy: heterogeneity and hub cells in network synchronization. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(11), a022855.
- 16) Bullmore, E., & Sporns, O. (2012). The economy of brain network organization. *Nature reviews neuroscience*, 13(5), 336-349.
- 17) Bullmore, E. T., & Bassett, D. S. (2011). Brain graphs: graphical models of the human brain connectome. *Annual review of clinical psychology*, 7, 113-140.
- 18) Buzsaki, G., & Draguhn, A. (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. *science*, 304(5679), 1926-1929.
- 19) Buzsaki, G. (2006). *Rhythms of the Brain*. Oxford university press.
- 20) Caciagli, L., Paquola, C., He, X., Vollmar, C., Centeno, M., Wandschneider, B., ... & Bernhardt, B. C. (2021). Disorganization of language and working memory systems in frontal versus temporal lobe epilepsy. *medRxiv*.
- 21) Caffarra, P., Vezzadini, G., Dieci, F., Zonato, F., & Venneri, A. (2002). Una versione abbreviata del test di Stroop: dati normativi nella popolazione italiana. *Nuova Rivista di Neurologia*, 12(4), 111-115.
- 22) Carr, S. J., Gershon, A., Shafiabadi, N., Lhatoo, S. D., Tatsuoka, C., & Sahoo, S. S. (2021). An integrative approach to study structural and functional network connectivity in epilepsy using imaging and signal data. *Frontiers in integrative neuroscience*, 59.
- 23) Cornejo, B. J., Mesches, M. H., Coultrap, S., Browning, M. D., & Benke, T. A. (2007). A single episode of neonatal seizures permanently alters glutamatergic synapses. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 61(5), 411-426.

- 24) Courtiol, J., Guye, M., Bartolomei, F., Petkoski, S., & Jirsa, V. K. (2020). Dynamical mechanisms of interictal resting-state functional connectivity in epilepsy. *Journal of Neuroscience*, 40(29), 5572-5588.
- 25) Damoiseaux, J. S., & Greicius, M. D. (2009). Greater than the sum of its parts: a review of studies combining structural connectivity and resting-state functional connectivity. *Brain structure and function*, 213(6), 525-533.
- 26) Delorme, A., & Makeig, S. (2004). EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *Journal of neuroscience methods*, 134(1), 9-21.
- 27) Dinkelacker, V., Xin, X., Baulac, M., Samson, S., & Dupont, S. (2016). Interictal epileptic discharge correlates with global and frontal cognitive dysfunction in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 62, 197-203.
- 28) Fallahi, A., Pooyan, M., Lotfi, N., Baniasad, F., Tapak, L., Mohammadi-Mobarakeh, N., ... & Nazem-Zadeh, M. R. (2021). Dynamic functional connectivity in temporal lobe epilepsy: a graph theoretical and machine learning approach. *Neurological Sciences*, 42(6), 2379-2390.
- 29) Faskowitz, J., Esfahlani, F. Z., Jo, Y., Sporns, O., & Betzel, R. F. (2020). Edge-centric functional network representations of human cerebral cortex reveal overlapping system-level architecture. *Nature neuroscience*, 23(12), 1644-1654.
- 30) Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., ... & Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 522-530.
- 31) Fu, C., Aisikaer, A., Chen, Z., Yu, Q., Yin, J., & Yang, W. (2021). Different Functional Network Connectivity Patterns in Epilepsy: A Rest-State fMRI Study on Mesial Temporal Lobe Epilepsy and Benign Epilepsy with Centrotemporal Spike. *Frontiers in neurology*, 12, 880.
- 32) Gazzaniga, M. S. (2010). Neuroscience and the correct level of explanation for understanding mind. *Trends in Cognitive Sciences*, 14(7), 297.
- 33) Giovagnoli, A. R., Del Pesce, M., Mascheroni, S., Simoncelli, M., Laiacona, M., & Capitani, E. (1996). Trail making test: normative values from 287 normal adult controls. *The Italian journal of neurological sciences*, 17(4), 305-309.

- 34) Gotman, J., Kobayashi, E., Bagshaw, A. P., Bénar, C. G., & Dubeau, F. (2006). Combining EEG and fMRI: a multimodal tool for epilepsy research. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 23(6), 906-920.
- 35) Gu, S., Betzel, R. F., Mattar, M. G., Cieslak, M., Delio, P. R., Grafton, S. T., ... & Bassett, D. S. (2017). Optimal trajectories of brain state transitions. *Neuroimage*, 148, 305-317.
- 36) He, X., Bassett, D. S., Chaitanya, G., Sperling, M. R., Kozlowski, L., & Tracy, J. I. (2018). Disrupted dynamic network reconfiguration of the language system in temporal lobe epilepsy. *Brain*, 141(5), 1375-1389.
- 37) Holmes, G. L., & Ben-Ari, Y. (2001). The neurobiology and consequences of epilepsy in the developing brain. *Pediatric research*, 49(3), 320-325.
- 38) Holmes, M., Folley, B. S., Sonmezturk, H. H., Gore, J. C., Kang, H., Abou-Khalil, B., & Morgan, V. L. (2014). Resting state functional connectivity of the hippocampus associated with neurocognitive function in left temporal lobe epilepsy. *Human brain mapping*, 35(3), 735-744.
- 39) Huettel, S. A., Song, A. W., & McCarthy, G. (2004). *Functional magnetic resonance imaging* (Vol. 1). Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- 40) Hutchison, R. M., Womelsdorf, T., Allen, E. A., Bandettini, P. A., Calhoun, V. D., Corbetta, M., ... & Chang, C. (2013). Dynamic functional connectivity: promise, issues, and interpretations. *Neuroimage*, 80, 360-378.
- 41) Jokeit, H., & Ebner, A. (1999). Long term effects of refractory temporal lobe epilepsy on cognitive abilities: a cross sectional study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 67(1), 44-50.
- 42) Kanner, A. M. (2013). The treatment of depressive disorders in epilepsy: what all neurologists should know. *Epilepsia*, 54, 3-12.
- 43) Keller, C. J., Truccolo, W., Gale, J. T., Eskandar, E., Thesen, T., Carlson, C., ... & Cash, S. S. (2010). Heterogeneous neuronal firing patterns during interictal epileptiform discharges in the human cortex. *Brain*, 133(6), 1668-1681.
- 44) Kenett, Y. N., Betzel, R. F., & Beaty, R. E. (2020). Community structure of the creative brain at rest. *Neuroimage*, 210, 116578.

- 45) Khambhati, A. N., Davis, K. A., Oommen, B. S., Chen, S. H., Lucas, T. H., Litt, B., & Bassett, D. S. (2015). Dynamic network drivers of seizure generation, propagation and termination in human neocortical epilepsy. *PLoS computational biology*, 11(12), e1004608.
- 46) Kobayashi, E., Bagshaw, A. P., Bénar, C. G., Aghakhani, Y., Andermann, F., Dubeau, F., & Gotman, J. (2006). Temporal and extratemporal BOLD responses to temporal lobe interictal spikes. *Epilepsia*, 47(2), 343-354.
- 47) Kostopoulos, G. K. (2001). Involvement of the thalamocortical system in epileptic loss of consciousness. *Epilepsia*, 42, 13-19.
- 48) Kramer, M. A., & Cash, S. S. (2012). Epilepsy as a disorder of cortical network organization. *The Neuroscientist*, 18(4), 360-372.
- 49) Kurtzke, J. F. (1992). Epilepsy: frequency, causes and consequences. *Archives of Neurology*, 49(4), 342-342.
- 50) Kybic, J., Clerc, M., Abboud, T., Faugeras, O., Keriven, R., & Papadopoulos, T. (2005). A common formalism for the integral formulations of the forward EEG problem. *IEEE transactions on medical imaging*, 24(1), 12-28.
- 51) Laufs, H. (2012). Functional imaging of seizures and epilepsy: evolution from zones to networks. *Current opinion in neurology*, 25(2), 194-200.
- 52) Laufs, H., Hamandi, K., Salek-Haddadi, A., Kleinschmidt, A. K., Duncan, J. S., & Lemieux, L. (2007). Temporal lobe interictal epileptic discharges affect cerebral activity in “default mode” brain regions. *Human brain mapping*, 28(10), 1023-1032.
- 53) Lenck-Santini, P. P., & Scott, R. C. (2015). Mechanisms responsible for cognitive impairment in epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(10), a022772.
- 54) Liao, W., Zhang, Z., Pan, Z., Mantini, D., Ding, J., Duan, X., ... & Chen, H. (2010). Altered functional connectivity and small-world in mesial temporal lobe epilepsy. *PLoS one*, 5(1), e8525.
- 55) Liao, W., Zhang, Z., Mantini, D., Xu, Q., Ji, G. J., Zhang, H., ... & Lu, G. (2014). Dynamical intrinsic functional architecture of the brain during absence seizures. *Brain Structure and Function*, 219(6), 2001-2015.
- 56) Liu, X., Muller, R. U., Huang, L. T., Kubie, J. L., Rotenberg, A., Rivard, B., ... & Holmes, G. L. (2003). Seizure-induced changes in place cell physiology: relationship to spatial memory. *Journal of Neuroscience*, 23(37), 11505-11515.

- 57) Logothetis, N. K., & Wandell, B. A. (2004). Interpreting the BOLD signal. *Annu. Rev. Physiol.*, 66, 735-769.
- 58) Luck, S. J. (2014). *An introduction to the event-related potential technique*. MIT press.
- 59) Mattar, M. G., Cole, M. W., Thompson-Schill, S. L., & Bassett, D. S. (2015). A functional cartography of cognitive systems. *PLoS computational biology*, 11(12), e1004533.
- 60) Morgan, V. L., Abou-Khalil, B., & Rogers, B. P. (2015). Evolution of functional connectivity of brain networks and their dynamic interaction in temporal lobe epilepsy. *Brain connectivity*, 5(1), 35-44.
- 61) Mucha, P. J., Richardson, T., Macon, K., Porter, M. A., & Onnela, J. P. (2010). Community structure in time-dependent, multiscale, and multiplex networks. *science*, 328(5980), 876-878.
- 62) Muldoon, S. F., Costantini, J., Webber, W. R. S., Lesser, R., & Bassett, D. S. (2018). Locally stable brain states predict suppression of epileptic activity by enhanced cognitive effort. *NeuroImage: Clinical*, 18, 599-607.
- 63) Muldoon, S. F., & Bassett, D. S. (2016). Network and multilayer network approaches to understanding human brain dynamics. *Philosophy of Science*, 83(5), 710-720.
- 64) Nakai, Y., Nishibayashi, H., Donishi, T., Terada, M., Nakao, N., & Kaneoke, Y. (2021). Regional abnormality of functional connectivity is associated with clinical manifestations in individuals with intractable focal epilepsy. *Scientific reports*, 11(1), 1-10.
- 65) Norden, A. D., & Blumenfeld, H. (2002). The role of subcortical structures in human epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 3(3), 219-231.
- 66) Oyegbile, T. O., Bhattacharya, A., Seidenberg, M., & Hermann, B. P. (2006). Quantitative MRI biomarkers of cognitive morbidity in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 47(1), 143-152.
- 67) Papadopoulos, L., Puckett, J. G., Daniels, K. E., & Bassett, D. S. (2016). Evolution of network architecture in a granular material under compression. *Physical Review E*, 94(3), 032908.

- 68) Patterson, K. P., Baram, T. Z., & Shinnar, S. (2014). Origins of temporal lobe epilepsy: febrile seizures and febrile status epilepticus. *Neurotherapeutics*, 11(2), 242-250.
- 69) Pedersen, M., Zalesky, A., Omidvarnia, A., & Jackson, G. D. (2018). Multilayer network switching rate predicts brain performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(52), 13376-13381.
- 70) Pereira, F. R., Alessio, A., Sercheli, M. S., Pedro, T., Bilevicius, E., Rondina, J. M., ... & Cendes, F. (2010). Asymmetrical hippocampal connectivity in mesial temporal lobe epilepsy: evidence from resting state fMRI. *BMC neuroscience*, 11(1), 1-13.
- 71) Ponten, S. C., Bartolomei, F., & Stam, C. J. (2007). Small-world networks and epilepsy: graph theoretical analysis of intracerebrally recorded mesial temporal lobe seizures. *Clinical neurophysiology*, 118(4), 918-927.
- 72) Power, J. D., Cohen, A. L., Nelson, S. M., Wig, G. S., Barnes, K. A., Church, J. A., ... & Petersen, S. E. (2011). Functional network organization of the human brain. *Neuron*, 72(4), 665-678.
- 73) Rogers, B. P., Morgan, V. L., Newton, A. T., & Gore, J. C. (2007). Assessing functional connectivity in the human brain by fMRI. *Magnetic resonance imaging*, 25(10), 1347-1357.
- 74) Schaefer, A., Kong, R., Gordon, E. M., Laumann, T. O., Zuo, X. N., Holmes, A. J., ... & Yeo, B. T. (2018). Local-global parcellation of the human cerebral cortex from intrinsic functional connectivity MRI. *Cerebral cortex*, 28(9), 3095-3114.
- 75) Scharfman, H. E. (2007). The neurobiology of epilepsy. *Current neurology and neuroscience reports*, 7(4), 348-354.
- 76) Scheid, B. H., Ashourvan, A., Stiso, J., Davis, K. A., Mikhail, F., Pasqualetti, F., ... & Bassett, D. S. (2021). Time-evolving controllability of effective connectivity networks during seizure progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(5).
- 77) Smith, M. L. (2016). Rethinking cognition and behavior in the new classification for childhood epilepsy: Examples from frontal lobe and temporal lobe epilepsies. *Epilepsy & Behavior*, 64, 313-317.
- 78) Song, J., Nair, V. A., Gaggl, W., & Prabhakaran, V. (2015). Disrupted brain functional organization in epilepsy revealed by graph theory analysis. *Brain connectivity*, 5(5), 276-283.

- 79) Sporns, O., Faskowitz, J., Teixeira, A. S., Cutts, S. A., & Betzel, R. F. (2021). Dynamic expression of brain functional systems disclosed by fine-scale analysis of edge time series. *Network Neuroscience*, 5(2), 405-433.
- 80) Tadel, F., Baillet, S., Mosher, J. C., Pantazis, D., & Leahy, R. M. (2011). Brainstorm: a user-friendly application for MEG/EEG analysis. *Computational intelligence and neuroscience*, 2011.
- 81) Taylor, J. G. (2002). Paying attention to consciousness. *Trends in cognitive sciences*, 6(5), 206-210.
- 82) Stafstrom, C. E., & Carmant, L. (2015). Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(6), a022426.
- 83) Téllez-Zenteno, J. F., & Hernández-Ronquillo, L. (2012). A review of the epidemiology of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy research and treatment*, 2012.
- 84) Thom, M., Eriksson, S., Martinian, L., Caboclo, L. O., McEvoy, A. W., Duncan, J. S., & Sisodiya, S. M. (2009). Temporal lobe sclerosis associated with hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: neuropathological features. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 68(8), 928-938.
- 85) Tracy, J. I., & Doucet, G. E. (2015). Resting-state functional connectivity in epilepsy: growing relevance for clinical decision making. *Current opinion in neurology*, 28(2), 158-165.
- 86) Tramon-Negre, E., Lambert, I., Bartolomei, F., & Felician, O. (2017). Long-term memory deficits in temporal lobe epilepsy. *Revue neurologique*, 173(7-8), 490-497.
- 87) Van Den Heuvel, M. P., & Pol, H. E. H. (2010). Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. *European neuropsychopharmacology*, 20(8), 519-534.
- 88) Van Mierlo, P., Papadopoulou, M., Carrette, E., Boon, P., Vandenberghe, S., Vonck, K., & Marinazzo, D. (2014). Functional brain connectivity from EEG in epilepsy: Seizure prediction and epileptogenic focus localization. *Progress in neurobiology*, 121, 19-35.
- 89) Wagner, K., Frings, L., Halsband, U., Everts, R., Buller, A., Spreer, J., ... & Schulze-Bonhage, A. (2007). Hippocampal functional connectivity reflects verbal episodic memory network integrity. *Neuroreport*, 18(16), 1719-1723.
- 90) Waites, A. B., Briellmann, R. S., Saling, M. M., Abbott, D. F., & Jackson, G. D. (2006). Functional connectivity networks are disrupted in left temporal lobe epilepsy.

Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society, 59(2), 335-343.

91) Walker, M. P., & van Der Helm, E. (2009). Overnight therapy? The role of sleep in emotional brain processing. *Psychological bulletin*, 135(5), 731.

92) Wang, J., Qiu, S., Xu, Y., Liu, Z., Wen, X., Hu, X., ... & Huang, R. (2014). Graph theoretical analysis reveals disrupted topological properties of whole brain functional networks in temporal lobe epilepsy. *Clinical Neurophysiology*, 125(9), 1744-1756.

93) White, T., & Calhoun, V. D. (2019). Dissecting static and dynamic functional connectivity: Example from the autism spectrum. *Journal of experimental neuroscience*, 13, 1179069519851809.

94) Yang, S., Zhang, Z., Chen, H., Meng, Y., Li, J., Li, Z., ... & Liao, W. (2021). Temporal variability profiling of the default mode across epilepsy subtypes. *Epilepsia*, 62(1), 61-73.

95) Zhang, Z., Lu, G., Zhong, Y., Tan, Q., Liao, W., Wang, Z., ... & Liu, Y. (2010). Altered spontaneous neuronal activity of the default-mode network in mesial temporal lobe epilepsy. *Brain research*, 1323, 152-160.