

Università degli Studi di Padova

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Neuroscienze

Corso di Laurea in Tecniche di Neurofisiopatologia

Presidente: Prof. P. Gallo

**ANALISI QUANTITATIVA DEL SEGNALE EEG  
NEL PAZIENTE ASFITTICO A TERMINE E  
PRE TERMINE SOTTOPOSTO A  
IPOTERMIA TERAPEUTICA**

Relatore: Dr. Michele Agatiello

Correlatore: Prof. Mario Ermani, Dott. Jacopo Favaro

Laureanda: Virginia Fassina

Matricola: 1221224

Anno Accademico 2021/2022

Virginia Fassina: ANALISI QUANTITATIVA DEL SEGNALE EEG NEL PAZIENTE ASFITTICO A TERMINE E PRE TERMINE SOTTOPOSTO A IPOTERMIA TERAPEUTICA, Tesi di laurea in Tecniche di Neurofisiopatologia, Ottobre 2022

# INDICE

Abstract.....	4
Indice abbreviazioni .....	6
Capitolo 1 – Introduzione .....	8
1.1 Cenni di sviluppo cerebrale .....	8
1.2 Prematurità .....	9
1.3 Indice di Apgar.....	10
1.4 Asfissia Perinatale .....	10
1.4.1 Definizione.....	10
1.4.2 Cause .....	11
1.4.3 Fisiopatologia .....	11
1.1.4 Diagnosi .....	12
1.1.5 Trattamento .....	14
1.5 Elettroencefalografia.....	14
1.5.1 Storia EEG .....	15
1.5.2 Basi neurofisiologiche .....	15
1.5.3 Acquisizione del segnale EEG .....	17
1.5.4 Sistema internazionale 10-20 .....	19
1.5.5 Caratteristiche del segnale EEG .....	20
1.6 Elettroencefalografia nel neonato .....	22
1.6.1 Montaggio.....	22
1.6.2 Stati comportamentali.....	23
1.6.3 Caratteristiche dell'EEG neonatale.....	25
1.7 Analisi quantitativa del segnale EEG .....	30
1.7.1 Analisi spettrale .....	31
1.7.2 Complessità.....	32
1.7.3 Connettività .....	33

Capitolo 2 - Scopo dello studio .....	36
Capitolo 3 - Materiali e metodi .....	38
3.1 Popolazione.....	38
3.2 Metodo di registrazione .....	39
3.3 Elaborazione del segnale EEG.....	39
3.4 Analisi statistica .....	41
Capitolo 4 – Risultati.....	42
4.1 Analisi di complessità .....	42
4.2 Analisi in frequenza .....	44
4.3 Connettività interemisferica .....	47
4.4 Connettività intraemisferica .....	48
4.4.1 Connettività intraemisferica destra .....	48
4.4.2 Connettività intraemisferica sinistra.....	50
Capitolo 5 – Discussione .....	52
Capitolo 6 - Conclusioni.....	54
Bibliografia .....	56
Ringraziamenti.....	58

# Abstract

## INTRODUZIONE

L'asfissia perinatale è una delle condizioni patologiche più diffuse alla nascita; interessa, infatti, circa 1/1000 neonati. Il seguente elaborato si pone come scopo quello di confrontare un campione di neonati asfittici nati a termine, privi di segni di encefalopatia, con un campione omologo di neonati asfittici lievi prematuri (35-36 SG) una volta che hanno raggiunto l'età corretta a termine.

## MATERIALI E METODI

La popolazione è composta da 6 casi e 6 controlli con età media gestazionale al momento dell'esecuzione del tracciato elettroencefalografico di 286 giorni (40+6 SG). Tutti i pazienti hanno diagnosi di asfissia con un punteggio della scala Sarnat 1, sono stati sottoposti a ipotermia terapeutica, non hanno avuto crisi epilettiche e il tracciato elettroencefalografico è stato refertato privo di caratteri patologici.

Sia i casi che i controlli hanno svolto l'EEG una volta raggiunta l'età corretta a termine.

Per ogni EEG sono state eseguite l'analisi dello spettro di frequenza, della complessità e connettività fra le aree cerebrali. Per lo studio della connettività sono state considerate 8 ROIs (4 destre e le omologhe 4 sinistre) del diametro di 3 cm, appartenenti a diverse aree funzionali: esecutive (frontali), attentive (centrali), uditive (temporali) e visive (occipitali).

## RISULTATI

È stata trovata una differenza statisticamente significativa per i valori di complessità tra sonno quieto e sonno attivo, in particolare la complessità è più elevata in sonno attivo. Tuttavia non vi è una differenza significativa tra casi e controlli sia in AS che in QS; questo vale anche per ciò che concerne l'analisi spettrale. Dunque, neonati asfittici pre termine possono essere paragonati a quelli nati a termine quando raggiungono l'età corretta, sia in termini di complessità sia per l'analisi spettrale.

La connettività risulta essere maggiore nei controlli rispetto ai pazienti. In particolare, la connettività interemisferica è maggiore in sonno quieto (specialmente alle basse frequenze). Di statisticamente significativo per la connettività intraemisferica è stata trovata l'interazione

tra le aree BA10 e BA21 a destra; e tra BA10 e BA17, tra BA07 e BA21 e tra BA21 e BA17 a sinistra.

## CONCLUSIONI

Il neonato pretermine è più esposto a lesioni della sostanza bianca cerebrale e della materia grigia corticale e sottocorticale, in particolare del talamo e dei gangli della base. Una possibile spiegazione per i valori di connettività maggiori nei neonati a termine è che ci sia un substrato anatomico che colleghi i due emisferi che nel neonato prematuro non si è ancora sviluppato completamente.

## **Indice abbreviazioni**

EEG: elettroencefalogramma

SG: settimane di gestazione

EII: encefalopatia ipossico ischemica

AS: sonno attivo

QS: sonno quieto

IS: sonno intermedio

IBI: intervalli interburst

ROI: region of interest

BA: area di Brodmann





# Capitolo 1 – Introduzione

## 1.1 Cenni di sviluppo cerebrale

La neurulazione è la prima tappa del processo maturativo del sistema nervoso, che ha inizio a partire dalla terza settimana di gestazione (SG) e che, dopo la differenziazione delle cellule progenitrici neurali, porta alla formazione delle creste neurali e successivamente del tubo neurale. Poco prima della chiusura del tubo neurale, l'estremità anteriore si espande per formare le tre vescicole cerebrali primarie che a loro volta, alla fine del periodo embrionale, si suddividono nelle cinque vescicole cerebrali secondarie. (fig. 1) (1)

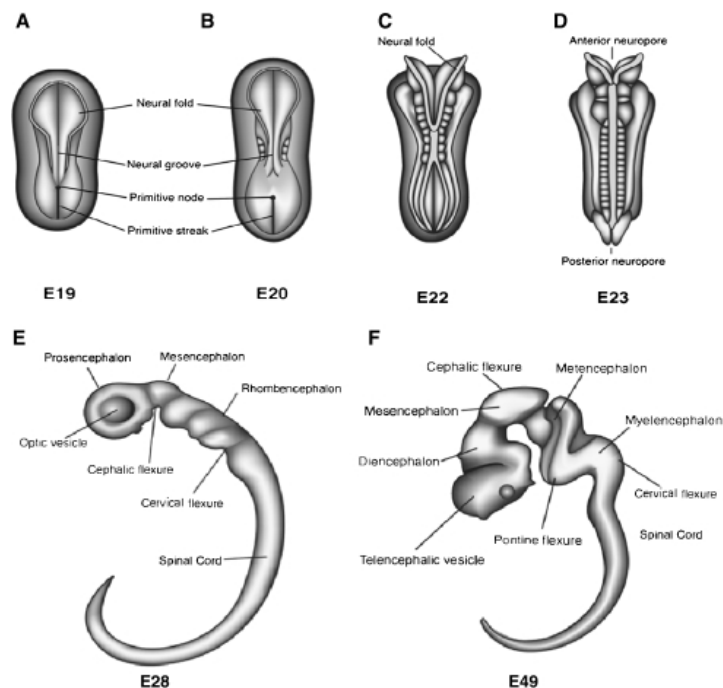


Figura 1: Cambiamenti nella morfologia dell'embrione (1)

Pertanto, a partire dal periodo embrionale (ottava SG) si va via via a formare un pattern neurale che attraversa varie fasi di modificazioni strutturali graduali: da una struttura liscia “lissencefalica” alla formazione di giri e solchi durante il periodo fetale (dalla nona SG fino alla nascita). Questi cambiamenti macrostrutturali del cervello fetale riflettono processi molecolari e cellulari finemente regolati, che proseguono dopo la nascita fino ai 2 anni di età, quando il cervello raggiunge circa il 90% del volume del cervello adulto. Neurogenesi, migrazione neuronale, sinaptogenesi, arborizzazione dendritica, crescita e pruning assonale e mielinizzazione sono i processi molecolari e cellulari che portano allo sviluppo dei sistemi funzionali, dalle aree sensorimotorie primarie fino a quelle cognitive più complesse. (2)

Nella [figura 2](#) possiamo osservare questi processi nell'ordine temporale in cui si presentano.  
(2)

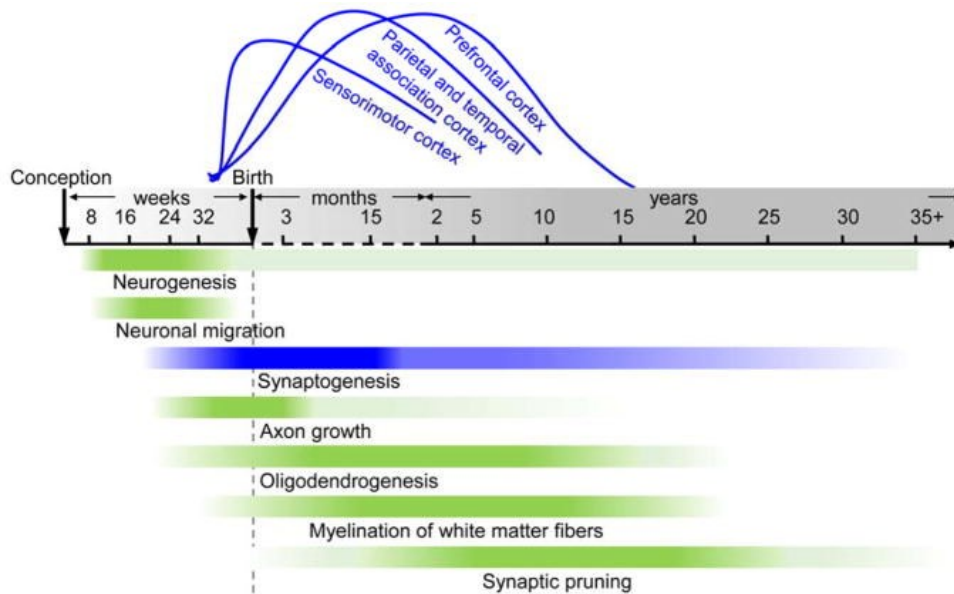


Figura 2: cronologia dei processi maturativi del cervello umano

## 1.2 Prematurità

La nascita pretermine è un grave problema di salute globale associato a notevole mortalità e morbilità. Si stima che circa 15 milioni di neonati pretermine (1 su 10 nati vivi) nascono a meno di 37 settimane dopo il concepimento in tutto il mondo ogni anno. (3)

L'Organizzazione Mondiale della Sanità definisce la nascita pretermine in base all'età gestazionale, cioè le settimane intercorse a partire dalla data del concepimento fino al momento del parto. Questa viene classificata in:

- Prematurità estrema: < 28 settimane di gestazione;
- Prematurità grave: 28-32 settimane di gestazione;
- Prematurità lieve: 32-37 settimane di gestazione. (4)

Si introduce quindi il concetto di età corretta, ovvero l'età "parallela" a quella anagrafica, che si conta a partire dal raggiungimento della 40 SG.

Vi possono essere diverse conseguenze al parto pretermine, in quanto la normale progressione della maturazione cerebrale viene interrotta da un'esposizione precoce alla vita extrauterina. Tra queste ricordiamo la retinopatia del prematuro, l'emorragia

intraventricolare (IVH), la sepsi, l'asfissia perinatale, la paralisi cerebrali infantile, deficit neurosensoriali e minor impairment. (5)

La lesione diffusa della sostanza bianca cerebrale è la forma più comune di danno nei neonati prematuri, questo perché la sostanza bianca cerebrale ha un flusso sanguigno basale intrinsecamente inferiore rispetto ad altre regioni della materia grigia, ed è stato dimostrato che la suscettibilità del neonato pretermine alle lesioni della sostanza bianca è correlata a una maggiore propensione all'ischemia. (3)

### 1.3 Indice di Apgar

L'indice di Apgar è un sistema di punteggio che serve a inquadrare clinicamente il neonato a 1, 5 e 10 minuti dalla nascita per valutare un'eventuale necessità di pronto intervento per la respirazione. Comprende 5 parametri: colore della pelle, frequenza cardiaca, riflessi, tono muscolare e respirazione e a ciascuno di questi componenti viene assegnato un punteggio di 0, 1 o 2. (figura 3) (6)

Schema di Apgar per la valutazione della vitalità del neonato			
Parametro	0 punti	1 punto	2 punti
<b>Frequenza cardiaca:</b>	assente	< 100 bpm	> 100 bpm
<b>Respirazione:</b>	assente	debole o irregolare	vigorosa con pianto
<b>Tono Muscolare:</b>	assente (atonia)	flessione accennata	movimenti attivi
<b>Riflessi:</b> (risposta al catetere nasofaringeo)	assenti	scarsi	starnuto, pianto vivace, tosse
<b>Colore della pelle:</b>	cianotico o pallido	estremità cianotiche	normale

Figura 3: Indice di Apgar

## 1.4 Asfissia Perinatale

### 1.4.1 Definizione

L'asfissia perinatale è la condizione clinica per cui vi è un'alterazione degli scambi gassosi successiva ad interruzione del flusso sanguigno, con conseguente sviluppo di un ridotto apporto di ossigeno (ipossia), di ipercapnia e acidosi metabolica fetale. Se prolungata e/o non trattata, tale condizione può portare ad una encefalopatia ipossico-ischemica (EII), la quale, a seconda dell'entità, può comportare deficit di diversa natura (come paralisi

cerebrale, ritardo dello sviluppo, deficit visivi ed uditivi, problemi di apprendimento, disturbi comportamentali e morte). L'asfissia perinatale con esiti ha un'incidenza di circa 1/1000 nati vivi nei paesi maggiormente industrializzati. (7)

### **1.4.2 Cause**

L'asfissia perinatale può verificarsi in utero, durante il travaglio e il parto o nei momenti immediatamente successivi alla nascita. Le cause sono eterogenee, tra le più comuni ci sono il distacco della placenta, la rottura uterina, la compressione del cordone ombelicale, l'anestesia transplacentare, le anomalie cardiache o polmonari congenite e il trauma alla nascita. (7)

### **1.4.3 Fisiopatologia**

La principale fonte di energia del cervello deriva dal glucosio, ma affinché questo possa essere utilizzato deve essere scisso in anidride carbonica ed acqua, grazie al processo di respirazione cellulare all'interno dei mitocondri, così da liberare energia sotto forma di ATP. Questa reazione di combustione avviene solo in condizioni di aerobiosi.

Dunque, in caso di asfissia, la disponibilità di ossigeno molecolare è compromessa e porta a una condizione di anaerobiosi forzata, e dunque di ipossia acuta e/o ischemia, che provoca l'esaurimento delle riserve energetiche cellulari, causando la necrosi cellulare precoce nel giro di pochi minuti (insufficienza energetica primaria). (8)

Talvolta può verificarsi una seconda fase di danno neurale che si verifica dalle 6 alle 10 ore dopo l'insulto iniziale. Il ripristino della respirazione e della circolazione comporterà danni da ri-perfusione e stress ossidativo, con aumento della neuroinfiammazione e della disfunzione mitocondriale; la produzione di radicali liberi dell'ossigeno portano alla depolarizzazione della membrana mitocondriale e all'incremento del calcio intracellulare che causano l'attivazione delle vie di segnalazione proapoptotica, provocando la morte cellulare secondaria. Inoltre, il danno neuronale può derivare dall'eccitotossicità mediata dal glutammato e dal fallimento delle pompe ioniche ATP-dipendenti. (9)

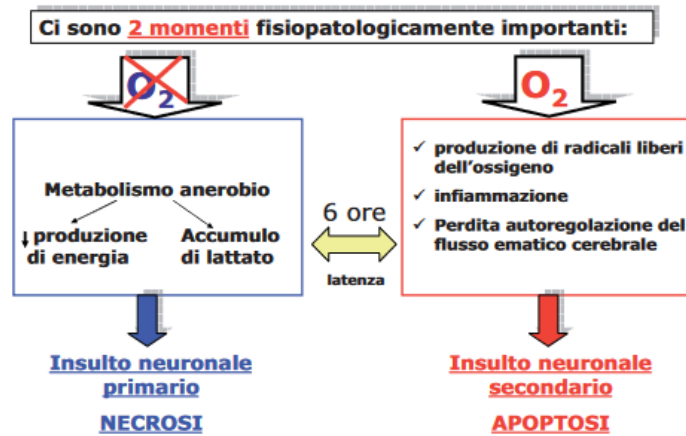
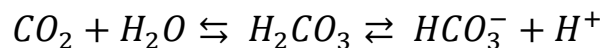


Figura 4: meccanismi patogenetici del danno ipossico-ischemico (8)

### 1.1.4 Diagnosi

La diagnosi clinica di asfissia perinatale si basa su numerosi criteri. I segni clinici principali sono l'evidenza di insufficienza cardiorespiratoria e neurologica e la compromissione ipossica acuta con acidemia, ovvero un aumento della concentrazione di ioni idrogeno nel sangue. Inoltre, il punteggio Apgar a 5 minuti dopo la nascita risulta essere inferiore a 7. (figura 3) (7)

L'insufficiente ventilazione porta ad un aumento della concentrazione sanguigna di anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) poiché questa non riesce a essere rilasciata. Vi è un meccanismo di trasporto che grazie all'enzima anidrasi carbonica trasforma l'anidride carbonica in acido carbonico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), che a sua volta si dissocia in ioni bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e in idrogenioni (H<sup>+</sup>), secondo la formula:



(1. 1)

Si presenta dunque una condizione, oltre che di ipercapnia, anche di acidemia che ha come risultato all'emogasanalisi, eseguita solitamente da arteria ombelicale, un pH del sangue arterioso inferiore a 7. (10)

È possibile distinguere il grado di asfissia perinatale in base alla severità, differenziandola in lieve, moderata o grave. Ci sono diverse scale di classificazione, ma quella ancora più utilizzata ad oggi è la scala di Sarnat&Sarnat, che pubblicarono nel 1976 uno studio su 21 neonati che avevano sofferto di asfissia perinatale. (11) Questa scala è utile per facilitare la

formulazione della prognosi per l'esito neurologico, individuando i neonati che potrebbero sviluppare un'encefalopatia ipossico-ischemica, e per verificare l'idoneità al trattamento ipotermico.

I tre gradi di severità, riassunti nella [tabella 1](#), sono stati distinti in base alla presentazione clinica del neonato e al quadro elettroencefalografico):

- Sarnat 1 (asfissia lieve): stato di ipervigilanza della durata massima di 24 ore, iperreflessia, tono muscolare normale o lievemente aumentato, attivazione del sistema nervoso autonomo simpatico (pupille midriatiche e tachicardia), elettroencefalogramma (EEG) normale.
- Sarnat 2 (asfissia moderata): stato di ottundimento della durata compresa tra 2 e 14 giorni, ipotonia muscolare, forte flessione distale, riflessi deboli, attivazione del sistema nervoso autonomo parasimpatico (pupille miotiche e bradicardia), possibili crisi epilettiche focali o multifocali, EEG di basso voltaggio e talvolta con andamento periodico.
- Sarnat 3 (asfissia grave): stato stuporoso, flaccidità del tono muscolare, riflessi assenti o ridotti, funzioni del tronco encefalico e del sistema nervoso autonomo sopresse, EEG ipovoltato con frequente testimonianza di crisi elettriche.

Level of consciousness	Stage 1 (mild)	Stage 2 (moderate)	Stage 3 (severe)
	Hyperalert	Lethargic/obtunded	Stuporous
<b>Neuromuscular control</b>			
Muscular tone	Normal	Mild hypotonia	Flaccid
Posture	Mild distal flexion	Strong distal flexion	Intermittent decerebration
Stretch	Overactive	Overactive	Decreased/absent
Segmental myoclonus	Present	Present	Absent
<b>Complex reflexes</b>			
Suck	Weak	Weak/absent	Absent
Moro	Strong	Weak	Absent
Oculovestibular	Normal	Overactive	Weak/absent
Tonic neck	Slight	Strong	Absent
<b>Autonomic function</b>			
Pupils	Mydriasis	Miosis	Variable
Heart rate	Tachycardia	Bradycardia	Variable
Bronchial/salivary secretions	Sparse	Profuse	Variable
Gastrointestinal motility	Normal/decreased	Increased/diarrhea	Variable
Seizures	None	Common/focal or multifocal	Uncommon
EEG	Normal/decreased	Early low voltage continuous delta and theta, later periodic, seizures focal 1–1.5 Hz spike-wave	Early periodic pattern with isopotential phases, later isopotential
Duration	<24 h	2–14 days	Hours–weeks

EEG, electroencephalogram.

*Tabella 1: classificazione Sarnat&Sarnat*

I neonati con stadio 1 o con segni di stadio 2 per meno di cinque giorni non hanno sviluppato danni neurologici permanenti; invece, la persistenza dello stadio 2 per più di sette giorni o il mancato ritorno dell'EEG alla normalità è stato associato a una successiva compromissione neurologica o morte. (11)

### **1.1.5 Trattamento**

Il primo intervento nel neonato asfittico è la rianimazione e, di conseguenza, la riossigenazione. Minore sarà la durata dell'asfissia, minore sarà il danno ipossico-ischemico primario. Una volta avvenuta la stabilizzazione del paziente, l'ipotermia terapeutica è il trattamento più efficace per prevenire un danno cellulare secondario in neonati con encefalopatia ipossico-ischemica moderata o severa. In particolare, l'ipotermia può ridurre l'edema vasogenico, il rilascio di neurotrasmettitori eccitatori e di radicali liberi dell'ossigeno, i fattori pro apoptotici e l'utilizzo di energia da parte dei neuroni. (8) Risulta essere efficace se attuata entro 6 ore dall'insulto; infatti una metanalisi della letteratura riporta una riduzione di mortalità e di morbidità nei neonati trattati con ipotermia rispetto ai controlli. (12) Vi sono due metodiche di trattamento ipotermico: l'ipotermia sistemica, ovvero il raffreddamento ad una temperatura rettale di 33 °C, e l'ipotermia cerebrale selettiva, cioè il raffreddamento ad una temperatura rettale di 34,5 °C. In entrambi i casi il trattamento ha una durata di 72 ore, con monitoraggio continuo della temperatura rettale e di quella superficiale. Successivamente il neonato verrà sottoposto ad un riscaldamento graduale, con incrementi di 0.5°C ogni ora, per una durata di almeno 4 ore. (8)

Nel caso di crisi epilettiche nel neonato asfittico si può ricorrere alla somministrazione di farmaci anticonvulsivanti, tra cui fenobarbital, fenitoina e benzodiazepine. (7)

## **1.5 Elettroencefalografia**

L'elettroencefalografia è una metodica diagnostica di registrazione del segnale bioelettrico cerebrale. Il tracciato elettroencefalografico è il risultato grafico di una differenza di potenziale registrata al di sotto di due elettrodi posti sullo scalpo, uno registrante o "attivo" e l'altro di riferimento.

### 1.5.1 Storia EEG

L. Galvani (1737-1798), A. Volta (1755-1832) e M. Faraday (1791-1867) sono tra i più importanti scienziati che hanno posto le basi storiche per la registrazione di un segnale bioelettrico e che hanno scoperto le proprietà elettriche dei tessuti viventi. I primi esperimenti per registrare un segnale elettroencefalografico della corteccia cerebrale animale risalgono al 1870 e furono effettuati da un neurofisiologo inglese Richard Caton (1842-1926). Tuttavia, la prima registrazione EEG del cervello umano è stata eseguita nel 1924 da un neuropsichiatra tedesco Hans Berger (1873-1941), che posizionò degli elettrodi direttamente sopra la corteccia cerebrale nei pazienti con grandi finestre ossee dovute a traumi riportati durante la guerra. Dopo di lui altri studiosi, grazie all'invenzione di amplificatori differenziali e all'utilizzo di elettrodi di superficie, misero a punto la tecnica di registrazione del segnale EEG e, a partire dalla metà del Novecento, trovò applicazioni sia dal punto di vista sperimentale sia clinico: nel monitoraggio delle fasi di vigilanza e sonno, per lo studio delle funzioni cerebrali e per lo studio dei vari tipi di epilessia.

Inoltre, Hans Jasper, neurologo canadese, ideò e pubblicò nel 1958 un sistema universale di posizionamento degli elettrodi oggi conosciuto come sistema Internazionale 10-20. (13)

### 1.5.2 Basi neurofisiologiche

I neuroni sono cellule eccitabili, hanno infatti la capacità di produrre e trasmettere in rapidità segnali elettrici in risposta a uno stimolo. Il potenziale di membrana è definito come la differenza di carica elettrica, cioè la concentrazione dei vari ioni ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ), tra spazio intra e extracellulare e per i neuroni a riposo è circa  $-70$  mV. La cellula può variare la permeabilità ai diversi ioni attraverso l'apertura o la chiusura dei canali specifici voltaggio-dipendenti, depolarizzando la membrana e generando così un potenziale d'azione. Quando quest'ultimo raggiunge un valore soglia, genera una variazione di corrente anche nella cellula adiacente, generando così un potenziale post-sinaptico (sinapsi elettrica in gap junction). In questo modo quando numerose cellule sono connesse tramite sinapsi elettriche tenderanno a scaricare elettricamente in maniera sincrona e massimale. (14)

Il segnale EEG registrato a livello dello scalpo rappresenta le variazioni dell'attività elettrica di grandi popolazioni di neuroni corticali, che generano i cosiddetti *field potentials* (potenziali di campo); essi derivano da flussi di corrente intra e extracellulare generati dalla somma di



più potenziali postsinaptici di diverse cellule cerebrali, che hanno una durata di 10-40 millisecondi. Per questo motivo l'attività elettrica cerebrale non deriva dalle depolarizzazioni dei singoli assoni, cioè dei potenziali d'azione, poiché essi, per quanto intensi, si esauriscono in circa 1 msec e ciò ne preclude la sommazione temporale.

Dal punto di vista fisico, la differenza di potenziale registrata a livello dello scalpo dipende dalla quantità di corrente del flusso extracellulare, ed è proporzionale alla resistenza che si interpone tra l'elettrodo registrante e l'attività elettrica stessa, secondo la prima legge di Ohm:

$$V = i \times R$$

(1. 2)

La maggior parte dell'attività elettrica corticale registrata dall'EEG è quella delle cellule piramidali, ovvero i neuroni presenti principalmente nel III strato corticale, che si dispongono parallelamente l'una rispetto alle altre e con i loro dendriti apicali posti perpendicolarmente alla superficie della corteccia. In particolare, la depolarizzazione dei dendriti delle cellule piramidali induce un passaggio di cariche nel mezzo extracellulare dalla porzione apicale verso quella basale dell'albero dendritico, o viceversa, formando un dipolo. Tuttavia, poiché il dipolo possa essere rilevato, occorre che molte cellule, circa 50.000, si attivino contemporaneamente. È grazie al talamo e alle sue proiezioni corticali che si determina la sincronizzazione o la desincronizzazione dell'attività elettrica corticale.

La formula per calcolare il potenziale  $V$  di un dipolo, come in [figura 5](#), è quindi:

$$V = \frac{qd \cos \theta}{4\pi\epsilon_0 r^2}$$

(1. 3)

dove  $q$  è la carica del dipolo,  $d$  la distanza tra cariche di segno opposto,  $r$  la distanza tra il dipolo e l'elettrodo registrante,  $\theta$  l'angolo compreso tra  $d$  e  $r$ ,  $\epsilon_0$  la costante dielettrica nel vuoto. Il potenziale dipende direttamente dall'orientamento del dipolo e per questo motivo l'EEG riuscirà a registrare correttamente dipoli radiali (perpendicolari) rispetto alla superficie della corteccia. Infatti, il  $\cos\theta$  ha valore massimo quando  $\theta = 0^\circ$ , mentre ha valore nullo quando  $\theta = 90^\circ$ , di conseguenza il segnale proveniente dai neuroni tangenziali, cioè posti orizzontalmente, è nullo.

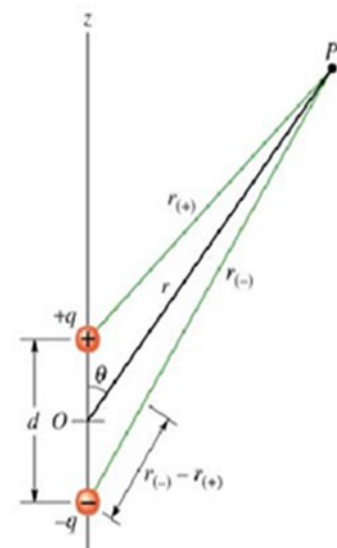


Figura 5: potenziale di un dipolo

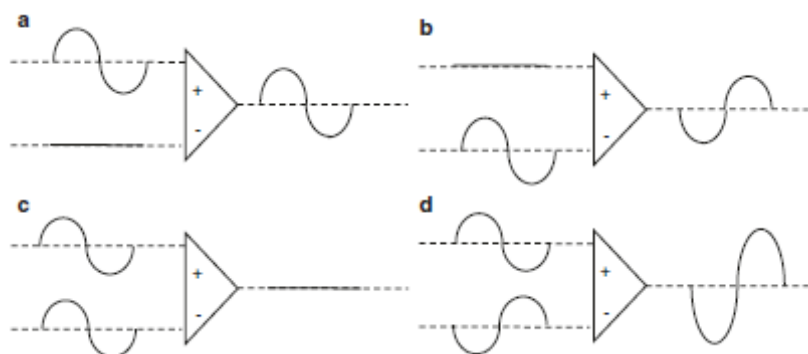
Inoltre, l'ampiezza di  $V$  diminuisce all'aumentare della distanza tra l'elettrodo registrante e la popolazione di neuroni che genera il dipolo poiché vi è una dipendenza quadratica inversa tra i due.

### 1.5.3 Acquisizione del segnale EEG

Il potenziale che viene registrato dall'elettroencefalografo è dell'ordine di 5-200  $\mu\text{V}$  ed è per questo necessario un sistema di amplificazione per evitare la distorsione del segnale stesso. La misura del potenziale registrato è il risultato della differenza tra due elettrodi posti sullo scalpo, uno attivo e uno di riferimento. Una volta acquisito il segnale a livello elettronico, esso passa a una testina isolata, al cui interno sono presenti l'amplificatore differenziale e il convertitore analogico-digitale. La situazione ideale sarebbe quella di avere un riferimento con potenziale nullo, ma ciò risulta essere fisicamente impossibile. Da due ingressi, attraverso l'amplificatore differenziale, si ottiene una singola uscita che costituisce una derivazione dell'EEG.

Ci sono due tipi di referenza:

- Referenza cefalica: l'elettrodo di riferimento fa parte del sistema 10-20 e registra anch'esso attività elettrica cerebrale;
- Referenza extracefalica: è quella che approssima maggiormente la situazione ideale, in cui l'elettrodo è posizionato al di fuori dell'area cerebrale.



*Figura 6: Morfologia e ampiezza dei diversi segnali di ingresso dell'amplificatore differenziale e i rispettivi segnali di uscita. La figura mostra circostanze ovviamente ideali. Se il segnale è limitato a un singolo canale (a, b), il segnale di uscita avrà una polarità diversa, a seconda delle caratteristiche del segnale di ingresso. Se invece i due segnali di ingresso sono identici (con la stessa polarità), l'uscita sarà zero (c). Infine, se i due segnali di ingresso hanno polarità diversa, il segnale di uscita sarà il risultato della loro somma (d) (13)*

Nella pratica clinica sono possibili tre tipi di derivazioni:

- Monopolare con elettrodo di riferimento comune;
- Monopolare con elettrodo di riferimento medio;
- Bipolare: in cui ogni elettrodo è riferito a quello vicino secondo catene longitudinali o trasversali ed è in comune tra due canali successivi.

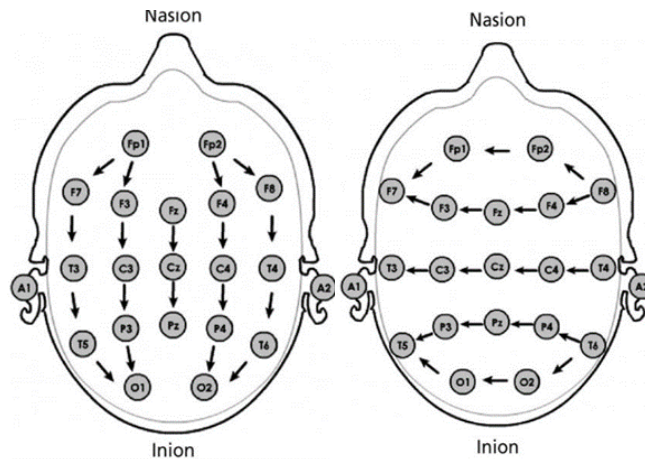


Figura 7: Montaggio bipolare longitudinale, a sinistra, e trasversale, a destra.

Una volta amplificato, il segnale passa attraverso il convertitore analogico-digitale, trasformando il valore analogico dell'attività cerebrale con una forma d'onda in una sequenza numerica.

Per fare ciò è necessario eseguire un campionamento, ovvero selezionare valori della funzione continua nel tempo a intervalli di tempo regolari, trasformandoli in un segnale discreto, con lo scopo di avvicinarsi il più possibile alla forma d'onda dell'iniziale segnale analogico.

Il campionamento è regolato dal teorema di Nyquist-Shannon che afferma che la frequenza di campionamento deve essere almeno il doppio della frequenza massima che compone il segnale. Solitamente per il prelievo del segnale EEG si utilizza una frequenza di campionamento di 128 oppure 256 Hz.

$$F_C \geq 2F_{max}$$

(1. 4)

Successivamente al prelievo, all'amplificazione e all'elaborazione del segnale EEG, questo viene rappresentato dal monitor, il sistema di output. Per la visualizzazione del tracciato si possono modificare altri parametri, tra cui:

- velocità di scorrimento: ovvero la durata di un'epoca visualizzata in una pagina, in genere impostata a 15 mm/s;
- sensibilità: rappresenta l'ampiezza del segnale in  $\mu\text{V}/\text{mm}$ , assume valori compresi tra 7 e 10  $\mu\text{V}/\text{mm}$ , talvolta soprattutto negli EEG in età pediatrica anche 14  $\mu\text{V}/\text{mm}$ ;
- filtri: permettono di selezionare le frequenze interessate e attenuare eventuali attività artefattuali di origine non cerebrale. Vengono impostati: un filtro passa-alto, che attenua le basse frequenze, a 0.53 Hz o 1.6 Hz; un filtro passa-basso, che viceversa attenua le alte frequenze, a 50-70 Hz; e, infine, il filtro Notch a 50 Hz per eliminare la frequenza di rete.

#### **1.5.4 Sistema internazionale 10-20**

Il sistema internazionale 10-20 ha reso l'EEG una metodica standardizzata poiché il posizionamento di 21 elettrodi si basa su una misurazione attraverso dei punti di repere specifici così da ricoprire tutta la superficie della testa in modo proporzionato alle misure e alla forma del cranio. Ogni posizione degli elettrodi è definita da una lettera e da un numero. La lettera identifica l'area in cui si trova l'elettrodo e può essere Fp per il lobo prefrontale, F per il lobo frontale, C per il solco centrale, P per il lobo parietale, T per il lobo temporale ed O per il lobo occipitale. Il numero, invece, è indicativo dell'emisfero, rispettivamente è pari a destra e dispari a sinistra. La lettera "z", dal tedesco "zentrum", cioè centro, è utilizzata per gli elettrodi posti sulla linea mediana.

I punti di repere sono:

- Nasion: l'incavo sopra al ponte del naso;
- Inion: la protuberanza dell'osso occipitale;
- punti preauricolari: in corrispondenza della depressione dell'osso zigomatico, davanti al trago.

Unendo i quattro punti si formano la linea immaginaria mediana antero-posteriore, quella coronale latero-laterale, il cui punto di incrocio corrisponde a Cz, e la linea longitudinale laterale. Spostandosi da queste linee immaginarie del 10 e del 20 % della lunghezza totale

della distanza tra i punti di repere si trovano i punti di posizionamento degli elettrodi, come si vede nelle seguenti figure. ([fig. 8](#) e [fig. 9](#)).

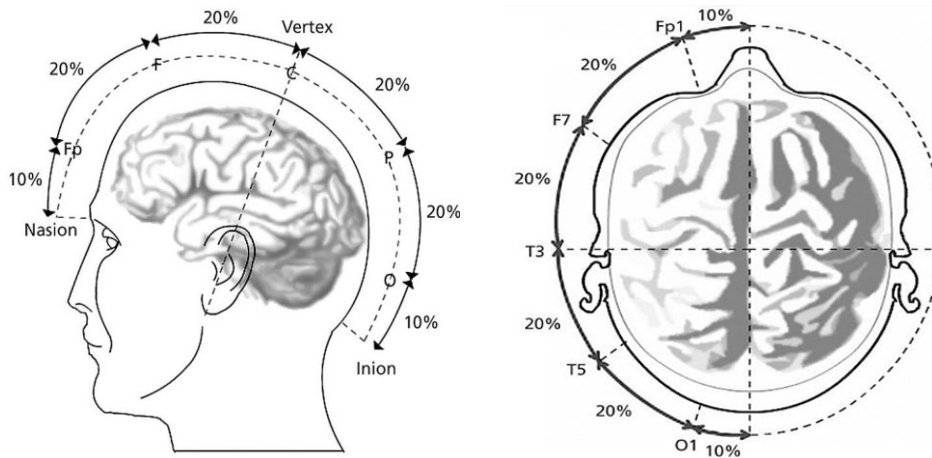


Figura 8: Rappresentazione della linea mediana anteroposteriore che congiunge nasion e inion.

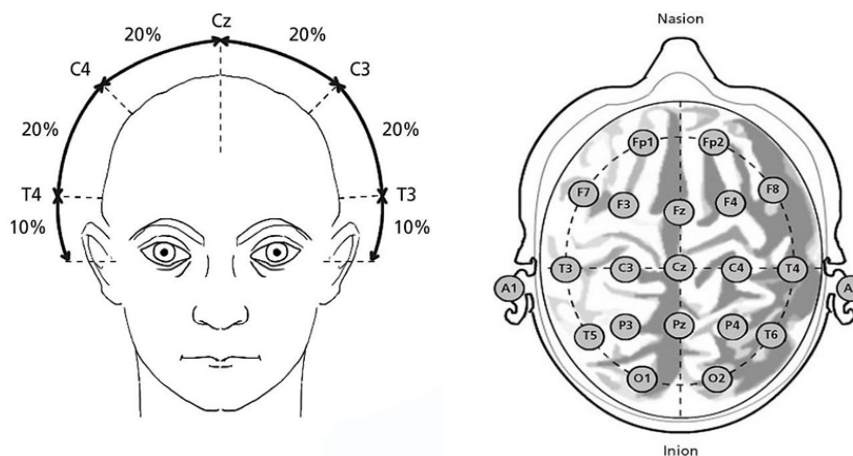


Figura 9: Rappresentazione della linea coronale laterolaterale che congiunge i punti preauricolari

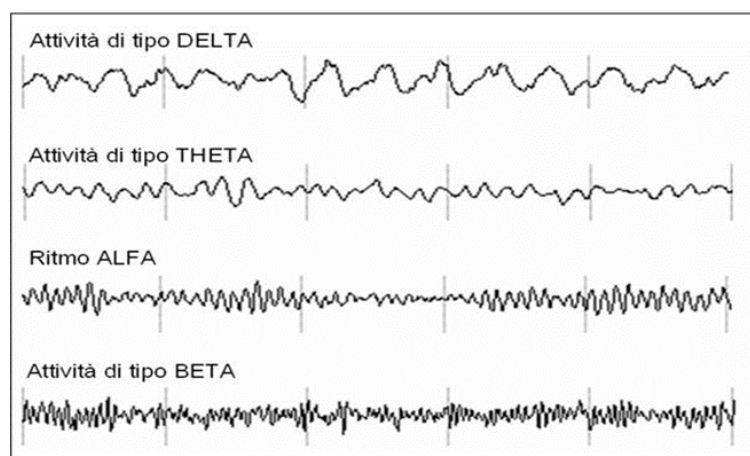
### 1.5.5 Caratteristiche del segnale EEG

Il segnale elettroencefalografico ha diverse caratteristiche, quali:

- Frequenza: espressa in Hertz (Hz), è il numero di cicli completi di onde al secondo;
- Ampiezza: misurata in micronVolt ( $\mu\text{V}$ ), rappresenta il voltaggio delle onde cerebrali;
- Durata: indica il tempo in millisecondi (msec);
- Morfologia: descrive l'aspetto e la configurazione delle onde, definita in base al numero di volte che il segnale attraversa l'isoelettrica.

Si possono differenziare in base alla frequenza del segnale diverse bande di attività cerebrale (rappresentate nella [fig. 10](#)):

- ◇ Banda DELTA ( $\delta$ ): attività con frequenze comprese tra 0,5 e 4 Hz e di ampio voltaggio (150  $\mu$ V); presente fisiologicamente in età pediatrica e nell'adulto nel sonno N-REM. Può coincidere anche con situazioni patologiche come il coma o in alcune malattie metaboliche.
- ◇ Banda THETA ( $\theta$ ): frequenze comprese tra 4 e 8 Hz di medio-alto voltaggio (75  $\mu$ V); è presente in veglia fino all'adolescenza, mentre nell'adulto in fase di addormentamento. Nel caso di patologie si può riscontrare in concomitanza di alterazioni tossico-metaboliche o può essere espressione di lesioni focali come neoplasie cerebrali, lesioni vascolari, traumi cranici e epilessia nel periodo intercritico.
- ◇ Banda ALFA ( $\alpha$ ): attività tra 8 e 13 Hz di medio voltaggio (45  $\mu$ V) che si registra prevalentemente nelle regioni temporo-occipitali nell'adulto a riposo e con occhi chiusi. Definita come attività di fondo, poiché descrive l'attività maggiormente rappresentata, è essenziale per la definizione della reazione d'arresto, ovvero la scomparsa del ritmo alfa all'apertura degli occhi.
- ◇ Banda BETA ( $\beta$ ): comprende attività con frequenza maggiore di 13 Hz di basso voltaggio (20  $\mu$ V); è presente maggiormente nelle regioni precentrali, è areagente e può essere indice di ansia e agitazione. In caso di assunzione di benzodiazepine vi è un incremento del ritmo beta.
- ◇ Banda GAMMA ( $\gamma$ ): di frequenza 30-35 Hz, con ampiezza non superiore a 15  $\mu$ V sulle aree anteriori.



*Figura 10: Rappresentazione bande di attività EEG*

## 1.6 Elettroencefalografia nel neonato

Il tracciato EEG del neonato rispecchia l'anatomia e lo sviluppo maturativo del cervello, secondo i processi di sinaptogenesi, mielinizzazione e strutturazione neuronale e neurogliale. (citati nel [paragrafo 1.1](#)). È indispensabile considerare l'età del neonato e lo stato di vigilanza, per poter effettuare un'interpretazione corretta del tracciato. Per fare ciò è importante che il tracciato duri almeno 60 minuti, in modo da contenere almeno un intero ciclo di sonno. Infatti, nei neonati si definisce un ciclo "ultradiano", ovvero circa 1 ciclo completo di sonno e veglia ogni 50-60 minuti.

L'EEG in età neonatale ha come scopo quello di dare informazioni sullo stato funzionale dell'attività cerebrale e sulle tappe maturative, osservare eventuali segni di sofferenza cerebrale o di crisi epilettiche per un immediato trattamento farmacologico e effettuare una prognosi.

### 1.6.1 Montaggio

Il montaggio secondo il sistema 10-20 con 19 elettrodi attivi posti sullo scalpo risulta impossibile sul neonato poiché non sarebbe garantita una distanza interelettrodica sufficiente per evitare che si crei un'isoelettrica artefattuale. Si ricorre quindi a un montaggio ridotto di 10 elettrodi attivi: Fp1, Fp2, C3, C4, T3, T4, O1, O2, Fz e Cz, oltre a quello di riferimento (di solito Fpz) e di terra.

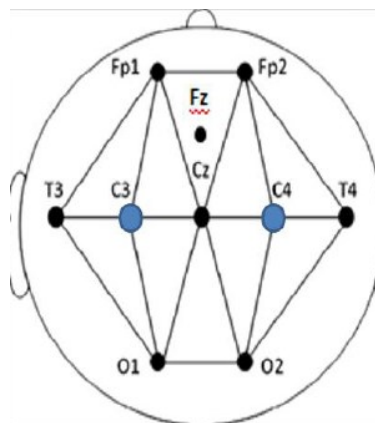


Figura 11: Montaggio ridotto per il neonato

È inoltre opportuno completare la registrazione dell'EEG neonatale con dei canali poligrafici, di solito:

- Elettrocardiogramma: con catodo registrante sopra la linea mediana a sinistra e anodo di riferimento posto a destra. Registrata con il filtro passa alto impostato a 5 Hz, filtro passa basso a 15 Hz e una sensibilità di 700-800  $\mu$ V, essendo un segnale molto ampio.
- Attività respiratoria: registrata a livello toracico-addominale attraverso una fascia a induttanza con parametri di registrazione: filtro passa alto: 0,016 Hz, filtro passa basso: 15 Hz e sensibilità 150-200  $\mu$ V. (13)

## 1.6.2 Stati comportamentali

Fino a 8 settimane dopo il termine, il sonno rappresenta il 90-92% e la veglia il 10% nelle 24 ore giornaliere. (15)

Nel neonato si distinguono quattro differenti stati comportamentali:

- o Veglia: caratterizzata da respiro irregolare, occhi aperti, motilità spontanea. Si distinguono due tipi di veglia: agitata con pianto e calma.
- o Sonno attivo (AS, Active Sleep): corrisponde al sonno REM dell'adulto. È associato a respiro e frequenza cardiaca irregolari e veloci; gli occhi sono chiusi e si possono osservare movimenti oculari rapidi sotto le palpebre. La motilità spontanea è bassa, con possibili movimenti di suzione ed emissione di gridolini e sospiri, movimenti fini delle dita e movimenti segmentali degli arti. (15)

L'attivazione neuronale endogena, che si verifica durante l'AS, fornisce la crescita di reti neurali come i sistemi neurosensoriali; inoltre l'AS fornisce input cruciali per lo sviluppo di circuiti a lungo termine. (16)

- o Sonno quieto (QS, Quiet Sleep): corrisponde al sonno non-REM dell'adulto. È caratterizzato da respiro e frequenza cardiaca regolari, occhi chiusi e assenza di movimenti oculari sotto le palpebre. Non sono inoltre presenti movimenti spontanei, se non per piccoli "sobbalzi" o "scatti", causati da stimolazioni sensoriali provenienti dall'esterno e riscontrabili con un certo ritardo dalla stimolazione; infatti, l'elaborazione ippocampale degli stimoli esterni si verifica proprio durante QS. (16)



- Stato intermedio (IS, Intermediate Sleep): è lo stato di sonno in cui non sono soddisfatti né i criteri per il sonno attivo, né i criteri per il sonno quieto. Il neonato ha gli occhi chiusi e parametri intermedi agli stati sopracitati. I periodi di sonno indeterminato indicano il passaggio da uno stato di sonno all'altro e hanno una durata di circa 4-5 minuti. Inoltre, la fase di passaggio da QS a AS è importante per l'elaborazione della memoria. (16)

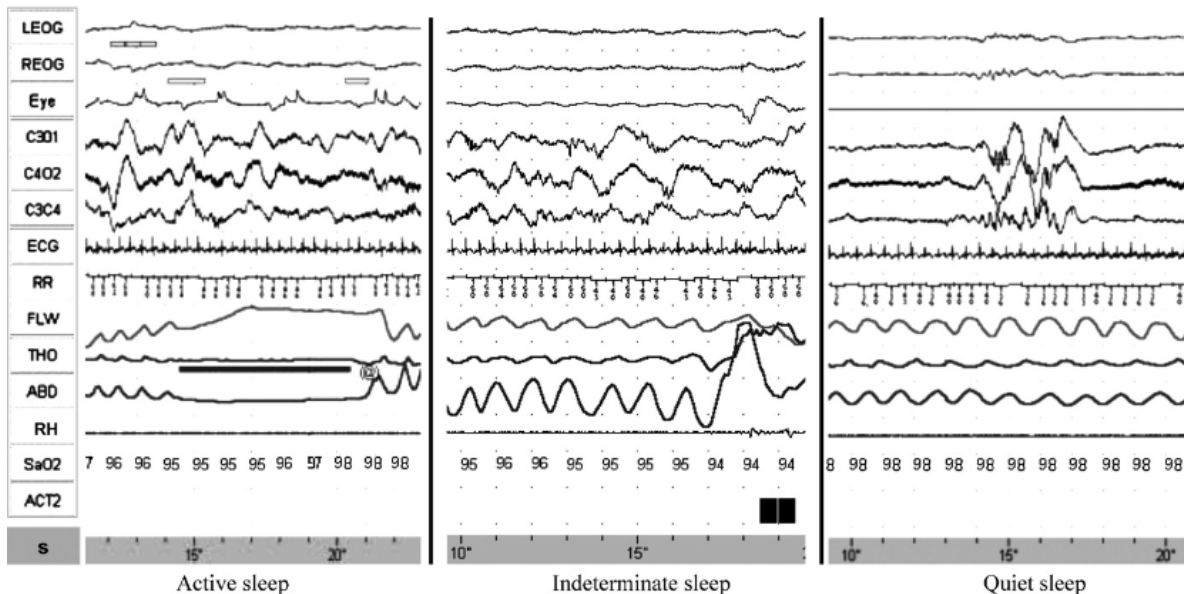


Figura 12: Distinzione tra AS, IS e QS (17)

Nell'estremo prematuro (24-25 SG) si distinguono soltanto periodi alternati di attività e di riposo, con un tracciato molto discontinuo con intervalli interburst (IBI) molto lunghi.

Una netta differenziazione dei ritmi sonno-veglia si ha a partire dalle 32 SG. A partire dalle 35 settimane, si possono distinguere due forme di sonno attivo: sonno attivo 1 (AS 1), che precede il sonno tranquillo (QS) e sonno attivo 2 (AS 2), successivo al QS.

Inoltre, la quantità di AS predomina nelle ultime 10 settimane di gestazione. (16)

Tra le 38 e le 42 settimane gli stati sono stabili e ben differenziabili con una progressiva riduzione delle fasi di sonno attivo e un incremento del sonno quieto. (13)

Inoltre, inizialmente si ha l'onset del sonno in AS, il quale prevale sul QS; quest'ultimo dalle 48 SG, dopo il suo progressivo aumento, inizierà ad essere l'onset del sonno. Allo stesso modo, tende a diminuire l'IS.

### 1.6.3 Caratteristiche dell'EEG neonatale

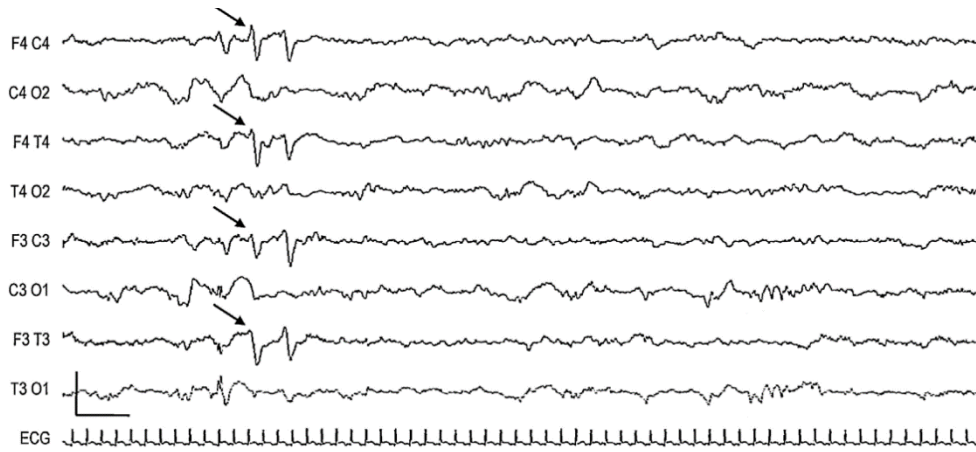
L'analisi qualitativa del tracciato EEG del neonato si basa principalmente sulla continuità del tracciato e sulla sincronia interemisferica dell'attività di fondo.

Nel neonato prematuro il tracciato è discontinuo, si alternano periodi di attività elettrica a periodi di inattività, sia in veglia che in sonno. Il processo maturativo cerebrale porterà, attorno alle 35-36 SG, alla scomparsa dei tratti inattivi e alla comparsa di attività elettrica continua che si arricchirà sempre più delle figure fisiologiche per l'età e tipiche di ogni stato comportamentale. La discontinuità del tracciato permane fisiologicamente in sonno quieto.(13)

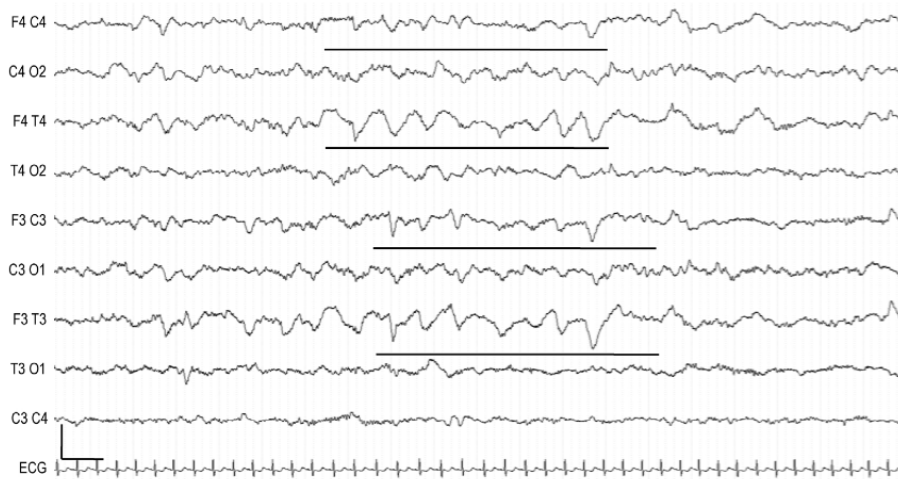
L'asincronia interemisferica è frequente, infatti prima delle 28 SG la sincronizzazione tra due emisferi è presente solo per burst di attività di grande ampiezza. A partire dalle 31 settimane l'asincronia decresce con la maturazione cerebrale e permane maggiormente in QS. Inoltre, anche l'ampiezza del tracciato diminuisce con la maturazione cerebrale. (17)

Il tracciato EEG di un neonato a termine può essere così descritto:

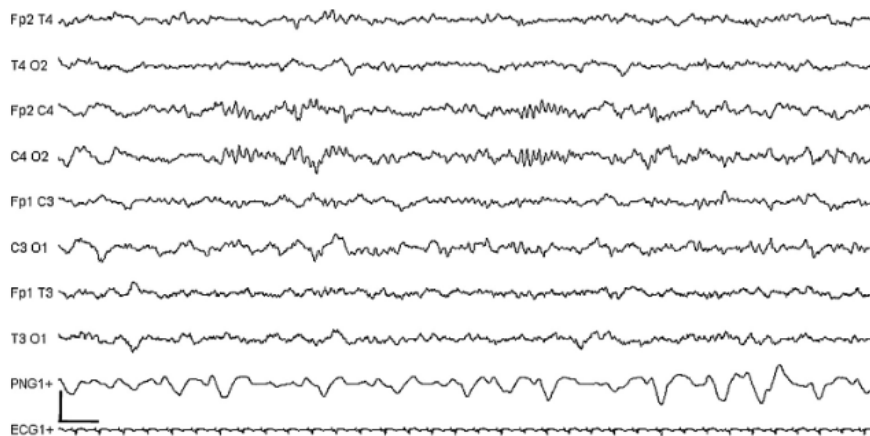
- ◇ Attività moyenne: attività di fondo presente in veglia e AS a partire dalle 36 SG. È poliritmica, continua, irregolare, diffusa con maggiore rappresentazione nelle regioni centrali, con range di frequenza prevalentemente in banda theta (4-7 Hz), talvolta frammista ad attività più lenta di banda delta (1-3 Hz), per lo più occipitale, con un'ampiezza di 25-50  $\mu$ V. Su questa attività di base si inseriscono alcune figure fisiologiche, tra cui:
  - Encoche frontales: potenziali difasici positivi di ampio voltaggio (50-200  $\mu$ V) e con una durata di 0,5-0,75 secondi, sulle regioni frontali sia uni- che bilateralmente, anche se tendenzialmente sono sincrone e simmetriche. Sono presenti a partire dalle 34 SG. ([fig. 13](#)) (15)
  - Anterior slow dysrhythmia: burst di attività delta (1-3 Hz) di ampio voltaggio (50-100  $\mu$ V) sulle regioni anteriori, della durata di 1-4 secondi. Compiono a partire dalle 36-37 SG. ([fig.14](#)) (15)
  - Midline Central Theta: sequenze di onde theta, talvolta anche alfa, sulle regioni rolandiche, di breve durata (< 5 secondi) e ampiezza variabile. ([fig.15](#)) (17)



*Figura 13: Encoche frontales*

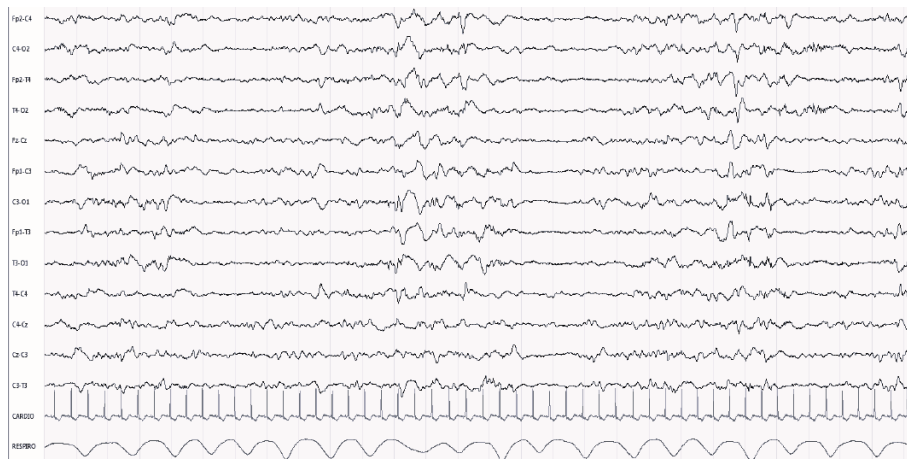


*Figura 14: Anterior slow dysrhythmia (sottolineata)*



*Figura 15: Midline central theta*

- ◇ Tracè alternant: presente in QS dalle 36 SG, per poi scomparire attorno alle 44 SG. Si caratterizza per delle burst irregolari di onde lente (1-3 Hz, 50-100  $\mu$ V) della durata di 3-8 secondi, alternandosi a periodi di attività theta di minor voltaggio (4-7 Hz, 20-50  $\mu$ V) della durata di 4-10 secondi. Con la maturazione anche in QS l'attività diventerà continua, sempre in banda delta, principalmente 1-3 Hz, con predominanza occipitale. (15)



*Figura 16: Tracè alternant*

Figure fisiologiche tipiche del neonato prematuro sono:

- Delta brushes: onde delta casuali o brevemente ritmiche (0,3-1,5 Hz), con un'ampiezza di 50-300  $\mu$ V, con sovrainposta attività rapida ( $> 8$  Hz) di 10-60 $\mu$ V. Compaiono a partire dalle 28 SG, con picco di incidenza intorno alle 32-34 SG e progressiva diminuzione, fino alla loro scomparsa (attorno a 37-38 SG). All'inizio diffusi su tutto lo scalpo, poi diventano predominanti nelle aree temporali e occipitali. Spesso asimmetriche in voltaggio e tipicamente asincrone. ([fig. 17](#))
- Premature temporal theta (o temporal sawtooth): attività theta bitemporale, a morfologia aguzza, della frequenza di 4,5-6 Hz. Possono presentarsi a partire da 24 SG, per scomparire attorno a 32 SG circa, con espressione di picco a 29-31. Solitamente bilaterali e asincrone, raramente coinvolgono un solo emisfero; variano con lo stato di sonno, essendo più frequenti durante l'AS. ([fig.18](#))
- Delta occipitale: isolata attività delta a carico di una o entrambe le regioni occipitali, isolate o in brevi sequenze. Tipica dell'estremo prematuro (netta riduzione già a 30 SG).

- STOPs (Sharp Theta on the Occipitals of Prematures): attività theta aguzza a carico delle regioni occipitali con ampiezza di circa 200  $\mu$ V. (17)

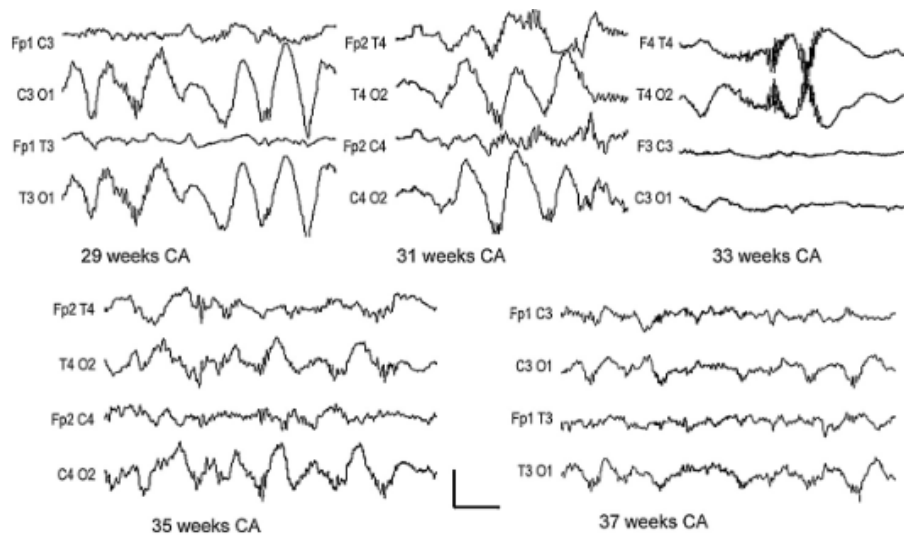


Figura 17: Evoluzione delta brushes nelle SG (17)

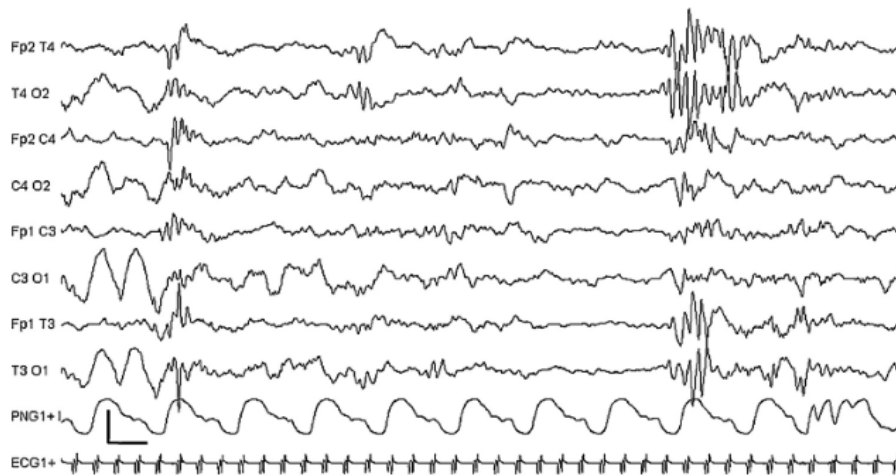


Figura 18: Premature temporal theta (17)

In generale, l'analisi del tracciato EEG del neonato si basa sulla valutazione dell'attività di fondo, della simmetria e la ricerca di anomalie. È possibile distinguere le anomalie nel modo seguente:

- ◇ Anomalie dell'attività di fondo: strettamente correlate alla discontinuità del tracciato. Sotto quest'aspetto si possono delineare le seguenti tipologie di tracciato patologico:
  - Tracciato inattivo: l'ampiezza non supera i 5  $\mu\text{V}$  e gli intervalli interburst (IBI) superano anche i 60 secondi.
  - Tracè paroxystique: tracciato discontinuo e disorganizzato. I bursts hanno durata variabile da 1 a 10 secondi e sono composti da spike frammiste ad onde delta-theta, talvolta asincroni. Gli intervalli interburst hanno ampiezza inferiore a 5  $\mu\text{V}$  e durata compresa tra 10 e 60 secondi.
  - Burst suppression: periodi di burst di attività theta/delta intervallati a periodi di soppressione dell'attività corticale (minore di 2  $\mu\text{V}$ ) di durata variabile, in cui non si alternano cicli di sonno/veglia.
  - Tracciato "poor plus theta": consiste in un tracciato di base ipovoltato (minore di 15  $\mu\text{V}$ ) su cui si sovrascrivono bursts in banda theta di ampiezza 5-15  $\mu\text{V}$  di durata variabile.
  
- ◇ Anomalie della maturazione: interessano pattern elettrici corrispondenti a un'età corretta inferiore rispetto a quanto atteso per quella specifica età;
  
- ◇ Pattern elettrici patologici:
  - Onde aguzze positive rolandiche (PRSW, Positive Rolandic Sharp Waves): sono fisiologiche tra 28-32 SG e isolate, bilaterali e asincrone, con ampiezza inferiore a 150  $\mu\text{V}$ , in opposizione di fase sulla regione centrale. Se sono frequenti, ripetitive, monolaterali e di ampio voltaggio indicano una lesione focale.
  - Onde aguzze positive temporali (PTSW, Positive Temporal Sharp Waves): possono indicare, secondo morfologia, polarità e frequenza, una lesione focale sottostante.

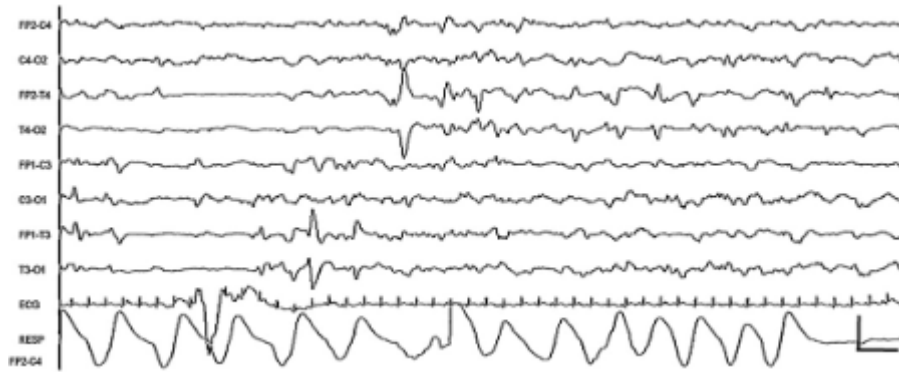


Figura 19: Positive Temporal Sharp Waves (15)

- Punte lente focali ricorrenti sono lesione di lesione focale
- Punte lente multifocali: focolai multipli di punte lente di ampio voltaggio indicano una lesione diffusa del SNC.
- Attività ritmica focale (al vertice e/o in sede variabile)

◇ Anomalie critiche epilettiche. (13)

## 1.7 Analisi quantitativa del segnale EEG

È possibile distinguere l'analisi del segnale EEG in qualitativa e quantitativa.

L'analisi qualitativa si basa sull'ispezione visiva del tracciato, descrivendone il ritmo di fondo, la simmetria, la frequenza, l'ampiezza e l'eventuale presenza di anomalie epilettiformi. Al contrario, l'analisi quantitativa utilizza processi di elaborazione del segnale, attraverso tecniche matematiche e statistiche, in modo da risaltare specifiche proprietà del segnale stesso.

Si distinguono processi di elaborazione atti a definire parametri in due diversi domini:

- nel dominio del tempo, in cui si eseguono calcoli direttamente sul segnale registrato;
- nel dominio della frequenza, in cui è necessaria una trasformazione del tracciato in una distribuzione spaziale sullo scalpo con le diverse frequenze e le loro potenze.

### 1.7.1 Analisi spettrale

Il segnale elettrico cerebrale può essere visto come una funzione matematica nel tempo grazie al suo andamento sinusoidale.

Supponiamo di definire il segnale elettroencefalografico come una funzione  $f(x)$ , definita nell'intervallo  $(-\frac{T}{2}; +\frac{T}{2})$ , periodica di periodo  $T$ ; si ha dunque  $f(x+T) = f(x)$ .

È possibile passare dal dominio del tempo al dominio della frequenza attraverso la trasformata di Fourier. Il teorema di Fourier dimostra che, se una funzione è periodica, può essere scomposta in una serie di seni e coseni a frequenza crescente attraverso opportuni coefficienti.

$$f(x) = \frac{a_0}{2} + \sum_{n=1}^{+\infty} \left[ a_n \cos\left(\frac{2\pi}{T} nx\right) + b_n \sin\left(\frac{2\pi}{T} nx\right) \right] \quad (1. 5)$$

I coefficienti  $a_0, a_n$  e  $b_n$  valgono rispettivamente:

$$a_0 = \frac{2}{T} \int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} f(x) \delta x \quad (1. 6)$$

$$a_n = \frac{2}{T} \int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} f(x) \cos\left(\frac{2\pi}{T} nx\right) \delta x \quad (1. 7)$$

$$b_n = \frac{2}{T} \int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} f(x) \sin\left(\frac{2\pi}{T} nx\right) \delta x \quad (1. 8)$$

Viene introdotto il concetto di potenza, calcolata come la somma dei quadrati dei coefficienti delle componenti seno e coseno della frequenza  $f$ . Si ottiene così lo spettro di potenza del tracciato elettroencefalografico e diventa possibile analizzare il segnale in bande di frequenza.

$$potenza = a_n^2 + b_n^2 \quad (1. 9)$$



## 1.7.2 Complessità

Il concetto di complessità di un tracciato trae origine dal concetto di dimensionalità di un frattale, un oggetto geometrico che si ripete nella sua forma allo stesso modo su scale diverse. Dunque, provando a ingrandire una qualunque delle parti che lo compongono, si ottiene sempre una figura simile a quella originale, caratteristica denominata auto-similarità. Questo concetto è stato studiato dal matematico francese Mandelbrot, negli anni 70 del Novecento, per rispondere all'esigenza di descrivere comportamenti matematici "caotici" nello studio di sistemi dinamici o nella definizione di curve. Un esempio pratico esposto da Mandelbrot è la determinazione della lunghezza della costa della Gran Bretagna. L'idea è che tanto più frastagliata la costa, tanto più grande sarà la sua lunghezza, cioè la sua dimensione. Ad esempio, la costa Dalmata è molto più frastagliata della costa Veneta: traducendolo in dimensione, avrà dimensione maggiore. Questo perché una curva molto frastagliata che va dal punto A al punto B, una volta distesa, ha una dimensione lineare molto maggiore della retta che congiunge A e B.

Il tracciato EEG può essere considerato come una serie temporale con dimensione frattale. Higuchi ha proposto un algoritmo per il calcolo della dimensione frattale di una serie temporale, che dà come risultato un valore compreso tra 1, corrispondente ad una linea retta, e 2, equivalente ad un segnale stocastico. (18)

Di conseguenza, la complessità di un tracciato elettroencefalografico è un parametro che può assumere tutti i valori compresi nell'intervallo [1; 2]. Dunque, a valori di complessità bassi corrisponde un tracciato EEG ricco di basse frequenze, appartenenti alla banda di frequenza theta/delta; viceversa, a valori maggiori di complessità saranno associate componenti in frequenza più rapide, cioè a bande di frequenza alfa e/o beta.

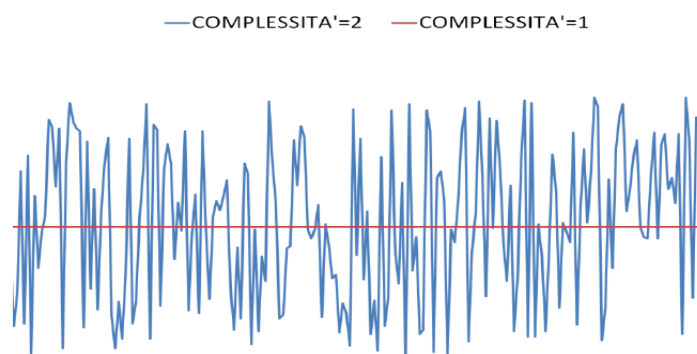


Figura 20: Rappresentazione valori di complessità

### 1.7.3 Connettività

La connettività cerebrale è definita come l'insieme delle reti neurali che trasportano informazioni e mettono in comunicazione diverse popolazioni neuronali. È, dunque, un indice del livello di organizzazione delle connessioni cerebrali, a breve e lungo raggio. (2)

Si possono distinguere due tipi di connettività:

- connettività strutturale: rappresenta le connessioni anatomiche, come le sinapsi tra singoli neuroni contigui o le fibre nervose di sostanza bianca che mettono in comunicazione popolazioni neuronali anatomicamente distinte. Viene studiata attraverso tecniche di imaging come la risonanza magnetica.
- connettività funzionale: indica la dipendenza temporale, e dunque l'interazione, tra gruppi neuronali anatomicamente distinti e può essere misurata tramite la sincronizzazione in fase delle frequenze di scarica neuronale. (19)

Attraverso un'analisi quantitativa del segnale EEG è possibile studiare la connettività funzionale, in particolare la maturazione dei network neuronali in termini di differenziazione e integrazione delle connessioni neurali. (20)

La correlazione spazio-temporale dell'attività cerebrale è stata osservata sia nell'attività elettrica neuronale sia nelle fluttuazioni del flusso ematico cerebrale. (21)

La coerenza EEG e la sincronia dei burst sono potenziali candidati per il monitoraggio delle connessioni interemisferiche.

Nello specifico studiare la connettività tra due distinte aree cerebrali significa valutare la "coerenza" tra tali aree, ovvero se in un determinato momento le aree emettono un segnale della stessa banda di frequenza e se aumenta l'emissione di tale frequenza in una, aumenti anche nell'altra.

La correlazione è una misura statistica che permette di esprimere una relazione lineare tra due variabili,  $x$  e  $y$ , e come sono correlate tra loro. Si misura quindi la tendenza che hanno queste due variabili di cambiare insieme, ossia a covariare, prevedendo al variare di  $x$ , il valore della  $y$ . Si parla di correlazione lineare quando due variabili sono legate da una legge di tipo:

$$y = ax + b$$

(1. 10)

cioè quando il grafico della funzione sul piano cartesiano si avvicina alla forma di una retta; nello specifico, se all'aumentare di  $x$  aumenta anche  $y$  si definisce correlazione lineare diretta. Tuttavia con questa misura non si prende in considerazione la relazione di causa-effetto e non si può dunque affermare che una variabile sia la causa dell'altra o viceversa.

L'indice statistico che si utilizza per indicare il coefficiente di correlazione lineare è l'indice di Pearson o  $r$  di Pearson e sta a indicare la forza del legame tra le due variabili. Tale coefficiente può assumere valori che vanno da  $-1$  (correlazione lineare inversa) a  $+1$  (correlazione lineare diretta); se la  $r$  di Pearson è uguale a  $0$  indica che tra le due variabili non vi è alcuna correlazione. Per calcolare la  $r$  di Pearson si divide la covarianza tra le due variabili ( $\sigma_{xy}$ ), per il prodotto degli scarti quadratici medi, ovvero le deviazioni standard di  $x$  e  $y$  ( $\sigma_x$  e  $\sigma_y$ ), secondo la formula:

$$r_{xy} = \frac{\sigma_{xy}}{\sigma_x \sigma_y}$$

(1. 11)

Per l'analisi del segnale, ci si chiede quale sia la correlazione lineare tra diverse aree cerebrali rispetto a precise frequenze; più nello specifico quale sia la coerenza  $COH_{XY}$ , tra due segnali  $S_X$  e  $S_Y$  in funzione della frequenza  $f$ , calcolata in questo modo:

$$COH_{XY} = \frac{(S_{XY} f)^2}{S_{XX}(f) S_{YY}(f)}$$

(1. 12)

La coerenza assume valori nell'intervallo  $[0; 1]$ . Valori di coerenza pari a  $0$  indicano che i segnali sono indipendenti dal punto di vista della frequenza  $f$ , cioè che non hanno una componente spettrale  $f$  in comune. Valori di coerenza pari a  $1$ , invece, indicano massima correlazione tra i due segnali alla frequenza  $f$ . In sostanza, con la coerenza si studia un'eventuale relazione lineare in banda di frequenza fra elettrodi, quindi a livello di potenziale elettrico rilevato sullo scalpo, mentre con la connettività si possono studiare le relazioni tra le sorgenti del segnale, cioè quali sono le aree corticali coerenti fra loro.

Il problema principale dell'elettroencefalografia è stato per anni l'impossibilità di identificare topograficamente i generatori dell'attività elettrica corticale, essendo noti i valori di potenziale elettrico sui vari elettrodi e la posizione dei medesimi sullo scalpo. L'EEG ha infatti un'ottima risoluzione temporale, ma una scarsa risoluzione spaziale, al contrario delle

tecniche di neuroimaging. Infatti, pur posizionando un numero infinito di elettrodi sullo scalpo non si riuscirebbe a comprendere la fonte del segnale registrato, che può essere spiegato da molteplici generatori a livello corticale. Questo problema è stato risolto attraverso il software LORETA (Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography), che produce, tramite l'utilizzo di algoritmi lineari inversi per stimare la densità di corrente e dei suoi generatori corticali, una mappa di probabilità di localizzazione dell'origine dell'attività corticale usando un modello di corteccia approssimato da 6450 voxels di 5x5x5 mm (cioè 0,125 cm<sup>3</sup>).

Dunque LORETA è in grado di stimare le aree responsabili dell'attività di banda, chiamate Region Of Interest (ROI), e studiarne le reciproche relazioni.

## Capitolo 2 - Scopo dello studio

La domanda alla base dello studio è quella di comprendere se eventuali segni di immaturità del tracciato elettroencefalografico presenti in neonati prematuri siano legati ad una intrinseca immaturità cerebrale legata alla prematurità stessa e non all'effetto del danno da asfissia lieve. Tuttavia non è stato possibile avere né un campione di neonati prematuri "sani", in quanto la stessa prematurità, anche se lieve, non è una condizione fisiologica; né avere un campione di nati a termine sani che hanno svolto l'elettroencefalogramma; infatti, sono necessarie delle condizioni cliniche specifiche per richiederne l'esecuzione. Per questo motivo tutti i pazienti selezionati, sia casi che controlli, sono asfittici lievi con Sarnat 1, poiché è la condizione clinica più vicina alla normalità che è stata possibile valutare e poiché tale scelta permette di limitare la disomogeneità all'interno dei due campioni.

Questa tesi si pone come obiettivo quello di analizzare le differenze tra un campione di neonati asfittici nati a termine, privi di segni di encefalopatia, e di confrontarlo con un campione omologo di neonati asfittici lievi prematuri (35-36 SG) una volta raggiunta l'età corretta a termine. Per completezza sono stati analizzati separatamente sonno attivo e sonno quieto, al fine di osservare se vi fosse una significatività statistica maggiore in uno piuttosto che l'altro.



## Capitolo 3 - Materiali e metodi

### 3.1 Popolazione

Sono stati considerati 6 pazienti (4 maschi e 2 femmine) e 6 controlli (3 maschi e 3 femmine).

L'età media gestazionale dell'intera popolazione era di  $262\pm 15$  giorni (minimo=243; massimo=281). Nei pazienti l'età media gestazionale era pari a  $249\pm 4$  giorni, mentre nei controlli essa era di  $276\pm 6$  giorni: tale differenza era statisticamente significativa ( $p < 0.001$ ).

L'età media gestazionale al momento dell'esecuzione dell'EEG era invece identica nei due gruppi e pari a 286 giorni, ovvero 40+6 SG, quindi anche i prematuri hanno eseguito l'EEG una volta raggiunta l'età corretta a termine.

Tutti i pazienti, sia i casi sia i controlli, hanno diagnosi di asfissia con un punteggio della scala Sarnat 1, sono stati sottoposti a ipotermia terapeutica, non hanno avuto crisi epilettiche e il tracciato elettroencefalografico è stato refertato privo di caratteri patologici.

GRUPPO	SESSO	SG alla nascita	SG alla nascita in gg	SG all'EEG	SG all'EEG in giorni
caso1	M	35	245	41+1	291
caso2	F	34+5	243	42	294
caso3	M	36	252	41+2	289
caso4	M	36	252	39+4	277
caso5	F	35+5	250	42	294
caso6	M	36	252	39+2	275
controllo1	M	38+5	271	40+1	281
controllo2	F	40	280	40+4	284
controllo3	M	40+1	281	41+1	288
controllo4	F	39+6	279	42	294
controllo5	F	38	266	40+2	282
controllo6	M	39+5	278	41	287

*Tabella 2: Popolazione dello studio e rispettive SG alla nascita e all'esecuzione dell'EEG, espresse anche in giorni.*

## 3.2 Metodo di registrazione

Il seguente studio è di tipo retrospettivo, dunque sono stati utilizzati tracciati eseguiti precedentemente per finalità clinico-assistenziali.

L'acquisizione del segnale è stata ottenuta tramite un montaggio a 12 elettrodi, di cui 10 attivi (Fp1, Fp2, Fz, Cz, C3, C4, T3, T4, O1, O2), uno di riferimento (posto in Fpz) e uno di terra. È stato accertato, prima dell'esecuzione dell'EEG, che le impedenze elettrodiche, ossia la resistenza esercitata al passaggio della corrente alternata, fossero inferiori a 5 KΩ. Per abbassare le impedenze, è stata necessaria una preparazione adeguata della cute dello scalpo dei neonati utilizzando una pasta lievemente abrasiva. Sono stati utilizzati elettrodi a coppetta in argento clorurato, adesi allo scalpo mediante una pasta adesiva e conduttiva e una garza elastica per mantenerli in posizione.

Tutte le acquisizioni EEG presentano una durata di circa 60 minuti.

Per la registrazione elettroencefalografica è stato utilizzato il programma Galileo NT della ditta EB Neuro®. L'elettroencefalogramma viene acquisito a derivazione monopolare con una frequenza di campionamento impostata a 256 Hz. In fase di analisi, sono stati utilizzati i seguenti filtri: filtro Notch a 50 Hz, filtro passa alto a 1 Hz e filtro passa basso a 30 Hz.

## 3.3 Elaborazione del segnale EEG

I tracciati sono stati revisionati utilizzando il software EAGLE, un programma Matlab creato appositamente per studi di questo tipo. Da qui, per ogni tracciato elettroencefalografico sono state acquisite 25 epoche in sonno attivo e 25 epoche in sonno quieto.

Per la scelta delle epoche e la distinzione in sonno attivo e sonno quieto sono stati utilizzati i canali poligrafici, le note cliniche del tecnico e l'analisi di pattern specifici caratteristici della fase di sonno (in particolare, attività moyenne e tracè alternant).

Ogni epoca selezionata ha una durata di 4 secondi, ottenendo in questo modo una risoluzione spettrale di 0,25 Hz. Questo perché la frequenza equivale all'inverso del periodo, e se il periodo vale 4 secondi, avremmo la frequenza uguale a  $\frac{1}{4}$ , cioè 0,25 Hz. Le epoche sono state scelte il più possibile prive di attività artefattuale. La banda passante è stata impostata a 1-30 Hz. La frequenza di campionamento è stata fissata a 128 Hz.



Per l'analisi della complessità è stato usato il software COMPLEXITY, mentre per il calcolo della connettività in banda di frequenza il software LORETA. Sono state considerate 8 ROIs (4 destre e le omologhe 4 sinistre) ciascuna con raggio di 15 mm, appartenenti a diverse aree funzionali: esecutive, attentive, uditive e visive. La connettività è stata calcolata nel range di frequenza 0.25-5 Hz.

Nella figura sottostante sono rappresentate in giallo le ROI di cui è stata studiata la connettività.

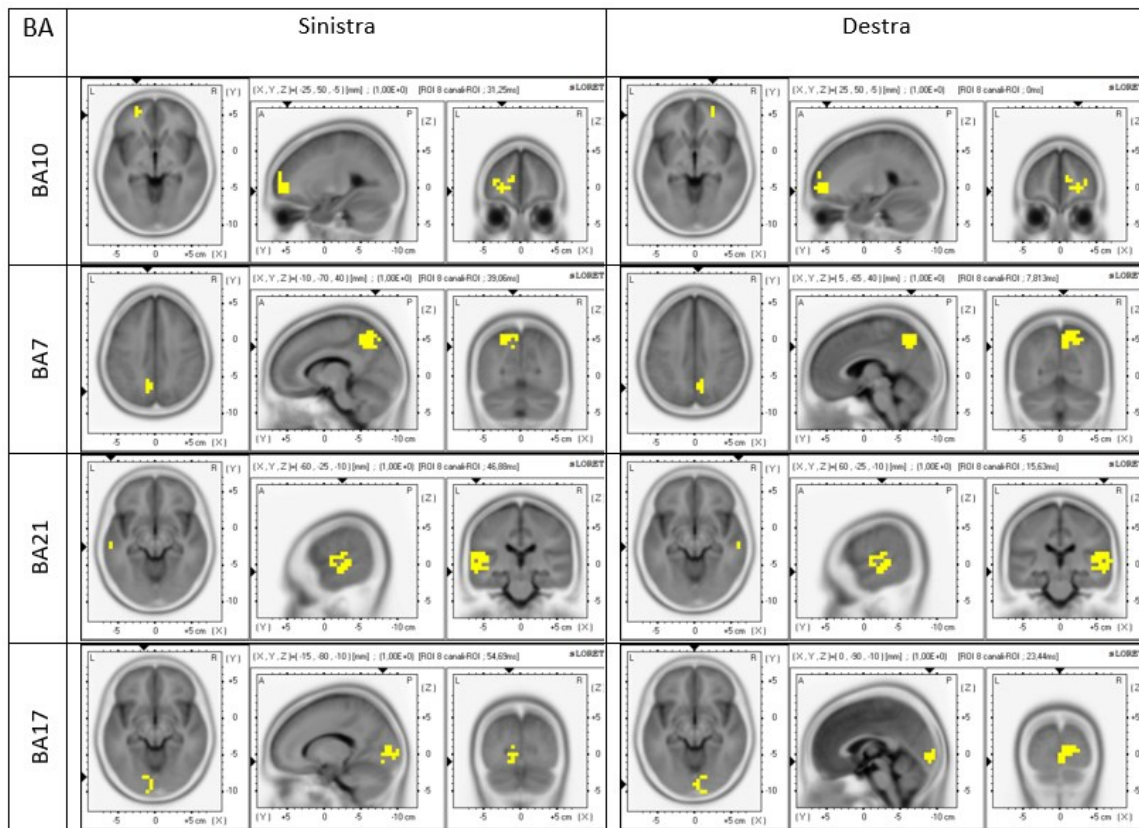


Figura 21: Rappresentazione ROI studiate

### **3.4 Analisi statistica**

L'Analisi della varianza per misure ripetute è stata utilizzata per valutare gli effetti principali legati al gruppo, al sonno e al canale e a tutte le loro interazioni di primo e secondo ordine nel caso dell'analisi di complessità. In maniera analoga si è proceduti per l'analisi spettrale, ove gli effetti principali erano il gruppo, il sonno, le frequenze e i canali e nell'analisi di connettività ove gli effetti erano ancora il gruppo, il sonno, le frequenze e le aree cerebrali al posto dei canali.

La significatività statistica è stata fissata a  $p < 0,05$ .

## Capitolo 4 – Risultati

### 4.1 Analisi di complessità

Sono stati calcolati i valori complessità esibiti dai pazienti e dai controlli, per ciascun canale, nelle due condizioni di sonno attivo e sonno quieto.

Per quanto riguarda la complessità in sonno attivo esiste una significatività legata ai canali ( $p < 0.001$ ), ma NON rispetto all'interazione fra canali e gruppo ( $p = 0.66$ ).

Questo significa che i canali hanno differenze significative fra di loro, ma che i due gruppi si comportano, rispetto a tali differenze, nello stesso modo (cioè i due profili non differiscono fra loro), come si vede nel [grafico 1](#).

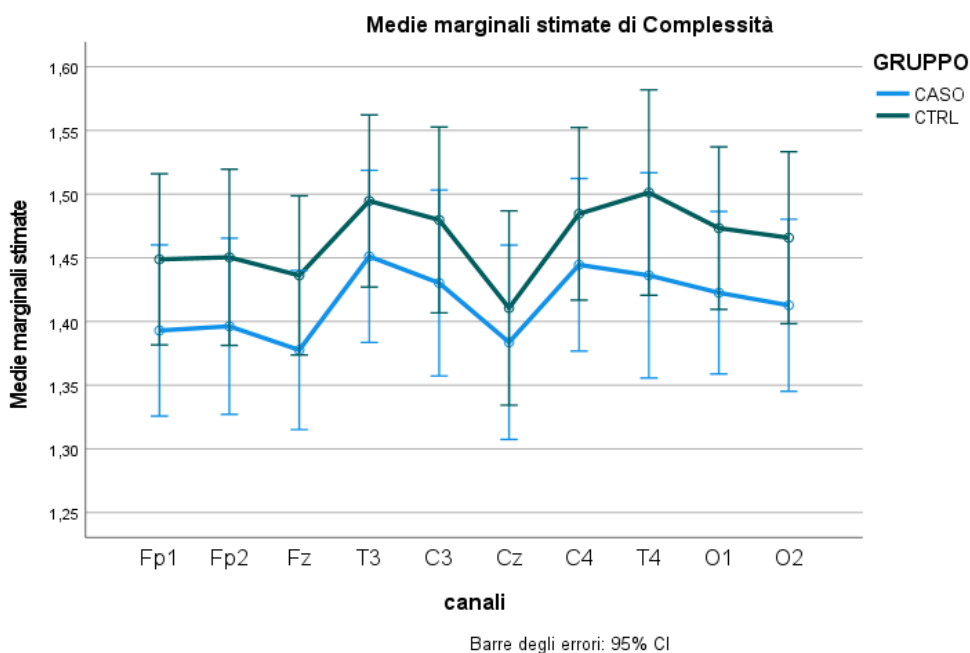


Grafico 1: andamento della complessità nei 10 canali, nei due gruppi in sonno attivo

Al contrario, per la complessità in sonno quieto non vi è significatività né per canali ( $p = 0.18$ ) né per l'interazione canali&gruppo ( $p = 0.52$ ), né rispetto al gruppo ( $p = 0.73$ ). ([grafico 2](#))

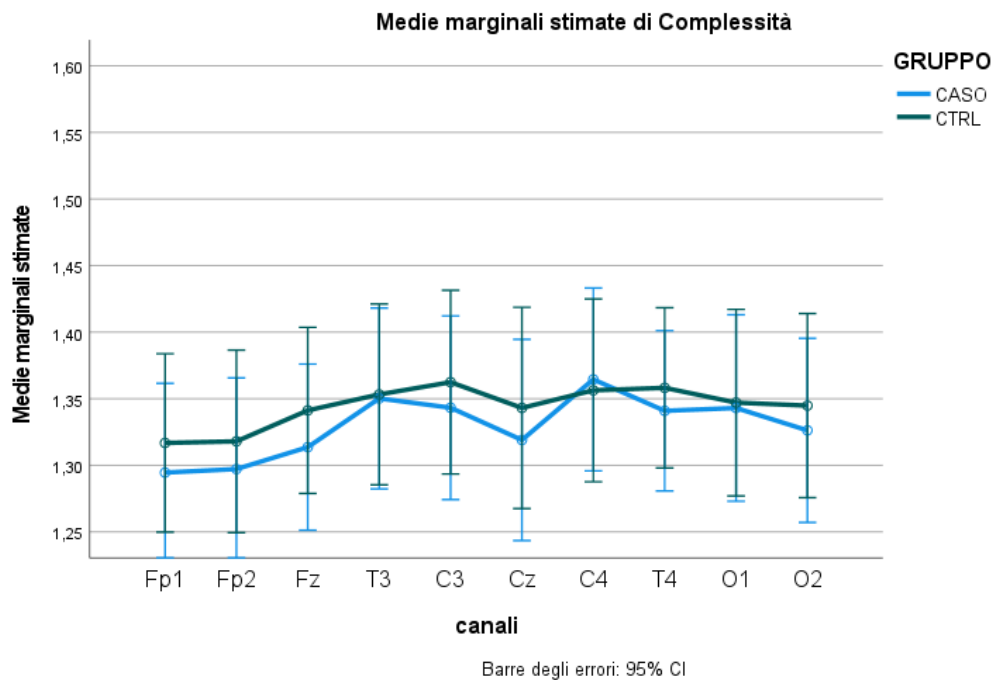


Grafico 2: andamento della complessità nei 10 canali, nei due gruppi in sonno quieto

Studiando l'interazione con il tipo di sonno (attivo → quieto) si evidenziano:

- differenza significativa fra canali ( $p=0.001$ ),
- differenza significativa per il sonno ( $p<0.001$ ),
- differenza significativa per l'interazione fra canali e sonno ( $p<0.001$ ).
- nessuna differenza significativa per il gruppo e tutte le sue interazioni.

La complessità è più elevata in sonno attivo (effetto SONNO) ed è diversa nei canali temporali e centrali (interazione canali&sonno), come evidenziato nel [grafico 3](#).

Vista l'assenza di una interazione di secondo ordine con il gruppo, tale andamento non è significativamente diverso fra pazienti e controlli.

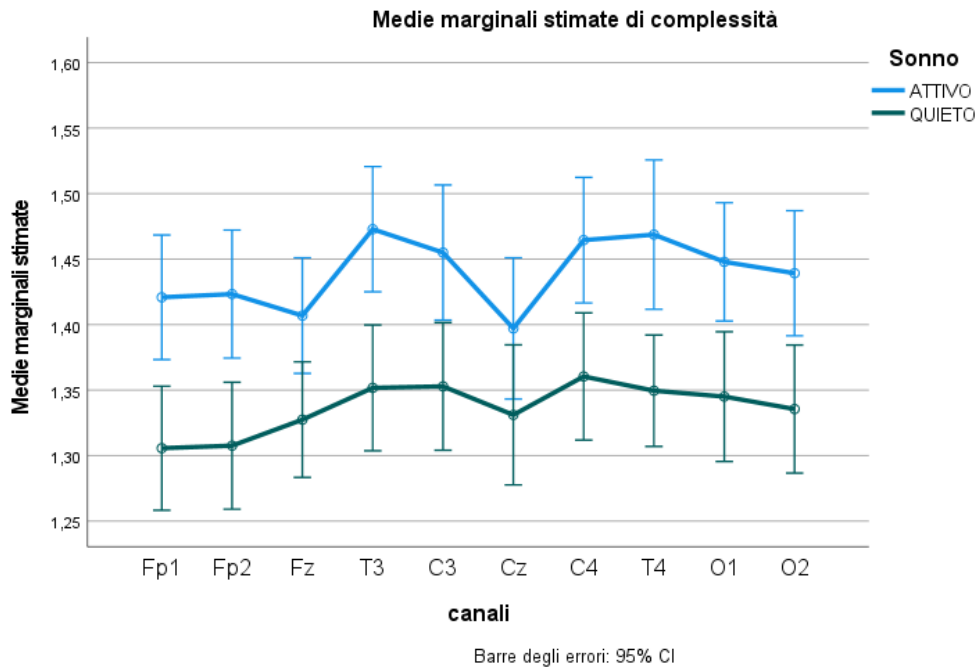


Grafico 3: andamento della complessità nei 10 canali, nel sonno attivo, rispetto al sonno quieto (media fra casi e controlli, perché non vi è significatività nelle interazioni)

## 4.2 Analisi in frequenza

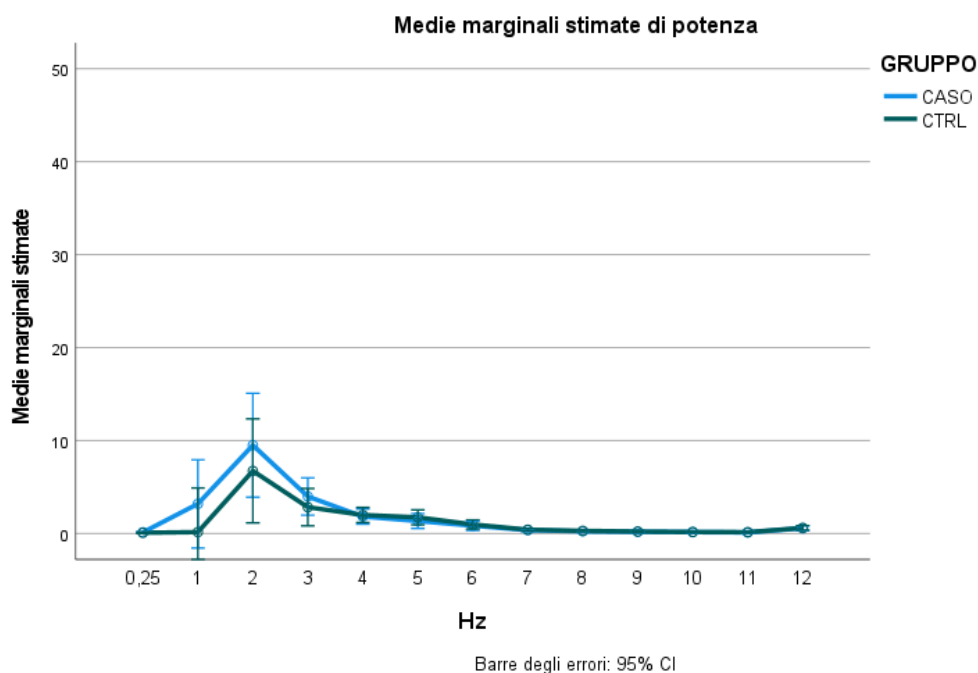
L'ambito di frequenza analizzato è stato 0,25 – 12.00 Hz.

Nel caso del sonno attivo si è riscontrato che esiste un effetto significativo legato ai canali ( $p=0.002$ ), uno legato alla frequenza ( $p=0.001$ ), uno legato all'interazione fra canali e frequenza ( $p=0.045$ ), mentre non si è trovato alcun effetto significativo né per il gruppo ( $p=0.42$ ), né per alcuna interazione in cui fosse presente il gruppo.

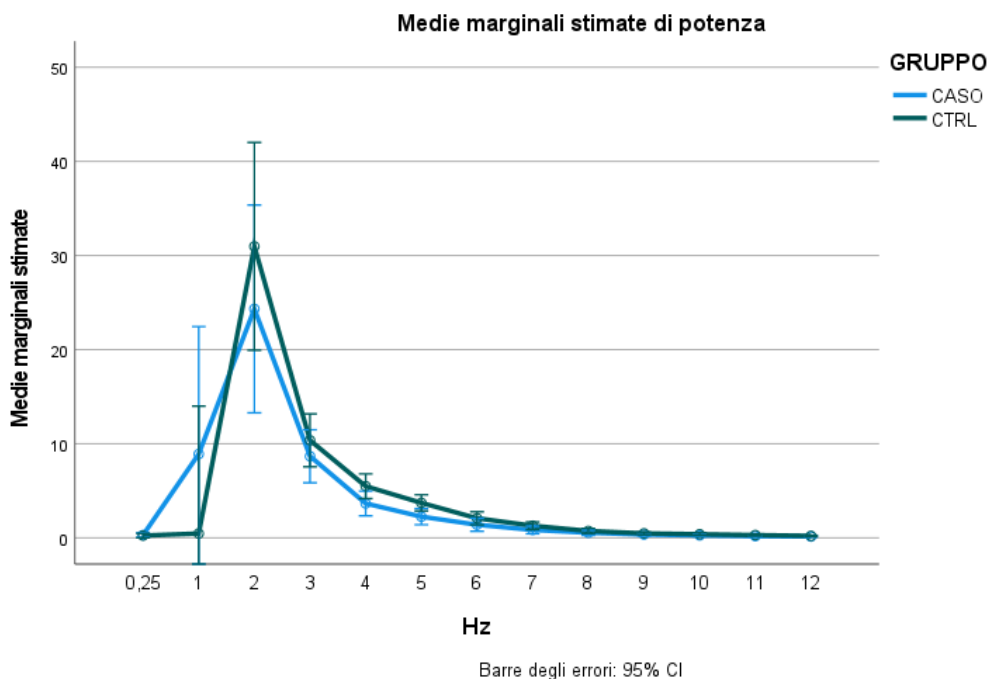
Ciò significa che gli spettri dei due gruppi in sonno attivo non differiscono significativamente ([grafico 4](#)).

Nel caso del sonno quieto si è riscontrato che esiste un effetto significativo legato ai canali ( $p=0.001$ ), uno legato alla frequenza ( $p=0.001$ ), uno legato all'interazione fra canali e frequenza ( $p=0.001$ ), mentre non si è trovato alcun effetto significativo né per il gruppo

( $p=0.25$ ), né per alcuna interazione in cui fosse presente il gruppo. Ciò significa che gli spettri dei due gruppi in sonno quieto non differiscono significativamente ([grafico 5](#)).



*Grafico 4: Spettro di potenza (media di tutti canali, perché non esiste un effetto di interazione con il gruppo) nei pazienti e nei controlli in sonno attivo*



*Grafico 5: Spettro di potenza (media di tutti canali, perché non esiste un effetto di interazione con il gruppo) nei pazienti e nei controlli in sonno quieto*

Studiando l'effetto di interazione con il tipo di sonno, si evidenzia un effetto significativo legato al sonno ( $p=0.001$ ), ai canali ( $p=0.001$ ), all'interazione sonno e canali ( $p=0.001$ ), all'interazione sonno e frequenze ( $p=0.001$ ), all'interazione sonno, canali e frequenze ( $p=0.004$ ). Il gruppo non si dimostra essere un effetto significativo né come effetto principale ( $p=0.63$ ), né in nessuna interazione.

In sostanza, il sonno manifesta una significativa differenza di ampiezza nello spettro di potenza (sonno quieto > di sonno attivo) e una differenza significativa nello spettro con aumento delle frequenze più lente nel sonno quieto. Tali cambiamenti NON sono significativamente diversi nei due gruppi. Il [grafico 6](#) dipinge la situazione.

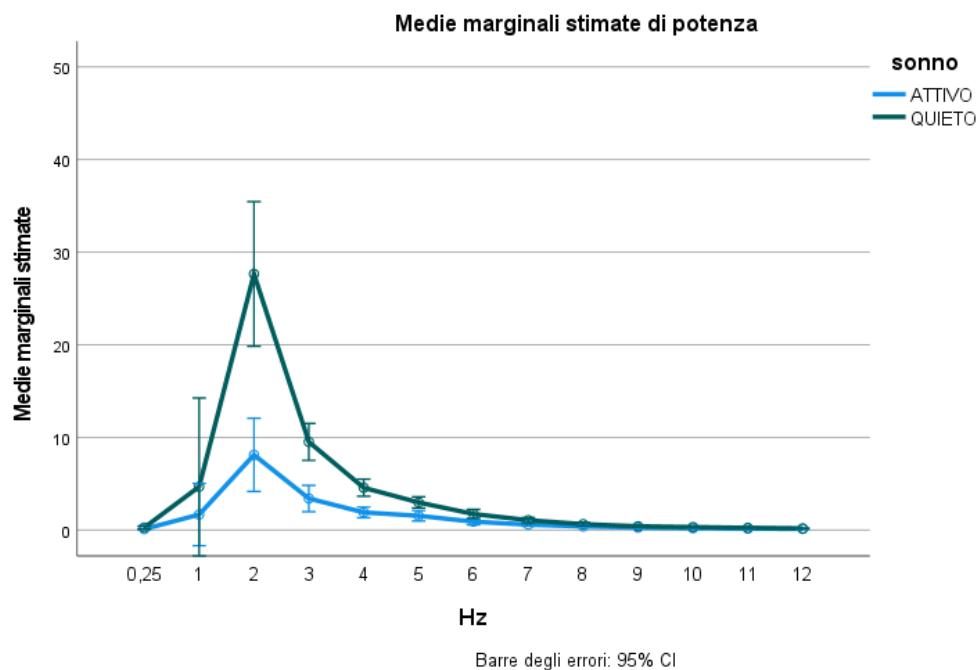


Grafico 6: Spettro di potenza (media di tutti canali, nei due gruppi, perché non esiste un effetto di interazione con il gruppo) in sonno quieto e in sonno attivo

### 4.3 Connettività interemisferica

La connettività interemisferica è stata valutata calcolando la connettività fra aree omologhe dei due lati (es: BA10 sin → BA10 destra).

La seguente tabella mostra la significatività degli effetti principali e di quelli di interazione. La significatività dell'effetto principale legato alla frequenza è presente per tutte le coppie.

EFFETTI (p)	AREA DI BRODMANN			
	BA10 (Frontale)	BA07 (Precuneo)	BA21 (Temporale)	BA17 (Occipitale)
Sonno	0.039 **	0.32	0.12	0.11
Sonno*Gruppo	0.18	0.07 *	0.009 **	0.04 **
Frequenza	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **
Frequenza*Gruppo	0.51	0.31	0.70	0.63
Sonno*Frequenza	0.09 *	0.36	0.44	0.04 *
Sonno*Frequenza*Gruppo	0.37	0.06 *	0.54	0.06 *
Gruppo	0.22	0.14	0.015 **	0.21

Tabella 3: Tabella della significatività degli effetti principali e delle interazioni di primo e secondo ordine per la connettività interemisferica. Legenda: \*\*=significativo \*=vicino alla significatività

Interessante l'effetto legato al sonno ( $p=0.039$ ) per le regioni frontali (BA10) e il fatto che esso non sia diverso rispetto al gruppo (interazione sonno\*gruppo,  $p=0.18$ ). Il [grafico 7](#) rappresenta l'effetto.

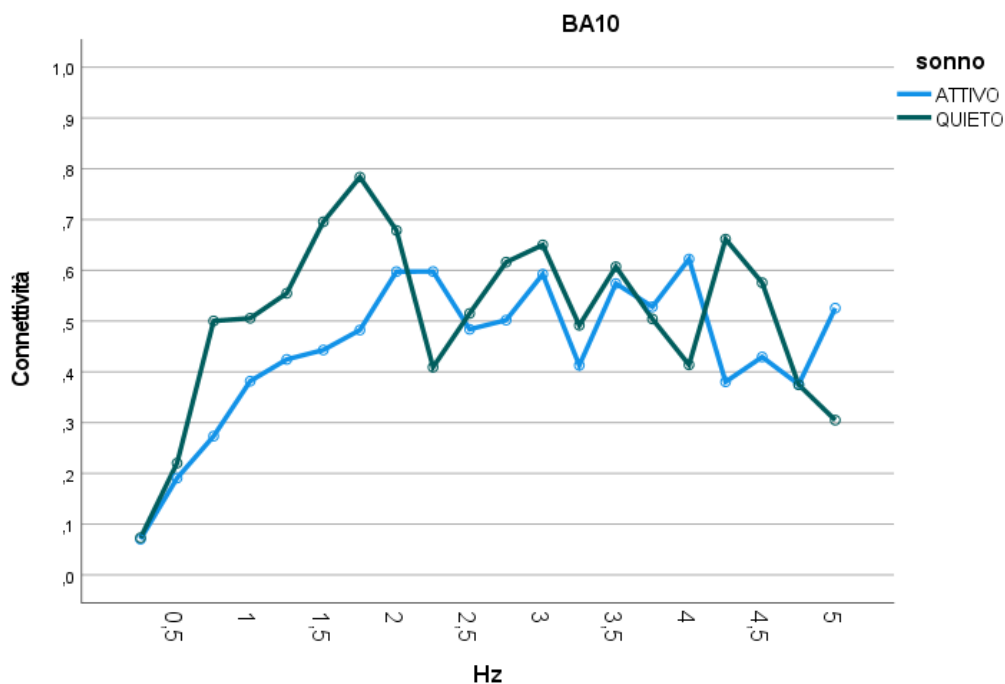


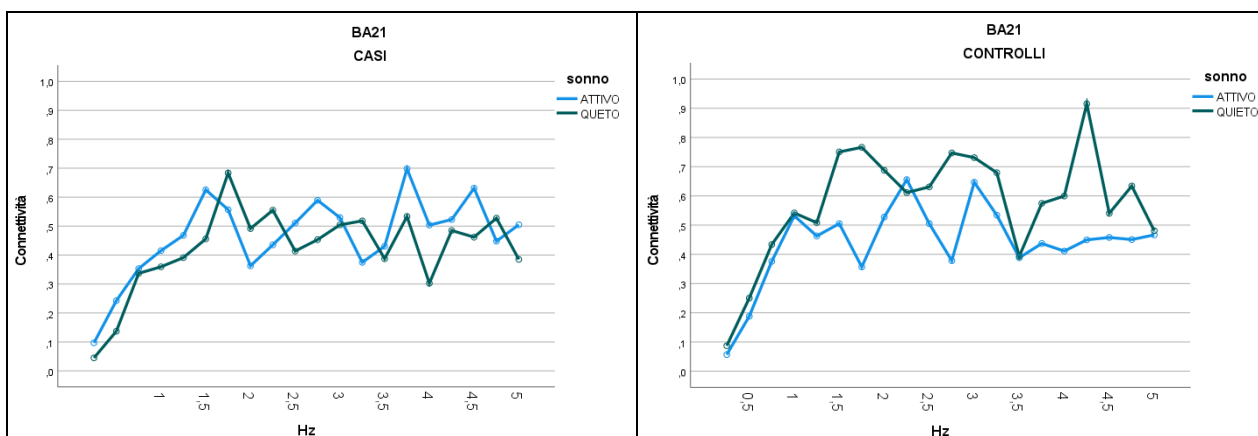
Grafico 7  
47



Si evidenzia una maggiore connettività durante il sonno quieto nelle frequenze comprese fra 1.5 e 2.25 Hz

Interessanti sono gli effetti di interazione sonno\*gruppo nelle aree temporali e occipitali ( $p=0.009$  e  $p=0.04$  rispettivamente) e nel precuneo dove la  $p$  lambisce la significatività ( $p=0.07$ )

La seguente figura mostra tale effetto dove esso appare più evidente: nell'area temporale (BA21).



Si osserva che nel gruppo di controllo la connettività è maggiore durante il sonno quieto, mentre tale effetto è del tutto assente nel gruppo dei pazienti.

Tale effetto è replicato, in maniera vicina alla significatività nel precuneo e nelle aree occipitali ( $p=0.06$ ) nell'interazione frequenza\*sonno\*gruppo in cui si evidenzia ancora una maggiore connettività durante il sonno nel gruppo dei controlli

## 4.4 Connettività intraemisferica

La connettività intraemisferica, sia destra che sinistra, è stata valutata calcolando la connettività di tutte le coppie di aree considerate: quindi 6 coppie a destra e 6 a sinistra.

### 4.4.1 Connettività intraemisferica destra

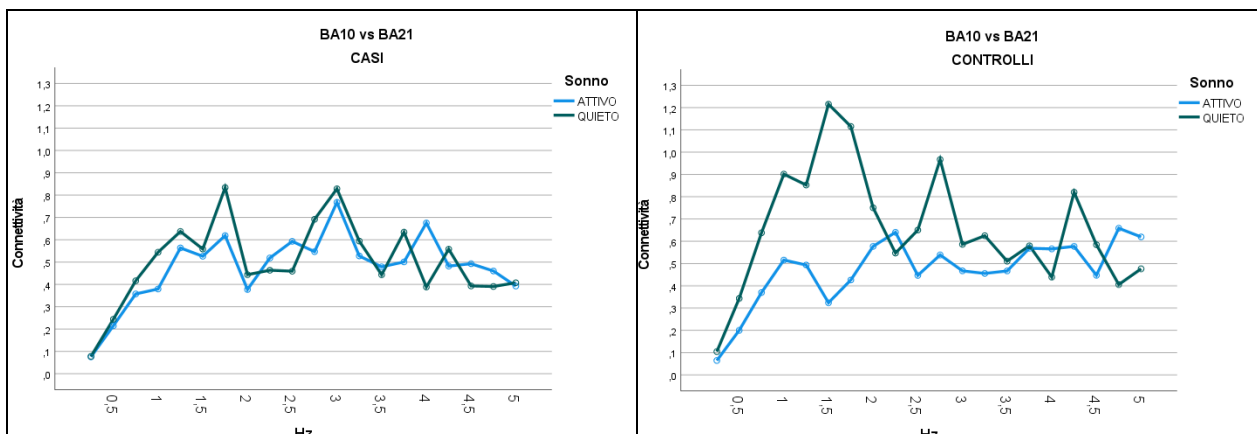
Nella tabella sottostante sono riportati i valori di significatività degli effetti principali di interazione.

EFFETTI (p)	COPPIE DI AREE DI BRODMANN					
	BA10-BA07	BA10-BA21	BA10-BA17	BA07-BA21	BA07-BA17	BA21-BA17
Sonno	0.34	0.006 **	1	0.46	0.46	0.96
Sonno*Gruppo	0.29	0.02**	0.06 *	0.68	0.049 **	0.47
Frequenza	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **
Frequenza*Gruppo	0.50	0.19	0.29	0.43	0.28	0.48
Sonno*Frequenza	0.032 **	0.027 **	0.15	0.45	0.16	0.33
Sonno*Frequenza*Gruppo	0.43	0.36	0.53	0.32	0.12	0.24
Gruppo	0.91	0.024 **	0.82	0.92	0.18	0.045 **

Tabella 4: Tabella della significatività degli effetti principali e delle interazioni di primo e secondo ordine per la connettività intraemisferica destra. Legenda: \*\*=significativo \*=vicino alla significatività

Oltre alla significatività per l'effetto frequenza, presente per tutte le combinazioni, emerge l'effetto significativo del sonno, dell'interazione sonno\*gruppo, dell'interazione sonno\*frequenza e del gruppo nella coppia BA10→BA21 (frontale → temporale).

La figura seguente mostra questo risultato.



Si nota come nei controlli la connettività aumenti (specialmente alle basse frequenze) nel sonno quieto, mentre nel gruppo pazienti ciò non avviene.

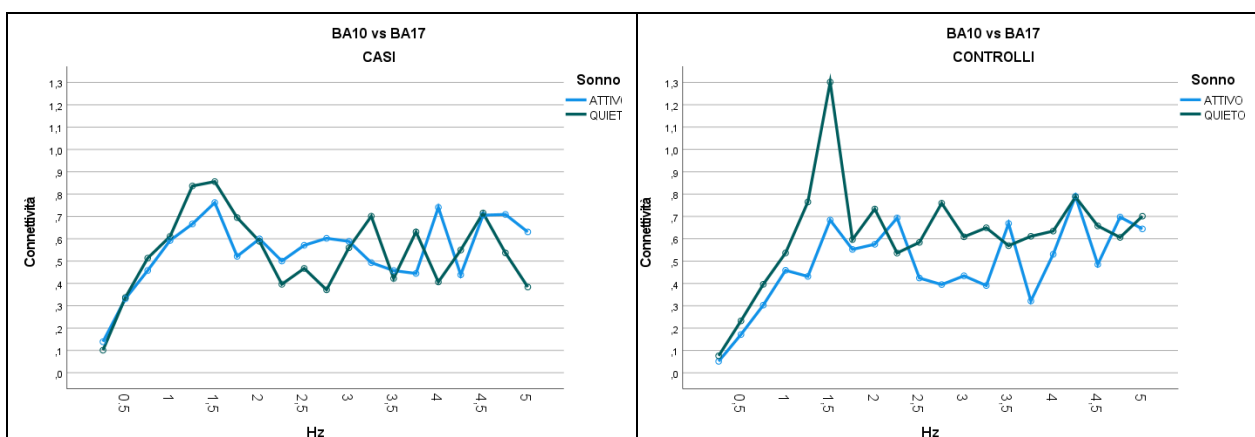
#### 4.4.2 Connettività intraemisferica sinistra

EFFETTI (p)	COPPIE DI AREE DI BRODMANN					
	BA10-BA07	BA10-BA21	BA10-BA17	BA07-BA21	BA07-BA17	BA21-BA17
Sonno	0.1	0.16	0.043 **	0.29	0.5	0.52
Sonno*Gruppo	0.063 *	0.16	0.017 **	0.048 **	0.26	0.025 **
Frequenza	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **	<0.001 **
Frequenza*Gruppo	0.56	0.31	0.26	0.54	0.76	0.62
Sonno*Frequenza	0.065	0.33	0.2	0.51	0.3	0.78
Sonno*Frequenza*Gruppo	0.57	0.45	0.54	0.1	0.3	0.32
Gruppo	0,98	0.28	0.81	0.016**	0.08 *	0.35

Tabella 5: Tabella della significatività degli effetti principali e delle interazioni di primo e secondo ordine per la connettività intraemisferica sinistra. Legenda: \*\*=significativo \*=vicino alla significatività

La differenza più frequente è nella interazione sonno\*gruppo che raggiunge la significatività nelle combinazioni BA10→BA17 ( $p=0.017$ ), BA07 → BA21 ( $p=0.048$ ) e BA21 → BA17 ( $p=0.025$ ). Nella combinazione BA10 → BA07 è molto vicino alla significatività.

L'effetto più evidente è in BA10 → BA17, che viene rappresentato nella figura sottostante.



Si osserva ancora una volta che i controlli mostrano una connettività maggiore durante il sonno, cosa che non avviene nei pazienti.

In tutti i casi risultati significativi l'andamento è quello mostrato. Nel caso di BA07 → BA21, vi è anche l'effetto principale legato al gruppo, come evidenziato nel [grafico 8](#).

Si può notare come la connettività nei controlli sia maggiore di quella dei pazienti.

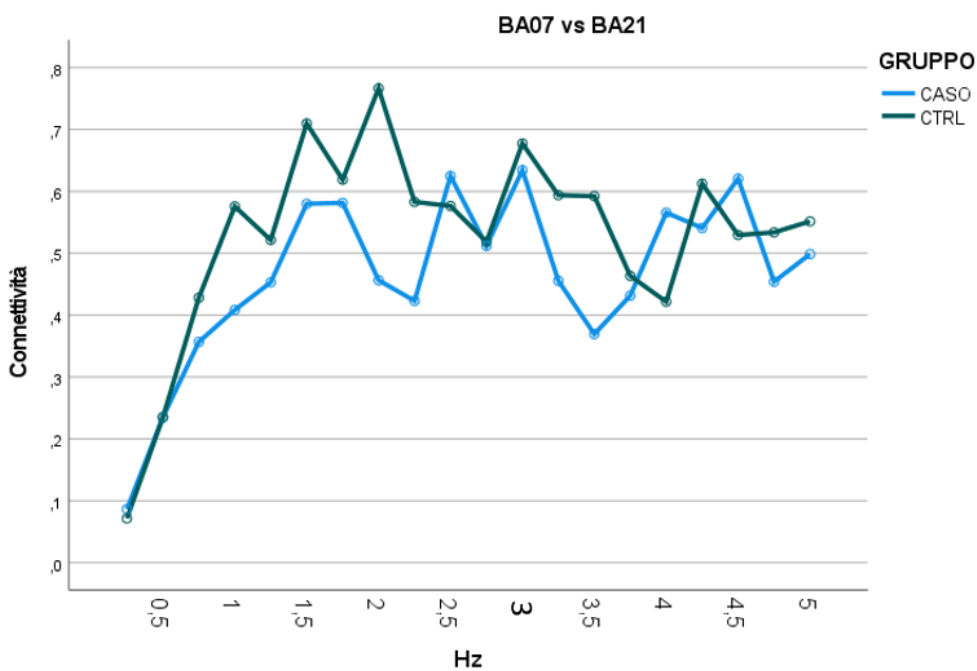


Grafico 8

## Capitolo 5 – Discussione

Dall'analisi della complessità è emersa una differenza statisticamente significativa tra sonno quieto e sonno attivo, in particolare la complessità è più elevata in sonno attivo, in concordanza con studi precedenti, tra cui quello di S. Janjarasjitt et al. (22)

La complessità è maggiore nelle aree centro-temporali, dove, nel neonato a termine, è fisiologicamente presente l'attività moyenne; nelle aree anteriori, invece, dove è presente un'attività costantemente più lenta e a morfologia stereotipata, per la presenza di figure fisiologiche come le encoche frontales e la disaritmia lenta anteriore, la complessità risulta minore.

Non vi è una differenza significativa tra casi e controlli sia in AS che in QS. Dunque, per ciò che concerne i valori di complessità, neonati pre termine possono essere paragonati a quelli nati a termine quando raggiungono l'età corretta.

Anche nel caso dell'analisi spettrale sia del QS sia del AS non vi è una differenza tra casi e controlli; questo risultato risulta coerente con i precedenti studi.

Infatti secondo lo studio di Zhang et al., in cui vengono paragonati neonati con encefalopatia lieve, moderata e grave, si evidenzia che soltanto il gruppo con encefalopatia ipossico ischemica (EII) moderata presenta una netta riduzione dello spettro di potenza di tutte le bande di frequenza; al contrario non dimostra alcuna differenza significativa tra il gruppo con EII lieve e il gruppo di controllo (23), come nel nostro caso.

Inoltre, nello studio di S. Janjarasjitt et al. l'analisi spettrale dimostra un aumento di potenza delle bande di frequenza lente al passaggio da AS a QS e con l'aumento delle SG e ciò si può osservare più chiaramente nei canali centrali e temporali. (22)

Dunque, anche sotto il punto di vista dello spettro di potenza, neonati asfittici pre termine possono essere paragonati a quelli nati a termine quando raggiungono l'età corretta.

Al contrario, lo studio della connettività dimostra una differenza tra casi e controlli. Come suggerisce la bibliografia neonati a termine hanno valori di connettività maggiore rispetto a neonati pre termine.

Nell'articolo di González et al. è stata valutata la connettività interemisferica dell'EEG misurando la coerenza tra le regioni cerebrali e una misura della sincronizzazione di fase. Sono state trovate differenze significative tra i neonati a termine e quelli pretermine durante

il sonno attivo e tranquillo, con i neonati a termine che hanno valori di coerenza, e dunque di connettività, maggiori rispetto ai neonati pretermine. Inoltre, neonati a termine hanno risultati di connettività EEG diversi durante il sonno tranquillo rispetto ai neonati pretermine in tutte le bande di frequenza. (24)

Anche in questa tesi si confermano questi valori di connettività, in particolare, la connettività interemisferica è maggiore in sonno quieto, nelle frequenze comprese tra 1.5 e 2.25 Hz nel gruppo dei controlli rispetto a quello dei casi.

È stato riscontrato, nello studio di Zhang et al. (23), che la connettività funzionale cerebrale nel gruppo EII moderato era significativamente inferiore a quella del gruppo di controllo, principalmente nella banda di frequenza delta e nella connessione tra la regione centrale e parieto-occipitale. Inoltre, la connettività funzionale in tutte le bande di frequenza nel gruppo EII moderato era significativamente inferiore a quella nel gruppo EII lieve. Tuttavia, c'erano meno differenze tra l'EII lieve e i gruppi di controllo, solo nelle bande delta e alpha1.

Per la connettività intraemisferica è stato trovato, di statisticamente significativo, l'effetto del sonno, del gruppo e l'interazione tra sonno e gruppo e tra sonno e frequenza tra le aree BA10 e BA21 (frontale-temporale) a destra. A sinistra, invece, è statisticamente significativa l'interazione tra sonno e gruppo per le seguenti coppie: BA10→BA17 (frontale-occipitale), BA07 → BA21 (precuneo-temporale) e BA21 → BA17 (temporale-occipitale). Tuttavia, non sono stati trovati studi di connettività intraemisferica precedenti con cui poter paragonare i risultati ottenuti.

## Capitolo 6 - Conclusioni

La differenza sostanziale che emerge dall'analisi dei dati è che il gruppo dei casi ha una connettività minore in sonno quieto rispetto al gruppo dei controlli. Questo potrebbe essere indice del fatto che il sonno quieto è notoriamente l'ultimo stato comportamentale che giunge a maturazione (vedi ad esempio la review di Dereymaeker et al.). (16)

I nati a termine presentano valori di connettività maggiori rispetto ai neonati pretermine. È possibile dunque che ci sia un substrato anatomico che colleghi i due emisferi che nel neonato prematuro non si è ancora sviluppato completamente. L'ipotesi più probabile è che queste strutture corrispondano ad aree cerebrali più profonde e sottocorticali, come i nuclei della base e il talamo, i quali svolgono un ruolo essenziale nel sincronizzare l'attività elettrica cerebrale e rendere le aree cerebrali connesse tra loro.

Infatti, il neonato pretermine è più esposto a lesioni della sostanza bianca cerebrale e della materia grigia corticale e sottocorticale (talamo, gangli della base) e del cervelletto (corteccia, nucleo dentato). (3) In particolare sono frequenti le lesioni del talamo e dei gangli della base, strutture però che non sono localizzabili attraverso l'elettroencefalogramma, perlomeno non in maniera diretta. Interessante sarebbe inoltre comprendere se tali differenze di connettività potrebbero essere correlate ad un ritardo di maturazione della mielina centrale. I principali componenti coinvolti nel danno della sostanza bianca, oltre agli assoni, includono i preoligodendrociti, cellule altamente vulnerabili a ipossia, ischemia e infiammazione, che possono provocare la morte di queste cellule. Anche se ne vengono prodotte delle nuove, queste cellule non hanno la capacità di differenziarsi in fasi successive della linea oligodendrocitaria e non sono in grado di produrre mielina. La conseguenza è l'ipomielinizzazione e una serie di eventi a lungo termine che sono responsabili dei disturbi motori, sensoriali e cognitivi osservati nei neonati prematuri (vedi revisione Volpe, 2019). (25)

Un importante limite dello studio è costituito dalla bassa numerosità campionaria. Utile sarebbe ampliare la popolazione in esame per dare maggiore veridicità ai risultati trovati.

Questo studio, inoltre, non si è concentrato sull'analisi topografica dei valori analizzati. Prospettive future potrebbero implicare una risoluzione spaziale maggiore, con l'utilizzo di più canali elettroencefalografici (considerando tutte le variabili sia metodologiche sia interpretative che subentrano utilizzando una quantità maggiore di elettrodi) e confrontare i dati ottenuti con esami di neuroimaging.

Interessanti spunti per studi futuri, inoltre, potrebbero essere i seguenti: l'analisi specifica dell'attività beta sovrainposta all'interno dei delta brush; la quantità occupata da questi ultimi all'interno dell'intero tracciato; l'analisi della quantità di attività ipovoltata all'interno delle epoche di tracce alternant.

Questo studio pertanto si è voluto configurare come un tentativo di approccio quantitativo del segnale elettroencefalografico nel neonato asfittico, il quale tuttavia necessita di essere implementato sia quantitativamente (aumento della numerosità campionaria) sia qualitativamente (scelta delle variabili più significative da considerare all'interno dell'analisi statistica).



## Bibliografia

1. Stiles J, Jernigan TL. The Basics of Brain Development. *Neuropsychol Rev.* 2010;20(4):327–48.
2. Ouyang M, Dubois J, Yu Q, Mukherjee P, Huang H. Delineation of early brain development from fetuses to infants with diffusion MRI and beyond. *NeuroImage.* 15 gennaio 2019;185:836–50.
3. Back SA. White Matter Injury in the Preterm Infant: Pathology and Mechanisms. *Acta Neuropathol (Berl).* settembre 2017;134(3):331–49.
4. Preterm birth [Internet]. [citato 13 agosto 2022]. Disponibile su: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
5. Ream MA, Lehwald L. Neurologic Consequences of Preterm Birth. *Curr Neurol Neurosci Rep.* agosto 2018;18(8):48.
6. American Academy Of Pediatrics Committee On Fetus and Newborn, American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice, Watterberg KL, Aucott S, Benitz WE, Cummings JJ, et al. The Apgar Score. *Pediatrics.* 1 ottobre 2015;136(4):819–22.
7. McGuire W. Perinatal asphyxia. *BMJ Clin Evid.* 7 novembre 2007;2007:0320.
8. F. Ferrari G. Ancora G. Pomerio V. Raccomandazioni per l'assistenza al neonato con encefalopatia ipossico-ischemica candidato al trattamento ipotermico. Seconda edizione. Milano: Biomedica; 2009.
9. Fattuoni C, Palmas F, Noto A, Fanos V, Barberini L. Perinatal Asphyxia: A Review from a Metabolomics Perspective. *Molecules.* aprile 2015;20(4):7000–16.
10. David L. Nelson MMC. Introduzione alla biochimica di Lehninger. Sesta edizione. Zanichelli; 2018.
11. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol.* ottobre 1976;33(10):696–705.
12. Davis PG. Cochrane reviews in neonatology: Past, present and future. *Semin Fetal Neonatal Med.* 1 aprile 2006;11(2):111–6.
13. Meccarelli O. Manuale Teorico Pratico di Elettroencefalografia. 2010.
14. Silverthorn D. Fisiologia umana. Un approccio integrato. Settima edizione. Pearson; 2017.
15. Lamblin MD, Walls Esquivel E, André M. The electroencephalogram of the full-term newborn: Review of normal features and hypoxic-ischemic encephalopathy patterns. *Neurophysiol Clin Neurophysiol.* dicembre 2013;43(5–6):267–87.
16. Dereymaeker A, Pillay K, Vervisch J, De Vos M, Van Huffel S, Jansen K, et al. Review of sleep-EEG in preterm and term neonates. *Early Hum Dev.* ottobre 2017;113:87–103.

17. André M, Lamblin MD, d'Allest AM, Curzi-Dascalova L, Moussalli-Salefranque F, Nguyen The Tich S, et al. Electroencephalography in premature and full-term infants. Developmental features and glossary. *Neurophysiol Clin Neurophysiol*. maggio 2010;40(2):59–124.
18. Higuchi T. Relationship between the fractal dimension and the power law index for a time series: A numerical investigation. *Phys Nonlinear Phenom*. 1 novembre 1990;46(2):254–64.
19. Tóth B, Urbán G, Háden GP, Márk M, Török M, Stam CJ, et al. Large-scale network organization of EEG functional connectivity in newborn infants. *Hum Brain Mapp*. 2017;38(8):4019–33.
20. Meijer EJ, Hermans KHM, Zwanenburg A, Jennekens W, Niemarkt HJ, Cluitmans PJM, et al. Functional connectivity in preterm infants derived from EEG coherence analysis. *Eur J Paediatr Neurol*. 2014;18(6):780–9.
21. Tokariev A, Videman M, Palva JM, Vanhatalo S. Functional Brain Connectivity Develops Rapidly Around Term Age and Changes Between Vigilance States in the Human Newborn. *Cereb Cortex*. dicembre 2016;26(12):4540–50.
22. Janjarasjitt S, Scher MS, Loparo KA. Nonlinear dynamical analysis of the neonatal EEG time series: The relationship between sleep state and complexity. *Clin Neurophysiol* 119(8):1812-1823 [Internet]. agosto 2008 [citato 5 ottobre 2022]; Disponibile su: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1388245708002113?token=FDDAB389F94DC27DEA345A2FB89119CD6ED9A3DBA3E86B70431BEA7A82B7E1A7EB1F84EB2D69CD338B7F4182726893F7&originRegion=eu-west-1&originCreation=20221005085931>
23. Zhang Q, Hu Y, Dong X, Feng X. Clinical significance of electroencephalography power spectrum density and functional connection analysis in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Int J Dev Neurosci*. 2021;81(2):142–50.
24. Gonzalez-Moreira E, Paz-Linares D, Cubero-Rego L, Areces-Gonzalez A, Valdés-Sosa PA, Harmony T. An exploratory study of EEG connectivity during the first year of life in preterm and full-term infants [Internet]. *Neuroscience*; 2021 nov [citato 5 ottobre 2022]. Disponibile su: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.11.24.469864>
25. Volpe JJ. Dysmaturation of Premature Brain: Importance, Cellular Mechanisms, and Potential Interventions. *Pediatr Neurol*. 1 giugno 2019;95:42–66.

# Ringraziamenti

*Vorrei dedicare questa pagina a tutte le persone che mi sono state accanto e mi hanno aiutato durante la stesura di questa tesi.*

*Un ringraziamento particolare va al mio relatore Michele Agatiello, che mi ha seguito, con la sua infinita disponibilità e pazienza, in ogni step della realizzazione dell'elaborato.*

*Un sentito grazie al Prof. Mario Ermani per il suo continuo supporto e la sua dedizione; i suoi insegnamenti sono stati e saranno sempre di ispirazione per il mio lavoro.*

*Grazie anche al mio correlatore, il dott. Jacopo Favaro, per i suoi preziosi consigli e per avermi suggerito le giuste modifiche da apportare a questa tesi.*

*Ringrazio infinitamente tutte le persone che mi hanno affiancato durante il tirocinio, con la loro esperienza e i loro consigli. Grazie per tutto quello che mi avete insegnato e per la fiducia che avete riposto in me.*

*Grazie ai miei compagni di corso, con cui ho condiviso questo percorso di studi. Grazie soprattutto a quelli con cui ho condiviso balletti, canzoni e mille risate nelle pause pranzo.*

*Grazie alle mie amiche di sempre per il vostro immenso affetto, per essermi state accanto nei momenti difficili e per riuscire a strapparmi un sorriso quando ne ho più bisogno.*

*Grazie a mia cugina, su cui so che potrò sempre contare.*

*Grazie di cuore ai miei genitori che da sempre credono in me e senza cui non sarei diventata la persona che sono oggi, vi voglio bene.*

Padova, Ottobre 2022

Virginia Fassina

